



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA DENEYSEL ALZHEİMER HASTALIĞI
MODELİNDE FARKLI EGZERSİZ YÖNTEMLERİNİN
KOGNİTİF FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİ
MEKANİZMALARININ İNCELENMESİ**

DİLEK ÖZBEYLİ
DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DANIŞMAN
Doç. Dr. ÖZGÜR KASIMAY ÇAKIR

İSTANBUL-2016

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Doktora
Anabilim Dalı : Fizyoloji
Tez Sahibi : Dilek ÖZBEYLİ
Tez Başlığı : Sıçanlarda Deneysel Alzheimer hastalığı modelinde farklı egzersiz yöntemlerinin kognitif fonksiyonlar üzerine olan etki mekanizmalarının incelenmesi.
Sınav Yeri : Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 17.02.2016

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Doç.Dr.Özgür Kasımay Çakır (Danışman)

Kurumu

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı

İmza



Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

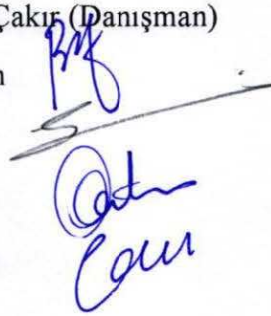
Doç.Dr.Özgür Kasımay Çakır (Danışman)

Prof. Dr. Berrak Ç. Yeğen


Prof. Dr. Arzu Vardar

Doç. Dr. Dilek Akakın,

Doç.Dr. Betül Karademir



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 25/02/2016 tarih ve 72 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Dilek ÖZBEYLİ



IV. TEŞEKKÜR

Tüm doktora eğitimim boyunca bilgisini, desteğini benimle paylaşan, ilgisi, pozitifliği ve yol göstericiliği ile eğitimimde bana çok yardımcı olan çok sevgili değerli hocam, danışmanım Doç. Dr. Özgür Kasımay Çakır'a,

Daima cesaret verici ve yol gösterici olan, eğitimimiz için tüm gayreti ile uğraşan ve her zaman desteğini yanımda hissettiğim çok kıymetli hocam Prof. Dr. Berrak Yeğen'e,

Görüş, öneri, ilgileri ile doktora eğitimim boyunca yanımda olan hocalarım Prof. Dr. İnci Alican, Prof. Dr. Hızır Kurtel, Yrd. Doç. Dr. Alper Yıldırım'a,

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, Doç. Dr. Serap Şirvancı'ya, Dr. Naziye Özkan'a, Öğr. Gör. Gülce Sarı'ya, Doç. Dr. Betül Karademir'e ve Doç. Dr. Meral Yüksel'e,

İlgi ve desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Levent Kabasakal'a ve Prof. Dr. Göksel Şener'e,

Doktora eğitimimin bana sunduğu güzellikler olan, tüm fizyoloji arkadaşlarım ve can arkadaşım Dr. Nuray Geçer Alaca'ya,

Sürekli yanımda olan ve beni cesaretlendiren, iyi ve kötü günlerimi paylaştığım canım ailem'e, sevgili eşim Yavuz Özbeyli'ye ve biricik oğlum Alp Özbeyli'ye

ÇOK TEŞEKKÜR EDERİM.

Not: Bu tez; Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (BAPKO- proje no: SAG-C-DRP-050614-0228) desteklenmiştir.

V-İÇİNDEKİLER	Sayfa No
I-KAPAK	
II-TEZ ONAYI	
III-BEYAN	
IV-TEŞEKKÜR	i
V-İÇİNDEKİLER	ii
VI- KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ	vii
VII- TABLO LİSTESİ	xi
VIII-ŞEKİL LİSTESİ	xii
IX-RESİM LİSTESİ	xiv
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Alzheimer Hastalığı Tanımı ve Tarihçesi	7
4.1.1. Tanım	7
4.1.2. Alzheimer hastalığının tarihçesi	7
4.2. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi ve Tanı Kriterleri	8
4.2.1. Alzheimer hastalığının epidemiyolojisi	8
4.2.2 . Alzheimer hastalığının tanı kriterleri	9

4.3. Alzheimer Hastalığının Makroskopisi, Histopatolojisi	10
4.3.1. Alzheimer hastalığının makroskopisi, histopatolojisi	10
4.4. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi	11
4.4.1. Protein birikimi ve amiloid hipotez	11
4.4.2. Oksidatif ve nitrooksidatif stres hipotezi	14
4.4.3. Tau Hiperfosforilasyonu ve Nörofibriler (NFT) Yumak Oluşumu	19
4.4.4. İnflamasyon hipotezi	21
4.4.5. Nöroplastisite ve Nöroplastisite Yetmezliği teorisi	23
4.4.6. Kan –Beyin bariyerinden beyine nitrojen invazyonu hipotezi	24
4.4.7. Kolinerjik yetmezlik hipotezi	26
4.4.8. Glutamaterjik hipotez	28
4.5. Deney Hayvanlarında Alzheimer Modelleri	28
4.5.1. Overektomi ve D- galaktoz İle Oluşan AH Modeli	31
4.6. Östrojen Aracılı Nöroproteksiyon ve Moleküler Mekanizması	33
4.6.1. Östrojen aracılı nöroproteksiyon	33
4.6.2. Östrojen aracılı nöroproteksiyonun moleküler mekanizması	34
4.7. Alzheimer Hastalığının Tedavisi	35
4.7.1. Farmakolojik tedaviler	35
4.7.2. Non farmakolojik tedaviler	36
4.8. Egzersizin Nöroprotektif Mekanizmaları	36
4.9. Nörotrofik ve Büyüme Faktörlerinin Etki Mekanizmaları	39
4.9.1. Sinir Büyüme Faktörü (NGF) etki mekanizması	40
4.9.2. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) etki mekanizması	41
4.9.3. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü I (IGF-I) etki mekanizması	43
4.10. Öğrenme Bellek ve Bellek Tipleri	44

4.10.1. Öğrenme ve bellek	44
4.10.2. Bellek tipleri	45
4.11. Öğrenme ve Belleğin Moleküler Mekanizması ve Uzun Süreli Güçlenme	46
4.12. Obje Tanıma Belleğinin Nöroplastisite İle İlişkili Moleküler Mekanizmaları	47
4.13. Kognitif testler	47
4.13.1. Pasif kaçınma testi	47
4.13.2. Labirent testleri	48
4.13.3. Yeni obje tanıma testi (Novel object recognition test)	48
5. GEREÇ VE YÖNTEM	50
5.1. Deney Hayvanları	50
5.2. Deney Grupları	50
5.3. Tüm Kimyasallar	51
5.4. Overektomi ve D-galaktoz ile Oluşturulan Deneysel Alzheimer Protokolü	52
5.5. Egzersiz Protokolleri	53
5.5.1. Aerobik (yüzme) egzersiz protokolü	53
5.5.2. Direnç egzersizi protokolü	54
5.5.3. Kombine egzersiz protokolü	55
5.6. Kognitif Testler	55
5.6.1. Holeboard (Delikli levha) testi	56
5.6.2. Obje tanıma testi	56
5.7. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması	58
5.8. Kas Lifi Alanı Ölçümleri	59
5.9. Biyokimyasal Parametreler	59
5.9.1. Serum örneklerinde ölçülen biyokimyasal parametreler	59
5.9.2. Beyin malondialdehit (MDA) ve glutasyon (GSH) düzeyi ölçümleri	60
5.9.3. Beyin miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümü	60

5.9.4. Kemilüminesans ölçümleri	61
5.9.5. Nitrik Oksit (NO) aktivite düzeyi ölçümü	61
5.10. RT-PCR Yöntemi ile APP695, NGF, BDNF, ve IGF-I mRNA Düzeyleri Ölçümleri	63
5.11. Dokuların İncelenmesi ve Histolojik Yöntemler	63
5.12. İstatistik Yöntem	64
6. BULGULAR	65
6.1. Deney Başlangıcı ve Deney Sonu Vücut Ağırlığı Değişimleri ve Serum Kolesterol Düzeyleri	65
6.2. Transvers Kas Lifi Alanı Ölçümleri	66
6.3. Kognitif Testler	67
6.3.1. Holeboard testi değerleri ve serum kortizol düzeyi	67
6.3.2. Yeni obje tanıma testi değerleri	70
6.4. Serum IGF-I Düzeyleri	70
6.5. Beyin MDA, MPO, Lusigenin, Luminol ve GSH Düzeyi Ölçümü	71
6.6. Beyin Nitrik Oksit Aktivite Düzeyi Ölçümü	74
6.7. Hipokampal APP695 Gen Ekspresyonu ve Hipokampal A β İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları	74
6.8. NGF Hipokampal Gen Ekspresyonu Analiz Sonuçları, Hipokampal ve Korteks NGF İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları	77
6.9. BDNF Hipokampal Gen Ekspresyonu Analiz Sonuçları, Hipokampal ve Korteks BDNF İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları	81
6.10. IGF-I Geni Hipokampal Gen Ekspresyonu Analiz Sonuçları, Hipokampal ve Korteks IGF-I İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları	85

7. TARTIŞMA	89
7.1. Deney Başlangıcı ve Deney Sonu Vücut Ağırlığı ve Serum Kolesterol Düzeyleri	91
7.2. Transvers Kas lifi Alanı Ölçümleri	92
7.3. Holeboard testi ve Serum Kortizol değerleri	92
7.4. Obje Tanıma Testi ve Tanıma Belleği	94
7.5. Serum IGF-I Düzeyi	97
7.6. Beyin MDA, MPO, Lusigenin ve GSH Düzeyleri.	98
7.7. Beyin NO Aktivite Düzeyi	104
7.8. Hipokampal APP Gen Ekspresyonu ve A β İmmunohistokimyasal Değerlendirme skoru	106
7.9. Hipokampal NGF Gen Ekspresyonu ve Beyin NGF İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları	109
7.10. Hipokampal BDNF Gen Ekspresyonu ve Beyin BDNF İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları	112
7.11. Hipokampal IGF-I Gen Ekspresyonu ve Beyin IGF-I İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları	114
7.12. Sonuç ve Öneriler	116
8. KAYNAKLAR	121
9. EK	167
Ek 1: Etik Kurul Onayı	167
10. ÖZGEÇMİŞ	168

VI- KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

AC: Adenilil siklaz

Ach: Asetilkolin

AE: Aerobik Egzersiz

AGEs: İleri Glikasyon Son Ürünleri

AH: Alzheimer Hastalığı

AICD: Amiloid prekürsör protein intraselüler sitoplazmik/C-terminal domain.

AKT: Protein kinaz B

AlCl₃: Alüminyum klorid

ANOVA: Yönlü Varyans Analizi

APO E: Apolipoprotein E

APP: Amiloid Prekürsör Protein

APP_s: Çözülebilir amiloid prekürsör protein

AS: Alzheimer Sedanter

A β : Amiloid Beta

BACE: β Sekretaz Enzimi

BDNF: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör

CAMKII: Ca²⁺/kalmodulin-bağımlı protein kinaz II

cGMP: Siklik GMP

DAG: Diaçil gliserol

DE: Direnç Egzersizi

D-GAL: D-Galaktoz

DSM-IV: Diyagnostik ve istatistiksel mental bozukluk kriterleri -IV

EH: Endotelyal hücre

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

ER: Östrojen reseptör

ERK/MAPK: Ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz/ Mitojen aktive protein kinaz

Fe²⁺: Demir

GDNF: Glial hücre hattı kaynaklı nörotrofik faktör

GLUT -I: Glikoz Taşıyıcı -I

GR: GSH redüktaz

GSH: Glutasyon

H₂O₂: Hidrojen peroksit

IDE: İnsülin Degrade Edici Enzim

IGF-I: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü I

IGF-IR: IGF-I reseptör,

IL-12: İnterlökin 12

IL-1 β : İnterlökin -1 Beta

IL-6: İnterlökin 6

INF-g: İnterferon Gama

KE: Kombine Egzersiz

LP: Lipid peroksidasyon

LRP-1: Lipoprotein reseptörü ilişkili protein

LTD: Uzun Süreli Depresyon (Baskılanma)

LTP: Uzun Süreli Potansiyel Artışı

MDA: Malondialdehit

MMP: Matriks Metallo Proteinaz

MPO: Miyeloperoksidaz

NADPH: Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

NFT(NFY): Nörofibriler Yumaklar

NF-κB: Nükleer Faktör Kappa B

NGF: Sinir Büyüme Faktörü

NMDA: N-metil D-aspartat

NO: Nitrik Oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

NOX: Nitrojen Oksit

ONOO.: Peroksinitrit

OVT: Overektomi

P3: İnert P3 fragmanı

p-CREB: Fosforile cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein

PI3: Fosfoinositol 3

PI3K: Fosfoinositol 3 kinaz

PKG: Protein Kinaz G

PLCγ: Fosfolipaz C gama

p-MAPKII: Fosforile mitojen aktive kinaz II

Pro-BDNF: Öncül BDNF

PRRs: Patern (Kalıp) Tanıma Reseptörleri

PS1: Presenilin 1 geni

RAS: Ras ailesi proteinleri

RNS: Reaktif Nitrojen Türleri

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

SOD: Süperoksit dismutaz enzimi

SP: Senil Amioid Plak

SSS: Santral Sinir Sistemi

STZ: Streptozotosin

TNF- α : Tümör Nekrozu Faktörü α

TRKB-R: BDNF reseptörü

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

α : Alfa **β :** Beta **γ :** Gama

α -CTF: C terminal fragman alfa

B-CTF: C terminal fragman beta

γ -sekretaz: Gama sekretaz

δP : Hidrostatik basınç

D-GAL: D-Galaktoz

VII- TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: DSM-IV Kriterlerine Göre Alzheimer Tipi Demans	10
Tablo 2: Grupların Adlandırılması	51
Tablo 3: Deney Başlangıcı ve Deney Sonu Vücut Ağırlığı Değerleri	66
Tablo 4: Ortalama Kas Lifi Alanı	67
Tablo 5: Özet Bilgi Tablosu	119

VIII-ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1A. APP'nin şematik yapısı	14
Şekil 1 B-C. APP nin α ve γ sekretazlarla, non-amiloidojenik işlenmesi	14
Şekil 2. Oksidatif stresin yol açtığı aşırı reaktif oksijen metabolitlerinin yaşlanmaya olan etkileri	18
Şekil 3. Tau izoformlarının fosforilasyonu	20
Şekil4. Tau agregatları ve mikrotübül ile tau ilişkisi	20
Şekil 5. İntrasellüler nörofibriler yumak oluşumu	21
Şekil 6. Hasarın neden olduğu nöroinflamatuvar süreç	22
Şekil 7. Nöroplastisite yükünü arttıran çeşitli faktörler	24
Şekil 8. AH gaz modelin hipotetik aşamaları	26
Şekil 9. Antibaloncuk biyomakinası olarak NADPH-NADP sistemi	26
Şekil 10. Östrojen reseptörleri (ERs) etki mekanizmaları	34
Şekil 11. Düzenli fiziksel egzersizin nöroprotektif mekanizması	38
Şekil 12. TrkA reseptörüne bağlanan NGF ve sinyal yolları	41
Şekil 13. BDNF'nin etki mekanizması	42
Şekil 14. Egzersizle birlikte artan BDNF'nin retrograd ve anterograd olarak salgılanması	43
Şekil 15. Egzersiz esnasında IGF-I sinyalinin BDNF aracılı sinaptik plastisite ile kesişmesi hipotezi	44
Şekil 16. Uzun süreli bellek çeşitlerinin sınıflandırılması	45
Şekil 17. İki örnek obje-tek ortamlı yeni obje tanıma testi	49

Şekil 18. Deney protokolü	53
Şekil 19. Plazma kolesterol düzeyleri	66
Şekil 20. Holeboard testi ve serum kortizol düzeyleri	69
Şekil 21. Yeni obje tanıma testi	70
Şekil 22. Serum IGF-I düzeyleri	71
Şekil 23. Beyin MDA, MPO, Lusigenin, GSH düzeyleri ölçümü	73
Şekil 24. Beyin NO aktivite düzeyi ölçümü	74
Şekil 25. APP695 hipokampal gen ekspresyonu düzeyleri ve A β protein skorları	75
Şekil 26. NGF geni hipokampal gen ekspresyonu, hipokampal NGF ve korteks NGF İmmunohistokimyasal değerlendirme skoru.	78
Şekil 27. BDNF hipokampal gen ekspresyonu, hipokampal ve korteks BDNF immunohistokimyasal değerlendirme skoru	82
Şekil 28. Hipokampal IGF-I gen ekspresyonu, hipokampal IGF-I ve korteks IGF-I immunohistokimyasal değerlendirme skoru.	86
Şekil 29. Nöronda APP işlenmesi	109
Şekil 30. Deneysel Alzheimer modeli ile oluşan değişiklikler	118

IX- RESİM LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1. Overektomi (OVT) operasyonu	52
Resim 2. İntraperitoneal enjeksiyon	53
Resim 3. Hayvanlara yüzme egzersizi yaptırılması	54
Resim 4. Hayvanlara direnç egzersizi yaptırılması	55
Resim 5. Holeboard (delikli levha) testi	56
Resim 6. Obje tanıma testi	57
Resim 7. Kalpten kan alınışı	58
Resim 8. Kas dokuları	58
Resim 9. Laica CM1950 kriyomikrotom ile kesit alımı.	59
Resim 10. Hipokampus A β boyamaları	76
Resim 11. Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL grupların hipokampal NGF boyamaları	79
Resim 12. Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL grupların korteks NGF boyamaları	80
Resim 13. Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL grupların hipokampal BDNF boyamaları	83
Resim 14. Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL grupların korteks BDNF boyamaları	84
Resim 15. Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL grupların hipokampal IGF-I boyamaları	87
Resim 16. Taklit cerrahi ve OVT+ D-GAL grupların korteks IGF-I boyamaları	88

Sıçanlarda Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Farklı Egzersiz Yöntemlerinin Kognitif Fonksiyonlar Üzerine Etki Mekanizmalarının İncelenmesi

Öğrencinin Adı: Dilek Özbeyli **Danışmanı:** Doç. Dr. Özgür Kasımay

Anabilim Dalı: Fizyoloji Anabilim Dalı

1. ÖZET

Amaç: Deneysel Alzheimer hastalığı (AH) modelinde farklı egzersiz yöntemlerinin kognitif fonksiyonlara olan olası koruyucu etki mekanizmalarının araştırılması.

Gereç ve Yöntem: Overektomi ve 6 hafta D-galaktoz (100 mg/kg, ip) uygulanarak Alzheimer benzeri model oluşturuldu. Overektomize+D-Galaktoz (OVT+D-GAL) ve taklit cerrahi grupları sedanter, aerobik, direnç veya kombine egzersiz olarak alt gruplara ayrıldı (n:8/grup). Aerobik egzersiz (AE) olarak günde 60dk. yüzme, direnç egzersiz (DE) olarak günde 8 set ağırlıklı merdiven çıkma, kombine egzersiz olarak (KE); dönüşümlü AE ve DE, 6 hafta ve haftada 3 gün yaptırıldı. Sinir Büyüme Faktörü (NGF), Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü- I (IGF-I) ve Amiloid Prekürsör Protein (APP695) gen ekspresyonları yapıldı. Amiloid Beta (A β), NGF, BDNF ve IGF-I için immunohistokimya tekniği uygulandı. Kognitif fonksiyonlar ve beyin malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), lusigenin, serum IGF-I düzeyleri ve nitrik oksit (NO) aktivitesi ölçüldü.

Bulgular: OVT+D-GAL sedanter grubunda azalan yeni obje ile geçirilen zamanegzersizlerle arttı (p<0,05-0,01). Serum IGF-I düzeyi egzersizlerle arttı (p<0,05-0,001). OVT+D-GAL sedanter'de azalan korteks NGF immunohistokimyasal skoru kombine egzersiz ile arttı (p<0,05).OVT+D-GAL sedanter'de artan APP mRNA düzeyi kombine egzersiz ile azaldı (p<0,05). OVT+D-GAL sedanter'de artan A β immunohistokimyasal skorları direnç ve kombine egzersiz ile azaldı (p<0,05). Beyin NO aktivitesi OVT+D-GAL gruplarında kontrollerine göre yüksekti (p<0,01). OVT+D-GAL sedanter'de azalan GSH düzeyleri egzersizlerle arttı, artan MDA düzeyleri egzersizlerle azaldı (p<0,05).

Sonuçlar: Sonuçlarımız farklı egzersiz modellerinin AH gelişim sürecinde oksidatif stresi azaltarak ve nöroplastisiteyi arttırarak yararlı olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Alzheimer, Egzersiz, IGF-I, NGF, BDNF

Investigations on mechanism of action of various exercise methods on cognitive functions in an experimental rat model of Alzheimer

Student's name: Dilek Ozbeyli **Supervisor:** Assoc. Prof. Dr.Ozgur Kasimay Cakir

Department: Physiology

2. SUMMARY

Objective: Investigate mechanisms of probable preventative effects of various exercise methods on cognitive functions in an experimental model of Alzheimer's Disease (AD).

Materials and Methods: D-galactose (100 mg/kg) or saline was administered by intraperitoneally to ovariectomised (OVX) or sham-operated rats (n=8). Aerobic/1 hour/day (AE;swimming), resistance/8 climbing series (RE;climbing with weight on vertical ladder) and combined exercises (aerobic+resistance/alternately) (CE) were performed for 3 times a week for 6 weeks. Cognitive functions, malondialdehyde (MDA), glutathion (GSH), lucigenin, NO levels of brain, circulating IGF-I (Elisa), hippocampal mRNA levels of Nerve Growth Factor (NGF), Brain derived Neurotrophic factor (BDNF), IGF-I and Amyloid precursor protein APP695 (RT-PCR) were measured. Immunocytochemical technique was applied for Amyloid Beta (A β), NGF, BDNF IGF-I.

Findings: Decreased the time with the novel object of OVX+D-GAL sedentary group were increased by exercise (p<0,05-0,01). Serum IGF-I levels were increased by exercise (p<0,05-0,001). Decreased cortex NGF levels of OVX+D-GAL sedentary group were increased by CE. APP mRNA levels increased in OVX+D-GAL sedentarygroup, decreased via RE. Increasing A β score in OVX+D-GAL sedentarywere decreased by RE and CE (p<0,05). NO activity levels of OVX+D-GAL group were found to be higher (p<0,01). Descending GSH levels in OVX+D-GAL sedentary group were increased, increasing MDA levels were reduced by exercise (p<0,05).

Results: We may propose that various exercise models are usefull in AH development stage by means of reducing oxidative stress and increasing neuroplasticity.

Keywords: Alzheimer, Exercise, IGF-I, NGF, BDNF

3.GİRİŞ ve AMAÇ

Alzheimer hastalığı (AH) hafıza, dikkat ve sosyal fonksiyonlarda bozulmaya ve demansa neden olan nörodejeneratif bir hastalıktır (Moodly ve Chan, 2014). AH yaşlı popülasyonu etkileyen demans vakalarının %50-70'ini oluşturur, senil plaklar ve nörofibriler yumakları içeren protein birikimi ve ilerleyici nöronal dejenerasyon, çeşitli psikiyatrik ve davranış bozuklukları ile seyreder ve ölümle sonuçlanır (Maccioni ve ark., 2001; Zhang ve ark., 2012). AH Amerikan Ulusal Yaşlılık Enstitüsünün tanımına göre de hafızada, düşünme yeteneği ve hatta en basit işlerin yapılmasında dahi bozulmaya neden olan geri dönüşümsüz, progresif bir beyin hastalığıdır. Hastalığın erken yaşlarda başlayan otozomal dominant genetik geçiş özelliğine sahip ailesel formları, olguların ancak % 3-5'ini oluşturur. Geriye kalan olgular sporadiktir. Kesin tanı, progresif demans bulguları olan hastaların biyopsi ya da otopsilerinde AH'ya özgü patolojik bulguların saptanması ile konulabilir. Bu patoloji bulguları, nörofibriler yumaklar, nörotik plaklar, belirgin sinaps kaybı, nöron kayıpları ve nöronal granülovakuoler dejenerasyon ve Meynert'in bazal nukleusundaki kolinerjik hücrelerde kayıp ve aterosklerotik değişikliklerdir (Selekler, 2010). Son yıllarda hastalık belirtilerinin ortaya çıkmasından yıllar önce biyokimyasal belirteçlerin ya da tarama prosedürlerinin kullanılarak hastalığın çok erken teşhisinin yapılabileceğine dair kanıtlar literatüre girmiş ve panel şeklinde biyokimyasal ölçüm parametrelerinin uygulanması ve görüntüleme prosedürleri nörologlar tarafından kullanılmaya başlanmıştır (Wurtman, 2014). AH patofizyolojisinde halen tartışılan kolinerjik hipotez, amiloid beta (A β) hipotezi, tau hipotezi, oksidatif hasar ve inflamasyon hipotezi gibi farklı hipotezler bulunmaktadır (Kumar ve ark., 2015). Ancak bu hipotezlerin hiçbirisinin tek başına hastalığı açıklamaya yetmediği genel olarak kabul görmektedir.

İdeal tedavi stratejisi; hastalığa neden olan altta yatan patolojinin tedavisi ile hastalığın ilerlemesinin tamamen durdurulmasıdır. Günümüzde mevcut tedaviler isesemptomları gidermek, hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak ve hastanın günlük yaşamdaki aktivitesini arttırmaya yöneliktir. AH için etkin ilk semptomatik tedavi, kolinerjik yerine koyma tedavisidir (Tricco ve ark., 2012) ancak altta yatan

nörodejenerasyonu önleyici etkisi yoktur. Alzheimer hastalığının psikolojik ve davranışsal semptomları'nın tedavisi de hastaların diğer tıbbi sorunları nedeni ile kullanmakta olduğu ilaçlarla etkileşim riski nedeni ile oldukça problemlidir (Selekler, 2010). Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı AH'da iyileştirici tedavi arayışları sürmektedir.

Günümüzde AH ile ilgili çalışmalarda deneysel hayvan modelleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlardan birisi de Overektominin neden olduğu östrojen yoksunluğu ve D-galaktozun neden olduğu oksidatif stresin sinerjistik etkisinin AH gelişimiyle yakın ilişkili olduğu tespitinden yola çıkılarak geliştirilen ve literatürde kabul gören Overektomize sıçanda kronik D-galaktoz uygulamasıyla oluşturulan deneysel AH modelidir (Hua ve ark., 2007). Mevcut çalışmada AH'nın patolojik, nörokimyasal ve davranışsal belirtilerini taklit eden uzun dönemli D-galaktoz tedavisi alan Overektomize sıçan modeli kullanılmıştır. Bu modelde sıçanlarda; yüksek dereceli kognitif fonksiyonlar ve hafızada bozulma, önbeyin, hipokampus ve serebral kortekste nöron kaybı ve sinaptik dejenerasyon, hipokampusta Amiloid beta (A β) pozitif hücreler, nörofibriler yumaklar ve nükleer granülovakuoler cisimciklerin varlığı gösterilmiştir (Hua ve ark., 2007). D-galaktozun oksidatif hasar mekanizması üzerinden etki ettiği ve lipid peroksidasyona (LP) neden olduğu bilinmektedir. LP'nin beyinde orta derecede amnezik kognitif bozukluk yaptığı ve hastalığın erken evrelerinde patogeneizde rol oynadığı Markesbery ve ark. tarafından gösterilmiştir (Markesbery, 2005).

Egzersiz AH riskini düşürmek için nonfarmakolojik yaklaşımlar içinde değerlendirilmektedir (Pang ve Hannan, 2013). Genel olarak egzersizin organizmanın antioksidan kapasitesini arttırdığı ve nörotrofinleri ve büyüme faktörlerini arttırarak beyin nöroplastisitesini arttırdığı düşünülmektedir (Paillard ve ark., 2015). İnsanlarda fiziksel ve mental egzersizin yaşlanma sürecini etkilediğini, egzersizle birlikte kognitif fonksiyonların geliştiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Dustman ve ark., 1984). Ancak haftada 3 gün yapılacak yüzme ve direnç egzersizlerinin ve bunların dönüşümlü olarak kombine şekilde yapılmasının Alzheimer hastalığına etkisi ve altta yatan mekanizmaları tam olarak aydınlatılabilmiş değildir ve literatürde D-galaktoz ve overektomi ile oluşturulan

Alzheimer hastalığı modelinde yüzme ve direnç egzersizlerinin ve bunların kombine şekilde yapılmasının etkisi hakkında bir çalışma yoktur.

Hastalığın önemli semptomu öğrenme ve hafızada ilerleyici kayıptır. Bu hafıza kaybı tedavi edilmezse hızlı ilerler, yön bulmada bozulmalar, psikolojik problemler ve davranış bozuklukları da bu tabloya eşlik eder. Mevcut çalışmada kognitif fonksiyonlar ve davranış bozuklukları sırasıyla obje tanıma testi ve delikli levha testi ile değerlendirilmiştir.

Öğrenme sürecinde bazal önbeyin kritik bir bölgedir. Bu bölge yaşlanma ve AH'da büyük oranda dejenerasyon olan kolinerjik nöronları içermektedir (Hefti, 1994). Literatürde egzersizin kognitif fonksiyonların üzerine olan olumlu fizyolojik etkilerinin öğrenme ve bellekle ilişkili beyin bölgelerindeki nörotrofin seviyelerindeki artışa bağlı nöroplastisite ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Cotman ve Berchtold, 2002). Nöroplastisitedeki yetmezliğin ise AH'nın patogenezinde rol aldığı bilinmektedir (Mesulam, 2000). Nörotrofinler (NGF ve BDNF) bazal önbeyindeki kolinerjik nöronların beslenmesini ve devamlılığını sağlarlar. Hipokampus bazal önbeyinle yakın ilişkiindedir ve nörotrofinlerin ana kaynağıdır (Mufson ve ark., 1999). IGF-I'in de egzersizle artan öğrenme ve hafızadaki rolü bilinmektedir (Trejo ve ark., 2001). Fiziksel egzersiz hipokampusta IGF-I, NGF ve BDNF seviyelerini artırır (Neeper ve ark., 1996, Cassillas 2012). Egzersizin beyin nöroplastisitesi üzerine olan olumlu etkilerinin AH'nın gelişim sürecinde koruyucu olup olmadığının araştırılması amacıyla çalışmada hipokampal nörotrofin ve büyüme faktörlerinin (IGF-I) gen ekspresyonu ve protein seviyesi düzeylerinde bakılmıştır. Ayrıca fiziksel egzersizin dolaşımdaki IGF-I'in nöronal alımını arttırarak beyin fonksiyonları üzerine olan yararları ve bu peptidin periferik uygulamasından sonra güçlü nöroprotektif etkileri olduğu gösterilmiştir (Carro ve ark., 2000). Bu nedenle çalışmamızda hem serum hemde hipokampustaki IGF-I düzeylerine de ayrıca bakılmıştır. Düzenli fiziksel egzersizin antioksidan etki gösterdiği (Cabrera ve ark., 2008) ve oksidatif stresin de AH'daki patogenezinde rolü olduğu bilinmektedir (Nunomura ve ark., 2001). Bu nedenle çalışmada oksidatif hasar parametreleri ile antioksidan seviyeleri bakılmıştır. Bunun yanısıra NO'nin AH patogenezinde rol aldığına dair son yıllarda yapılan çalışmalar ışığında (Denis, 2013) uygulanan deneysel modelde NO aktivitesinin de değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Egzersiz sıklığı olarak haftada 3 gün ve 6 hafta süresince yapılan aerobik (yüzme) ve direnç (ağırlıklı merdiven çıkma) egzersizlerinin ve bunların dönüşümlü olarak kombine şekilde yapılmasının kognitif fonksiyonlar ya da Alzheimer hastalığı üzerine olan etkileri hakkında literatürde çalışma bulunmamaktadır. Alzheimer hastalarında egzersiz reçetelendirmesi yaparken hastaların günlük hayatlarına daha kolay adapte edebilecekleri egzersiz sıklıklarının uygulanması egzersizlerin devamlılığının sağlanması için önemli bir husustur. Bu nedenle çalışmada Alzheimer hastalarının daha kolay yapabileceğini düşündüğümüz 3 günlük egzersiz modelleri seçildi ve bu egzersizlerin 6 hafta süre ile yapılması planlandı.

Özet olarak yukarıdaki bilgilerin ışığında mevcut çalışmada sıçanlarda overektomi ve D-galaktoz uygulamasıyla deneysel olarak oluşturulmuş AH modelinde farklı egzersiz modellerinin ve kombinasyonlarının kognitif fonksiyonlara olan etkileri ve aracılık eden mekanizmaların araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızın Alzheimer hastalarının gündelik yaşantılarında kolaylıkla yapabilecekleri, hastalığa uygun egzersiz reçetelendirmesinin yapılandırılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Alzheimer Hastalığı Tanımı ve Tarihçesi

4.1.1. Tanım

Alzheimer hastalığı beyindeki atrofik değişiklikler sonucunda hafıza, dikkat ve yönetici fonksiyonlarda bozulmaya ve demansa neden olan nörodejeneratif bir hastalıktır (Moodly ve Chan, 2014). AH yaşlı popülasyonu etkileyen demans vakalarının %50-70'ini oluşturur, senil plaklar ve nörofibriler yumakları içeren protein birikimi ve ilerleyici nöronal dejenerasyon, çeşitli psikiyatrik ve davranış bozuklukları ile seyreder ve ölümle sonuçlanır (Maccioni ve ark., 2001; Zhang ve ark., 2012). Alzheimer hastalığı (AH) Amerikan Ulusal Yaşlılık Enstitüsünün tanımına göre de; hafızada, düşünme yeteneği ve hatta en basit işlerin yapılmasında dahi bozulmaya neden olan geri dönüşümsüz, progresif bir beyin hastalığıdır (www.nia.nih.gov/alzheimers/topics/alzheimers-basics, erişim tarihi 01.12.2015).

4.1.2. Alzheimer hastalığının tarihçesi

Alzheimer Hastalığına adını veren Alois Alzheimer (1864-1915) bir Alman psikiyatristi ve nöropatoloğudur. Alois Alzheimer 1901 yılında ilk kez karşılaştığı 51 yaşındaki hasta August D'nin 1906'da ölümünden sonra yaptığı otopside daha önceleri de yaşlı beyinlerinde saptanan senil plaklara ilave olarak Dr. Kraepelin' in laboratuvarında ilk defa gümüş boya ile nörofibriler yumakları gözlemledi ve daha önce hiç bilinmeyen bu bulgunun yeni bir hastalığa işaret ettiğini düşündü. Dr. Alzheimer 1906 yılında Genel Psikiyatri ve Adli Tıp Dergisi "Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychich-Gerichtliche Medizine" de "Serebral Korteksin Özgün Bir Hastalığı" başlığı altında bulgularını yayınladı.

Dr. Alzheimer'in klinik Őefi psikiyatrist Dr. Emil Kraepelin, 1910'da yayınladığı ‘‘Klinik Psikiyatri’’ adlı kitabının 8. baskısının 627. sayfasında, ‘‘Senil Beyin Hasarı’’ baŐlıđından sonra ilk kez ‘‘Alzheimer Hastalığı’’ terimini kullandı. İlginç bir Şekilde 1907'de dikkat çekmeyen bu makale ancak 70 yıl sonra dikkatleri üzerine çekmeye baŐladı (Selekler, 2010; Zilka ve Novak, 2006; Ramirez ve Bermudez, 2012). Glenner ve Wong, 1984 yılında β -Amiloid proteinin amino asit sekansını rapor etmişlerdir (Glenner ve Wong, 1984) ve bu çalışma amiloid hipotezin başlangıcı kabul edilebilir (Tanzi ve Bertram, 2005).

4.2. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi ve Tanı Kriterleri

4.2.1. Alzheimer hastalığının epidemiyolojisi

Yaşlı popülasyonun arttığı toplumlarda demans önemli bir sağlık problemi olup en sık karŐılaŐılan nedeni AH' dir. 2050 yılında dünya nüfusunun %25'inden fazlasının 65 yaŐın üzerinde olacağı ve 106.2 milyon yeni AH vakasının teŐhis edileceği öngörülmektedir (Brunnström ve ark., 2009). Zira yaşlanma AH için primer risk faktörüdür (Bonda ve ark., 2014). Tüm demans vakalarının yaklaşık % 65'ini oluşturan AH'nın prevalansı 65 yaş üzerinde %6-10, 85 yaş üzerinde %30-47 dir. Prevalans 60 yaşından sonra her beŐ senede bir iki katına çıkar (Selekler, 2010). 2008'de yapılan ‘Türkiye Alzhemier Hastalığı Prevalansı Çalışması’nda 70 yaş üzerinde AH prevalansının %11 olduğu belirlenmiŐtir buna göre Türkiye’de 250-300 bin AH’li hasta olduğu varsayılmaktadır (Gürvit ve ark., 2008). Ortalama yaşam süresinin giderek uzamasına bağlı AH’lı hasta sayısının artacağı bir gerçektir. Diğer taraftan prevalans çalışmaları AH başlangıcını 5 yıl erteleyebilmenin hastalık prevalansını yarıya indireceğini öne sürmektedir (Bickel ve Kurz, 2009). AH için en önemli risk faktörü yaŐtır ve arttıka AH’ya yakalanma olasılığı da artmaktadır. AltmıŐ beŐ yaŐın üzerinde her beŐ yılda bir prevalans iki katına çıkmaktadır (Selekler, 2010). AH çoğunlukla sporadik olarak görülmekte olup yaklaşık %5 kadar olgu genetik kökenlidir. Genetik geçiŐli erken başlangıçlı AH’de otozomal dominant geçiŐli 3 ayrı gen bulunmuştur. Bu genler; 21. kromozomda bulunan amiloid

prekürsör protein (APP) geni, 14. kromozomda bulunan presenilin 1 geni (PS1) ve 1. kromozomda bulunan presenilin 2 geni (PS2)'dir ve kodladıkları 3 proteinde, nöronal plastisitede rol oynadıkları düşünülen transmembran proteinleridir. İlişkili genlerdeki mutasyonlar A-beta amiloid metabolizmasını bozarlar ve A β seviyesini arttırlar ve hastalığın 60'lı yaşlardan önce başlamasına yol açarlar (Schellenberg, 1995). Erken başlangıçlı tüm Alzheimer vakalarının yaklaşık %50'sinin nedeni olan mutasyon kromozom 14'de PS1 geninde bulunmuştur. Bu mutasyon olan bireylerde AH 40–50 yaş civarında başlar (Cruts ve ark., 1998).

Geç başlangıçlı AH olgularında ise kolesterol transportunda görevli bir serum proteini olan APO E'yi kodlayan apolipoprotein E (APO E) geninde (kromozom 19) mutasyon söz konusudur. APO E geni 3 allelik formda bulunur; ϵ 2, ϵ 3 ve ϵ 4. Normal kişilerde alel dağılımı ϵ 3 %70, ϵ 4 %20 şeklinde iken, AH'li grupta ϵ 4 iki kat fazla (%40) bulunmaktadır. APO E gen mutasyonu, diğer üç gen mutasyonu gibi hastalığın mutlak ortaya çıkışına yol açmaz ancak AH'nin ortaya çıkma olasılığını artırır (Amaducci ve ark., 1992). Hastalığın diğer olası risk faktörleri ise; kadın cinsiyeti (Gao, 1998), düşük eğitim düzeyi (Bickel ve Kurz, 2009), Down Sendromu, nöronal hasara neden olan kafa travması, diyabet (Mendez ve ark., 1992), majör depresyon (Nihonmatsu- Kikuchi ve ark., 2013), uzun süreli alkol kullanımı (Tyas, 2001), kronik stres (Machado ve ark., 2014) ve yüksek miktarda doymuş yağ ile beslenme (Morris ve ark., 2003) olarak sayılabilir.

4.2.2. Alzheimer hastalığının tanı kriterleri

Kesin Alzheimer tanısı, biyopsi veya otopside alınan dokuların histopatolojik olarak incelenmesiyle konulabilir. Klinik olarak, hasta öyküsü, fizik ve nörolojik muayeneler, kognitif testler, görüntüleme yöntemleri ve laboratuvar incelemeleri ile de olası klinik tanı konulabilir. 2001 yılında Amerikan Nöroloji Akademisi tarafından AH için standart tanı kriterleri olarak uluslararası DSM-IV kriterlerinin (Tablo 1) kullanımı güvenilir bulunarak önerilmektedir (Selekler, 2010).

Tablo 1. DSM-IV Kriterlerine Göre Alzheimer Tipi Demans

(American Psychiatric Association, 1994)

A. Birden çok alanda kognitif kayıp gelişimi: Hafıza bozukluğu

Aşağıdakilerden en az bir tanesi

Afazi

Apraksi

Agnozi

Planlama, organizasyon, soyutlama gibi yürütücü kognitif fonksiyonlarda bozulma

B. Sosyal yaşam ve mesleki işlevlerde bozulma ve daha önceki işlev seviyesine göre anlamlı gerilemeye yol açan kognitif kayıp

C. Yavaş başlangıçlı ve ilerleyici kognitif ve fonksiyonel gerileme ile giden bir seyir

D. Diğer demans nedenlerinin ekarte edilmiş olması (sistemik, metabolik, iatrojenik, nörolojik, psikiyatrik)

Kaynak: (Selekler, 2010)

4.3. Alzheimer Hastalığının Makroskopisi, Histopatolojisi

4.3.1. Alzheimer hastalığının makroskopisi, histopatolojisi

Makroskopik olarak kortekste ve hipokampusta yaygın atrofi (Elmacı, 2012), serebral giruslarda düzleşme ve sulkuslarda genişleme görülür. Temporal lob ve özellikle hipokampus daha az olarak da frontal ve parietal loblar atrofiye olurken, oksipital lob ve motor korteks sağlam kalmaktadır ancak bu atrofi AH için ayırt edici değildir. Fikse beyin örneklerinde kortikal tabakada incelme, beyaz maddede ise hacimsel bir azalma izlenmektedir. Ventriküler sistemde ise özellikle lateral ventrüllerin temporal boynuzlarında genişleme görülür (Sezer ve Leyla, 2001).

Histopatolojik olarak hastalığın evresinin derecesine göre değişen oranlarda; temel bileşeni hiperfosforile 'tau' proteini olan intrasellüler nörofibriler yumaklar (NFY), ana bileşeni amiloid beta proteini olan (A β) ekstrasellüler senil amiloid plaklar (SP), granülovakuoler dejenerasyon, sinaps ve nöron kaybı ve özellikle korteks ve hipokampusta atrofi saptanır (Katzman ve Saitoh, 1991). Senil amiloid plak oluşumu özellikle amigdala, hipokampus ve neokortekste görülür (Khachaturian, 1985; Probst ve ark., 1991). SP'ler ve NFY'ler normal yaşlanmada ve bazı başka nörodejeneratif hastalıklarda görülebildiği için AH'nin kesin tanısında

NFY'lerin neokortekste ve SP'lerin ise nöritik plak görünümünde limbik sistemde olmaları gereklidir (Gürvit, 2004). Bunların yanında reaktif mikrogliozis ve astrogliozis de diagnostik belirteçler arasındadır (Stancu ve ark., 2014).

4.4. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi

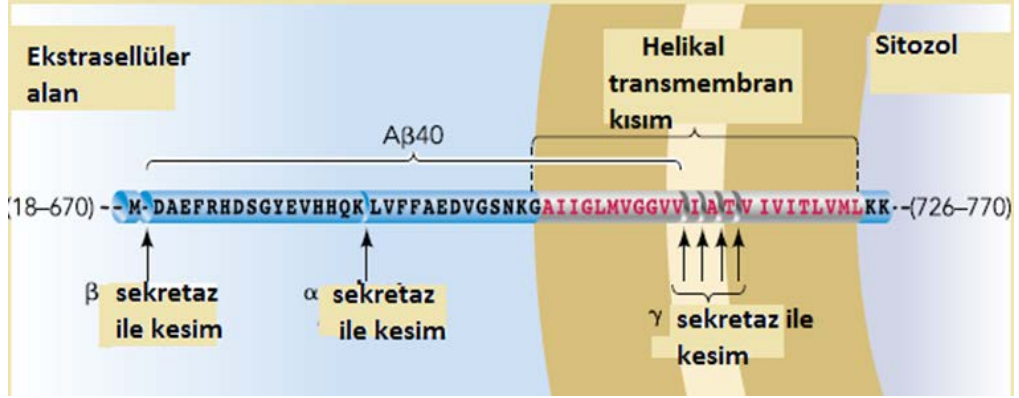
Hastalığın patofizyolojisini açıklamaya çalışan kolinerjik hipotez, amiloid beta (A β) hipotezi, tau hipotezi, ve inflamasyon hipotezi gibi farklı hipotezler mevcuttur (Kumar ve ark., 2015). AH ile ilişkili hipotezlerin temelinde hücredeki moleküler anomalilerin nöronal yetmezliğe neden olmasını açıklayan mekanizmalar bulunmaktadır. Bu mekanizmalar; anormal protein katlaması ve birikimi (Walker ve ark., 2013), oksidatif stres (Yan ve ark., 2013), hücre döngüsünde bozukluk (Moh ve ark., 2011), mitokondriyal disfonksiyon (Zhu ve ark., 2013), sinaptik yetmezlik (Selkoe, 2002), inflamasyon (Heppner ve ark., 2015), kalsiyum regülasyonunda bozulma (Camandola ve Mattson, 2011), kolesterol metabolizmasında hatalar (Grimm ve ark. 2013), damarsal değişiklikler (Shim ve ark., 2015) ve nörotrofinlerin azalması (Capsoni ve Cattaneo, 2005) gibi mekanizmalardır. Bununla birlikte bu faktörleri düzenleyen nedensel ilişkiler hala belirsizdir (Bonda ve ark., 2014).

4.4.1. Protein birikimi ve amiloid hipotez

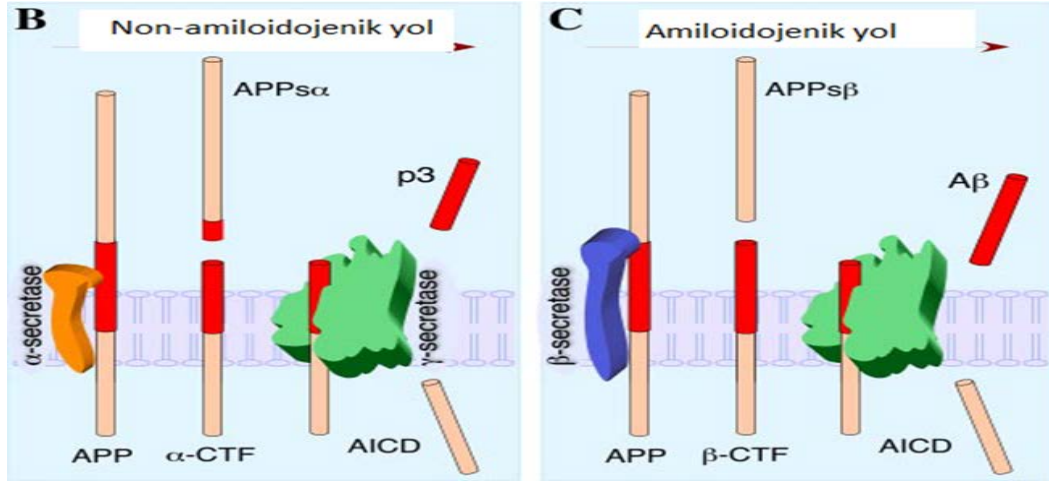
Amiloid prekürsör protein (APP) amiloid kaskat hipotezinin esas unsurudur. 770 amino asitlik (aa) büyük bir membran içi proteini olan ve 21. kromozomda kodlanan APP proteolitik enzimler olan α , β ve γ sekretazlar ile kesilir (Şekil 1- A). APP'nin nöronal aktivite tarafından düzenlenen proteolizi iki şekilde gerçekleşir. İlki amiloidojenik olmayan alfa (α) sekretaz ve gama (γ) sekretaz enzimleri ile oluşan metabolik yolak ikincisi ise beta sekretaz (BACE1 ya da asp2 ya da memapsin2) ve alfa sekretaz (TNF α -dönüştürücü enzim -TACE) enzimleri ile oluşan amiloidojenik yoldur. Non amiloidojenik yol α -sekretaz enziminin APP'yi transmembran bölgesinde 687. pozisyondan kesmesiyle başlar ve amino ucunda nörotrofik etkileri

ile bilinen çözülebilir amiloid prekürsör protein alfa (APPs α) ve karboksil uçta membrana bağlı 83 aa'lık C terminal alfa fragmanı (α -CTF) oluşur. α -sekretaz enzimine alternatif olarak ise amiloidojenik yolda APP, β -sekretaz enzimi ile proteinin amino terminaline 16 aminoasit daha yakın bölgeden kesilebilir. Bu durumda ise çözülebilir amiloid prekürsör protein beta (APPs β) oluşur. α -sekretaz ya da β -sekretazla kesimi takiben, ikinci kesilme işlemi APP'nin yanısıra bir dizi transmembran proteinin daha proteolizinden sorumlu olan bir aspartil proteaz kompleksi olan γ -sekretaz tarafından gerçekleştirilir. İntramembranöz parça γ -sekretaz ile bir dizi ardışık kesimden geçer. İlk kesimde oluşan 49-50 aa'lık APP intraselüler domain (AICD) isimli fragmanın hücre çekirdeğine transloke olarak protein sentezini desteklediği bilinmektedir. γ -sekretazla son kesilme ile ekstrasellülerde ilk kesilme α -sekretaz tarafından gerçekleşti ise inert p3 fragmanı, β -sekretaz tarafından gerçekleşti ise stabil A β peptidi oluşur (şekil 1-B, C). γ -sekretaz enzimi aynı zamanda oluşan A β peptidinin uzunluğunu belirlemektedir (Thinakaran ve Koo, 2008; Saka, 2010). Amiloidojenik yolda β -sekretaz ve γ -sekretaz enzimleri aracılığı ile A β ₁₋₄₀ ve A β ₁₋₄₂ meydana gelmesine karşın A β 'nın yaklaşık olarak %90'ı A β ₁₋₄₀'dır. Ancak amiloid birikiminin ana sorumlusu A β ₁₋₄₂'dir. Molekül, çok hidrofobiktir ve çözelti içinde bir araya gelme eğilimi gösterir. N-terminal bölgesi içindeki α -heliks yapısı kolaylıkla β -tabakaya dönüştürülebilir ve molekülü daha hidrofobik ve agregre olabilir hale gelir (Saido, 2003). Ortama salınan A β monomerler mikrogialar tarafından fagositozla elimine edilebilirler veya insülin degrade edici enzim (IDE), α 2-makroglobulin (α 2-MG), neprilizin ve matriks metalloproteinaz (MMP) gibi proteinleri içeren bir takım şaperon moleküller tarafından vasküler endotelden atılabilir veya düşük dansiteli lipoprotein reseptörü ilişkili protein (LRP-1) aracılığıyla lizozomal veya proteozomal degradasyon için nöronlar ve astrositler içine sokulurlar ancak bunlar yetersiz kaldığında özellikle de potansiyel olarak daha toksik form olan A β 42 gevşek plaklarda birikir ki bu savunma mekanizması da yetersiz olursa monomerler çözülebilir 2-6 peptitlik oligomerler halinde bir araya gelirler. Çözülebilir oligomerler bir dizi sinaptik disfonksiyon mekanizmasını tetikleyerek AH'nın en erken fizyopatolojik belirteci olan öğrenmenin temelini teşkil eden moleküler mekanizma olan long term potansiyalizasyonda (LTP) depresyona neden olurlar

(<http://www.itfnoroloji.org/demans/demans.htm>; Elmacı, 2012). Bu A β peptitler α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionikasit (AMPA) reseptörlerine ve Ca⁺² iyon kanallarına tutunup Ca⁺²'un hücreye girişini arttırabilirler (Ganong, 2011). Oligomerler A β 'dan türeyen difüze olabilen ligand denilen (ADDL) toksik formlara dönüşebilirler ya da çözilemeyen A β fibrillerine de dönüşebilirler. A β fibrilleri de hücre yıkıntı ürünleri olan distrofik nöritlerle birlikte nöritik plaklarda hapsedilirler. Fibriler A β gibi nöritik plaklar da toksik oligomerler için bir tür rezervuar işlevi görürler. Nöritik plaklarda oksidatif hasarı tetikleyebilirler veya mikrogliaları ve astrositleri aktive ederek TNF- α ve IL- β gibi sitokinlerin salınımı, kompleman aktivasyonu ile inflamasyona neden olabilirler işte bu immun aktivasyon nörotoksisitenin başlıca nedeni olarak görülmektedir. Normal yaşlanmada α -sekretaz aktivitesi baskınken AH'da β -sekretaz aktivitesi daha fazladır ya da A β yok edilme mekanizmasında bir bozukluk olduğu düşünülmektedir (<http://www.itfnoroloji.org/demans/demans.htm>, erişim tarihi 10.11.2015; Elmacı, 2012). İnsan A β peptidi monomerler, dimerler, trimerler, tetramerler, oligomerler, öncül fibriller ve olgunlaşmış fibriller gibi farklı şekillerde bulunabilmektedir. Amiloid plakların yapısında ise olgunlaşmış fibriller bulunmaktadır. Patoloji çalışmalarında AH da amiloid plaklar olmazsa olmaz patolojik bulgulardır ve patogenezde A β oluşumunun hastalığı başlattığı hipotezi "amiloid kaskad hipotezi" olarak tanımlanır (Haas ve Selkoe, 2007). AH da senil plaklarda APP'den oluşan A β nın ekstraselüler birikimi söz konusudur (Octave ve Pierrot, 2008). Ancak otopsi çalışmalarında amiloid plakların yoğunluğu ile kognitif yıkım arasında bir ilişkinin varlığı gösterilememiştir. Bu hipotez literatürde tartışma konusu olup amiloid plakların klinik belirtiler ile direkt olarak ilişkili olmadığı rapor edilmiştir (Duyckaerts ve ark., 2009).



Şekil 1 A. APP'nin şematik yapısı. APP'nin A β 40 kısmı büyütülmüş olarak gösterilmiştir. α , β ve γ sekretazlarla kesilme alanları A β 'nin üzerinde işaretlenmiştir (Axelsen, 2011). **A β 40:** Amiloid Beta 40, **α :** Alfa **β :** Beta, **γ :** Gama.



Şekil 1 B-C: B, APP'nin α ve γ sekretazlarla, non-amiloidojenik işlenmesi. C, APP'nin β ve γ sekretazlarla amiloidojenik olarak işlenmesi (Thinakaran, 2008).

APPs α : Çözülebilir amiloid prekürsör protein, **α -CTF:** C terminal fragman alfa, **γ -sekretaz:** Gama sekretaz, **AICD:** Amiloid prekürsör protein intrasellüler sitoplazmik/C-terminal domain. **β -CTF:** C terminal fragman beta. **A β :** Amiloid beta **P3:** İnert P3 fragmanı.

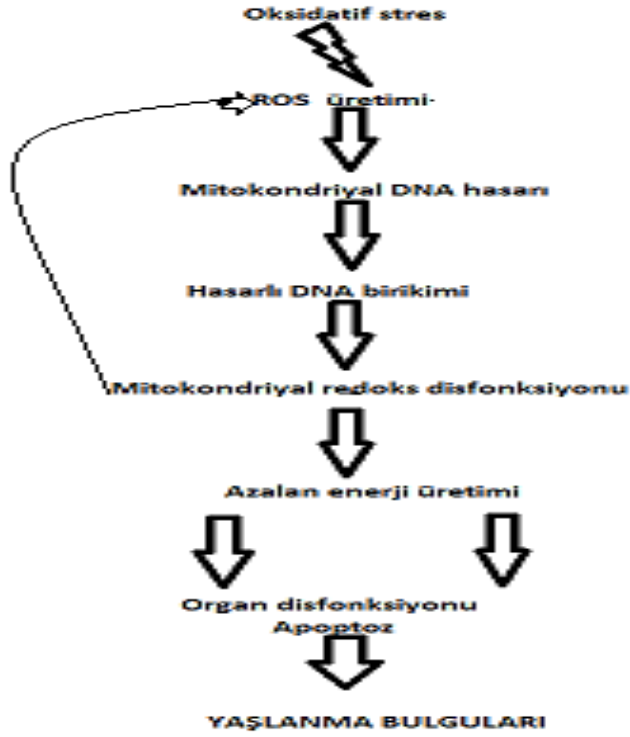
4.4.2. Oksidatif ve nitrooksidatif stres hipotezi

Çeşitli nedenlere bağlı olarak meydana gelen oksidatif hasarın nörodejenerasyona ve nöronal ölüme yol açabileceği öne sürülmüştür. Oksidatif stres reaktif oksijen (ROS) ve nitrojen (RNS) türlerinin üretimi ile antioksidan savunma sisteminin bunları nötralize etme yeteneği arasındaki dengesizlik sonucu oluşur (Persson ve ark., 2014).

Aerobik organizmalarda başta mitokondriyal elektron transportu olmak üzere biyotransformasyon metabolizması, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez ve degradasyon reaksiyonlarında oksijen kullanımının doğal sonucu olarak reaktif oksijen (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) meydana geldiği bilinmektedir (Cooke ve ark., 2003). ROS'un ana kaynağı mitokondrilerin iç membranındaki ATP üretiminde rol alan elektron transport zinciri (ETC) dir. Elektronlar membrana bağlı komplekslerle (kompleks 1-IV) nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) ve indirgenmiş flavin adenin dinükleotit fad (FADH₂) ile ETC'ye transfer edilirken bazı elektronlar iç membrandan sızarak oksijenle temas eder ve süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) oluşur. Bu olay hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil radikali (OH \cdot) ve hidroksil iyonları (OH $^-$) gibi diğer ROS formlarının oluşumuna da neden olur. RNS ler ise süperoksit anyonunun NO ile peroksinitrit (ONOO $^-$) oluşturacak şekilde reaksiyona girdiğinde oluşurlar. Bu da diğer nitrojen dioksit (\cdot NO₂) ve nitropeoksikarbonat (ONOO CO_2^-) gibi RNS türlerinin oluşumuna neden olur (Persson ve ark., 2014). Beyin homeostazının bozulduğu AH ve diğer demanslarda NO molekülünün rol aldığı gösteren kanıtlar vardır ve özellikle damarsal NO aktivitesinin diğer farklı beyin bölgelerindeki NOS izoformlarının aşırı ekspresyonundan önce bu patolojilerde esas rol oynadığı öne sürülmektedir (Aliyev ve ark., 2004). Nörodejeneratif demaslarda yaygın olarak görülen inflamatuvar yanıtlarda nöron ve glialarda NOS ekspresyonunda artış ve NO'nun aşırı üretilmesi söz konusudur ve NO serbest radikal özelliklerinden dolayı nöroinflamasyonun bir bileşeni olarak düşünülmektedir (Togo ve ark., 2004).NO beyinde nöronlar ve vasküler endotel hücreler tarafından üretilir. Endotelial NO endotel tarafından üretildiğinde vazoreleksan olarak, nöronlar tarafından üretildiğinde (AH gibi patolojik koşullarda) nörotransmitter olarak rol oynar. NO hızlı bir reaksiyonla süperoksit tarafından temizlendiğinde meydana gelen ONOO $^-$ potent bir oksidandır ve nitrooksidatif stresin esas bileşenidir. Yüksek konsantrasyonlarda ONOO $^-$ 'den oluşan; yüksek reaktivlikteki oksidatif türler ve nitrooksidatif stresin ikincil bileşenleri olan nitronyum iyonu (NO₂ $^+$), nitrojen dioksit (NO₂) ve hidroksil radikali (OH \cdot) apoptozisi ve nöron ve endotel hücrelerin ölümüne neden olan sitotoksik etkileri başlatır (Maliski, 2007). Prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biomoleküllere

hasar vermektedir (Cooke ve ark., 2003). Oksidatif stres ve reaktif oksijen türleri (H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot}) AH da patolojik bir rol oynamaktadır (Castellani ve ark., 2007) ve en erken görülen sitolojik değişikliklere neden olurlar (Perry ve ark., 2002; Smith ve ark., 2000). Mitokondride ATP sentezine neden olan karbonhidratların işlenmesi ve bir proton gradyanı yaratılması mekanizması elektronların güçlü indirgeyici ajanlardan güçlü okside edici ajanlara kontrollü transferini içerir. Bu esnada bazı serbest radikaller zincir içindeki sıradaki moleküle geçeceklerine mitokondri iç zarını terk ederek hücre içindeki makro moleküllere geçerler ki bu genellikle DNA/RNA da parçalanmaya ve tamir mekanizmalarına zarar verebilir (Bradley ve ark., 2013), enzimlerde ve metabolik sinyal proteinlerinde metabolik yetmezliğe (Hardas ve ark., 2013), proteinlerin çapraz bağlarında ve proteoliz ağında oksidatif değişikliklere ve proteinlerin çözülemez hale gelmesine, anormal agregatlar oluşturmalarına neden olur (Sayre ve ark., 2001). Hasar reaktif oksijen ürünleri oluşumunu daha da arttırmaktadır ve bu döngü yaşla birlikte ölüm hızındaki artışı açıklamaktadır (Sastre ve ark., 2003). Serbest radikallerin hem reaktif oksijen türleri hem de reaktif nitrojen türleri, endojen kaynaklı (mitokondri, peroksizom, ağır metaller, endoplazmik retikulum v.s.) olabildiği gibi dış kaynaklı (ilaçlar, sigara, kirlilik, alkol, radyasyon) da olabilir. Serbest radikaller aslında tüm nöronal makromolekülleri; nükleik asitler, lipidler, proteinler ve karbonhidratları hedefleyerek zarar verirler (Phaniendra ve ark., 2015). Oksidatif stresin AH ve Parkinson gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olduğu ve yaşla beraber aşırı ROS üretiminin apoptozis veya nekroz ile nöronal hasara neden olduğu bilinmektedir. (Casetta ve ark., 2005). Ayrıca oksidatif stresin yaşlanmaya en büyük katkısı olan faktör olduğu göz önüne alındığında yaşla ilişkili tüm nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol alması sürpriz değildir. AH da serbest radikal indüklü makromoleküllerin hasarı iyi bilinmektedir. Fenton reaksiyonu ile en fazla hasarı veren hidroksil radikal birikimi moleküler ve hücresel düzeyde etki eder. DNA ve RNA oksidasyonunda artmış 8-hidroksi-2-deoksiguanosin ve 8-hidroksiguanosin (8-OHG) düzeyleri DNA parçalanmasındaki artışı ve DNA onarımındaki bozulmayı gösterir. Hücrede bulunan kreatin kinaz BB, sitokrom c oksidaz (COX) ve ketoglutarat dehidrojenaz kompleks (KGDH) gibi proteinlerin oksidatif modifikasyonu bozulan metabolik aktivite, tirozin rezidülerinin nitrasyonu ve proteinlerin karbonil düzeylerinin artması ile de

gösterilmiştir. Ayrıca malondialdehitler ve tiyobarbütirik asit reaktif maddeler, malondialdehit (MDA) ve izoprostan ile belirlenen lipid peroksidasyonu hücrenin değişen fosfolipid kompozisyonunun yanı sıra membran bütünlüğünün bozulduğunu akla getirmektedir. Artmış glikasyon ve glikooksidasyon kritik karbonhidrat işleme sürecindeki bozulmaya işaret etmektedir ve tüm bu olaylar AH da kontrole göre artmış olarak bulunmuştur (Bonda ve ark., 2014). Membrandaki lipid peroksidasyonunun meydana getirdiği toksik aldehitler mitokondriyal enzimleri hasarlarken protein oksidasyonunu da arttırmaları ve sonuçta kalsiyuma karşı geçirgenlik artar, iyonik denge ve glukoz transportu bozulur böylece enerji yetmezliği meydana gelir. Demir, bakır, çinko, alüminyum gibi artmış serbest metal iyonları da reaktif oksijen türevleriyle birleşip nörodejeneratif hasarı artırır (Pratico ve Delanty, 2000). Yine oksidatif hasarın mitokondriyal DNA'da (mtDNA) etkili olduğu ve buna bağlı mutasyonların yaşlanma sürecinde kritik rol oynadıkları bilinmektedir (Miguel, 1980). Yaşla sıklıkları artan hastalıklarda mutasyona maruz kalmış DNA içeren disfonksiyonel mitokondrilerin rolü olduğu ortaya konmuştur (Wallace, 1997). Mitokondrideki disfonksiyon önemli olumsuz etkilere yol açar; membran potansiyeli azalır, reaktif oksijen türleri oluşumu artarken ATP sentezinde azalma meydana gelir. Oksidatif hasara bağlı mutasyon olasılığı artar buna karşın koruyucu ve onarıcı proteinlerdeki azalma mitokondrilerin hasara ve mutasyona yatkınlığını artırır ve hücredeki yaşlanma hızlanır (Luft, 1994), mutasyonlarla gelen uzun süreli geri dönüşümsüz hasar birikimi yaşlanma sırasında ortaya çıkan biyoenerji azalmasına ve organ fonksiyonlarında zayıflamaya neden olur (Şekil 2) (Burçak ve Andican, 2004).



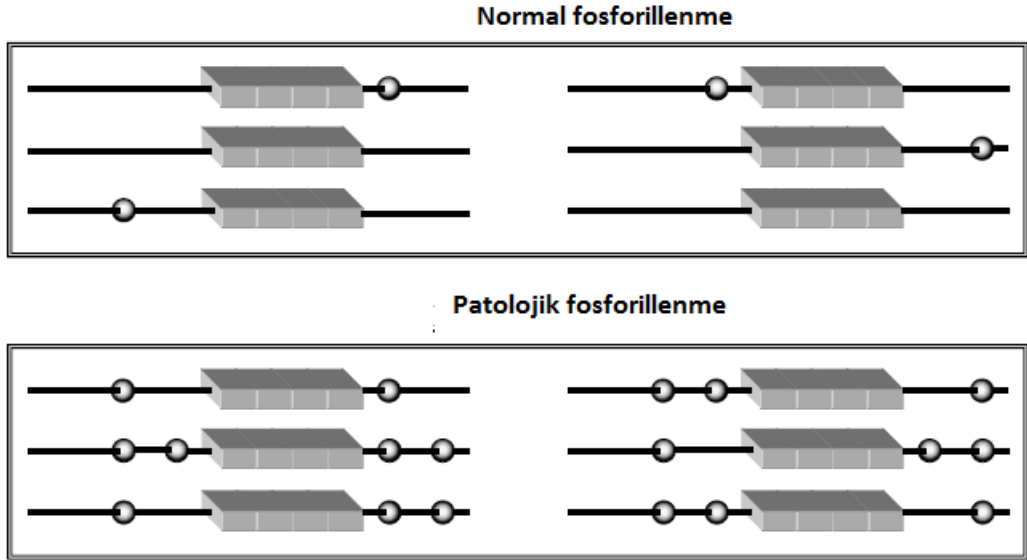
Şekil 2: Oksidatif stresin yol açtığı aşırı reaktif oksijen metabolitlerinin yaşlanmaya olan etkileri (Burçak ve Andican, 2004).

Deneysel modellerde oksidatif hasarın, patolojik değişikliklerin öncüsü olduğu (Nunomura ve ark., 2001) ve A β proteinin beyinde birikmesinin de oksidatif strese karşı koruyucu cevap olarak gerçekleştiği (Smith ve ark., 2002; Atwood ve ark., 2003) ve A β plakların yoğunluğunun oksidatif hasarla korele olduğu öne sürülmüştür (Cuajungco ve ark., 2000). Dahası A β proteinlerin lipoprotein oksidasyonunu (Kontush ve ark., 2001) önlediği öne sürülmüş, ancak bu konu literatürde hala tartışmalıdır ve A β proteinlerin oksidatif hasarı teşvik ettiği görüşü daha muhtemeldir (Markesbery, 1997; Pratico ve Delanty, 2000). Lipid peroksidasyonun beyinde orta derecede amnezik kognitif bozukluk yaptığı ve lipid peroksidasyonun hastalığın erken evrelerinde patogeneizde rol oynadığı Markesbery ve ark. tarafından gösterilmiştir (Markesbery ve ark., 2005). A β lipid peroksidasyonunu arttırarak reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimini indükler. Sonuç olarak beyin dokusu yüksek oksijen tüketim oranı, yoğun lipid içermesi nedeni ile oksidatif hasardan çok etkilenir (Elmacı, 2012).

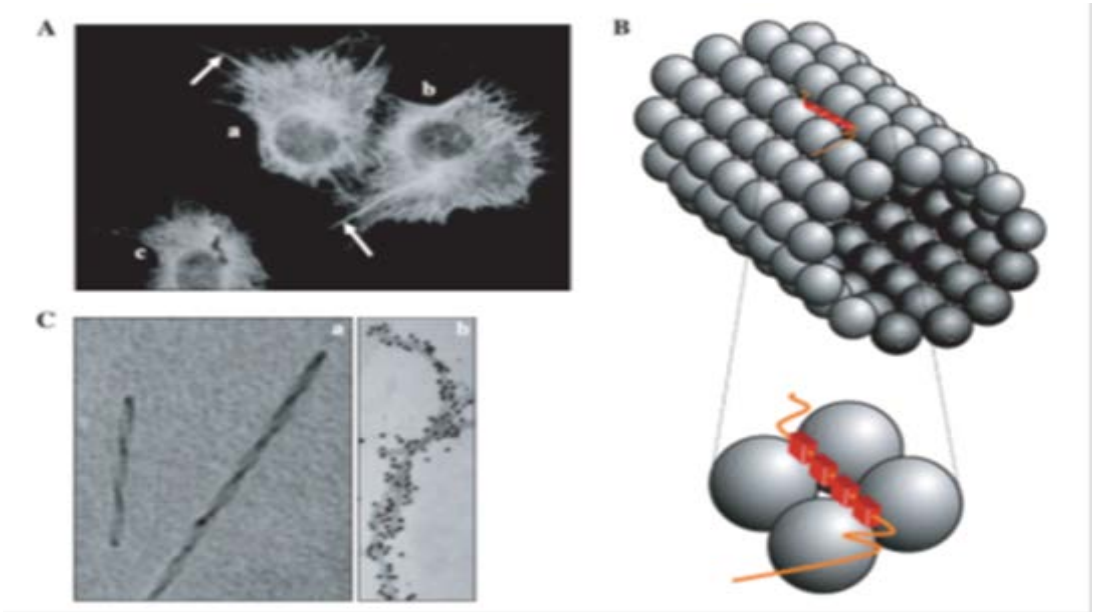
4.4.3. Tau hiperfosforilasyonu ve nörofibriler (NFT)yumak oluşumu

17. kromozom tarafından kodlanan mikrotübül asosiye proteinler (MAP) ailesinden hidrofilik bir protein olan Tau proteini, mikrotübüllerin organize olmasında vestabilizasyonunda görev alır ve hiperfosforile olduğunda AH da diagnostik belirteç olan nörofibriler yumakların (NFT) ana bileşenini oluşturur. Fiziyolojik koşullarda farklı tau izoformları farklı kısımlarda aynı kinazlarla fosforile edilirler. Ancak AH gibi patolojik koşullarda artan sayıda kısımlarda fosforilasyon(hiperfosforilasyon) gerçekleşir (Şekil 3). Tau patolojik durumlarda agregat oluşturma kapasitesine sahiptir (Şekil 3,4,5) (Avila ve ark., 2004).

AH patogeneğinde hiperaktif kinazların veya hipoaktif fosfatazların tau proteininin hiperfosforilasyonuna neden olduğu ve böylece mikrotübüllere bağlanma yeteneğini bozduğu düşünülmektedir. Bağlanmamış hiperfosforile tau monomerleri kendi üzerlerine hatalı katlanırlar ve toksik oligomerlere ve ardından toksik özellikle çözülemeyen çift sarmallı filamanlara (PHF) dönüşürler. PHF'ler ısı şoku proteinleri ve başlıca ubikutin proteozom sistemlerinin varlığında intranöronal nörofibriler yumaklar (NFY) halinde kondanse olurlar (Şekil 3,4,5). NFY'lerin PHF'lerin etkisini sınırlamaya çalışan bir savunma mekanizması olduğu düşünülmektedir. NFY'ler ise hücre iskeleti bütünlüğü ve aksonal iletimi bozarak hücrenin ölümüne neden olurlar (www.itfnoroloji.org/demans/demans.htm/ erişim tarihi 10.10.2015).

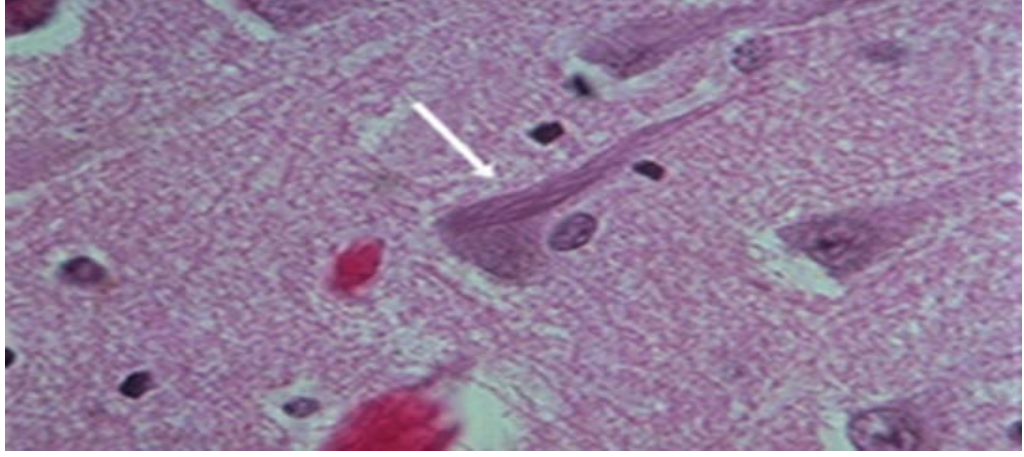


Şekil 3. Tau izoformlarının fosforilasyonu (Avıla ve ark., 2004).



Şekil 4. Tau agregatları ve Mikrotübül ile tau ilişkisi.

A: **a** ve **b**, Tau nun anormal pozisyonda bulunması ile hücrelerde sitoplazmik uzantı oluşumu. **c**, Tau ekspres etmeyen normal bir hücre. **B:** Tau oligomeri (kırmızı ile boyanmış) ve mikrotübül proteinin büyütülmüş hali. **C:** **a**, Alzheimer gibi patolojik durumlarda tau proteinin anormal filament formu, **b**, anti tau antikoruna ile bağlanma (Avıla ve ark., 2004).

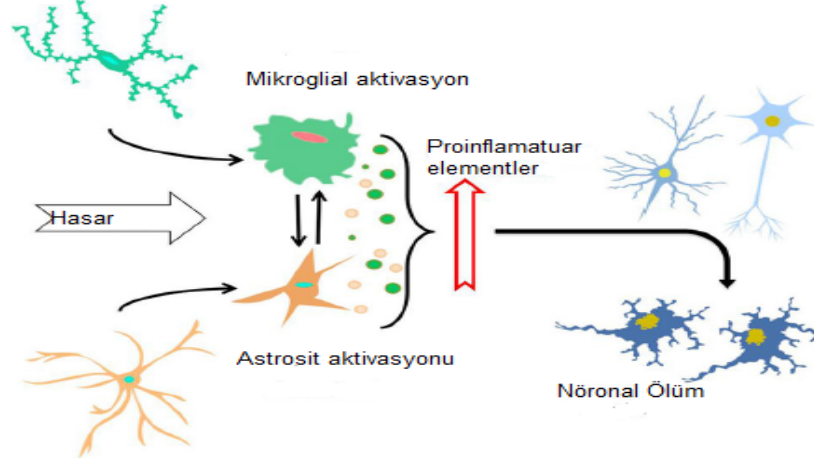


Şekil 5: İntrasellüler nörofibriler yumak oluşumu (Beyaz ok) (<http://www-edlib.med.utah.edu/WebPath/CNSHTML/CNS094.html>. erişim tarihi 10.10.2015).

4.4.4. İnflamasyon hipotezi

Son yıllarda kronik non-steroidal antiinflamatuar ilaç kullananlarda (NSAIDs) AH görülme sıklığının düştüğünü ve semptomların başlama yaşının geciktiğini gösteren epidemiyolojik çalışmalar (Szekely ve Zandy., 2010) AH'daki nöroinflamatuvar hipotezi desteklemektedir. İnflamatuar cevap çoğu zaman travma, enfeksiyon, oksidatif ajanlar, A β ve tau oligomerleri gibi hasar sinyallerine cevap olarak gözükmemektedir. Ancak bu cevap muhtemelen başlangıçtaki hasarla karşılaştırıldığında daha da büyük nöron kaybına neden olmaktadır (Akiyama ve ark., 2000). Sonuç olarak nöroinflamasyon çeşitli patolojilerin gelişmesinde anahtar rol oynamaktadır. Nöroinflamasyon terimi hasar sonrası santral sinir sisteminin (SSS) inflamasyon cevabını tanımlamak için kullanılmaktadır ve glial hücrelerin özellikle astrositlerin ve mikrogliaların birikimi söz konusudur. SSS deki akut inflamasyon öncelikle glial hücrelerde zarar verici uyarana karşı ani ve erken bir savunma cevabına neden olur ki bu hasarlı alanda tamire de neden olan bu inflamasyon sürecinde sitokinler, kompleman ve patern (kalıp) tanıma reseptörleri (PRRs) de rol oynamaktadır. Ancak zarar verici uyarana devamlı ise kronik inflamatuvar reaksiyona neden olarak artan bir hasara neden olur (Streit ve ark., 2004). Hasar sinyallerinin alınmasından sonra astrositler ve mikroglialar dereceli olarak bir aktivasyon sürecine girerler ve bu süreç morfolojik değişikliklere ve sitokinler, ROS ve sitotoksik elemanlar gibi pro-inflamatuar belirteçlerin salınımına

neden olur. Tüm bu olaylar nöronal dejenerasyona ve ayrıca glial ve nöronal hücreler arasında nörodejeneratif hastalıkların gelişimine sebep veren pozitif geribildirimle neden olur. Bu nedenle nöroinflamasyonun yararlı ya da zararlı olup olmadığı inflamatuvar cevabın süresine bağlı gözükmemektedir (Şekil 6) (Morales ve ark., 2014).



Şekil 6. Hasarın neden olduğu nöroinflamatuvar süreç (Morales, 2014).

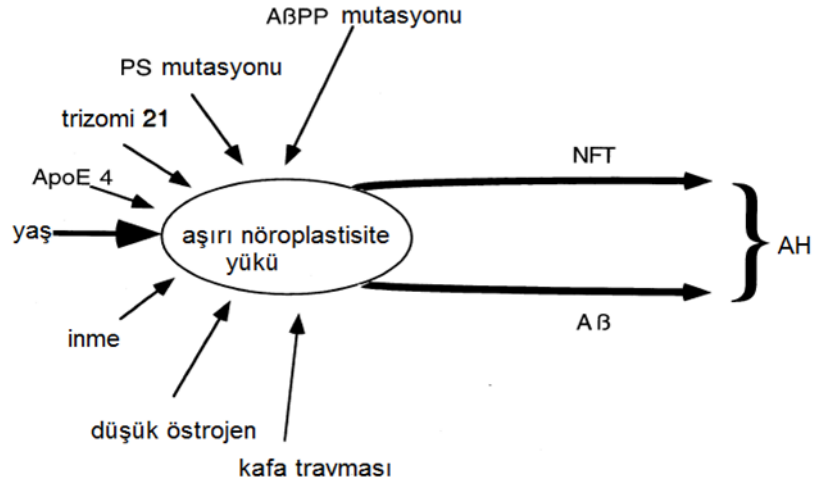
Alzheimer hastalığındaki nöroinflamasyonun düzeyi ile belirli bazı sitokinlerin arasında ilişki olduğuna dair kanıtlar vardır (Frank-Cannon ve ark.,2009). Kemokinlerin; disfonksiyon, apoptoz ve nöron, mikroglia ve astrositlerin nekrozuna, IL-1 β , IL-6, IL-12'nin; astrosit ve mikroglial aktivasyona, interferon gama (INF-g), ve TNF α 'nın; nöron, mikroglia ve astrositlerde disfonksiyon, apoptozis ve nekroza, NO, ROS, süperoksit radikalinin; hücrelerde oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir (Morales ve ark., 2014). Özellikle AH da A β peptidinin ve Nörofibriller yumaklarının yakınlarında inflamatuvar mediatörlerin yüksek miktarlarda eksprese oldukları bildirilmiştir (Akiyama ve ark., 2000).

İnflamatuvar hipotezi destekleyen en önemli kanıtlardan biri de epidemiyolojik hayvan modelleri ve klinik çalışmalarda non steroidale inflamatuvar ajanların (NSAIDs) kullanılmasının AH görülme riskini düşürdüğünün gösterilmesidir ve bunun AH'lı bireylerdeki yükselen COX-1 protein düzeylerinin düşmesiyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür (McGeer ve McGeer., 2007).

4.4.5. Nöroplastisite ve nöroplastisite yetmezliği teorisi

Merkezi sinir sistemi içten ve dıştan gelen uyarılara uyum sağlayabilir bu uyum ile önemli merkezi fonksiyonların yürütülebilmesi sağlanırken yetersiz uyum sonucu bazı patolojiler ortaya çıkabilir. Çeşitli iç ve dış uyarılara bağlı olarak beyindeki nöronların ve sinapsların yapısal ve işlevsel özelliklerindeki uyumamaçlı değişiklikler nöroplastisite olarak adlandırılır. Bu değişiklikler; dendrit dallanmasında artma veya azalma, dendritlerde kırılma, uzama, yeni sinaps oluşumu, var olanların ortadan kalkması veya etkinliklerin değişimi, yeni nöron oluşumu ya da ölümü, nörotrofik faktör değişiklikleri olarak sayılabilir (Kotan ve ark.,2009).

Bu teoride AH' nın kısaca genetik ve çevresel etkilerle yaşam boyunca artarak birikmiş olan nöroplastisite yükünün artık karşılanamaz olması ile normal yaşlanmadan sapma sonucu olduğu öne sürülmektedir. AH' daki tüm genetik faktörler ve risk faktörleri beyindeki nöroplastisite yükünü arttırıcı yönde gözükmektedir. Bu hipotezde, artan plastisite yükünün ve bunun neden olduğu aşırı hücresel aktivitenin başlangıçta tau hiperfosforilasyonu ve APP üretiminde adaptif bir artışa yol açarak sırasıyla nörofibriler yumak ve amiloid plak oluşumuna neden olabileceği ve sonunda da nöron, dendrit ve sinaps kayıplarına neden olduğu fikri yer almaktadır (Mesulam, 2000). Nöroplastisite yükünü arttıran çeşitli faktörler arasında; östrojen eksikliği, kafa travması, inme ve yaşlanma gibi hasar verici faktörlerin yanısıra farklı genetik mutasyonel faktörler de yer alır (Şekil 7). Östrojenin erişkin dişi sıçanlarda hipokampal CA1 bölgesinde sinaptik butonların sıklığını arttırdığı (Woolley ve ark., 1996), daha önce aralarında sinaptik bağlantı olmayan hipokampal nöronlar arasında yeni sinaptik bağlantı oluşumuna neden olduğu (Yankova ve ark., 2001) gösterilmiştir ve östrojenin dendritik ve aksonal plastisiteyi promote ettiği düşünülerek nöroplastisiteyi destekleyen östrojenin Post-menopozal olarak yetmezliğinin AH için risk faktörü olabileceği de ileri sürülmektedir (Mesulam, 2000).



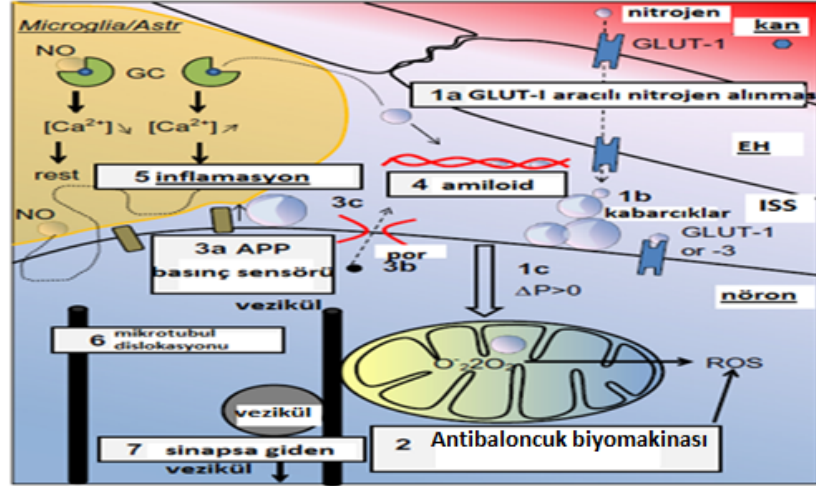
Şekil 7. Nöroplastisite yükünü arttıran çeşitli faktörler.

Aβ: Amiloid Beta, **AβPP:** Amiloid beta prekürsör protein, **ApoE:** Apolipoprotein E, **NFT:** Nörofibriler yumak, **PS:** presenilin, **AH:** Alzheimer Hastalığı (Mesulam, 2000).

4.4.6. Kan–beyin bariyerinden beyine nitrojen invazyonu hipotezi (AH gaz modeli)

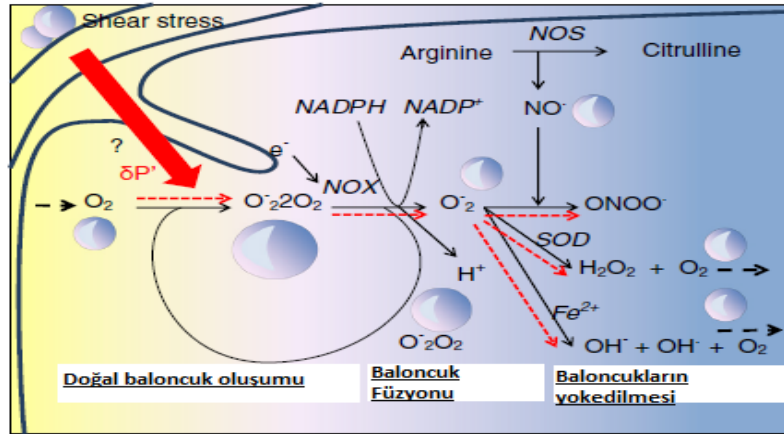
Nitrik Oksit (NO), NO sentaz (NOS) enzimi (nöronal–nNOS-, endotelial-eNOS-, ve indüklenebilir -iNOS-) ile L-arginin ve oksijenden, L-sitrulin'e dönüşüm sırasında sentezlenir. Kan beyin bariyerinden sızan NO'nun AH'ya neden olan patolojik lezyonları tetiklediği öne sürülen bu hipoteze göre insanlar için nitrojen nanobaloncukları kimyasal olarak inert ve yıkımlanamaz yapıdadır ve beyin interstisyel sıvısından kaçamazlar. İnterstisyel sıvıya (ISS) nitrojen difüzyonunun sonuçları ISS de basıncın artması, hücre içindeki oksijen anizotropisi ve sonrasında ROS oluşumuna neden olan oksijen baloncuk oluşumudur (Denis, 2013). Bu mekanizmayı ve sonuçlarını şekil ile özetleyecek olursak (Şekil 8, 9) nitrojen baloncukları (O) glikoz taşıyıcıları (GLUT-I) aracılığı ile kandan beyin interstisyel sıvısına geçerek birikirler (*Ia*) ve sürtünme stresi ile (*Ib*) buradaki hücrel komponentlere, özellikle mikroglia ve astrositlere büyük ve zarar verici bir basınç uygularlar, sitoplazmada ve mitokondride oksijen anizotropisine ve oksijen mikrobaloncuklarının çekirdeklenmesine neden olurlar (*Ic*) (Denis, 2013). Normal koşullarda sitoplazmik oksijen partikülleri mitokondrideki solunum zincirine girerler,

sitoplazmada ve mitokondride aşırı oksijen yükü olmaz ve mitokondri ile sitoplazma arasında oksijen gradyanı oluşmaz (Vanderkooi ve ark., 1990). Ancak denge bozulduğunda hastalıklar meydana gelir. Sözü ettiğimiz damardaki shear (sürtünme) stresin neden olduğu patolojik koşullarda denge bozulur ve oksijen anizotropisi meydana gelir. Sitoplazmada oksijen gaz partikülleri birleşerek nanobaloncukları oluştururlarken ki sitoplazmadaki oksijen toksisitesi sadece kimyasal olarak değil aynı zamanda oksijen gaz kabarcıklarının birleşme eğilimi nedeniyle gittikçe büyüyor olmalarından da kaynaklanmaktadır, mitokondri solunum zincirindeki oksijenin düzensiz dağılımı da süperoksit O_2^- veya $O_2^{\cdot-}$ in kendiğinden oluşumuna neden olur. Burada nikotinamid adenin dinukleotidfosfat- oksidaz- nitrik oksit (NADPH oksidaz-NO) sistemi antibaloncuk biyomakinası olarak devreye girer reaktif oksijen türlerinin oluşumuna, mitokondriyal disfonksiyona ve inflamasyona neden olur (2). Bu esnada bir basınç sensörü olarak da APP devreye girer ve beyin interstisyel sıvısındaki basınç değişikliklerini hissederek A β oluşumunu tetikler (3a). Oluşan A β köpük stabilize edici olarak interstisyel sıvıdaki nitrojen baloncuklarını kaplar. Aynı zamanda hücre zarında halka şeklinde por benzeri protofibriller oluşturarak (3b) etraftaki basıncın artan etkilerine karşı adeta bir basınç valvi görevi yaparak hücreyi korur (3c). Amiloidin nitrojeni sınırlı tutması kandan gelen kademeli azot sızıntısına karşı bir bariyer görevi görürken β -amiloid birikimi de gittikçe serebral amiloid anjiyopati şeklini alır. NO antibaloncuk biyomakinasının çalışması esnasında görünmez olabilir ve bu esnada nitrojen baloncuklarının içinde ve senil plakların arasında bulunur. Antibaloncuk biyomakinası olarak NADPH-NADP sistemini aşağıdaki şekilde açıklayacak olursak; hidrostatik basınçtaki (δP) lokal artış (kırmızı büyük ok) hücre içine etki ederek mitokondride (kırmızı kesik oklar) ya da sitozolde doğal baloncuk oluşumunu artırır. NADPH (-oksidaz) plazma membranıyla ilişkili enzim olarak gösterilmiştir. O_2^- baloncuklar aktive olmuş gaz çekirdekçikler olarak çalışırken yakınlarındaki oksijen partiküllerini yutarlar (Şekil 11). Ayrıca NO'nun fazla üretiminin glutamat reseptörleri ile nörotoksisitede rol oynayabileceği düşünülmüştür (Synder, 1992) ve nitrik oksit sentazın (NOS) inhibe edilmesi ile yapılan çalışmalarda ümit verici sonuçlar alınmaktadır (Aliyev ve ark., 2004; Yalabık ve ark., 2013).



Şekil 8. AH gaz modelin hipotetik aşamaları.

Daha iyi anlaşılması için interstisyel sıvı (ISS) alanı genişletilmiş ve nöron membranı endotel hücreye (EH) yakın gösterilmiştir. **NO**: Nitrik oksit **GC**: guanilat siklaz, **ROS**: reaktif oksijen türleri (Denis, 2013), **GLUT1**: Glukoz taşıyıcı 1, **APP**: Amiloid prekürsör protein, ΔP : Basınç farkı, **EH**: Endotel hücre.



Şekil 9. Antibaloncuk biyomakinası olarak NADPH-NADP sistemi.

δP : Hidrostatik basınç, **NADP/NADPH**: Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat, **SOD**: Süperoksit dismutaz enzimi, **NO**: Nitrik oksit, **NOX**: Nitrojen oksit, **ONOO-**: Peroksinitrit, **H²O₂**: Hidrojen peroksit, **Fe²⁺**: Demir, **NOS**: Nitrik oksit sentaz (Denis, 2013).

4.4.7. Kolinerjik yetmezlik hipotezi

Bu hipotezde özellikle hafıza problemlerini içeren bilişsel fonksiyonların azalmış kolinerjik iletiye bağlı olduğu öne sürülmektedir. Hipotez olarak; antikolinerjik ilaçlarla hafızada bozulma meydana gelmesi, Alzheimer hastalarında

asetikolin kolin sentezi yapan kolinasetil transferaz enziminin düşük düzeyde bulunması, AH'da oluşan hücre kaybının en belirgin olarak kortekste kolinerjik inervasyona neden olan nükleus bazaliste meydana gelmesi öne sürülmüştür (Sano, 1997). AH da bazal önbeyindeki kolinerjik nöronlarda dejenerasyon, serebral kortekste bununla ilişkili Ach üretiminde ilerleyici bir düşüş, kolinerjik nöral ileti kaybı ve diğer bölgelerde de kognitif fonksiyonlarda kayıplar söz konusudur (Bartus ve ark., 1982). AH'da kolinerjik sistem esas olarak öğrenme ve bellek ile ilişkili bölgelerde bozulmaktadır. Hafıza ile ilişkili sinir lifleri talamustan prefrontal kortekse ve bazal önbeyine oradanda tüm neokortekse, amigdalya ve meynertin bazal çekirdeğine geçer. Meynertin bazal çekirdeği ile hipokampus kolinerjik lifler bağlantılıdır. AH'da bu kolinerjik iletide büyük oranda kayıplar söz konusudur (Ganong, 2011). Hipokampus ile serebral korteks arasındaki iletişim esas olarak Ach tarafından sağlanmaktadır. Ach; kolin ve asetil koA'dan kolin asetil transferaz enzimi (ChAT) ile sentezlenir. (Davis, 1999). Ach presinaptik nöronlardaki veziküllerden salındıktan sonra sinaptik aralıkta difüzyonla ilerleyerek postsinaptik membrandaki nikotinik reseptörlere bağlanarak direkt olarak, muskarinik reseptörlere bağlanarak G-proteini ilişkili ikincil mesajcılar aracılığıyla etki gösterir. Nikotinik etkilerle hücrenin uyarılabilirliğini artırırken, muskarinik etkilerle kalıcı sinaptik değişikliklere neden olur. Östrojen limbik nöronlarda sinaptogeneze katkıda bulunup nöroplastisitede rol oynarken, korteksin kolinerjik innervasyonunu sağlayan Meynert in bazal nükleusunda Ach üretimine de katkıda bulunur (Öztürk ve Karan, 2009). ChAT aktivitesi ve Ach sentezi ile kognitif bozukluklar arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır. Bununla birlikte serotonerjik ve noradrenerjik belirteçlerde etkilenir (Francis ve ark., 1999).

Kolinerjik hipotezin önemi şimdiye kadarki tedavi yaklaşımları içerisinde en fazla başarı göstermiş olan asetilkolinesteraz inhibisyonu tedavilerinin çıkış noktası olmasıdır.

4.4.8. Glutamaterjik hipotez

Hipokampus öğrenme ve bellekte önemli rol oynayan fazla sayıda glutamat reseptörlerine özellikle de NMDA reseptörlerine sahiptir. Beyinde bulunan esas eksitator nörotransmitter olan glutamat postsinaptik N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörlerine bağlanır, voltaj kapılı kalsiyum kanallarını aktive eder, Ca²⁺ hücre içine girişine neden olur, intraselüler Ca²⁺'da artış, Ca²⁺'a bağlı proteazları ve fosfolipazları aktive ederek hücreye toksik olan serbest radikallerin oluşmasına yol açmaktadır. NMDA reseptörlerinin bu kronik ve orta dereceli aktivasyonu sonunda nörodejenerasyona neden olan kronik eksitotoksositeye neden olur (Danys ve Parsons, 2012).

Bu hipotezin önemi de AH tedavisinde onay alan memantin tedavisinin çıkış noktası olmasıdır.

4.5. Deney Hayvanlarında Alzheimer Modelleri

Deneyel modeller esas olarak üç kısımda incelenebilir. Spontan modeller, transgenik hayvanlar ve indüklenmiş modeller (farmakolojik, kimyasal ve lezyon indüklü kemirgen modelleri).

Spontan modeller: Köpek, kedi, ayı, keçi, koyun, insan dışı primatlarda spontan olarak plak patolojisi ve tauopati geliştiği gösterilmiştir. Ancak bunların deneylerde kullanılmaları çeşitli nedenlerle kısıtlıdır (Dam ve Deyn, 2011). Yinede köpekler insan beyin yaşlanması ve nörodejeneratif hastalıklarda APP nin işlenmesindeki enzimatik aktivite açısından insanlarla identifik hayvanlar olarak işaret edilmektedir (Sarasa ve Pesini, 2009). Köpeklerin A β 1-42 aminoasit sekansı insanlara aynıdır oysa farelerde 3 amino asit farklıdır. Kognitif bozukluğun derecesi de normal yaşlanma, orta dereceli kognitif yetmezlik ve erken ve orta dereceli AH aralığında değişim göstermektedir. Bu benzerliklere dayanarak antioksidan diyet, davranış zenginleştirme ve A β immunoterapi çalışmalarında ideal oldukları öne sürülmüştür (Cotman ve Head, 2008). Yaşlanan sıçanlar spontan olarak AH benzeri histopatolojik belirteçler göstermezler. Yine de kognitif fonksiyonların normal yaşlanma sırasında

değişmesinin türler arasında benzer olduğu ve sıçanlardaki nöronal değişikliklerin mekanizmasının insanlardaki beyin yaşlanmasının daha iyi anlaşılmasında yararlı olabileceği öne sürülmüştür (Erickson ve Barnes, 2003). Farelerde yaşla ilişkili olarak kolinerjik yetmezlik geliştiği ancak bunun presinaptik innervasyonaçısından AH'dan farklı olduğu öne sürülmüştür (Sherman ve Friedman, 1990).

Transgenik modeller: Transgenik olarak çoğunlukla insan kaynaklı eksojen bir gen içeren hayvanlarda, transfekte edilen genle kodlanan proteinlerin olası rolleri ya da mekanizmaları çalışılırken, bir genleri bloke edilmiş ya da elimine edilmiş hayvanlarda (Knockout) olmayan genlerin etkilerinin araştırıldığı çalışmalar yapılabilmektedir. Fareler transgenik modellerde en çok kullanılan hayvanlar olup ve A β üretimi, birikimi ve klirensinin mekanizmasını ve A β nın kognitif fonksiyonlardaki önemli rol oynayan nöronal ağdaki ve sinapslardaki etkisinin anlaşılmasına aracılık etmişlerdir. Bu çalışmalarda daha az sıklıkla kullanılan diğer hayvanlar; sıçanlar, Zebra balıkları (Danio rerio), nematodlar (Caenorhabditis elegans) ve meyve sinekleri (Drosophila melanogaster) olarak sayılabilir (Dam ve Deyn, 2011).

PDAPP fare modeli: İlk olarak geliştirilmiş olan transgenik modeldir. Kalıtsal AH'daki APPV17F mutasyonlu APP geni taşırlar. Yoğun A β plaklar, nörotik plaklar, sinaptik kayıplar, astrosit ve mikroglia dejenerasyonları gözlenmektedir (Games ve ark., 1995).

TG2576 fare modeli: Mutant APP sentezi sağlayan bu modelde difüz ve nöritik plak, astrositozis, mikrogliosis, nörotransmitter değişimleri ve kognitif bozukluklar gözlenir (Bilkei-Gorzo, 2014)

APP fare modeli: İnsan APP'sinin üç izoformunda (695, 751 ve 770) görülen mutasyona sahip farelerdir (Saka, 2010)

APP23 fare modeli: İsveç mutasyonlu (K670N/M671L) insan APP si taşıyan farelerdir. En sık kullanılan modellerdendir. Amiloid kaskad hipotezini destekler. Yoğun difüz ve nöritik plak patolojisi, astrositozis, mikrogliosis, nörotransmitter değişimleri ve kognitif bozukluklar gözlenir (Dam ve ark., 2005).

PSEN1 (Presenilin-1) fare modeli: Bu model A β 42'yi arttıran mutant PSEN1'in in vivo olarak ilk gösterildiği modeldir. Çok belirgin plak patolojisi izlenmez (Duff, 1996)

İndüklenmiş modeller:

Skopolamin modeli: AH ile ilişkili kolinerjik bozukluğa dayanan bu model daha çok amnezi modeli olarak kabul edilmekte olup patolojik AH belirteçleri görülmemektedir. Hayvanlarda bir tropan alkaloid olan ve muskarinik antagonistik etkili skopolamin verilmesi sonrası asetilkolin aktivitesinin azalmasına bağlı olarak belirgin bellek bozuklukları görülmektedir (Dodart ve ark., 1997).

AIC13 ve D-galaktoz ile indüklenen AH modeli: AH daki çok erken evre olan predemans evresini taklit eden bir modeldir. AH benzeri davranışsal defisitler 90. günde meydana gelmekte olup BACE1'de belirgin artış ve neprilisinde azalma 45-90. günlerde meydana gelmektedir. Yüksek A β düzeyi ise 60. günde görülmektedir (Sun ve ark., 2009).

A β infüzyon kemirgen modelleri: Klasik Amiloid kaskad hipotezi A β peptitlerin amiloid serebral birikimi ve plak oluşumunun AH patogenezini yönettiğini öne sürmektedir (Hardy, 1997) buna ilave olarak çözülebilen A β oligomerlerinin de long-term potensiyalizasyonu bloke ederek hafıza bozukluklarına neden olabileceği de öne sürülmüştür (Gong ve ark., 2003) A β peptitlerin steriotaksik enjeksiyonu tek seferde (Harkany ve ark., 1998), yapılabildiği gibi AH'nin gelişim sürecini daha iyi taklit eden kanüle implante edilmiş ozmotik mini pompa (Nakamura ve ark., 2001) gibi farklı yöntemlerle de yapılabilmektedir. Bu modelde beyin parenkimindeki A β birikimleri oksidatif stres, inflamasyon, mikroglial aktivasyon, lokal hücre kaybı ve kolinerjik fonksiyonda bozulmaya neden olur ancak infüze edilen peptitlerin yapısına (A β ₁₋₄₀, A β ₂₅₋₃₅, A β ₁₋₄₂) ve uygulama biçimine bağlı olarak gözlemlenen sonuçlar davranışsal ve nöropatolojik düzeyde farklılık gösterebilir. A β yı hedefleyen ilaçlar, mikroglial sinyal mekanizmalarının ve inflamasyonun ilaçlarla modülasyonu çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu model transgenik modellere göre A β ya odaklandığı için daha avantajlı görülmektedir çünkü transgenik modellerde APP'nin overekspresyonu diğer APP fragmanlarında da artışa neden olmaktadır ki bunlar nörotoksik, nöroprotektif ve hafızayı etkiliyor olabilir. Dezavantajı ise A β nın invaziv bir şekilde beyne verilmesinin beyin hasarına ve nörotoksik etki yapabilme potansiyeline sahip olmasıdır (Dam ve Deyn., 2011).

Streptozotosin ile indüklenen AH modeli: Daha çok sıçanlara ve farelere streptozotosin (STZ)'nin intraserebroventriküler (icv) olarak subdiyabetojenik dozlarda enjekte edilmesiyle oluşturulan bu modelde kognitif bozukluklar nöroinflamasyon, sinaptik proteinlerde ve insulin/IGF-1 (insulin benzeri büyüme faktörü-1) sinyalinde değişiklikler, hiperfosforile tau (Chen ve ark., 2013), kolinerjik yetmezlik (Hellweg ve ark., 1992), oksidatif stres (Saxena ve ark., 2011), beyin glikoz ve enerji metabolizmasında yetmezlik (Hoyer ve Lannert, 2007), beyinde insülin rezistansı (Salkovic ve Petrisic, 2007) aracılık eden mekanizmalar ve patolojik değişiklikler olarak gösterilmiştir. Icv STZ'nin indüklediği insülin rezistanslı beyinde sonuç olarak tau hiperfosforilasyonu ve A β plak oluşumu en az 3 ay sonra oluşmaktadır. Esas olarak icv STZ hayvan modeli A β patolojisinin merkezi ve primer patolojik olay olduğuna karşı bir görüş olarak beyinde insülin rezistansının glikoz ve enerji metabolizmasında bir bozukluğa neden olduğunu öne sürmektedir. Bu model terapötik potansiyeli olan ilaçların veya ilaç olmayan terapötik stratejilerin araştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Salkovic ve Petrisic, 2011).

4.5.1. Overektomi ve D- galaktoz ile oluşan AH modeli

Overektomi yapılan sıçanlarda beyindeki oksidatif stresin arttığı, dentat girusta LTP'de bozukluk olduğu gösterilmiştir (Patki ve ark., 2013). Diğer yandan oksidatif stresin AH gibi nörodejeneratif hastalıklarla olan ilişkisi Behl ve Casetta tarafından bildirilmiştir (Behl, 1999; Casetta ve ark., 2005). Oksidatif stres ve H₂O₂, superoksit anyonu, OH radikali gibi reaktif oksijen türleri AH da patolojik bir rol oynamaktadır (Castellani, 2007) ve en erken görülen sitolojik değişikliklere neden olurlar (Perry ve ark., 2002; Smith ve ark., 2000). Uzun dönemli D-galaktoz (D-gal) enjeksiyonunun kaspaz aracılı apoptozisi arttırarak, nörogenezi azaltarak ve oksidatif hasarı arttırarak nörodejenerasyona neden olduğu gösterilmiştir (Cui ve ark., 2006). Beyinde artan TBARS seviyeleri ve azalan süperoksit dismutaz (SOD), ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri ve hafıza fonksiyonlarına dayanarak D-galaktozun beyin yaşlanmasını hızlandırdığı öne sürülmüştür (Shen ve ark., 2002). Zhang ve ark. da kortekste ve hipokampusta D-galaktozun SOD, GSH-Px enzimlerini, MDA düzeyini

arttırdığını, Na⁺ -K⁺ ATPaz ve Ca²⁺ -Mg²⁺ ATPaz aktivitesini azalttığını göstermişlerdir. D-galaktozun yaşlanma etkilerini taklit ettiği literatürde kabul görmektedir (Ho ve ark., 2003). Wei ve arkadaşları da D-galaktozun 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarında denemesini yaparak orta doz olarak 100mg/kg'ın ve yüksek doz olarak 200 mg/kg'ın kognitif fonksiyonları bozduğunu göstermişlerdir (Wei ve ark., 2005). Ancak kronik olarak D-galaktoz uygulamasının oksidatif hasar ve kognitif disfonksiyon yaptığı modellerdeki bazı çalışmalarda D-galaktozun yaşlanma ile ilişkili belirteçlere etkisi konusunda tartışmalar mevcuttur genç erkek wistar sıçanlarda yaşlanma ile ilişkili belirteçlere etkisi olmadığı öne sürülmüştür (Cardoso ve ark., 2015). Gerçektende D-galaktoz ile oluşturulan yaşlanma modelinde cinsiyet, yaş, suş ve verilme süresinin önemi olduğu gösterilmiştir. Altı haftalık dişi farelerde 6 hafta boyunca 100 mg/kg D-gal verilmesi uzamsal hafıza, hidroksi radikali, protein karbonil ve MDA düzeylerinde değişim yapmazken, ROS düzeyleri artmış bulunmuştur. 8 haftalık erkek ve 24 haftalık dişi farelerde ise aynı uygulama koşullarında oksidatif belirteçler ve uzamsal hafızada bozulma saptanmıştır (Hao ve ark., 2014).

D-Galaktoz indirgenmiş bir şekerdir. Yüksek dozlarda galaktoz oksidaz varlığında aldoza ve hidroperoksite dönüşebilir ki bunlarda süperoksit anyonu ve oksijen kaynaklı serbest radikal oluşumuna neden olurlar (Hua ve ark., 2007). Ayrıca D-galaktozun indirgenmiş bir şeker olarak amin gruplarına affinitesi ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE) birikimine ve ilgili reseptörlerin (RAGE) aktivasyonuna neden olarak oksidatif strese ve hücre hasara neden olur (Srikanth ve ark., 2011; Ullah ve ark., 2015).

Hua ve arkadaşları overektomize sıçanlarda östrojenin koruyucu etkinliğinin olmamasının ve östrojen eksikliği ile D-galaktozun meydana getirdiği oksidatif stresin sinerjistik etki yaparak AH'nın patolojik gelişimi ile ilişkili olduğuna dayanarak yeni bir deneysel AH modeli öne sürmüştür. Hua'ya göre modelde AH'nın gelişimi ve ilerlemesindeki patolojik, nörokimyasal ve davranışsal değişiklikler taklit edilmektedir. Nörokimyasal değişiklikler kapsamında; hücre zarında A β birikimine bağlı olarak A β -immunoreaktif nöronları CA1 ve CA4'ün piramidal tabakasında ve dentat girus'un granüler hücre tabakasında gözlenirken, intersellüler alanda plak oluşumu gözlenmemiştir. Kolinerjik nöron kayıpları medial

septum, nükleus bazalis magnosellüleriste ve nükleus diagonal bandındadır. Elektron mikroskobu ile yapılan ultrayapısal analizlerde ise yoğun kromatin agregatları ile nükleer dejenerasyon, nükleer membranda hasar, bazı nükleuslarda granulovakuoler cisimcikler, sitoplazmada lipofuksin birikimi, mitokondriyal hasar, sitoplazmada ve dendritlerde NFT, sıklıkla CA1'de sinaptik dejenerasyon, sitoplazmada miyeloid birikimi gözlenmektedir. Ayrıca step-down tipi pasif kaçınma testinde hafızada bozulma gösterilmiştir (Hua ve ark., 2007).

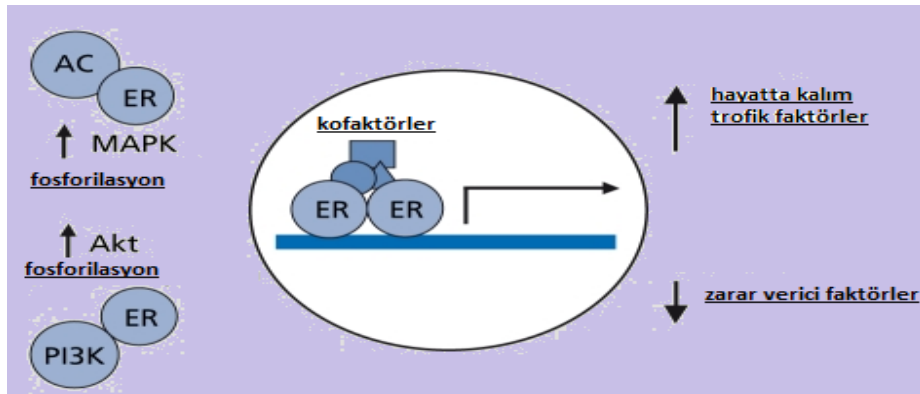
4.6. Östrojen Aracılı Nöroproteksiyon ve Moleküler Mekanizması

4.6.1. Östrojen aracılı nöroproteksiyon

Östrojen beyin dahil birçok dokuda koruyucu etki gösteren bir hormondur. İnsan ömrünün 80 yıla uzadığı ve menapoz döneminin yaklaşık 50'li yaşlarda başladığı düşünülecek olursa kadınlar bir 30 yıl kadar hipoöstrojenik durumda bulunmaktadır. Klinik çalışmalarda çelişkili sonuçlar olmasına rağmen insanlarda yapılan bir meta-analiz çalışmasında postmenapozal östrojen eksikliğinin AH'nın oluşması için yüksek risk faktörü olduğu (Gao, 1998) gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada ise östrojenin AH görülme sıklığını %44'e kadar azalttığı, insan nöronal ve glial hücrelerinde sekretaz proteinini kodlayan genleri ve protein ekspresyonunu modüle ederek proteolitik süreci düzenlediği ve A β düzeyini azalttığı gösterilmiştir (Nord ve ark., 2010). Temel birçok araştırmada östrojenin kognitif fonksiyonları ve hafızayı arttırdığı, beyinde AH ile ilişkili hücrel kayıpları önlediği, metabolik ve nörotransmitter seviyede nöroprotektif etkisi olduğu öne sürülmüştür. Overektomi ile oluşturulan uzun dönemli östrojen eksikliğinde geri dönüşümlü olarak öğrenme bellek bozukluklarının bazal önbeyindeki kolinerjik nöronlarda kayba neden olduğu (Gibbs, 1998; Simpkins ve ark., 1997) ve dendritik spin yoğunluğunu azalttığı tespit edilmiştir (Woolley ve ark., 1996).

4.6.2. Östrojen aracılı nöroproteksiyonun moleküler mekanizması

Östrojen fizyolojik koşullarda östrojen reseptörleri (ERs) üzerinden etki etmektedir. İki ERs alt tipi de transkripsiyon faktörü olarak rol oynarlar. Transkripsiyon faktörü olarak östrojen bağlanan ERs dimerize olarak nükleusa transloke olur. Nükleusa geçen östrojen, klasik rolü ile östrojen cevap gen promotörlerindeki östrojen cevap elemanlarına bağlanır ve transkripsiyonu düzenler. Kofaktörler östrojen-DNA kompleksine bağlanarak sinyalin yükseltilmesine, transkripsiyonel aktivasyona ya da baskılamaya neden olurlar. Östrojenin etkilediği sinyalin dönüştürülerek iletimi (sinyal transdüksiyonu) ise nispeten daha yeni bulunan rolü olup adenilil siklaz, fosfoinozitol 3-kinaz ve/veya mitojen-aktive protein kinaz (MAPK) veya tropomiyozin reseptör kinaz A (trkA) ve IGF-I reseptörleri ile çapraz etkileşimde bulunur. Bu yeni rol gen ekspresyonunun değişimine veya proteinlerin fosforilasyonuna neden olur (Şekil 10), (Dubal ve Wise, 2002). Östrojenin fizyolojik düzeyleri sinaptik plastisiteyi (Gould ve ark., 1990), nörotrofinlerin ekspresyonunu (Sohrabji ve ark., 1994), hücre sağkalım faktörlerinin (Bcl-2, Bcl-xl) ekspresyonunu (Singer ve ark., 1998) arttırmaktadır. Sonuç olarak östrojen trofik ve koruyucu etkili çeşitli hücrel cevapları indükler.



Şekil 10. Östrojen reseptörlerinin (ERs) transkripsiyon faktörleri gibi klasik ve sinyalin dönüştürülerek iletimi (transkripsiyonu) gibi yeni bulunmuş etki mekanizmaları.

MAPK: Mitojen aktive protein kinaz, **AC:** Adenilil siklaz, **ER:** Östrojen reseptör **Akt:** Protein Kinaz B, **PI3K:** Fosfoinozitol 3 kinaz (Dubal ve Wise, 2002).

4.7. Alzheimer Hastalığının Tedavisi

Alzheimer hastalığında tedavi farmakolojik ve nonfarmakolojik olarak ikiye ayrılabilir.

4.7.1. Farmakolojik tedaviler

Günümüzde Alzheimer hastalığı tedavisi için onay almış farmakolojik ilaçlar asetilkolinesteraz inhibitörleri ve bir N-metil D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistidir. AH'da erken ve orta dönemde kullanılan asetilkolinesteraz inhibitörleri; donepezil, rivastigmin ve galantamin AH'da azalan Ach'nin sinaptik aralıktaki yıkımını azaltarak seviyesinin artmasını sağlar (Tricco ve ark., 2012). Glutamat reseptörlerini bloke ederek glutaminerjik eksitotoksisiteyi önleme amacıyla kullanılan memantin ise yalnız başına ya da asetilkolinesteraz inhibitörleriyle kombine edilerek kullanılmaktadır (Thomas ve Harris, 2004). Bu ilaçlar hastalığın ilerlemesini yavaşlatmakta ancak kesin tedavi sağlayamamaktadır (Geldenhuys ve Darvesh, 2015). Yine terapötik potansiyeli olduğu söylenen APP'in klivajında rol alan β sekretaz (BACE) enzimi inhibitörleri (MK-8931) halen klinik değerlendirme aşamasındadır. A β 'ya karşı aktif immunizasyon ve pasif immunizasyon çalışmaları kapsamında bapineuzumab, solanezumab, gantenerumab ve crenezumab'ın halen faz III klinik çalışmaları sürmektedir. Oksidatif stres patogenezi düşünülerek çalışılmış diğer potansiyel terapötikler; vitamin C, vitamin E, koenzim Q10, α -lipoik asit, omega-3 ve selenyumdur. Ancak bu ilaçların klinik çalışmalarda etkileri tam olarak kanıtlanamamıştır (Geldenhuys ve Darvesh, 2015). Ancak oksidatif stresin hastalığın tetikleyicisi olduğu ve bu strese erken dönemde müdahale edilmesi gerektiği ve antioksidan tedavilerle ilişkili daha ileri araştırmalara ihtiyaç olduğu öne sürülmüştür (Persson ve ark., 2014).

Anti nöroinflamatuvar ajan çalışmaları kapsamında; ileri glikasyon son ürünleri, p38 MAPKs, NF- κ B ve peroksizom proliferatör-aktive reseptör γ blokörleri ile de halen çalışmalar devam etmektedir (Zhou ve Hu., 2013).

4.7.2. Non farmakolojik tedaviler

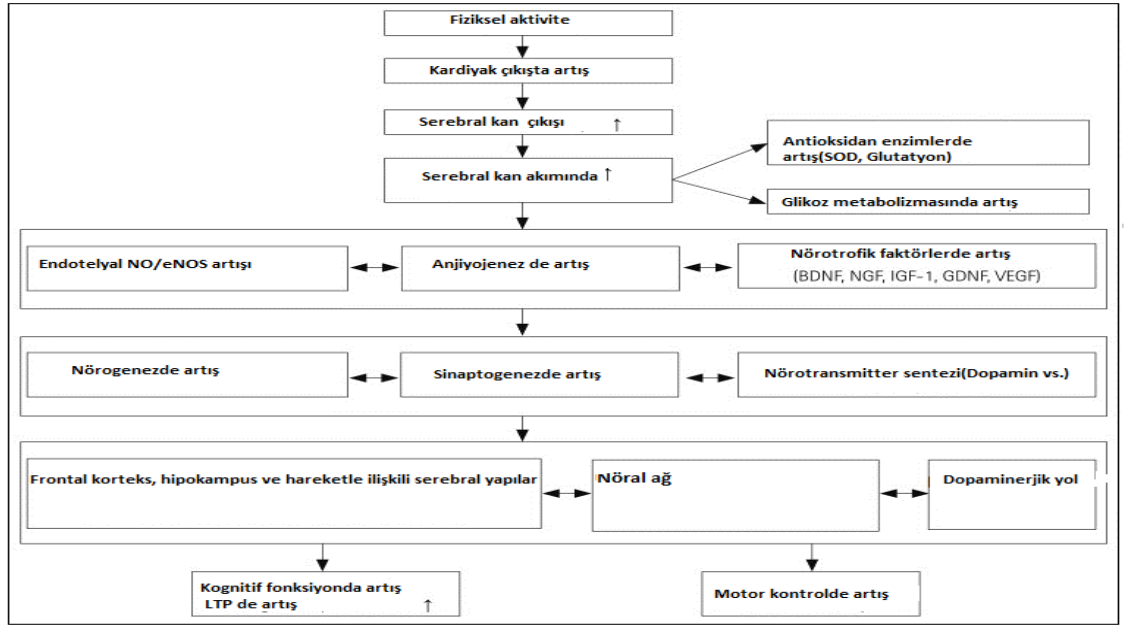
Entelektüel uyarılma, zihinsel egzersiz, sosyal çevrenin zenginleştirilmesi, beslenme değişiklikleri ve farklı tip egzersizler AH gelişim riskini azaltan terapötik hedefler olarak görülmektedir (Foster ve ark., 2011). Egzersiz AH riskini düşürmek için nonfarmakolojik yaklaşımlar içinde değerlendirilmektedir (Pang ve Hannan, 2013; Brett ve ark., 2015). Amerikan Ulusal Yaşlanma Enstitüsü (NIH-National Institute on Aging) egzersiz ve benzeri fiziksel aktivitelerin yararlı etkileri olduğunu belirterek egzersizi önermektedir (<https://www.nia.nih.gov/alzheimers/publication/preventing-alzheimers-disease/search-alzheimers-preventionstrategies#exercise> erişim tarihi: 03.01.2016). Hayat stili değişikliklerini araştıran insan çalışmalarında da diyetle değişiklikler yapmanın (Gu ve ark., 2010), kognitif aktiviteleri arttırmanın (Akbaraly ve ark., 2009), sosyal çevreyi zenginleştirmenin (Wang ve ark., 2002) demansın başlangıcını geciktirdiği ya da önlediği öne sürülmüştür. Geçtiğimiz 20 yılda en çok çalışılan hayat tarzı faktörlerinden birisi de egzersiz olmuştur. Araştırmalar fiziksel olarak aktif olmanın demansın başlamasını geciktirdiğini (Larson ve ark., 2006) ve demans riskini düşürdüğünü göstermiştir (Ravaglia ve ark.,2008; Buchman ve ark., 2012). Egzersizin AH tanısı almış kişilerde de kognitif fonksiyonlar üzerinde olumlu etkileri olduğunu ileri süren çalışmalar vardır (Farina ve ark., 2013).

4.8. Egzersizin Nöroprotektif Mekanizmaları

Yapılan bir meta-analiz çalışmasında fiziksel egzersizin demanslı kişilerde fiziksel fonksiyon, kognitif fonksiyon ve duygudurumla ilişkili pozitif davranışları arttırdığı gösterilmiştir (Heyn ve ark., 2004).

Fiziksel egzersizin farklı mekanizmalar üzerinden etkili olduğu bilinmektedir. Yüzme egzersizinin A β ile oluşan fare AH modelinde nöroinflamatuvar belirteçleri, oksidatif stresi ve kognitif bozukluğu düzelterek non-farmakolojik araç olarak AH semptomlarını azalttığı gösterilmiştir (Souza ve ark., 2013). Koşubandı egzersizinin

sıçan A β infüzyon modelinde uzun süreli potansiyel artışı (LTP) ile ilişkili sinyal molekülleri kalsineurin (PP2B), BDNF ve fosforile kalsiyum map kinazı (p-CaMKII) arttırarak etkili olduğu gösterilmiştir (Dao ve ark., 2013). Normal sıçanlarda zorunlu yüzme egzersizi ve diyet kısıtlamasının uzamsal hafıza ve BDNF seviyelerinde artışa neden olduğu (Omar ve ark., 2013), ayrıca yüzme egzersizinin normal sıçanlarda NGF ve nörogenezi arttırdığı (Chae ve ark., 2012) gösterilmiştir. Neeper ve ark. da fiziksel egzersizin hipokampusta NGF ve BDNF gen ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Neeper ve ark., 1996). Aerobik egzersiz nörotrofik faktörlerin salınmasını ve anjiyojenezi uyararak nörojenezi ve sinaptojenezi arttırır, bu sayede kognitif fonksiyonlar ve hafızada artış meydana gelir. SOD, endotelyal NOS, BDNF, NGF, IGF-I, vasküler endotelyal büyüme faktör (VEGF) üretimini arttırarak ve serbest radikallerin üretimini azaltarak nöroprotektif etki gösterir, egzersiz beyin nöroplastisitesini geliştirir. Bununla birlikte aerobik egzersiz tek başına muhtemelen en iyi aktivite olarak görülmemektedir. Gerim ve güç alıştırılmaları, tai Chi, denge koordinasyon ve diğer tip fiziksel egzersizlerde kognitif ve motor fonksiyonlarda sürdürülebilirliğe ve gelişime katkı sağlamaktadır. Bu nedenle aerobik egzersizlerin diğer egzersizlerle kombine edilmesi nöromusküler sistem denge sistemi ve motor fonksiyonların koordinasyonu için oldukça faydalıdır (Şekil 11) (Paillard ve ark., 2015).



Şekil 11.Düzenli fiziksel egzersizin nöroprotektif mekanizması.

BDNF: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör, **eNOS:** endotelial nitrik oksit sentaz, **GDNF:** glial hücre hattı kaynaklı nörotrofik faktör, **VEGF:** Vasküler endotelial büyüme faktörü, **NGF:** Sinir büyüme faktörü (Paillard, 2015).

Direnç egzersizi hem yetişkinler hemde yaşlılar için kemik mineral kütesini ve kas kütesini arttırdığı, direnç sağladığı ve özellikle yaşlılarda düşme riskini azalttığı için tavsiye edilmektedir (Haskell., 2007; Chodzko-Zajko ve ark., 2009). Direnç egzersizi; dışarıdan uygulanan bir güce karşı kas kontraksiyonlarının direnci ile yapılan bir egzersizdir. Direnç egzersizi kemik ve kas gücünü ve dayanıklılığını artırır. Direnç egzersizinde artan gerim kasta hipertrofiye neden olarak kas gücünü artırırken dayanıklılıkta ise uzun süre boyunca kasın düşük yoğunluklu tekrarlanabilir egzersizleri yapabilme yeteneği artmıştır. Direnç egzersizleri ayrıca mobilite ve dengeyi de geliştirir (Feigenbaum ve Pollock, 1999). Ancak direnç egzersizinin hipokampus bağımlı hafızayı nasıl etkilediği hakkında literatürde az sayıda bilgi bulunmaktadır. Aerobik egzersiz ile hipokampusta IGF-1, BDNF, TrkB, ve β -CaMKII (kalsiyum/kalmodulin bağımlı kinaz II) artışı; rezistans egzersizi ile periferik ve hipokampal IGF-I reseptörü ve Akt artışı ile birlikte IGF-I artışı tespit edilmiştir. Ancak bu farklı yollar sinapsin1 ve sinaptofizin ekspresyonunda aynı artışa neden olmuştur. Bu bulgular hem aerobik hem de direnç egzersizin farklı moleküler mekanizmalarla öğrenme ve uzamsal bellekte benzer iyileştirici sonuçlara

yol açmıştır (Cassilhas ve ark., 2012). Gerçektende periferik IGF-I düzeyinin özellikle yaşlı insanlarda kognitif fonksiyonlarla ilişkili olduğu (Dik, 2003) ayrıca uzun dönemli direnç egzersizi yapan erkeklerde nörokognitif performansla serum IGF-I düzeyleri arasında korelasyon olduğu bildirilmiştir (Tsai, 2015). IGF-I'in kan beyin bariyerini geçtiği (Carro ve ark., 2000) ve hipokampustaki IGF-I/IGF-IR sinyal yolağını aktive ettiği (Trejo ve ark., 2001) ve hipokampal yapıyı ve kognisyon ve nöroplastisiteyi geliştirdiği bilinmektedir (Cassillas ve ark., 2012).

Kombine egzersizin kognitif bozukluklara etkileri hakkında literatürde çok az çalışma bulunmaktadır. Sıçanlarda 3 günlük koşubandı ve 3 günlük direnç egzersizin kombine olarak yapıldığı bir çalışmada egzersizin overektomi ile oluşan kognitif bozukluğu hücre proliferasyonunu arttırarak ve apoptozisi baskılayarak düzelttiği ortaya konmuştur. Overektomi ile BDNF, TrkB, Bromodeoksiüridin (BRDU) pozitif hücrelerin sayısı azalır ve kaspaz-3 pozitif hücreler artarken kombine egzersiz bu durumu düzeltmiştir. Dahası kısa süreli hafıza ve uzamsal hafızada kombine egzersiz ile düzelmiştir (Kim ve ark., 2015).

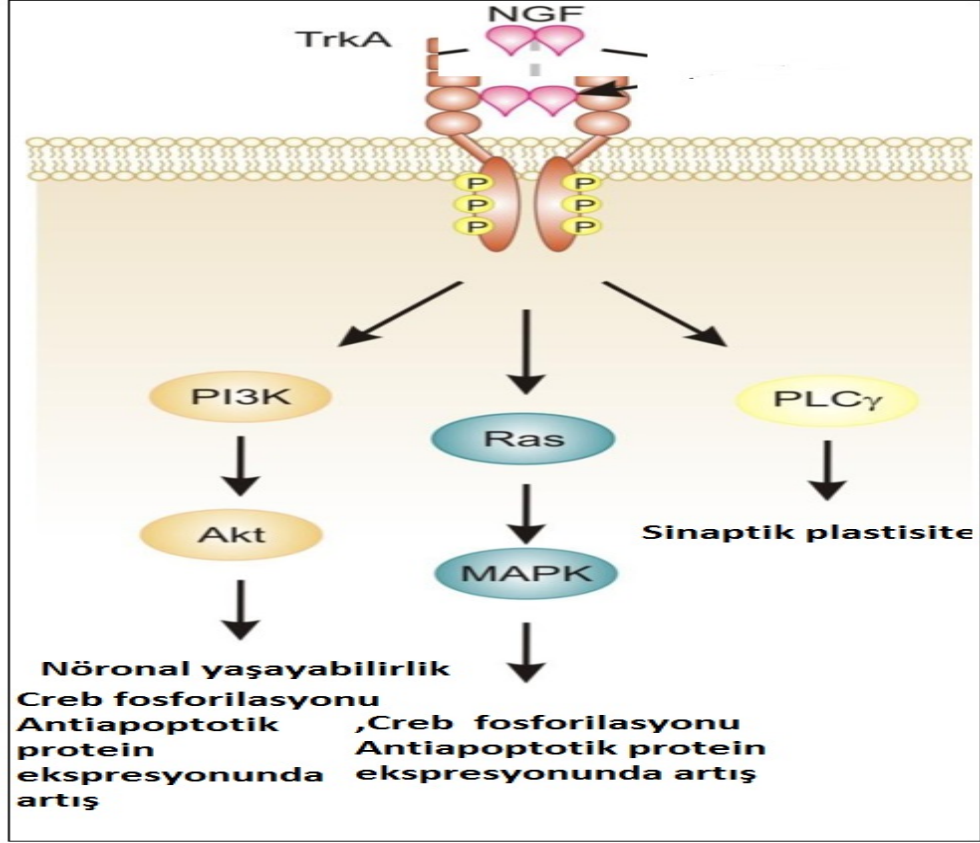
4.9. Nörotrofik ve Büyüme Faktörlerin Etki Mekanizmaları ve Fonksiyonları

Nörotrofik faktörler; büyüme için gereken trofik desteği sağlayarak hücre hayatta kalımını artırırlar.Hücre zarı reseptörlerine bağlanıp,hücre içi sinyal ileti döngülerini düzenleyerek hücre ölüm döngüleri üzerine inhibitör etki gösterirler (Kotan ve ark., 2009). BDNF ve NGF serbest radikal süpürücülerini aktive ederek nöronları oksidatif hasardan korur (Nistico ve ark., 1992) ve ROS düzeyini düşürür (Mishra ve ark., 2007). Nörotrofik faktörler arasında en iyi tanımlanmış nörotrofinler olarak BDNF ve NGF sayılabilir.IGF-1 de proinsülin ile yapısal olarak ilişkili nöronlar ve oligodendrositler için beyinde nöronal büyüme ve farklılaşmada potent bir yaşamsal faktördür (Markowska ve ark., 1998).

4.9.1. NGF etki mekanizması

NGF peptit yapıda olup hedef nöron tarafından salgılanır ve akson terminallerindeki reseptörlerine bağlandıktan sonra reseptörüyle birlikte hücre içine alınır ve retrograd taşıma ile geriye doğru taşınır. NGF yüksek affinite ile tirozin kinaz reseptör ailesinden Trk A ve daha düşük affiniteli olarak p75 reseptörlerine bağlanır. Trk reseptör kompleksi büyüme faktörü reseptör bağlı protein-2 (Grb2) adlı adaptör proteinle kompleks oluşturduktan sonra sırasıyla, PI3K ve Protein kinaz B (Akt kinaz) aktive olur (Sanes, 2011). Orta düzey zorlu koşubandı egzersizinin yaşlı sıçanlarda NGF'yi ve PI3-K/Akt sinyalini harekete geçirerek hipokampustaki apoptotik hücre ölümünü baskıladığı gösterilmiştir (Chae ve ark., 2009). Hücre yaşayabilirliğine katkıda bulunan diğer bir yolda NGF ile membranla ilişkili G-protein Ras'ın aktivasyonunu takiben MAPK'ın aktive olmasıdır. Hem Akt hem MAPK döngüsünün aktivasyonu cAMP yanıt elemanı bağlayan protein (CREB)' i aktive eder, fosforile CREB nükleusa transloke olur ve antiapoptotik proteinlerin ekspresyonlarına aracılık eder. Gen transkripsiyonunun artması ile antiapoptotik proteinlerin üretimi artar (Sanes ve ark., 2011) ve ayrıca moleküler çalışmalar uzun dönemli hafıza oluşumunda cAMP ve CREB bağımlı gen ekspresyonlarının sinaptik plastisite ve hafıza oluşumunda anahtar rol oynadığını göstermiştir (Bartsch ve ark., 1998). PLC'de NGF'nin sinaptik plastisitesinde rol oynayan diğer bir yoldur (Gönül ve Akdeniz., 2002) (Şekil 12).

NGF ayrıca Cu-Zn SOD, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz aktivitesini arttırarak beyni süperoksit radikali ve hidrojen peroksitten kaynaklanan metabolik degradasyonları önleyen enzimlerin aktivitesini arttırarak beyni ve nöronları oksidatif hasardan korur (Nistico ve ark., 1992).

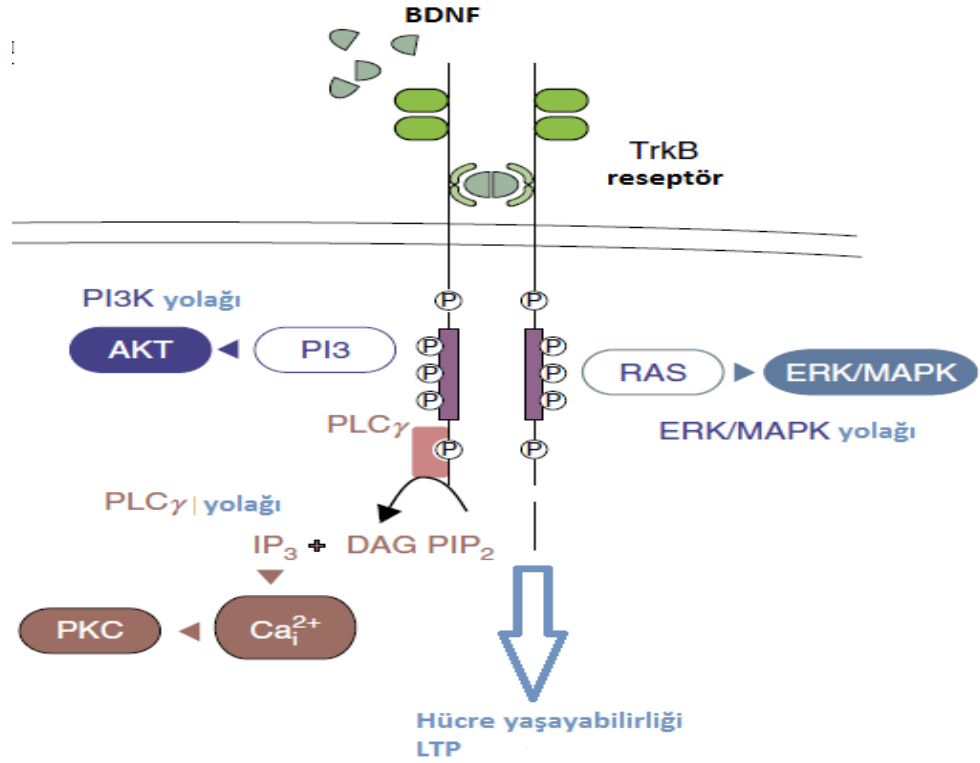


Şekil 12. TrkA reseptörüne bağlanan NGF ve sinyal yolları.

TrkA: NGF reseptör, **NGF:** Sinir büyüme faktörü **PI3K:** Fosfotidil inozitol3 kinaz, **Akt:** Protein kinaz B, **PLC γ :** Fosfolipaz C gama, **Ras:** Ras ailesi proteinleri, **MAPK:** Mitojen aktive protein kinaz, (Molloy ve ark., 2011).

4.9.2. BDNF etki mekanizması

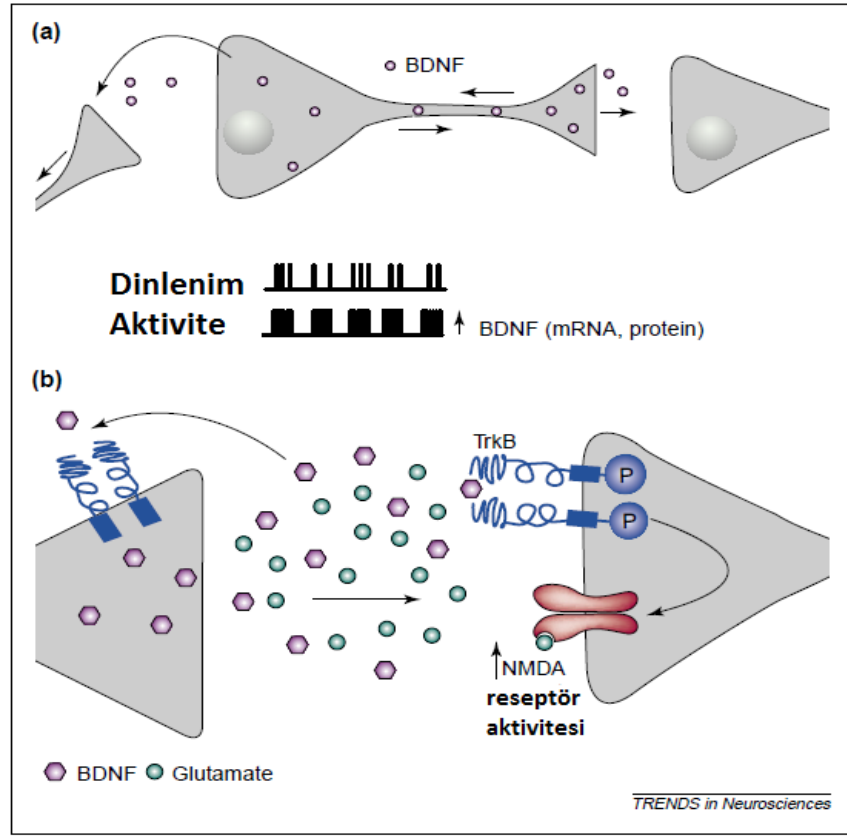
BDNF geni tarafından kodlanan büyüme faktörü proteindir. Tirozin kinaz reseptör ailesinden TrkB reseptörüne bağlanır. Ligandın reseptöre bağlanmasıyla otofosforile olan tirozin rezidülerinde intrasellüler hedef proteinler için özel bağlanma bölgeleri oluşur. BDNF'nin yüksek affiniteli reseptörü TrkB'ye bağlandıktan sonra büyüme ve sağkalımı sağlayan hücre içi sinyal yollarından; PI-3 K, PLC γ ve hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz (ERK/MAPK) ve CREB aktive olur. Sonuç olarak hücre yaşayabilirliği ve uzun süreli güçlenme (LTP) artar. (Şekil 13) (Woo ve Lu, 2009).



Şekil 13. BDNF' nin etki mekanizması.

TrkB: BDNF reseptörü, **PI3K:** Fosfotidil inozitol3 kinaz, **AKT:** Protein kinaz B, **PI3:** Fosfoinositol3, **PLC γ :** Fosfolipaz C gama, **RAS:** Ras ailesi proteinleri, **ERK/MAPK:** Ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz/ Mitojen aktive protein kinaz, **DAG:** Diaçil gliserol, **LTP:** Uzun süreli güçlenme (Woo ve Lu, 2009).

Egzersizle birlikte BDNF mRNA ve protein ekspresyonu artar. BDNF retrograd ve anterograd olarak sinapslardan presinaptik ve postsinaptik nöronlara geçer ve sinaptik iletimi kolaylaştırır, sinaptik morfolojiyi modifiye eder, gen transkripsiyonuna katılır ve nöronal esnekliği artırır (Şekil 14.a). Salınan BDNF, TrkB reseptörüne bağlanarak presinaptik olarak transmitter salınımını modifiye ederken, postsinaptik olarak NMDA reseptörleri aracılığıyla postsinaptik duyarlılığı ve uyarılabilirliği düzenler (Şekil 14.b) (Cotman ve Berchtold., 2002).



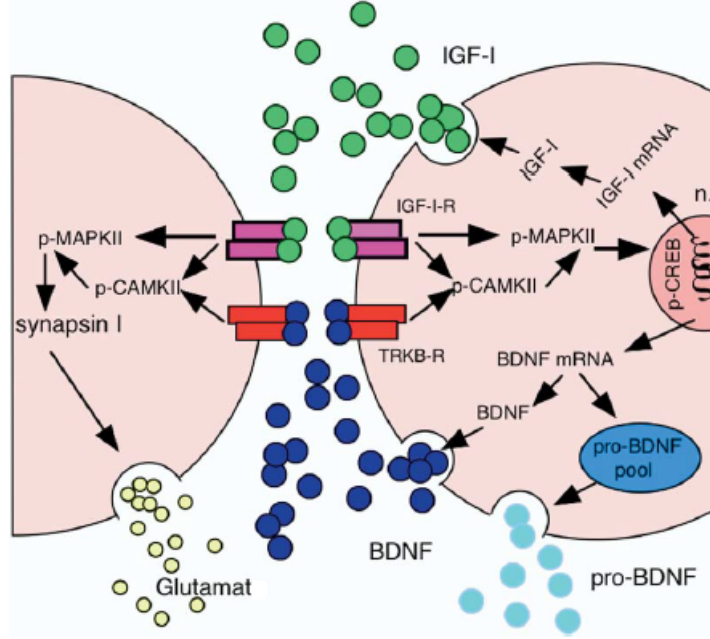
Şekil 14. Egzersizle birlikte artan BDNF'nin retrograd ve anterograd olarak salgılanması (a)ve NMDA reseptör aktivitesinde artış (b). (Cotman ve Berchtold., 2002)

4.9.3. IGF-I'in etki mekanizması

IGF-1 dolaşımdaki düzeyi IGF bağlayıcı proteinle düzenlenir. İnsülin reseptörü (IR) ve IGF-I reseptörleri (IGF-1R) tirozin kinaz reseptörlerdir. IR'nin IR-A ve IR-B olmak üzere iki formu beyinde bulunmuştur. IGF-I hem IGF-I reseptörüne hem de IR'ye bağlanır. Bu reseptörlerin aktivasyonu Raf/Ras/MAP kinaz (MEK)/mitogen-aktive protein kinaz (MAPK) ve fosfatidilinositol 3-kinase (PI3K)/Akt yollarını aktive eder. Bu yolların aktivasyonu proliferasyona ve hücre yaşayabilirliğinin artmasına neden olur (Alberini ve Chen, 2012)

Egzersiz sırasında hipokampusta IGF-I sinyalinin BDNF aracılı sinaptik plastisteyle kesiştiği öne sürülmüştür. Bu hipotezde egzersizde hipokampal IGF-I

üretimi artar ve BDNF ile benzer sinyal yolları olan p-CAMKII ve p-MAPKII harekete geçer ve her ikisi sinaptik ve kognitif plastisiteye katılırlar. Nükleusta CREB aktivasyonu sonrası artan BDNF ve IGF-I üretimi meydana gelir. Diğer taraftan IGF-I ve BDNF sinapsinI üretimini arttırarak glutamat salımını da arttırır (Şekil 15) (Ding ve ark., 2006).



Şekil 15. Egzersiz esnasında IGF-I sinyalinin BDNF aracılı sinaptik plastisite ile kesişmesi hipotezi.

IGF-IR: IGF-I reseptör, **p-MAPKII:** fosforile mitojen aktive kinaz II, **TRKB-R:** BDNF reseptörü, **CAMKII:** Ca²⁺/kalmodulin-bağımlı protein kinaz II, **Synapsin I:** Sinaptik vezikülde bulunan spesifik fosfoprotein, **Pro-BDNF:** öncül BDNF, **p-CREB:** Fosforile cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein (Ding ve ark., 2006).

4.10. Öğrenme Bellek ve Bellek Tipleri

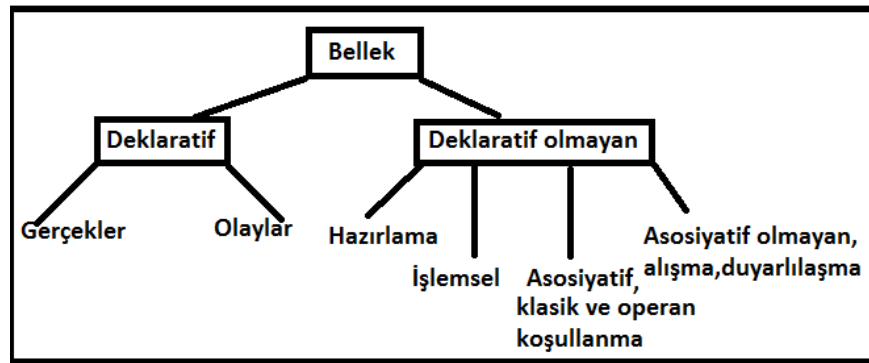
4.10.1. Öğrenme ve bellek

Öğrenme iç ve dış uyarılara karşı santral sinir sisteminin verdiği adaptif bir yanıttır (Kotan, 2009). Davranışı deneyimlere göre değiştirebilme yeteneği canlılara ait bir özellik olup, bunu gerçekleştirebilmek için bilgi edinebilmeye öğrenme ve

öğrenilen bilginin depolanmasına bellek denir. Belleğin fizyolojik olarak farklı tipleri bulunmaktadır (Ganong, 2011).

4.10.2. Bellek tipleri

Öğrenme sinirsel süreçlerde karmaşık işlemleri içerir ve bellek ise bilginin belleğe alınması, depolama ve geri çağırma işlemlerinden meydana gelir. Bellek içeriğine göre deklaratif (açık-eksplicit) ve deklaratif olmayan (örtülü-implisit) bellek, süresine göre ise kısa veya uzun süreli bellek, doğasına göre ise arşivlenebilir (kısa süreli, uzun süreli) veya geçici (çalışma belleği) olarak sınıflandırılabilir. Deklaratif bellek de gerçekler (semantik) ve olaylar (epizodik) olarak ikiye ayrılır ve mediyal temporal lob ve hipokampus yapıları ile ilişkilidir (Kandel, 2000) (Şekil 16). Epizodik bellekte olayların kişisel olarak deneyimlenmesi veya "nerede", "ne zaman" ve "ne" olduğunun hatırlanması söz konusudur. Semantik bellek ise dünyanın genel gerçekleriyle ilgilidir (Ganong, 2011). AH'da kognitif bozukluk esas bulgulardan biridir ve epizodik belleğin ve dikkatin hastalığın çok erken dönemlerinde hatta teşhisten bile önce bozulduğu bildirilmiştir (Traykov ve ark., 2007, Backman ve ark., 2001). Yeni obje tanıma testleriyle görsel tanıma belleğinin esas olarak hipokampusla neokorteks, perirhinal ve entorhinal korteks yapılarındaki etkileşimle desteklendiği gösterilmiştir (Mumby ve Pinel, 1994) ki bu bölgelerin AH'da etkilenen bölgeler oldukları bilinmektedir (Whitwell ve ark., 2007).



Şekil 16. Uzun süreli bellek çeşitlerinin sınıflandırılması (Kandel, 2000).

4.11. Öğrenme ve Belleğin Moleküler Mekanizması ve Uzun Süreli Güçlenme

Sinaptik deşarjlar sinaptik işlevde kısa süreli ya da uzun süreli presinaptik ya da postsinaptik değişikliklere neden olur ve bunun sonucunda sinaptik ileti güçlenir ya da zayıflar. Öğrenme ve belleğin bu şekilde oluştuğu düşünülmektedir. Bu değişiklikler post tetanik güçlenme, alışma, duyarlılaşma, uzun süreli potansiyel artışı (güçlenme), uzun süreli baskılanma gibi değişik şekillerde olabilir (Ganong, 2011). Hipokampustaki LTP beyindeki öğrenme ve belleğin altında yatan temel süreçtir (Johnstone ve Raymond, 2013). LTP'nin beyinde hipokampus bölgesinde erken ve geç olmak üzere iki fazı vardır (Kantar, 2009). Bir iki saat süren erken fazda mevcut sinapslardaki fonksiyonel değişiklikler olurken, geç fazda günlerce sürecek olan yeni protein sentezi söz konusudur. Sinapslardaki bu uzun süreli değişiklikler sırasında sinaptik cevabın güçlenmesi yeni sinaps oluşumu ile açıklanabilir (Bozdağı ve ark., 2000;).

LTP' nin erken evresi: Presinaptik nöronların sık ve şiddetli uyarılması postsinaptik nöronda uyarılmaya ve hücre içinde Ca^{+2} artışına neden olur. Presinaptik sinir hücresinden salınan glutamat postsinaptik membrandaki AMPA reseptörlerine bağlanınca NMDA reseptörlerine olan Mg^{+2} 'un blokajı ortadan kalkar, hücreye Na^{+} ve Ca^{+2} girer. Hücre içinde Ca^{+2} /kalmomodulin kinaz II, PKC ve tirozin kinaz etkinleşir. Etkinleşen kinaz daha fazla AMPA reseptörünü fosforile eder. Diğer taraftan bir kimyasal haberci postsinaptik hücreden presinaptik hücreye geçebilir bu da glutamatın salımında uzun süren bir artışa neden olur. Bu haberci moleküllerden NO presinaptik alanda cGMP aracılığı ile PKG'yi (protein kinaz G) aktive ederek nörotransmitter salınımını artırır. İşte bu mekanizma sinaptik iletimde uzun süren artışa neden olur ve LTP olarak adlandırılır (Kandel, 2000; Ganong, 2011). Santral sinir sisteminin birçok yerinde, özellikle hipokampusta LTP'nin oluştuğu gösterilmiştir. Nöronların yavaş ve zayıf olarak uyarılması ise uyarının postsinaptik bölgeye azalarak geçmesine yani uzun süreli depresyona (LTD) neden olur.

LTP'nin geç evresi: LTP'nin erken fazını oluşturan uyarı devam ederse postsinaptik alanda artan Ca^{+2} adenilat siklazı aktive eder, cAMP miktarını artar ve cAMP'ye bağımlı protein kinaz (cAMP kinaz) aktive olur. Aktive cAMP kinaz hücre çekirdeğindeki CREB'i fosforile eder ve gen ekspresyonu modifiye edilir (Kandel, 2000). LTP'nin geç fazında protein ve RNA sentezi ile karakterize edilen yapısal değişikliklere neden olarak (LTP ve LTD nin uzun sürmesi) hem transmitter salımında hemde reseptörlerde değişime neden olur (Gürpınar ve ark., 2007).

4.12. Obje Tanıma belleğinin Nöroplastisite İle İlişkili Moleküler Mekanizmaları

Tanıma belleği nöroplastisite ve LTP ile ilişkilidir. Nöroplastisite ile ilişkili mekanizmalar kemirgenlerde obje tanıma belleği ile çalışılmış ve bu çalışmaların çoğunda hipokampustaki intrasellüler sinyal yollarına odaklanılmıştır. Bu sinyal yolları MAPK/ERK kinaz MEK ve CREB'dir. Bu moleküllerin fonksiyonlarının bozulması hipokampusta geç faz protein sentezi bağımlı LTP'yi bozar ve bu da uzun dönem obje tanıma belleğinde bozulma şeklinde gözlenir. Perirhinal korteksde CREB fosforilasyonunun da uzun dönemli obje tanıma belleğinde rol aldığı gösterilmiştir (Winters ve ark., 2008).

4.13. Kognitif Testler

Kognitif fonksiyonları değerlendirmek amaçlı farklı testler uygulanmakla birlikte herbir testin farklı bellek çeşidini hedef aldığı görülmektedir.

4.13.1. Pasif kaçınma testi

İki bölmeli, tabanı ızgara ve birbirinden bir geçiş kapısı ile ayrılan düzenekte gerçekleştirilen bu testte öğrenme test edilir çünkü pasif kaçınma en hızlı öğrenilen

davranışlardan biridir. Hayvanlar normalde karanlık ortamları tercih ederler ve testte karanlık bölgeye geçince elektrik şoku verilir. Aynı anda kapı açılır ve hayvan aydınlık bölmeye geçerek şoktan kurtulur. İkinci kez aydınlık bölmeye konan hayvanın karanlık bölmeye geçtiği süre kayıt edilir (Karakaş, 2010).

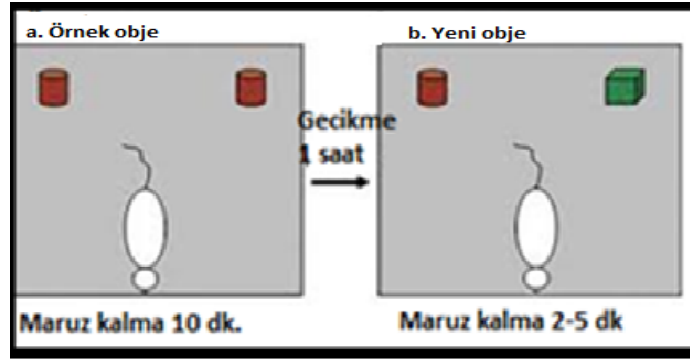
4.13.2. Labirent testleri

Mekansal belleği test eden bir testlerdir. İnsan ve hayvanlarda mekansal bellek deklaratif belleğin bir parçasıdır. Açık bellek deposunda saklanan bilgiler bilinçli olarak geri çağırılır. Bu bellekte devreye giren beyin bölgeleri amigdala, striatum ve özellikle hipokampustur. Labirent testlerinde hayvanın hedefe giden yolu öğrenmesi için bir alıştırmaya döneminde gereksinim vardır. Yiyecekler öğrenmeyi pekiştirme amaçlı olarak kullanılır ve genelde yiyecek kısıtlaması yapılır. Farklı labirent çeşitleri tasarlanmış olup bunlar arasında T-Labirenti, Y- Labirenti (Karakaş, 2010), Yükseltilmiş Radyal Labirent, Morris Su labirenti (Hodges, 1996) sayılabilir.

4.13.3. Yeni obje tanıma testi (novel object recognition test)

Yeni obje tanıma testi epizodik belleğin sınındığı bir test olarak sıçanlarda yaygın olarak çalışılan bir testtir. Hayvanların araştırmacı davranış tabiatlarına uygun olarak yeni olanı tercih etmelerine dayanan bu testte yiyecek ve içecek kısıtlaması olmaması, ödül gerektirmemesi, sonuçların kısa sürede elde edilebilmesi bu testin avantajları arasında sayılabilir (Grayson ve ark., 2015). Test; 31x24x44,5 cm boyutlarında bir düzende gerçekleştirilir. Test iki setten oluşmaktadır. Örnek objeler üstü açık test düzeneğinin sağ ve sol köşelerine yerleştirilir. İlk set alışma dönemi olup, hayvan başlangıçta yüzü objelerin karşısındaki tarafa dönük olarak objelerin tam karşısında orta noktaya konur ve 10 dk iki aynı objeye maruz bırakılır. İkinci sette bir gecikme süresinden sonra (1 saat) iki objeden biri değiştirilir ve yeni bir obje konur ve hayvan buna maruz bırakılır (2-5 dk).Yeni objeye maruz kalma süresi 2-5 dk arasında değişir. Objelerin birbirinden şekil olarak farklı olmalarına

dikkat edilir. Testler kamera sistemi ile izlenir. Objeye tanıma yeni olan obje ile alışılan objelerden daha fazla zaman geçirme ile belirlenir ve pozitif farklı bir skor verir. Yeni obje ile geçirilen sürenin farkı şu formüle göre hesaplanır. Fark skoru (santise saniye)=Yeni obje ile geçirilen zaman-örnek obje ile geçirilen zaman (Bevins ve Besheer, 2006) (Şekil 17). Yeni obje tanıma testleri görsel tanıma belleğinin AH'nın erken dönemlerinde bozulduğunu göstermiştir (Grayson ve ark., 2015). Objeye tanıma testlerinde bozulma; APP ve Aβ aşırı üretimi ve oksidatif hasarın bulunduğu bir AH ile ilişkili fare yaşlanma modeli de dahil birçok sporadik ve ailesel AH hayvan modellerinde gösterilmiştir (Morley ve ark., 2012; Grayson ve ark., 2015).



Şekil 17. İki örnek obje- tek ortamlı yeni obje tanıma testi

a: Örnek objeye maruz kalma fazı b: yeni objeye maruz kalma fazı. (Bevins ve Besheer, 2006).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

‘Sıçanlarda Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Farklı Egzersiz Yöntemlerinin Kognitif Fonksiyonlar Üzerine Etki Mekanizmalarının İncelenmesi’’ adlı çalışmanın Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onayı alındı (30.2014.Mar- onay yazısı ekte sunulmuştur). Çalışmamız Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAPKO- proje no: SAG-C-DRP-050614-0228) tarafından desteklenmiştir.

5.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden (DEHAMER) 250-340 g ağırlığında 6-7 aylık Wistar suşu dişi sıçanlar (n:64) temin edildi. Sıçanlar 20-22 °C sıcaklıkta dörtlü olarak kafeslerde korundu. Laboratuvarında 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsünde, etik kurallara uygun olarak ve yem su erişimi serbest olacak şekilde (ad libitum) bakım yapıldı.

5.2. Deney Grupları

Sıçanlar başlangıçta rastgele olarak (kapalı zarf usulü ile) seçilerek gruplandırıldı. Ancak tüm sıçanların merdiven çıkmamaları üzerine direnç ve kombine egzersiz gruplarının seçimi yapılırken merdiven çıkabilen sıçanlar tercih edildi. Sıçanlar; taklit cerrahi ve Overektomi+D-GAL olarak 2 ana gruba ayrıldıktan sonra her 2 grup da kendi içinde sedanter, aerobik, direnç ve kombine egzersiz olarak Tablo 2’de gösterildiği gibi gruplandırıldı (n=8/grup).

Tablo 2: Grupların adlandırılması

Grup no	Gruplar	N sayısı
1	Taklit cerrahi sedanter	8
2	Taklit cerrahi aerobik	8
3	Taklit cerrahi direnç	8
4	Taklit cerrahi kombine	8
5	OVT+D-GAL sedanter	8
6	OVT+D-GAL aerobik	8
7	OVT+D-GAL direnç	8
8	OVT+D-GAL kombine	8

5.3. Tüm Kimyasallar

- D-Galaktoz (Sigma Chemical, St.Louis, Mo., Usa)
- Fosfat-sitrat tamponu (Sigma Chemical, St.Louis, Mo., Usa)
- Thiobarbitürik asit-TBA (Sigma)
- Trikloroasetik asit-TCA (Sigma)
- Potasyum klorür -KCl (Sigma)
- Sodyum azid O- dianizidin (Sigma)
- Heksadecyltrimethylammonium bromid-HETAB (Sigma)
- Hidrojen peroksit-H₂O₂ (Sigma)
- Di sodyum fosfat tamponu -Na₂HPO₄ (Sigma)
- Sodyum sitrate (Sigma)
- Dithiobisnitrobenzoat (Sigma)
- Hidro klorür -HCL (Sigma)
- Fosfat buffer tampon (Sigma)
- Formaldehit
- HEPES (Sigma)
- K₂CO₃
- Desferal

5.4. Overektomi ve D-galaktoz ile Oluşturulan Deneysel Alzheimer Protokolü

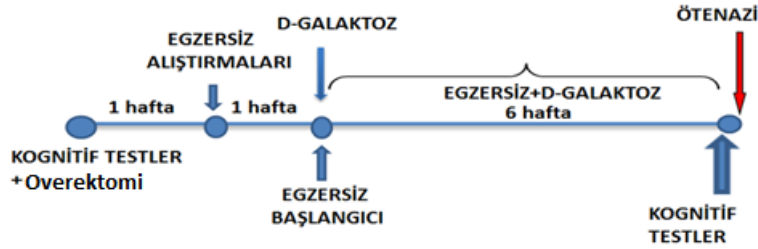
Çalışmada seçilen model Hua ve ark.'nın deneysel Alzheimer protokolü olup, 6-9 aylık erişkin Wistar suşu sıçanlarda 100 mg/kg ketamin (Ketalar) ve 10 mg/kg ksilazin (Rompun) anestezisi altında ovaryumlar küçük bir abdominal kesi yapılarak açığa çıkarıldı ve kan damarları ve duktuslar ile birlikte 3/0 ipekle ligatüre edilerek ve ligatürün üst kısmından kesilerek çıkarıldı. Deri ve kaslar 2/0 ipekle sütüre edildi (Hua ve ark., 2007). Taklit cerrahi grubunda ise ovaryumlar alınmadan sadece abdominal kavite açılıp, ovaryumlar açığa çıkarıldı ve ardından abdominal kavite sütüre edildi (Resim 1). Postoperatif antibiyotik olarak 40 mg/kg sefazolin intramuskuler (im) olarak iki gün uygulandı. Cerrahi sonrası sıçanlar bir hafta boyunca derlenmeye bırakıldı. Postoperatif 7. günün sonunda hayvanlar egzersiz adaptasyon protokolüne tabii tutuldu ve 14. gün Alzheimer hastalığı grubuna D-galaktoz (100 mg/kg/ml, ip, salin içinde) enjeksiyonları ve taklit cerrahi gruplarına i.p. salin uygulamaları başlandı (Resim 2). D-galaktoz ve salin uygulamalarına 6 hafta boyunca devam edildi. Deney protokolü özet olarak şekilde verildi (Şekil 18). Tüm sıçanların vücut ağırlığı haftada bir kez tartıldı .



Resim 1. Overektomi (OVT) operasyonu.



Resim 2. İntraperitoneal enjeksiyon.



Şekil 18. Deney protokolü.

5.5. Egzersiz Protokolleri

5.5.1. Aerobik (yüzme) egzersiz protokolü

Yüzme egzersizleri Lemos ve ark.'nın protokolü modifiye edilerek 60 cm çapında 20 cm yüksekliğinde ısı kontrollü su içeren (30-32°C) dairesel yüzme tankında gerçekleştirildi. Operasyon sonrası 7. günde başlayan yüzme egzersizine adaptasyon protokolünde 15 dk/gün ve 5 gün/hafta olacak şekilde egzersiz yaptırıldı. Bir haftalık adaptasyon süresinden sonra egzersiz protokolüne geçildi. Egzersiz protokolüne haftada 3 gün 60 dk. olacak şekilde 6 hafta süresince devam edildi (Lemos ve ark., 2007) (Resim 3). Sedarer hayvanlar ise egzersiz günlerinde suda ıslatılıp çıkarılarak aynı ıslanma ve kuruma işlemine maruz bırakıldı. Havuzdan

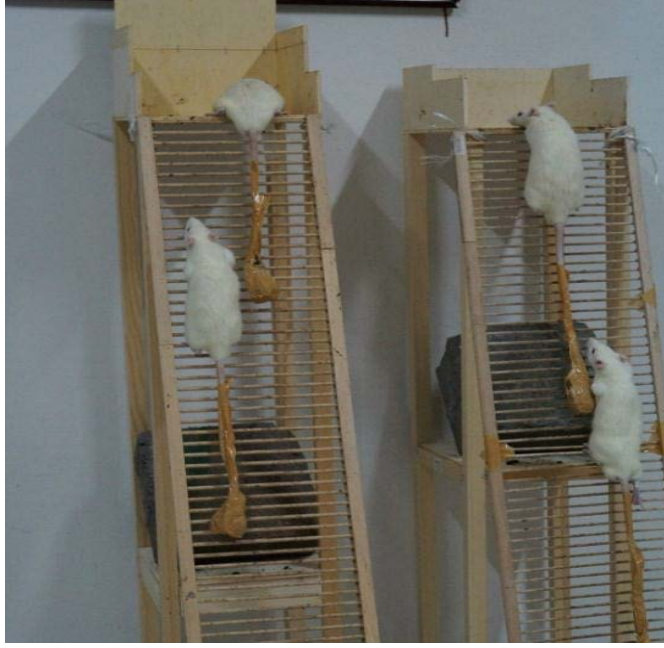
alınan tüm sıçanlar, vücut sıcaklıklarının düşmemesi için ısıtıcı ve havlu kullanılarak kurutuldu. Tüm egzersizler 09:00-16:00 saatleri arasında yaptırıldı.



Resim 3. Hayvanlara yüzme egzersizi yaptırılması.

5.5.2 Direnç egzersizi protokolü

Direnç egzersizleri Rodriguez ve ark.'nın protokolü (Rodriguez ve ark., 2013) modifiye edilerek yaptırıldı. 80 derece eğimli, 110 cm yüksekliğinde 2 cm aralıklı dikey merdivende haftada 3 defa (gün aşırı) olacak şekilde 1 haftalık adaptasyon sürecini takiben 6 hafta süresince ağırlıklı merdiven çıkma egzersizleri yaptırıldı. Direnç egzersizi protokolünde bir set 8-12 tırmanma ve 120 sn'lik dinlenme serisinden oluşmaktadır. Öncelikle sıçanlara operasyon sonrası 7. günde başlayan direnç egzersizi adaptasyon protokolü uygulandı. Bir haftalık adaptasyon sürecinde ilk gün hayvanlar kuyruklarına ağırlık bağlanmaksızın merdiven çıkmışlar sonraki gün ise ağırlık kademeli olarak artırılarak vücut ağırlığının %25'i ve 3. gün %50' lik ağırlıkla çalışma yapıldı. Adaptasyon sürecinden sonra egzersiz protokolünde ise hayvanlara vücut ağırlıklarının %75-100'üne varan oranda kuyruklarına ağırlık bağlayarak egzersiz yaptırıldı. Her bir tırmanma serisinden sonra 120 sn süresince merdivenin üst kısmındaki dinlenme bölümünde dinlenme süresi verildi (Resim 4).



Resim 4. Hayvanlara direnç egzersizi yaptırılması.

5.5.3. Kombine egzersiz protokolü

Bir hafta; yüzme (aerobik) 2 gün, ağırlıklı merdiven çıkma (direnç) 1 gün, diğer hafta; yüzme 1 gün, rezistans 2 gün olacak şekilde egzersizlerin dönüşümlü olarak kombine edildiği egzersiz protokolü uygulandı.

5.6. Kognitif Testler

Sıçanların kognitif durumlarının değerlendirilmesi amacı ile holeboard testi (anksiyete düzeyi ölçümü) ve epizodik belleğin değerlendirilmesi amacıyla obje tanıma testi hem bazal değerleri belirlemek amacıyla deneylerin başlamasından önce hem de egzersiz programı sonrası son değerlerin tespit edilmesi amacı ile yapıldı.

5.6.1. Holeboard (delikli levha) testi

Anksiyete düzeyinin test edilmesi amacı ile deneylerin ilk günü ve egzersiz programı sonrası holeboard testi uygulaması yapıldı. Anksiyetenin araştırmacı davranışı inhibe ettiği iyi bilinmektedir (Marko ve ark., 2005). Bu test holeboard aparatı da denilen 40x40x40 cm boyularında 3,8 cm çapında 16 eşit silindirik deliği bulunan tahta bir dzenek kullanılarak yapıldı. Delikten bakma, şahlanma ve donma sayıları 5 dk boyunca video kameraya çekilerek daha sonra değerlendirildi (Resim 5). Delikten bakma; hayvanın burnunu tamamen deliğe sokarak bakması, şahlanma; iki arka ayağının üstünde dik durması, donma ise hareketsiz bir biçimde donup kalması ve bakışların bir noktada sabitlenmesi ile belirlendi.



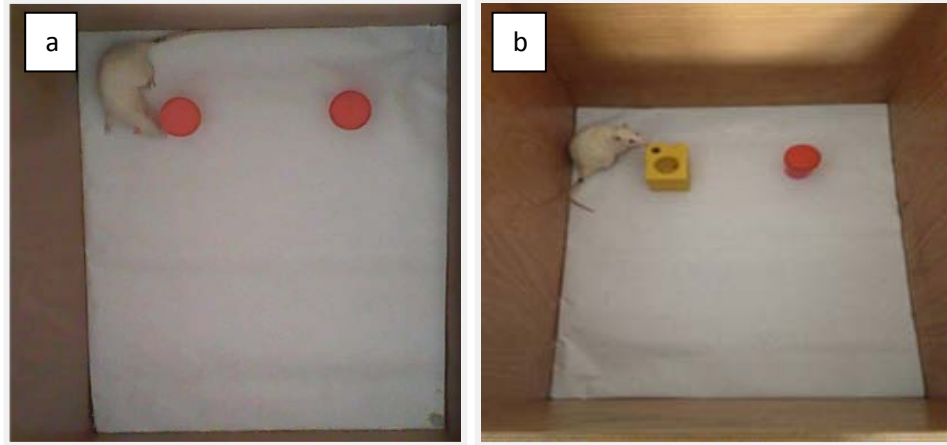
Resim 5. Holeboard (Delikli levha) testi.

5.6.2. Obje tanıma testi

Deklaratif belleğin bir alt türü olan epizodik belleğin bir şekli olan tanıma belleğinin (Recognition memory) değerlendirilmesi amacı ile ‘‘Yeni Obje Tanıma Testi’’ yapıldı (Bevins ve Besheer, 2006). Objeler üstü açık test dzeneneğinin sağ ve sol köşelerine yerleştirildi. Test dzeneneği kutusu 31x24x45,5 cm boyutlarında idi. Tabanı her hayvandan sonra değerştirilen bir kağıt ile kaplandı. Test öncesi sıçanlar kutuya alışmaları için 24 saat önceden 10 dk süre ile kutuya kondular. Deney günü

ilk set alışma dönemi olup, hayvan başlangıçta yüzü objelerin karşısındaki tarafa dönük olarak objelerin tam karşısında orta noktaya kondu ve 10 dk iki aynı objeye maruz bırakıldı (Bu objeler örnek obje ya da eski obje olarak adlandırılır). Bu 10 dk.'lık süre video kamera ile kayıt altına alındı. Bu süre zarfında sıçanın dikkatini dağıtacak başka bir uyarana maruz kalmaması için işlemler tam izole bir odada gerçekleştirildi. Bir saatlik bir zaman dilimi gecikmesinden sonra ikinci set deney gerçekleştirildi. İki objeden biri değiştirildi ve şekil ve renk bakımından farklı yeni bir obje kondu. Sıçan yüzü objelerin karşısındaki tarafa dönük olarak objelerin tam karşısında orta noktaya kondu 3 dk. süre ile buna maruz bırakıldı. Yeni ve eski obje ile geçirilen zaman video ile kayıt altına alındı. Objeye ile geçirilen zaman kriteri "temas" olarak hayvanın burnunun objeye değmesi kabul edildi. Bir saatlik bir zaman dilimi gecikmesi kısa süreli tanıma belleğinin değerlendirilmesini sağladı. Diğer sıçan kutuya konmadan önce tüm objeler %70'lik izopropil alkol ile temizlendi ve 1 dk. süre ile kurumaları sağlandı.

Değerlendirme yeni ve eski obje ile geçirilen sürenin farkı baz alınarak şu formüle göre hesaplandı. Fark skoru (santisaniye): Yeni obje ile geçirilen zaman - eski obje ile geçirilen zaman (Bevins ve Besheer, 2006) (Resim 6). Fark skoru (santisaniye) artışı kognitif fonksiyonların artışı göstermektedir.



Resim 6. Objeye tanıma testi.

(a) sample (eski) objeye maruz bırakılma fazı, (b) yeni obje test fazı.

5.7. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması

Son egzersizin yapılmasından 24 saat sonra sodyum pentobarbital (50 mg/kg) anestezisi uygulanan hayvanlara kalplerinden kan alınarak (Resim 7) ötenazi uygulandı. Bir hemisfere ait hipokampuslar hızlıca çıkarılarak PCR analizleri için hızlıca -80 °C'e kaldırıldı, karşı hemisfer hipokampus bölgesi ise histopatolojik analizler için formol fiksasyonuna alındı. Kalan beyin dokuları MDA, MPO, GSH ve kemilüminesans analizleri için -80 dereceye kaldırıldı. Egzersiz tipinin kontrolü amacı ile direnç egzersizi için fleksor digitorum brevis (Cassilhas ve ark., 2012) ve aerobik egzersiz için soleus kasları (Cassilhas ve ark., 2012) çıkartıldıktan sonra hızlıca -80 °C sıvı azot tankına alınarak donduruldu (Resim 8) .



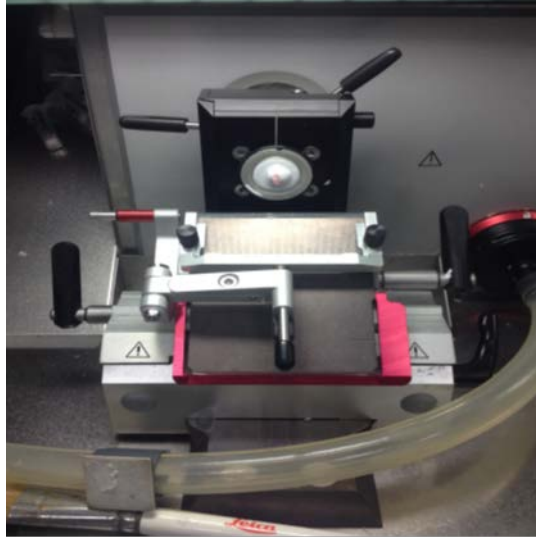
Resim 7: Kalpten kan alınışı



Resim 8: Kas dokuları; üstte "fleksor digitorum brevis", altta "soleus" kasları

5.8. Kas Lifi Alanı Ölçümleri

Laica CM1950 kriyomikrotom (Resim 9) ile 40 mikron kalınlığında alınan kesitlerde H&E boyaması yapıldı. Olympus BX51 ışık mikroskopunda X20 büyütmede alandaki 100 kas lifi sayıldı ve İmage J programı ile kas lifi alanı ölçümü yapıldı (n=6).



Resim 9. Laica CM1950 kriyomikrotom ile kesit alımı.

5.9. Biyokimyasal Parametreler

5.9.1. Serum örneklerinde ölçülen biyokimyasal parametreler

Kan numuneleri toplandıktan sonra 10 dakika süreyle 3000 rpm'de santrifüje edilerek elde edilen serum örnekleri -80°C 'de saklandı. Serum örneklerinde IGF-I (ng/ml) ve kortizol (ng/ml) ölçümleri; ticari ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) kitler (Sun Red) kullanarak ve üretici tarafından verilen talimatlara uygun şekilde ölçüldü.

5.9.2. Beyin malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyi ölçümleri

Oksidan hasarın bir göstergesi olan lipid peroksidasyonun göstergesi MDA düzeyinin ve endojen antioksidan molekül glutatyon (GSH) miktarının ölçümü için, beyin örnekleri ağırlıklarının 10 katına kadar % 10'luk triklor asetik asit solüsyonu ile Ultra Turrax marka doku homojenizatöründe homojenize edildikten sonra 3000 devir de 4°C'de 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Süpernatantlar ayrılıp 15 000 devirde 8 dakika daha santrifüj edilerek, MDA düzeyi spektrofotometrede 535 nm absorbansta okunarak nmol/gr/doku cinsinden ifade edildi (Beutler, 1975). GSH ölçümü için modifiye Ellman yöntemi kullanıldı ve GSH miktarı spektrofotometrik olarak 412 nm'de okundu ve µmol/gr/doku olarak ifade edildi (Beutler, 1975).

5.9.3. Beyin miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümü

Miyeloperoksidaz aktivitesi ölçümü için, 0,25-0,3 gram ağırlığındaki doku örnekleri % 0,5'lik HETAB (50 mM potasyum fosfat tamponu içinde; pH 6) 10 kat sulandırılıp homojenize edildikten sonra 12 000 devirde 10 dakika süreyle 4°C'de santrifüje edildi. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pellet, aynı hacimde % 0,5'lik hekzadesiltrimetilamonyum bromid içeren 50 mM K₂HPO₄ ile yeniden homojenize edilip daha sonra o-dianisidin 2HCl (20 mg/ml) + H₂O₂ (20 mM) + pellet olacak şekilde oda ısısında 3 dakika inkübe edilip, reaksiyon % 2'lik sodyum azid ile durdurulduktan sonra absorbans değerleri 460 nm'de okundu. MPO aktivitesi, o-dianisidin.2HCl'nin H₂O₂'e bağımlı oksidasyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile belirlenerek, 37°C'de 460 nm absorbansta ölçüldü ve enzim aktivitesi U/gr olarak ifade edildi (Bradley ve ark., 1982).

5.9.4. Kemilüminesans ölçümleri

Dekapitasyon sonrası alınan beyin dokuları bistüri yardımıyla 10-20 mg'lık küçük parçalara ayrıldı. Sonra 2 mL PBS + HEPES (0,5 M PBS ve 20 mM HEPES) tamponu içeren sayım tüplerine aktarıldı. Kemilüminesans ölçümler luminometrede (EG & G Berthold Mini Lumat LB 9506, Almanya) luminol ve lusigenin probaları kullanılarak yapıldı. Lusigenin aracılı ölçüm ile süperoksit radikali saptanırken, luminol aracılı ölçüm ile hidroksil, hidrojen peroksit, hipoklorit ve hidroperoksil radikalleri saptanmaktadır. Luminol (0,2 mM) ve lusigenin (0,2 mM) probu eklenen sayım tüpleri luminometrede 1 dakikalık aralıklarla 5 dakika süreyle okutuldu ve relatif light unit (rlu)/mg/doku olarak ifade edildi (Haklar ve ark., 2001; Haklar ve ark., 2002)

5.9.5. Nitrik oksit (NO) aktivite düzeyi ölçümü

NO aktivitesi ölçümü için saflaştırılmış luminol-hidrojen peroksit sistemi kullanıldı Bu amaçla, 2 mL PBS + HEPES tamponu içine alınan dokuların üzerine sırasıyla K₂CO₃ (0,4 mM), desferal (60 µM), H₂O₂ (4 mM) ve luminol-sodyum tuzu (3,6 µM) eklenerek, luminometrede sayım 5 dakika süreyle gerçekleştirildi. Ölçüm sonunda dokular sayım tüplerinden alındı, sıvıları filtre kağıdına emdirildikten sonra kuru ağırlıkları alındı ve sonuçlar eğri altı alan (AUC) hesaplanarak doku ağırlığına oranlandı. Sonuçlar (relatif light unit) rlu/mg/doku cinsinden ifade edildi (Kikuchi ve ark., 1993).

5.10. RT-PCR Yöntemi İle APP695, NGF, BDNF ve IGF-I mRNA Düzeyleri Ölçümleri

BDNF, NGF, IGF-I ve Amiloid Prekürsör Protein (APP695) gen ekspresyonu düzeyleri RT-PCR ile ölçüldü (n=5). Ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu mRNA ekspresyon seviyelerini belirlemek için sensitiv bir methodur. Denatürasyon

(90-95 °C), primer bağlanması (50-70 °C) ve DNA sentezi (70-75 °C) olmak üzere üç aşamada gerçekleştirildi. İlk adımda, çoğaltılacak DNA denatüre edilerek tek zincirli hale getirildi. Sıcaklık 50 ile 70 °C arasında bir değere getirilerek primerlerin tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya bağlanması sağlandı. Bu primerler yapay oliganükleotidlerdir (15-30 nükleotid uzunluğunda) ve çoğaltılacak DNA kısmının uçlarındaki tamamlayıcı dizilere özgül olarak bağlanır. DNA polimerazın ısıya dayanıklı bir şekli reaksiyon karışımına ilave edilerek DNA sentezi 70 ile 75 °C arasındaki sıcaklıkta gerçekleştirildi. Işıma özelliğine sahip moleküller kullanarak (syber green) PCR'ı oluşturken izlendi ve miktarı belirlendi.

Total RNA İzolasyonu: Örneklerden total RNA izolasyonu GenUP™ Total RNA Kiti (Biotechrabbit GmbH, Germany) ile yapıldı. 450 µL of lysis buffer ve 20 mg taze doku homojenizatör ile (T 25 digital ULTRA-TURRAX®, IKA, Germany) ile homojenize edildi. Elde edilen RNA miktarı Qubit® RNA HS Assay Kiti ile (Life Technologies, USA) ve Qubit® 2.0 Fluorometer (Life Technologies, USA) ile ölçüldü.

cDNA Sentezi: cDNA Synthesis Kiti ile (BioRad, USA) iScript™ kullanılarak her bir örnekten cDNA sentezi gerçekleştirildi.

Oligonükleotid primerler: BDNF, IGF, NGF, APP genleri için aşağıdaki gibi dizayn edilmiş primerler kullanıldı.

BDNF;forward:5'-TGGCTGACACTTTTGAGCAC-3',reverse:5'-
TTCCTCCAGCAGAAAGAGCA-3',

NGF;forward:5'-CCTGAAGCCCACTGGACTAA-3',reverse:5'-
ATTGTACCATGGGCCTGGAA-3',

IGF-1;forward:5'-TCTCCTAGTCCCTGCCTCTT-3',reverse:5'-
TCTGTGAAGGAAGCGGCTTA-3',

APP;forward:5'-GACCAGCAGAACAACACTCCCTC-3',reverse:5'-
AAAACATCACTTGAAATACGCTT-3',

Ev sahibi gen olarak β-actin kullanıldı; forward:5'-CTCTCAGCTGTGGTCGTGAA-
3', reverse: 5'-AGCCATGTACGTAGCCATCC-3'.

Real-Time PCR amplifikasyonu: Real-time kantitatif PCR amplifikasyon reaksiyonları 9640 Real Time Thermal Cycler sistem (Biotools, Spain) ile 20 µl son hacimde gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı 1xPCR buffer SYBR-Green ve 100 nm

primer (QPCR Green Master Mix, Biotechrabbit GmH, Germany) içermekteydi. 100 ng cDNA her bir reaksiyona eklendi. Her işlem iki kere gerçekleştirildi. Reaksiyonlar; 95°C de 5 dk, 40 siklus 95 °C,5 sn ve 50-60 °C, 25sn ve 72 °C, 20 sn. Floresan spectrum her PCR siklus fazı için kayıt edildi ve bir yazılımla direk olarak Microsoft Excel çalışma kitabına aktarıldı.

5.11. Dokuların İncelenmesi ve Histolojik Yöntemler

Formalin fiske beyin dokularında A β ₁₋₄₂, NGF ve BDNF ve IGF-I ekspresyonunu değerlendirmek amacıyla, peroksidaz (HRP) konjuge polimerik İmmunohistokimyasal boyama yöntemi kullanıldı

Bu yöntemde; parafine gömülü dokulardan, pozitif şarjlı lamlara 3 μ m kalınlığında kesitler alınarak 37° C' de 1 gece deparafinize edildi. Kesitler 3 ayrı ksilende 5'er dakika ve iki ayrı %96 etanolde 10'ar dakika bekletilerek hidrate edildi. Endojen peroksidaz aktivitesi, metanolde hazırlanmış %3 hidrojen peroksit çözeltisi ile 20 dakika süreyle baskılandı. Maskelenen antijenleri açığa çıkarmak amacıyla, kesitlere mikrodalga fırında 200 W güçte sitrat tampon çözeltisi (pH 6.0) ile 20 dakika ön işlem uygulandı. Oda ısısında soğutulan lamlar iki ayrı fosfat tampon çözeltisinde (PBS) 5'er dakika yıkandı. Nonspesifik boyanmayı engellemek amacıyla dokulara protein blokaj çözeltisi (EXPOSE Rabbit spesifik HRP/DAB detection IHC kit, Abcam, Cambridge, UK) damlatıldı ve 10 dakika bekletildi. Blokajın ardından kesitlere 1:200 dilüsyon oranında tavşan anti-beta Amiloid (ab14220, Abcam, Cambridge, UK) 1:2000 dilüsyon oranında tavşan anti-NGF (ab6199, Abcam, Cambridge, UK), 1:5000 dilüsyon oranında tavşan anti-BDNF (ab6201, Abcam, Cambridge, UK) ve 1:1000 dilüsyon oranında tavşan anti IGF-I (ab40657, Abcam) antikorları damlatılarak her biri 4°C'de bir gece inkübe edildi. Süre sonunda iki ayrı PBS ile yıkanan kesitlere HRP-Polimer (EXPOSE Rabbit spesifik HRP/DAB detection IHC kit, Abcam, Cambridge, UK) damlatıldı ve 15 dakika inkübe edildi. Tekrar iki ayrı PBS ile 5'er dakika yıkanan kesitlere 3,3'-diaminobenzidin (DAB) kromojeni damlatılarak 5 dakika inkübe edildi. Mayer Hematoksilen ile yapılan 1 dakikalık nükleer zıt boyamanın ardından lamlar %96 'lık etanol ile dehidrate edildi ve kapama maddesi ile kapatıldı.

Boyanma spesifikliğini test etmek amacıyla tüm antikorlar için pozitif ve negatif kontrol dokuları kullanıldı. Pozitif kontrol dokularında, her antikor için yukarıdaki yöntem değişiklik yapılmadan uygulanırken, negatif kontrol dokularında primer antikor aşaması atlandı.

İmmunohistokimyasal analizler semikantitatif skorlama yöntemi ile gerçekleştirildi. NGF, IGF-I için x200'lük büyütmede korteksde ve β Amiloid için hipokampusta 5 alanda, Olympus BX51 ışık mikroskobu ile hücrelerde %5'den az immunreaktivite 0, %5-25 immunreaktivite 1 pozitif, %26-50 immunreaktivite 2 pozitif, %50'den fazla immunreaktivite gözlenmesi 3 pozitif olarak değerlendirildi (Demir ve ark., 2007).

5.12. İstatistik Yöntem

Tüm veriler ortalama \pm standart hata şeklinde ifade edildi. Grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analiz (ANOVA) sonrası Tukey-Kramer çoklu testi, iki grubun ortalamaları student-t testi ile değerlendirildi. p değerinin 0,05'den küçük olması ($p < 0,05$) durumunda veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Verilerin değerlendirilmesinde GraphPad Prism istatistik paket programı (Version 5.03) kullanıldı.

6. BULGULAR

Çalışmamızda ovariectomi ve D-galaktoz uygulaması (OVT+D-GAL) ile oluşturulan sıçan deneysel Alzheimer hastalığı modelinde farklı egzersiz yöntemlerinin (aerobik, direnç ve kombine egzersiz); kognitif fonksiyonlara, vücut ağırlığına, plazma kolesterol düzeylerine, Alzheimer belirteçlerine, beyin nörotrofin ve insülin benzeri büyüme faktörü-I düzeylerine, serum insülin benzeri büyüme faktörü-I düzeylerine, oksidatif stres parametreleri ve antioksidan düzeylerine olan etkileri araştırılmış olup, bulgular aşağıda verilmiştir.

6.1. Deney Başlangıcı ve Deney Sonu Vücut Ağırlığı ve Serum Kolesterol Düzeyleri

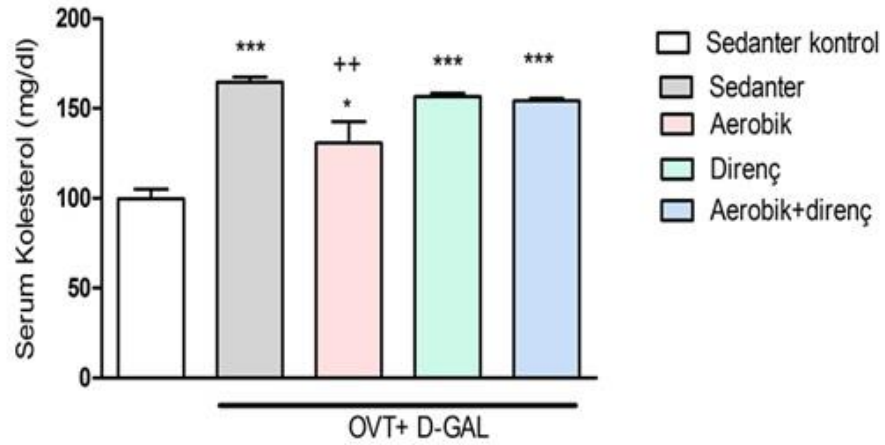
Grupların deney başlangıcı ve deney sonu ağırlık karşılaştırılmasında OVT+ D-GAL sedanter egzersiz grubunda kendi grubunun başlangıç ağırlığına göre deney sonu ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü ($p<0,05$) (Tablo 3).

Plazma kolesterol düzeyleri; sedanter kontrole göre, OVT+D-GAL sedanter, direnç ve kombine egzersiz (aerobik+direnç) ($p<0,001$) ve OVT+D-GAL aerobik egzersiz grubunda ($p<0,05$) belirgin şekilde arttı. OVT+D-GAL aerobik egzersiz grubunda OVT+D-GAL sedanter gruba göre belirgin şekilde ($p<0,01$) azaldı (Şekil 19).

Tablo 3: Deney başlangıcı ve deney sonu vücut ağırlığı değerleri(gram) ve standart hataları

Gruplar	Başlangıç ağırlığı(gr)	Deney sonu(gr)	p
Taklit cerrahi sedanter	266,9±4,202	283,6±4,531	ns
Taklit cerrahi aerobik	279,9±7,034	287,9±6,818	ns
Taklit cerrahi rezistans	280,6±8,369	286,0±7,860	ns
Taklit cerrahi aerobik+ direnç	279,4±6,225	283,3±4,208	ns
OVT+ D-GAL sedanter	281,6±8,287	314,8±4,913*	p<0.05
OVT+ D-GAL aerobik	273,8±3,063	301,9±4,498	ns
OVT+ D-GAL rezistans	275,5±6,100	306,8±8,194	ns
OVT+ D-GAL aerobik+ direnç	273,9±5,076	304,8±7,622	ns

Tek Yönlü Anova, Tukey's çoklu karşılaştırma Post-Hoc Test. * p<0,05 kendi grubunun başlangıç ağırlığına göre.



Şekil 19. Serum kolesterol düzeyleri.

Tek Yönlü Anova, Tukey's çoklu karşılaştırma Post-Hoc Test. *p<0,05, ***p<0,001 sedanter kontrole göre, ++p<0,01OVT+ D-GAL sedanter gruba göre.

6.2. Transvers Kas Lifi Alanı Ölçümleri

Egzersizlerin doğrulanması amacı ile yapılan kas lifi alanı ölçümlerinde (n=6); fleksor digitorum brevis kasında taklit cerrahi ve OVT+D-GAL direnç egzersizi gruplarında ve taklit cerrahi ve OVT+D-GAL kombine egzersiz gruplarında kendi kontrol sedanterlerine göre belirgin artış (sırası ile: p<0,001, p<0,05) gözlemlendi (Tablo 4).

Soleus kas lifi alanlarında taklit cerrahi ve OVT+D-GAL direnç egzersizi gruplarında ve taklit cerrahi ve OVT+D-GAL kombine egzersiz gruplarında kendi kontrol sedanterlerine göre anlamlı artış (sırası ile: $p<0,01$, $p<0,05$) tespit edildi (Tablo 4).

Tablo 4: Ortalama kas lifi alanı (μm^2)

Gruplar	Fleksor Digitorum Brevis	Soleus
Taklit cerrahi sedanter	799,4± 38,27	2211±193,2
Taklit cerrahi aerobik	-	3304±220,6**
Taklit cerrahi direnç	1157±56,95***	-
Taklit cerrahi aerobik+ direnç	1048±30,57*	2939±233,0*
OVT+ D-GAL sedanter	828±58,11	2448±275,4
OVT+ D-GAL aerobik	-	3482±159,0**
OVT+ D-GAL direnç	1184±43,39***	-
OVT+ D-GAL aerobik+ direnç	1070±62,53*	3396±104,6*

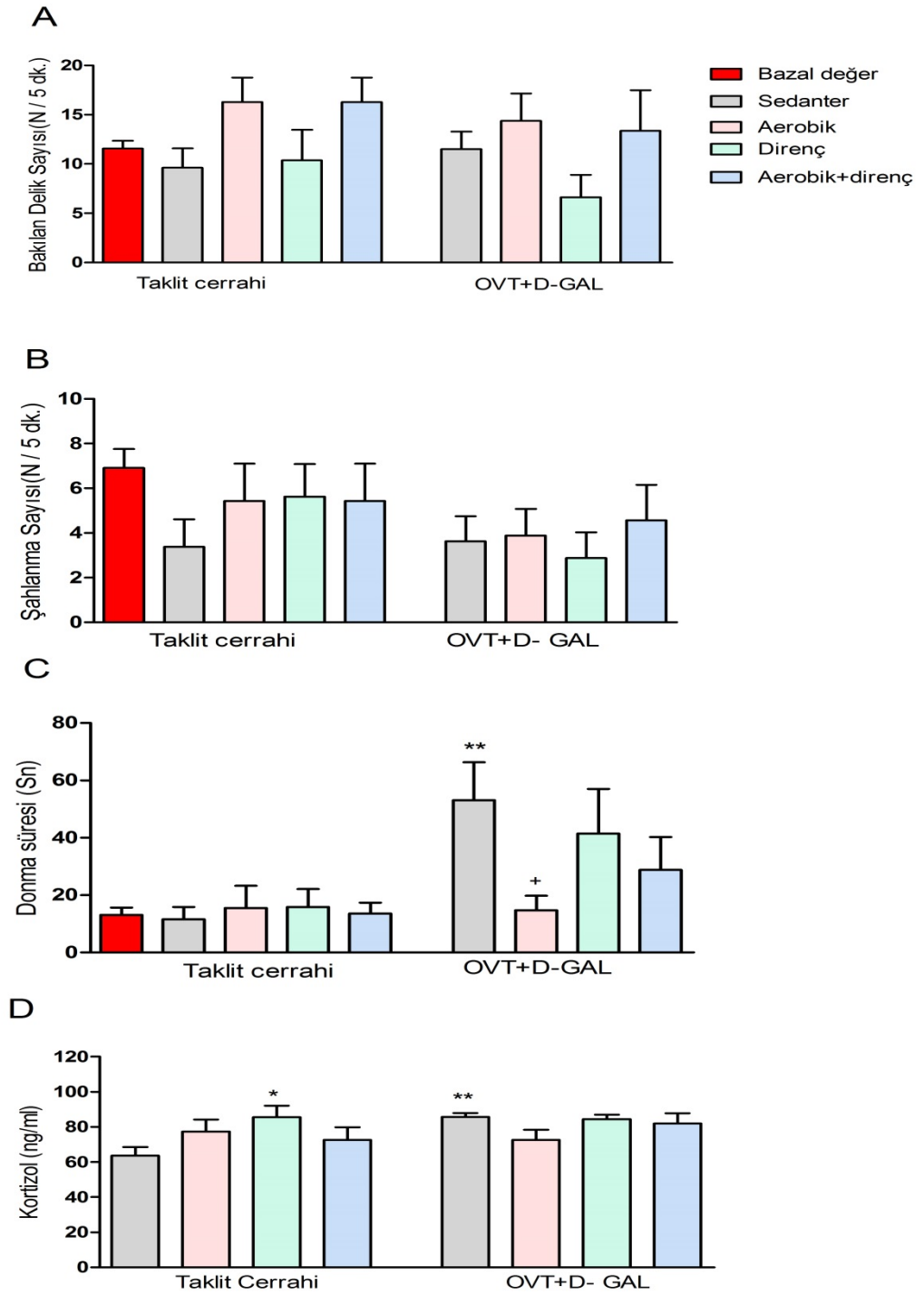
Tek Yönlü Anova, Tukey's çoklu karşılaştırma. Post-Hoc Test. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ kendi sedanter gruplarına göre.

6.3. Kognitif Testler

6.3.1 Holeboard testi değerleri ve serum kortizol düzeyleri

Anksiyete düzeyinin değerlendirilmesi amacı ile yapılan holeboard (delikli levha) testinde anksiyetenin azaldığını gösteren şahlanma sayısı ve bakılan delik sayısı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 20A, B). Holeboard testinde OVT+D-GAL sedanter grubunda taklit cerrahi sedantere göre anksiyete düzeyinin artışı gösteren donma süresinde uzama görüldü ($p<0,01$). Donma süresinde görülen uzama aerobik egzersiz ile anlamlı şekilde azaldı ($p<0,05$) (Şekil 20C). Bu sonuçlar OVT+D-GAL sedanter grupta anksiyete düzeyinin arttığını aerobik egzersizin ise anksiyete düzeyini azalttığını göstermektedir.

Stres göstergesi olan serum kortizol düzeyi taklit cerrahi direnç egzersiz grubunda ($p<0,05$) ve OVT+D-GAL sedanter grubunda ($p<0,01$) taklit cerrahi sedantere göre artmış bulunurken, egzersiz uygulayan OVT+D-GAL gruplarında bu artış gözlenmedi (Şekil 20D).

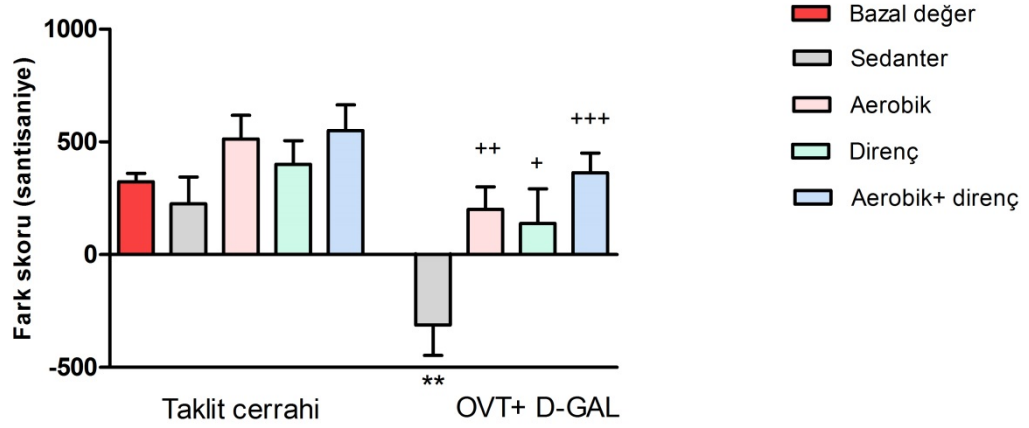


Şekil 20. Holeboard testi sonuçları ve serum kortizol düzeyleri.

Student't test. (A) Holeboard testi bakılan delik sayısı, (B) şahlanma sayısı, (C) donma süresi (sn), Tek Yönlü Anova, Tukey's çoklu karşılaştırma Post-Hoc Test (D) serum kortizol düzeyi. *p<0,05, **p<0,01 taklit cerrahi sedantere göre, +p<0,05 OVT+D-GAL sedanter gruba göre.

6.3.2. Yeni obje tanıma testi değerleri

Tanım belleğinin (Recognition memory) değerlendirilmesi amacı ile yapılan ‘‘Yeni Objeye Tanıma Testi’’ sonucuna göre fark skorunda azalma tanıma belleğindeki bozulmayı göstermektedir. Yeni obje tanıma testinde fark skoru OVT+D-GAL sedanter grupta taklit cerrahi sedantere göre belirgin şekilde azalmış iken ($p<0,01$), aerobik ($p<0,01$), direnç ($p<0,05$) ve kombine egzersiz ile ($p<0,001$) geri arttı. Taklit cerrahi egzersiz gruplarında ise tanıma belleğinde artış eğilimi gözlenmiştir (Şekil 21).

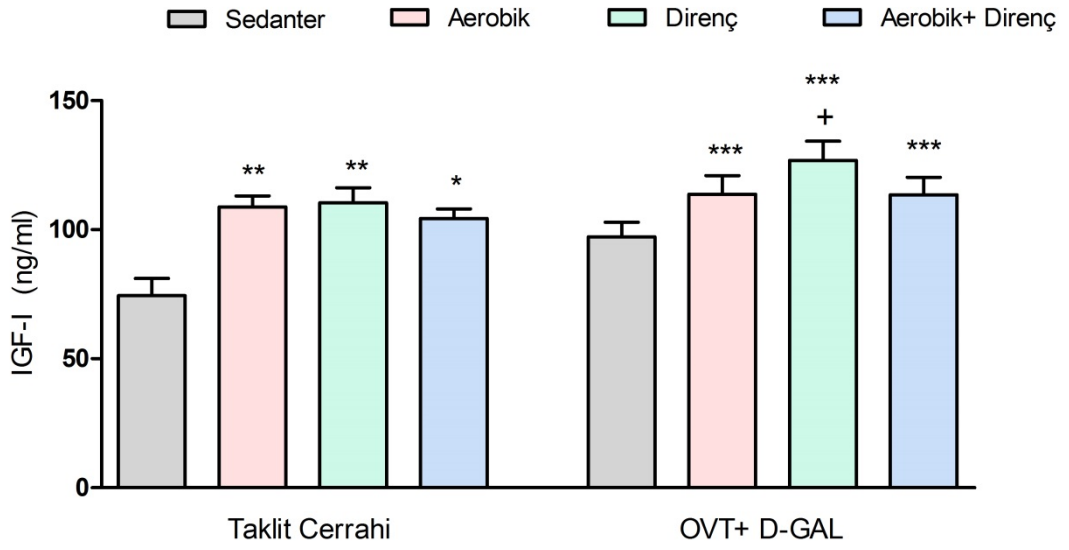


Şekil 21: Yeni obje tanıma testi.

Student t testi. ** $p<0,01$ taklit cerrahi sedantere, + $p<0,05$, ** $p<0,01$, +++ $p<0,001$ OVT+D-GAL sedantere göre.

6.4. Serum IGF-I Düzeyleri

Serum IGF-I düzeylerinde tüm egzersiz gruplarında kendi sedanter gruplarına göre artış görülürken ($p<0,05-0,001$) sadece OVT+D-GAL direnç egzersizi grubunda OVT+D-GAL sedantere göre anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0,05$).



Şekil 22. Serum IGF-I düzeyleri

Tek Yönlü Anova, Tukey's çoklu karşılaştırma Post-Hoc Test. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, kendi sedanter grubuna göre, + $p < 0,05$ OVT+ D-GAL sedanter gruba göre.

6.5. Beyin MDA, MPO, Lusigenin ve Luminol Kemiluminesans ve GSH Düzeyleri Ölçümü

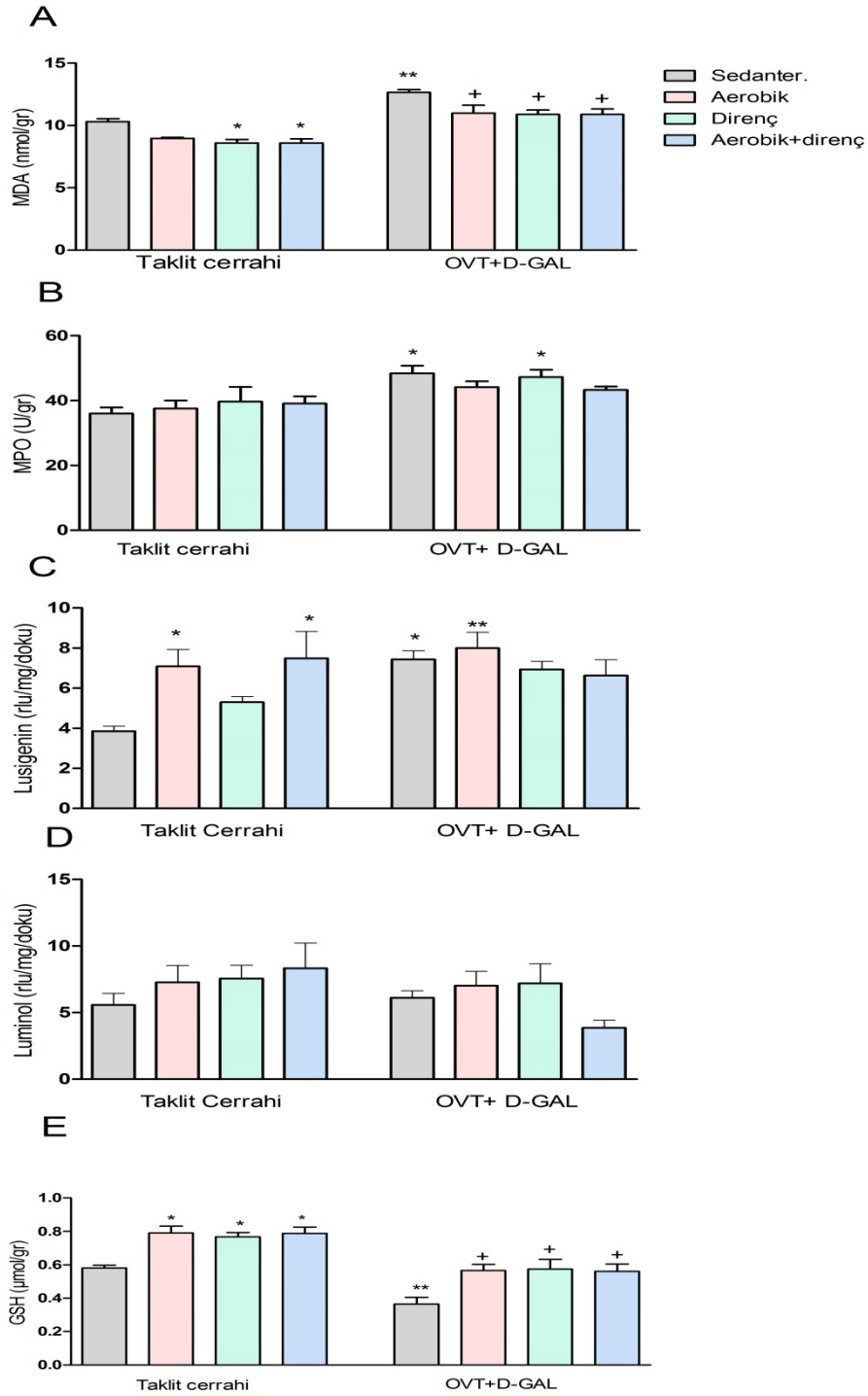
Lipit peroksidasyonun göstergesi olan Malondialdehit düzeyleri Taklit cerrahi sedantere göre taklit cerrahi direnç ve kombine egzersiz gruplarında azalmış (* $p < 0,05$), OVT+ D-GAL sedanter grupta artmış (** $p < 0,01$), tüm egzersiz OVT+D-GAL gruplarında, OVT+D-GAL sedantere göre azalmıştır (* $p < 0,05$) (Şekil 23A).

Beyin Miyeloperoksidaz aktivitesi OVT+ D-GAL sedanter ve direnç egzersiz grubunda taklit cerrahi sedantere göre anlamlı şekilde artmış bulunmuştur (* $p < 0,05$), (Şekil 23 B).

Peroksit radikalinin göstergesi olan lusigenin kemiluminesans düzeyleri taklit cerrahi aerobik ve kombine egzersiz gruplarında (* $p < 0,05$) ve OVT+D-GAL sedanter (* $p < 0,05$) ve aerobik egzersiz gruplarında (* $p < 0,01$) taklit cerrahi sedantere göre artmış bulunmuştur (Şekil 23C).

Hidroksil, hidrojen peroksit, hipoklorit ve hidroperoksil radikallerinin göstergesi olan luminol kemiluminesans düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 23D).

Beyin GSH düzeyleri, taklit cerrahi egzersiz gruplarında artarken (* $p < 0,05$), OVT+D-GAL sedanter grupta taklit cerrahi sedantere göre azalan GSH (** $p < 0,01$), egzersizlerle artmıştır (+ $p < 0,05$), (Şekil 23E).

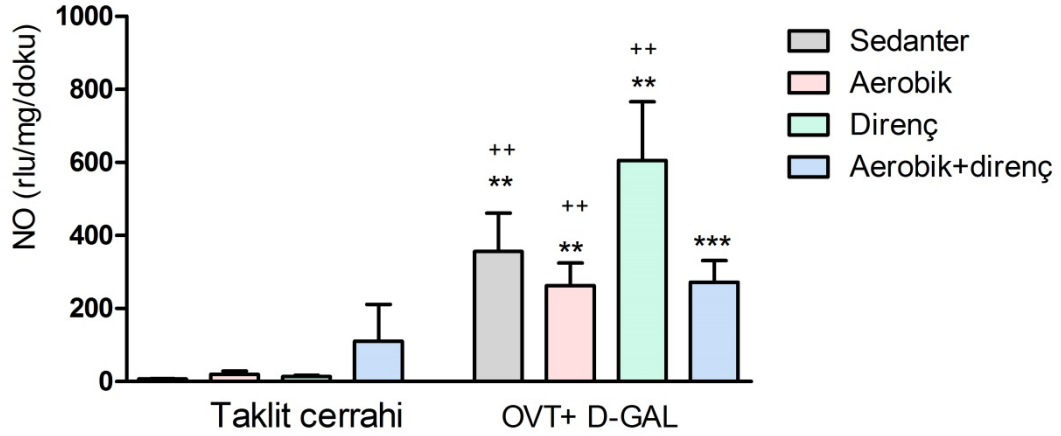


Şekil 23. Beyin (A) Malondialdehit (MDA) düzeyi, (B) Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, (C) Lusigenin kemiluminesans ve (D) Luminol kemiluminesans, (E) Glutasyon (GSH) düzeyi ölçümü.

Tek Yönlü Anova, Tukey's çoklu karşılaştırma Post-Hoc Test. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ Taklit cerrahi sedantere göre, + $p < 0,05$ OVT+D-GAL sedantere göre.

6.6. Beyin Nitrik Oksit (NO) Aktivite Düzeyi Ölçümü

NO aktivitesinde tüm OVT+D-GAL gruplarında taklit cerrahi sedantere ($p<0,01-0,001$) ve kendi kontrollerine göre ($p<0,01$) artma gözlenmiştir (Şekil 24).



Şekil 24. Beyin NO aktivite düzeyi ölçümü.

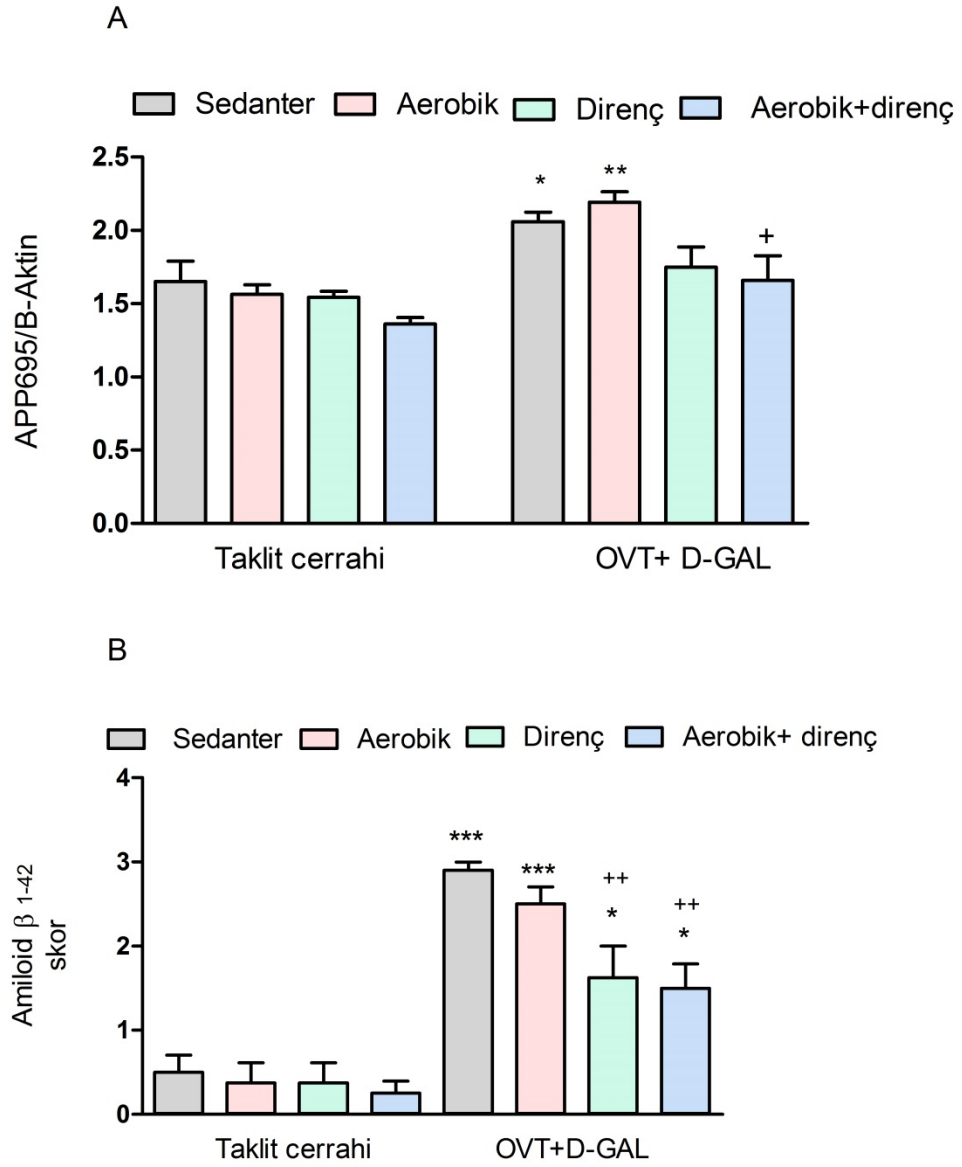
Student's t test. ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ taklit cerrahi sedanter gruba göre, ** $p<0,01$ kendi kontrollerine göre.

6.7. Hipokampal APP695Gen Ekspresyonu ve Hipokampal Amiloid Betaİmmunohistokimyasal Değerlendirme Skoru

Amiloid betanın ($A\beta$) öncülü olan Amiloid prekürsör protein APP695 gen ekspresyonu OVT+D-GAL sedanter grupta ($p<0,05$) ve aerobik egzersiz grubunda ($p<0,01$) taklit cerrahi sedantere göre belirgin şekilde artmış ve bu artış kombine egzersiz ile ($p<0,05$) azalmıştır (Şekil 25A).

OVT+D-GAL sedanter, aerobik egzersiz gruplarında ($p<0,001$), direnç ve kombine egzersiz grubunda ($p<0,05$) taklit cerrahi gruplarına göre belirgin $A\beta$ immunreaktivitesi artışı gözlenmiştir. OVT+D-GAL sedanter grupta kuvvetli $A\beta$ immunreaktivitesi gösteren piramidal ve granüler hücreler hipokampal CA1,3,4 ve Dentat Girus bölgelerinde gözlenmiştir. $A\beta$ immunreaktivite gösteren hücrelerde OVT+D-GAL sedanter gruba göre direnç egzersizi ($p<0,05$) ve kombine egzersiz

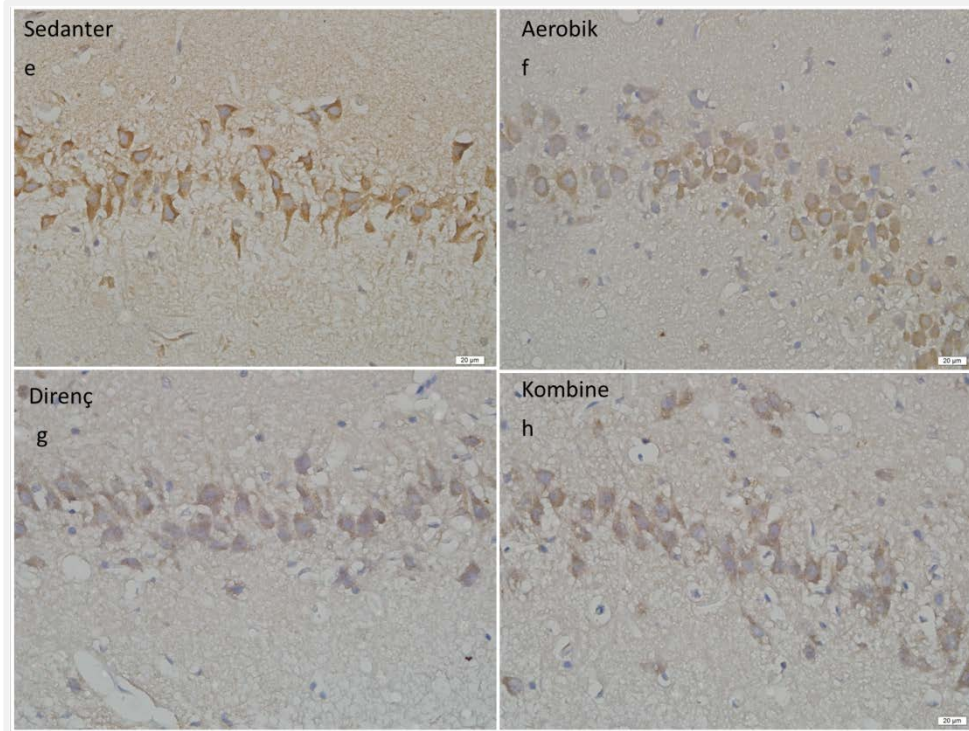
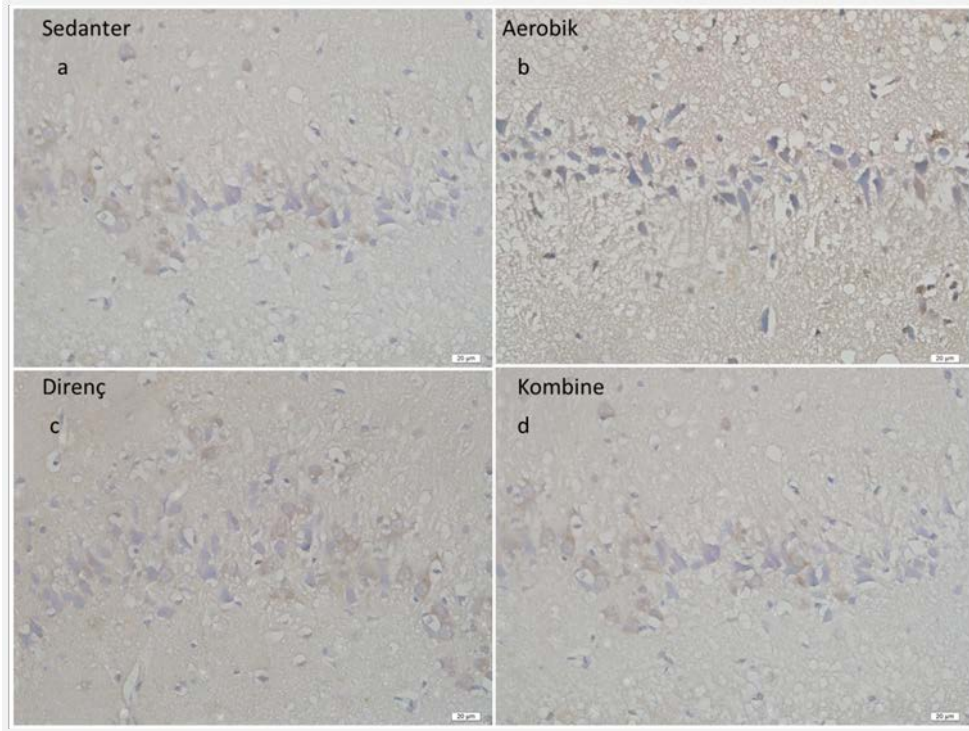
gruplarında ($p < 0,05$) belirgin şekilde azalmış A β immunoreaktivitesi gözlenmiştir (Şekil 25B ve Resim 10). Hiçbir grupta A β plak patolojisi gözlenmemiştir.



Şekil 25. Hipokampal (A) APP695 gen ekspresyonu düzeyleri ve (B) A β 1-42 İmmunohistokimyasal boyama skorları.

APP695 gen ekspresyonu düzeyleri analizi Student's t test. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, taklit cerrahi sedanter gruba göre, + $p < 0,05$ OVT+D-GAL sedantere göre.

A β skorları analizi. Tek Yönlü Anova, Tukey Kramer Post-Hoc Test, * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ taklit cerrahi sedanter gruba göre, ** $p < 0,01$ OVT+D-GAL sedantere göre.



Resim 10. Hipokampus Aβ immunohistokimyasal boyamaları.

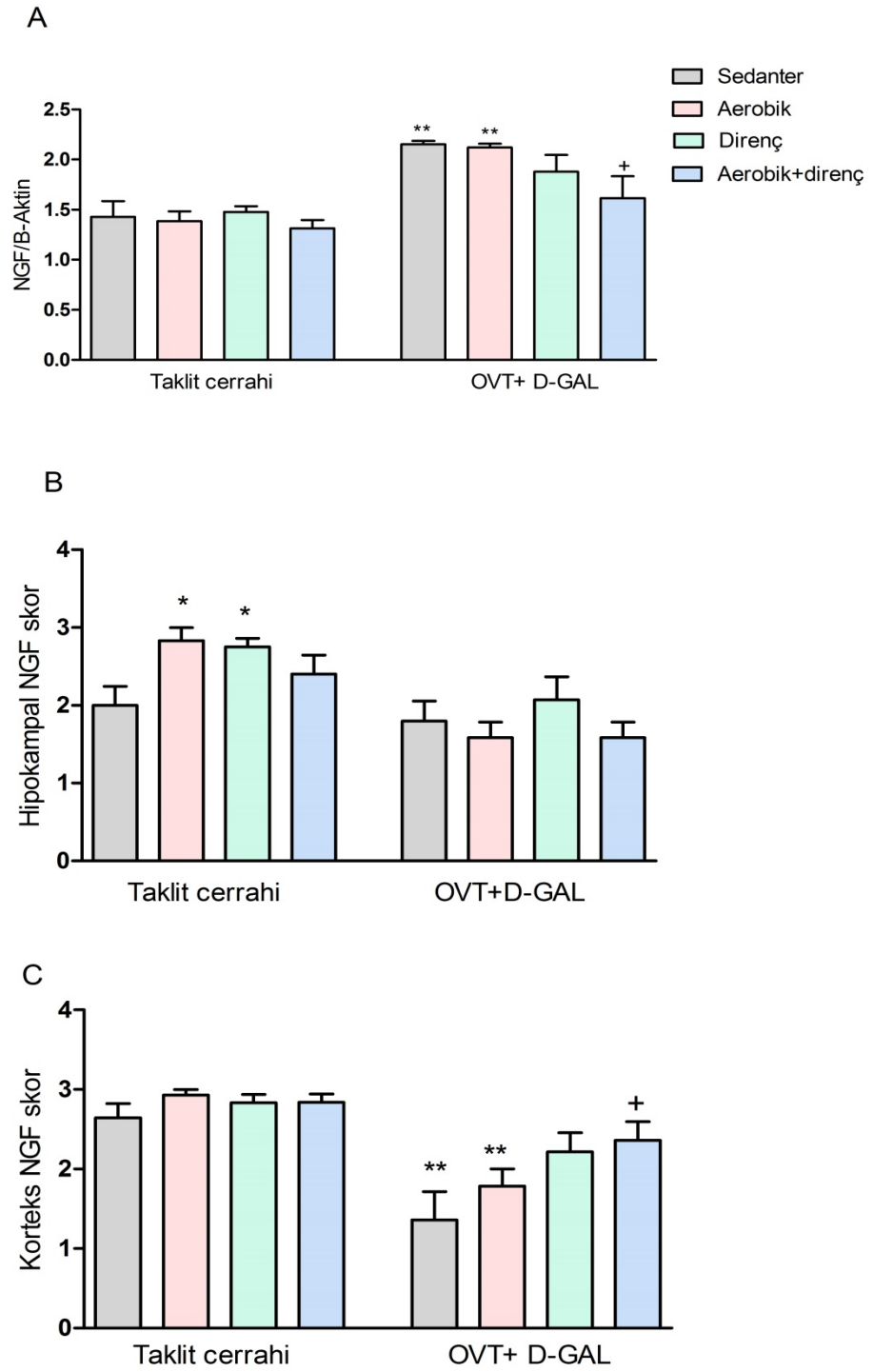
Taklit cerrahi kontrol grupları; sedanter (a), aerobik (b), direnç (c), kombine (d) ve OVT+D-GAL grupları; sedanter (e), aerobik (f), direnç (g), kombine (h). OVT+D-GAL gruplarında taklit cerrahi gruplarına göre belirgin Aβ immunoreaktivitesi artışı ve OVT+D-GAL sedanter grupta kuvvetli Aβ immunoreaktivitesi gösteren piramidal ve granüler hücreler. OVT+D-GAL sedanter grupta artan Aβ immunoreaktivitesi OVT+D-GAL direnç ve kombine egzersiz ile belirgin şekilde azaldı (x400 büyütme).

6.8. NGF Hipokampal Gen Ekspresyonu Analiz Sonuçları, Hipokampal ve Korteks NGF İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları.

Hipokampal sinir büyüme faktörü (NGF) gen ekspresyonu OVT+D-GAL sedanter ve aerobik (**p<0,01) egzersiz gruplarında taklit cerrahi sedantere göre artmış bulundu. OVT+D-GAL kombine egzersiz grubunda ise sedanterine göre NGF gen ekspresyonu düzeyinde azalma (+p<0,05) bulundu (Şekil 26A).

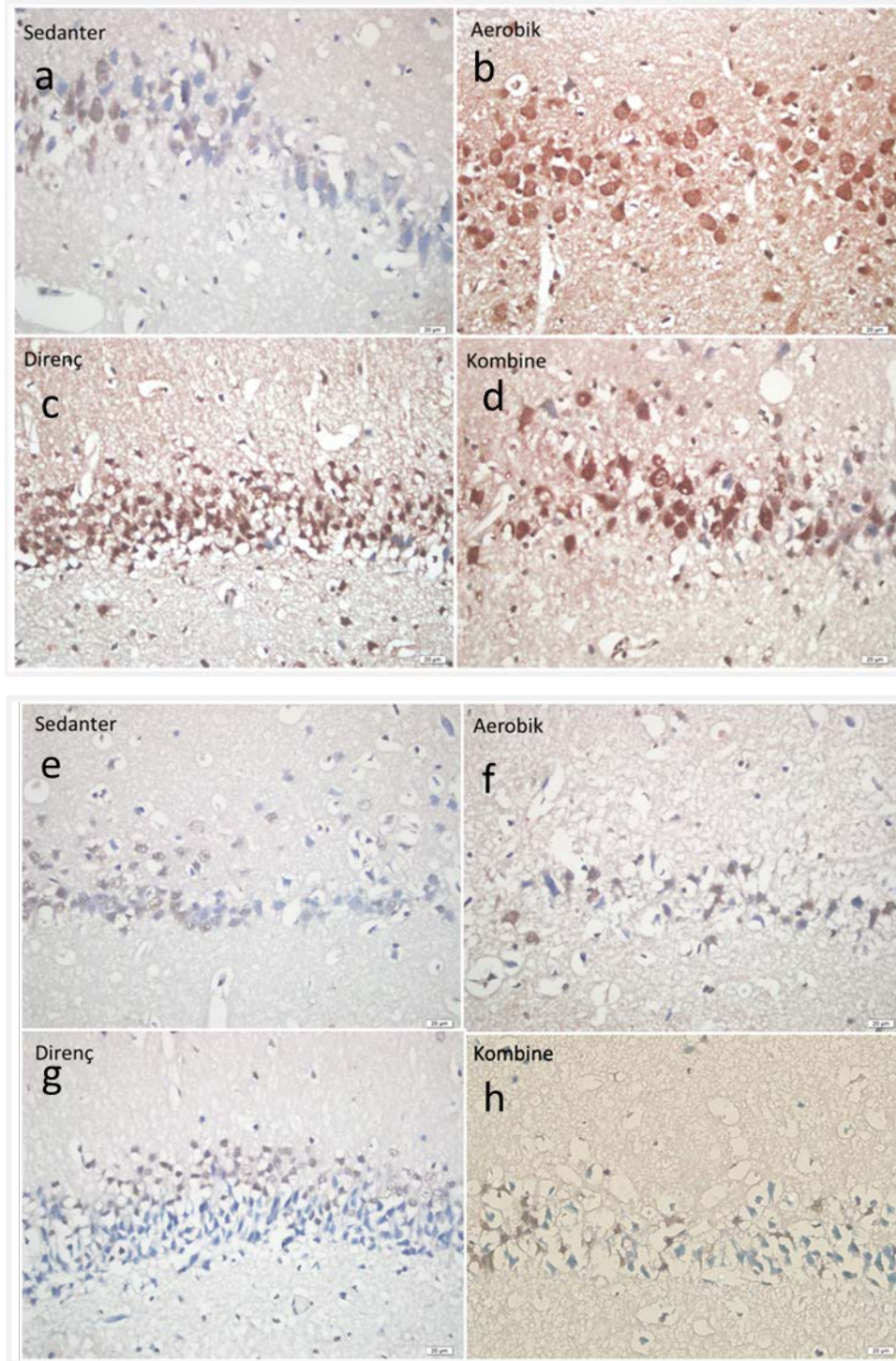
Hipokampal NGF immunreaktivitesi gösteren hücre düzeylerinde taklit cerrahi sedanter gruba göre aerobik egzersiz (*p<0,05) ve direnç egzersiz gruplarında (*p<0,05) belirgin artış varken diğer OVT+D-GAL gruplarında kontrol sedantere göre anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 26B, Resim 11).

Korteks NGF immunreaktivitesi gösteren hücre düzeylerinde yapılan histolojik skorlamada; taklit cerrahi sedanter gruba göre OVT+D-GAL sedanter ve aerobik egzersiz gruplarında belirgin azalma (**p<0,01) bulundu. OVT+D-GAL kombine egzersiz grubunda OVT+D-GAL sedantere göre belirgin artış (+p<0,05) gözlendi (Şekil 26C, Resim 12).



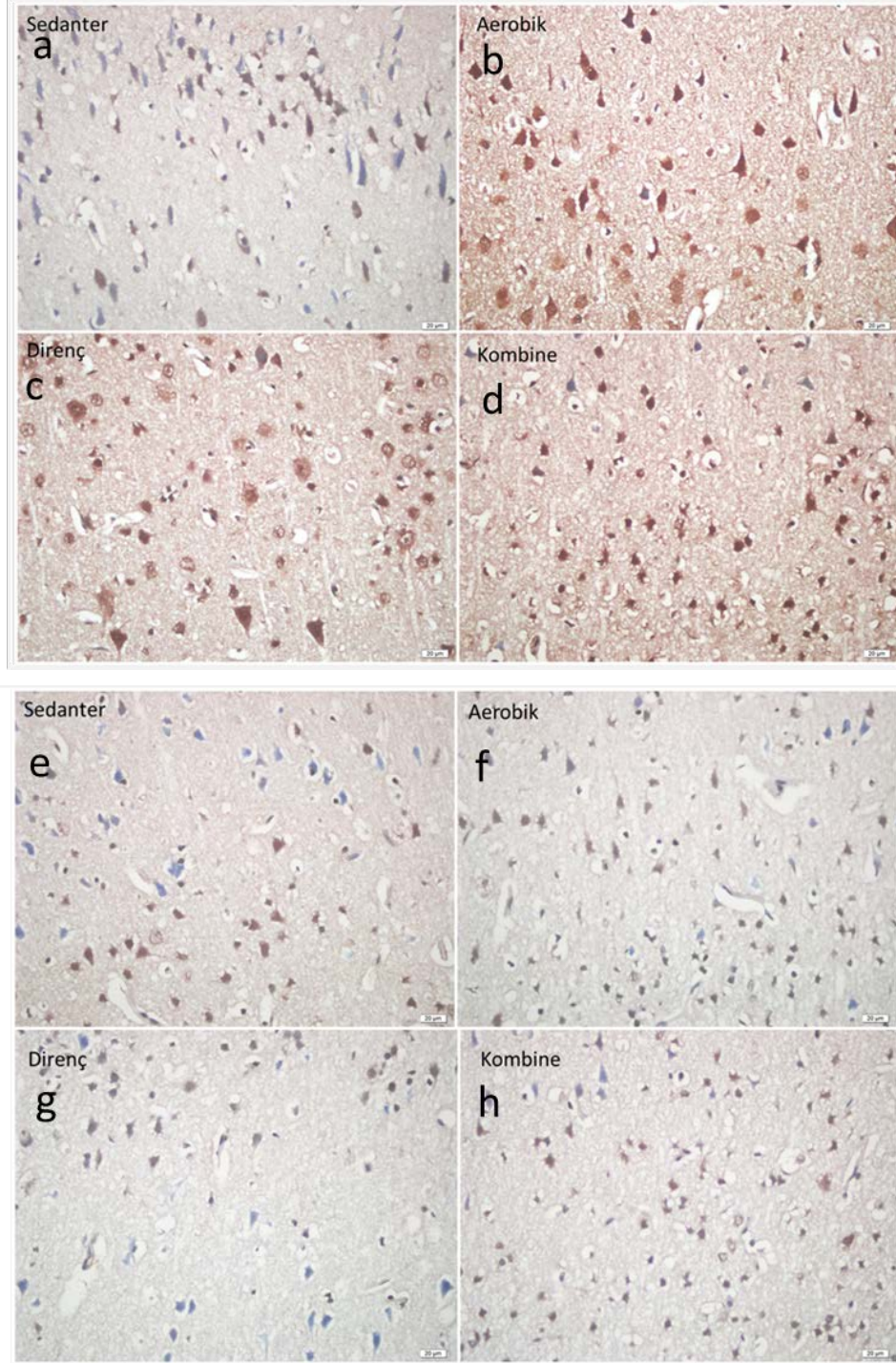
Şekil 26. (A) NGF geni hipokampal gen ekspresyonu, (B) hipokampal NGF (C) korteks NGF İmmunohistokimyasal değerlendirme skoru.

Student's t test. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, taklit cerrahi sedantere göre, + $p < 0,05$, OVT+D-GAL sedantere göre.



Resim 11. Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL grupların hipokampal NGF immunohistokimyasal boyamaları.

Taklit cerrahi kontrol grupları; sedanter (a), aerobik (b), direnç (c), kombine (d) ve OVT+D-GAL grupları; sedanter (e), aerobik (f), direnç (g), kombine (h). Hipokampal NGF immunoreaktivitesi gösteren hücre düzeylerinde taklit cerrahi sedanter gruba göre aerobik egzersiz ve direnç egzersiz gruplarında belirgin artış varken, OVT+D-GAL grupları arasında ise taklit cerrahi sedantere göre fark görülmedi. Egzersizler OVT+D-GAL gruplarında fark yaratmadı (x 400 büyütme).



Resim 12. Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL grupların korteks NGF immunohistokimyasal boyamaları.

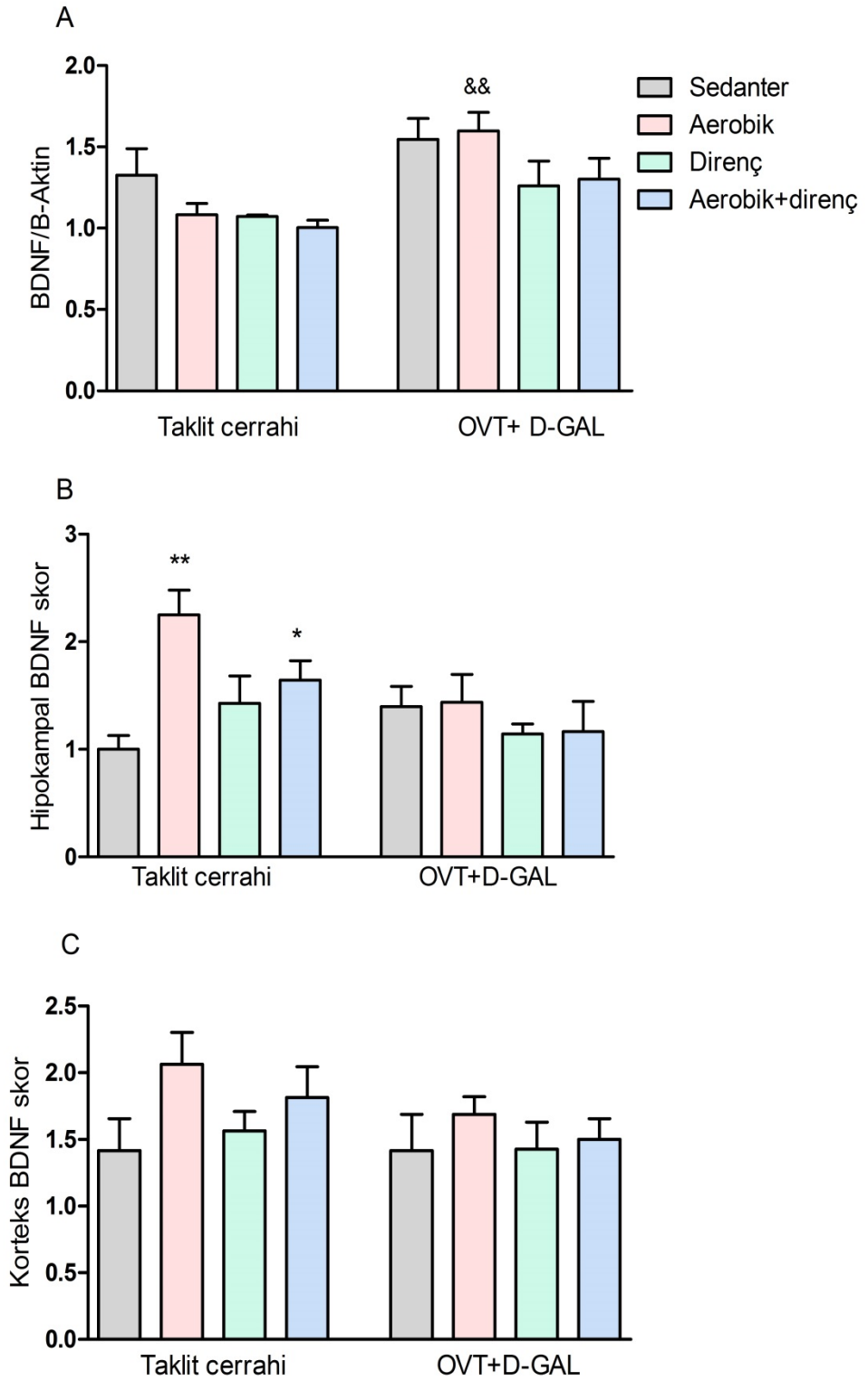
Taklit cerrahi kontrol grupları; sedanter (a), aerobik (b), direnç (c), kombine (d) ve OVT+D-GAL grupları; sedanter (e), aerobik (f), direnç (g), kombine (h). OVT+D-GAL sedanter ve aerobik egzersiz gruplarında taklit cerrahi sedantere göre belirgin azalma (** $p < 0,01$), OVT+D-GAL kombine egzersiz grubunda sedanterine göre belirgin artış (+ $p < 0,05$).

6.9. BDNF Hipokampal Gen Ekspresyonu Analiz Sonuçları, Hipokampal ve Korteks BDNF İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları.

BDNF gen ekspresyonunun sadece OVT+D-GAL aerobik grupta kendi kontrolüne göre arttığı gösterilmiş olup ($p<0,01$) diğer gruplarda BDNF gen ekspresyonu açısından belirgin bir fark görülmedi (Şekil 27A).

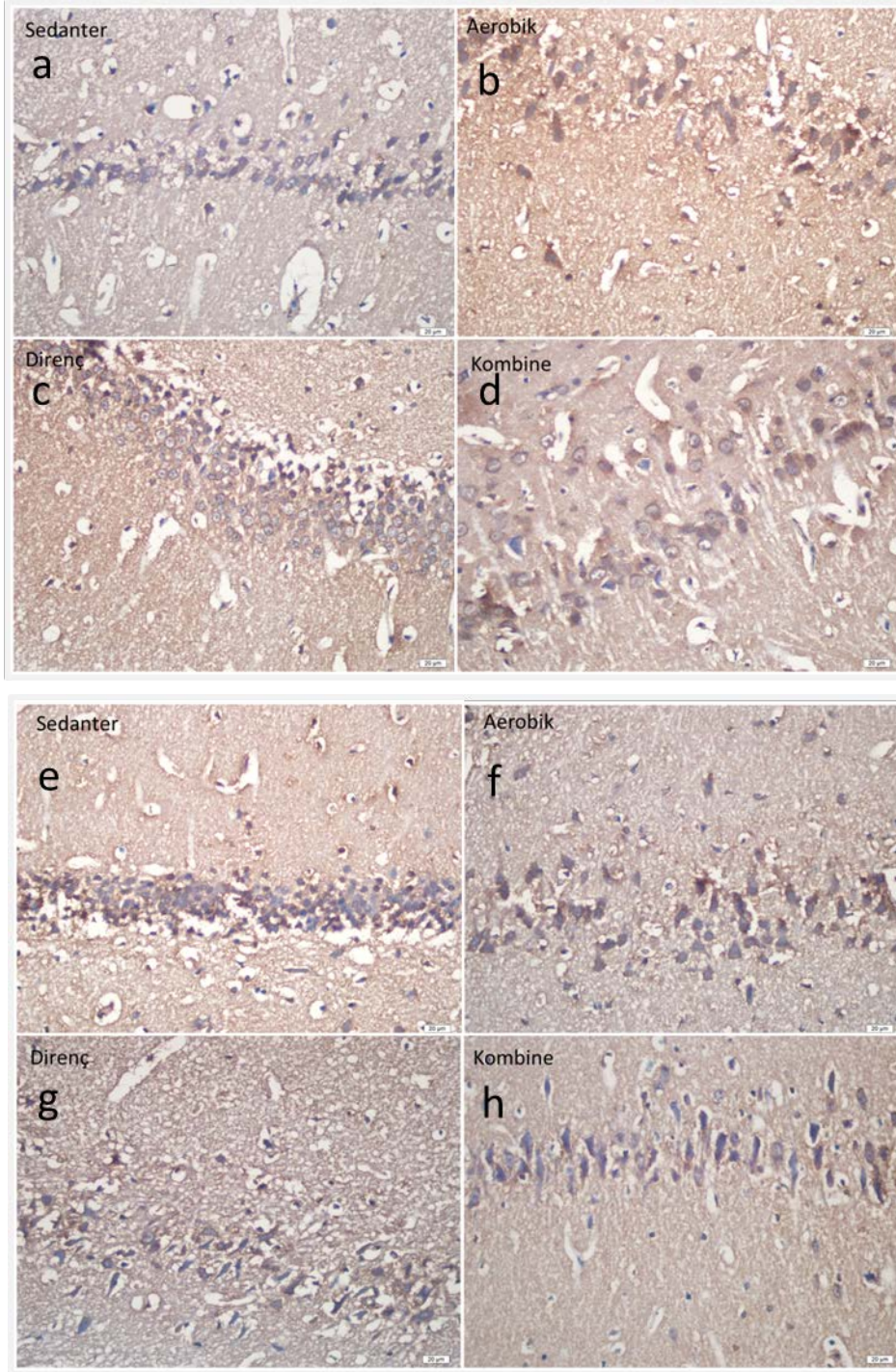
BDNF için yapılan immunohistokimyasal boyamada hipokampusta taklit cerrahi aerobik egzersiz ($p<0,01$) ve kombine egzersiz gruplarında ($p<0,05$) kendi sedanterine göre belirgin artış gözlemlendi. OVT+D-GAL egzersiz gruplarında kendi sedanter grubuna göre belirgin bir fark gözlenmedi (Şekil 27B, Resim 13).

Kortekste BDNF immunoreaktivitesi gösteren hücrelerde gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 27C, Resim 14).



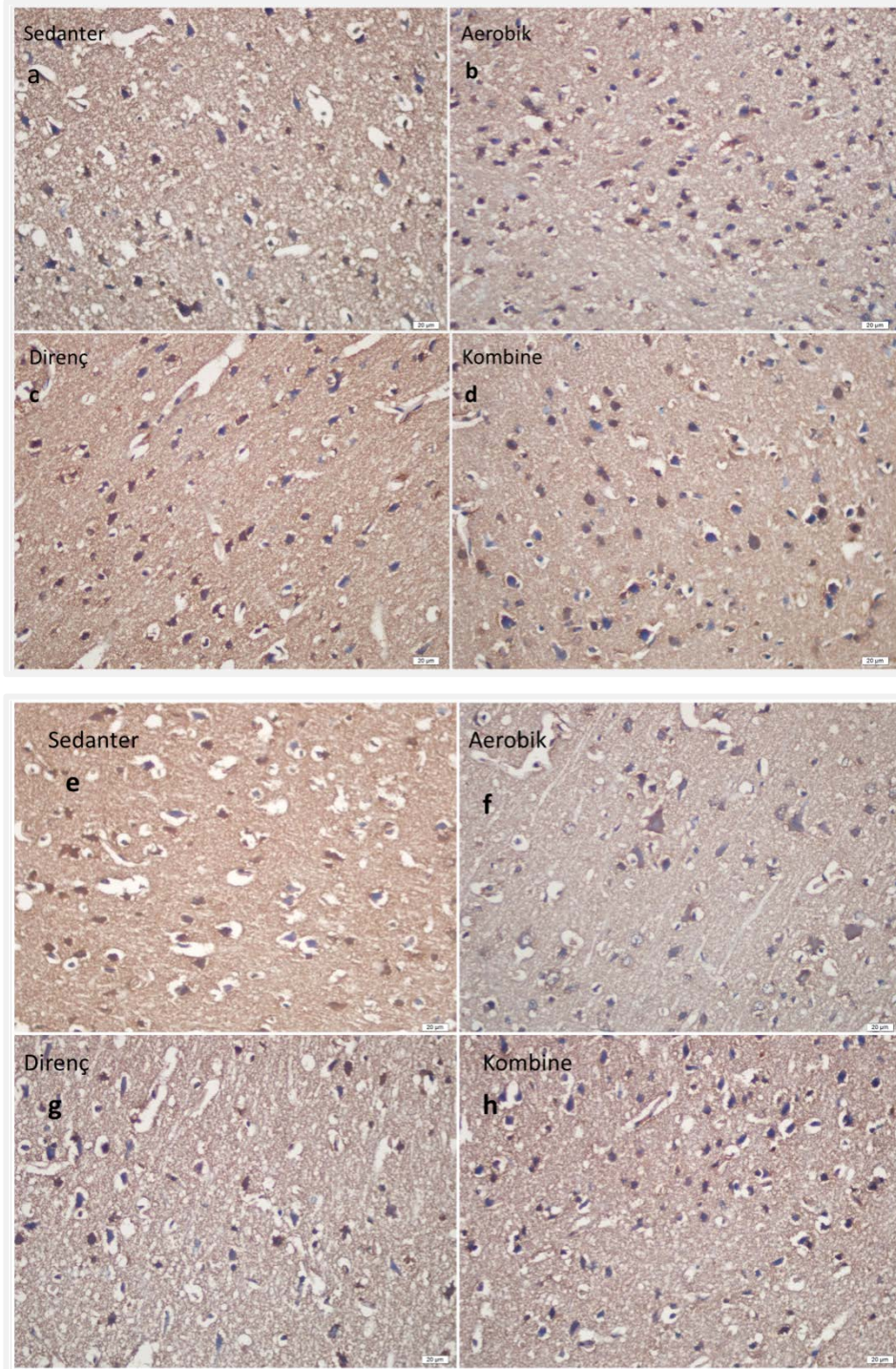
Şekil 27. (A) Hipokampal BDNF gen ekspresyonu, (B) hipokampal BDNF (C) korteks BDNF İmmunohistokimyasal değerlendirme skoru.

Student's t test. && p<0.01 taklit cerrahi aerobik egzersize göre, *p<0.05, ** p<0.01, taklit cerrahi sedantere göre.



Resim 13. Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL grupların hipokampal BDNF immunohistokimyasal boyamaları.

Taklit cerrahi kontrol grupları; sedanter (a), aerobik (b), direnç (c), kombine (d) ve OVT+D-GAL grupları; sedanter (e), aerobik (f), direnç (g), kombine (h). Taklit cerrahi aerobik egzersiz ve kombine egzersiz gruplarında kendi sedanterine göre belirgin artış görülürken, OVT+D-GAL sedantere göre OVT+D-GAL egzersiz gruplarında belirgin bir fark gözlenmedi (x400'lük büyütme).



Resim 14. Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL grupların korteks BDNF immunohistokimyasal boyamaları.

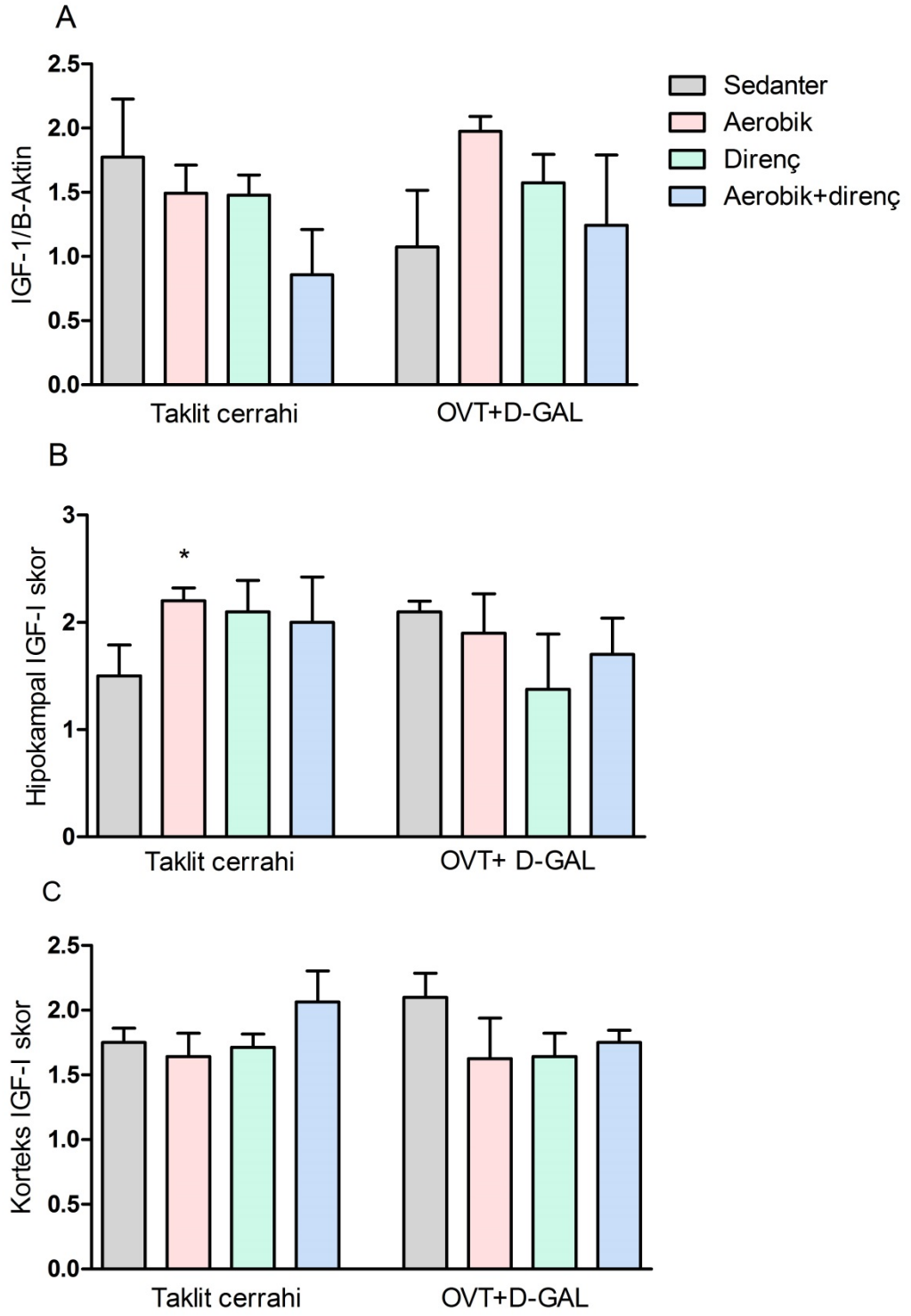
Taklit cerrahi kontrol grupları; sedanter (a), aerobik (b), direnç (c), kombine egzersiz (d) ve OVT+D-GAL grupları; sedanter (e), aerobik (f), direnç (g), kombine (h). Gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi (x400 büyütme).

6.10. IGF-I Geni Hipokampal Gen Ekspresyonu Analiz Sonuçları, Hipokampal ve Korteks IGF-I İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları.

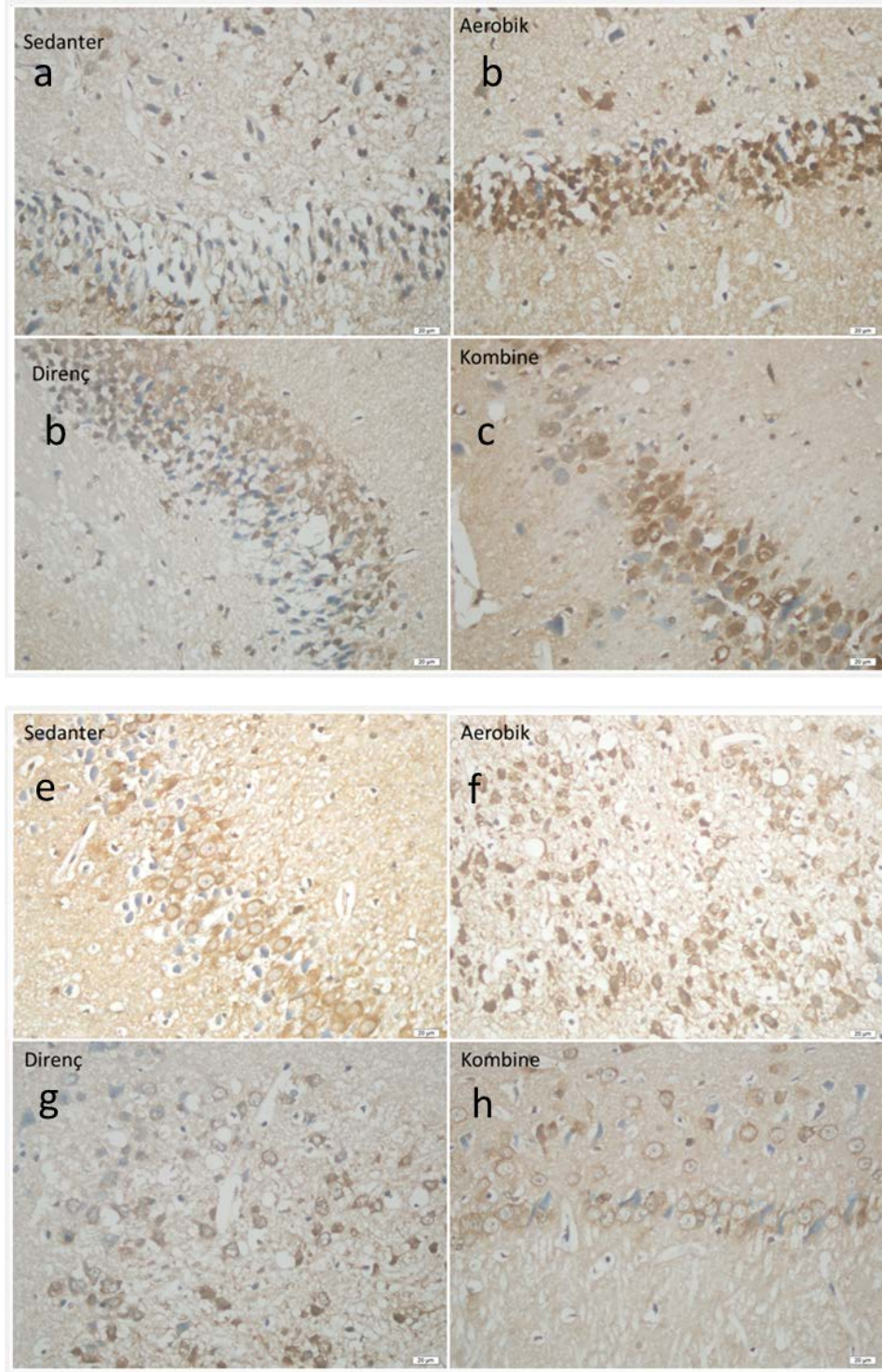
OVT+D-GAL sedanter grupta taklit cerrahi sedantere göre azalma eğilimi, egzersizlerle bu azalmada geri dönüş gözlenmesine rağmen hipokampal IGF-I geni mRNA ekspresyonu düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 28A).

Hipokampusta taklit cerrahi aerobik egzersiz grubunda IGF-I immunoreaktif hücrelerde sedanterine göre belirgin immunoreaktivite artışı bulundu ($p<0,05$). Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL grupları arasında istatistik olarak anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 28B, Resim 15).

IGF-I için yapılan korteks immunohistokimyasal boyamasında da gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 28C, Resim 16) .

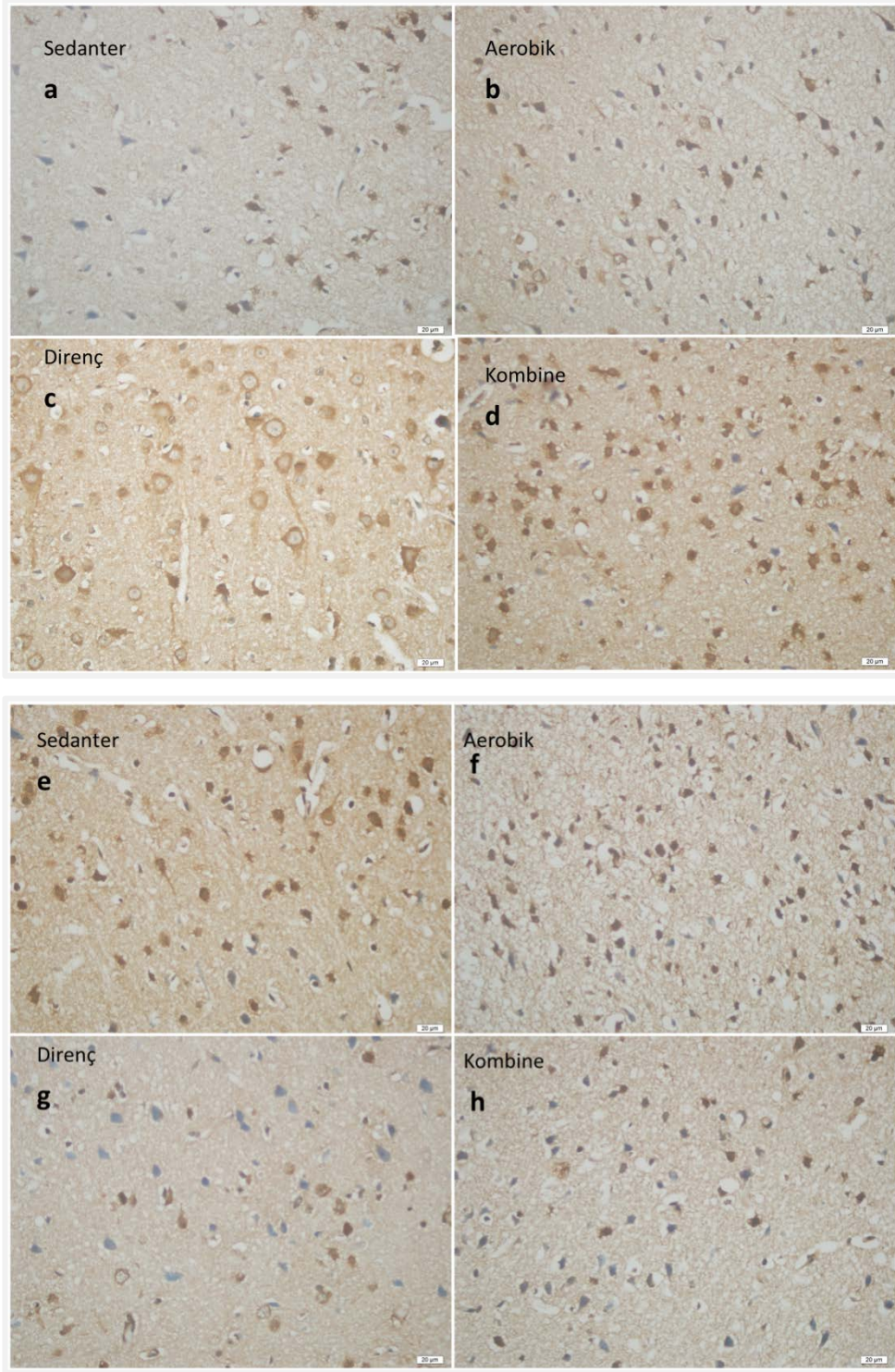


Şekil 28. (A) Hipokampal IGF-I gen ekspresyonu, (B) hipokampal IGF-I ve (C) korteks IGF-I İmmunohistokimyasal değerlendirme skoru. Student's t test. * $p < 0,05$, taklit cerrahi sedantere göre.



Resim 15. Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL grupların hipokampal IGF-I immunohistokimyasal boyamaları.

Taklit cerrahi kontrol grupları; sedanter (a), aerobik (b), direnç (c), kombine (d) ve OVT+D-GAL grupları; sedanter (e), aerobik (f), direnç (g), kombine (h). Taklit cerrahi aerobik egzersiz grubunda sedanterine göre immunoreaktif hücrelerde belirgin artış gözlemlendi, OVT+D-GAL egzersiz gruplarında sedantere göre anlamlı değişiklik bulunmadı (x400 büyütme).



Resim 16. Taklit cerrahi ve OVT+D-GAL gruplarının korteks IGF-I immunohistokimyasal boyamaları.

Taklit cerrahi kontrol grupları; sedanter (a), aerobik (b), direnç (c), kombine (d) ve OVT+D-GAL grupları; sedanter (e), aerobik (f), direnç (g), kombine (h). Kortekste gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi (x400 büyütme).

7. TARTIŞMA

İlerleyen yaşta görülen yaygın bir nörodejeneratif hastalık olan AH klinik olarak kognitif fonksiyonlarda ilerleyici kayıp ve patolojik olarak sinaptik bütünlüğün kaybı, A β temelli amiloid plakların varlığı, hiperfosforile Tau içeren nörofibriler yumaklar ile karakterizedir. A β plaklar APP'nin BACE ve γ -sekretaz ile proteolitik işlenmesi sporadik vakalarda önemli patojenik faktör olarak görülürken (Goate ve Hardy, 2012; Holtzman ve ark., 2011) APP'deki ve presenilin-1 gen mutasyonları da ailesel erken başlangıçlı AH ile ilişkilendirilmektedir (Goate ve Hardy, 2012). AH patofizyolojisinde rol alan mekanizmalara bakıldığında oksidatif stresin (Castellani ve ark., 2007) ve nöroplastisite yetmezliği teorisinin bulunduğu görülmektedir (Mesulam, 2000). Deneysel çalışmalarda farklı AH modelleri kullanılmakta olup östrojenin koruyucu etkisinin yoksunluğu ve D-galaktoz uygulamasının oksidatif stres etkisi AH'nın patolojik gelişimiyle ilişkilendirilen iki faktördür (Gandy, 2003). Ovaryektomi ve 6 hafta D-galaktoz uygulaması ile gelişen AH modelinde kognitif bozukluk, A β peptit birikimi, intrasellüler nörofibriler yumak bulguları (Hua ve ark., 2007), astrositlerde biyokimyasal ve patolojik değişiklikler tespit edilmiş ve 6 haftada gözlenen kolinerjik bozukluğun ikinci haftanın sonunda gözlenmemesine dayanarak bu modelin AH patofizyolojisini yavaş gelişimini taklit ettiği öne sürülmüştür (Hua ve ark., 2008). D-gal, yüksek konsantrasyonda vücutta galaktoz oksidaz tarafından aldöz ve hidropeoksite dönüşür ve süperoksit anyonu ve oksijen kaynaklı serbest radikaller oluşur (Gong ve ark., 2008). Bu modelde oksidatif strese bağlı olarak oksidatif-antioksidatif parametrelerde ve davranışsal performansta değişim olduğu da gösterilmiştir. İnsanlarda AH gelişimi uzun bir süreçte ve fizyolojiye zarar veren faktörlerin kümülatif olarak birikimine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Uygulanan modelin 6 hafta sürmesi zarar verici oksidatif etkenlerin uzun süreçte birikimini ve yavaş bir patofizyolojik gelişimi sağlamaktadır. Dolayısıyla bu modelin diğer modellere göre gerçek süreci daha iyi taklit ettiğini düşünmekteyiz.

Düzenli fiziksel aktivitenin hücrelerin ve dokuların beyin nöroplastitesi, hafıza gelişimi ve nörogenezde önemi olan oksidatif strese dayanıklılığı, vaskülarizasyonu,

enerji metabolizmasını ve nörotrofin sentezini arttırdığı ve AH'da ve diğer yaşla ilişkili nörodejeneratif hastalıklarda yararlı olduğu bilinmektedir (Radak ve ark., 2010). Düzenli yüzme egzersizinin A β infüzyonu öncesi yapılmasının nöroprotektif etkileri olduğu; kognitif bozukluğu, oksidatif stresi ve nöroinflamasyonu azalttığı fare modelinde gösterilmiştir (Souza ve ark., 2013). Ancak AH'da uygulanacak en iyi fiziksel egzersiz rejimi konusunda literatürde bir görüş birliği yoktur. Aerobik egzersizin kognitif fonksiyona olan iyileştirici etkileri (Yaffe., 2010) bilinmektedir. AH'nın düşük kas kütlesi, düşük kas gücü ve fiziksel zayıflık ile olan ilişkisi bilindiğinden (Buschman ve ark., 2008) kas kuvveti ve güç antrenmanları çalışmaları da AH'lı hastalar için önemli olabileceği düşünülmektedir. Ancak literatürde AH'da direnç egzersizin etkilerine dair çok az çalışma vardır. Düzenli yapılan direnç egzersizin AH'lı hastalarda çevikliği, alt ekstremitte gücünü ve esnekliğini arttırdığı gösterilmiştir (Garuffi ve ark., 2013). Kim ve ark.'ları kombine egzersizin overektomize sıçanlarda kognitif fonksiyonlar üzerinde iyileştirici etkileri olduğunu göstermişlerdir (Kim ve ark., 2015). En iyi egzersiz rejimi bilinmese de artan kanıtlar çok bileşenli egzersiz rejimlerinin yararlı olabileceğini göstermektedir (Paillard, 2015).

Nöroplastisiteye ve oksidatif stres dengesine olumlu etkileri olduğu bilinen aerobik (yüzme), direnç (ağırlıklı merdiven çıkma) egzersizlerinin ve bunların değişimli olarak kombine şekilde yapılmasının Alzheimer hastalığının gelişim sürecinde yapılmasının hastalığı hafifletici etkileri olabileceğinden yola çıkılarak tez çalışmamızda Alzheimer hastalarının daha rahatlıkla yapabilecekleri sıklıkta, haftada 3 gün olarak planlanan farklı egzersiz modellerinin; OVT+D-GAL uygulaması ile oluşturulan sıçan Alzheimer hastalığı modelinde; kognitif fonksiyonlara olan olası iyileştirici etkilerinin mekanizmalarının araştırılması amaçlandı ve bu amaçla Alzheimer parametreleri, beyin NGF, BDNF, IGF-I, serum IGF-I düzeyleri, oksidatif stres parametreleri ve antioksidan düzeyleri araştırıldı ve bulgular bu bölümde tartışıldı.

7.1. Deney Başlangıcı ve Deney Sonu Vücut Ağırlığı ve Serum Kolesterol Düzeyleri

Uygulanan modelde vücut ağırlıklarının nasıl arttığı bilinmemektedir. Literatürde tek başına D-galaktoz uygulanmasının vücut ağırlığında değişim yaptığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ma ve ark.'ları 120 mg/kg D-galaktoz'un 12 hafta boyunca uygulamasının vücut ağırlığında değişiklik yapmadığını bildirmişlerdir (Ma ve ark., 2014). Tikhonova ve ark.'ları ise 57 gün boyunca D-galaktoz uygulamasıyla oluşturulan yaşlanma modelinde vücut ağırlığında kontrole göre artış yaptığını göstermişlerdir (Tikhonova ve ark., 2014). Chavez ve ark.da ovarektomize Wistar sıçanlarda vücut ağırlığının gittikçe arttığını ve 6. hafta ölçümlerinde belirgin ağırlık artışı gözlemişlerdir (Chaves ve ark., 2012). Çalışmamızda D-galaktoz ve overektomi uygulaması ile sadece OVT+D-GAL sedanter grupta kendi grubunun başlangıç ağırlığına göre belirgin bir ağırlık artışı gözlenmiş olup bu veriler Chavez ve ark. ve Tihonova ve ark.'nın D-galaktozun vücut ağırlığında artış yaptığı verisi ile uyumludur (Tablo 3). Çalışmamızda egzersiz yapan tüm Alzheimer gruplarında vücut ağırlığında kendi grubunun başlangıç ağırlığına göre artış olmadığı gözlendi. Yapılan egzersizlerin D-galaktoz ve overektomi uygulaması ile görülen vücut ağırlığı artışını engelleyici etkisi olduğunu düşünmekteyiz.

Serum kolesterol düzeylerinin Alzheimer için risk faktörü olduğu öne sürülmüştür. Ancak bu konu literatürde tartışmalı olup AH'lı hastalarda serum kolesterol düzeyinin arttığını, azaldığını ya da değişmediğini gösteren çalışmalar mevcuttur, hayvan çalışmalarında azalmış kolesterolün A β düzeylerini düşürdüğü rapor edilmiştir (Wood ve ark., 2014). Çalışmamızda OVT+D-GAL gruplarında serum kolesterol düzeylerinin arttığı ve aerobik egzersizin artan bu düzeyi azalttığı gösterilmiştir (Şekil 19). Overektomize sıçanlarda (Chonan ve ark., 1995) ve yüksek doz D-galaktoz verilen sıçanlarda (Zhu ve ark., 2014) serum kolesterol düzeylerinin yükseldiği, yüzme egzersizinin serum kolesterol düzeylerini azalttığı bilinmekte olup (Ryu, 2014) OVT+D-GAL deneysel Alzheimer modelinde serum kolesterol düzeylerine daha önce bakılmamıştır. Bulgularımız bir aerobik egzersiz türü olan

yüzme egzersizinin serum kolesterol düzeyini azalttığını gösteren çalışmalarla uyumludur.

7.2. Transvers Kas lifi Alanı Ölçümleri

Kas çapındaki değişimler ve kasların hipertrofiye olması egzersiz alıştırmaları ile ilişkili olup egzersize olan adaptasyonun bir göstergesidir (Cassilhas ve ark., 2012; Prestes ve ark., 2009). Çalışmada direnç egzersiz grubunda daha belirgin olmak üzere, kombine egzersiz grubunda dafleksor digitorum brevis kaslarında olan adaptasyonel kas lifi çapı artışları ölçüldü ve hem direnç egzersiz hem de kombine egzersiz gruplarında kontrol sedanterlere göre belirgin artış bulundu (Tablo 4). Bu sonuçlar Cassilhas ve ark.'nın ve Prestes ve ark.'nın önceki çalışmaları ile uyumludur. Çalışmada aerobik egzersiz grubunda daha belirgin olmak üzere, kombine egzersiz grubunda da soleus kasında olan adaptasyonel kas lifi çapı artışları ölçüldü ve soleus kasında hem aerobik egzersiz hem de kombine egzersiz gruplarında kontrol sedanterlere göre belirgin artış bulundu (Tablo 4). Bu sonuçlar Fernandez ve ark.'nın önceki çalışmaları ile uyumludur (Fernandez ve ark, 2012). Egzersiz gruplarının kas liflerinde hipertrofi gelişimi, yapılan egzersizlerin doğrulanmasını sağlamıştır.

7.3. Holeboard Testi ve Serum Kortizol Değerleri

AH'ya sıklıkla davranış bozuklukları ve duygudurum değişikliklerinin eşlik ettiği bilinmektedir ve A β ile oluşturulan deneysel Alzheimer modellerinde yükseltilmiş artı labirent testinde anksiyetenin arttığı gösterilmiştir (Raghavendra ve ark., 2013; Cioanca ve ark., 2014). Ma ve ark.'ları 120 mg/Kg D-galaktoz'un 10 hafta boyunca uygulanmasının serum kortizol düzeylerini hafifçe arttırdığını göstermişlerdir (Ma ve ark., 2014). Çalışmamızda anksiyete düzeyinin değerlendirilmesi amacı ile yapılan holeboard testinde OVT+D-GAL sedanter grupta donma süresinin artmasıyla ilişkili olarak anksiyete düzeyinin arttığı görüldü (Şekil

20C). Buna paralel olarak diğerk bir stres göstergesi olan serum kortizol düzeyi Alzheimer sedanter grubunda taklit cerrahi sedantere göre artmış bulundu (Şekil 20D). Literatürde deneysel Alzheimer modellerinde serum kortizol düzeyinin nasıl değıştiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Wang ve ark.'ları serum kortizol düzeyinin A β ile oluşturulan Alzheimer modelinde belirgin şekilde artmış olduğunu göstermişlerdir (Wang ve ark., 2014). Sıçan yaşlanma modellerinde de serum kortizol düzeylerinin arttığı ve kognitif bozukluklar olduğu bilinmektedir (Patki ve ark., 2015). Bizim bulgularımız Alzheimer'de anksiyete düzeyinin arttığını gösteren önceki çalışmaları desteklemektedir. Çalışmamızda ayrıca obje tanıma testindeki ayırt etme indeksinin düşmesiyle ilişkili OVT+D-GAL sedanter grupta görülen kognitif bozukluk ile artmış anksiyete düzeyi arasında bir korelasyon gözlemlendi. Literatürde artan anksiyete düzeyinin kognitif bozukluğa neden olabileceğini gösteren yayınlar bulunmaktadır (Zeng ve ark., 2015; Bondi ve ark., 2008; Patki ve ark., 2014). Çalışmamızda görülen kognitif bozukluğun altında yatan mekanizmalardan birinin artan anksiyete düzeyinin olabileceğini düşünmekteyiz. Buna ilave olarak holeboard testinde, egzersiz yapan OVT+D-GAL gruplarında anksiyete düzeyinde artış yoktu ayrıca donma süresinin azalmasıyla ilişkili olarak OVT+D-GAL grubunda yapılan aerobik egzersizin artan anksiyete düzeyini azalttığı gösterildi (Şekil 20C). Literatürde egzersizin sıçanlarda anksiyete düzeyi üzerine olan etkileri hakkında tartışmalı sonuçlar bulunmaktadır. İstemli tekerlek çevirme (Dishman ve ark.,1996) ve koşubandı egzersizinin anksiyete üzerine olumlu etkileri bildirilmiştir (Fulk ve ark., 2004). Yüzme egzersizinin anksiyolitik etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Abeer ve ark., 2014; Da Cruz ve ark., 2014). Burghardt ve ark., ise istemli tekerlek çevirme egzersizlerinin anksiyojenik etkili olduğunu bildirmişlerdir (Burghardt ve ark., 2004). Mevcut çalışmada holeboard testinde yüzme egzersizinin Alzheimer ile oluşan anksiyeteyi azalttığı gösterildi ve bu bulgular Abeer ve Da Cruz'un bulgularıyla uyumludur.

Glukokortikoidler adrenal korteksten egzersiz stresine cevap olarak salınırlar. Çok sayıda çalışmada fiziksel egzersizin strese bağlı bozuklukları düzelttiği duyudurumu, kognisyonu düzelttiği gösterilmiştir (Yap ve ark., 2008). Liu ve ark.'ları yüzme egzersizinin deksametazona maruz kalan sıçanlarda serum kortikosteron düzeyini azalttığını göstermişlerdir (Liu ve ark., 2012). Yüzme

egzersizinin serum kortizol düzeyine olan etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise 21 ve 42 günlük egzersizlerinin serum kortizol düzeyini azalttığını ve kısa orta ve uzun dönemli belleği güçlendirdiği gösterilmiştir (Radahmadi ve ark., 2014). Diğer bir çalışmada ise akut yüzme egzersizinin serum kortizol düzeyini arttırdığı rapor edilmiştir (Contarteze ve ark., 2008). Mevcut çalışmada egzersiz yapan OVT+D-GAL gruplarında serum kortizol düzeyinde artma yoktu (Şekil 20D). Düzenli sürekli egzersizlerin stres parametrelerinin azalttığını gösteren bulgularımız, Radahmadi ve Liu'nun çalışmalarıyla da uyumludur ilave olarak bizim çalışmamızda AH durumunda egzersizin etkileri gösterildi. Diğer taraftan insanlarda yapılan çalışmalar akut direnç egzersizlerinin adrenokortikotropik hormonu (ACTH) ve serum kortizolünü arttırdığını göstermiştir. Kronik direnç egzersizlerine bakıldığında ise serum kortizol düzeylerini arttırdığını, azalttığını ya da değiştirmedini gösteren farklı sonuçlar karşımıza çıkmaktadır (Benini ve ark., 2015; Kon ve ark., 2012). Hayvanlarda görülen değişik sonuçlar ise kas kütleindeki farklılıklarla ilişkili olarak açıklanmaya çalışılmıştır. Bu nedenle akut direnç egzersizindeki kortizol artışı metabolik stresi ifade ederken, kronikteki değişimler ya da değişimin olmaması protein metabolizmasını da içeren doku homeostazisiyle ilişkili görünmektedir (Kraemer ve Ratamess, 2005). Mevcut çalışmada taklit cerrahi direnç egzersiz grubunda serum kortizol düzeyi artmış bulunması literatürdeki çelişkili sonuçlara paralel görünmektedir. Çalışmamızda gözlemlediğimiz başka bir nokta ise ağırlıklı merdiven çıkma egzersizlerinin sıçanlar tarafından yüzme egzersizleri kadar kolaylıkla yapılmadığı olmuştur. Özellikle OVT+D-GAL gruplarında ağırlıklı merdiven çıkan sıçanların 6. haftada egzersizleri yaparken dönüp ağırlık bağlanan kuyruğu ısırma hareketi şeklinde direnç gösterme eylemleri gözlenmiştir.

7.4. Obje Tanıma Testi ve Tanıma Belleği

Literatürde D-galaktoz ve overektomi modelinde Y labirent testinde öğrenme yeteneğinin bozulduğu, pasif kaçınma testinde bozukluk olduğu gösterilmiştir (Hua ve ark., 2007). Ancak bu modelde obje tanıma hafızasının nasıl etkilendiği bilinmemektedir. Bizim çalışmamızda obje tanıma hafızasında sedanter kontrole göre

OVT+D-GAL sedanter grupta belirgin bozulma gözlenmiştir (Şekil 21). Bununla birlikte tek başına D-galaktoz ile yapılan yaşlılık çalışmalarında literatürde obje tanıma hafızası ile ilişkili tartışmalı veriler mevcuttur. Tikhonova ve ark.'ları 3 aylık Wistar sıçanlarda 150 mg/kg dozda D-galaktoz'un obje tanıma testinde belirgin bir bozukluk yapmadığını (Tikhonova ve ark., 2014), Nam ve ark.'ları ise 100 mg/kg dozda D-galaktozun 10 hafta uygulanmasının obje tanıma ve Moris'in su labirent testinde hafızada bozulma yaptığını göstermişlerdir (Nam ve ark., 2013). Yine Wei ve ark.'ları farelerde 8 hafta D-galaktoz uygulamasının obje tanıma hafızasını bozduğunu ancak araştırmacı davranışı etkilemediğini (Wei ve ark., 2005) göstermişlerdir. Aynı grup 4 ila 8 hafta D-galaktoz uygulamasının obje tanıma ve yön bulma belleğini bozduğunu ve bu hayvanlarda iyon transportunda rol alan genlerin ekspresyonlarının azalmasının bu bozulmada rol alabileceğini öne sürmüşlerdir (Wei ve ark., 2008). Wang ve ark. ise D-galaktoz uygulamasının obje tanıma testinde bozulma yapmadığını, uzamsal hafızada bozulma yaptığını öne sürmüşlerdir (Wang ve ark., 2009). Başka bir çalışmada ise 300 mg/kg dozunda D-galaktozun bir aylık erkek Wistar sıçanlarda 8 hafta boyunca uygulanmasının uzamsal hafızada bozulma yapmadığı gösterilmiştir (Cardoso ve ark., 2015). Bu durum erkek kemirgenlerin tipik olarak kadınlardan objelerin lokasyonu ve tanınması açısından daha avantajlı olmaları ile açıklanabilir (Cost ve ark., 2012). Östrojenin eksikliğine bağlı olarak obje tanıma hafızasında bozulma olduğu ve bu bozulmanın hipokampal CA3 ve CA1 bölgelerinde ve prefrontal korteksteki piramidal nöronlardaki dallanma yoğunluklarında belirgin azalmaya bağlı bellek bozukluklarına neden olabileceği gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2006) ve üstelik dişi kemirgenlerin obje tanıma performansında ovarian steroidlerin yükselen değerleri ile artış olduğu da bilinmektedir (Cost ve ark., 2012).

Çalışmamızda yüzme, direnç ve kombine egzersizlerin Alzheimer ile bozulmuş olan tanıma belleğini farklı derecelerde olmak üzere belirgin şekilde düzelttiği gösterildi (Şekil 21). Literatürde direnç egzersizi ile Alzheimer ilişkisine dair fazla veri bulunmamaktadır. Sosa ve ark.'ları direnç, esneklik denge ve koordinasyon egzersizleri sonrası Alzheimer hastalarında düşme riskinde azalma ve üst ve alt vücut kas kuvvetinde ve esneklik, çeviklik ve dinamik denge ve dayanıklılıkta artış göstermişlerdir (Sosa ve ark., 2008). Grace ve ark.'ları da strese maruz bırakılan

sıçanlarda egzersizin tanıma belleği üzerinde olumlu etkileri olduğunu rapor etmişlerdir (Grace ve ark., 2009). Ancak direnç egzersizinin Alzheimer ile ilgili kognitif fonksiyonlara olan etkisi konusunda literatürde çalışma bulunmamaktadır. Cassilhas ve ark. direnç egzersizi yapan sağlıklı sıçanlarda pasif kaçınma testi performansı ile sistemik IGF-I konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermişlerdir (Cassilhas ve ark., 2012). Bizim çalışmamızda da direnç egzersiz yapan OVT+D-GAL grubunda serum IGF-I düzeylerinin ve obje tanıma testi performansının arttığı Cassilhas ve ark.'na benzer şekilde gözlemlendi dahası direnç egzersizlerinin tek başına ya da yüzme egzersizi ile kombine olarak yapılmasının bozulmuş tanıma belleğinde belirgin düzelme yaptığı gösterildi (Şekil 21).

Alzheimer hastalığında yüzme egzersizinin etkileri konusunda da literatürde fazla çalışma bulunmamakla birlikte kemirgen hafızasında yüzme egzersizlerinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada günde iki defa 10'ar dakikalık yüzme egzersizi yapılmasının 30 gün sonunda Hebb-Williams labirenti ve Pasif kaçınma testinde beyin fonksiyonlarını geliştirdiği gösterilmiştir ve bunun altında yatan mekanizmanın da nörojenezi arttırarak olduğu öne sürülmüştür ve araştırmacılar Alzheimer hastalarının hayat stillerinin içerisine egzersizi entegre etmelerinin yararlı olacağını tavsiye etmişlerdir (Parle ve ark., 2005). Souza ve ark.'da intraserebroventriküler A β 1-40 uygulanan AH fare modelinde uygulama öncesinde 8 hafta süre ile yüzme egzersizi yapılmasının kısa ve uzun dönemli bellekteki bozulmayı önlediğini obje tanıma testinde göstermişlerdir (Souza ve ark., 2013). Diğer bir aerobik egzersiz türü olan koşubandı egzersizlerinin Alzheimer'a olan etkileri konusunda ise literatürde çalışmalar mevcuttur. Yapılan çalışmalarda A β ile oluşturulan Alzheimer modelinde koşubandı egzersizlerinin nörojenezi arttırarak kısa süreli hafızayı düzelttiğini stepdown tipi kaçınma testinde (Kim ve ark., 2014), uzun süreli kolaylaştırma (LTP) ile ilişkili molekülleri etkileyerek uzamsal hafıza performansını arttırdığını radyal kollu su labirenti ile gösterilmiştir (Dao ve ark., 2013). Çalışmamızda da farklı bir deneysel Alzheimer modelinde ve hastalığın gelişim aşamasında tek başına ya da direnç egzersizleri ile kombine olarak yüzme egzersizi yapılmasının veya direnç egzersizi uygulamalarının bozulan epizodik belleğin bir türü olan tanıma belleğinde belirgin şekilde düzelme yaptığı gösterildi.

7.5. Serum IGF-I Düzeyi

IGF-1 fonksiyonel olarak önemli bir nörotrofik faktördür, önemli bir miktarı karaciğerde sentezlenir ve MSS'de dahil olmak üzere tüm vücuttaki dokuları etkiler (Adams ve ark., 2009). Reseptörleri kemirgen ve insan beyinde bulunmaktadır ve karaciğerde üretilen IGF-I'in aktif olarak kan beyin bariyerini geçtiği ve nörotrofik etkilere sahip büyük bir endokrin kaynak olduğu bilinmektedir (Schulingkamp ve ark., 2000; Reinhardt ve Bondy, 1994). IGF-I'in nöroprotektif ve nörogenesi artırıcı etkileri gösterilmiştir (Aberg ve ark., 2000; Venters ve ark., 2001). Bir çalışmada nöroprotektif hormon olarak serum IGF-I düzeylerinin yaşlanma sırasında düştüğünü, Alzheimer patogeneğinde rol alan A β 'nın ise beyinde yaşlanmayla korele şekilde biriktiği bildirmiştir. Buna göre yüksek beyin A β düzeyleri mutant farelerde erken yaşlarda gözükür ve bu farelerde düşük IGF-I düzeyleri vardır ve bu karşılıklı ilişki muhtemelen serum IGF-I'in albümin ve transitretin gibi A β taşıyıcı proteinlerin beyine transportunu artırarak beyinde A β klirensini artırma yeteneği olduğunu göstermektedir. Bu bilgilere dayanarak dolaşımdaki IGF-I'in fizyolojik bir düzenleyici olarak beyin amiloid düzeylerini azaltacağı (Carro ve ark., 2002) ve düşük serum IGF düzeylerinin AH riskini arttırdığı (Westwood ve ark., 2014) öne sürülmüştür. Çalışmamızda da OVT+D-GAL egzersiz gruplarında azalan A β düzeyleri ile artan serum IGF-I düzeyleri gözlenmiştir (Şekil 22). Egzersizlerle artan serum IGF-I düzeylerinin Carro ve ark.'nın öne sürdüğü şekilde beyin A β düzeylerini azaltması olasıdır (Carro ve ark., 2002). Buna karşın bazı insan çalışmalarında serum IGF-I düzeylerinin Alzheimer'lı hastalarda arttığı bildirilmiş ve IGF-I sisteminin hastalık durumuyla ilişkili biyobelirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (Johansson ve ark., 2013; Salehi ve ark., 2008) . Başka bir çalışmada ise ilginç bir şekilde serum IGF-I ve IGF-I bağlayıcı protein düzeylerinin AH'lı erkeklerde azaldığı kadınlarda ise değişmediği rapor edilmiştir (Duron ve ark., 2012). Çalışmamızda da Duron ve ark.'na benzer şekilde ancak farklı olarak bir hayvan çalışmasında dişi sıçanlarda OVT+D-GAL sedanter grupta IGF-I serum düzeylerinin kontrolüne göre değişmediği gözlenmiştir.

Diğer yandan literatürde egzersiz ve serum IGF-I düzeyleri ile ilişkili farklı sonuçlar mevcuttur. Trejo ve ark.'ları koşu bandı egzersizinin IGF-I'in kandan beyinin spesifik bölgelerine alımını arttırarak erişkin hipokampusunda yeni nöron artışına aracılık ettiğini rapor etmişlerdir (Trejo ve ark., 2001). Carro ve ark.'da koşubandı egzersizi ile IGF-I'in beyine alımının arttığını ve beyini toksinle indüklenen nöronal hasardan koruduğunu bildirmişlerdir (Carro ve ark., 2001) Önceki başka bir çalışmada da koşubandı egzersizinin serum IGF-I düzeyini arttırdığını gösterilmiştir (Yeh ve ark., 1994) Gomes ve ark. ise 5 günlük orta dereceli yüzme egzersizinin normal sıçanlarda serum ve hipokampal IGF-I düzeyinde değişiklik yapmadığını bildirmişlerdir (Gomes ve ark., 2009). Çalışmamızda serum IGF-I düzeylerinde kontrol ve Alzheimer olan tüm egzersiz gruplarında taklit cerrahi sedantere göre artış görülmüştür. Sadece OVT+D-GAL direnç egzersizi grubunda OVT+D-GAL sedantere göre anlamlı bir artış vardır (Şekil 22). Sonuçlarımıza göre Alzheimer durumunda yapılacak egzersizlerinin serum IGF-I düzeylerini arttırarak yararlı etkileri olabileceği söylenebilir.

7.6. Beyin MDA, MPO, Lusigenin,Luminol ve GSH Düzeyleri.

Malondialdehit (MDA) yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi bir korelasyon gösterdiğinden biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksidasyon seviyelerinin belirteci olarak kullanılmaktadır. Enzimatik olmayan lipid peroksidasyonu oldukça zararlı bir zincir reaksiyona neden olur ve direkt olarak membran yapılarına ve indirekt olarak ürettiği reaktif özellikli aldehitlerle diğer hücre bileşenlerine zarar verir ve doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf>, erişim tarihi: 03.01.2016). Özellikle de beyinin yüksek oranda doymamış yağ asidi içerdiğinden dolayı oksidatif hasara karşı özellikle hassas bir organ olduğu bilinmektedir (Shichiri, 2014). Literatürde sistemik D-galaktoz uygulamasının lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeylerinde artış yaptığı gösterilmiştir. Ma ve ark.'ları farelerde 120 mg/kg D-galaktozun 10 hafta boyunca uygulanmasının hipokampal MDA düzeyinde (Ma ve

ark., 2014), Cui ve ark.'ları 7 hafta süresince uygulanmasının farelerde periferik MDA düzeylerinde (Cui ve ark., 2006), Xian ve ark.'ları 50 mg/kg dozda D-galaktozun beyin MDA düzeylerinde artış yaptığını rapor etmişlerdir (Xian ve ark., 2011). D-galaktoz ve overektomi modelinde ise bir çalışmada lipid peroksidasyonun farklı bir göstergesi olan tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) değerlerinin yükseldiği gösterilmiştir (Zhao ve ark., 2012). D-galaktoz ve Alüminyum uygulamasıyla oluşturulan Alzheimer modelinde de korteks ve hipokampal MDA düzeylerinde artış bildirilmiştir (Yang ve ark., 2014). D-galaktoz ve overektomi modelinde MDA düzeylerine bakılan literatürdeki tek çalışmada Su ve ark. fare beyininde MDA düzeyinin arttığını göstermişlerdir (Su ve ark., 2010). Çalışmamızda da, OVT+D-GAL sedanter grupta artan MDA düzeyi verileri Su ve ark.'nın verileri ile uyumludur (Şekil 23A). Egzersizin beyinde lipid peroksidasyonu nasıl etkilediği hakkında literatürde tartışılabilir veriler mevcuttur. Literatürdeki çalışmalar genellikle düzenli orta yoğunluktaki egzersizin beyinde yararlı etkileri olduğu fikrini desteklemektedir (Aksu ve ark., 2009; Chalimoniuk ve ark., 2015). Bazı çalışmalarda akut yüzme egzersizlerin beyin MDA düzeylerini değiştirmediği (Turgut ve ark., 2013), bazı çalışmalarda da yüzme egzersizinin beyin MDA düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (Sakr ve ark., 2015). Hareketsizlik stresi modelinde, akut yüzme egzersizinin beyin lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (Radak ve ark., 2001). Düzenli yapılan egzersizin beyin MDA düzeylerini azalttığı literatürdeki çalışmalarda Somani ve ark.'ları 6,5 hafta yapılan koşubandı egzersizlerinin (Somani ve Husain., 1997), Liu ve ark.'ları da 8 hafta yapılan koşubandı egzersizlerinin beyinde MDA düzeyini azalttığını göstermişlerdir (Liu ve ark., 2000). Direnç egzersizlerinin sıçanlarda ve beyin MDA düzeyini nasıl etkilediği konusunda literatürde bir bilgi bulunmamaktadır. Mevcut çalışmadaki sonuçlarımız çalışmada uygulanan egzersiz modellerinin beyin MDA düzeylerini azalttığını göstermiştir (Şekil 23A) ve bu sonuçlar düzenli egzersizlerle beyin MDA düzeylerinin azaldığını gösteren çalışmalarla uyumludur.

Miyeloperoksidaz bir hem proteini olup fagositik hücreler tarafından inflamasyon esnasındaki doku hasarına neden olan oksidanlara yanıt olarak üretilir (Green ve ark., 2004). Bu fagositik hücrelerin arasında doku makrofajları (Daugherty ve ark., 1994) ve beyinde de mikroglialar (Reynolds ve ark., 1999) bulunmaktadır.

Miyeloperoksidaz, nitritleri reaktif nitrojen türlerine okside eder ve lipid peroksidasyonu başlatır (Eiserich ve ark., 1998), serbest amino asitleri reaktif aldehitlere çevirir ve AGEs oluşumuna katkıda bulunur (Anderson ve ark., 1999). Alzheimer'lı insan beyinlerinde korteks ve hipokampusta MPO ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir ve MPO'nun sitotoksik oksidanların üretilmesi için potent bir katalizör olduğu bildirilmiştir (Green ve ark., 2004). Deneysel Alzheimer modellerinde MPO aktivitesinin araştırıldığı çalışma sayısı çok kısıtlıdır. Yalabık ve ark.'ları intraserebroventriküler STZ ile oluşturulan Alzheimer modelinde beyin MPO düzeylerinin arttığını göstermişlerdir (Yalabık ve ark., 2013). Çalışmamızda da beyin miyeloperoksidaz aktivitesi OVT+D-GAL sedanter ve direnç egzersiz gruplarında taklit cerrahi sedantere göre anlamlı şekilde artmış bulunmuştur. Bu artış AH'da mikrogial aktivasyon meydana geldiği tezini desteklemektedir (Morales, 2014). Bu artış aerobik ve kombine egzersiz gruplarında gözlenmemiştir (Şekil 23B). Kronik inflamatuvar süreçlerde MPO aktivitesinin ve ilişkili oksidanların artışı bilinmektedir (Heineke, 1999) bu nedenle bir çeşit kronik inflamasyon olan AH'daki doku hasarına katkıda bulunması çok muhtemeldir. Orta dereceli direnç egzersizlerinin yaşlı insanlarda sistemik MPO düzeylerini düşürdüğü (Valls ve ark., 2014), kronik yüzme egzersizlerinin de stresle artan beyin MPO düzeylerini düşürdüğü (Özbeyli ve ark., 2015) gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda direnç egzersizlerinin OVT+D-GAL ile artan MPO düzeylerini düşürmeden yetersiz kaldığını ancak aerobik ve kombine egzersizlerin MPO düzeylerinin artmasını önlediği gösterilmiştir. Ancak hiçbir egzersiz OVT+D-GAL ile artan MPO düzeylerini düşürmemiştir (Şekil 23B).

Lusigenin superoksit radikalının (O⁻) indirekt bir göstergesidir (Rembish ve Trush., 1994). Süperoksit radikali suyla birleşince hidrojen peroksit (H₂O₂) oluşturur. Oluşan H₂O₂, Fe ile birleşerek fenton reaksiyonları sonunda ROS üreterek nöronlara zarar verir (Meydani, 2001). Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal nitrik oksit (NO•) ile birleşmesi ile bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit (ONOO⁻) meydana gelir. Peroksinitritin metabolize olmasıyla, nitrit (NO₂⁻) ve nitrat (NO₃⁻) oluşur. Peroksinitrit, azot dioksit (NO₂•), hidroksil radikali (OH•), nitronyum iyonu (NO₂⁺) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ve nitrik oksitin (NO•) zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21->

adsem-01.pdf erişim tarihi: 28.12.2015). Süperoksit radikali (O⁻), Fe⁺² katalizörlüğünde su ile reaksiyona girdiğinde hidroksil (•OH) radikallerini oluşturan “Haber-Weiss reaksiyonu” meydana gelir (Duthie et al., 1989). Hidrojen peroksit, superoksit anyonu, OH radikali gibi reaktif oksijen türleri ve oksidatif stresin AH patofizyolojisinde rol oynadığı bilinmektedir (Castellani, 2007). Proteinlerin, lipidlerin ve DNA'nın oksidatif hasarı hücrel disfonksiyondan ve yaşa bağlı öğrenme ve bellek bozuklukları gibi fonksiyonel bozukluklardan sorumludur (Varadarajan ve ark., 2000).

D-galaktoz uygulamasının beyinde oksidatif parametreleri arttırdığı gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Wang ve ark., 2011; Wang ve ark., 2015). Ma ve ark.'ları 120 mg/kg D-galaktoz uygulamasının sıçan beyinde oksidatif hasar yaptığını ve mitokondriyal ROS'un belirgin şekilde arttığını göstermişlerdir (Ma ve ark., 2014). Bizim çalışmamızda OVT+D-GAL sedanter grupta lusigenin düzeyleri kontrolüne göre artmış bulundu. Bu bulgu Ma ve ark.'nın çalışmaları ile uyumludur. Ancak gruplar arasında luminol düzeylerinde fark bulunmadı. Orta dereceli fiziksel egzersiz esnasında global ve bölgesel beyin kan akımı oksijen için metabolik ihtiyacın artmasına bağlı olarak %40-70 oranında artmaktadır (Hiura ve ark., 2014). Artmış oksijen tüketimi, süperoksit anyonu, hidroksil radikali, NO ve eşlenmemiş oksijen gibi çeşitli farklı reaktif oksijen türlerinde (ROS) mitokondrideki elektron transport zincirindeki elektron kaçaklarıyla ilişkili oksidatif fosforlasyona bağlı artışa neden olur. Meydana gelen süperoksit radikali Süperoksit dismutaz (SOD) tarafından hidrojen peroksit ve eşlenmemiş oksijene çevrilir. Hidrojen peroksit, katalaz (CAT) ve Glutasyon peroksidaz (GPx) tarafından su ve oksijene dönüştürülür (Kudin ve ark., 2008; Malinska ve ark., 2009). İşte burada egzersizler hücrel antioksidan sistemde tam anlamıyla bir adaptasyona neden olarak oksidatif strese ve hücrel hasara karşı koruma sağlarlar (Leeuwenburgh ve ark., 1997; Scopel ve ark., 2006; Goto ve ark., 2007). Epidemiyolojik çalışmalarda egzersizin oksidatif hasarla ilişkili hastalıklarla azalma sağladığı gösterilmiştir (Radak, 2004). Mevcut çalışmada peroksit radikalinin göstergesi olan lusigenin düzeyleri taklit cerrahi aerobik ve kombine egzersiz gruplarında ve Alzheimer sedanter ve aerobik egzersiz gruplarında taklit cerrahi sedantere göre artmış bulundu (Şekil 23C). Bu sonuçlar aerobik egzersiz içeren egzersiz model gruplarında aerobik egzersizin yan etkisi olarak

peroksit radikalini arttırma potansiyeli olduğunu gösteren Kudin ve Malinska'nın sonuçlarıyla uyumludur. Ancak Glutasyon düzeylerinin yapılan tüm egzersizlerle artmış bulunması (Şekil 24D) egzersizlerin antioksidan sistemi stimüle ederek koruma sağladığını öne süren Leewuenburg, Scopel ve Goto'nun çalışmalarıyla uyumludur. Bununla birlikte erişkin hipokampusunun demirle indüklenen oksidatif strese karşı oldukça duyarlı olduğu bilinmektedir. Aerobik egzersizin adaptasyon mekanizmalarıyla oksidatif stresi azalttığı ileri sürülmüştür ancak hipokampus için tartışmalar devam etmektedir. Uzun dönem yapılan aerobik egzersizlerin hipokampusta redoksla aktive olan demiri arttırabileceği ve bunun da Fenton reaksiyonu aracılı hidroksil radikalinin artmasına neden olabileceği ve artan endojen NO düzeylerinin durumu daha da kötüleştirdiği de öne sürülmüştür (Chen ve Xiao, 2014)

Hücrel redüksiyon–oksidasyon durumundaki dengesizlik redoks durumu adını alır ve oksidatif strese neden olur. Tiyol (Sülfidril) grupları hücrel redoks homeostazisinde önemli rol oynar. Sistein ve methionin tiyol içeren aminoasitlerdir. Glutasyon ise sistein içeren bir tripeptittir ve glutamat, sistein ve glisin'den oluşur. Hücre içinde glutamil sistein ligaz ve GSH sentetaz tarafından katalizlenen reaksiyonlarla sentezlenir. Glutasyon en fazla karaciğerde olmak üzere beyinde de bulunur ve milimolar konsantrasyonlardadır (Aoyama ve Nakaki., 2015). Sinirsel düzeyde ana redoks savunma sistemi Glutatyondur ve MSS'de esas olarak astrositler tarafından sentezlenir (Dringen, 2000). Glutasyon antioksidan özelliklerinin yanında büyük miktarda indirgeyici bileşenler içerdiğinden redoks tamponlayıcısıdır. GSH moleküllerinin sülfhidril rezidüleri kolayca okside olarak GSH disülfidi (GSSG) oluşturur, bu da GSH redüktaz (GR) ile tekrar glutatyonla dönüştürülür (Aoyama ve Nakaki, 2015). Glutasyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutarak bu grupları oksidasyona karşı korur ve böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktive olmalarını engeller. Glutasyon (GSH) yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve amino asitlerin membranlardan geçişini sağlar. (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf>, erişim tarihi: 03.01.2016). Glutasyon oksidatif strese karşı enzim kofaktörü özelliklerine de sahiptir. Beyinde GSH sentezindeki bozukluklar oksidatif stresi daha da kötüleştirir ki bu oksidatif

stres yaşla ilişkili nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilidir. Beyin hücrelerinde reaktif oksijen türlerini hücresel düzeyde detoksifiye eder (Aoyama ve Nakaki., 2015). Farklı hücre tiplerinde yapılan invitro çalışmalarda beyinde sadece astrositlerin glutasyon kaynağı olduğunu göstermiştir (Dringen and Hirrlinger, 2003). Su ve ark.'ları 8 hafta boyunca 100mg/kg dozda D-galaktoz verilen overektomize farelerde Glutasyon düzeylerinde düşme (Su ve ark., 2010), Hua ve ark.'da 6 hafta D-galaktoz verilen sıçanlarda hipokampusta astrositik dejenerasyon ve GSH düzeylerinde düşme bildirmişlerdir (Hua ve ark., 2008). Glutasyon hipokampal astrositler tarafından sekrete edildiğinden glutatyondaki düşmenin astrosit dejenerasyonu kaynaklı olduğu öne sürülmüştür (Hua ve ark., 2008). Çalışmamızda OVT+D-GAL grubunda beyin GSH düzeylerinde belirgin düşme gözlenmiştir (Şekil 23D) ve bu sonuçlar Hua ve Su'nun bulgularıyla uyumludur. OVT+D-GAL sedanter grubunda gözlenen düşüş GSH'nin reaktif oksijen türlerini nötralize etmeye çalışmasına bağlıdır. Literatürde egzersizlerin beyin GSH düzeylerine etkileri hakkında farklı veriler mevcuttur. Somani ve ark.'ları 7,5 hafta süresince yapılan koşubandı egzersizlerinin beyin GSH düzeyini değiştirmediğini bildirmişlerdir (Somani ve ark., 1995). Ozkaya ve ark.'da aerobik egzersizin beyin antioksidan düzeyini etkilemediğini bildirmişlerdir (Ozkaya ve ark., 2002). Santin ve ark.'ları ise 12 hafta boyunca yapılan orta yoğunlukta egzersizin hipokampal GSH düzeyini arttırdığını (Santin ve ark., 2011), Teixeira ve ark.'da 8 hafta boyunca yapılan yüzme egzersizlerinin striatumda GSH düzeylerini yükselttiğini göstermişlerdir (Teixeira ve ark., 2008). Macedo ve ark. ise yüzme egzersizin overektomize sıçanlarda beyin GSH düzeyinde fark yaratmadığını bildirmişlerdir (Macedo ve ark., 2013). Rodrigues ve ark.'ları da STZ ile oluşturulmuş deneysel Alzheimer modelinde orta yoğunlukta koşubandı egzersizinin hipokampal GSH düzeyini arttırdığını (Rodrigues ve ark., 2010), Goto ve ark.'ları yaşlı sıçanlarda ve egzersizler geç yaşta başlasa bile 9 hafta yapılan yüzme egzersizlerinin beyin glutasyon düzeyini arttırdığını (Goto ve ark., 2007), Tung ve ark.'ları da 1,5 ay yapılan kronik egzersizlerin yaşlı farelerde lipid peroksidasyonu düşürdüğünü ve antioksidan aktiviteyi arttırdığını (Tung ve ark., 2015) göstermişlerdir. İskemi reperfüzyon modelinde de 8 hafta boyunca yapılan koşubandı egzersizlerinin hipokampus ve perfrontal kortekste glutasyon düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (Schmidt ve ark., 2014). Mevcut çalışmamızda haftada 3 gün yapılan egzersiz

modellerinin kontrol veya OVT+D-GAL' li hayvanlarda beyin GSH düzeylerini arttırdığı gösterildi (Şekil 23D) ve bu bulgular düzenli egzersizlerinin beyinde GSH düzeylerini arttırdığını gösteren çalışmalarla uyumludur. Beyin glutatyon düzeylerinin artışının haftada 3 defa yapılan yüzme, direnç ve kombinasyon egzersizlerinin Alzheimer hastalığında meydana gelen oksidatif stresi azaltıp, hücrel antioksidan mekanizmayı güçlendirerek mücadele edebilme kabiliyeti oluşturduğu gözlenmiş olup, egzersizlerin nonfarmakolojik bir araç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

7.7. Beyin NO Aktivite Düzeyi

NO normal fizyolojik koşullarda biyolojik bir mesajcı olarak nöromodülasyon, sinaptik plastiste ve nöral iletide rol alan difüze olabilen bir gazdır. Nöronal NOS (nNOS) bir Ca²⁺-calmodulin-bağımlı NOS izoformu olarak tüm beyin hücrelerinden (nöron, astrosit, glia) sürekli olarak salınır. Patolojik koşullarda aşırı NO üretiminin nörodejenerasyon ve nöroinflamasyon gibi süreçlerde rol aldığı bildirilmiştir. Akut ve kronik inflamasyon NO oluşumunu ve nitrooksidatif stresi indükler (Holscher, 1997; Calabrese ve ark., 2004; Gong ve ark., 2016). Aşırı NO üretimi, NMDA reseptörlerinin sürekli glutamat salınımıyla uyarılmasına bağlı olarak eksitotoksisteye neden olurken astrositler ve mikroglial hücrelerde de proinflamatuvar uyarılarla aşırı NOS meydana gelir (Dawson ve Dawson, 1998). Nöronlar nitrooksidatif strese karşı glial hücrelerden daha savunmasızdır (Calabrese ve ark., 2004). Ayrıca NO, inflamasyon yapıcı ve serbest radikal oluşturucu özellikleriyle Alzheimer gibi nörolojik bozukluklarla da ilişkilendirilmiştir (Liu ve ark., 2002; Togo ve ark., 2004). Ayrıca süperoksit radikaliyle NO'nun etkileşimiyle meydana gelen peroksinitritin proteinleri nitrasyonla hasara uğrattığı da gösterilmiştir. Xian ve ark.'ları 8 hafta boyunca D-galaktoz uygulamasının beyin NO aktivitesini belirgin şekilde arttırdığını bildirmişlerdir (Xian ve ark., 2014). En son yapılan bir çalışmada 6 hafta boyunca 150 mg/kg D-galaktoz uygulamasının fare beyinde belirgin şekilde NO artışı yaptığı gösterilmiştir (Gong ve ark., 2016). D-galaktoz tarafından oluşturulan oksidatif stresin nöroinflamasyona neden olduğu

bunun da uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS), (Siklo oksijenaz-2) COX-2 ve Nükleer faktör kappa B (NF-κB) aracılı olduğu bildirilmiştir (Xian ve ark., 2014). Ayrıca merkezi sinir sisteminde (MSS) aktive olmuş glial hücrelerden NOS salınımının artışının NO' nun aşırı üretimine ve buna bağlı hasarlara neden olduğu rapor edilmiştir (Calabrese ve ark., 2000). Literatürde, çalışmada uygulanan uzun süreli D-galaktoz uygulaması ve overektomi ile oluşturulan Alzheimer modelinin, NO aktivitesini nasıl etkilediğine ilişkin bilgi bulunmamaktadır. Çalışmamızda OVT+D-GAL gruplarında kontrol sedantere göre NO aktivitesinde belirgin artış olduğu gösterildi (Şekil 24). Buna dayanarak D-galaktoz ve overektomi uygulamasının sıçan beyinde nitrooksidatif stres oluşturduğu ve Alzheimer patogenezinde rol oynadığını söylenebilir.

Egzersiz'in beyin NO düzeyine etkilerinin incelendiği bir invitro iskemi modelinde 8 hafta boyunca, haftada 5 gün 30 dk.'lık yüzme egzersizlerinin NO salınımını azalttığı gösterilmiştir (Leite ve ark., 2012). Diğer yandan orta yoğunlukta aerobik egzersizin fare beyinde nöronal NOS (nNOS) düzeyini (Boveris ve Navarro, 2008) ve eNOS'u arttırdığı (Viboolvarkul ve Patumraj, 2014) rapor edilmiştir. Çalışmamızda ise uygulanan egzersiz modellerinde OVT+D-GAL sedanterde artan NO aktivite düzeyinin aerobik egzersiz ile düşme eğilimi göstermesine rağmen anlamlı olarak değişmediği gözlemlendi (Şekil 24). NO sentezinin egzersiz ile indüklenen BDNF ekspresyonu için esansiyel olduğu (Chen ve ark., 2006) ayrıca egzersiz esnasında beyin NO inhibisyonunun sıçanların egzersiz performansında düşme yaptığı ve NO'nun egzersiz sırasındaki metabolik uyum için gerekli olduğunu gösterilmiştir (Lacerda ve ark., 2006). Uygulanan diğer egzersiz modellerinin NO salınımını değiştirmemesinin nedeni egzersizin nöromodülatör olarak NO düzeylerini artırma kapasitesi olduğu düşünüldüğünde anlaşılabilir olmaktadır.

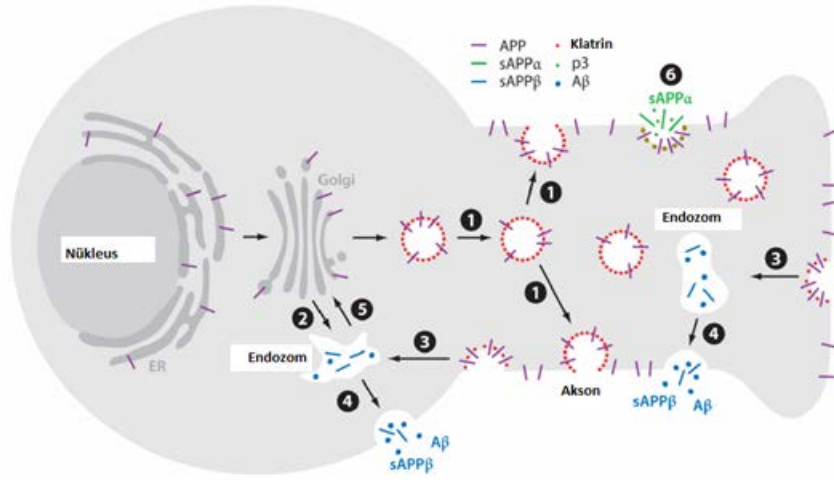
7.8. Hipokampal APP695 Gen Ekspresyonu ve A β 1-42 İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skoru

Nöronlardaki yeni sentezlenen APP golgiden aksona transport edilir veya hücredeki endozomal bölmelere alınır. Bazı APP'ler endozomal yapılardan hücre yüzeyine alındıktan sonra APP α -sekretaz ile kesilir, sAPP α fragmanı oluşur ve hücreden uzağa difüze olurken bazı APP'ler endozomların içine tekrar alınırlar burada A β üretilir ve endozomlar hücre yüzeyine A β ve sAPP β 'yi salarlar (Şekil 29). Hücre yüzeyinde APP direkt olarak α -sekretaz ve γ -sekretaz ile işlenmesi A β üretilmesine yol açmazken endozomal kompartmanlarda bulunan BACE1 ve γ -sekretaz ile işlenme A β üretilmesine neden olur (O'Brien ve Wong., 2011). Neden bazı yüzey APP'lerin endozomlara alındığı ve bazılarının ise direkt olarak α -sekretaz ile işlendiği açık değildir (O'Brien ve Wong., 2011). APP genindeki mutasyonlara bağlı olarak oluşan APP'nin yapısal değişimleri de A β üretilen yolun aktif olmasına neden olabilir. APP geni 21. kromozomda lokalizedir ve APP üretimi 1.5 kat fazla olan trizomi 21'li bireylerde Alzheimer'in nöropatolojik belirtileri 40 yaşından sonra ortaya çıkmaktadır. Bu da artmış APP ekspresyonunun artmış A β üretimine neden olabileceğine işaret etmektedir (Blom ve Linnemann., 1992). APP'nin nöronal ve glial hücrelerde aşırı üretiminin kaspaz-3'ü aktive ederek hücreyi ölüme götürdüğü ve mikrogliaları aktive ederek inflamatuvar cevabı indüklediği öne sürülmüştür (Masumura ve ark., 2000). Dahası son zamanlarda insan APP geninin fazla eksprese edildiği Alzheimer transgenik hayvan modelleri de literatürde görülmektedir (Lee ve ark., 2014; Iulita ve ark., 2014). Çalışmamızda da hipokampal APP düzeylerinin Alzheimer sedanter grupta taklit cerrahi kontrole göre arttığı ve bu artışı kombine egzersiz uygulamasının azalttığı gösterilmiştir. Alzheimer aerobik egzersiz grubunda bu artışın devam ettiği, direnç egzersizin ise APP gen ekspresyonunda bir değişime neden olmadığı görülmüştür (Şekil 25A). Lin ve ark.'ı APP/PS1 transgenik fare modelinde 4 hafta boyunca yapılan orta dereceli koşubandı egzersizinin APP düzeyini değiştirmedeğini göstermişlerdir (Lin ve ark., 2015). Mevcut çalışmada ise APP gen ekspresyonu düzeyinin kombine egzersiz ile azaldığı direnç egzersizi ile değişmediği gösterildi (Şekil 25 A).

Hua ve ark.'nın uyguladığı Alzheimer modelinde hipokampal CA1, CA2 ve Dentat girusta intranöronal A β birikimi D-galaktoz ve overektomi sonrası 6. haftada gözlenmiştir. Bu modelde araştırmacılar plak oluşunu gözlenmediğini muhtemelen 6 haftanın plak oluşunu için yetersiz olduğunu bildirmişlerdir (Hua ve ark., 2007). Plak oluşunu öncesi hücre içi A β birikiminin Alzheimer benzeri bir model olarak geliştirildiği McGill-R-Thy1-APP transgenik fare modelinde de plak oluşunu olmadan intranöronal A β birikiminin hipokampusun CA1, CA2 ,CA3 bölgelerinde ve Dentat Girusta meydana geldiği ve bu durumun uzamsal hafızada bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir (Leon ve ark., 2010). Başka çalışmalarda da amiloid plak oluşunu meydana gelmeden önce A β 'nin önce intranöronal birikimi olduğu gösterilmiş olup (Wirths ve ark., 2002; Iulita ve ark., 2014) bu bulgular postmortem Alzheimer'li beyinlerde valide edilmiştir (Fernandez ve ark., 2004). Ayrıca Iulita ve ark.'ları intranöronal A β birikiminin obje tanıma testinde bozulmaya neden olduğunu da göstermiştir. Tez alışmamızda da hipokampal CA1, CA3, CA4 bölgeleri ve Dentat Girusda A β immunoreaktivitesi gösteren nöronlar tespit edilirken ekstrasellüler plak oluşunu gözlenmedi (şekil 25B, Resim10). Hua ve ark.'ları Alzheimer gruplarında kontrollere göre belirgin nöronalA β immunoreaktivitesi göstermişlerdir (Hua ve ark., 2007). Transgenik hayvanlarda yapılan çalışmalarda intranöronalA β immunoreaktivitesi gözlerken nontransgeniklerde intranöronal A β immunoreaktivitesi gözlenmemiştir (Takahashi ve ark., 2004; Iulita ve ark., 2014). Mittal ve ark.'ları D-galaktoz ve overektomi ile Alzheimer oluşturulan grupta kontrollere göre belirgin intranöronal A β immunoreaktivitesi gözlemişlerdir. Bizim alışmamızda elde edilen A β immunoreaktivite bulguları; Hua, Iulita ve Takahashi ve Mittal'in çalışmalarıyla uyumludur. Ayrıca alışmamızda nöronal A β birikimi ile korele bulunan obje tanıma testindeki bozulmalarda Iulita ve ark.'nın verileriyle uyumludur. Daha önceleri Alzheimer'in patolojik işareti olarak A β birikiminin ekstrasellüler alanda olduğu kabul edilmekteydi ancak son yıllarda Alzheimer'in erken döneminde intrasellüler A β birikimi olduğunu ve bununda ekstrasellüler birikim için öncülük ettiği bildirilmiştir (Mittal ve ark., 2011).

Yu ve ark.'ları D-galaktoz ile oluşturulan yaşlanma modelinde 8 hafta boyunca yapılan koşu bandı egzersizlerinin α sekretaz ailesinin bir üyesi olan ve A β 'yı azaltan hipokampal ADAM17'nin mRNA düzeyini arttırdığını, bir β sekretaz olan BACE1

mRNA düzeyini ve sonuç olarak A β 42 oluşumunu azalttığını bildirmişlerdir (Yu ve ark., 2013). Egzersizin hangi mekanizmalarla A β 'yı azalttığına dair literatürde olan çalışmalara bakıldığında Moore ve ark., düşük ve yüksek yoğunluktaki koşubandı egzersizlerinin solubl A β 40 klirensini hem korteks hem de hipokampusta Neprilysin, İnsülin Degrade Edici Enzim (IDE), Matriks Metallo Proteinaz 9 (MMP9), LDL Reseptör İlişkili Protein 1 (LRP1) ve Isı Şoku Protein 70 (HSP70) enzim aktivitelerini indükleyerek arttırdığını göstermişlerdir (Moore ve ark., 2015). Lin ve ark.'da APP/PS1 transgenik farelerde 4 haftalık orta dereceli koşubandı egzersizi ile hipokampal A β düzeyinde belirgin azalma olduğu ve bu azalmanında LRP-I artışına bağlı olduğunu bildirmişlerdir (Lin ve ark., 2015). Bizim tez çalışmamızda Alzheimer direnç ve kombine egzersiz gruplarında A β immunoreaktif nöronlarda belirgin azalmalar gözlemlendi ancak olası A β klirensi ile ilişkili enzim düzeylerine bakılmadı. Bulgularımız egzersizin A β düzeylerini azalttığını gösteren Yu ve ark., ve Moore ve ark., çalışmalarıyla uyumludur. Bu çalışmalar koşu bandı egzersizleri olup bizim çalışmamızda yüzme ve direnç egzersizleri gibi farklı egzersiz modelleri uygulandı. Direnç egzersizinin A β üzerine olan etkisi hakkında literatürde daha önce bir çalışma bulunmamaktadır. Yüzme egzersizi ile yapılan tek bir çalışmada ise Souza ve ark.'ları intraserebroventriküler (icv) olarak yapılan A β 1-40 uygulaması öncesi 8 hafta yüzme egzersizi yapmanın hipokampusta ve prefrontal kortekste A β 1-40 düzeyini azalttığını göstermişlerdir (Souza ve ark., 2013). Mevcut çalışmada ise yüzme egzersizi ile hipokampal A β 1-42 immunoreaktif hücrelerde azalma eğilimi vardı ancak bu anlamlı bir seviyede değildi. Ancak kombine ve direnç egzersizi ile hipokampal A β 1-42 immunreaktivitesi gösteren hücrelerde kendi sedanterine göre anlamlı bir azalma vardı (Şekil 25B) ve bu sonuçlar Souza ve ark.'nın çalışmaları ile uyumludur.



Şekil 29. Nöronda APP işlenmesi

Yeni sentezlenen APP (Mor kısa çizgiler), golgiden aksona transport edilir (1) veya hücre gövdesinde endozomal kompartmanlara alınır (2). Hücre yüzeyine gelen bazı APP'ler α -sekretaz ile kesilirken (6) meydana gelen çözülebilir sAPP α fragmanı dışarıya difüze olurken (yeşil), bazıları endozomlara alınır (3) ve burada A β üretilir (mavi). A β 'ler endozomlardan tekrar hücre yüzeyine döndürülür (4) ve A β (mavi) ve sAPP β (mavi) endozomlardan tekrar golgiye transportta retromerler aracılığı ile gerçekleşebilir (5) (O'Brien ve Wong., 2011).

7.9. Hipokampal NGF Gen Ekspresyonu ve Beyin NGF İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları

Bir aksonun hedef nörona ulaştıktan sonra yaşamına devam etmesi ve farklılaşması hedef hücreden salınan trofik faktörlere bağlıdır. Gelişmekte olan nöronun akson ve dendritleri hedef hücre ile temas kuramadığı takdirde nöron ölür. Bu trofik faktörlerden en iyi bilineni NGF'dir. TrkA reseptörünün NGF tarafından uyarılması hedef nöronlarda trofik olaylarla ilişkili genlerin ekspresyonuna neden olur (Kurul ve Gülmez., 2007). NGF 36 kDa olan prekürsör protein olarak üretilip (pro-NGF) daha sonra hücre içerisinde furin, hücre dışında plasmin tarafından kesilerek matür haline getirilir (Allen ve ark., 2011). Hipokampus epizodik belleğin kritik bir noktasıdır ve demans riski olan bireylerde ve AH'nın prodromal fazında nörodejeneratif değişiklikler gözlenen beyin ilk beyin alanlarından biridir. Ancak AH olan beyin bu erken dejeneratif olaylara rağmen prodromal faz esnasında kayda değer nöroplastisite değişiklikleri de sergiler (Devanand ve ark., 2007). Bu bağlamda

hastalığın gelişim dönemine de bağlı olarak literatürde deneysel Alzheimer modellerinde beyin NGF düzeyleri ve NGF gen ekspresyonu ile ilişkili tartışmalı veriler mevcuttur. Grunblatt ve ark. tarafından STZ ile oluşturulan AH modelinde kortekste kantitatif PCR ile NFG-IB (erken gen transkripsiyon faktörü)'nin azalmış olduğu gösterilmiştir (Grünblatt ve ark., 2006). Buna karşın NGF-IB mRNA düzeyleri striatum ve serebellumda değişmemiştir (Grünblatt ve ark., 2006). Alzheimer'da MSS'de NGF'ye yüksek oranda bağımlı olan bazal ön beyin kolinerjik nöronlarının NGF yetersizliğinde dejenere ve atrofiye oldukları öne sürülmüştür. Ancak Alzheimer'de NGF sentezi transkript düzeyinde etkilenmediği ancak prekürsörü olan proNGF'de artış olduğu gösterilmiş ve "bir paradoks olduğu" öne sürülmüştür (Iulita ve Cuello, 2014; Allen ve ark., 2011). Bu paradoksun açıklanmasında etkili olan hipotez, ekstrasellüler alanda proNGF salınan ve plazmin ile matür hale getirilecek olan pro-NGF'nin, matür hale gelmeden Matriks Metalloproteinaz Protein-9 (MMP-9) ile degradasyona uğruyor oluşudur. Böyle bir bozukluğun AH patogenezinde de rol oynuyor olabileceği Iulita ve Cuello tarafından öne sürülmüştür (Iulita ve Cuello, 2015). Çalışmamızda ise Alzheimer sedanter grupta hipokampusta NGF gen ekspresyonunun arttığı ve bu artışın aerobik egzersiz ile devam ettiği bulunmuştur. Kombine egzersiz ise Alzheimer sedanter gruptaki artan NGF gen ekspresyonu düzeyini azaltmıştır (Şekil 26A). Ancak yapılan immunohistokimyasal incelemede hipokampustaki NGF immunoreaktif hücrelerde yalnızca taklit cerrahi aerobik ve direnç egzersiz gruplarında artış gözlenirken Alzheimer gruplarında kontrol gruplarına göre belirgin bir fark gözlenmedi (Şekil 26B, Resim 11). Daha önce yapılan bazı çalışmalarda da hipokampal matür NGF düzeylerinin Alzheimer durumunda değişmediğini bildirilmiştir (Murase ve ark., 1993; Mufson ve ark., 2003). Bizim tez çalışmamızda da Murase ve Mufson'un çalışmalarına benzer şekilde hipokampal NGF immunoreaktivitesinde Alzheimer gruplarında kontrollerine göre belirgin fark gözlenmemiştir. Çalışmada Alzheimer sedanter ve aerobik egzersiz gruplarında artan NGF gen ekspresyonlarının hipokampal NGF protein düzeylerine yansımama nedeni pro NGF'nin MMP-9 tarafından degrade edilmesine bağlı olarak plazmin tarafından matür NGF'e dönüştürülememesi olabilir ki bu degradasyondaki artışın da Alzheimer'i şiddetlendirdiği bilinmektedir (Iulita ve Cuello, 2015).

Diğer yandan insan beyin dokularında NGF benzeri aktivitenin AH'da beyin frontal ve oksipital korteksinde arttığını gösteren çalışmalar da vardır ve bu artışın bazal ön beyin kolinerjik nöronlarındaki adaptasyonel değişikliklerle ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Crutcher ve ark., 1993). Liu ve ark. ise NGF düzeylerinin APP/PS1 farelerde düştüğünü ve aynı zamanda A β ve APP düzeylerinin arttığını göstermişlerdir. Bu farelerde bozulmuş NGF sinyali, bilinen bir AH ilacı olan memantin ile düzeldiğinde kognitif defisitler ve A β depozitleri de düzelmiştir (Liu ve ark., 2014).

Mevcut çalışmada kortekste taklit cerrahi sedanter gruba göre Alzheimer sedanter grupta Liu ve ark.'nın çalışmalarına benzer şekilde NGF düzeylerinin belirgin şekilde azaldığı ve bu azalmanın Alzheimer aerobik egzersiz gruplarında devam ettiği gözlemlendi. Alzheimer kombine egzersiz grubunda Alzheimer sedantere göre belirgin artış ve Alzheimer direnç egzersiz grubunda ise artma eğilimi gözlemlendi (Şekil 26C, Resim 12).

Jiang ve ark.'ları da 4 hafta boyunca günde 70 dk. haftada 6 gün yüzen sıçanlarda hipokampal NGF mRNA ekspresyonunda belirgin değişim gözlemlenmişlerdir (Jiang ve ark., 2014). Bizim çalışmamızda taklit cerrahi sedanter gruba göre taklit cerrahi aerobik egzersiz ve direnç egzersiz gruplarında NGF immunoreaktivitesinde belirgin artış bulunmasına karşın bu grupların mRNA ekspresyonunda artış gözlenmedi. NGF ve BDNF proteinlerinin stress koşullarında degradasyonunun arttığı ve mRNA sentez seviyelerinde azalma olduğu bilinmektedir (Woo ve ark., 2013). Taklit cerrahi gruplarında herhangi bir stres koşulu olmadığından NGF proteininin degradasyonunda herhangi bir artış olmadığı ve protein seviyesinde birikimin arttığı düşünülebilir, mRNA seviyesinde artış görülmemesinin nedeni ise hastalık ya da stres gibi NGF degradasyonunu arttırıcı bir koşul olmadığından yeni mRNA sentezinin basal ya da fizyolojik bir seviyede sabit kalması olabilir (Woo ve ark., 2013).

7.10. Hipokampal BDNF Gen Ekspresyonu ve Beyin BDNF İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları

BDNF hipokampus ve serebral kortekste yüksek oranda eksprese edilir ve geniş dağılımı vardır (Wetmore ve ark., 1990) ve hipokampal-kortikal kolinerjik ve dopaminerjik nöronların yaşayabilirliği için önemlidir (Gosh ve ark., 1994). AH'da görülen hafıza bozukluğunun hipokampustaki BDNF düzeyleriyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür. BDNF gen ekspresyonunun fizyolojik ve patolojik koşullarda değiştiği bilinmektedir. Alzheimer hastalığında insanlarda BDNF mRNA düzeylerinin hipokampus ve parietal kortekste azaldığı protein düzeylerinin de entorhinal korteks, hipokampus, temporal ve parietal kortekste azaldığı bilinmektedir (Allen ve ark., 2011) ancak bu belirli BDNF transkriptlerine özel bir azalmadır. İnsanda en az 7 transkript eksprese olurken (Fahnestock ve ark., 2002) bunlardan sadece üçünde azalma tespit edilmiştir (I, II ve IV). İnsan nöroblastoma hücre hattında yapılan bir çalışmada $A\beta_{42}$ 'nin BDNF transkript 4'te azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bu azalmanın $A\beta_{42}$ 'nin CREB (Siklik AMP cevap elemanı bağlayıcı protein) fosforilasyonu üzerine olan inhibitör etkisiyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Garzon ve ark., 2002). CREB'in fosforilasyonu CBP (CREB bağlayıcı protein) 'ye bağlanmayı kolaylaştırır ki bu da BDNF transkripsiyonunu da içeren CRE (siklik AMP cevap elemanı) bağımlı gen ekspresyonunda artışa neden olur (Arancio ve Chao, 2007). Bu çalışmamızda ise hipokampusta BDNF gen ekspresyonu ve protein düzeyleri bakımından Alzheimer sedanter grupta taklit cerrahi sedantere göre azalma yönünde belirgin bir fark gözlenmedi (Şekil 27). Oysaki Alzheimer grubunda $A\beta$ immunoreaktivitesinde artış vardı. Bunun nedeni 6 haftalık sürecin $A\beta_{42}$ 'nin CREB fosforilasyonu üzerine inhibe edici etkisinin gelişimi için yeterli olmaması olabilir.

Garza ve ark. normal yaşlanma sürecine baktıkları 22 aylık sıçanlarda 14 günlük yüzme egzersizlerinin yaşlı sıçanlarda hipokampal BDNF mRNA düzeylerinde belirgin artış yaptığını göstermişlerdir ve ilginç bir şekilde genç sıçanlarda söz konusu artış görülmemiş ve araştırmacılar yaşlı sıçanların egzersize gençlerden daha fazla cevap verdiğini öne sürmüşlerdir (Garza ve ark., 2004). Bizim tez çalışmamızda da Garza ve ark.'na benzer şekilde hipokampal BDNF mRNA

düzeinin yüzme egzersizi yapan Alzheimer grupta taklit cerrahi aerobik gruba göre arttığı gösterilmiş olup (Şekil 27A) hastalık durumunda yapılacak aerobik egzersizin hipokampusta BDNF gen ekspresyonunu arttıracığı düşünülebilir. Dahası tüm Alzheimer egzersiz gruplarında gözlenen $A\beta_{42}$ azalması ile birlikte CREB fosforilasyonunu inhibe edici etkinin de azalacağı akla gelmektedir. Bununla birlikte Alzheimer aerobik egzersiz grubunda artan gen ekspresyonunun hipokampal BDNF immunoreaktif hücre düzeylerine yansımadağı gözlendi. Bunun nedeni BDNF'nin proBDNF olarak sentezlendikten sonra intrasellüler prohormon konvertazlar veya furinler veya ekstrasellüler plazmin ve matriks proteazları tarafından sekresyon sonrası proteolitik işlemlerle modüle ediliyor olması olabilir (Mowla ve ark., 2001) .

Koşubandı egzersizinin beyin BDNF mRNA düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (Neeper ve ark., 1996). Yüzme egzersizinin hipokampal BDNF düzeyi üzerine etkileri ile ilgili literatürde fazla çalışma yoktur. Cassilhas ve ark. 8 hafta boyunca yapılan koşubandı egzersizinin normal sıçanlarda hipokampal BDNF düzeyinde artış yaptığını göstermişlerdir (Cassilhas ve ark., 2012). Mevcut çalışmada Cassilhas ve ark.'na benzer şekilde hipokampal BDNF İmmunohistokimyasal değerlendirme skorlarında taklit cerrahi aerobik egzersiz ve kombine egzersiz gruplarında sedanterine göre anlamlı artış bulunmuş, kortekste ise artış eğilimi gözlenmiştir (Şekil 27B,C, Resim 13,14). Sonuçlarımız yüzme ve kombine egzersizin hipokampusta BDNF immunreaktivite gösteren hücreleri arttırarak nöroplastisiteye katkısı olabileceğini göstermektedir. Jiang ve ark.'ları 4 hafta boyunca günde 70 dk. haftada 6 gün yüzen sıçanlarda hipokampal BDNF ve IGF-I mRNA ekspresyonunda belirgin artış gözlemişlerdir (Jiang ve ark., 2014). Kombine egzersizin etkilerinin overektomize sıçanlarda incelendiği bir çalışmada da haftada 6 gün yapılan direnç ve koşubandı egzersizlerinin BDNF düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (Kim ve ark., 2016). Çalışmamızda hipokampusta taklit cerrahi sedanter gruba göre taklit cerrahi aerobik egzersiz ve kombine egzersiz gruplarında BDNF immunreaktivitesinde belirgin artış bulunmasına karşın bu grupların mRNA ekspresyonunda artış gözlenmemiştir (Şekil 27A). Daha önceki bir çalışmada Oliff ve ark.'ları istemli tekerlek çevirme egzersizi sonrası BDNF gen ekspresyonunun çok hızlı bir şekilde yükseldiğini göstermişlerdir (Oliff ve ark., 1998). Hippokampal BDNF mRNA ekspresyonunun fiziksel aktiviteye bağılı olarak çok hızlı bir şekilde

yükselmesi söz konusu olduğundan ekspresyon sonrası protein sentezinin artışına bağlı olarak negatif geribildirim olması çok muhtemeldir.

7.11. Hipokampal IGF-I mRNA ve Beyin IGF-I İmmunohistokimyasal Değerlendirme Skorları

IGF-I'in MSS'deki önemi nörotrofik etkileri ve yaşlılıkla ilişkili kognitif bozuklukları düzeltici etkileriyle ilişkilidir (Sonntag ve ark., 2005). Beyinde iş yapan IGF-I'in %95'i karaciğer kaynaklı olup diğer kalan kısım beyinde sentezlenmektedir (Yamamoto ve Murphy, 1995). Özellikle glia (Breese ve ark., 1996), nöron (Sontag ve ark., 1997) ve serebral damarlarda (Sontag ve ark., 1999) lokal olarak IGF-I sentezi gerçekleşmektedir. Dolaşımdaki IGF-I, kan beyin bariyerini geçerek (Reinhardt ve Bondy, 1994) sistemik etkilerini gösterirken, lokal olarak beyinde üretilen IGF-I parakrin ve otokrin olarak etki eder (Adams ve ark., 2009). Yaşlı sıçanlarda ıcv uygulanan IGF-I infüzyonunun dentat girusta nörogenezi arttırdığı (Lichtenwalner ve ark., 2001), sinaps formasyonunu kolaylaştırdığı (Nieto-Bona ve ark., 1997) gösterilmiştir. IGF-I ayrıca beyinde okside olan proteinlerin temizlenmesinde aracılık eder (Crowe ve ark., 2009). Tüm bu etkiler nörotrofik ve nöroprotektif etkilerdir. Çalışmamızda egzersizlerle artan serum IGF-I düzeyleri ve bununla korele kognitif düzelme gözlemlendi ancak (taklit cerrahi aerobik hariç) hipokampal ve korteks beyin IGF-I immunoreaktif hücrelerinde egzersizlerle belirgin şekilde değişme olmadı ve serum IGF-I ile arasında bir korelasyon görülmedi. Literatürde lokal beyin IGF-I düzeylerinin plazma IGF-I düzeylerinden farklı bir şekilde düzenlenebileceği gösterilmiştir ve hipokampal IGF-I düzeylerinin plazma IGF-I düzeylerini yansıtmadığı öne sürülmüştür (Adams ve ark., 2009). Bizim çalışmamızda da korele olmayan serum ve beyin IGF düzeyleri Adams ve ark.'nın verileriyle uyumludur.

IGF-I gen ekspresyonunun, STZ ile indüklenen deneysel bir Alzheimer modelde beynin serebrum, frontal korteks ve hipokampus bölgelerinde azaldığı gösterilmiştir (Lee ve ark., 2014). Çalışmamızda hipokampal IGF-I geni mRNA ekspresyonu düzeylerinde Alzheimer sedanter grupta taklit cerrahi sedantere göre azalma eğilimi, egzersizlerle bu azalmada düzelme eğilimi gözlenmesine rağmen gruplar arasında

anlamli bir fark görülmemiştir. Bu durum çalışmada uygulanan Alzheimer modelinin Lee ve ark.'nın modelinden farklı olmasına bağlı olabilir.

Literatürde egzersizlerin IGF-I gen ekspresyonuna etkisinin araştırıldığı kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bir çalışmada koşubandı egzersizleriyle hipokampal IGF-I mRNA düzeyinde artma eğilimi göstermesine rağmen artmadığı gösterilmiştir (Ma ve ark., 2012). Bizim alışmamızda elde edilen bulgular Ma ve ark.'nın çalışmalarıyla uyumlu olup haftada 3 gün yapılan kronik egzersizlerin hipokampal IGF-I mRNA düzeylerini değiştirmedeği gösterildi. Ancak literatürde IGF-I'nin hipokampal düzeylerinin egzersiz ile arttığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Hipokampal IGF-I konsantrasyonlarının sağlıklı sıçanlarda haftada 5 gün 8 hafta süresince yapılan koşubandı ve direnç egzersizleri ile kontrollere göre arttığı gösterilmiştir (Cassilhas ve ark., 2012). Çalışmamızda ise hipokampusta IGF-I İmmunohistokimyasal değerlendirme skorunda taklit cerrahi aerobik grubunda sedanterine göre belirgin artmış bulundu (şekil 28B, Resim 15). Bu sonuç Cassilhas ve ark.'nın çalışmaları ile uyumludur. Bununla birlikte hipokampusta taklit cerrahi direnç, kombine egzersiz gruplarında sedanterine göre istatistik olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu durum çalışmada yapılan egzersizlerinin 3 günlük srelerde ve 6 hafta süresince yapılmış olmasına bağlı olabilir ayrıca OVT+D-GAL sedanter grup ile kontrol sedanter arasında istatistik olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. AH'lı beyinlerde insülin direnci ve IGF-I direnci tespit edilmiştir (Zemva ve Shubert., 2014) ve bunun Aβ oligomerleri tarafından potansiyel olarak tetiklenebileceği ne srlmştir. Bu nedenle hastalığın bir evresinde IGF-I düzeyinde reaktif olarak artış eğilimi olabilir. Ancak çalışmada böyle bir veri bulunmamıştır.

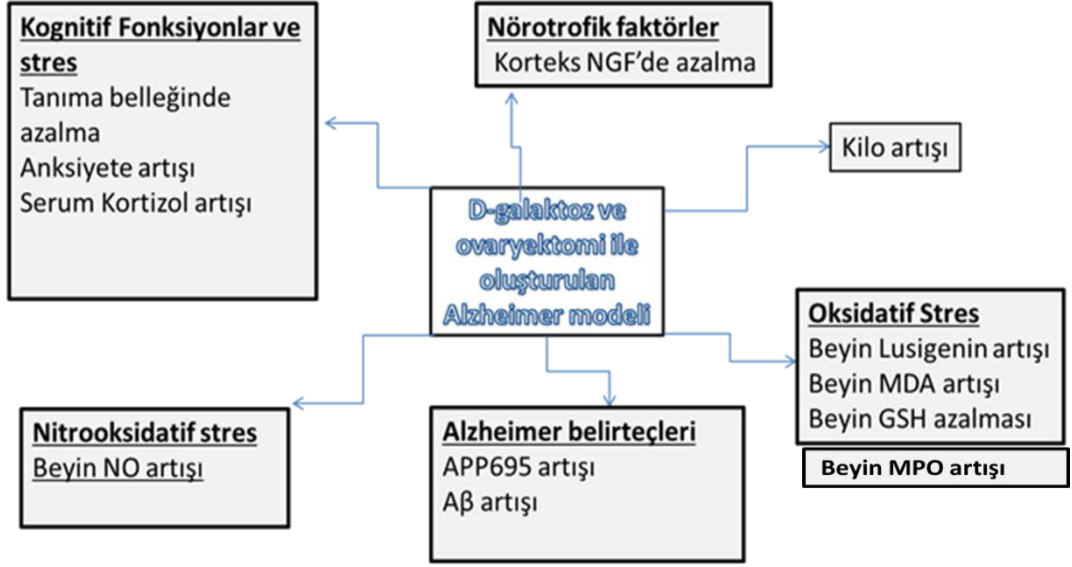
Sonuç olarak çalışmamızda korteks ve hipokampus IGF-I düzeylerinde hastalıkla belirgin bir değişiklik gözlenmezken sadece taklit cerrahi aerobik egzersiz grubunda belirgin IGF-I artışı bulundu (şekil 28B, C, Resim 15, 16). Serum IGF-I düzeylerinin egzersizlerle yeterince yükselmesine bağlı olarak hipokampal düzeyde bir artış olmaması ya da egzersiz yoğunluğunun beyin IGF-I düzeylerini arttıracak düzeyde olmaması muhtemeldir. Beyin IGF-I düzeylerinin artması için daha uzun süre gerekebilir. Ayrıca IGF-I taklit cerrahi grubunda mRNA ekspresyonu artmamışken IGF-1 immunohistokimyası artmıştı. Bu durum yüzme egzersizin sistemik IGF-I'nin

beyine alınmasını arttırmasına bağlı olabilir. Literatürde aerobik egzersiz ile beyindeki spesifik nöronlara IGF-I alımının arttığı gösterilmiştir (Carro ve ark., 2000). Bulgularımız yüzme egzersizin beyine IGF-I alımını arttırdığı bulgusunu desteklemektedir.

7.12. Sonuç ve Öneriler

Çalışmamızda uygulanan uzun dönem D-galaktoz ve overektomi uygulaması ile oluşturulan deneysel Alzheimer benzeri modelde hayvanlarda kilo artışı gözlenirken egzersizlerin bu kilo artışına engel olduğu gözlemlendi. Uygulanan egzersizlerin doğrulanması kas lifi alanı ölçümleri ile yapıldı. Holeboard testinde yüzme egzersizinin Alzheimer ile oluşan anksiyeteyi azalttığı gösterildi, ayrıca egzersiz yapan Alzheimer gruplarında anksiyete düzeyinde artış yoktu. Stres göstergesi olan serum kortizol düzeyi Alzheimer sedanter grubunda taklit cerrahi sedantere göre artmış bulundu ve egzersiz yapan Alzheimer gruplarında serum kortizol düzeyi artışı ile olası ilişkili stres düzeyinde artma yoktu ancak direnç egzersizlerinin sıçanlarda stresör olabileceği gözlemlendi ancak strese bağlı kognitif gerileme sadece Alzheimer sedanter grupta idi. Alzheimerde görülen kognitif bozukluk ile artmış anksiyete düzeyi arasında bir korelasyon gözlemlendi. Çalışmamızda peroksit radikalinin göstergesi olan lusigenin kemiluminesans düzeyinin Alzheimer ile arttığı gösterildi. Ancak egzersiz uygulamaları Alzheimer sedantere göre ek bir artış yapmadı ve endojen antioksidan glutatyonun düzeyini arttırarak lipid peroksidasyonun etkilerini azalttı. Tüm Alzheimer gruplarında beyin NO aktivitesinde aşırı miktarda artışa bağlı olarak uygulanan modelin beyinde aşırı bir nitrooksidatif strese neden olduğu ve egzersizlerin bu stresi azaltmadığı gösterildi. Aşırı NO aktivitesi Alzheimer patogenezinde rol oynadığı ileri sürülen bir hipotezdir. Çalışmamız bu hipotezi doğrulamaktadır. Serum IGF-I düzeylerinde tüm egzersiz gruplarında kontrol sedantere göre artış ve yalnızca direnç egzersizi grubunda alzheimer sedantere göre anlamlı bir artış görülmesi egzersizlerin serum IGF-I düzeyinde artış yapabildiğini ve direnç egzersizinin hastalık durumunda yararlı olabileceğini gösterdi.

Amiloid betanın öncülü olan APP695 gen ekspresyonu OVT+D-GAL sedanter grubunda arttı ve bu artış aerobik egzersiz ile devam ederken kombine egzersiz ile azaldı. Alzheimer ile artan nöronal amiloid beta immunreaktivite gösteren hücreler direnç ve kombine egzersiz modelleri ile belirgin şekilde azaldı. Ancak hiçbir grupta A β birikimi ekstrasellüler olarak gösterilemedi. Hipokampal NGF gen ekspresyonu Alzheimer sedanterde artmış ve bu artış, aerobik egzersiz ve direnç egzersiz gruplarında azalarak devam etmiştir, kombine egzersiz ise artan gen ekspresyon düzeyini azaltmıştır. Taklit cerrahi egzersiz gruplarında belirgin değişim olmaması bu artışın hastalıkla ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Ancak yapılan immunohistokimyasal incelemede hipokampustaki NGF immunoreaktif hücrelerde yalnızca taklit cerrahi aerobik ve direnç egzersiz gruplarında artış gözlenirken Alzheimer gruplarında kontrol gruplarına göre belirgin bir fark gözlenmemesi pro NGF'nin proteinaz tarafından degrade edilmesine bağlı olabilir ki bu artışın Alzheimer'i şiddetlendirdiği bilinmektedir. Kontrol aerobik egzersiz ve direnç egzersiz gruplarında NGF immunreaktivitesinde belirgin artış bulunmasına karşın bu grupların mRNA ekspresyonunda artış gözlenmedi bunun nedeni kontrol gruplarında herhangi bir stres koşulu olmadığından NGF proteinin degradasyonunda herhangi bir artış olmadığından protein seviyesinde birikimin artması olabilir. BDNF gen ekspresyonunun sadece Alzheimer aerobik grupta kendi kontrolüne göre arttığı gösterilmiş olup buna göre hastalık durumunda yapılacak yüzme egzersizinin beyinde BDNF gen ekspresyonu miktarında artış yapması olasıdır. Bununla birlikte Alzheimer aerobik egzersiz grubunda artan gen ekspresyonunun hipokampal BDNF düzeylerine yansımadağı gözlemlendi. Bunun nedeni BDNF'nin proBDNF olarak sentezlendikten sonra proteolize uğraması olabilir. Hipokampal IGF-I mRNA düzeylerinde ve beyin protein düzeylerinde gruplar arasında belirgin bir fark bulunmadı. Serum IGF-I düzeylerinin egzersizlerle yeterince yükselmesine bağlı olarak hipokampal düzeyde bir artış olmaması muhtemeldir. Çalışmada elde edilen tüm bulgular şekil 30 ve tablo 5'de özetlenmiştir.



Şekil 30. Deneysel Alzheimer modeli ile oluşan değişiklikler

Tablo 5. Özet bilgi tablosu Alzheimer modeli ve egzersizlerin etkileri.

Parametre	Alzheimer	Alzheimer +Aerobik Egzersizi	Alzheimer+Direnç Egzersizi	Alzheimer+Kombine Egzersiz
Vücut Ağırlığı	↑	—	—	—
Kas Lifi Çapı	—	↑	↑	↑
Anksiyete Düzeyi	↑	↓	—	—
Serum Kortizol	↑	—	—	—
Serum IGF-I	—	↑	↑	↑
Tanıma Belleği	↓	↑	↑	↑
Beyin Lusigenin	↑	↑	—	—
Beyin MDA	↑	↓	↓	↓
Beyin MPO	↑	—	↑	—
Beyin GSH	↓	↑	↑	↑
Beyin NO	↑	↑	↑	↑
Hipokampal NGF mRNA	↑	↑	—	↓
Hipokampal APP mRNA	↑	↑	—	↓
Hipokampal BDNF mRNA	—	↑	—	—
Hipokampal IGF-I mRNA	—	—	—	—
Hipokampal A β 42	↑	↓	↓	↓
Hipokampal NGF	—	—	—	—
Hipokampal BDNF	—	—	—	—
Hipokampal IGF-I	—	—	—	—
Korteks NGF	↓	—	—	↑
Korteks BDNF	—	—	—	—
Korteks IGF-I	—	—	—	—

Sonuç olarak, çalışmada D-galaktoz ve overektomi uygulaması ile oluşan Alzheimer modelinin anksiyete ve stres düzeylerini, oksidatif ve nitrooksidatif stresi arttırdığı, tanıma belleğini bozduğu gösterildi. Altı hafta süresince uygulanan haftada 3 günlük egzersiz modellerinin vücudun antioksidan savunma sistemini harekete geçirerek oksidatif stresi ve anksiyeteyi azalttığı, bozulan tanıma belleğini arttırdığı ancak artan nitrooksidatif stres düzeylerini azaltmadığı bunun yanında uygulanan tüm egzersizlerinin sistemik IGF-I'i arttırarak nörotrofik etkili olabileceği gösterildi. Direnç ve kombine egzersizler ile hipokampal A β immunoreaktif hücrelerde anlamlı azalmalar A β indüklü toksisite ile mücadelede egzersizlerin nonfarmakolojik ajan olarak kullanılabilceğini gösterdi. Alzheimer modeli ile azalan korteks NGF immunreaktivite gösteren hücreleri kombine egzersiz ile arttı. Elde ettiğimiz veriler haftada 3 gün yapılacak yüzme, direnç egzersizleri ve bunların kombinasyonlarının oksidatif stresi azaltarak, Alzheimer belirteçlerini hafifleterek, kognitif fonksiyonları düzelterek ve NGF ve IGF-I'i olumlu etkileyerek Alzheimer hastalığının gelişim sürecinde iyileştirici etkileri olabileceğini göstermektedir.

8.Kaynaklar

Aberg MA, Aberg ND, Hedbäcker H, Oscarsson J, Eriksson PS. Peripheral infusion of IGF-1 induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *J. Neurosci.* 2000;20,2896–2903.

Akbaraly TN, Portet F, Fustinoni S, Dartigues JF, Artero S, Rouaud O, Touchon J, Ritchie K, Berr C. Leisure activities and the risk of dementia in the elderly. *Neurology.* 2009;73, 854–861.

Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B. Bauer J, Cole GM, Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging.* 2000;21, 383–421.

Aliyev A, Seyidova D, Rzayev N, Obrenovich ME, Lamb BT, Chen SG. Is nitric oxide a key target in the pathogenesis brain lesions during the development of Alzheimer's disease. *Neurol Res.* 2004;26(5):547-53.

Amaducci L, Falchini M, Lippi A. Descriptive epidemiology and risk factors for Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand.* 1992;139:21-25.

Dao A, Munder A. Zagaar, Levine A, Salim S, Eriksen J, Alkadhi K. Treadmill Exercise Prevents Learning and Memory Impairment in Alzheimer's Disease-like Pathology. *Curr Alzheimer Res.* 2013;10(5): 507–515.

Lacerda AC, Marubayashi U, Balthazar CH, Coimbra CC. Evidence that brain nitric oxide inhibition increases metabolic cost of exercise, reducing running performance in rats. *Neuroscience.* 2006;Volume 393, Issues 2–3, 30, Pages 260–263.

Anderson M, Requena JR, Crowley JR, Thorpe SR, Heinecke JW. The myeloperoxidase system of human phagocytes generates Ne-(carboxymethyl) lysine

on proteins: a mechanism for producing advanced glycation end products at sites of inflammation. *J. Clin. Invest.* 1999;104, 103–113.

Tricco AC, Vandervort S, Soobiah C, Lillie E, Perrier L, Chen MH, Hemmelgarn B, Majumdar SR, Straus SE. Efficacy of cognitive enhancers for Alzheimer's disease: protocol for a systematic review and network meta-analysis. *Syst Rev.* 2012;1: 31.

Westwood A, Beiser A, De Carli C, Harris T, Chen T, He X, Roubenoff R, Pikula A, Au R, Braverman L, Wolf P, Vasan R, Seshadri S. Insulin-like growth factor-1 and risk of Alzheimer dementia and brain atrophy. *Neurology.* 2014;82(18): 1613–1619.

Teixeira A, Trevizol F, Colpo G, Garcia S, Charão M, Pereira R, Fachineto R, Rocha J, Bürger E. Influence of chronic exercise on reserpine-induced oxidative stress in rats: Behavioral and antioxidant evaluations. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 2008;Volume 88, Issue 4, , Pages 465–472.

Kumar A, Ekavali A. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update *Pharmacological Reports* 67. 2015;195–20.

Aoyama K, Nakaki T. Glutathione in Cellular Redox Homeostasis: Association with the Excitatory Amino Acid Carrier 1 (EAAC1). *Molecules.* 2015;14;20(5):8742-58.

Arancio O, Chao MV. Neurotrophins, synaptic plasticity and dementia. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2007;17(3), 325-330.

Atwood CS, Obrenovich ME, Liu TB, Chan H, Perry G, Smith MA, Martins RN. Amyloid-beta: a chameleon walking in two worlds: a review of the trophic and toxic properties of amyloid-beta. *Brain Res Rev.* 2003;43: 1–1.

Avila J, Lucas JJ, Perez M, Hernandez F. Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol Rev.* 2004;84(2):361-84.

Aydın A, Çoban J, Doğan-Ekici I, Betül-Kalaz E, Doğru-Abbasoğlu S, Uysal M. Carnosine and taurine treatments diminished brain oxidative stress and apoptosis in D-galactose aging model. *Metab Brain Dis.* 2015;Oct 31.

Liu B, Gao HM, Wang JY, Jeohn GH, Cooper CL, Hong JS. Role of nitric oxide in inflammation-mediated neurodegeneration. *Ann. N.Y Acad. Sci.* 2002;962 pp. 318–331.

Bartus RT, Dean RL, Beer B, Lippa AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science.* 1982;217:408–17.

Behl C. Behavioral effects of estradiol therapy in ovariectomized rats depend on the age when the treatment is initiated. *Alzheimer's disease and oxidative stress: implications for novel therapeutic approaches. Progress in Neurobiology.* 1999;57 (3), 301–323.

Grayson B, Leger M, Piercy C, Adamson L, Harte M, Neill J. Assessment of disease-related cognitive impairments using the novel object recognition (NOR) task in rodents. *Behavioural Brain Research.* 2015;285: 176–193.

Benini R, Prado Nunes PR, Orsatti CL, Barcelos LC, Orsatti FL. Effects of acute total body resistance exercise on hormonal and cytokines changes in men and women. *J Sports Med Phys Fitness.* 2015;55(4):337-44.

Bevins R A, Besheer J. Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'. *Nat Protoc.* 2006;1(3):1306-11.

Bilkei-Gorzo A. Genetic mouse models of brain ageing and Alzheimer's disease. *Pharmacol Ther.* 2014;142(2):244-57.

Boimel M, Grigoriadis N, Lourbopoulos A, Touloumi O, Rosenmann D, Abramsky O, Rosenmann H. Statins reduce the neurofibrillary tangle burden in a mouse model of tauopathy. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2009;68, 314–325.

Winters B, Saksida L.M., Bussey T.J. Object recognition memory: Neurobiological mechanisms of encoding, consolidation and retrieval. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews.* 2008;Volume 32, Issue 5, Pages 1055–1070.

Bozdagi O, Shan WS, Tanaka H, Benson DL, Huntley GW. Increasing numbers of synaptic puncta during late-phase LTP: N-cadherin is synthesized, recruited to synaptic sites and required for potentiation. *Neuron*, 2000;28: 245–259.

Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation. Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol.* 1982;78: 206–9.

Bradley-Whitman MA, Timmons MD, Beckett TL, Murphy MP, Lynn BC, Lovell MA. Nucleic Acid Oxidation: An early feature of Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* 2014;Jan;128(2):294-304.

Breese CR, D'Costa A, Rollins YD, Adams C, Booze RM, Sonntag WE, Leonard S. Expression of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and IGF-binding protein 2 (IGF-BP2) in the hippocampus following cytotoxic lesion of the dentate gyrus. *J Comp Neurol.* 1996;369:388–404.

Brett L, Traynor V, Stapley P. Effects of Physical Exercise on Health and Well-Being of Individuals Living With a Dementia in Nursing Homes: A Systematic Review. *J Am Med Dir Assoc.* 2015;pii: S1525-8610(15)00555-1.

Brunnström H, Gustafson L, Passant U, Englund E. Prevalence of dementia subtypes: a 30-year retrospective survey of neuropathological reports. *Archives of Gerontology and Geriatrics.* 2009;49, 146–149.

Buchman AS, Schneider JA, Leurgans S, Bennett DA. Physical frailty in older persons is associated with Alzheimer disease pathology. *Neurology*. 2008 Aug 12;71(7):499-504.

Buchman AS, Boyle PA, Yu L, Shah RC, Wilson R S, Bennett DA. Total daily physical activity and the risk of AD and cognitive decline in older adults. *Neurology*. 2012;78, 1323–1329.

C. Holscher. Nitric oxide, the enigmatic neuronal messenger: its role in synaptic plasticity. *Trends Neurosci*. 1997;20, pp. 298–303.

Calabrese V, Boyd-Kimball D, Scapagnini G, Butterfield DA. Nitric oxide and cellular stress response in brain aging and neurodegenerative disorders: the role of vitagenes. *In Vivo*. 2004;18(3):245-67.

Camandola S, Mattson MP. Aberrant subcellular neuronal calcium regulation in aging and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1813:965–973.

Capsoni S, Cattaneo A. On the molecular basis linking Nerve Growth Factor (NGF) to Alzheimer's disease. *Cell Mol Neurobiol*. 2006;26(4-6):619-33.

Cardoso A, Magano S, Marrana F, Andrade D. galactose high-dose administration failed to induce accelerated aging changes in neurogenesis, anxiety and spatial memory on young male Wistar rats. *JP Rejuvenation Res*. 2015;Dec;18(6):497-507.

Carro E, Nuñez A, Busiguina S. Circulating insulin-like growth factor-I mediates effects of exercise on the brain. *J Neurosci*. 2000;15;20(8):2926-3.

Carro E, Trejo JL, Busiguina S, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy. *J Neurosci*. 2001;1;21(15):5678-84.

Carro E, Trejo JL, Gomez-Isla T, LeRoith D, Torres-Aleman I. Serum insulin-like growth factor I regulates brain amyloid-beta levels. *Nat Med.* 2002;Dec;8(12):1390-7.

Casetta I, Govoni V, Granieri E. Oxidative stress, antioxidants and neurodegenerative diseases. *Curr Pharm Des.* 2005;11(16):2033-52.

Casini A, Ferrali M, Pompella AS, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene intoxicated mice. *Am J Pathol.* 1986;123:520-31.

Cassilhas RC, Lee KS, Fernandes J, Oliveira MG, Tufik S, Meeusen R, de Mello MT. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. *Neuroscience.* 2012;Jan 27;202:309-17.

Castellani RJ, Moreira PI, Liu G, Dobson J, Perry G, Smith MA, Iron: the redox-active center of oxidative stress in Alzheimer disease. *Neurochem Res.* 2007;32(10):1640-5.

Chae CH, Lee HC, Jung SL, Kim TW, Kim JH, Kim NJ, Kim HT. Swimming exercise increases the level of nerve growth factor and stimulates neurogenesis in adult rat hippocampus. *Neuroscience.* 2012;14;212: 30-7.

Chalimoniuk M, Jagsz S, Sadowska-Krepa E, Chrapusta SJ, Klapcinska B, Langfort JJ. Diversity of endurance training effects on antioxidant defenses and oxidative damage in different brain regions of adolescent male rats. *Physiol Pharmacol.* 2015;66(4):539-47.

Chao HM, Spencer RL, Frankfurt M, McEwen BS. The effects of aging and hormonal manipulation on amyloid precursor protein APP695 mRNA expression in the rat hippocampus. *Neuroendocrinol.* 1994;6(5):517-21.

Chen Q, Xiao DS. Long-term aerobic exercise increases redox-active iron through nitric oxide in rat hippocampus. *Nitric Oxide*. 2014;30;36:1-10.

Chen Y, Liang Z, Blanchard J, Dai CL, Sun S, Lee MH, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Liu F, Gong CX. A non-transgenic mouse model (icv-STZ mouse) of Alzheimer's disease: similarities to and differences from the transgenic model (3xTg-AD mouse). *Mol Neurobiol*. 2013;47(2):711-25.

Tsai C, Wang C, Pan C, Chen F. The effects of long-term resistance exercise on the relationship between neurocognitive performance and GH, IGF-1, and homocysteine levels in the elderly. *Front Behav Neurosci*. 2015;9: 23.

Chodzko-Zajko WJ, Proctor DN, Fiatarone Singh MA, Minson CT, Nigg CR, Salem GJ, Skinner JS American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41:1510–1530.

Chonan O, Matsumoto K, Watanuki M. Effect of galactooligosaccharides on calcium absorption and preventing bone loss in ovariectomized rats. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1995;59(2):236-9.

Cioanca O, Hritcu L, Mihasan M, Trifan A, Hancianu M. Inhalation of coriander volatile oil increased anxiolytic-antidepressant-like behaviors and decreased oxidative status in beta-amyloid (1-42) rat model of Alzheimer's disease. *Physiol Behav*. 2014;28;131:68-74.

Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*. 2003;17: 1195-1214.

Bondi CO, Rodriguez G, Gould GG, Frazer A, Morilak D. Chronic Unpredictable Stress Induces a Cognitive Deficit and Anxiety-Like Behavior in Rats that is Prevented by Chronic Antidepressant Drug Treatment. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33: 320–331.

Cost KT, Williams-Yee ZN, Fustok JN, Dohanich GP. Sex differences in object-in-place memory of adult rats. *Behav Neurosci*. 2012;126(3):457-64.

Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*. 2002;25(6): 295–301.

Cotman CW, Head E. The canine (dog) model of human aging and disease: dietary, environmental and immunotherapy approaches. *Alzheimers Dis*. 2008;15(4):685-707.

Crews L, Masliah E. Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*. 2010;19:R12-R20.

Cristina M. Alberini, Dillon Y. Chen. Memory enhancement: consolidation, reconsolidation and insulin-like growth factor 2. *Trends in Neurosciences*. May 2012;35(5): 274–283.

Crutcher KA1, Scott SA, Liang S, Everson WV, Weingartner J. Detection of NGF-like activity in human brain tissue: increased levels in Alzheimer's disease. *J Neurosci*. 1993;13(6):2540-50.

Cruts M, Van Duijn CM, Backhovens H. Estimation of the genetic contribution of presenilin-1 and -2 mutations in a population based study of presenile Alzheimer disease. *Hum Mol Genet*. 1998;7, 43- 51.

Cuajungco MP, Goldstein LE, Nunomura A, Smith MA, Lim JT, Atwood CS, Huang X, Farrag YW, Perry G, Bush AI. Evidence that the β - amyloid plaques of Alzheimer's disease represent the redox-silencing and entombment of abeta by zinc. *J Biol Chem*. 2000;275: 19439–19442.

Cui X, Zuo P, Zhang Q, Li X, Hu Y, Long J, Packer L, Liu J. Chronic systemic D-galactose exposure induces memory loss, neurodegeneration, and oxidative damage

in mice: protective effects of R-alpha-lipoic acid. *Neurosci Res.* 2006;15;84(3):647-54.

Casadio A, Karl KA, Serodio P, Kandel ER. CREB1 encodes a nuclear activator, a repressor, and a cytoplasmic modulator that form a regulatory unit critical for long-term facilitation. *Cell.* 1998;95(2):211-23.

Daugherty A, Dunn J. L, Rateri D. L. and Heinecke J. W. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. *J. Clin. Invest.* 1994;94, 437–444.

Bonda DJ, Wang X, Lee H, Smith MA, Perry G, Zhu X. Neuronal Failure in Alzheimer Disease: A View through the Oxidative Stress Looking-Glass. *Neurosci Bull.* 2014;30(2): 243–252.

Davis KL. Alzheimer's disease: seeking new ways to preserve brain function. *Geriatrics.* 1999;54: 42-7.

Dawson VL, Dawson TM. Nitric oxide in neurodegeneration. *Prog Brain Res.* 1998;118:215–229.

Demir A, Türker P, Onol FF, Sirvanci S, Findik A, Tarcan T. Effect of experimentally induced *Escherichia coli* epididymo-orchitis and ciprofloxacin treatment on rat spermatogenesis. *Int J Urol.* 2007;14(3):268-72.

Dubal DB, Phyllis M. Wise. Estrogen and neuroprotection: from clinical observations to molecular mechanisms. *Dialogues Clin Neurosci.* 2002;4(2): 149–161.

Devanand DP, Pradhaban G, Liu X, Hippocampal and entorhinal atrophy in mild cognitive impairment: prediction of Alzheimer disease. *Neurology.* 2007;68:828–36.

Dik MG, Pluijm SM, Jonker C, Deeg DJ, Lomecky MZ, Lips P. Insulin-like growth factor I (IGF-I) and cognitive decline in older persons. *Neurobiol Aging*. 2003;24:573–581.

Gürpınar D, Erol A, Mete L. Depresyon ve nöroplastisite. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*. 2007;17: 100-110.

Dodart JC, Mathis C, Ungerer A. Scopolamine-induced deficits in a two-trial object recognition task in mice. *Neuroreport*. 1997;8(5):1173-8.

Duff K, Eckman C, Zehr C, Yu X, Prada CM, Perez-tur J, . Increased amyloid-b42 (43)in brains of mice expressing mutant presenilin1. *Nature*. 1996;383 (6602):710-3.

Dustman RE, Ruhling RO, Russell EM, Shearer DE, Bonekat W, Shigeoka JW, Aerobic exercise training and improved neurophysiological function of older adults. *Neurobiol Aging*. 1984;5: 35–42.

Duthie, GG, Wahle, KWJ, James WPT. Oxidants,antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr.Res*. 1989; Rev. 2; 51-62.

Duyckaerts C, Panchal M, Delatour B, Potier MC.Morphologic and molecular neuropathology of Alzheimer's disease. *Ann Pharm Fr*. 2009;67(2):127-35.

E. Beutler, *Red Blood Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods*, Grune &Stratton, New York. 1975;112–114.

Teixeira de Lemos, Reis F, Baptista S, Pinto R, Sepodes B, Vala H, Pereira PR, Silva AS, Teixeira F. Exercise training is associated with improved levelsof C-reactive protein and adiponectin in ZDF (type 2) diabetic rats.*Med Sci Monit*. 2007;13(8): BR168-174

Eiserich J. P, Hristova M, Cross C. E, Jones A. D, Freeman B. A, Halliwell B. and van der Vliet A. Formation of nitric oxide derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. *Nature*. 1998;391, 393–397.

Crowe E, Sell C., Thomas JD, Johannes GJ, Torres, C. Activation of proteasome by insulin-like growth factor-I may enhance clearance of oxidized proteins in the brain. *Mech Ageing Dev*. 2009;130(11-12): 793.

Elmacı NT. Alzheimer hastalığının Patofizyolojisi. *Turkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics*. 2012;5(3)

Teke EK, Silva MA, Huston JP, Dere E. Wistar rats show episodic-like memory for unique experiences. *Neurobiology of Learning and Memory* 85. 2006;173–182.

Erickson CA, Barnes CA. The neurobiology of memory changes in normal aging. *Exp Gerontol*. 2003;Jan-Feb;38(1-2):61-9.

Esen Saka, Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisi: Deneysel ve Genetik Bulgular. *Turkish Journal of Geriatrics*. 2010;13 / Özel Sayı 3 (21-26)

Ullah F, Ali T, Ullah N, Kim MO. Caffeine prevents D-galactose-induced cognitive deficits, oxidative stress, neuroinflammation and neurodegeneration in the adult rat brain. *Neurochemistry International*. 2015;1-11

Fahnestock, M, Garzon, D. Holsinger, R. M. Michalski. B. Neurotrophic factors and Alzheimer's disease: are we focusing on the wrong molecule? *J. Neural Transm*. 2002;(Suppl.): (62), 241-252.

Farina N, Rusted J, Tabet N. The effect of exercise interventions on cognitive outcome in Alzheimer's disease: a systematic review. *Int psychogeriatr*. 2014;26 (1):9-18.

Feigenbaum MS, Pollock ML: Prescription of resistance training for health and disease. *Med Sci Sports Exer.* 1999;31(1):38-45.

Yua F, Xua B, Son C, Ji L, Zhang X. Treadmill exercise slows cognitive deficits in aging rats by antioxidation and inhibition of amyloid production. *Neuro Report.* 2013; 24:342–347.

Fernandez-Vizarra P, Fernandez AP, Castro-Blanco S, Serrano J, Bentura ML, Martinez-Murillo R, Martinez A, Rodrigo J. Intra- and extracellular A β and PHF in clinically evaluated cases of Alzheimer's disease. *Histol Histopathol.* 2004; 19:823–844.

Ferreira, A. ve A. Caceres. Estrogen-enhanced neurite growth: evidence for a selective induction of Tau and stable microtubules. *J. Neurosci.* 1991;11:392-400.

Frank-Cannon TC, Alto LT, McAlpine FE, Tansey MG. Does neuroinflammation fan the flame in neuro degenerative diseases? *Mol. Neurodegener.* 2009;4:47.

G. Mittal, H. Carswell, R. Brett, S. Currie, M.N.V. Ravi Kumar. Development and evaluation of polymer nanoparticles for oral delivery of estradiol to rat brain in a model of Alzheimer's pathology. *Journal of Controlled Release.* 2011; Volume 150, Issue 2, 10, Pages 220–228.

G. Öztürk, Karan MA. Alzheimer Hastalığının Fizyopatolojisi. *Klinik gelişim.* 2009; 22:32-46

Games D, Adams D, Alessandrini R ve ark. Alzheimer type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F β -amyloid precursor protein. *Nature.* 1995; 373:523-527.

Gandy S. Estrogen and neurodegeneration. *Neurochem.* 2003; Res. 28,1003–1008.

Gao S, Hendrie HC, Hall KS, Hui S. The relationships between age, sex, and the incidence of dementia and Alzheimer disease: a meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry*. 1998;55:809–815.

Garuffi M, Costa JL, Hernández SS, Vital TM, Stein AM, Dos Santos JG, Stella F. Effects of resistance training on the performance of activities of daily living in patients with Alzheimer's disease. *Geriatr Gerontol Int*. 2013;13(2):322-8.

Garza AA, Ha TG, Garcia C, Chen MJ, Russo-Neustadt AA. Exercise, antidepressant treatment, and BDNF mRNA expression in the aging brain. *Pharmacol Biochem Behav*. 2004;77(2):209-20.

Garzon, Yu, G.; Fahnstock, M. A new brain-derived neurotrophic factor transcript and decrease in brain-derived neurotrophic factor transcripts 1, 2 and 3 in Alzheimer's disease parietal cortex. *J. Neurochem*. 2002;82(5), 1058-1064.

Patki G, Allam FH, Atrooz F, Dao AT, Solanki N, Chugh G, Asghar M, Jafri F, Bohat R, Alkadhi K, Salim S. Grape Powder Intake Prevents Ovariectomy-Induced Anxiety-Like Behavior, Memory Impairment and High Blood Pressure in Female Wistar Rats. *PLoS One*. 2013;8(9): e74522.

Ghosh A, Carnahan J, Greenberg, M. E. Requirement for BDNF in activity-dependent survival of cortical neurons. *Science*, 1994;263(5153), 1618-1623.

Gibbs, R.B. Impairment of basal forebrain cholinergic neurons associated with aging and long-term loss of ovarian function. *Experimental Neurology*. 1998;151 (2), 289–302.

Glenner, G.G, and Wong, C.W. Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1984;122, 1131–1135.

Goate A, Hardy J. Twenty years of Alzheimer's disease-causing mutations. *J Neurochem.* 2012;120(Suppl 1):3–8.

Gomes RJ, de Oliveira CA, Ribeiro C, Mota CS, Moura LP, Tognoli LM, Leme JA, Luciano E, de Mello MA. Effects of exercise training on hippocampus concentrations of insulin and IGF-1 in diabetic rats. *Hippocampus.* 2009;19(10):981-7.

Gong Y, Liu L, Xie B, Liao Y. Ameliorative effects of lotus seedpod proanthocyanidins on cognitive deficits and oxidative damage in senescence-accelerated mice. *Behavioural Brain Research.* 2008;194, 100–107.

Gopal Thinakaran, Edward H. Koo. Amyloid Precursor Protein Trafficking, Processing and Function *The journal of biological chemistry.* 2008;vol. 283, No. 44, pp. 29615–29619.

Goto S, Naito H, Kaneko T, Chung HY, Radak Z. Hormetic effects of regular exercise in aging: correlation with oxidative stress. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007; 32: 948-953.

Gould E, Woolley CS, Frankfurt M, McEwen BS. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. *J Neurosci.* 1990;10: 1286–1291

Gönül AS, Akdeniz F. Depresyon, nöroplastisite, nörogenesis ve nörotrofik faktörler. *Klinik Psikiyatri.* 2002;4:51–56.

Grace L, Heschem S, Kellaway LA, Bugarith K, Russell VA. Effect of exercise on learning and memory in a rat model of developmental stress. *Metab Brain Dis.* 2009;24(4):643-57.

Grimm MO, Zimmer VC, Lehmann J, Grimm HS, Hartmann T. The impact of cholesterol, DHA, and sphingolipids on Alzheimer's disease. *Biomed Res Int.* 2014; 2013;2013:814390.

Grünblatt E1, Koutsilieri E, Hoyer S, Riederer P. Gene expression alterations in brain areas of intracerebroventricular streptozotocin treated rat. *J Alzheimers Dis.* 2006;9(3):261-71.

Gu, Y, Nieves, J. and Stern, Y. Food combination and Alzheimer disease risk: a protective diet. *Archives of Neurology.* 2010;67, 699–706.

Gülden Burçak, Gülnur Andican, Oksidatif DNA Hasarı ve Yaşlanma. *Cerrahpaşa J Med.* 2004;35: 159-169.

Gürvit H, Emre M, Tinaz S. The prevalence of dementia in an urban Turkish population. *Am J Alzheimers Dis Other Demen.* 2008;23(1): 67-76.

Gürvit H. Sinir Sisteminin Dejeneratif Hastalıkları. Demans Sendromu, Alzheimer Hastalığı ve Alzheimer dışı demanslar. *Nöroloji.* İstanbul: Nobel Matbaacılık; 2004; 367-415.

Haass C, Selkoe DJ. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid β -peptide. *Nature reviews.* 2007;8:101-12.

Haklar U, Yüksel M, Velioglu A, Türkmen M, Haklar G, Yalçın AS: Oxygen radicals and nitric oxide in chondral and meniscal lesions or both. *Clin Orthop Relat Res.* 2002;403:135-142.

Hao L, Huang H, Gao J, Marshall C, Chen Y, Xiao M *Neurosci Lett.* 2014 Jun 13;571: 45-9. The influence of gender, age and treatment time on brain oxidative stress and memory impairment induced by D-galactose in mice. *Neurosci Lett.* 2014; 571:45-9.

Hardas SS, Sultana R, Clark AM, Beckett TL, Szweda LI, Murphy MP, Oxidative modification of lipoic acid by HNE in Alzheimer disease brain. *Redox Biol.* 2013;1:80–85.

Hardy. Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *J. Trends Neurosci.* 1997;20(4):154-9.

Harkany T, O'Mahony S, Kelly JP, Soós K, Törő I, Penke B, β -Amyloid (Phe (SO₃H)₂₄) 25–35 in rat nucleus basalis induces behavioral dysfunctions, impairs learning and memory and disrupts cortical cholinergic innervation. *Behav Brain Res.* 1998;90: 133–145.

Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, Macera CA, Heath GW, Thompson PD, Bauman A. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39:1423–1434.

Hefti F. Development of effective therapy for Alzheimer's disease based on neurotrophic factors. *Neurobiol Aging* 1994;15(Suppl. 2):S193–4.

Heinecke J. W. Mechanisms of oxidative damage by myeloperoxidase in atherosclerosis and other inflammatory disorders. *J. Lab. Clin. Med.* 1999;133, 321–325.

Hellweg R, Nitsch R, Hock C, Jaksch M, Hoyer S. Nerve growth factor and choline acetyltransferase activity levels in the rat brain following experimental impairment of cerebral glucose and energy metabolism. *J Neurosci Res.* 1992;31(3):479-86.

Heppner FL, Ransohoff RM, Becher B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci.* 2015;16(6):358-72.

Heyn P, Abreu BC, Ottenbacher KJ. The effects of exercise training on elderly persons with cognitive impairment and dementia: a meta-analysis. *Arch Phys Med Rehabil.* 2004;85(10):1694-704.

Hiura M, Nariai T, Ishii K,. Changes in cerebral blood flow during steady-state cycling exercise: a study using oxygen-15-labeled water with PET. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014;34: 389-396.

Ho, S.C., Liu, J.H.,Wu, R.Y. Establishment of the mimetic aging effect in mice caused by D-galactose. *Biogerontology.*2003;4 (1), 15–18.

Hodges H.Maze procedures: the radial-arm and water maze compared. *Brain Res. Cogn. Brain.* 1996;3(3-4), 167-81.

Holtzman DM, Morris JC, Goate AM. Alzheimer's disease: the challenge of the second century. *Sci Transl Med.* 2011;3(77):77sr1.

Hoyer S, Lannert H. Long-term abnormalities in brain glucose/energy metabolism after inhibition of the neuronal insulin receptor: implication of tau-protein. *J. Neural Transm Suppl.* 2007;(72):195-202.

Ilie-Cosmin Stancu, Bruno Vasconcelos, Dick Terwel, Ilse Dewachter. Models of β -amyloid induced Tau-pathology: the long and “folded” road to understand the mechanism. *Molecular Neurodegeneration.* 2014;9: 51.

Ilkay Aksu, Ayca Topcu, Ulas Mehmet Camsari, Osman Acikgoz. Effect of acute and chronic exercise on oxidant–antioxidant equilibrium in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. *Neuroscience Letters.* 2009;Volume 452, Issue 3, Pages 281–285.

Inelia Morales, Leonardo Guzmán-Martínez, Cristóbal Cerda-Troncoso, Gonzalo A. Farías. Ricardo B. Maccioni. Neuroinflammation in the pathogenesis of Alzheimer’s

disease. A rational framework for the search of novel therapeutic approaches Front Cell Neurosci. 2014;8:112.

Iulita MF, Cuello AC. The NGF Metabolic Pathway in the CNS and its Dysregulation in Down Syndrome and Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res.* 2016;13(1):53-67.

Iulita MF, Cuello AC. Nerve growth factor metabolic dysfunction in Alzheimer's disease and Down syndrome. *Trends Pharmacol Sci.* 2014;35(7):338-48.

Iwata N, Tsubuki S, Takaki Y, Shirotani K, Lu B, Gerard NP, Gerard C, Hama E, Lee HJ, Saido TC. Metabolic regulation of brain A-beta by neprilysin. *Science.* 2001; 292:1550-1552.

Liu J, Helen C. Yeo, Eva Övervik-Douki, Tory Hagen, Stephanie J. Doniger, Daniel W. Chu, George A. Brooks, Bruce N. Ames. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *Journal of Applied Physiology.* 2000;Vol. 89 no. 1, 21-28.

Jinhee Woo, Ki Ok Shin, So Young Park, Ki Soeng Jang, Sunghwun Kang. Effects of exercise and diet change on cognition function and synaptic plasticity in high fat diet induced obese rats. *Lipids Health Dis.* 2013;12: 144.

Johansson P, Åberg D, Johansson JO, Mattsson N, Hansson O, Ahrén B, Isgaard J, Åberg ND, Blennow K, Zetterberg H, Wallin A, Svensson J. Serum but not cerebrospinal fluid levels of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-3 (IGFBP-3) are increased in Alzheimer's disease. *Psychoneuroendocrinology.* 2013;38(9):1729-37.

Johnstone VP1, Raymond CR. Postsynaptic protein synthesis is required for presynaptic enhancement in persistent forms of long-term potentiation. *Front Synaptic Neurosci.* 2013;5:1.

Da Cruz JN, de Lima DD, Magro DDD, da Cruz JGP. Anxiolytic effects of swimming exercise and ethanol in two behavioral models: beneficial effects and increased sensitivity in mice. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.* 2012;33(1):115-12.

K, Nagano T, Hayakawa H, Hirata Y, Hirobe M. Real time measurement of nitric oxide produced ex vivo by luminol-H₂O₂ chemiluminescence method. *J Biol Chem.* 1993;268(31):23106-10.

Kandel ER, Kupfermann I, Iverson S. "Learning and Memory" Principles of neural science. Ed. Kandel E, Schwartz JH, Jessell TM. Chp. 62 pp 1227-1245. 4th international edition. McGraw-Hill, 2000.

Kantar D. Deneysel Alzheimer Modelinde Oluşan Komplikasyonlara Rosmarinik Asidin Etkisi. Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 2009, Antalya (Danışman: P.Yargıçoğlu).

Katzman R, Saitoh T. Advances in Alzheimer's disease. *FASEB J.* 1991;5: 278-86.

Kawas CH: Epidemiology of Alzheimer's Disease. in. *Dementia Update.* American Academy of Neurology 49th Annual Meeting, April 12-19, 1997; Boston, MA:1997, American Academy of Neurology Press, USA, 1997;23-38.

Kaynak Selekler, Alois Alzheimer ve Alzheimer Hastalığı. *Geriatrici* 13.2010, Özel Sayı 3 / 9-14.

Khachaturian Z. Diagnosis of Alzheimer disease. *Arch Nerol.* 1985;42: 1097-1195.

Kikuchi K, Nagano T, Hayakawa H, Hirata Y, Hirobe M.: Detection of nitric oxide production from a perfused organ by a luminol-H₂O₂ system. *Anal Chem.* 1993;65(13):1794-9.

Kim BK, Shin MS, Kim CJ, Baek SB, Ko YC, Kim YP. Treadmill exercise improves short-term memory by enhancing neurogenesis in amyloid beta-induced Alzheimer disease rats. *J Exerc Rehabil.* 2014;10(1):2-8.

Kim TW, Kim CS, Kim JY, Kim CJ, Seo JH. Combined exercise ameliorates ovariectomy-induced cognitive impairment by enhancing cell proliferation and suppressing apoptosis. *Menopause.* 2016;23(1):18-26.

Kon M, Ikeda T, Homma T, Suzuki Y. Effects of low-intensity resistance exercise under acute systemic hypoxia on hormonal responses. *J Strength Cond Res.* 2012;26(3):611-7.

Kontush A, Berndt C, Weber W, Akopyan V, Arlt S, Schippling S, Beisiegel U. Amyloid- is an antioxidant for lipoproteins in cerebrospinal fluid and plasma. *Free Radic Biol Med.* 2001;30: 119–128.

Kounnas MZ, Danks AM, Cheng S, Tyree C, Ackerman E, Zhang X, Ahn K, Nguyen P, Comer D, Mao L, Yu C, Pleyner D, Digregorio PJ, Velicelebi G, Stauderman KA, Comer WT, Mobley WC, Li YM, Sisodia SS, Tanzi RE, Wagner SL. Modulation of [gamma]-secretase reduces [beta]-amyloid deposition in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neuron.* 2010; 67, 769–780.

Kudin AP, Malinska D, Kunz WS. Sites of generation of reactive oxygen species in homogenates of brain tissue determined with the use of respiratory substrates and inhibitors. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1777: 689-695.

L.J. Fulk, H.S. Stock, A. Lynn, J. Marshall, M.A. Wilson, G.A. Hand. Chronic physical exercise reduces anxiety-like behavior in rats. *Int J Sports Med.* 2004;25, pp. 78–82.

Backman L, Samal B, Fratiglioni L. Stability of the preclinical episodic memory deficit in Alzheimer's Disease. *Brain.* 2001;124,96-102.

Larson EB, Wang L, Bowen JD, McCormick WC, Teri L, Crane P, Kukull W. Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older. *Annals of Internal Medicine*. 2006;144, 73–81.

Lee FS, Kim AH, Khursigara G, Chao MV. The uniqueness of being a neurotrophin receptor. *Curr Opin Neurobiol*. 2001;11(3):281-6.

Lee GS, Jeong YW, Kim JJ, Park SW, Ko KH, Kang M, Kim YK, Jung EM, Moon C, Hyun SH, Hwang KC, Kim NH, Shin T, Jeung EB, Hwang WS. A canine model of Alzheimer's disease generated by overexpressing a mutated human amyloid precursor protein. *Int J Mol Med*. 2014;33(4):1003-12.

Lee Y, Kim YH, Park SJ, Huh JW, Kim SH, Kim SU, Kim JS, Jeong KJ, Lee KM, Hong Y, Lee SR, Chang KT. Insulin/IGF signaling-related gene expression in the brain of a sporadic Alzheimer's disease monkey model induced by intracerebroventricular injection of streptozotocin. *J Alzheimers Dis*. 2014;38(2):251-67.

Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M, Ji LL. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *Am J Physiol*. 1997;272: R363-R369.

Liu L, Lu Y, Kong H, Li L, Marshall C, Xiao M, Ding J, Gao J, Hu G. Aquaporin-4 deficiency exacerbates brain oxidative damage and memory deficits induced by long-term ovarian hormone deprivation and D-galactose injection. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2012;Volume 15, Issue 1. 55 – 68.

Leite HR, Mourão FA, Drumond LE, Ferreira-Vieira TH, Bernardes D, Silva JF, Lemos VS, Moraes MF, Pereira GS, Carvalho-Tavares J, Massensini AR. Swim training attenuates oxidative damage and promotes neuroprotection in cerebral

cortical slices submitted to oxygen glucose deprivation. *J Neurochem.* 2012;123(2):317-24.

Leon WC, Canneva F, Partridge V, Allard S, Ferretti MT, DeWilde A, Vercauteren F, Atifeh R, Ducatzenzeiler A, Klein W, Szyf M, Alhonen L, Cuellar AC. A novel transgenic rat model with a full Alzheimer's-like amyloid pathology displays pre-plaque intracellular amyloid-beta-associated cognitive impairment. *J Alzheimers Dis.* 2010;20(1):113-26.

Levin ED, Rose JE, McGurk SR, Butcher LL. Characterization of the cognitive effects of combined muscarinic and nicotinic blockade. *Behav Neural Biol.* 1990;53:103–112.

Lichtenwalner RJ, Forbes ME, Bennett SA, Lynch CD, Sonntag WE, Riddle DR. Intracerebroventricular infusion of insulin-like growth factor-I ameliorates the age-related decline in hippocampal neurogenesis. *Neuroscience.* 2001;107:603–613.

Lindholm D, Castrén E, Berzaghi M, Blöchl A, Thoenen H. Activity-dependent and hormonal regulation of neurotrophin mRNA levels in the brain—implications for neuronal plasticity. *J Neurobiol.* 1994;25:1362–1372.

Liu MY, Wang S, Yao WF, Zhang ZJ, Zhong X, Sha L, He M, Zheng ZH, Wei MJ. Memantine improves spatial learning and memory impairments by regulating NGF signaling in APP/PS1 transgenic mice. *Neuroscience.* 2014;273:141-51.

Liu W, Xu Y, Lu J, Zhang Y, Sheng H, Ni X. Swimming exercise ameliorates depression-like behaviors induced by prenatal exposure to glucocorticoids in rats. *Neurosci Lett.* 2012;524(2):119-23.

Lourenço CF, Ledo A, Dias C, Barbosa RM. Neurovascular and neurometabolic derailment in aging and Alzheimer's disease. *J Front Aging Neurosci.* 2015;7:103.

Lovell, M.A., Ehmann, W.D., Butler, S.M., Markesbery, W.R., Elevated thiobarbituric acid-reactive substances and antioxidant enzyme activity in the brain in Alzheimer's disease. *Neurology*. 1995;45 (8), 1594–1601.

Luft R. The development of mitochondrial medicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3731-3738.

Iulita MF, Allard S, Richter L, Munter LM, Ducatenzeiler A, Weise C, Carmo SD, Klein WL, Multhaup G, Cuello AC. Intracellular A β pathology and early cognitive impairments in a transgenic rat overexpressing human amyloid precursor protein: a multidimensional study. *Acta Neuropathologica Communications* 2014, 2:61.

M.M. Sousa, S.D. Yan, R. Fernandes, A. Guimaraes, D. Stern, M.J. Saraiva. Familial amyloid polyneuropathy: receptor for advanced glycation end products-dependent triggering of neuronal inflammatory and apoptotic pathways. *J. Neurosci.* 2001;21, pp. 7576–7586.

M.-Marsel Mesulam. A Plasticity-Based Theory of the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000;924(1):42 – 52.

Maccioni RB, Muñoz JP, Barbeito L. The molecular bases of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Arch Med Res*. 2001;32(5):367-81.

Macedo UB, Martins RR, Freire Neto FP, Oliveira YM, Medeiros Ada C, Brandão-Neto J, Rezende AA, Almeida Md. Oophorectomy hinders antioxidant adaptation promoted by swimming in Wistar rats. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2013;38(2):148-53.

Machado A, Herrera AJ, de Pablos RM, Espinosa-Oliva AM, Sarmiento M, Ayala A, Venero JL, Santiago M, Villarán RF, Delgado-Cortés MJ, Argüelles S, Cano. Chronic stress as a risk factor for Alzheimer's disease. *J.Rev Neurosci*. 2014;25(6):785-804.

Malinska D, Kudin AP, Debska-Vielhaber G, Vielhaber S, Kunz WS. Quantification of superoxide production by mouse brain and skeletal muscle mitochondria. *Methods Enzymol.* 2009;456: 419-437.

Malinski T. Nitric oxide and nitroxidative stress in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2007;11(2):207-18.

Marco EM, Lorente R, Perez-Alvarez L, Moreno E, Guaza C, Viveros MP. The kappaopioid receptor is involved in the stimulating effect of nicotine on adrenocortical activity but not in nicotine induced anxiety. *Behav Brain Res* 2005;163:212–8.

Tikhonovaa MA, Yuc CH, Kolosovaa NG, Gerlinskayaa LA, Maslennikovaa SO, Yudinad AV, Amstislavskayaa TG, Hob YJ, Comparison of behavioral and biochemical deficits in rats with hereditary defined or d-galactose-induced accelerated senescence: Evaluating the protective effects of diosgenin. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 2014;Volume 120, Pages 7–16.

Valls MRB, Dimauro I, Brunelli A, Tranchita E, Ciminelli E, Caserotti P, Duranti P, Sabatini S, Parisi P, Parisi A, Capoross D. Explosive type of moderate-resistance training induces functional, cardiovascular, and molecular adaptations in the elderly. *Age (Dordr).* 2014;36(2): 759–772.

Markesbery WR, Kryscio RJ, Lovell MA, Morrow JD. Lipid peroxidation is an early event in the brain in amnesic mild cognitive impairment. *Ann Neurol.* 2005;58(5):730-5.

Markowska, A.L, Mooney M, Sonntag WE. Insulin-like growth factor-1 ameliorates age-related behavioral deficits. *Neuroscience* 1998;87,559–569.

Mary Sano. Dementia Update. American Academy of Neurology 49th Annual Meeting, April 12-19, 1997 Boston, MA: 1997, American Academy of Neurology Press, USA, 1997:240:107-115, 53.

Masumura M, Hata R, Nishimura I, Uetsuki T, Sawada T, Yoshikawa K. Caspase-3 activation and inflammatory responses in rat hippocampus inoculated with a recombinant adenovirus expressing the Alzheimer amyloid precursor protein. *Brain Res Mol Brain Res*. 2000;80(2):219-27.

McGeer PL, McGeer EG. NSAIDs and Alzheimer disease: Epidemiological, animal model and clinical studies. *Neurobiol Aging*. 2007;28(5):639-47.

Mendez MF, Underwood KL, Zander BA, Mastri AR, Sung JH, Frey WH. *Neurology*. 1992;42(4):770-5. Risk factors in Alzheimer's disease: a clinicopathologic study.

Meydani, M. Antioxidants and cognitive function. *ILSI. Nutrition Reviews*. 2001;59(8); S75-S82.

Adams MM, Forbes ME, Linville MC, Riddle DR, Sonntag WE, Brunso-Bechtold JK. Stability of local brain levels of insulin-like growth factor-I in two well-characterized models of decreased plasma IGF-I. *Growth Factors*. 2009;27(3): 181–188.

Chen MJ, Ivy AS, Russo-Neustadt AA. Nitric oxide synthesis is required for exercise-induced increases in hippocampal BDNF and phosphatidylinositol 3' kinase expression. *Brain Research Bulletin*. 2006;68, Issue 4, 15. Pages 257–268.

Miquel J, Economos C, Fleming J, Johnson JE. Mitochondrial role in cell ageing. *Exp Gerontol* 1980;15: 575-591.

Mishra, M.K., Koli, P., Bhowmick, S., Basu, A., Neuroprotection conferred by astrocytes is insufficient to protect animals from succumbing to Japanese encephalitis. *Neurochem. Int*. 2007;50, 764–773.

Mittal G, Carswell H, Brett R, Currie S, Kumar MN. Development and evaluation of polymer nanoparticles for oral delivery of estradiol to rat brain in a model of Alzheimer's pathology. *J Control Release*. 2011;150(2):220-8.

Moh C, Kubiak JZ, Bajic VP, Zhu X, Smith MA, Lee HG. Cell cycle deregulation in the neurons of Alzheimer's disease. *Results Probl Cell Differ*. 2011;53:565–576.

Moodly KK, Chan D. The hippocampus in neurodegenerative disease. *Front Neurol Neurosci*. 2014;34:95–108.

Moore KM, Girens RE1, Larson SK, Jones MR, Restivo JL, Holtzman DM, Cirrito JR, Yuede CM, Zimmerman SD, Timson BF. A spectrum of exercise training reduces soluble A β in a dose-dependent manner in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*. 2015;85:218-224.

Morley JE, Farr SA, Kumar VB, Armbrecht HJ. The SAMP8 mouse: a model to develop therapeutic interventions for Alzheimer's disease. *Curr Pharm Des*. 2012;18(8):1123–30.

Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, Bennett DA, Aggarwal N, Schneider J, Wilson RS. Dietary fats and the risk of incident Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2003; 60: 194-200.

Mowla SJ, Farhadi HF, Pareek S, Atwal JK, Morris SJ, Seidah NG, Murphy RA. Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *Biol Chem*. 2001 Apr 20;276(16):12660-6.

Mufson EJ, Ikonomic MD, Styren SD, Counts SE, Wu J, Leurgans S, Bennett DA, Cochran EJ, DeKosky ST. Preservation of brain nerve growth factor in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2003;60:1143–8.

Mufson EJ, Kroin JS, Sendeera TJ, Sobreviela T. Distribution and retrograde transport of trophic factors in the CNS: functional implications for the treatment of neurodegenerative diseases. *Prog Neurobiol.* 1999;57: 451–84.

Mumby DG, Pinel JP. Rhinal cortex lesions and object recognition in rats. *BehavNeurosci.* 1994;108(1):11–8.

Murase K, Nabeshima T, Robitaille Y, Quirion R, Ogawa M, Hayashi K. NGF level of is not decreased in the serum, brain-spinal fluid, hippocampus, or parietal cortex of individuals with Alzheimer's disease. *Biochemical and biophysical research communications.* 1993;193:198–203.

Yalabık MŞ, Şehirli Ö, Utkan T, Arıcıoğlu F. Effects of agmatine in streptozotocine induced experimental alzheimer model. *MÜSBED* 2013;3(3):145-153.

N H Woo, B Lu, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA BDNF in Synaptic Plasticity and Memory. Published by Elsevier Ltd. 2009;pp: 135-143.

N.G. Seidah, M. Chrétien. Proprotein and prohormone convertases: a family of subtilases generating diverse bioactive polypeptides. *Brain Res*, 848 (1999), pp. 45–62.

Nakamura S, Murayama N, Noshita T, Annoura H, Ohno T. Progressive brain dysfunction following intracerebroventricular infusion of β 1–42-amyloid peptide. *Brain Res.* 2001;912:128–136.

Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res* 1996;726(1–2):49–56.

Nieto-Bona MP, Garcia-Segura LM, Torres-Alemán I. Transynaptic modulation by insulin-like growth factor I of dendritic spines in Purkinje cells. *Int J Dev Neurosci.* 1997;15(6):749-54.

Nihonmatsu-Kikuchi N, Hayashi Y, Yu XJ, Tatebayashi Depression and Alzheimer's disease: novel postmortem brain studies reveal a possible common mechanism. *YJ Alzheimers Dis.* 2013;37(3):611-21.

Nistico, G., Ciriolo, M.R., Fiskin, K., Iannone, M., De, M.A., Rotilio, G., NGFrestores decrease in catalase activity and increases superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in the brain of aged rats. *Free Radic. Biol. Med.* 1992;12: 1771–1781.

Nord LC, Sundqvist J, Andersson E, Fried G .Analysis of oestrogen regulation of alpha-, beta- and gamma-secretase gene and protein expression in cultured human neuronal and glial cells. *Neurodegener Dis.*2010;7:349–364.

Nunomura A, Perry G, Aliev G, Hirai K, Takeda A, Balraj EK, Jones PK, Ghanbari H, Wataya T, Shimohama S, Chiba S, Atwood CS, Petersen RB, Smith MA.Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001;60(8):759-67.

Octave JN, Pierrot N. Alzheimer's disease: cellular and molecular aspects. *Bull Acad Natl Med.* 2008;192(2):323-31.

Oliff HS, Berchtold NC, Isackson P, Cotman CW. Exercise-induced regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) transcripts in the rat hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res.* 1998;61(1-2):147-53.

P. Pacher, J.S. Beckman, L. Liaudet. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol. Rev.* 2007;87: pp. 315–424.

Ozkaya YG, Agar A, Yargıçoglu P, Hacıoglu G, Bilmen-Sarıkoğlu S, Ozen I, Alicigüzel Y. The effect of exercise on brain antioxidant status of diabetic rats. *Diabetes Metab.* 2002;28(5):377-84.

P.R. Burghardt, L.J. Fulk, G.A. Hand, M.A. Wilson. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. *Brain Res.* 2004;1019: pp. 84–96.

Parle M, Vasudevan M, Singh N. Swim everyday to keep dementia away. *J Sports Sci Med.* 2005;4(1):37-46. eCollection 2005.

Patki G, Ali Q, Pokkunuri I, Asghar M, Salim S. Grape powder treatment prevents anxiety-like behavior in a rat model of aging. *Nutr Res.* 2015 Jun;35(6):504-11.

Pattie S. Green, Armando J. Mendez, Jason S. Jacob, Jan R. Crowley, Whit Growdon. Neuronal expression of myeloperoxidase is increased in Alzheimer's disease. Bradley T. Hyman and Jay W. Heinecke. *Journal of Neurochemistry.* 2004; 90, 724–733.

Patki G, Solanki N, Atrooz F, Ansari A, Allam F, Jannise B, Maturi J, Salim S. Novel mechanistic insights into treadmill exercise based rescue of social defeat-induced anxiety-like behavior and memory impairment in rats. *Physiol Behav.* 2014;130:135-44.

Axelsen PH, Komatsu Hand Murray IVJ. Oxidative Stress and Cell Membranes in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *PHYSIOLOGY.* 2011; 26: 54–69,.

Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1999;66:137–147.

Jiang P, Dang RL, De Li H, Zhang LH, Zhu WY, Xue Y, and Tang MM. The Impacts of Swimming Exercise on Hippocampal Expression of Neurotrophic Factors in Rats Exposed to Chronic Unpredictable Mild Stress. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2014; 729827.

Perry G, Nunomura A, Cash AD, Taddeo MA, Hirai K, Aliev G, Avila J, Wataya T, Shimohama S, Atwood CS, Smith MA. Reactive oxygen: its sources and significance in Alzheimer disease. *J Neural Transm Suppl.* 2002;(62):69-75.

Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem.* 2015;30(1):11-26.

Foster P, Rosenblatt KP, and Kuljiš RO. Exercise-Induced Cognitive Plasticity, Implications for Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease *Front Neurol.* 2011;2: 28.

Denis PA. Alzheimer's disease: A gas model. The NADPH oxidase–Nitric Oxidesystem as an antibubble biomachinery. *Medical Hypotheses* 81 (2013) 976–987.

Pike CJ. Estrogen modulates neuronal Bcl-xL expression and beta-amyloid-induced apoptosis: relevance to Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 1999;72(4):1552-63.

Pratico D, Delanty N. Oxidative injury in diseases of the central nervous system: focus on Alzheimer's disease. *Am J Med.* 2000;109: 577–585,

Praticò D. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. *Trends Pharmacol Sci.* 2008;29(12):609-15.

Prestes J1, de Cássia Marqueti R, Shiguemoto GE, Leite RD, Pereira GB, Selistre-de-Araújo HS, Baldissera V, de Andrade Perez SE. Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2009;34: 700-706.

Probst, Langui D, Ipsen S, Robakis N, Ulrich J. Deposition of β /A4 protein along neuronal plasma membranes in diffuse senile plaques. *Acta Neuropathol.* 1991;83: 21-29

Ding Q, Vaynman S, Akhavan M, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Insulin-like growth factor I interfaces with Brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic Plasticity to modulate aspects of exercise-induced Cognitive function. *Neuroscience*. 2006;140. 823–833.

R. Dringen, J. Hirrlinger. Glutathione pathways in the brain. *Biol. Chem.* 2003;384. pp. 505–516.

R. Dringen. Metabolism and functions of glutathione in brain. *Prog. Neurobiol.* 62 2000;pp. 649–67.

R.C. Cassilhas, K.S. Lee, D.P. Venâncio, M.G.M. Oliveira, S. Tufik and M.T. de Mello. Resistance exercise improves hippocampus-dependent memory. *Braz J Med Biol Res.* 2012;Volume 45(12) 1215-1220.

Dishman RK1, Dunn AL, Youngstedt SD, Davis JM, Burgess ML, Wilson SP, Wilson MA. Increased open field locomotion and decreased striatal GABAA binding after activity wheel running. *Physiol Behav*, 60 .1996;, pp. 699–705.

Radahmadi M, Alaei H, Sharifi MR, Hosseini N. Effect of forced exercise and exercise withdrawal on memory, serum and hippocampal corticosterone levels in rats. *Exp Brain Res.* 2015;233(10):2789-99.

Raghavendra M, Maiti R, Kumar S, Acharya S. Role of aqueous extract of *Azadirachta indica* leaves in an experimental model of Alzheimer's disease in rats. *Int J Appl Basic Med Res.* 2013;3(1):37-47.

Ramirez-Bermudez J. Alzheimer's disease: critical notes on the history of a medical concept. *Arch Med Res.* 2012;43(8):595–9.

Ravaglia G, Forti P, Lucicesare A, Pisacane N, Rietti E, Bianchin M, Dalmonte E. Physical activity and dementia risk in the elderly. *Neurology*, 70 (19 Part 2). 2008; 1786–1794.

Reinhardt RR, Bondy CA. Insulin-like growth factors cross the blood-brain barrier. *Endocrinology*. 1994;135(5):1753-61.

Reisuke H. Takahashi, Claudia G. Almeida, Patrick F. Kearney, Fangmin Yu, Michael T. Lin, Teresa A. Milner, and Gunnar K. Gouras. Oligomerization of Alzheimer's β -Amyloid within Processes and Synapses of Cultured Neurons and Brain. *J Neurosci*. 2004;24(14):3592-9.

Stephen J. Rembish, Michael A. Trush. Further evidence that lucigenin-derived chemiluminescence monitors mitochondrial superoxide generation in rat alveolar macrophages. *Free Radical Biology and Medicine*. 1994;17(2):117–126

Reynolds W. F, Rhee J, Maciejewski D, Paladino T, Sieburg H, Maki R. A. and Masliah E. Myeloperoxidase polymorphism is associated with gender specific risk for Alzheimer's disease. *Exp. Neuro*. 1999;155, 31–41.

Contarteze RVL, Machado FDB, Gobatto CA, De Mello MAR. Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 151. 2008;415–422.

O'Brien RJ, Wong PC. Amyloid Precursor Protein Processing and Alzheimer's Disease. *Annu Rev Neurosci*. 2011;34: 185–204.

Wurtman R, Biomarkers in the diagnosis and management of Alzheimer's disease *J. metabol*. 2014;10.034.

Rodrigues L, Dutra MF, Ilha J, Biasibetti R, Quincozes-Santos A, Leite MC, Marcuzzo S, Achaval M, Gonçalves CA. Treadmill training restores spatial cognitive deficits and neurochemical alterations in the hippocampus of rats submitted to an

intracerebroventricular administration of streptozotocin. *J Neural Transm (Vienna)*. 2010;117(11):1295-305.

Tanzi RE, Bertram L. Twenty Years of the Alzheimer's Review Disease Amyloid Hypothesis: A Genetic Perspective. *Cell*. 2005;Vol. 120, 545–555.

Ryan J, Scali J, Carriere I, Ritchie K, Ancelin ML. Hormonal treatment, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Int Psychogeriatr*. 2008; 20:47–56.

S. Karakaş. *Kognitif Nörobilimler 2010 Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.Şti*. ISBN:197-975-420-760-6

S. M. Somanı, R. Ravi, L.P. Rybak. Effect of Exercise Training on Antioxidant System in Brain Regions of Rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1995;Vol. 50, No. 4, pp. 635-639.

Sakr HF, Abbas AM, El Samanoudy AZ. Effect of vitamin E on cerebral cortical oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor gene expression induced by hypoxia and exercise in rats. *J Physiol Pharmacol*. 2015;66(2):191-202.

Salkovic-Petrisic M, Hoyer S. Central insulin resistance as a trigger for sporadic Alzheimer-like pathology: an experimental approach. *J Neural Transm Suppl*. 2007;(72):217-33.

Salkovic-Petrisic M, Knezovic A, Hoyer S, Riederer P. What have we learned from the streptozotocin-induced animal model of sporadic Alzheimer's disease, about the therapeutic strategies in Alzheimer's research. *J Neural Transm*. 2013;120(1):233-52.

Salkovic-Petrisic M, Osmanovic-Barilar J, Brückner MK, Hoyer S, Arendt T, Riederer P. Cerebral amyloid angiopathy in streptozotocin rat model of sporadic Alzheimer's disease: a long-term follow up study. *J Neural Transm*. 2011;118(5):765-72.

Sanes DH, Thomas AR, Harris WA. "Naturally-occurring neuron death". *Development of the Nervous System*, Third Edition. Boston: Academic Press. pp. 2011;171–208.

Santana-Sosa E, Barriopedro MI, López-Mojares LM, Pérez M, Lucia A. Exercise training is beneficial for Alzheimer's patients. *Int J Sports Med*. 2008;29(10):845-50.

Santin K, da Rocha RF, Cechetti F, Quincozes-Santos A, de Souza DF, Nardin P, Rodrigues L, Leite MC, Moreira JC, Salbego CG, Gonçalves CA. Moderate exercise training and chronic caloric restriction modulate redox status in rat hippocampus. *Brain Res*. 2011;1421:1-10.

Sarasa M, Pesini P. Natural non-transgenic animal models for research in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2009;6(2):171-8.

Sastre J, Pallardo FV, Vina J. The role of mitochondrial oxidative stress in aging. *Free Radic Biol Med*. 2003;35: 1-8.

Saxena G, Patro IK, Nath C. ICV STZ induced impairment in memory and neuronal mitochondrial function: A protective role of nicotinic receptor. *Behav Brain Res*. 2011;10;224(1):50-7.

Sayre LM, Smith MA, Perry G. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr Med Chem*. 2001;8:721–738.

Schellenberg GD. Genetic dissection of Alzheimer disease, a heterogeneous disorder. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1995;92(19):8552-9.

Schimidt HL, Vieira A, Altermann C, Martins A, Sosa P, Santos FW, Mello-Carpes PB, Izquierdo I, Carpes FP. Memory deficits and oxidative stress in cerebral

ischemia-reperfusion: neuroprotective role of physical exercise and green tea supplementation. *Neurobiol Learn Mem.* 2014;114:242-50.

Schulinkamp RJ, Pagano TC, Hung D, Raffa RB.. Insulin receptors and insulin action in the brain: review and clinical implications. *Neurosci. Behav.* 2000;Rev. 24,855–872.

Scopel D, Fochesatto C, Cimarosti H, Rabbo M, Belló-Klein A, Salbego C, Netto CA, Siqueira IR. Exercise intensity influences cell injury in rat hippocampal slices exposed to oxygen and glucose deprivation. *Brain Res Bull.* 2006;71: 155-159.

Selkoe DJ. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science.* 2002;298:789–791.

Kurul S, Gülmez Ö. Nöroproteksiyon Ve Nöron Koruyucu Ajanlar. *Deü Tıp Fakültesi Dergisi Cilt 21, Sayı 2.* 2007;s 119 – 130.

Cem S, Leyla M. Alzheimer Hastalığı Histopatolojisi. *Demans Dergisi.* 2001;1: 42-49.

Shelley J. Allen, Judy J. Watson and David Dawbarn. The Neurotrophins and Their Role in Alzheimer's Disease. *Current Neuropharmacology.* 2011; 9, 559-573.

Shen YX, Xu SY, Wei W, Sun XX, Yang J, Liu LH, Dong C. Melatonin reduces memory changes and neural oxidative damage in mice treated with D-galactose. *J Pineal Res.* 2002;32(3):173-8.

Sherman KA, Friedman E. Pre- and post-synaptic cholinergic dysfunction in aged rodent brain regions: new findings and an interpretative review. *Int J Dev Neurosci.* 1990;8(6):689-708.

Shichiri M. The role of lipid peroxidation in neurological disorders. *J Clin Biochem Nutr.* 2014;54: 151-160.

Shim Y, Yoon B, Shim DS, Kim W, An JY, Yang DW. Cognitive correlates of cerebral vasoreactivity on transcranial Doppler in older adults. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2015;24(6):1262-9.

Simpkins, J.W., Green, P.S., Gridley, K.E., Singh, M., de Fiebre, N.C., Rajakumar, G. Role of estrogen replacement therapy in memory enhancement and the prevention of neuronal loss associated with Alzheimer's disease. *The American Journal of Medicine.* 1997;103 (3A), 19S–25S.

Singer CA., Rogers KL., Dorsa DM. Modulation of Bcl-2 expression: a potential component of estrogen protection in NT2 neurons. *Neuroreport.* 1998;9: 2565–2568.

Smith GS, Aging and neuroplasticity. *Dialogues Clin Neurosci.* 2013;15(1):3-5.

Smith MA, Casadesus G, Joseph JA, Perry G. Amyloid-beta and tau serve antioxidant functions in the aging and Alzheimer brain. *Free Radic Biol Med* 33: 1194–1199, 2002.

Smith MA, Rottkamp CA, Nunomura A, Raina AK, Perry G. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta (BBA)-molecular basis of disease.* 2000;1502(1):139–44.

Snyder SH. Nitric oxide and neurons. *Curr Opin Neurobiol.* 1992;2(3):323-38.

Sohrabji F, Miranda RC, Toran-Allerand CD. Estrogen differentially regulates estrogen and nerve growth factor receptor mRNAs in adult sensory neurons. *J Neurosci.* 1994;14: 459–471.

Somani SM, Husain K. Interaction of exercise training and chronic ethanol ingestion on antioxidant system of rat brain regions. *J Appl Toxicol.* 1997;17(5):329-36.

Sonntag WE, Lynch CD, Bennett SA, Khan AS, Thornton PL, Cooney PT, Ingram RL, McShane T, Brunso-Bechtold JK. Alterations in insulin-like growth factor-1 gene and protein expression and type 1 insulin-like growth factor receptors in the brains of ageing rats. *Neuroscience*. 1999;88(1):269-79.

Sonntag WE, Lynch CD, Cooney PT, Hutchins. Decreases in cerebral microvasculature with age are associated with the decline in growth hormone and insulin-like growth factor 1. *PM. Endocrinology*. 1997 Aug;138(8):3515-20.

Sonntag WE, Ramsey M, Carter CS. Growth hormone and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and their influence on cognitive aging. *Ageing Res Rev*. 2005; 4(2):195-212.

Souza LC, Filho CB, Goes AT, Fabbro LD, de Gomes MG, Savegnago L, Oliveira MS, Jesse CR. Neuroprotective effect of physical exercise in a mouse model of Alzheimer's disease induced by β -amyloid₁₋₄₀ peptide. *Neurotox Res*. 2013;24(2):148-63.

Srikanth V, Maczurek A, Phan T, Steele M, Westcott B, Juskiw D, Münch G. Advanced glycation endproducts and their receptor RAGE in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2011;32(5):763-77.

Su Y, Sun H, Fang J, Hu G, Xiao M. Brain mitochondrial dysfunction in ovariectomized mice injected with D-galactose. *Neurochem Res*. 2010;(3):399-404.

Sujuan Gao, Hugh C. Hendrie, , ChB; Kathleen S. Hall,; Siu Hui. The Relationships Between Age, Sex, and the Incidence of Dementia and Alzheimer Disease *Arch Gen Psychiatry*. 1998;55:809-815.

Nam SM, Choib JH, Yooa DY, Kima W, Junga HY, Kima JW, Kangc KS, Parkc J, Kimc DW, Kimc WC, Yoona YS, Hwanga IK. Valeriana officinalis extract and its main component, valerenic acid, ameliorate d-galactose-induced reductions in

memory, cell proliferation, and neuroblast differentiation by reducing corticosterone levels and lipid peroxidation. *Experimental Gerontology*. 2013;48, Issue 11, 1369–1377.

Yap T.L, Davis L.S. Physical activity: the science of health promotion through tailored messages *Rehabilitation Nursing*. 2008;33. pp. 55–62.

Takaomi Comings Saido. *Ab Metabolism and Alzheimer's Disease*. 2003;Georgetown Texas: Landes Bioscience. ISBN: 1-58706-230-5.

Terence Y.C. Pang, Anthony J. Hannan. Enhancement of cognitive function in models of brain disease through environmental enrichment and physical activity. *Neuropharmacology*. 2013;64:515-28.

Thierry Paillard, Yves Rolland, and Philippe de Souto Barreto. Protective Effects of Physical Exercise in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease: A Narrative Review. *J Clin Neurol*. 2015;11(3): 212–219.

Thomas SJ, Grossberg GT. Memantine: a review of studies into its safety and efficacy in treating Alzheimer's disease and other dementias. *Clin Interv Aging*. 2009;4:367-77.

Fernandes T; Roque FR; Magalhães FDC; Carmo EC; Edilamar Menezes de Oliveira. Aerobic exercise training corrects capillary rarefaction and alterations in proportions of the muscle fibers types in spontaneously hypertensive rats. *Rev Bras Med Esporte*. 2012; vol.18 no.4

Tikhonova MA, Yu CH, Kolosova NG, Gerlinskaya LA, Maslennikova SO, Yudina AV, Amstislavskaya TG, Ho YJ. Comparison of behavioral and biochemical deficits in rats with hereditary defined or d-galactose-induced accelerated senescence: Evaluating the protective effects of diosgenin. *Pharmacol Biochem Behav*. 2014;120:7-16.

Traykov L, Rigaud AS, Cesaro P, Boller F. Neuropsychological impairment in the early Alzheimer's disease. *Encephale*. 2007;33(3 Pt 1):310-6.

Trejo JL, Carro E, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci*. 2001;21:1628–1634.

Tulving, E. Episodic memory and common sense: how far apart? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. 2001;356, 1505–1515.

Tung BT, Rodriguez-Bies E, Thanh HN, Le-Thi-Thu H, Navas P, Sanchez VM, López-Lluch G. Organ and tissue-dependent effect of resveratrol and exercise on antioxidant defenses of old mice. *Aging Clin Exp Res*. 2015;27(6):775-83.

Turgut G, Demir S, Genç O, Karabulut I, Akalin N. The effect of swimming exercise on lipid peroxidation in the rat brain, liver and heart. *Acta Physiol Pharmacol Bulg*. 2003;27(2-3):43-5.

Tyas SL. Alcohol use and the risk of developing Alzheimer's disease. *Alcohol Res Health*. 2001;25(4): 299–306

Lina TW, Shiha YH, Chenb SJ, Lienb CH, Changb CY, Huange TY, Chena SH, Jena CJ, Kuo YM. Running exercise delays neurodegeneration in amygdala and hippocampus of Alzheimer's disease (APP/PS1) transgenic mice. *Neurobiology of Learning and Memory* Volume 118. 2015;Pages 189–197.

Van Dam D, De Deyn PP. Animal models in the drug discovery pipeline for Alzheimer's disease. *Br J Pharmacol*. 2011;164(4):1285-300.

Van Dam D, Vloeberghs E, Abramowski D, Staufenbiel M, De Deyn PP. APP23 mice as a model of Alzheimer's disease: an example of a transgenic approach to modeling a CNS disorder. *CNS Spectr.* 2005;10(3):207-22.

Vanderkooi JM, Wright WW, Erecinska M. Oxygen gradients in mitochondria examined with delayed luminescence from excited-state triplet probes. *Biochemistry.* 1990;29(22):5332-8.

Varadarajan S, Yatin S, Aksenova M, Butterfield D.A, Review: Alzheimer's amyloid β -peptide-associated free radical oxidative stress and neurotoxicity. *J. Struct. Biol.* 2000;130, 184-208.

Venters HD, Broussard SR, Zhou JH, Bluthé RM, Freund GG, Johnson RW, Dantzer R, Kelley KW. Tumor necrosis factor and insulin-like growth factor-1 in the brain: is the whole greater than the sum of its parts? *J. Neuroimmunol.* 2001;119, 151-165.

Viboolvorakul S, Patumraj S. Exercise training could improve age-related changes in cerebral blood flow and capillary vascularity through the upregulation of VEGF and eNOS. *Biomed Res Int.* 2014;2014:230791.

Calabrese V, Bates TE, Stella AMG. NO Synthase and NO-Dependent Signal Pathways in Brain Aging and Neurodegenerative Disorders: The Role of Oxidant/Antioxidant Balance. *Neurochemical Research.* 2000;Volume 25, Issue 9, pp 1315-1341.

Vlad SC, Miller DR, KowallNW, Felson D.T.Protective effects of NSAIDs on the development of Alzheimer disease. *Neurology.* 2008;70, 1672-1677.

Vural H, Sirin B, Yilmaz N, Eren I, Delibas N. The role of arginine-nitric oxide pathway in patients with Alzheimer disease. *Biol Trace Elem Res.* 2009;129(1-3):58-64.

W. Gibson Wood, Ling li, Walter E. Müller, Gunter P. Eckert. Cholesterol as a causative factor in Alzheimer's Disease: a debatable hypothesis. *Journal of Neurochemistry*. 2014;129:559-572.

Walker LC, Diamond MI, Duff KE, Hyman BT. Mechanisms of protein seeding in neurodegenerative diseases. *JAMA Neurol*. 2013;70:304–310.

Wallace DC. Mitochondrial DNA in aging and disease. *Scientific American*. 1997;8:40-47.

Wallace M, Luine V, Arellanos A, Frankfurt M. Ovariectomized rats show decreased recognition memory and spine density in the hippocampus and prefrontal cortex. *Brain Res*. 2006;1126(1):176-82.

Wang W, Li S, Dong HP, Lv S, Tang YY. Differential impairment of spatial and nonspatial cognition in a mouse model of brain aging. *Life Sci*. 2009;17;85(3-4):127-35.

Wang, H.-X., Karp, A., Winblad, B. and Fratiglioni, L. Late-life engagement in social and leisure activities is associated with a decreased risk of dementia: a longitudinal study from the Kungsholmen Project. *American Journal of Epidemiology*. 2002;155, 1081– 1087.

Wang Q, Zou L, Liu W, Hao W, Tashiro S, Onodera S, Ikejima T. Inhibiting NF- κ B activation and ROS production are involved in the mechanism of silibinin's protection against D-galactose-induced senescence. *Pharmacol Biochem Behav*. 2011 Mar;98(1):140-9.

Wang T, Di G, Yang L, Dun Y, Sun Z, Wan J, Peng B, Liu C, Xiong G, Zhang C1, Yuan D. Saponins from *Panax japonicus* attenuate D-galactose-induced cognitive impairment through its anti-oxidative and anti-apoptotic effects in rats. *J Pharm Pharmacol*. 2015;67(9):1284-96.

Wei H, Li L, Song Q, Ai H, Chu J, Li W. Behavioural study of the D-galactose induced aging model in C57BL/6J mice. *Behav Brain Res.* 2005;157(2):245-51.

Ma W, Yuan L, Huanling Yu, Xi Y, Xiao R. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage in the brain of diet-induced obese rats but not in diet-resistant rats. *Life Sciences.* 2014;110(2), Pages 53–60.

Geldenhuys WJ, Darvesh AS. Pharmacotherapy of Alzheimer's disease: current and future trends. *Expert Rev. Neurother.* 2015;15(1), 3–5.

Wetmore, C, Ernfors, P. Persson, H. Olson L. Localization of brain-derived neurotrophic factor mRNA to neurons in the brain by in situ hybridization. *Exp. Neurol.* 1990;109(2), 141-152.

Whitwell JL, Przybelski SA, Weigand SD, Knopman DS, Boeve BF, Petersen RC, Jack CR Jr. 3D maps from multiple MRI illustrate changing atrophy patterns as subjects progress from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Brain: A J Neurol.* 2007;130(Pt 7):1777–86.

William J. Kraemer and Nicholas A. Ratamess. Hormonal Responses and Adaptation to Resistance Exercise and Training. *Sports Med.* 2005;35 (4): 339-361.

William R. Markesbery, Oxidative Stress Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Free Radical Biology & Medicine.* 1997;Vol. 23, No. 1, pp. 134–147.

Wirhth O, Multhaup G, Czech C, Feldmann N, Blanchard V, Tremp G, Beyreuther K, Pradier L, Bayer TA. Intraneuronal APP/A beta trafficking and plaque formation in beta-amyloid precursor protein and presenilin-1 transgenic mice. *Brain Pathol.* 2002; 12:275–286.

Woolley C, McEwen BS. Estradiol mediates fluctuation in hippocampal synapse density during the estrous cycle in the adult rat. *J. Neurosci.* 1992;12: 2549– 2554,

Woolley, C.S., H.J. Wenzel & P.A. Schwartzkroin. Estradiol increases the frequency of multiple synapse boutons in the hippocampal CA1 region of the adult female rat. *J. Comp. Neurol.* 1996;373: 108–117.

X. Zhang, j. Wang, y. Xing, l. Gong, h. Li, z. Wu, y. Li, j. Wang, y. Wang, l. Dong and s. Li. Effects of Ginsenoside rg1 or 17 β -estradiol on a Cognitively Impaired, Ovariectomized Rat Model of Alzheimer's Disease. *Neuroscience* 220. 2012;191–200.

Xian YF, Lin ZX, Zhao M, Mao QQ, Ip SP, Che CT. *Uncaria rhynchophylla* ameliorates cognitive deficits induced by D-galactose in mice. *Planta Med.* 2011; Dec;77(18):1977-83.

Hua X, Lei M, Ding J, Han Q, Hu G, Xiao M, Pathological and biochemical alterations of astrocytes in ovariectomized rats injected with D-galactose: A potential contribution to Alzheimer's disease processes. *Experimental Neurology* 210. 2008;709–718.

Hua X, Lei M, Zhang Y, Ding J, Han Q, Hu G, Xiao M. Long-term D-galactose injection combined with ovariectomy serves as a new rodent model for Alzheimer's disease. *Life Sciences* 80. 2007;1897–1905.

Ma X, Hamadeh MJ, Christie BR, Foster JA, Tarnopolsky MA. Impact of Treadmill Running and Sex on Hippocampal Neurogenesis in the Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *PLoS One.* 2012;7(4): e36048.

Yaffe K. Biomarkers of Alzheimer's disease and exercise: one step closer to prevention. *Ann Neurol.* 2010;68:275-276.

Yamamoto H, Murphy LJ. Enzymatic conversion of IGF-I to des(1–3) IGF-I in rat serum and tissues: A further potential site of growth hormone regulation of IGF-I action. *J Endocrinol.* 1995;146:141–148.

Yan MH, Wang X, Zhu X. Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease. *Free Radic Biol Med.* 2013;62:90–101.

Xian YF, Sub ZR, Chen JN, Lai XP, Mao QQ, Cheng C, Ip SP, Lina ZX. Isorhynchophylline improves learning and memory impairments induced by D-galactose in mice. *Neurochemistry International.* 2014;76:(42–49).

Yang WN, Hu XD, Han H, Shi LL, Feng GF, Liu Y, Qian YH. The effects of valsartan on cognitive deficits induced by aluminum trichloride and d-galactose in mice. *Neurol Res.* 2014;36(7):651-8.

Yankova M, Hart SA, Woolley CS. Estrogen increases synaptic connectivity between single presynaptic inputs and multiple postsynaptic CA1 pyramidal cells: a serial electron-microscopic study. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;13;98(6):3525-30.

Diz-Chaves Y, Naqvi AK, Hülst HV, Pernía O, Carrero P, Garcia-Segura LM. Behavioral effects of estradiol therapy in ovariectomized rats depend on the age when the treatment is initiated. *Experimental Gerontology.* 2012;47:Issue 1 Pages 93–99.

Gong Y, Chang L, Viola KL, Lacor PN, Lambert MP, Finch CE, Krafft GA, and Klein WL. Alzheimer's disease-affected brain: Presence of oligomeric A β ligands (ADDLs) suggests a molecular basis for reversible memory loss. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(18): 10417–10422.

Gong YS, Guo J, Hu K, Gao YQ, Xie BJ, Sun ZD, Yang EN, Hou FL. Ameliorative effect of lotus seedpod proanthocyanidins on cognitive impairment and brain aging induced by D-galactose. *Experimental Gerontology* 74. 2016;21–28

Radak Z, M. Sasvari, C. Nyakas, T. Kaneko, S. Tahara, H. Ohno, S. Goto. Single bout of exercise eliminates the immobilization-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochem.* 2001;Int. 39, pp. 33–38.

Zeng Y, Brydges NM, Wood ER, Drake AJ, Hall J. Prenatal glucocorticoid exposure in rats: programming effects on stress reactivity and cognition in adult offspring. *Stress.* 2015;18(3):353-61.

Kotan Z, Sarandöl A, Eker SS, Akkaya C. Depression, Neuroplasticity and Neurotrophic Factors. *Current Approaches in Psychiatry.* 2009;1: 22-35.

Zhang XL, Jiang B, Li ZB, Hao S, An L. Catalpol ameliorates cognition deficits and attenuates oxidative damage in the brain of senescent mice induced by D-galactose. *J. Pharmacol Biochem Behav.* 2007;Nov;88(1):64-72.

Zhao H, Niu Q, Li X, Liu T, Xu Y, Han H, Wang W, Fan N, Tian Q, Zhang H, Wang Z. Long-term resveratrol consumption protects ovariectomized rats chronically treated with D-galactose from developing memory decline without effects on the uterus. *Brain Res.* 2012;1467:67-80.

Zhou W, Hu W. Anti-neuroinflammatory agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Future Med Chem.* 2013;5(13):1559-71.

Zhu SY, Dong Y, Tu J, Zhou Y, Zhou XH, Xu B. Silybum marianum oil attenuates oxidative stress and ameliorates mitochondrial dysfunction in mice treated with D-galactose. *Pharmacogn Mag.* 2014;10(Suppl 1):S92-9.

Zhu X, Perry G, Smith MA, Wang X. Abnormal mitochondrial dynamics in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2013;33(Suppl 1):S253–S262.

Zilka N, Novak M. *Bratisl Lek Listy.* The tangled story of Alois Alzheimer. 2006;107(9-10):343-5.

Sun ZZ, Chen ZB, Jiang H, Li LL, Li ER, Xu Y. Alteration of A β metabolism-related molecules in predementia induced by AlCl₃ and D-galactose AGE. 2009;31:277–284.

Zsolt Radak. *Exercise and Diseases: Prevention through Training*– Oxford: Meyer & Meyer Sport (UK) Ltd. 2004;ISBN 1-84126-121-1.

9.EK

9.1. Proje Etik Kurul Onay Formu



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	30.2014.mar	ÇALIŞMA: DOKTORA		
	PROJE ADI	Sıçanlarda Deneysel Alzheimer hastalığı modelinde farklı egzersiz yöntemlerinin kognitif fonksiyonlar üzerine olan etki mekanizmalarının incelenmesi			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Doç. Dr.Özgür Kasımay ÇAKIR			
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER			
	DESTEKLEYİCİ				
KARAR BİLGİLERİ	TARİH: 11.04.2014 Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurumumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.				
ETİK KURUL BİLGİLERİ					
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.				
ÜYELER					
Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/ Ek Üyelığı	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya Katılım	İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. İnci ALICAN	Fizyoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul (Yürütücü Sekreter)	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Serap ŞIRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Vet.Hek. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Dilek KÖKTÜRK	Emekli Memur	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Dilek	Soyadı	Özbeyli
Doğum Yeri	Bursa	Doğum Tarihi	15.10.1970
Uyruğu	TC	Tel	02163453450-1160
E-mail	dilekozbeyli@marmara.edu.tr		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	1993
Lisans	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	1993
Lise	Uludağ Üni. Tıp Fak. S.M.L Tıbbi Laboratuvar bölümü	1988

İş Deneyimi

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
	Veteriner Hekim	Marmara Üni. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarı	1994-2009
	Sorumlu Yönetici	Marmara Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi	2009-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	iyi	iyi	iyi

Yabancı Dil Sınav Notu

YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	66.250							

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	65,143	66.419	66.023
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft office	İyi

EK. Diğer Bilimsel faaliyetler

Kongre ve Sempozyum Katılımları

1. III. Deneysel ve Klinik Araştırma Kongresi, 18-20 Mayıs 2000, Kayseri
2. Türkiyede Nörobilimlerin Bugünü ve Geleceği Kongresi, 5-8 Nisan 2001, Bursa
3. 3. Ulusal Tıp Etiği Kongresi, 25-28 Haziran 2003, Bursa
4. 5. Laboratuvar Hayvanları Bilimi ve Deneysel Araştırmalar Sempozyumu, 15-16 Ekim 2009, Kırıkkale-Ankara
5. Türkiye Hayvan Deneylerinde Etik Sempozyumu, 16 Haziran 2011, İstanbul
6. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 25-29 Eylül 2012 Trabzon
7. 4. Egzersiz Fizyolojisi Sempozyumu, 17-18 Mayıs 2013, İstanbul
8. IUPS Congress 2013, 21-26 July 2013, Birmingham, UK
9. 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 10-14 Eylül 2013, Ankara
- 10.18. Temel Mikrocerrahi Kursu (Eğitici), 19-23 Kasım 2013, İstanbul
11. Physiological Society, Physiology 2014 Congress, 30 June- 2 July, London, UK
- 12.40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014, Kayseri
13. Deneysel Tasarım ve Ön Biyoistatistik Sempozyumu, DETAE, İstanbul (Eğitici) 29-30 Eylül 2014
14. Deney Hayvanları Kullanımı ve Etik Yaklaşım Atölye Çalışmaları ve Sertifika programları 2000-2015 (Eğitici)
15. Federation of European Physiological Societies FEPS 2015, 26-29 August 2015/Kaunas City/ Lithuania
16. Deneysel Tasarım ve Ön Biyoistatistik Sempozyumu, DETAE, İstanbul (Eğitici) 5-6 Ekim 2015

Sertifikalar

1. I. Congres and Workshop of Clinical and Experimental Research.18-21 May, 1998 Kayseri, Türkiye

2. Deneysel Hayvanlar Kullanım Sertifikası 2009 Marmara Üniversitesi
 3. Sıçanlarda EMG, EEG ve EKG kaydı (Temel elektrofizyoloji uygulamaları)
- Kursu katılım sertifikası

Uluslararası Yayınlar

1. Anti-inflammatory effect of acute stress on experimental colitis is mediated by cholecystokinin-B receptors. Gülpinar MA, Ozbeyli D, Arbak S, Yeğen BC. Life Sci. 2004 May 21;75(1) :77-91
2. Effects of ovariectomy and estrogen replacement therapy on laryngeal tissue a histopathological experimental animal study. Tatlipinar A, Günes P, Ozbeyli D, Cimen B, Gökçeer T. Otolaryngol Head Neck Surg. 2011;145(6) :987-91
3. Protective effect of exercise and sildenafil on acute stress and cognitive function. Ozbeyli D, Gokalp AG, Koral T, Ocal OY, Dogan B, Akakin D, Yuksel M, Kasimay O. Physiol Behav. 2015;151 :230-7.

Ulusal Yayınlar

1. Synchronized Cardiac and Skin Transplantation Improved the Cardiac Allograft Survival, Harun Arbatlı, Ergun Demirsoy, Bahadır Dağlar, Gökhan İpek, Ömer Işık, Cevat Yakut, Uğur Özkutlu, Arif Gümüş, Dilek Özbeyli. Türk Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Dergisi, Ocak 1997, Cilt 5, Sayı 1
2. Uz. Dr.Atilla Saygı, Dr. Erkan Zor, Yrd. Doç.Dr. Hüseyin Baloğlu, Prof.Dr. İbrahim Öztekin, Dr. Filiz Süngün, Dr. Mesut Gider, Vet.Hek. Dilek Özbeyli, Dr. Talha Gönüllü. The Effect of Tiner Inhalation on Respiratory System (An Experimental Study). Türkiye Ekopatoloji Dergisi: Mayıs 2007,
3. A Five-Year Follow-Up of Animal Use at Marmara University School of Medicine, M. Zafer gören, Dilek Özbeyli, Arif Gümüş, Berrak Ç. Yeğen. Marmara Medical Journal, 2002, Cilt 15, Sayı 4.

Poster Bildiriler

1. 6. Cerrahi Araştırma Kongresi, 2011 Ankara, Sıçanlarda Sepsisle İndüklenen Kardiyopulmoner ve Renal Hasara Nikotin Tedavisinin veya Nikotin Yoksunluğunun Etkileri., Z. N. Özdemir, Ahmet Faruk Özdemir, Buğra Karaaslan, Kübra Kaytaç, Musatafa Kara, Olgu Enis Tok, Feriha Ercan, Dilek Özbeyli, Mehmet Koç, Berrak Ç. Yeğen.

2. European Journal of Anaesthesiology Congress 2012 Paris France. June 9-12, 2012. Chronic nicotine intake ameliorates sepsis- induces multi-organ failure in rats. Ozdemir kumral Z.N., Ozdemir A.F. Karaaslan B., Ozbeyli D., Ercan F., Yegen B.C.

3. 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014, Kayseri, Sıçanlarda Deneysel Mide Ülserinde Oluşan Oksidan Hasar Üzerine Düzenli Yüzme Egzersizinin Etkisi, F. Elif Bahadır, Dilek Özbeyli, Fatma Temiz, Gizem Mardinoğlu, Hamide şahin, Merve Sağanak, Meral Yüksel, Feriha Ercan, Berrak Ç. Yeğen

4. The Pysiological Society, Physiology Congress 2014, 30 june- 2 july, London, UK, The Effect of Acute Stress On Hypothyroid Rats That Perform Moderate or Vigorous Exercise Ebru Şenel, Ozgur Kasımay Çakır, Dilek Özbeyli, Gazi Contuk, Ayliz Velioğlu, Şule Çetinel, Berrak Ç. Yeğen

5. 21st European Congress of Clinical Chemistry an Laboratory Medicine. Presepsin levels, reactive oxygen and nitrogen species in experimental sepsis models. O. Unay Demirel, M.Yüksel, D. Özbeyli, E. Kalemoglu, T. Orug. Euromedlab Paris 2015, 21-25 June 2015 Clin Chem Lab Med 2015 ; 53, Special Suppl, ppS1-S1450 June 2015

6. The Pysiological Society, Physiology Congress 2015 Cardiff, UK. Natural sweetener agave inhibits gastric emptying by a glucagon-like peptite-1 (GLP-1) reseptor dependent mechanism. E. Bihter Gurler, Dilek Ozbeyli, Hülya Buzcu, Sezin Bayraktar, İrem Carus, Beyza Dağ, Yasemin Geriş, Seda Jeral and Berrak Yeğen.

7. Federation of European Physiological Societies FEPS Congress 2015. 26-29 August 2015/Kaunas City/Lithuania. The effect of exercise modalities on D-galactose induced rat Alzheimer Model. Dilek Ozbeyli, Naziye Ozkan, Meral Yuksel, Serap Sirvancı, Özgür Kasımay Cakir.

8. Federation of European Physiological Societies FEPS Congress 2015. 26-29 August 2015/Kaunas City/ Lithuania. Molecular basis of sinus bradycardia in hypothyroidism. Sunil Jit R. J. Logantha, Dilek Özbeyli, Joseph Yanni, Halina Dobrzynski, Ozgur Kasimay, Mark R. Boyett.

9. 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2015, Çanakkale. Safra yolu ligasyonu ile kolestaz oluşturulmuş sıçanlarda devedikeni ekstraktı (Silybum marinum), ursodeoksikolik asit ve kombine tedavi hepatik kök hücreleri ve karaciğer hasarını azaltır. Nuray Geçer Alaca, Dilek Özbeyli, Serap Uslu, Hasan Hüseyin Şahin, Gürkan Yiğittürk, Hızır Kurtel, Gülperi Öktem, Berrak Ç. Yeğen.

Sözlü Sunumlar

1. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 10-14 Eylül 2013 Ankara. Tatlandırıcı Agave'nin Mide Boşalma Hızını Yavaşlatıcı Etkisi, E. B. Gürler, Dilek Özbeyli, B. Yeğen

2. 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014, Kayseri. Kronik egzersiz ve sildenafil ön tedavisinin akut stres ve kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi; Dilek Özbeyli, Tolga Koral, Ayşe Gizem Gökcalp, Berkay Doğan, Onur Yüksel Öçal, Meral Yüksel, Dilek Akakın, Özgür Kasımay Çakır

Ödüller

1. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği Ulusal Fizyoloji kongresi 2013 Yılı, Sözlü sunum Birincilik Ödülü, Tatlandırıcı Agave'nin Mide Boşalma Hızını Yavaşlatıcı Etkisi, E. B. Gürler, Dilek Özbeyli, B. Yeğen

2. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği Ulusal Fizyoloji kongresi 2014 Yılı, Sözlü Sunum Üçüncülük Ödülü, Kronik egzersiz ve sildenafil ön tedavisinin akut stres ve kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi; Dilek Özbeyli, Tolga Koral, Ayşe Gizem Gökcalp, Berkay Doğan, Onur Yüksel Öçal, Meral Yüksel, Dilek Akakın, Özgür Kasımay Çakır

3. The effect of exercise modalities on D-galactose induced rat Alzheimer Model. Federation of European Physiological Societies FEPS 2015- Best Poster Award.