



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANABİLİM DALI

**YÜKSEK FRUKTOZA MARUZ BIRAKILAN RATLARA  
LACTOBACİLLUS ACİDOPHİLUS VE CURCUMİN  
UYGULAMASININ BEYİNDE NÖROSTEROİD, BETA  
AMYLOİD PROTEİN VE APOPTOZİS DÜZEYİNE ETKİSİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Hüseyin Kürşad ERENSAYIN**

**Samsun  
Kasım-2019**





T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANABİLİM DALI

**YÜKSEK FRUKTOZA MARUZ BIRAKILAN RATLARA  
LACTOBACİLLUS ACİDOPHİLUS VE CURCUMİN  
UYGULAMASININ BEYİNDE NÖROSTERÖİD, BETA  
AMYLOİD PROTEİN VE APOPTOZİS DÜZEYİNE ETKİSİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Hüseyin Kürşad ERENSAYIN**

**Danışman  
Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ**

**Samsun  
Kasım-2019**

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Hüseyin Kürşad ERENSAYIN tarafından Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ danışmanlığında hazırlanan "Yüksek Fruktosa Maruz Bırakılan Ratlara Lactobacillus Acidophilus ve Curcumin Uygulamasının Beyinde Nörosteroid, Beta amyloid protein ve Apoptozis Düzeyine Etkisi" başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 26.1 1.2019 tarihinde yapılan sınav ile Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Meltem TANRIVERDİ  
Uludağ Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Zafer BULUT  
Selçuk Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Sena ÇENESİZ  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Timur GÜLHAN  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

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

**Prof. Dr. Ahmet Uzun**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, kıymetli bilgi ve deneyimlerinden faydalanarak bugünlere gelmemi sağlayan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ'ye şükranlarımı sunuyorum.

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım süresince ilgi ve desteğini esirgemeyen Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ali ERTEKİN'e teşekkür ederim.

Veteriner Biyokimya Anabilim Dalında yaptığım doktora eğitim süresince bana emeği geçen, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren Sayın Prof. Dr. Gül Fatma YARIM, Sayın Prof. Dr. Sena ÇENESİZ, Sayın Prof. Dr. Cevat NİSBET'e teşekkür ederim.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ'ye çalışmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Her zaman hayatımda maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bana güvenip, inandıkları için canım aileme, hayatıma anlam katan, varlığıyla renk veren ve tez çalışmamın her aşamasında tüm zorlukları benimle göğüsleyen eşim Aybiçe ERENSAYIN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma PYO.VET.1904.16.008 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

### YÜKSEK FRUKTOZA MARUZ BIRAKILAN RATLARA *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* VE CURCUMİN UYGULAMASININ BEYİNDE NÖROSTEROİD, BETA AMYLOİD PROTEİN VE APOPTOZİS DÜZEYİNE ETKİSİ

**Amaç:** Bu çalışmada, deneysel olarak yüksek fruktoza maruz kalan ratlara *Lactobacillus acidophilus* ve curcumin uygulamasının beyindeki nörosteroid, beta amyloid protein (TBAP) ve apoptozis (FAS) düzeyi ile serumda bazı biyokimyasal parametrelere etkisinin araştırılması amaçlandı.

**Materyal ve Metot:** Çalışma materyelini 10-12 haftalık yaşta 50 adet erkek Sprague-Dawley ırkı erişkin rat oluşturdu. Çalışmada; kontrol (Grup1), %20 fruktoz içme suyu verilen (Grup 2), %20 fruktoz içme suyu ile beraber son dört hafta curcumin verilen (Grup 3), son dört hafta *L. acidophilus* probiyotiği verilen (Grup 4) ve son dört hafta curcumin ve *L. acidophilus* probiyotiğinin kombine verilen (Grup 5) grup olmak üzere 5 farklı gruba ayrıldı ve haftalık olarak vücut ağırlıkları tartıldı. Deneme sonunda ratların beyin dokusunda testosteron, östrojen, progesteron, translokotor protein (TSPO), TBAP ve FAS düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. Kan örneklerinde ise ürik asit, total kolesterol, HDL, LDL, ürik asit, kreatin kinaz, AST ve ALT düzeyleri spektrofotometrik yöntemle analizör cihazında belirlendi.

**Bulgular:** Yüksek fruktoza maruz olan grupta (Grup2) serumda ürik asit, kreatin kinaz, LDL, AST, ALT düzeyi ile beyin dokusunda TSPO, FAS ve TBAP düzeyinin diğer gruplardan önemli düzeyde yüksek olduğu ( $P<0,05$ ), beyinde nörosteroid ve serumda HDL düzeyinin ise düşük olduğu belirlendi. Tedavi amacıyla *L. acidophilus* ve curcuminin birlikte uygulanan grupta beyindeki nörosteroid hormonlarının düzeyini arttırdığı TSPO, FAS ve TBAP düzeyini ise azalttığı belirlendi.

**Sonuçlar:** Yüksek fruktoz maruziyetine bağlı olarak beyin dokusunda meydana gelen olumsuz etkilere karşı curcumin ve *Lactobacillus acidophilus* probiyotiğinin olumlu etkisinin olduğu yan etkisi olmayan ve terapötik etkinliğe sahip olarak tavsiye edilebileceğini gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** Curcumin; *Lactobacillus acidophilus*; Nörosteroid; Fruktoz

Hüseyin Kürşad ERENSAYIN, Doktora Tezi  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Kasım-2019

## ABSTRACT

### EFFECT OF *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* AND CURCUMIN APPLICATION IN RATS SUBJECTED TO HIGH QUANTITIES OF FRUCTOSE ON NEUROSTEROID, BETA AMYLOID PROTEIN AND APOPTOSIS LEVELS

**Aim:** This study aimed to study the effect of the *Lactobacillus acidophilus* and curcumin application in rats experimentally subjected to high quantities of fructose on the neurosteroid, beta-amyloid protein (TBAP) and apoptosis (FAS) levels in the brain as well as on certain parameters in the serum.

**Material and Method:** The materials consisted of 50 male Sprague-Dawley adult rats aged 10-12 weeks. These rats were divided into five groups, namely the control group (Group 1), the rats fed with drinking water containing 20% fructose (Group 2), the rats fed with drinking water containing 20% fructose and curcumin for the last 4 weeks (Group 3), the group fed with *L. acidophilus* probiotic for the last 4 weeks (Group 4) and the group fed with a combination of curcumin and *L. acidophilus* probiotic for the last 4 weeks (Group 5), and body weights of the rats were taken weekly. At the end of the experiment, the levels of testosterone, estrogen, progesterone, translocator protein (TSPO), total beta-amyloid protein (TBAP) and FAS were measured using the ELISA method. The total cholesterol, HDL, LDL, uric acid, creatine kinase, AST and ALT levels in the blood specimens were determined using the spectrophotometric method.

**Results:** It was found that the rats in the group subjected to high quantities of fructose (Group 2) had significantly higher levels of uric acid, creatine kinase, LDL, AST, and ALT in the serum and TSPO, FAS and TBAP levels in the brain tissue ( $P < 0,05$ ), compared to other groups and had lower levels of neurosteroid in the brain and HDL in the serum. It was determined that the combination of curcumin and *L. acidophilus* administered for treatment purposes increased the neurosteroid hormone levels in the brain while decreasing the TSPO, FAS and TBAP levels.

**Conclusion:** Curcumin and *Lactobacillus acidophilus* probiotic have positive effects against the negative effects of high fructose exposure in the brain tissue and they can be recommended as having theatrical effect without side effects.

**Keywords:** Curcumin; *Lactobacillus acidophilus*; Neurosteroids; Fructose

Hüseyin Kürşad ERENSAYIN, Ph. D. Thesis  
Ondokuz Mayıs University, Samsun, December-2019

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>WHO</b>	:	Dünya Sağlık Örgütü
<b>CCK</b>	:	Kolesistokinin Hormonu
<b>GLP-1</b>	:	Glukagon benzeri peptid
<b>ARC</b>	:	Arküat Nükleus
<b>PVN</b>	:	Paraventriküler Nükleus
<b>VMH</b>	:	Ventral mediyal hipotalamus
<b>AgRP</b>	:	Agouti ile ilişkili peptid
<b>POMC</b>	:	Proopiomelanokortin Hormonu
<b>CART</b>	:	Cocain-amfetamin regulated transkript
<b>GLUT</b>	:	Glukoz Transporter
<b>ATP</b>	:	Adenozin Trifosfat
<b>Co-A</b>	:	Ko-enzimA
<b>PET</b>	:	Pozitron Emisyon Tomografisi
<b>ROS</b>	:	Reaktif Oksijen Türleri
<b>RNS</b>	:	Reaktif Azot Türleri
<b>TBI</b>	:	Travmatik Beyin Hasarı
<b>HAD</b>	:	HIV ilişkili Demans
<b>TSPO</b>	:	Translokator Protein
<b>PBR</b>	:	Periferik Benzodiazepin Reseptörü
<b>GABA</b>	:	Gama Aminobütirik Asit
<b>MPTP</b>	:	Mitokondriyal Geçirgenlik Geçiş Gözeneği
<b>CASPASE</b>	:	Sistein Aspartat Spesifik Proteaz
<b>AD:</b>	:	Alzheimer hastalığı
<b>THDOC</b>	:	Allotetrahidrodeoksikortikosteroid
<b>PS</b>	:	Pregnenolon sülfat
<b>DHEAS</b>	:	Dehidroepiandrosteron sülfat
<b>CYP450scc</b>	:	Sitokrom P450 kolesterol yan zincir yarılma Enzimini
<b>ER</b>	:	Östrojen Reseptörü
<b>AR</b>	:	Androjen Reseptörü



<b>PR</b>	:	Progesteron Reseptörü
<b>PRE</b>	:	Progesteron Yanıt Elemanı
<b>BDNF</b>	:	Beyin Türevi Nörotrofik Faktör
<b>MAPK</b>	:	Mitojen Aktif Protein Kinaz
<b>Akt</b>	:	Protein Kinaz B Yolağı
<b>GnRH</b>	:	Gonadotropin salgılatıcı hormon
<b>CRF</b>	:	Kortikotropin Salgılatıcı Faktör
<b>NPY</b>	:	Nöropeptid Y
<b>SHBG</b>	:	Seks Hormonu Bağlayıcı globulin
<b>APP</b>	:	Amyloid Prekürsür Protein
<b>A<math>\beta</math></b>	:	Amyloid Beta Protein
<b>LTP</b>	:	Uzun-sürekli potansiasyon
<b>IDE</b>	:	İnsülin bozundurucu enzim
<b>TNF</b>	:	Tümör Nekrozis Faktör
<b>FAS</b>	:	Faktör İlişkili Apoptozis
<b>FASL</b>	:	Faktör İlişkili Apoptozis Ligandı
<b>BMI</b>	:	Vücut Kitle İndeksi
<b>TBAP</b>	:	Total Beta Amyloid Protein
<b>HDL</b>	:	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
<b>LDL</b>	:	Düşük yoğunluklu lipoprotein
<b>AST</b>	:	Aspartat aminotransferaz
<b>ALT</b>	:	Alanin aminotransferaz
<b>MDH</b>	:	Malat dehidrojenaz.
<b>LDH</b>	:	Laktat dehidrojenaz
<b>GK</b>	:	Gliserol Kinaz
<b>GPO</b>	:	Gliserol 3-fosfat oksidaz
<b>POD</b>	:	Peroksidaz Enzimi
<b>FTS</b>	:	Fizyolojik Tuzlu Su
<b>TNFR</b>	:	TNF Reseptörü
<b>FADD</b>	:	Fas ile ilişkili ölüm bölgesi
<b>TRADD</b>	:	TNFR-1 ile ilişkili ölüm bölgesi
<b>MORT1</b>	:	FADD eş anlamlısı

<b>CAD</b>	:	Caspase Aktive Edici DNase
<b>DD</b>	:	Ölüm Bölgesi
<b>TRAIL</b>	:	TNF ile İlişkili apoptozis indükleyici ligand
<b>TRAMP</b>	:	TNF reseptör ilişkili apoptozis aracılığı protein
<b>AIF</b>	:	Apoptozis indükleyici faktör
<b>Apaf-1</b>	:	Apoptotik proteaz aktive edici faktör-1
<b>CD95</b>	:	Hücre yüzey markerı 95
<b>IP</b>	:	İntraperitoneal
<b>PBS</b>	:	Fosfat Tampon Tuz Çözeltisi
<b>PMS</b>	:	Fenazin metasülfat
<b>LAB</b>	:	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<b>GIS</b>	:	Gastro intestinal Sistem
<b>MSS</b>	:	Merkezi Sinir Sistemi
<b>NGF</b>	:	Sinir Büyüme Faktörü
<b>FSH</b>	:	Folikül Uyarıcı Hormon
<b>LH</b>	:	Luteinleştirici hormon
<b>NBŞ</b>	:	Nişansta Bazlı Şeker
<b>FAO</b>	:	Gıda ve Tarım Örgütü
<b>KBB</b>	:	Kan-beyin Bariyeri
<b>DNA</b>	:	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>HOMA-IR</b>	:	İnsülin Direnç Testi
<b>AD</b>	:	Alzheimer Hastalığı
<b>GK:</b>	:	Gliserol Kinaz
<b>GPO:</b>	:	Gliserol 3-fosfat oksidaz
<b>POD:</b>	:	Peroksidaz
<b>TG:</b>	:	Trigliserit
<b>UA:</b>	:	Ürik Asit
<b>TK:</b>	:	Total Kolesterol
<b>CK:</b>	:	Kreatin Kinaz
<b>DİSC:</b>	:	Death inducing singnaling complex

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Fruktoz .....	5
2.1.1. Kimyasal Yapısı .....	5
2.1.2. Fruktoz Emilimi.....	6
2.1.3. Fruktoz Metabolizması .....	7
2.2.2. Beyinde Fruktoz Metabolizması.....	9
2.3. Probiyotikler.....	10
2.3.1. <i>Lactobacillus acidophylus</i> 'un Genel Özellikleri .....	11
2.4.1. Antioksidanlar .....	14
2.5. Translokator Protein .....	18
2.5.1. Beyinde Translokator Protein.....	19
2.6. Nörostreoidler ve Metabolizması .....	20
2.7. Östrojen.....	22
2.7.1. Östrojenin Genel Özellikleri .....	22
2.7.2. Östrojenin Beyin Dokusu Üzerine Etkileri .....	23
2.8. Progesteron.....	24
2.8.1. Progesteron ve Beyin Dokusu Üzerine Etkileri.....	24
2.9. Testosteron .....	27
2.9.1. Testosteronun Genel Özellikleri.....	27
2.9.2. Testosteronun Beyin Dokusu Üzerine Etkileri.....	28
2.10. Beta Amiloid Protein .....	30
2.10.1. Amiloid Protein .....	30
2.11. Apoptozis .....	34
2.11.1. Apoptozis Mekanizması.....	34
2.12. CD95 (FAS) Genel Özellikleri.....	38

<b>3. MATERYAL ve METOT</b> .....	41
3.1. Materyal .....	41
3.1.1. Araştırma Yeri ve Hayvan Materyali.....	41
3.1.2. Probiyotik Süspansiyonunun Hazırlanması .....	41
3.2. Metot.....	42
3.2.1. Deneme Planı .....	42
3.2.2. Beyin Dokusu Homojenizatının Hazırlanması ve Nörosteroidlerin, TSPO, FAS TBAP Düzeylerinin Belirlenmesi .....	43
3.2.3. Serumda Bazı Rutin Biyokimyasal Analizlerin Yapılışı ve Prensipleri .....	47
3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	52
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>53</b>
4.1. Vücut Ağırlık Değişimi .....	53
4.2. Serumda Bazı Rutin Biyokimyasal Parametrelerin Düzeyleri.....	54
4.4. Beyin Doku Süpernatantındaki Faktör İlişkili Apoptozis (FAS), Total Beta Amiloid Protein (TBAP), Translokator Protein (TSPO) Düzey .....	57
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>62</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	<b>73</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>75</b>
<b>EKLER</b> .....	<b>92</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>93</b>

## 1. GİRİŞ

Fruktoz, çoğu meyvenin bileşiminde bulunan ve batı tarzı diyetlerde yüksek tüketimi olan doğal bir şekerdir. Eşit miktardaki glukoz ya da sükroza göre daha tatlı ve çoğunlukla şekerli besinlerde ve içeceklerde kullanılan bir şekerdir (Rizkalla, 2010). Fruktoz kaynağı olarak en çok tüketilen grupların şekerli-tatlandırılmış içecekler olduğu, ardından tahıl grubu ve meyve sularının geldiği belirtilmektedir (Vos ve ark., 2008). Yüksek fruktoz tüketimi son yıllarda giderek artmaktadır. Bunun sebepleri tüketici açısından glukoz ile aynı enerji değerine sahip olmasına rağmen glukoz gibi doyma ve tokluk hissi vermemesidir. İkinci olarak ise gıda sanayisinde daha tatlı tadı vermesi, renk, tat geliştirme ve nemlendirme özelliğinde olması, donma noktasına düşebilmesi, osmotik kararlılığı, pek çok ürün ile kolayca karışabilmesi, yiyeceklere ve meşrubatlara uygulanan hem fiziksel hem fonksiyonel özelliklere katkı sağlaması gibi üstünlüklerinden dolayı kullanım alanı genişlemiştir (İşgüzar ve Akbulut, 2016).

Curcumin yemeklere sarı renk veren zerdeçal özlerinde bulunmaktadır. 3 farklı curcuminoid çeşidi bulunmaktadır: Curcumin, demethoksicurcumin ve bis-demethoksicurcumin (diferuloylmetan) (Aggarwal ve ark., 2003). Curcuminin antioksidan özelliği bulunmaktadır (Thiyagarajan ve Sharma, 2004) ve diyetle ilave edilmesi ile nörodejeneratif hastalıklardan olan Alzheimer hastalığından koruduğu bildirilmiştir (Calabrese ve ark., 2003; Yang ve ark., 2005). Curcuminin nöron koruyucu etkinliğinin lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi, endogen savunma enzimlerini artırması ve peroksinitrit oluşumunu azaltması ile olduğu bildirilmiştir. Tümöre karşı kimyasal koruyucu özelliğe sahip olduğu belirtilmiştir (Aggarwal ve ark., 2003; Aggarwal ve Shishodia, 2004; Aggarwal ve Shishodia, 2005; Luongo ve ark., 1994; Perkins ve ark., 2004). Curcuminin antikarsinogenik ve kimyasal koruyucu etkisinin moleküler temeli transkripsiyon faktörleri, büyüme düzenleyicileri adhezyon molekülleri, apoptotik genler, angiogenez düzenleyicileri ve hücrel sinyal molekülleri üzerinden olduğu kabul edilmektedir (Aggarwal ve ark., 2003). Curcuminin birçok özelliği (antikanserojen, antioksidant, nöron koruyucu gibi) ispatlanmış olup doz aşımında toksik özellik göstermeyen doğal bir maddedir (Garcea ve ark., 2004; Garcea ve ark., 2005; Sharma ve ark., 2004).

*Lactobacillus acidophilus* (LAB) probiyotik etkinliği bulunan, gram-pozitif, sporsuz, katalaz-negatif bir bakteridir. *Lactobacillus acidophilus* insan bağırsağında

varlık sürdüren yararlı bir probiyotiktir. Probiyotiklerin organizma üzerine sayısız avantaj sağlayan işlevi vardır. Başlıca avantajları, organizmanın normal fonksiyonu için gerekli olan bakteriler ve patojenler arasında uygun dengeyi sağlama etkinliği ile organizmada yaşayan mikrobiyota gelişimi üzerindeki etkisidir (Markowiak ve Slizewska, 2017). Laktik asit bakterileri makrofajların aktivitesini artırmaktadır. Bunlar da lizozomal enzimlerin aktivitesini sağlayarak serbest oksijen radikallerini ve mikropları hızla tahrip edebilir. Probiyotik bakteriler ayrıca gastrointestinal sistemin immüno kompetan hücreleri tarafından sitokinlerin üretimini uyarabilmektedir (Markowiak ve Slizewska, 2017).

Gastro-intestinal sistem (GIS) ile merkezî sinir sistemi (MSS) bağırsak-beyin eksenini olarak bilinen karmaşık sinyal yolları ile birbirlerine bağlanmaktadır. Bağırsak-beyin eksenini, doğrudan nörolojik etkileri olan dinamik, çift yönlü nöroendokrin bir sistemdir. Bağırsak mikrobiyotası beslenme ve enerji durumlarını yansıtan sistemik bir etki ortaya çıkarmak için birlikte hareket etmektedir. Bağlı mikrobiyal popülasyonda oluşan dengesizlik durumlarında (dysbiosis) beyne gönderilen sağlıklı sinyaller sonucu düşük düzeyde enflamasyon, stres, dengesiz enerji homeostazı ve hücresel dejenerasyonda artış meydana getirebilmektedir (Westfall ve ark., 2017). *L. acidophilus* içeren fonksiyonel besinlerin tüketiminde genel metabolik etkileri incelenmesine rağmen bu probiyotiklerin bağırsak-beyin aksı üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar sınırlıdır.

Bazı steroidler periferik endokrin bezlerden bağımsız olarak sinir sisteminde sentezlenmekte olup “nörosteroid” olarak isimlendirilmiştir (Baulieu ve ark., 2001). Sinir sisteminde nörosteroidlerin sentezi kolesterolden başlamaktadır (Baulieu, 1997). Yapılan deneysel hayvan çalışmaları santral sinir sistemindeki steroid sentezinin beyin birçok fonksiyonunu etkilediğini, hücre içi reseptörler vasıtasıyla protein sentezini direkt transkripsiyonel değişimler ile düzenlediğini göstermektedir (Baulieu, 1990).

Östrojenlerin üremedeki rolünün yanı sıra nörodejeneratif hastalık ve yaralanmalara karşı yararlı etkinliğinin olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca deneysel hayvan çalışmaları östrojenlerin inme üzerinde koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir. Östrojenler kemik ve mineral metabolizması, kardiyak ve vasküler fonksiyon, hafıza ve bilinç, duygu-durum değişiklikleri ve yaşa bağlı hastalığın ilerlemesi gibi çok sayıda fonksiyonu etkileyebilmektedir. Yapılan çalışmalarda

östrojenin nöroproteksiyon ve hücre sağkalım için yararlı rollerinin olduğu ortaya konulmuştur. Östrojenlerin etki mekanizması beyinin karmaşıklığı nedeniyle belirsiz kalmaktadır (Sıddıqı ve ark., 2016).

Progesteron ve metabolitinin (allopregnanolon) merkezî sinir sistemi (MSS) üzerinde nöroprotektif etkileri olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan klinik öncesi çalışmalarda akut yaralanma evresinde verilen progesteronun doku hasarını sınırlayabileceği ve künt travmatik beyin hasarı (TBI), omurilik yaralanması, inme, diyabetik nöropatiler ve diğer akut nöral yaralanmalardan sonra oluşan fonksiyon bozukluğunu iyileştirici etkinliğinin olduğunu ve progesteronun beyinde nörogenez regülasyonu yoluyla rejenerasyonu sağladığı bildirilmiştir (Sıddıqı ve ark., 2016).

Gonadal hormon olan testosteronun MSS de dâhil olmak üzere çok sayıda vücut dokusu üzerinde etkileri bulunmaktadır. Testosteronun daha az bilinen etkilerinden biri ise androjen yollarının aktivasyonu yoluyla gerçekleşen nöroproteksiyon etkinliğidir. Testosteron lipofilik doğası nedeniyle kan-beyin bariyerini geçebilmekte ve nöronal hücreleri etkileyebilmektedir. Ayrıca testosteronun nöroprotektif etki sağlayan antioksidan ve anti-apoptotik potansiyele sahip olduğu da saptanmıştır (Sıddıqı ve ark., 2016).

Translokator protein (TSPO); apoptozis, kolesterol taşınmasının düzenlenmesi, steroid hormon sentezi, voltaja bağlı anyon kanalı aktiviteleri gibi çeşitli düzenleyici ve metabolik fonksiyonlarda rol oynamaktadır. Sağlıklı bireylerde TSPO düzeyi beyinde düşük miktarda bulunmaktadır. Ancak nöroinflamasyon, nörodejenerasyon ve akut beyin bozuklukları gibi patolojik süreçler sırasında öncelikle mikroglia aktivasyonu nedeniyle TSPO ekspresyonu artmaktadır. Alzheimer hastalığı (AD), Parkinson hastalığı, amyotrofik lateral skleroz (ALS), multipl skleroz (MS), felç ve travmatik beyin hasarı dâhil olmak üzere nöroinflamasyon oluşan çeşitli MSS hastalıklarında düzeyinin arttığı kaydedilmiştir (Gulyas ve ark., 2011).

Beta amyloid protein, “amiloid precursor protein (APP)”nin bazı enzimler aracılığı ile proteolizi sonucu oluşmaktadır. Amiloid fibriller büyük ve çözünmez olmalarına rağmen birikerek amiloid plaklara dönüşmektedir. Ana bileşen olarak A $\beta$  ile amiloid plaklar en çok Alzheimer hastalarının beyin dokularında bulunmaktadır (Chen

ve ark., 2017). Beslenme bozukluklarına bağlı olarak oluşan nöronal hasar beyin dokusunda amiloid plakların birikmesine neden olmaktadır (Chen ve ark., 2017).

CD95 olarak da adlandırılan hücre yüzeyi Fas reseptörü (Fas) tümör nekroz faktörü (TNF) ve sinir büyüme faktörü (NGF) reseptörleri ailesinin bir üyesidir. FasL gibi Fas'ın ekspresyonunun aynı zamanda çeşitli patolojik durumlarda arttığı ve FasL ile birleşmeyi takiben hücre ölümüyle sonuçlandığını gösteren kanıtlar mevcuttur. Genel olarak bu bulgular FAS'ın MSS enflamasyonunun karmaşık kontrolünde önemli bir bileşen olduğunu göstermektedir. Sağlıklı beyin pasif (örneğin, kan-beyin bariyeri ile fiziksel izolasyon) ve aktif (örneğin, immünosupresif faktörlerin salınması) mekanizmasıyla zararlı bağışıklık tepkilerinden korunmaktadır. FAS normal beyinde az miktarda eksprese edilmektedir. FAS reseptörünün regülasyonu post-iskemik beyinde Alzheimer ve multipl skleroz hastalarının beyin dokularında arttığı tespit edilmiştir (Saas ve ark., 1999).

Bu çalışmada yüksek fruktoza maruz bırakılan ratlara tedavi amacıyla curcumin ve *L. acidophilus* probiyotığının tek tek ve kombinasyon hâlinde verilmesi durumunda beyinde nörosteroid, beta amyloid protein (TBAP), translokotor protein (TSPO) ve apoptozis (FAS) düzeyleri ile serumda bazı biyokimyasal parametrelere etkisinin araştırılması amaçlandı.

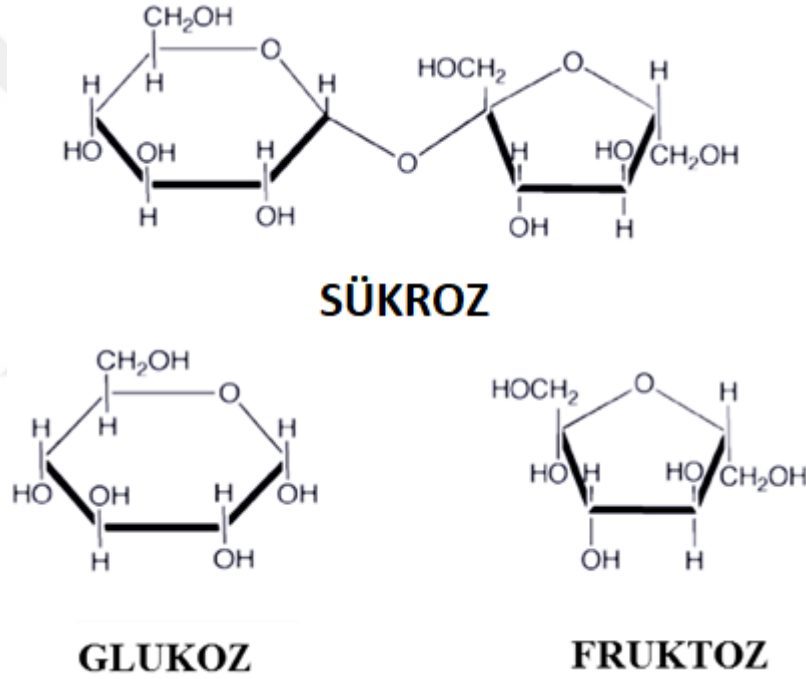


## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Fruktoz

#### 2.1.1. Kimyasal Yapısı

Birçok meyve ve sebzede bulunan basit bir şeker olan fruktoz, glukoz ile aynı kimyasal formüle ( $C_6H_{12}O_6$ ) sahiptir ancak yapısal olarak birbirinden farklıdır. Glukoz 6 halkalı aldehit grubuna ait bir karbonhidrat iken fruktoz 5 halkalı bir yapıda keton grubuna sahip bir karbonhidrattır. Fruktoz yiyeceklerin içinde bir disakkarit olan sükroz yapısında da bulunur. Sükroz 1 molekülü glukoz ve 1 molekül fruktozun  $\alpha$ -1,4 glikozit bağı ile bağlanması ile oluşmaktadır (Tran ve ark., 2009; Tappy ve Le, 2010).



Şekil 1. Glukoz, fruktoz ve sükrozun kimyasal yapıları (Keskin, 2016)

Yiyecek ve içeceklerde fruktozun ticari amaçlar için kullanılmasının en önemli nedeni diğer şekerlerden daha ucuz ve daha tatlı olmasıdır. Fruktoz tüm doğal karbonhidratların en tatlısıdır, sükrozdan da 1,73 kat daha tatlıdır. Fruktozun sahip olduğu başka bir özelliği de tadın dil tarafından sükroz ya da dekstrozdaki daha erken tanınmasıdır. Bununla birlikte sükrozdan yüksek olan fruktoz tadının zirvesi, sükrozdan daha erken sönmektedir. Ayrıca fruktozun diğer tatların etkisini de arttırabilme özelliğine sahip olduğu bildirilmiştir (Sarı ve Babacan, 2014).

### 2.1.2. Fruktoz Emilimi

Fruktozun metabolizması glukozdan farklıdır ve insülininden bağımsız bir mekanizma ile gerçekleşmektedir. Diyet alımının ardından enterositlerin apikal yüzeylerinde glukoz taşıyıcı ailesinin bir üyesi olan glukoz taşıyıcı 5 (GLUT5) tarafından kolaylaştırılan difüzyonla hücreye taşınır. Bu işlem glukozdan farklı olarak ATP hidrolizini gerektirmez ve Na<sup>+</sup> emiliminden bağımsızdır. Enterositlere girdiğinde hücrelerin bazolateral zarlarında bulunan GLUT2 yoluyla kan damarlarına yayılır. GLUT2, glukoz için yüksek bir afiniteye ve fruktoz için orta bir afiniteye sahiptir. (Collino, 2011). Buna karşılık GLUT5 baskın fruktoz taşıyıcısıdır ve glukoz için çok düşük afiniteye sahiptir. GLUT5 esas olarak jejunumda eksprese edilmekle birlikte böbrek, iskelet kası, eritrositler, testisler, adipositler ve glial hücrelerde bulunmaktadır (Gaby, 2005; Tappy ve Le, 2010; Collino, 2011).

Ağız yoluyla alınan fruktozun %80-90'ı bağırsakta emilmektedir. Çok küçük bir kısmı ise bağırsak duvarından taşınırken laktata dönüştürülerek portal dolaşıma katılmaktadır. Bağırsakta laktat üretiminin fruktoz metabolizmasına özgü olduğu ve deneysel çalışmalarda absorbe edilen fruktozun %12'sinin laktata dönüştüğü ve glukoz metabolizmasında ise sadece %2'sinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca fruktoz uygulamasının trioz fosfatları enterositlerde glukozla dönüştürerek az düzeyde bağırsakta glukozu üretimine yol açtığı bildirilmiştir (Gaby, 2005; Havel, 2005).

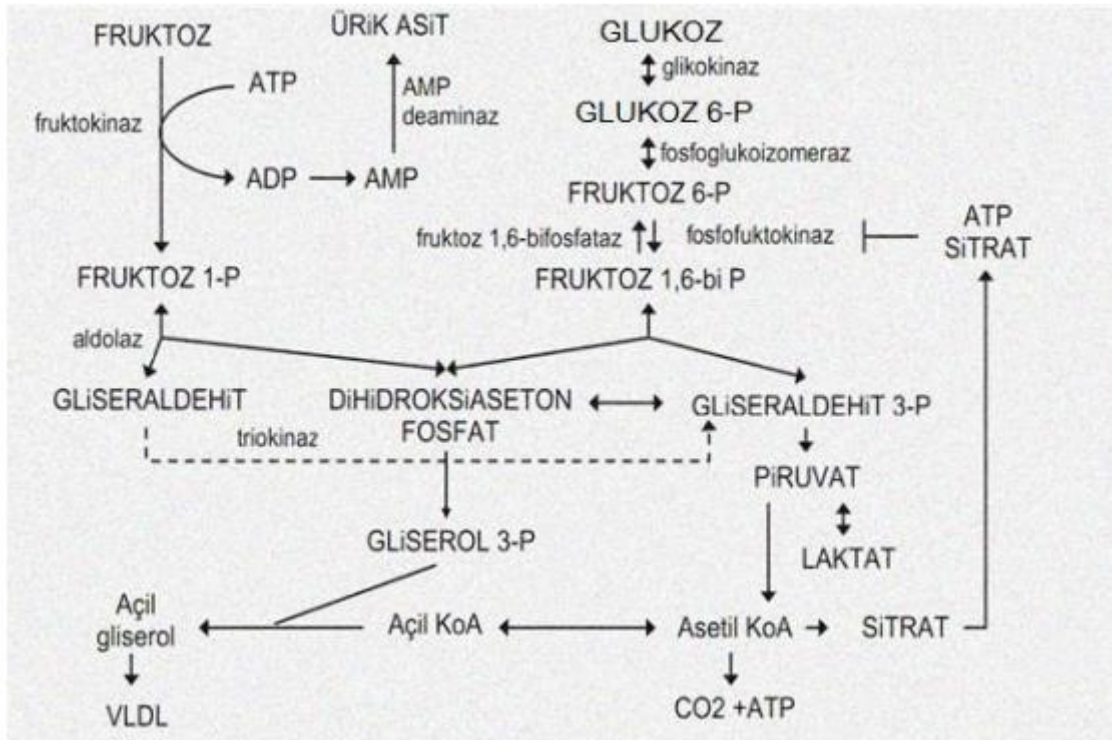
Açlık kan fruktoz düzeyi sağlıklı bir insanda 1 mg/dl düzeyinde veya bundan daha azdır. 18-100 g fruktozun (0,25 g / kg) oral uygulamasından sonra plazma/serum konsantrasyonu ortalama 4,5-13 mg /dl olarak ölçülmüştür. 90. dakikada artan fruktoz dozu (0,25-0,5-0,75 ve 1 g/kg) açlık seviyelerinde sırasıyla 2, 5, 7,7 ve 13,6 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur. Meyve tüketiminden sonra serumda fruktoz konsantrasyonundaki artış ile ilgili araştırmaya rastlanmamıştır. Ancak bu artışın ihmal edilebilir olduğuna inanılmaktadır. Çünkü doğal gıdalar nispeten küçük miktarlarda fruktoz içerir ve sebze/meyve içeriğindeki fruktoz tahmini olarak daha yavaş bir oranda emilmektedir. Bu nedenle doğal ürünlerdeki hemen hemen tüm fruktozun intestinal ve hepatic enzimler tarafından metabolize edilebildiği düşünülmektedir (Gaby, 2005).

### 2.1.3. Fruktoz Metabolizması

Karaciğerde glukoz esas olarak glukokinaz enzimi ile glukoz-6-fosfata fosforile edilmektedir. Fruktoz-6-fosfat daha sonra fruktoz-1,6-bisfosfata dönüştürülmektedir. Bu dönüşüm oranı, temel hız sınırlayıcı glikoliz enzimi olan fosfofruktokinaz enzimi ile düzenlenir. Fruktoz 1,6-bisfosfat Krebs döngüsüne girmeden önce piruvat hâline dönüştürülür. Karaciğerde glukozun piruvat'a dönüşümü insüline bağlıdır, fruktozun trioz fosfata dönüşümü insülininden bağımsız ve hızlı bir işlemdir. Fruktoz glikolizin ana düzenleyici aşaması olan fosfokrofruktokinaz aşamasını atlar ve glikolitik yol boyunca devam eder. Bu düşük Km değerindeki fruktozdan kaynaklanmaktadır ve ATP veya sitrat gibi moleküllerden gelen negatif geri beslemeden bağımsızdır (Gürdöl ve Ademoğlu, 2010).

Fruktozun taşınması ve metabolizması insüline bağlı değildir, metabolizması hızlıdır ve böbrek eşiği düşüktür. Bağırsakta, kas ve yağ dokusunda, çoğunlukla karaciğerde metabolize edilir. Genel olarak fruktoz, glikolitik yola iki farklı yoldan girer. Birincisi karaciğerde fruktoz, fruktokinaz ile fosforile edilir ve fruktoz 1-fosfata dönüştürülür. Bu enzim fruktoz için yüksek bir afiniteye sahiptir (düşük Km). Fruktoz 1-fosfat daha sonra fruktoz-1 fosfat aldolaz (Aldolase B) ile dihidroksiaseton fosfat ve gliseraldehite dönüştürülür. Dihidroksiaseton fosfat, izomeraz etkisiyle gliseraldehit 3-fosfata ve ayrıca kinaz etkisiyle gliseraldehit 3-fosfata dönüştürülebilir. İki trioz fosfat, sırasıyla fruktoz 1,6-bisfosfat, fruktoz 6-fosfat ve glukoz 6-fosfat oluşturmak üzere aldolaz enzimi ile birleştirilir. Fruktoz 1-fosfat glikoliz ara maddelerine dönüştürüldüğünden heksokinaz ve fosfofruktokinaz-1'in reaksiyonları devre dışı bırakılır ve fruktoz, karaciğerde glukozdan çok daha hızlı metabolik değişikliklere uğrar. İkincisi karaciğer ve kas öncelikle yakıt olarak glukoz kullanır. Heksokinazın fruktoza ilgisi glukozla olan ilgisinin yaklaşık 1/20'si olduğundan karaciğerde ve kaslarda çok az fruktoz-6 fosfat oluşur. Bu nedenle yağ dokusu daha fazla fruktoza maruz kalır ve fruktoz heksokinazı fruktoz 6-fosfata dönüştürerek fosforile edilir (Gürdöl ve Ademoğlu, 2010). Fosforilasyon sırasında adenosin trifosfat (ATP) tükenir ve hücre içi fosfat seviyesi düşer. Bu adım, glukozun glukokinaz ile fosforilasyonundan farklıdır. Glukoz metabolizmasında ATP tükenmesi ve aşırı fosforilasyon, bir geri besleme sistemi (hız sınırlayıcı enzim yoluyla) ile önlenir. Glukozun aksine fruktoz devam eden reaksiyonlarla ya glukoneogenez yoluyla glukoz oluşumuna ya da novo

trigliserit sentezine yönlendirilir. Bu glukoz metabolizmasından farklıdır. Fruktozun fruktoz-1-fosfata dönüştürülmesi sırasında hız sınırlayıcı enzim etkisi yoktur. Bu nedenle fruktozdan gelen ara metabolitler, glikoliz yolunda yer alan ve trigliserit oluşumuna neden olan gliserol ve yağ asitlerinin sentezinde kullanılır. Yüksek fruktoz tüketimi sonucu serum yağ asidi düzeyleri artmakta ve insülin bağımsız yağ depolamasına neden olarak obeziteye (özellikle abdominal bölgede yağ) neden olmaktadır (Bulut ve Mir, 2011). Ayrıca karaciğerde piruvat ve laktat üretimini artırır, glukoz toleransını azaltır, insülin direncini artırır ve serbest yağ asitlerinin dengesini oksidasyondan esterleşmeye dönüştürerek VLDL salgılanmasını artırır (Levi ve Werman, 1998). Fruktoz metabolizması sırasında hücre içi ATP düzeyinin azalması gözlenir ve oluşan adenosin monofosfat (AMP) ürik aside dönüştürülür. Fruktoz alımından 30-60 dakika sonra ürik asit sadece hücrede değil aynı zamanda dolaşımda da arttığı ifade edilmiştir (Bulut ve Mir, 2011).



Şekil 2. Glukoz ve fruktoz metabolizması (Korkmaz, 2019)

Fruktozun hepatik metabolizması, yağ asitlerinin sentezi için kontrolsüz bir karbon kaynağı sağladığı için lipogenezi destekler. Birçok çalışma, yüksek fruktoz diyetinin çeşitli lipojenik genlerin aktivasyonu ve yağ asidi oksidasyonunun inhibisyonu yoluyla lipogenez yolağını düzenlediğini, böylece tüketimden sonra dolaşımdaki lipit

seviyelerini önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir. Plazma total ve VLDL kolesterol seviyelerinin 1 haftadan uzun süredir fruktoz diyeti olan sağlıklı gönüllülerde anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir (Tappy ve ark., 2010). Yine farklı araştırmalarda 4-5 haftalık sürede enerjinin %15-20'sini meydana getirecek biçimde fruktoz uygulanmasının serum total kolesterol, VLDL kolesterol, LDL ve apolipoprotein B100 düzeylerinde anlamlı artışa yol açtığı belirtilmiştir (Havel, 2005).

Fruktoz ve glukozun beslenme davranışlarını düzenleyen hormonlar üzerinde farklı etkileri vardır. Glukozun aksine fruktoz insülin salgısını uyarmaz. Glukoz tüketimine kıyasla fruktoz iştahı azaltmak ve enerji tüketimini arttırmak için beyinde anahtar bir sinyal olarak hizmet eden adipositlerin ürettiği bir hormon olan leptinin dolaşımdaki seviyelerini uyarılmaktadır. Uzun süre fruktoz alımının leptin direncini oluşturabileceği saptanmıştır (Arslan ve Şanlıer, 2016).

Günümüzde fruktoz genellikle yiyecekleri daha fazla iştah açıcı ve cazip kılan tat arttırıcı madde olarak kullanılır. Diyetle fruktoz için biyolojik bir ihtiyaç yoktur sadece glukoz metabolizması sırasında bir ara moleküldür. Periferik kandaki dolaşımdaki fruktoz konsantrasyonu (~ 0.01 mmol / L) glukoz (~ 5.5 mmol / L) ile karşılaştırıldığında çok düşüktür (Wong ve ark., 2016).

### **2.2.2. Beyinde Fruktoz Metabolizması**

Klasik nöro-enerji modeline göre uzun süreli açlıkta keton cisimlerinin kullanımı dışında beynin tek yakıtının glukoz olduğu kabul edilmektedir. Çok sayıda çalışma bu tezi desteklerken glukoz yokluğunda bazı moleküllerle beyin, fonksiyonlarını sürdürebilmektedir. Son dönem çalışmalar gösteriyor ki glukoz, mannoz, galaktoz ve fruktoz serebral korteksin gelişimde kullanılmaktadır. Ayrıca beynin farklı noktalarında akson fonksiyonu ve nöron aktivitesinin korunmasını etkileyebilmektedir. Karbonhidratlar oksijenli solunum amacıyla nöronlara götürülmeden önce gliyal hücrelerde laktat ve glutamata çevrilerek metabolize edilmektedir. Fruktozdan üretilen laktat nöronal iletim sırasında aktif nöronlara götürülebilmektedir (Funari ve ark., 2007).

Nöronal hücrelerin veya beyin bölümlerinin fizyolojik konsantrasyonda fruktozu metabolize ettiğine dair görüş bildirilse de fruktozun diğer şekerlerle kan-beyin bariyerini geçmediği kabul edilmektedir. Beyinde fruktozun fosforilasyonunu gösteren

yayınlar olmasına rağmen hem in vivo hemde in vitro çalışmalarda beyinde fizyolojik fruktoz metabolizma bölgelerinin olmadığı rapor edilmiştir (Funari ve ark., 2007).

Watanabe ve ark., (1981) tarafından vücutta fruktoz metabolizmasının keşfi amacıyla U-<sup>14</sup>C fruktozu intra peritoneal olarak ratlara enjekte edildiğinde böbrek, karaciğer, kan ve ince bağırsakta yüksek seviyede <sup>14</sup>C olduğu tespit edilmiştir. Ölçümlerde emilimden 5 dakika sonra bütün dokularda olduğu gibi beyinde de yüksek <sup>14</sup>C seviyesini tespit edilmiştir. Buna rağmen beyinde bulunan <sup>14</sup>C'ün karaciğer, böbrek metabolizmasının ara metabolizma ürünü olma ihtimali olabileceği ifade edilmiştir.

Haradahira ve ark., (1995) metabolize olmayan fruktoz (1deoxy-1-(<sup>18</sup>F)-Fluoro-D-Fruktoz) vererek fruktozun vücutta nerede ve nasıl oluştuğunu pozitron emisyon tomografisi (PET) ile görüntülemiştir. Bileşik intra venöz ratlara enjekte edildikten sonra kan, böbrek, karaciğer ve ince bağırsaklarda normal seviyede iken beyin, kalp ve pankreasta az miktarda olduğu belirlenmiştir. Beyin hariç diğer dokularda fruktoz analogları yavaş yavaş kaybolmuştur. Fruktoz analogunun beyinde bulunmasına rağmen kan-beyin bariyerini geçmesini sağlayan başka bir metabolizmaya veya fosforilasyon reaksiyonuna rastlanmamıştır. Beyin hariç diğer dokularda fruktoz analogunun yavaş yavaş kaybolması bu analogun faydalı bir metabolik işaretleyici olmadığını göstermektedir. Yapılan başka bir çalışmada ise kan-beyin bariyeri ihmal edildiğinde beyin hücreleri için fruktozun ana karbon kaynağı olarak kullanabildiği ileri sürülmüştür (Funari ve ark., 2007).

Fizyolojik dozlardaki yararlı etkilerine rağmen yüksek miktarlarda kısa ve uzun süreli fruktoz tüketimi, metabolik sendromla ilişkili çeşitli metabolik ve kardiyovasküler yan etkilere neden olduğu, karaciğerde ve diğer dokularda insülin direncine neden olduğu, dislipidemi, hipertansiyon, hiperürisemi ve yaşlanma sürecini hızlandıran ilerleyen glikasyon son ürünlerinin oluşumuna yol açtığı ifade edilmiştir (Havel, 2005). Obezite, tip II diyabet ve alkolsüz yağlı karaciğer hastalığının patogenezinde de rol oynadığı bildirilmiştir (Tappy ve ark., 2010).

### **2.3. Probiyotikler**

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre probiyotikler yeterli miktarlarda uygulandığında konağın sağlığına yararlı etkiler sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır. Probiyotiklerin organizma üzerinde çok sayıda önemli fonksiyonları bulunmaktadır. En önemli

fonksiyonu organizmanın normal bir fonksiyonu için gerekli olan bakteriler ve patojenler arasında uygun dengeyi sağlama yoluyla organizmada yaşayan mikrobiyota gelişimi üzerindeki etkisidir (Hill ve ark., 2014).

Moleküler ve genetik çalışmalar ile probiyotiklerin yararlı etkilerinin temeli araştırılmıştır. Bunlar antimikrobiyal maddelerin üretimi yoluyla epitele ve besin maddelerine yapışması için patojenlerle rekabet, konağın immünomodülasyon, bakteriyel toksin üretiminin inhibisyonu yoluyla etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu mekanizmalar enfeksiyonların profilaksisi, tedavi ve konağın bağırsak mikrobiyosunun dengesinin korunmasında önemli rol oynamaktadır. Bu mekanizma konağın sağlık durumu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Ayrıca probiyotik mikroorganizmaların epitel hücrelere yapışması bir sinyal kaskadı tetikleyerek immünolojik modülasyona yol açabilmektedir. Bazı çözünür bileşenlerin salınması, immünolojik hücrelerin doğrudan veya dolaylı (epitelyal hücreler yoluyla) aktivasyonuna neden olabilmektedir (Gill ve Cross , 2002; Marteau ve ark., 2003; Oelschlaeger, 2010).

Probiyotik kaynaklı immünolojik uyarımlar  $\gamma$ -interferon üretiminin uyarılması, immünooglobulin üretiminin artmasına, makrofaj ve lenfositlerin uyarılmasına neden olmaktadır. Laktik asit bakterileri hücresel duvarın bileşenleri ile makrofajların aktivitesini artırabilmektedir. Bunlar lizozomal enzimlerin salınımını artırarak serbest oksijen radikalleri ve mikropların hızla uzaklaştırılmasında etkili olabilmektedir. Probiyotik bakteriler ayrıca gastrointestinal sistemin immünokompetan hücreleri tarafından sitokinlerin üretimini de uyarabilmektedir (Markowiak ve Slizewska, 2017).

### **2.3.1. *Lactobacillus acidophilus*'un Genel Özellikleri**

Probiyotikler bağırsak mikrobiyal dengesini iyileştirerek bireyi yararlı yönde etkileyen canlı mikroorganizmalardır. *L. acidophilus* probiyotik etkilere sahip olduğu yaygın olarak bilinmekte olup diyet ile kullanımı en yaygın önerilen organizmalarından biridir. *L. acidophilus* izolatları doğal insan mikrobiyolojisinin bir parçasını oluşturmakta olup oral, sindirim ve vajinal bölgelerden kültürlenmiştir (Foster ve ark., 2017).

*L. acidophilus* ilk olarak 1900 yılında Moro tarafından bebek dışkılarından izole edilmiş olup metabolik, taksonomik ve fonksiyonel özelliklerinin tanımlanmasında birçok değişim geçirmiştir. Asidofil (asit seven) bakteri, insanların ve hayvanların bağırsak yollarından izole edilmektedir. Süt, laktoz veya dekstrin diyeti tüketen yaşlı

kişilerin ve süt ile beslenen bebeklerin dışkılarından da izole edilmiştir. *L. acidophilus* gastrointestinal sistemin (GIS) mikrobiyotası üzerindeki yararlı etkilerini ortaya koymada yaygın olarak kullanılan *Lactobacillus* türleridir (Selle ve ark., 2014).

*L. acidophilus* türleri Gram-pozitif çomak (boyutlar 0,5–1 x 2–10 µm aralığında), yuvarlak uçlu, çiftler hâlinde ya da kısa zincirlerden meydana gelmektedir. Grup başlangıçta homofermentatif metabolizmalarına ve 45°C'de üreme yeteneklerine dayanarak termobakteri olarak kategorize edilmiştir. *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri* ve *Lactobacillus johnsonii*'den oluşan altı ayrı türden meydana gelmektedir. 1980 yılında *L. acidophilus* DNA hibridizasyon çalışmaları ile heterojen bir grup olarak tanınmış ve iki farklı DNA homoloji grubuna (A ve B veya I ve II) ayrılmıştır (Selle ve ark., 2014).

Bifidobakterium ve *Lactobacillus* suşları probiyotik özellikler sergileyen ve birçok fonksiyonel gıda ile diyet takviyesinde bulunan en yaygın kullanılan bakterilerdir. Probiyotiklerin antagonistik etkilerinin altında yatan temel mekanizmalar bağırsak bariyer fonksiyonunun iyileştirilmesi, mukoza ve epiteldeki rekabete bağlılığın artması ile bağırsak mikrobiyotik modifikasyonu ve bağırsak bağlantılı lenfoid bağışıklık sisteminin düzenlenmesidir. Günümüzde probiyotikler sağlığa yararlı etkilerinden dolayı tavsiye edilen fonksiyonel gıda ve diyet bileşenleri olarak bilinmektedir (Selle ve ark., 2014).

Probiyotik bakterilerin belirtilen terapötik özellikleri gösterebilmesi için vücuda en az 10<sup>6</sup> kob/g konsantrasyonunda canlı hücre verilmesi gerektiği bildirilmiştir. Bazı araştırmacılar tarafından probiyotik ürünlerin 10<sup>8</sup> kob/g ya da daha yüksek bir konsantrasyonda canlı bakteri içermesi gerektiği vurgulanmaktadır (Shortt, 1999).

*L. acidophilus* bağırsaktaki epitelyum hücrelerini başarılı bir şekilde kolonize ederek asidik şartlara ve safra tuzlarına karşı direnci ve aynı zamanda antogonistik maddeler ürettiği için gastrointestinal bölgede patojenik mikroorganizmalar ile rekabet edebilmektedir. *L. acidophilus*, pH 3'te ve altında gelişebilir ve bazıları gastrointestinal sistemden geçerken hayatta kalır. Laktik asit bakterilerinin aside toleransının sitoplazmik membran tabakasının bileşimine bağlı olduğu bildirilmektedir. Safra tuzlarına karşı direncin ise probiyotik olarak kullanılacak türler için gerekli kriterlerden olduğu belirtilmektedir (Oh ve ark., 2000).



Bağırsak mikrobiyotası konakçıyı patojen invazyonu ve kronik inflamasyondan doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklığın birçok yönünü de düzenlemektedir. Son zamanlarda araştırmacılar, bağırsak mikrobiyotalarındaki dengesizliklerin enfeksiyon, bağışıklık temelli bozukluklar, obezite ve insülin direncine yatkınlıkla ilişkilendirmişlerdir. Diyet stratejilerinin formülasyonunda probiyotik ve prebiyotiklerin kullanımı için güçlü bilimsel kanıtlar elde edilmiştir (Mallappa ve ark., 2012).

Diyet ile bağırsak mikrobiyolojisi arasında ilişki kurulduktan sonra çeşitli araştırmacılar tarafından probiyotik ve prebiyotik müdahalelere dayalı çeşitli diyet stratejileri önerilmiştir. Bilimsel veriler, bağırsak mikrobiyotasının doğumdan sonra ev sahibi ile birlikte geliştiğini ve yaşam boyunca ev sahibi ile dinamik etkileşimi sürdürdüğünü ortaya koymaktadır (Mallappa ve ark., 2012).

Probiyotik kültürleri çoğunlukla *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerinden oluşturulmuştur. *L. acidophilus* kompleks üyelerinin genellikle konakçı üzerinde yararlı etkiler sağladığı ve normal gastrointestinal mikrobiyotanın kurulmasını kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Geçtiğimiz on yıl içinde probiyotiklerin faydaları klinik çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Araştırma sayısındaki artışa rağmen in vivo olarak da probiyotikler tarafından sağlanan suş, doz ve alana özgü sağlık yararlarını netleştirmek için daha fazla çalışmaya gerek duyulmaktadır. Probiyotikler antimikrobiyal üretim, epitel hücre tabakasına yapışma, besin rekabeti ve benzer mikrop-mikrop etkileşimleri ile patojenlerin rekabetçi dışlanması yoluyla mide-bağırsak enfeksiyonlarına karşı koruyucu etki sağlamaktadır. *L. acidophilus*'un in vivo olarak patojenleri inhibe etme kapasitesine sahip laktik asit, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal bileşikler sentezleme gibi yetenekleri bulunmaktadır. Probiyotiklerin konakçıyı etkileyerek tight junction proteinlerinin up regülasyonunu sağlamakta olup müsin üretimi, defensin proteinlerini artırmanın yanı sıra hücrel apoptozun önlenmesini tetikleyerek epitel bariyer bütünlüğünü kuvvetlendirdiği bildirilmiştir (Mallappa ve ark., 2012; Selle ve ark., 2014).

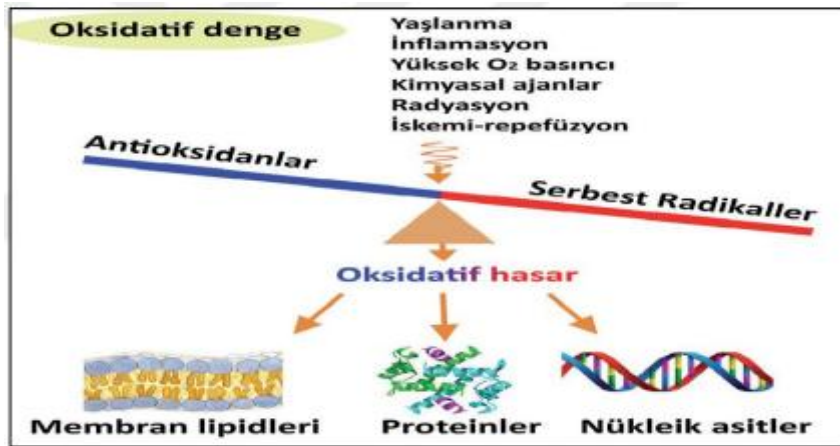
Hariom ve ark., (2007) tarafından yapılan deneysel çalışmada erkek albino wistar sıçanlar 8 hafta boyunca %21 fruktozlu solüsyonla beslenerek üç gruba ayrılmıştır. Birinci grup kontrol grubu olup ikinci grup yüksek fruktoza maruz kalanlar ile üçüncü grup yüksek fruktoz ve "dahi" adlı destekleyici süt ürünü alanlar oluşturmuştur. "Dahi" Hindistanın yerel bir fermente süt ürünü olup *L. acidophilus* ve *L.*

*casei* bakımından zengindir. Deney sonunda “dahi” destekleyici probiyotik verilen farelerde yüksek fruktoza maruz kalanlara göre açlık kan şekeri, plazma insülin seviyesi, karaciğer glikojeni, total kolesterol, serbest yağ asidi seviyesi daha düşük bulunduğu bildirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar; sağlıklı bir takviye diyetinin yüksek fruktoz kaynaklı glukoz intoleransı, hiperglisemi, hiperinsülinemi, dislipidemi ve sıçanlarda oksidatif stresin ilerlemesini önemli ölçüde geciktirdiğini göstermektedir (Hariom ve ark., 2007).

#### 2.4.1. Antioksidanlar

Antioksidanlar reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek, bu maddelerin meydana getirdiği hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine ait elemanlardır (Dündar ve Aslan, 2000; Kunwar ve ark., 2011).

Biyolojik sistemlerde reaktif oksijen türleri (ROS) ile reaktif azot türleri (RNS) DNA’ya zarar verebilmekte ve hücredeki lipid ve proteinlerin oksidasyonuna neden olabilmektedir. Normalde canlı vücudunda bulunan antioksidan sistemi oksidasyon ve antioksidanlar arasındaki dengeyi koruyarak radikalleri temizleyebilmektedir. Çevresel toksinlere maruz kalınması, aşırı oksidasyonların varlığında ve anti oksidasyon sisteminde dengeyi bozan bazı kronik ve dejeneratif hastalıklar sonucu aşırı ROS ve RNS üretimi meydana gelmektedir (Xu ve ark., 2017).



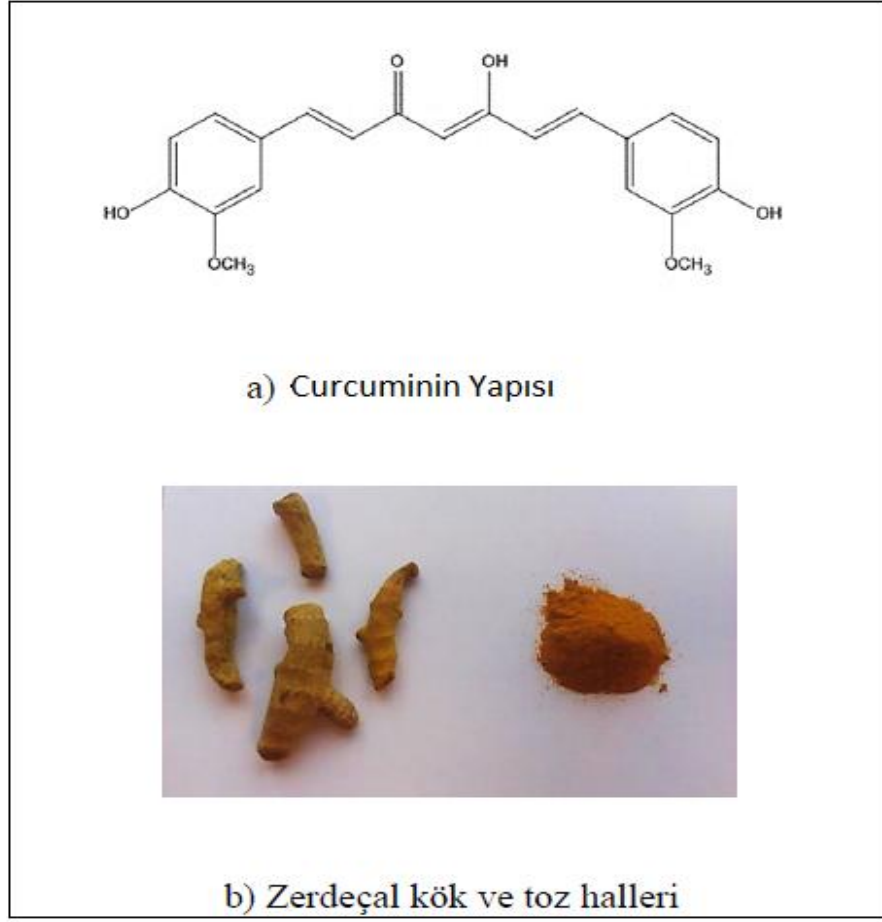
Şekil 3. Oksidatif denge (Özcan ve ark., 2015)

Eksojen antioksidanlar esas olarak meyve, sebze, tahıl, mantar, içecek, çiçek, baharat ve geleneksel şifalı otlar gibi bitkilerden elde edilebilmektedir. Bitki materyallerinden elde edilen bu doğal antioksidanlar esas olarak polifenoller (fenolik

asitler, flavonoidler, antosiyaninler, lignanlar ve stilbenler), karotenoidler (ksantofiller ve karotenler) ve vitaminler (E vitamini ve C) olarak sıralanabilir. Genel olarak bu doğal antioksidanlar özellikle polifenoller ve karotenoidlerdir. Bunlar anti-inflamatuar, antibakteriyel, antiviral, anti-aging ve antikanser gibi geniş bir biyolojik etki yelpazesine sahiptir (Xu ve ark., 2017).

### **Curcuminin Kimyasal Yapısı**

Curcumin; halk arasında “zerdeçal” olarak bilinen ve geleneksel Uzak Doğu tıbbında yaygın olarak kullanılan, Curcuma Longa (*C. longa*)’nın rizomlarından elde edilen, çok yönlü farmasötik etkinliği bilinen antioksidan özelliğine sahip polifenolik bir bileşiktir. Curcuminin uzun yıllar sindirim, solunum hastalıklarında kullanımı bilinmektedir. Günümüzde Uzak Doğu ülkeleri başta olmak üzere birçok ülkede tatlandırıcı, baharat ve gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır. Curcuminin antioksidan, antikanserojenik, antimutajenik, antidiyabetik, antibakteriyel, antiviral, anti-inflamatuar, anti-nosiseptif gibi çok yönlü farmasötik etkileri çeşitli deneysel çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Curcumin birçok hastalığın tedavisinde etkili olmasında ana etkenin güçlü antioksidan etkisi olduğu düşünülmektedir (Becit ve ark., 2017).



Şekil 4. a) Curcuminin yapısı, b) Zerdeçal kök ve toz halleri (Basmaz, 2014)

Zerdeçalın ana bileşeni curcumin, bis-demethoksi curcumin ve demethoksi curcumindir. Sarı bir fenolik pigment olan curcumin, süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit ve nitrik oksidi aktif makrofağlardan uzaklaştırarak etkili bir antioksidan görevi görür. Curcumin, polifenollere bağlıdır, antioksidan ve radikal temizleme özelliklerine sahiptir. Curcumin, E vitaminden birkaç kat daha iyi bir radikal temizleyicidir. Serbest radikalleri temizler ve lipid peroksidasyonunu ve hidroperoksit oluşumunu engeller. Curcuminin oksidatif stres modülasyonu ile asetilasyon ve deasetilasyonu düzenlediği belirtilmiştir (Akbay ve Pekcan, 2016).

Curcumin, direkt antioksidan aktiviteye ek olarak enflamatuar enzimlerin aktivitesini inhibe ederek veya glutatyon sentezini artırarak dolaylı antioksidan özellikler de göstermektedir. Curcuma Longa'dan izole edilen bileşenlerin güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu ve lipid oksidasyonu üzerinde çok önemli olduğu ifade edilmiştir (Akbay ve Pekcan, 2016).

Oksidatif stres, kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, nöronal hücre hasarı ve hipoksi gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde ve özellikle sinir sistemi hastalıklarında rol oynamaktadır. Bu konuda curcuminin değişik biyolojik etkenlerinin yanı sıra terapötik etkilerini ön plana çıkarmaktadır. Curcuminin serbest radikal temizleyicisi, indirgeyici madde ve DNA hasar inhibitörü olarak antioksidan etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Noorafshan ve Esfahani, 2013).

Curcuminin ağızdan alınan büyük bir kısmı dışkı tarafından atılmaktadır ve bir kısmı da konjugatlar yoluyla idrarla atılmaktadır. Curcuminin IV ve IP safra kanallarına uygulandığında ve uygulamadan hemen sonra metabolize edilerek dışkı ile atıldığı saptanmıştır. Curcuminin bağırsaktan düşük absorpsiyonu, karaciğerden yüksek metabolizma ve safranın hızlı atılımı, curcuminin plazma ve dokularda düşük seviyede olmasını açıklamaktadır. Bu nedenle curcuminin biyoyararlanımının düşük olduğu ve yarı ömrünün oldukça kısa olduğu sonucuna varılmıştır (Pan ve ark., 1999).

### **Curcuminin Beyin Dokusuna Etkisi**

Curcuminin bilişsel işlev üzerindeki nöroprotektif etkileri epidemiyoloji açısından çeşitli prelinik ve klinik modellerde araştırılmıştır. Düzenli curcumin tüketiminin daha iyi bilişsel işleve sahip olmak için yeterli bir takviye olduğu kaydedilmiştir (Noorafshan ve Esfahani, 2013). Curcumin nöroplastik ve onarımın önemli bir yolağı olan nörojenesis'i uyarabildiği saptanmıştır (Cole ve ark., 2007).

Hayvan modellerindeki bazı ön çalışmalar serebral iskemi/reperfüzyon hasarı, travmatik beyin hasarı (TBI), ensefalopati, beyin tümörü ve nöroinflamasyon içeren diğer nörolojik hasarlarda curcumin kullanımının anlamlı olduğu ve nörolojide çeşitli yararlı etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (Noorafshan ve Esfahani, 2013).

Curcuminin serebral hasara karşı nöro-koruyucu etkisi kan-beyin bariyerindeki bozulmanın düzeltilmesi ve beyin ödeminin azaltılmasında anti-oksidan, anti-inflamasyon ve anti-apoptotik etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Jichao ve ark., 2017).

Vücuda dışarıdan yapılan etkilere karşı bir reaksiyon olan inflamasyon yaşam dokularının yaralanmaya karşı reaksiyonudur. İnflamasyon sonucunda proinflamatuvar sitokinler ve reaktif oksidatif türleri (ROS) gibi nörotoksik faktörler üreten mikrogliya ve astrositlerin aktivasyonu ile tetiklenerek nöronal hasara ve daha sonraki bilişsel sorunlara neden olmaktadır. Bu nedenle nöral hasarda ortaya çıkan pro-inflamatuvar

sitokinler ve oksidatif stres Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif bozuklukta görülen hafıza bozukluğu ve diğer kognitif eksiklikler ile ilişkili olabilmektedir (Mishra ve Kalpana, 2008).

Nöroprotektif etkinliğine rağmen curcuminin kullanımı zayıf emilim, hızlı metabolizma, hızlı sistemik eliminasyon ve sınırlı kan-beyin bariyeri (KBB) geçirgenliği nedeniyle sınırlıdır. Bununla birlikte en zorlu faktör curcuminin düşük su çözünürlüğüdür (Normal pH'ta 0.4 µg/ml). Kemirgenler üzerinde klinik öncesi çalışmalar ve insanlar üzerindeki klinik çalışmalar da 10-12 g/ml oral yoldan curcumin verildikten sonra serumda curcumin (50 ng/ml) düzeyinin çok düşük olduğu dolayısıyla curcuminin biyoyararlanımının düşük olduğunu ortaya konulmuştur (Ullah ve ark., 2017).

Anand ve ark., (2007) deneysel hayvan çalışmalarında curcuminin yüksek dozlarının bile güvenli olduğunu bildirmişlerdir. Bunun, zayıf curcumin emiliminden, hızlı metabolizmadan ve hızlı sistemik eliminasyondan ve dolayısıyla plazma ve dokulardaki düşük seviyelerden kaynaklandığı rapor edilmiştir.

## **2.5. Translokator Protein**

Translokator Protein (TSPO) dış ve iç mitokondriyal zarlar arasındaki temas bölgelerinde bulunan 18 kDa'lık bir proteindir. Diazepam'a bağlanma özelliği nedeniyle daha önce periferik benzodiazepin reseptörü (PBR) olarak biliniyordu. Fonksiyonel olarak PBR sulu mitokondriyal intermembran alan boyunca kolesterol translokasyonundaki rolü nedeniyle protein 2006'da TSPO olarak isimlendirilmiştir (Papadopoulos ve ark., 2006).

Daha önce PBR (peripheral benzodiazepine receptor) olarak bilinen TSPO'nun işlevi son yıllarda aktif bir araştırma konusu olmuştur. Başlangıçta 1977'de merkezî sinir sistemi benzodiazepin reseptörü GABA<sub>A</sub> reseptöründen farklı benzodiazepinler için periferik bir reseptör olarak tanımlanmış ve o zamandan beri farmakolojik karakterizasyonu üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. PK11195 (bir izokinolin karboksamid türevi) ve Ro5-4864 (4'-klorodiazepam) gibi kimyasallar TSPO'ya yüksek afinite ile bağlanmakta ancak GABA<sub>A</sub> reseptörüne bağlanamamaktadır. GABA<sub>A</sub> reseptörü steroidogenez ve apoptoz gibi TSPO'nun aracılık ettiği potansiyel hücrel etkilerini araştırmak için kullanılmaktadır (Selvaraj ve Stocco, 2015).

Çok sayıda araştırmacı TSPO'nun kolesterol taşımadaki olası rolünü ele almış ve bu proteini steroidogenezi düzenleme ile ilişkilendirmişlerdir. İlk kanıtlar, TSPO ligandlarının in vitro olarak farklı hücre tiplerinde steroidlerin biyosentezini uyardığını gösteren çalışmalardan elde edilmiştir. TSPO'nun steroidogenez arasındaki rolünü göstermek için yapılan deneysel çalışmalarda diazepam alan erkeklerin plazmasında artan testosteron düzeyi ile diazepam maruz kalan ratlarda artan kortikosteron miktarı ve yüksek afiniteli TSPO ligandları ile tedavi edilen sıçanların ön beyinde pregnenolonun arttığı saptanmıştır. Sterojenogenez üzerindeki işlevleriyle uyumlu olarak TSPO'nun ekspresyonun gonadlar gibi steroid sentezleyen dokularda daha yüksek olduğu kaydedilmiştir (Arbo ve ark., 2015).

TSPO'nun kolesterol transportu ve steroidogenezin düzenlenmesindeki muhtemel ilişkisine ek olarak TSPO'nun mitokondriyal solunum, apoptoz ve hücre proliferasyonu gibi diğer mitokondriyal fonksiyonlara aracılık ettiği düşünülmektedir. TSPO mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneği (MPTP) açılımının kontrolü ile ilişkili olduğundan dolayı sitokrom C salınımı, kaspaz aktivasyonu ve apoptozu düzenlemekte rolü bulunduğu ifade edilmiştir (Arbo ve ark., 2015).

Mitokondriyal TSPO tarafından kontrol edilen yaşam ve ölüm fonksiyonları arasında  $Ca^{2+}$  homeostazı, reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumu ve ATP üretimi bulunmaktadır. TSPO kontrolü altındaki diğer mitokondriyal fonksiyonlar apoptozis ve tetrapirrol metabolizması olarak kabul edilmektedir. TSPO'nun gen ekspresyonu ve programlanmış hücre ölümü üzerindeki etkileri, TSPO ile ilişkilendirilebilecek geniş bir fonksiyon yelpazesi ile ilişkili olabileceğinden  $Ca^{2+}$ , ROS, ATP, steroid ve tetrapirrol elementi, TSPO'ların hücresel görevlerinin temelini oluşturmaktadır (Gavish ve ark., 2018).

### **2.5.1. Beyinde Translokator Protein**

TSPO'nun fizyolojik koşullarda beyindeki ifadesi düşüktür. MSS'de TSPO esas olarak gliada ve nöronlarda çok düşük seviyelerde ifade edilmektedir. TSPO ligandları, nöroinflamasyonun beyinde görüntülenmesi için kullanılmaktadır. Çünkü TSPO yaralanma ve enflamasyon bölgelerinde Alzheimer hastalığı (AD), Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, skleroz, amyotrofik lateral skleroz gibi nörodejeneratif rahatsızlıklar ile felç gibi birçok nöropatolojik durumda ekspresyonu artmaktadır (Arbo ve ark., 2015).

Steroid hormonlar nöral hücrelerde TSPO'nun ekspresyonunu ve aktivitesini düzenlemektedir. Öte yandan östradiol'un hipotalamik astrositlerde TSPO'yu aktive ettiği ve progesteron sentezini teşvik ettiği bildirilmiştir. TSPO düzeyi stresten etkilenmektedir. Zorla yüzme testine maruz kalan sıçanlarda yapılan çalışmada serebral kortekste TSPO ligand bağlanma seviyesinin stres indükleyici bir durumda arttığı belirlenmiştir (Rago ve ark., 1989; Arbo ve ark., 2015).

Periferel veya merkezî kaynaklı nöroaktif steroidlerin nöroprotektif ve anksiyolitik etki gösterdiği belirtilmiştir. TSPO'nun steroidogenesis ve apoptosis üzerindeki rolü göz önüne alındığında psikiyatrik bozukluklar, nörodejeneratif hastalıklar ve nörotravma için terapötik bir hedef protein olduğu düşünülmektedir (Arbo ve ark., 2015).

Nöroaktif steroidler çeşitli nörodejeneratif hastalık modellerinde nörokoruyucu etki gösterdiği ve psikiyatrik bozukluk modellerinde olumlu etkiye sahip olduğu kaydedilmiştir. TSPO'nun steroidogeneizde rol oynadığı, bunun da TSPO ligandlarının nöroaktif steroidlerin sentezini düzenleyerek nöroterapötik etki gösterebileceği öne sürülmüştür. Etifoksin, XBD173, 40-CD ve YL-IPA08 dâhil olmak üzere farklı TSPO ligandlarının uygulanmasından sonra beyindeki nöroaktif steroid seviyelerindeki değişiklikler tespit edilmiştir (Arbo ve ark., 2015). Tüm bu bulgular sinir sisteminde TSPO ligandlarının terapötik etkinliğinin nöroaktif steroid düzeylerindeki artışa aracılık edilebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte nöroaktif steroidlerdeki artış ile nöral hücrelerde TSPO ligandlarının etkileri arasındaki bağlantı kesin olarak ortaya konulamamıştır (Selvaraj ve Stocco, 2015).

Santral sinir sisteminde TSPO ekspresyonu normal fizyolojik koşullar altında çok düşüktür. Sadece astrosit ve mikroglialarda sınırlı düzeydedir. Bununla birlikte beyin hasarı ve inflamasyona yanıt olarak glial hücrelerinde TSPO düzeyinde önemli ölçüde artış olduğu bildirilmiştir (Selvaraj ve Stocco, 2015).

## **2.6. Nörosteroidler ve Metabolizması**

Nörosteroidler beyinde sentezlenen nöronal uyarılabilirliği modüle eden steroidlerdir. Fransız fizyolog Etienne Baulieu tarafından bulunan “nörosteroidler” terimi beyinde sentezlenen steroidleri belirtmek için yaygın olarak kullanılmıştır. Dolaşımdaki steroid hormonları hipokampusta ve diğer beyin yapılarında lokal olarak üretilen nörosteroidlerin sentezi için öncü olarak görev yapmaktadır. Nörosteroidler



yapısal özelliklerine göre allopregnanolon (THDOC) gibi pregnan nörosteroidler, androstanediol ve etiocholanone gibi androstan nörosteroidleri ve pregnenolon sülfat (PS) ve dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS) gibi sülfatlanmış nörosteroidler olarak sınıflandırılabilir. Genel olarak nörosteroidlerin akut etkileri, gen transkripsiyonunu düzenleyen klasik steroid hormon reseptörleri ile ilişkili değildir. Nörosteroidler hücre içi steroid reseptörlerini aktifleyememektedir. Beyin uyarılabilirliğini nöronal membran reseptörleri ve esas olarak GABA<sub>A</sub> reseptörleri olan iyon kanalları ile etkileşerek modüle edilmektedir. Nörosteroidler nöronal uyarılabilirliğin endojen düzenleyicileridir ve bu nedenle terapötik yaklaşımlar açısından önemlidir (Reddy, 2010).

Nörosteroidlerin biyosentezi periferik veya mitokondriyal benzodiazepin reseptörü olarak adlandırılan translokator protein (18 kD) tarafından kontrol edilmektedir (Costa and Guidotti, 1991; Korneyev ve ark., 1993). Translokator protein periferik dokularda ve beyinde yaygın olarak bulunmaktadır. Translokator protein mitokondriyal membranın dış zarında yer alır ve kolesterolün iç mitokondriyal membrana taşınmasını ve sonuçta nörosteroid sentezini uyarır (Papadopoulos ve ark., 2006). Translokator proteinin belirli ligandlarla aktivasyonu sonucunda kolesterolün intra mitokondriyal membrana akışını kolaylaştırarak kolesterolün bir ara ürünü olan pregnenolona dönüştüren iç mitokondriyal membranda bulunan bir enzim olan CYP450 scc'ye ulaşmasını artırmaktadır. Translokator proteininin seçici ligandları beyindeki nörosteroid biyosentezini uyarabilmekte ve Translokator proteinlerin nörosteroidogenezinde anahtar rol oynamaktadır (Auta ve ark., 1993; Ruppert ve ark., 2009).

Nörosteroidler öncü steroidlerden de novo sentez yoluyla glial hücreler ile nöronlar tarafından üretilmektedir (Mensah-Nyagan ve ark., 1999; Agis-Balboa ve ark., 2006). Beyin astrositleri ve nöronları kolesterolü nörosteroidlerin sentezi için gerekli bir ara ürün olan pregnenolona dönüştüren sitokrom P450 kolesterol yan zincir yarıma enzimini (CYP450scc) ifade etmektedir (Patte-Mensah ve ark., 2003). Böylece progesteronun kolesterolden in situ sentezi için gerekli enzimler beyinde bulunmaktadır. Nörosteroidogenez korteks hipokampus ve amigdala gibi beyin bölgelerinde yapılmaktadır. Bu beyin bölgelerinden nörosteroid sentetik enzimleri GABA<sub>A</sub>erjik inhibitör nöronlara değil glutamaterjik ana nöronlara lokalize olmaktadır (Agis-Balboa

ve ark., 2006). Genel olarak nörosteroidler hücre içi steroid reseptörlerinde aktif değildir. Beyin uyarılabilirliğini temel olarak nöronal membran reseptörleri ve iyon kanalları ile etkileşime sokarak modüle etmektedir. Nörosteroidlerin etkilerinin hızlı bir şekilde (dakikalar içinde) meydana gelmesine rağmen hücre içi steroid reseptörleri yoluyla steroid hormon eylemleri genellikle başlangıçta yavaştır ve uzun sürelidir. Nörosteroidler nükleer steroid hormon reseptörleri ile yüksek afinite etkileşimi göstermez. Progesteron reseptörü (PR) nakavt farelerde yapılan çalışmada progesteron ve ilgili nörosteroidlerin sedatif, anksiyolitik ve antikonvülsan aktivitesi için klasik steroid reseptörünün gerekli olmadığı gösterilmiştir. Nörosteroidler GABA<sub>A</sub> reseptörlerinin aktivitesini doğrudan aktive ettiği bildirilmiştir (Reddy, 2010).

## **2.7. Östrojen**

### **2.7.1. Östrojenin Genel Özellikleri**

Östrojen dişi cinsiyet özelliklerinin oluşması, üreme kabiliyetinin ortaya çıkmasındaki rolleriyle bilinen steroid hormonlardır. Östrojen kan-beyin bariyerini geçebilmektedir. Östrojen beyin de kolesterolden endojen olarak üretilebilmektedir. Böylece kadın fizyolojisi ve üreme alanındaki rolü ile birlikte araştırmalar östrojenin beyinde kritik bir sinyal molekülü olduğunu ortaya koymuştur. Östrojen reseptörleri (ER) beyindeki nöron ve gliada yaygın olarak bulunmaktadır. Östrojen reseptörleri (ER) her iki cinsiyette bulunmaktadır (Rettberg ve ark., 2014).

Kadınlarda doğal olarak üç ana östrojen bulunmaktadır. Bunlar; östron (E1), östradiol (E2) ve östriol (E3)'dür. Östrojenler yumurtalıklar ve adrenal bezler tarafından üretilmekte olup beyin, göğüs, kardiyovasküler (kalp ve damar), bağışıklık, üreme (yumurtalıklar ve uterus), mesane ve deri gibi birçok organ ve sistemi etkilemektedir (Kuiper ve ark., 1997).

Östrojen etkinliği, DNA'ya bağlanan ve gen ekspresyonunu kontrol eden dimerik bir nükleer protein olan östrojen reseptörü (ER) tarafından sağlanmaktadır. Östrojen diğer steroid hormonlar gibi hücrenin içine pasif olarak girmekte ve östrojen reseptörünü harekete geçirmektedir. Östrojenin ER kompleksi hedef genlerin transkripsiyonunu aktive etmekte olup hormon cevap elementi adı verilen spesifik DNA sekanslarına bağlanmaktadır (Rettberg ve ark., 2014).

Östrojenlerin nörotrofik ve nöro-koruyucu faktörler olarak işlev gördükleri bildirilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalar östrojenlerin çeşitli nörodejeneratif hastalıklar ve yaralanma durumlarına karşı koruyucu amacıyla uygulanabileceğini göstermektedir (Suzuki ve ark., 2006).

Östradiol'ün yetişkin beyindeki koruyucu rollerin yanı sıra önemli trofik (besleyici) rol oynadığı ortaya konulmuştur. Yapılan çalışmalardan elde edilen fizyolojik ve patolojik bulgular östradiol'ün yetişkin beyinde hücre proliferasyonunu etkilediğini göstermektedir (Garcia ve Sagura, 2001).

### **2.7.2. Östrojenin Beyin Dokusu Üzerine Etkileri**

Östradiol'ün üreme fonksiyonundaki köklü rolleri yanında merkezî sinir sisteminin gelişiminde ve erişkinlikte normal beyin fonksiyonunun sürdürülmesinde önemli rolleri bulunmaktadır. Fetal gelişim sırasında östradiol beyin cinsel farklılaşmasında kritik bir rol oynamaktadır. Östradiol nöronal ve glial plastisite, dendritik büyüme, sinaptogenezis, farklılaşma, nörogenezis ve hücre göçü gibi gelişmekte olan beyinde sayısız hücre fonksiyonları etkilemektedir. Östradiol sadece beyin düzgün organizasyonu ve cinsel farklılaşması için gerekli değildir aynı zamanda normal beyin fonksiyonlarının korunması ve beyni çeşitli nörodejeneratif hastalıklar ve yaralanmalardan korunmada önemli rolleri bulunmaktadır (Suzuki ve ark., 2006).

Östradiol'ün olası nöroprotektif mekanizmaları lokal ve periferik etkiler olarak iki temel gruba ayrılabilir. Lokal etkileri sinir sistemini doğrudan etki etmektedir. Periferik etkileri ise metabolizmanın düzenlenmesinde görev almaktadır. Lokal etkileri östrojen reseptörlerinin aktivasyonuna bağlı ve östrojen reseptörlerinin etkilerine bağlı olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilir. Ayrıca östradiol'ün lokal etkileri nöronlar, glial hücreler ve sinir sisteminin diğer hücresel elemanları üzerine uygulananlar olarak kendi içinde ayrılmaktadır (Garcia ve Sagura, 2001).

Östradiol'ün nöronal kültürlerdeki nöronların canlılığını ve hayatta kalmasını destekleyen bir faktör olduğu bilinmektedir. Östradiol nöronal kültürlerde serumsuz kültür ortamına eklenen bileşenlerden biridir (Faivre-Bauman ve ark., 1981). Kültür ortamına 17-beta-estradiol eklenmesi ile hipotalamik nöronlar, amigdala nöronları, neokortikal nöronlar veya hipokampal nöronlar dâhil olmak üzere farklı nöronal kültürlerin canlılığını, hayatta kalmasını ve farklılaşmasını artırdığı saptanmıştır (Arimatsu and Hatanaka, 1986 ; Chowen ve ark., 1992; Brinton ve ark., 1997).

Östradiol her yaştan bireyde nöronların hayatta kalması için gerekli olan nöro-koruyucu etki göstererek üreme hormonundan daha fazla işlev görmektedir. Bununla birlikte klinik öncesi çalışmalar ve klinik denemeler arasındaki farklı sonuçlar östradiol ve diğer nöro-koruyucu hormonların kullandığı moleküler mekanizmaların karmaşıklığını vurgulamaktadır (Suzuki ve ark., 2006).

Epidemiyolojik ve temel bilim çalışmaları nöroproteksiyonda önemli bir faktör olarak östrojene işaret edilmektedir. Östrojenin işlevi progesteron ve androjeninkilerle yakından ilişkilidir ve östrojenin nöroproteksiyon etkisi diğer steroid hormonlardan bağımsız değerlendirilmesini güçleştirmektedir. Östrojen hem progesteron hem de androjenin hücre içi reseptörlerinin ekspresyonunu düzenlemekte böylece progesteron ve androjenin biyolojik etkileri östrojene önceden maruz kalmaya bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca testosteron östrojen sentezi için bir öncü olup bu dönüşümden sorumlu enzim olan aromataz beyinde bulunmaktadır (Garcia ve Sagura, 2001).

## **2.8. Progesteron**

### **2.8.1. Progesteron ve Beyin Dokusu Üzerine Etkileri**

Progesteron dişilerde ovaryumlardan, erkeklerde ise testisler ile adrenal korteks tarafından sentezlenen önemli bir gonadal hormondur. Progesteron seviyeleri genellikle kadınlarda en yüksek olmakla birlikte menstrüel siklusun folikül aşamasında progesteron düzeylerinin erkeklerde görülen progesteron seviyelerine benzer olduğu rapor edilmiştir. Bu nedenle erkekler için de aynı derecede önemli olabilmektedir. Progesteronun etkilerini ortaya çıkardığı “klasik” mekanizma östrojen reseptörü (ER) gibi klasik olarak bir nükleer transkripsiyon faktörü olarak tanımlanan progesteron reseptörü (PR) aracılığıyla transkripsiyonu düzenlemek için hedef genlerin promotör bölgesi içinde spesifik progesteron yanıt elementleri (PRE) aracılığıyla etki etmektedir. Progesteron reseptörleri gelişmekte olan ve erişkin beyinde yaygın olarak bulunmakta olup bazı beyin bölgeleri ise progesteronun doğal hedefi olduğu ifade edilmiştir (Singh ve Su, 2013).

Östrojen gibi progesteron da klasik olarak üreme fonksiyonu ile ilişkili olan bir gonadal steroid hormon olup progesteronun beyinde hipotalamus ve hipotalamus dışı etkileri de bulunmaktadır (Singh ve Su, 2013).

Progesteron ve östrojen reseptörlerin geniş yayılımı gonadal hormon eyleminin daha geniş kapsamını desteklemektedir. Bu çeşitlilik gonadal hormonların nöral büyüme ve farklılaşmasını, hayatta kalmasını, plastisitesini ve rejenerasyonu düzenleme kabiliyetini artırmaktadır. Ayrıca bilinçsel işlevi modüle etme yeteneği bulunmaktadır (Singh ve Su, 2013).

Progesteronun koruyucu etkilerini açıklamak için birçok mekanizma kullanılmaktadır. Örneğin, progesteron hormonunun klasik genomik mekanizması nörotrofin sentezlenmesini düzenlemektedir. Bu da hücre sağkalımını hızlandırabilmektedir. Alternatif olarak progesteron sinir korunması için önemli olan hücresel olayları tetikleyen belirli sinyal iletim yollarını aktive etmek için membran PR veya sigma reseptörü (progesteron için bir başka varsayılan reseptör) gibi yeni reseptör sistemleri vasıtasıyla etki gösterebilmektedir. Buna ek olarak allopregnanolon gibi progesteronun başlıca metabolitlerinin progesteronun nöroprotektif etkilerine katıldığı rapor edilmiştir (Ciriza ve ark., 2004;Kaur ve ark., 2007).

Progesteron ve nörotrofinler arasındaki ilişkiye bakılarak progesteron da dâhil olmak üzere steroid hormonların BDNF'nin (beyin türevi nörotrofik faktör) ekspresyonunu arttırdığı ortaya konulmuştur. Ayrıca progesteron kaynaklı koruma için nörotrofin sinyalizasyonunun gerekli olduğu görülmüştür (Kaur ve ark., 2007).

Progesteronun koruyucu etki gösterebileceği diğer bir mekanizma ise metabolitlerinin GABA<sub>A</sub> reseptör sistemi gibi membran iyon kanallarına bağlı reseptörlerle etkileşime girmesidir. Bu metabolitler arasında yer alan allopregnanolon (veya 3 $\alpha$ , 5 $\alpha$  tetrahidroprogesteron) GABA<sub>A</sub> reseptör kompleksinin hidrofobik alanı içindeki ayrı yerlere bağlanmaktadır (Deutsch ve ark., 1992). Allopregnanolonun progesteronun koruyucu etkilerine aracılık etmede rolü olduğu öne sürülmüştür. Bu metabolitler GABA kaynaklı klorür iletkenliğinin güçlendirilmesine neden olmaktadır. Allopregnanolonun GABA<sub>A</sub> reseptörü üzerindeki etkilerine ilaveten mitokondri üzerindeki etkileri yoluyla koruyucu etkileri olduğu bildirilmiştir (Djebaili ve ark., 2004). Örneğin, allopregnanolonun mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin (mtPTP) açılması ile ilişkili akımları inhibe ettiği ve bu nedenle müdahale veya yaralanma sırasında mtPTP açılmasının (sitokrom c salımı gibi) potansiyel apoptotik sonuçlarının azaltılmasına yardımcı olduğu bildirilmiştir (Sayeed ve ark., 2009).

Beyin, gelişimi ve aktiviteleri endojen ve ekzojen uyarılar tarafından modüle edilen bir organdır ve beyindeki seks steroid hormonlarının etkilerini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Endojen ve ekzojen steroid hormonları spesifik reseptörlerle bağlanma yoluyla beyin fonksiyonunu düzenleyebilmektedir. Gonadal steroidler için reseptörler birkaç beyin bölgesinde tanımlanmıştır. Bunlar amigdale, hipokampus, korteks, bazal ön beyin, beyincik, lokus coeruleus, orta beyin çekirdeği, gliyal hücreler, hipofiz bezi, hipotalamus ve merkezî gri cevher gibi merkezlerdir (Genazzani ve ark., 2000).

Beyindeki östrojenlerin, androjenlerin ve progestinlerin etki mekanizması hem genomik hem de genomik olmayan etkiler dâhil olmak üzere periferik hedef organlarda gözlenenlere benzerdir. Klasik genomik mekanizmalar yoluyla steroidler gen transkripsiyonunu ve protein sentezini modüle eden spesifik hücre içi reseptörleri aktive ederek nöronlar üzerinde daha yavaş, uzun süreli etkilere neden olmaktadır. Bu nedenle gonadal steroidler birçok nöropeptid ve nöroaktif vericinin sentezini, salınmasını ve metabolizmasını ve reseptörlerinin ekspresyonunu modüle etmektedir. Özellikle nörotransmitterler arasında yer alan noradrenalin, dopamin, gama-aminobütirik asit (GABA), asetilkolin, serotonin ve melatonin, cinsiyet steroid hormonları tarafından düzenlenmektedir. Gonadal hormonlar tarafından doğrudan modüle edilen nöropeptitler arasında opioid peptitler, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), kortikotropin-salgılatıcı faktörü (CRF) ve nöropeptid Y(NPY) yer almaktadır (Alonso-Soleis ve ark., 1996; Panay and Studd, 1998; Sundstrom ve ark., 1999).

Progesteron ve türevleri spesifik fizyolojik veya patolojik uyarılara yanıt olarak çeşitli nörotransmitterlerin ve nöropeptitlerin sentezini ve salınmasını modüle etmektedir. Özellikle beyin bölgeleri arasında hipotalamus ve anterior hipofiz bezi, androjenlerin, östrojenlerin ve progestajenlerin başlıca iki hedefi olarak kabul edilmektedir. Hipotalamik seviyede seks steroid hormonları için ana hedef GnRH'nin pulsatil salınımını üreten nöronlardır. GnRH'nin salınması gonadal steroidler, hipofiz gonadotropinler ve nöroendokrin sistemler arasındaki karmaşık ve koordineli ilişkilere bağlıdır. Bu veriler tek başına veya birlikte kullanılan farklı östrojen, progestin ve androjen moleküllerinin beyin fonksiyonları üzerinde çeşitli etkiler gösterdiği fikrini desteklemektedir. Gonadal hormonlar fizyolojik beyin fonksiyonlarının sürdürülmesinde birincil öneme sahiptir. Beyin fonksiyonlarının karmaşık ve büyüleyici

mekanizması üzerinde nöroaktif steroidlerin önemli katkısı bulunmaktadır (Genazzani ve ark., 2000).

## **2.9. Testosteron**

### **2.9.1. Testosteronun Genel Özellikleri**

Testosteron hormonu başlıca erkeklerin testislerindeki Leydig hücrelerinden üretilmektedir. Gonadal seks steroid hormonu olan testosteron beyin dâhil birçok vücut dokusunda çeşitli etkilere sahiptir. Testosteron; üreme fonksiyonlarının yanında kas kitlesi, libidonun artışı, vücut kılları ve osteoporozis riskini azaltmaktan sorumludur (Bialek ve ark., 2004). Testosteron sinir sisteminin gelişiminde de rolü bulunmaktadır. Merkezî sinir sisteminin (MSS) gelişiminin belirli kritik dönemlerinde cinsiyete özgü morfolojik ve davranış kalıplarının varlığı testosteron hormonunun varlığı veya yokluğu ile ilişkilendirilmiştir (Day ve ark., 1998).

Testosteron testisler ve böbrek üstü bezleri tarafından fizyolojik olarak salgılanır ve seks hormonu bağlayıcı globülinler (SHBG) ve albüminler tarafından taşınmaktadır. Testosteronun yaklaşık %60-70'i SHBG'ye sağlam olarak bağlanırken geriye kalan %30-40'ı ise gevşek olarak albümin ile bağlanmaktadır. Testosteronun sadece %0,5-2'si serbest olarak bulunmaktadır. Kadın ve erkeklerde SHBG arasında farklılık bulunmaktadır. SHBG düzeyi erkeklerde yaşla birlikte artmakta olup bu nedenle serbest testosteron seviyesi azalmaktadır (Bialek ve ark., 2004).

Testosteron hedef dokularda doğrudan etkili olabilir veya dihidrotestosteron ve östradiol'e dönüştürülerek etki gösterir. Dihidrotestosteronu dönüştüren 5-alfa redüktaz enzimi prostatta, deride ve üreme organlarında yoğunlaşırken yağ dokusu, karaciğerde ve beyinde daha yoğun olarak aromataz enzimi bulunur. Dolaşımdaki testosteronun %98'i albumin ya da seks hormonu bağlayıcı globuline olmak üzere proteine bağlıdır. Dokulardan geçen ve androjen reseptörlerine bağlanan kısım, proteine bağlı olmayan testosterondur. Hipofiz bezi, korteks, talamus, hipotalamus, beyin sapı ve amigdalada androjen reseptörleri bulunduğu bildirilmiştir (Kartalcı, 2010).

Testosteron androjen reseptörleri (AR'ler) aracılığıyla etki yapmaktadır. Memelilerde beyin, prostat, testisler, yumurtalık ve adrenal bezler gibi androjene duyarlı dokular belirlenmiştir. AR'ler beyindeki nöronlarda da bulunmaktadır. Bu reseptörlerin memelilerdeki dağılımı biyokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemler

kullanılarak tanımlanmıştır. AR düzeyinde cinsiyete bağlı farklılıklar bulunduğu kaydedilmiştir. Fare beyinlerinde total AR protein konsantrasyonu vasıtasıyla cinsel dimorfizm araştırılmış ve erkeklerde dişilerden daha yüksek AR protein konsantrasyonu olduğu rapor edilmiştir (Biazek ve ark., 2004).

Testosteron kemik ve kas kütlelerinin korunmasında, eritropoezde ve zihinsel işlevlerde önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca testosteronun glukoz homeostazı ve lipid metabolizmasında anahtar bir rolü bulunmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar plazma testosteronu ve insülin duyarlılığı arasında doğrudan bir ilişki olduğunu saptamıştır. Androjen yoksunluğu bulunan prostat kansinomu erkeklerde düşük testosteron seviyelerinin tip 2 diabetes mellitus riski artışı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Düşük total testosteron ve düşük cinsiyet hormonu bağlayan globulin (SHBG) miktarı ile metabolik sendromun arasında korelasyon bulunmaktadır. Hipotestosteronaemi'nin metabolik sendromun tanımında bir unsur olması gerektiğini savunan kanıtlar bulunmaktadır. Testosteronun erkek sağlığı için çok önemli bir hormon olduğu vurgulanmıştır (Saad ve Gooren, 2009).

Sağlıklı yetişkin erkeklerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda serum testosteronu ile insülin direnci arasında bir ilişki olduğu görülmektedir: Testosteronu düşük olan erkeklerde açlık ve 2 saatlik plazma insülini daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Simon ve ark., 1997). Başka bir çalışmada ise obez grupta normal ve kilolu deneklere göre total testosteron ve SHBG düzeyinin daha düşük olduğunu kaydedilmiştir. Ortalama insülin konsantrasyonunun ise obez grupta diğer gruplara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Total testosteronun vücut kitle indeksi, bel çevresi, leptin, insülin ve ayrıca HOMA-IR ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (Osuna ve ark., 2006).

### **2.9.2. Testosteronun Beyin Dokusu Üzerine Etkileri**

Testosteron hormonunun az bilinen eylemlerinden biri nöroprotektif rolüdür. Nöroproteksiyon etki sinir sisteminin hücrelerinin yapısının ve fonksiyonunun devamlılığı, iyileştirilmesi veya yenilenmesine neden olabilecek bir etkidir. Endojen ajan olarak testosteron serbest formda kan-beyin bariyerini geçebilmekte ve nöronal hücreleri etkileyebilmektedir (Iqbal ve ark., 1983). Testosteronun direkt etkisi androjen yolu ile dolaylı olarak ise östrojene dönüşüm yoluylaadır. Androjen ile östrojen nöroproteksiyonunu ayırt etmek için araştırmacılar östrojen reseptörü antagonisti olan



droksifen ile testosteron korumasının engellenip engellenmediğini araştırmışlar ve testosteronun sağladığı nöroproteksiyon etkinin droksifen ile azalmadığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar testosteronun östrojenle nöroproteksiyon yeteneği gösterdiğini ancak testosteronun bu hücre hareketi ayrı bir mekanizma ile indüklediğini düşündürmüştür (Pike, 1999).

Testosteronun hücre etkileri genomik ve nongenomik kategorilere ayrılabilir. Genomik etkileri yeni gen ürünlerinin transkripsiyonu ve çevirisi ile ilgilidir ve tam olarak gelişmesi için uzun zaman gerekmektedir. Nongenomik etkisi çok hızlı gerçekleşmekte olup iyon hareketleri veya sinyal iletim kaskadlarının başlatılmasını içermektedir (Falkenstein ve ark., 2000).

Testosteronun nörotrofik etki gösterdiği saptanmıştır. Beyer ve Lustig (1994), sinir hücre kültürlerinde androjen yollarının aktivasyonundan sonra nöronal farklılaşmayı ve değişimi gözlemlemişlerdir (Beyer ve ark., 1994). 15 günlük fare embriyosunun hipotalamusu ve kortekstinde cinsiyete özgü birincil hücre kültürleri hazırlamışlar ve aromataz aktivitesinin erkeklerde dişi dokulara kıyasla daha yüksek olduğunu ve testosteron tedavisinden sonra erkeklerde ve dişilerde belirgin olarak arttığını ortaya koymuşlardır (Beyer ve ark., 1994).

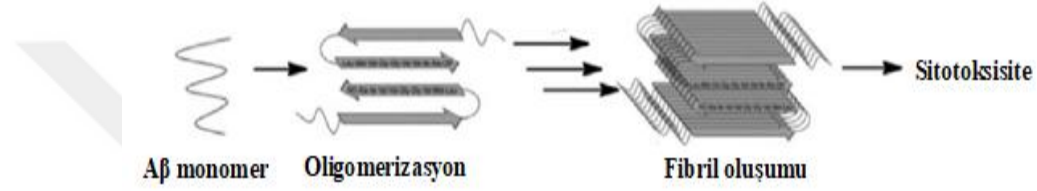
Erkek kemirgenlerde yapılan çalışma testosteronun spinal nükleusun motor nöronlarında, nöron somal boyutu, nevritik büyüme, plastisite ve sinaptogenezdeki artışla bağlantılı olduğunu göstermektedir (Matsumoto,1997). Ogata ve ark., (1993) testosteronun spinal kord nöronlarını glutamattan indüklenen nöronal hasara karşı koruduğunu bildirmiştir. Hormon, in vitro omurilik hasarın derecesini azaltmıştır (Ogata ve ark., 1993).

Nörosteroidler merkezî sinir sisteminin normal fonksiyonu için gerekli bileşenler olarak düşünülmüştür. Gonadal steroid hormonları üreme fonksiyonu için gereklidir ancak androjenler ayrıca beynin hipokampus, preoptik alan, amigdala ve medial hipotalamik alanlarını etkilemektedir. Fizyolojik düzeylerde androjenler nöronal farklılaşma, nörolojik koruma, nöronal sağkalım ve gelişim ile ilişkilendirilmiştir (Bialek ve ark., 2004).

## 2.10. Beta Amiloid Protein

### 2.10.1. Amiloid Protein

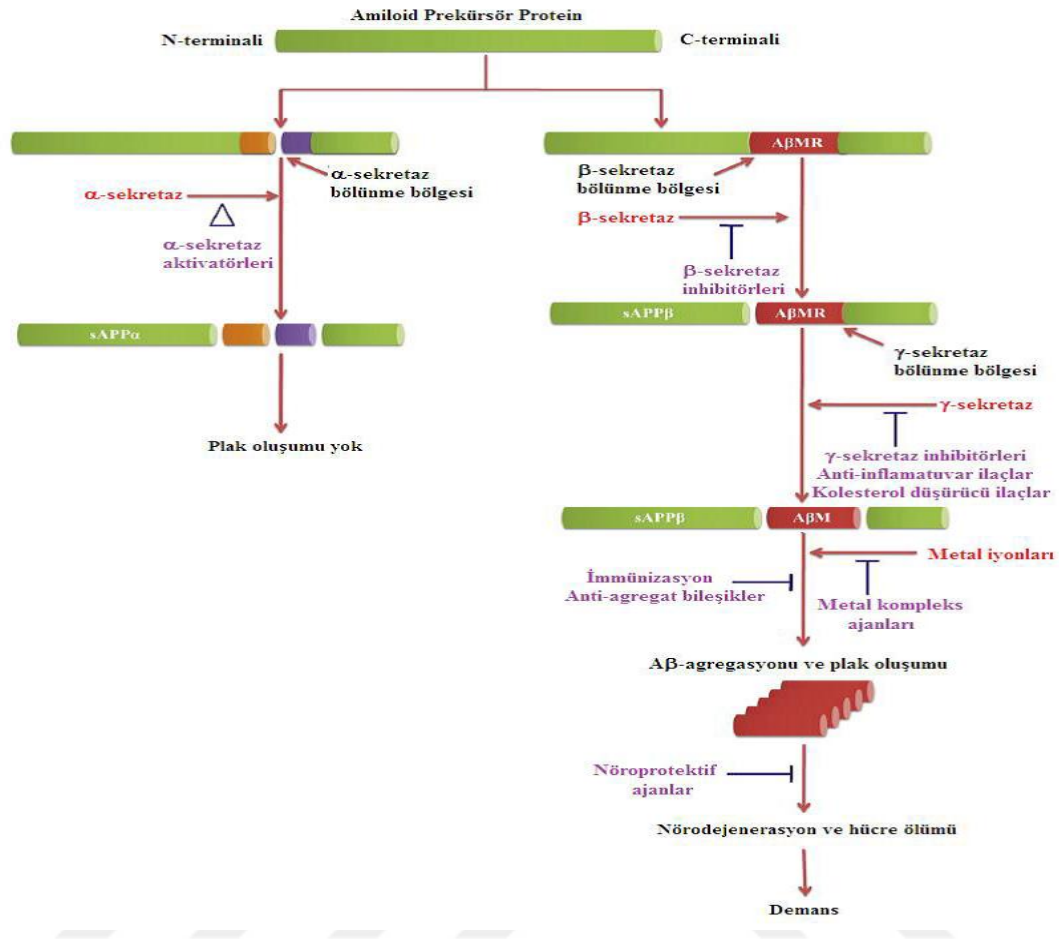
Amiloid protein vücutta oluşan protein birikimi veya plak oluşumu için kullanılan bir terimdir. Amiloidler hücre dışı çözünmez lifli protein agregatlarıdır. Amiloid fibrillerin beta-tabaka özellik göstermesi karakteristik bir özelliktir. Bu nedenle çökelti oluşturan proteinlerin yapısı değiştirilir ve genellikle uygun olmayan katlanmalar gösterir. Yanlış katlanmış proteinler birbirleriyle ve diğer proteinlerle etkileşip agregatlar oluşturur ve bu amiloid fibrillerin belirli organlarda birikmesi olayı amiloidoz olarak adlandırılmaktadır (Cardenas-Aguayo ve ark., 2014).



Şekil 5. Aβ 1-42 agregasyonun varsayılan mekanizması (Sarikaya, 2018)

Aβ peptitleri çok daha büyük prekürsör APP'in parçalanmasıyla oluşmaktadır. APP Alzheimer hastalığı (AD) patogenezinde merkezî bir rol oynayan nöronların sinapslarında ve birçok dokuda eksprese edilen bir zar proteindir. APP büyük bir hücre dışı glikozillenmiş N-terminali ve daha kısa bir sitoplazmik C-terminustan oluşmaktadır. APP'nin sinaptik oluşum ve onarımda anterograd nöronal taşınımında görevli olduğu anlaşılmaktadır. 695 ile 770 aminoasit arasında değişen birkaç farklı izoformları bulunmaktadır. Beyinde en bol olan formu (APP695) nöronlar tarafından üretilmektedir (Chen ve ark., 2017).

APP β-sekretaz ve γ-sekretazlar ile kesilerek 37 ile 49 amino asit artığı Aβ peptitleri üretmek için kullanılan öncü molekül olarak bilinmektedir. Amiloidojenik ve nonamiloidojenik olarak iki alternatif yolla işlenmektedir. APP ilk olarak alfa-sekretaz (nonamiloidojenik yol) veya β-sekretaz (amiloidojenik yol) ile parçalanmakta ve membrana bağlı (α veya β) C terminal fragmanları üretilmektedir. APP'nin α-sekretaz ile yarılmaması hücre yüzeyinden sAPPα'yı serbest bırakmakta ve geride 83-amino asitli α- C terminal fragmanları bırakmaktadır. Elektrik aktivitesine ve muskarinik asetilkolin reseptörlerinin aktivasyonuna yanıt olarak sAPPα'nın üretimi artmaktadır (Chen ve ark., 2017).



Şekil 6. Aβ Agregasyonu ve plak oluşumu (Sarıkaya, 2018)

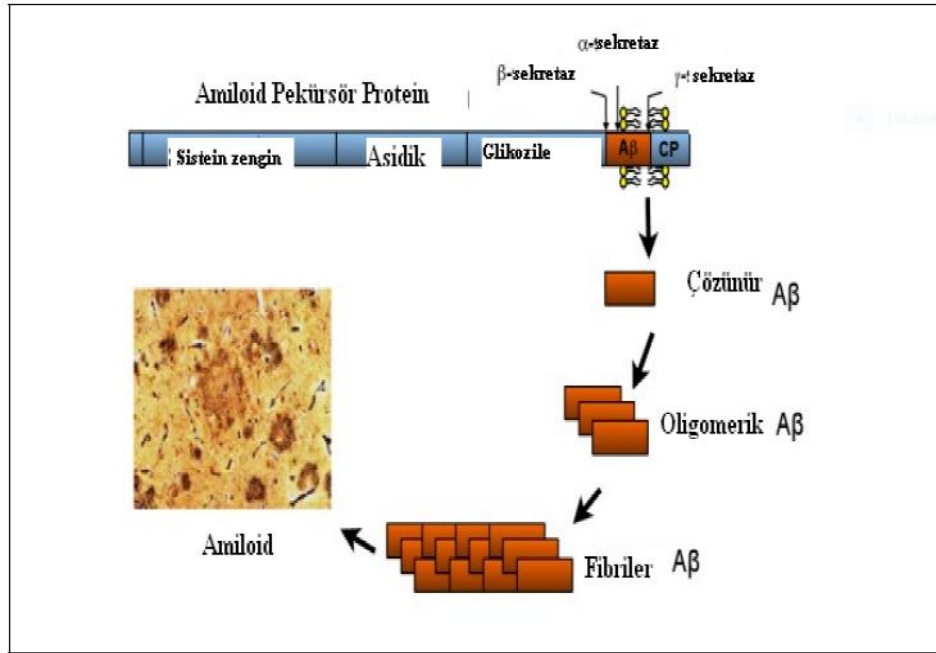
Sinaptogenez sırasında APP düzeyi artmaktadır. APP'nin sinaptik vezikül ekzositozu ve kalsiyum homeostazını düzenleyen sinaptik veziküllerin kalsiyum sensörüyle etkileşime girdiğini gösteren kanıtlar vardır. Ayrıca APP; aksonal gelişim ve nöronal fonksiyonların yeniden yapılandırılmasına da katkıda bulunmaktadır (Cardenas-Aguayo ve ark., 2014).

### Beta Amiloid Proteinin Genel İşlevi

Amiloid Beta (Aβ) amyloid precursor protein (APP)'den amiloidojenik yolu ile üretilen bir peptiddir. Aβ peptidi kendinden birikme kabiliyetine sahip olup monomerler, dimerler veya oligomerler olarak bulunmaktadır. β-tabaka yapısına sahip fibriller oluşturarak ve hücre dışı plaklar şeklinde çökelebilmektedir. Aβ peptidleri patolojik koşullarda yüksek miktarda üretilmekle birlikte özellikle sinaptik aktivite sırasında normal beyinlerde düşük seviyelerde bulunmaktadır. APP bakıra yüksek afiniteye gösteren zar proteinidir ve APP'nin nörogelişimde rol aldığı ve nöronal büyüme için

gerekli olduğu rapor edilmiştir. APP ayrıca sinaptogenezise ve hücre adezyonu olaylarına katılmaktadır. Yüksek konsantrasyonlarda (mikromolar) A $\beta$  birikimi nörotoksisite nedeniyle nöronal ölüme neden olmaktadır. A $\beta$ 'nın düşük konsantrasyonları (pikomolar) ise besleyici sinyal etkisi göstermekte ve sinaptik aktivitenin modülatörü olarak hafıza ve öğrenmeyi olumlu etkilemektedir. Cirrito ve meslektaşlarına göre beyindeki A $\beta$  peptid seviyeleri dinamik olarak değişmekte ve doğrudan sinaptik aktiviteden etkilenmektedir. Ayrıca A $\beta$  kenetleyici ve antioksidan bir molekül olarak işlev görebilmektedir (Cirrito ve ark., 2003). A $\beta$ 'nın fonksiyonel özellikleri tamamen aydınlatılamamıştır. Son çalışmalarda çözümlü özellikteki A $\beta$ 'nın sinaptik fonksiyon ve oksidatif strese karşı savunmanın düzenlenmesinde nöronal büyümenin, hücresel sağkalımın kolaylaştırılmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Ayrıca A $\beta$ 'nın fizyolojik konsantrasyonlarının öğrenme ve bellek üzerinde etkisi bulunduğu vurgulanmıştır (Cardenas-Aguayo ve ark., 2014).

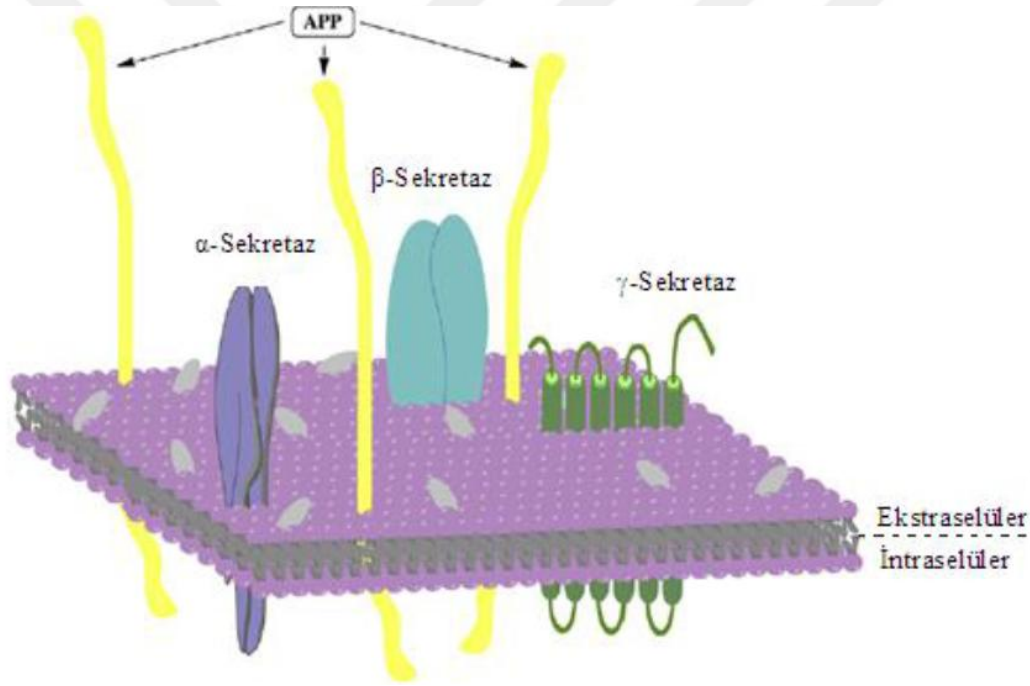
Şekil 7. Amiloid Şelale hipotezi (Özer, 2012)



A $\beta$ 'nın konsantrasyonuna bağlı olarak sinaptik elastığı bozduğu düşünülmektedir. Yüksek seviyelerde A $\beta$ 'nın uzun vadeli potentizasyon (LTP)'u belirgin olarak düşürdüğü bulunmuştur. Sinaptik plastisite öğrenme ve bellekle ilişkili olup yapısının bozulması durumunda hafıza kaybına neden olmaktadır A $\beta$  peptidleri beyin nöronlarında yaşam boyunca yüksek miktarda bulunmamaktadır. Normal ve

sağlıklı bireylerde düşük miktarda mevcut olması yaşam için gerekli fizyolojik görevlerinin olduğu ihtimalini akla getirmektedir (Cardenas-Aguayo ve ark., 2014).

Beyinde bellek ve bilinç gibi önemli olan fonksiyonlar A $\beta$  proteininin anormal birikimi sonucu bozulmaktadır. A $\beta$  amiloid öncü proteininden (APP) üretilen hücrel metabolizmanın normal bir ürünüdür. APP endoplazmik retikulumda (ER) sentezlenmekte ve daha sonra golgi kompleksinde olgunlaşmasını tamamlayarak plazma membranına taşınmaktadır. Plazma zarındaki olgun APP  $\beta$ -sekretaz ve  $\gamma$ -sekretazın ardışık aksiyonu ile A $\beta$  oluşturmak için parçalanmaktadır. Yeni oluşturulan A $\beta$ 'ya hücre dışı boşluğa salınmakta ya da plazma membranı ve lipid yapıları ile ilişkili kalmaktadır. A $\beta$ 'nın lipid yığınlarındaki ganglioside GM1'e bağlanması ile A $\beta$  agregasyonunu artırmaktadır (Chen ve ark., 2017).



**Şekil 8.** APP'nin ve nöronal zar üzerinde üç sekretazın şematik gösterimi (Sarıkaya, 2018)

Yapılan çalışmalarda hücrel ölüm, hafıza kaybı ve diğer AD özelliklerine yol açan nedenlerin nörotoksik ajan olan A $\beta$  fibrillerinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda A $\beta$  peptidinin oligomerik veya prefibriler türlerinin nöronal hücrelere en çok zarar verdiği görülmüştür. Çözünebilir A $\beta$  proteinlerin hücre dışı reseptörlerine hücre yüzey reseptörlerine, metaller ve hücrel membranlar dâhil çeşitli moleküllere bağlanabildiği ifade edilmiştir (Chen ve ark., 2017).

Pasinetti ve Eberstein (2008) tarafından ortaya atılan hipoteze göre metabolik sendrom ve beta amiloid protein arasındaki ilişkiyi göstermektedir. İnsülin metabolizmasındaki anormalliklerin amiloidojenik A $\beta$  peptidlerinin sentezi ve bozulması üzerine etkili olabileceği ifade edilmiştir. İnsülinin plazma membranında amiloid öncü proteini (APP)/A $\beta$  trafiğini hızlandırarak A $\beta$  birikimini önemli ölçüde artırdığı kaydedilmiştir. (Pasinetti ve Eberstein, (2008).

Ho ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada insülin direncini uyan bir diyetin sekretaz aktivitesini artırarak ve insülin azaltıcı enzim (IDE) aktivitesini azaltarak Tg2576 farelerinin beyinde amiloidojenik A $\beta$ -amiloid (A $\beta$ ) A $\beta$ <sub>1-40</sub> ve A $\beta$ <sub>1-42</sub> peptit üretimi ve amiloid plak oluşumunu teşvik ettiği rapor edilmiştir (Ho ve ark., 2004).

Bermejo ve Millo (2018) tarafından yapılan deneyde Suriye hamsterlerinin beyindeki yüksek fruktoz diyetinin neden olduğu oksidatif stres ve protein kalite kontrol sistemlerine bağlı hücresel değişimler incelenmiş ve yüksek fruktoz alımının oksidatif hasarla birlikte metabolik hasarı indüklediği, katlanmamış protein cevabının değişmesine yol açarak beyindeki otofajik mekanizmaların bozulması sonucunda A $\beta$  protein gibi nörodejenerasyon belirteçlerinin birikmesine neden olduğu kaydedilmiştir.

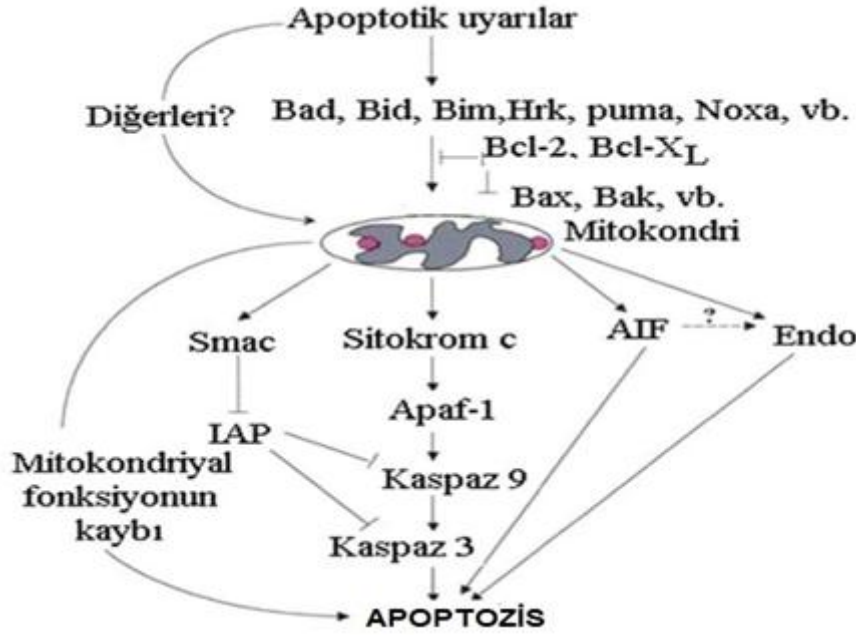
## **2.11. Apoptozis**

### **2.11.1. Apoptozis Mekanizması**

Apoptoz kavramı ilk olarak 1972'de Kerr, Wyllie ve Currie tarafından morfolojik olarak farklı bir hücre ölümünü (programlanmış hücre ölümünü) tanımlamak için kullanılmıştır. Apoptoz mekanizmaları enerji bağımlı moleküler olaylar dizisini içeren son derece karmaşık bir süreçtir. Bugüne kadarki araştırmalar iki ana apoptotik yolak olduğunu göstermektedir. Bunlar ekstrinsik (ölüm reseptör) ve intrinsik (mitokondriyal) yollardır. Ancak bu iki yolun birbirine bağlı olup bir yoldaki molekül diğerini etkileyebileceği belirtilmiştir (Elmore, 2007).

Apoptotik hücreler protein bölünmesi, protein çapraz bağlanması, DNA yıkımı ve fagositik tanıma gibi çeşitli biyokimyasal modifikasyonları sergilemektedir. Apoptotik sinyallerin gelmesi kaspazları aktive etmektedir. Kaspazlar apoptoz esnasında önemli rol oynayan sistein-proteaz grubu enzimlerdir. Kaspazlar çoğu hücrede aktif olmayan bir proenzim formunda yaygın olarak eksprese edilmekte ve

aktive edildikten sonra bir proteaz kaskadının başlatılmasına izin vererek diğer prokaspazları aktive edebilmektedir. Bazı prokaspazlar ise birikerek oto-aktif hâle gelebilmektedir. Bu proteolitik kaskadların bir kaspazın diğer kaspazları aktive edebileceği ve böylece apoptotik sinyal yolunu güçlendirerek hızlı hücre ölümüne neden olacağı saptanmıştır (Hengartner, 2000).



Şekil 9. Apoptozis yolları (Fındık, 2013)

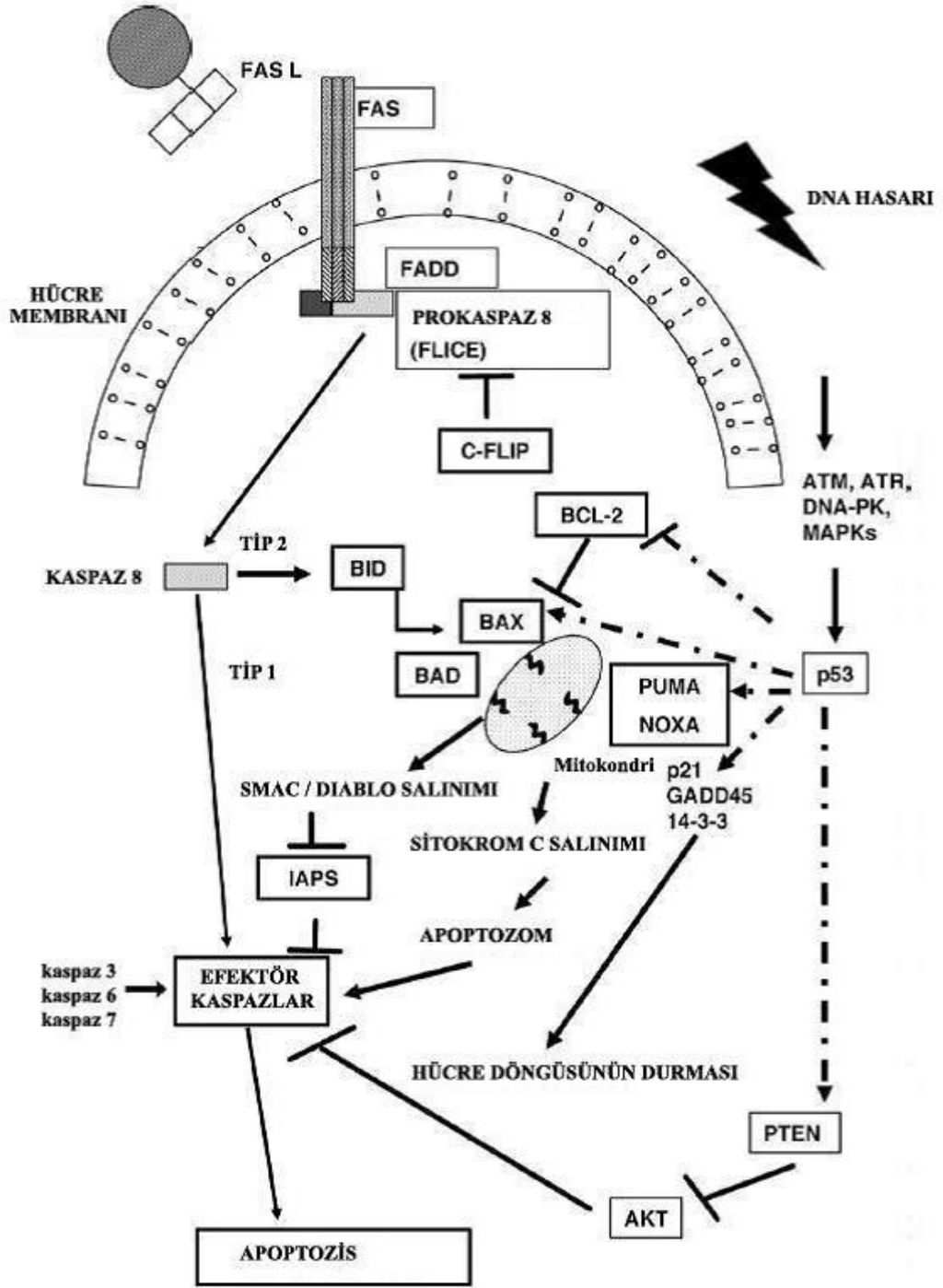
Kaspazlar proteolitik aktiviteye sahiptir ve aspartik asit kalıntılarına sahip proteinleri parçalayabilmektedir. Kaspazlar başlangıçta aktive edildiğinde hücre ölümüne karşı geri dönüşü olmayan bir yola girebilmektedir. Bugüne kadar başlıca büyük kaspazlar tanımlanmıştır. Bunlar; başlatıcı (kaspaz-2, -8, -9, -10), efektörlere veya uygulayıcı (kaspaz-3, -6, -7) ve inflamatuvar kaspazlar (kaspaz-1,-4,-5)'dir (Cohen, 1997; Rai, 2005). Tanımlanan diğer kaspazlar ise septik şok sırasındaki apoptosis ve sitokin olgunlaşmasını düzenlediği bildirilen kaspaz-11, endoplazmik-spesifik apoptoza aracılık eden kaspaz-12 olarak sıralanabilir (Kang ve ark., 2002; Nakagawa ve ark., 2000).

Ekstrinsel apoptozis yolağı; apoptozu başlatan ekstrinsik sinyal yolları transmembran reseptör aracılığı ile etkileşim hâindedir. Bunlar tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör geni süper ailesinin üyesi olan ölüm reseptörlerini içerir (Locksley ve ark., 2001). TNF reseptör familyasının üyeleri benzer sistein bakımından zengin hücre dışı bölgeleri paylaşır ve "ölüm domeni" olarak adlandırılan yaklaşık 80 amino asitten

oluşan bir sitoplazmik alana sahiptir. Bu ölüm alanı ölüm sinyalinin hücre yüzeyinden hücre içi sinyalizasyon yollarına iletilmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Bugüne kadar en iyi karakterize edilmiş ligandlar ve karşılık gelen ölüm reseptörleri arasında FasL / FasR, TNF-alfa / TNFR1, Apo3L / DR3, Apo2L / DR4 ve Apo2L / DR5 bulunmuştur. Bunlar arasında en iyi tanımlanmış olan yolak FasL / FasR modelidir (Elmore, 2007).

İnstriksel yolak; apoptozu başlatan intrinsik sinyal yolağı hücre içindeki hedefler üzerinde doğrudan etki eden ve mitokondriyal başlatıcı olayları tetikleyen, reseptör-aracılı olmayan uyarılar dizisini içermektedir. İçsel yolu başlatan uyarılar pozitif veya negatif bir şekilde etki edebilecek hücre içi sinyaller üretir. Negatif sinyaller belirli büyüme faktörleri, hormonlar ve sitokinlerin yokluğu durumunda ortaya çıkmakta ve apoptozu tetiklemektedir. Pozitif sinyal olarak hareket eden uyarıcılar radyasyon, toksinler, hipoksi, hipertermi, viral enfeksiyonlar ve serbest radikaller olarak sıralanabilir. Bu uyarıların tümü mitokondriyal geçirgenlik geçiş (MPT) gözeneğinin açılmasına, intermembran boşluktan normal olarak ayrıştırılmış pro-apoptotik proteinlerin iki ana grubunun salınmasına neden olmaktadır. Birinci grup sitokrom c, Smac / DIABLO ve serin proteaz HtrA2 / Omi'den oluşmaktadır. Bu proteinler kaspaza bağımlı mitokondriyal yolu aktive etmektedir. Sitokrom c, Apaf-1'i ve procaspaz-9'u bağlayıp aktive etmekte, bir "apoptozom" oluşturmaktadır. Pro-apoptotik proteinlerin ikinci grubu olan AIF, endonükleaz G ve CAD, apoptoz sırasında mitokondriden salınmakta ve karmaşık mekanizmalar sonucunda apoptozise neden olmaktadır (Elmore, 2007).





Şekil 10. Apoptozis (Boztepe, 2010)

Apoptozis sinir sisteminin normal gelişimi sırasında ortaya çıktığı gibi hastalık veya DNA hasarı gibi eksojen hasarlarda oluşmaktadır. Uyarının büyüklüğüne ve zamanlamasına bağlı olarak apoptoz sporadik veya yaygın olabilmektedir. Sinir sisteminin yüksek düzeyde düzenlenmiş yapısı nedeniyle immünohistokimyasal

yaklaşımlar bu dokudaki apoptozis hakkında bilgi vermektedir (Lee ve Mckinman, 2009).

Sinir sistemindeki apoptoz çalışmaları proliferatif ve farklılaşan nöral hücrelerin apoptozise duyarlılığı nedeniyle nöral gelişim sırasında özellikle bilgilendiricidir. Sinir sisteminin gelişimi, farklılaşma ve göç bölgelerine bitişik yaygın yayılma alanlarını içerir. Nörolojik çalışmalarda apoptozu analiz etmek için fare gibi memeli model ile çalışmalar yapılmıştır. Örneğin, genotoksisite çalışmalarda sinir sisteminde stresin sonuçlarının belirlenmesinde başlıca bir araç olarak apoptotik analizlerden yararlanılmıştır (Lee ve Mckinman, 2009).

Jaiswal ve ark., (2015) yüksek fruktozla beslenen ratlarda artan oksidatif strese bağlı mitokondriyal fonksiyon bozukluğu oluştuğunu ve bunun apoptozis oluşumuna neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Elmadhun ve ark., (2014) yüksek fruktozla beslenen Ossabaw domuzlarında metabolik sendrom oluşturmuşlardır. MetS grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında apoptozisi sağlayan protein kaspaz 8'in seviyesinin arttığı sağkalım oranının ısı şok proteini 90'ın down regüle olduğunu bildirmişlerdir. Deney sonucunda MetS'un apoptoz sinyali arttırarak sağkalım sinyali azaltarak hücre ölümünü arttırdığını bildirmişlerdir.

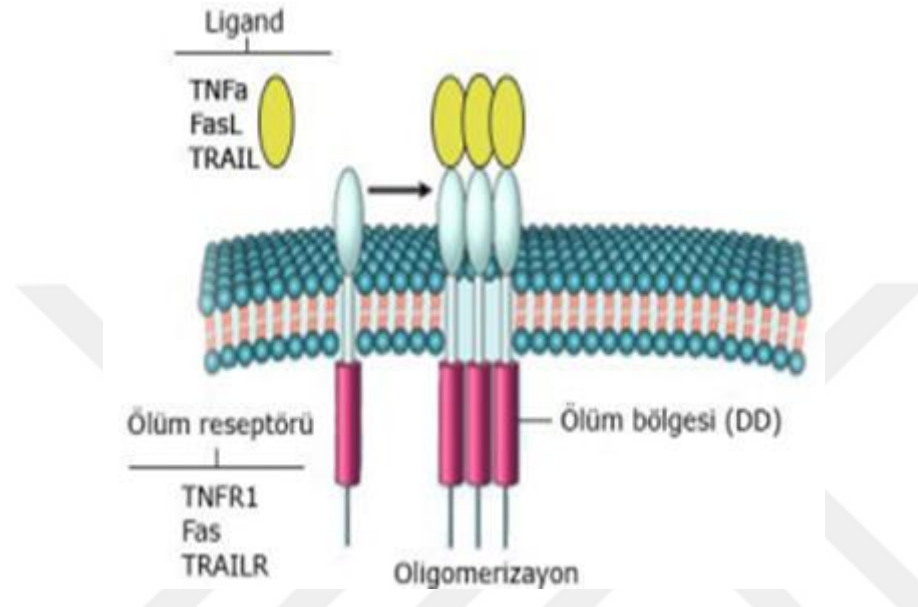
Apoptotik hücre ölümü hücre yüzey elamanı Fas reseptörlerinin Fas ligandı ile birleşmesi sonucu meydana gelmektedir. Fas / FasL etkileşimi ile meydana gelen hücre ölümü bağışıklık sistemindeki hücrelerin homeostazı ve vücutta immün ayrıcalıklı bölgelerin korunması için önemli olduğu belirlenmiştir (Ashe ve Berry, 2003).

## **2.12. CD95 (FAS) Genel Özellikleri**

CD95 olarak da adlandırılan hücre yüzeyi Fas reseptörü (Fas) tümör nekroz faktörü (TNF) ve sinir büyüme faktörü (NGF) reseptörleri ailesinin bir üyesidir. FAS ölüm ligandlarının bağlanmasını takiben apoptotik sinyalleri iletir (Peter ve Krammer, 1998).

FAS, sistein açısından zengin üç hücre dışı alana ve sinyal alımı için gerekli hücre içi ölüm alanına sahiptir. Reseptörler agonistik antikorlar veya oligomerize edici ligandlar tarafından tetiklendiğinde apoptozise aracılık etmektedir. FAS ligandı hücre zarları üzerinde veya çözünebilir bir formda bulunmaktadır. FAS'ın hücre içi domeninde -yaklaşık 80 amino asitlik- ölüm alanı tüm ölüm reseptörlerinde

bulunmaktadır. Bu reseptörler hücrenin ölüm alanına ölüm sinyali verebilmektedir. Tanımlanan ölüm reseptörleri FAS, TNFR1, TRAMP, TRAIL -R1 (DR4 / APO-2) ve TRAIL-2'dir. Sinyal iletim yoluna göre en iyi karakterize ölüm reseptörü FAS'tır. FAS'ın oligomerizasyonu agonistik anti-FAS antikorlarının eklenmesiyle indüklenebilmektedir (Peter ve Krammer, 1998).

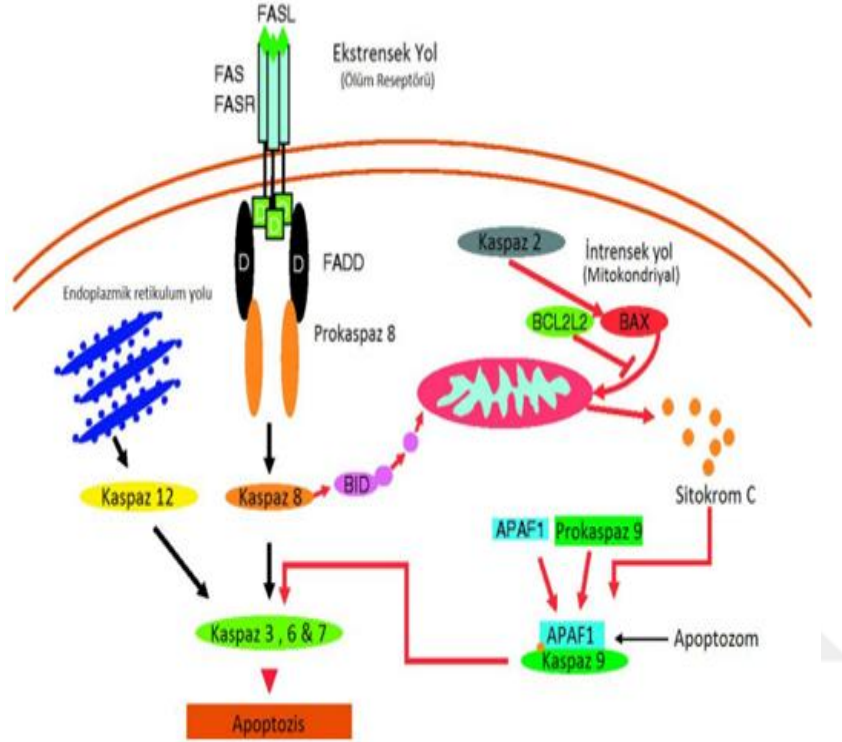


Şekil 11. Apoptozis mekanizmasını uyarıcı ligandlar ve ölüm reseptörleri ile etkileşimi olur (Dönmez, 2015).

Fas çeşitli dokularda ekspres edilmekle birlikte kalp, timüs, karaciğer ve böbrekte bol miktarda bulunmaktadır. Fas reseptörü için en uygun ligand Tip II transmembran proteini olan FasL'dir. FasL ligandının oligomerizasyonu için gerekli olan ekstraselüler toplanma domaini içermektedir. FasL geni genellikle transkripsiyonel olarak aktif değildir. Bu nedenle Fas / FasL aracılı olaylar bu genin aktivasyonu ile düzenlenmektedir (Ashe ve Berry, 2003).

Fas / FasL sisteminin travmatik beyin hasarı, serebral iskemi ve nörogelişim sırasında apoptozdan sonra nöronal apoptozda rol oynadığı bildirilmiştir (Ashe ve Berry, 2003). Fas ligandın Fas reseptörüne kenetlenmesi ile başlayan süreçle Fas reseptörünün hücre içindeki parçasının Fas adaptör proteinle (FADD) birleşmesi sonucunda ölüm başlatan sinyal kompleksi (DISC) oluşmaktadır. Bu durum ise prokaspaz 8'in aktifleşmesini sağlar ya da proapoptotik proteinler üzerinden efektör kaspazları uyarabilir. Aktif Kaspaz 8'in Kaspaz 3'ü aktive ettiği yollar ikiye ayrılmaktadır. Doğrudan yol: Prokaspaz 3, Kaspaz 8 tarafından doğrudan parçalanmakta

ve aktif hâle geçmektedir. Dolaylı yol: Kaspaz 8 sitokrom c'nin sitoplazmaya çıkabilmesi için Bcl-2 proteinini Bid ve onun terminal kısmına ayırarak etki etmektedir. Mitokondride delikler açmak amacıyla tBid ve Bid proteinleri mitokondri membranına geçmektedir. Sonuçta oluşan apoptozom Kaspaz 9'u aktive etmektedir. Kaspaz 9 da prokaspaz 3'ü parçalayarak aktif Kaspaz 3'ü oluşturmaktadır (Dinçel ve Kul, 2016).



Şekil 12. Fas / FasL sinyal yolağı (Bayram, 2015)

Fas aracılı apoptozun düzenlenmesi FasL'nin ifadesine bağlı olup ayrıca ek düzenleyici mekanizmalar da tespit edilmiştir. P53 aktivasyonunun Fas'ın hücre yüzeyinde yeniden dağılımına aracılık ettiği ve böylece hücrelerin Fas aracılı apoptoza duyarlı hâle getirdiği gösterilmiştir. (Ashe ve Berry, 2003).

Kan-beyin bariyeri (KBB) moleküllerin ve hücrelerin MSS içine seçici olarak taşınmasından ve bağışıklılığın korunmasından sorumlu ana yapıdır. KBB mikrovasküler endotelial hücreler, bir bazal membran, perivasküler hücreler ve astrositik ayaklardan oluşur. Endotelial hücreler FasL ekspresyonu vasıtasıyla inflamatuvar yanıtları düzenler. Böylece inflamatuvar hücrelerin damar dışına sızımını önemli ölçüde sınırlandırır ve immün yanıtları baskılar. Kültürlenmiş primer astrositler in vitro olarak FasL'yi eksprese ettiği ifade edilmiştir (Choi ve Benveniste, 2004).

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Araştırma Yeri ve Hayvan Materyali

Çalışma materyalini başlangıçta ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 10-12 haftalık 50 adet erkek Sprague-Dawley ırkı erişkin rat oluşturdu. Ratlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Çalışma 2016/15 numaralı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu izniyle başlandı. Çalışma boyunca  $22\pm 2$  °C'lik oda sıcaklığı, %60 nem oranı, 12/12 saat aydınlık / karanlık ortamı sağlandı. Deneysel hayvanları çalışma boyunca *ad libitum* olarak beslendi (Tablo 1).

**Tablo 1.** Standart rat yemi içeriği

Temel Besin Maddeleri
Kuru madde (en az) %88
Ham protein (en az) %24
Ham selüloz (en çok) %7
Ham kül (en çok) %8
Ham yağ (en az) %6
Tuz (en çok) %1
Metabolik enerji 2650 kcal/kg

##### 3.1.2. Probiyotik Süspansiyonunun Hazırlanması

Çalışmada tedavi amacıyla kullanılacak olan ve probiyotik özelliklerine sahip olduğu bilinen *L. acidophilus* bakterisi liyofilize olarak temin edildi. Liyofilize haldeki bakteri MRS broth ile sulandırıldıktan sonra canlılık ve saflık kontrolü için MRS agara inokule edildi. Canlı ve saf olduğu belirlenen kültürden 500 ml MRS içine 1 ml miktarında eklenip 35°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda sıvı kültürden  $10^9$ 'a kadar FTS ile süspansiyonlar hazırlandı. Bu süspansiyonlardan 3'er adet MRS agara ekim yapıp 35°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında üreyen bakteri kolonileri sayıldı ve ana kültürdeki bakteri miktarı hesaplandı. Hesaplama sonrasında ana kültürde  $10^{10}$  kob/ml bakteri olacak şekilde süspansiyon yapıldı ve tedavi amacıyla kullanılacak olan *L. acidophilus* probiyotik süspansiyonu hazırlandı (Park Heon ve ark., 2006).

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Deneme Planı

Çalışmada her grupta 10'ar rat içeren 5 grup oluşturuldu.

**Grup 1 (n=10) (kontrol grup):** Kontrol grubu olarak tasarlandı ve hayvanlar standart rat yemi ile 8 hafta beslendi.

**Grup 2 (n=10) (Fruktoz ilave edilen grup):** Standart rat yemi ile beslendi ve içme suyuna her gün taze olarak %20 oranında fruktoz karıştırılarak *ad libitum* olarak verildi (Ozan ve ark., 2014).

**Grup 3 (n=10) (Fruktoz+Curcumin ilave grup):** Standart rat yemi ile beslendi ve içme suyuna %20 oranında fruktoz içme suyu ile karıştırılarak her gün taze olarak hazırlandı, *ad libitum* olarak tüketmesi sağlandı. Denemenin son 4 haftasında tedavi amacı Curcumin (Sigma-C1386) 100 mg/kg/gün olarak 0,5 ml içme suyunda çözdürülerek oral gavaj yoluyla verildi (Karbaly-Doust ve ark., 2011).

**Grup 4 (n=10) (Fruktoz+Probiyotik ilave grup):** Standart rat yemi ile beslenerek içme suyuna %20 oranında fruktoz karıştırılarak *ad libitum* olarak verildi ve denemenin son 4 haftasında tedavi amacı ile *L. acidophilus* probiyotiği  $2 \times 10^8$  kob/ml/gün içecek şekilde oral gavaj yoluyla verildi (Laurens-Hattinh ve Vijoen, 2001; Park ve ark., 2007).

**Grup5 (n=10) (Fruktoz+Probiyotik+Curcumin ilave grubu grup):** Standart rat yemi ile beslendi ve içme suyuna %20 oranında fruktoz karıştırılarak *ad libitum* olarak 8 hafta verildi ve denemenin son 4 haftasında tedavi amacı ile *L. acidophilus* probiyotiği  $2 \times 10^8$  kob/ml/gün içecek şekilde ve Curcumin 100 mg/kg/gün olarak 0,5 ml içme suyunda çözdürülerek oral gavaj yoluyla verildi.

Sekiz haftalık deneme süresinin sonunda ratlar 12 saat öncesinden aç bırakılarak sadece normal içme suyu içmelerine izin verilerek teker teker tartıldı. Ratlara %10 ketasol (0,8-1,3ml/kg) ve %2 basilazin (2-5 mg/kg) IP olarak uygulanarak uyutuldu ve kalpten kan örnekleri alındı. Kan alımı sonrasında ratlar dekapite edildi. Bunu takiben nekropsileri yapılarak beyin dokusu çıkarıldı. Beyin dokusu analiz yapılana kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'ye kaldırıldı.

Kan örnekleri laboratuvar ortamında 20 dk bekletilip pıhtılaşması sağlandıktan sonra  $+4^{\circ}\text{C}$  10 dk  $1550 \times \text{g}$  santrifüj edilerek serumları çıkartılarak alikotlara bölündü. Serumlar analizlerde kullanılana kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

### **3.2.2. Beyin Dokusu Homojenizatının Hazırlanması ve Nörosteroidlerin TSPO, FAS TBAP Düzeylerinin Belirlenmesi**

Beyin doku homojenizasyonu ELISA test kiti prosedüründe belirtildiği şekilde hazırlandı. Bunun için homojenizasyondan önce doku buz soğukluğunda PBS (0.01 mol / L, pH 7.0-7.2) ile yıkandıktan sonra tartıldı. Doku ufak parçalara ayrıldıktan sonra buz içinde homojenizatör ile 5-10 mL PBS ile homojenizasyon gerçekleştirildi. Daha sonra buz içinde 1 veya 2 defa da ultrasonikatör ile hücre membranının parçalanması sağlandı ve hücrenin daha iyi parçalanması için 2 kez dondurma çözme işlemi uygulandı. Daha sonra homojenat 5000 x g'de, 4°C 5 dk santrifüj edilerek süpernatant alikotlara bölünerek -80°C analiz yapılana kadar muhafaza edildi.

Beyin homojenizasyonundan elde edilen süpernatantta testosteron, progesteron ve östrodiol düzeyi ratta spesifik ELISA test kitleri prosedürü takip edilerek belirlendi.

#### **Östradiol Düzeyinin Belirlenmesi**

Beyin doku süpernatantlarındaki östradiol düzeyinin belirlenmesi için rat spesifik Cusobio marka östradiol kiti (CSB-E05110r) kullanıldı. ELISA testi üretici firmanın bildirdiği metoda göre gerçekleştirildi. ELISA testinin saptama aralığının 30 pg/ml-1200 pg/ml ve saptayabildiği en düşük konsantrasyonun da 25 pg/ml'nin altında olduğu bildirilmiştir. Test metoduna göre öncelikle tüm solüsyonlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Kit içinden çıkan hazır standart solüsyonundan 15-1200 pg/ml konsantrasyonunda çalışma standart solüsyonları oluşturuldu. Mikropleytin ilk ve son 6 kuyucuğuna 50 µl standart dilüsyonları, diğer kuyucuklara da 50 µl örnekler konuldu. Ayrıca başta ve sonda birer kuyucuk da blank olarak ayrıldı ve bu kuyucuklara hiçbir solüsyon konulmadı. Blank olarak ayrılan kuyucuklar hariç olmak üzere diğer tüm kuyucukların üzerine 50µl HRP-konjugat ilave edildi. Sonrasında tüm kuyucuklara 50µl Antikor ilave edildi. Mikropleyt 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda yıkama solüsyonu ile 5 defa yıkama gerçekleştirildi. Sonrasında tüm kuyucuklara 50 µl Substrate A ve 50 µl Substrate B solüsyonları eklendi ve karanlık ortamda 37°C'de 15 dk inkübe edildi. Süre sonunda tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi ve 10 dk içinde 450 nm'ye ayarlanmış olan ELISA reader'da okutuldu. Belirlenen OD<sub>450</sub> değerleri Magellan Standard Tracker (V7-2) yazılımı ile standartlara ait OD<sub>450</sub> değerleri dikkate alınarak hesaplandı.

### **Testosteron Düzeyinin Belirlenmesi**

Beyin doku süpernatantlarındaki testosteron düzeyinin belirlenmesi için rat spesifik Cusobio marka testosteron kiti (CSB- E05097r) kullanıldı. ELISA testi üretici firmanın bildirdiği metoda göre gerçekleştirildi. ELISA testinin saptama aralığının 0,13 ng/ml-25,6 ng/ml ve saptayabildiği en düşük konsantrasyonun da 0,06 ng/ml'nin altında olduğu bildirilmiştir. Test metoduna göre öncelikle tüm solüsyonlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Kit içerisinden çıkan hazır standart solüsyonundan 0,06-25,6 ng/ml konsantrasyonlarında çalışma standart solüsyonları oluşturdu. Mikropleytin ilk ve son 6 kuyucuğuna 50 µl standart dilüsyonları, diğer kuyucuklara da 50 µl örnekler konuldu. Ayrıca başta ve sonda birer kuyucuk da blank olarak ayrıldı ve bu kuyucuklara hiçbir solüsyon konulmadı. Blank olarak ayrılan kuyucuklar hariç olmak üzere diğer tüm kuyucukların üzerine 50 µl HRP-konjugat ilave edildi. Sonrasında tüm kuyucuklara 50µl antikor ilave edildi. Mikropleyt 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda yıkama solüsyonu ile 5 defa yıkama gerçekleştirildi. Sonrasında tüm kuyucuklara 50 µl Substrate A ve 50 µl Substrate B solüsyonları eklendi ve karanlık ortamda 37°C'de 15 dk inkübe edildi. Süre sonunda tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyon eklenerek 10 dk içinde 450 nm'ye ayarlanmış olan ELISA reader'da okutuldu. Belirlenen OD<sub>450</sub> değerleri Magellan Standard Tracker (V7-2) yazılımı ile standartlara ait OD<sub>450</sub> değerleri dikkate alınarak hesaplandı.

### **Progesteron Düzeyinin Belirlenmesi**

Beyin doku süpernatantlarındaki progesteron düzeyinin belirlenmesi için rat spesifik Cusobio marka progesteron kiti (CSB- E07282r) kullanıldı. ELISA testi üretici firmanın bildirdiği metoda göre gerçekleştirildi. ELISA testinin saptama aralığının 0,4 ng/ml-30 ng/ml ve saptayabildiği en düşük konsantrasyonun da 0,2 ng/ml'nin altında olduğu bildirilmiştir. Test metoduna göre öncelikle tüm solüsyonlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Kit içinden çıkan hazır standart solüsyonundan 0,2-30 ng/ml konsantrasyonlarında çalışma standart solüsyonları oluşturuldu. Mikropleytin ilk ve son 6 kuyucuğuna 50 µl standart dilüsyonları, diğer kuyucuklara da 50 µl örnekler konuldu. Ayrıca başta ve sonda birer kuyucuk da blank olarak ayrıldı ve bu kuyucuklara hiçbir solüsyon konulmadı. Blank olarak ayrılan kuyucuklar hariç olmak üzere diğer tüm kuyucukların üzerine 50 µl HRP-konjugat ilave edildi. Sonrasında tüm kuyucuklara 50µl antikor ilave edildi. Mikropleyt 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi



sonunda yıkama solüsyonu ile 5 defa yıkama gerçekleştirildi. Sonrasında tüm kuyucuklara 50 µl Substrate A ve 50 µl Substrate B solüsyonları eklenerek karanlık ortamda 37°C'de 15 dk inkübe edildi. Süre sonunda tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi ve 10 dk içinde 450 nm'ye ayarlanmış olan ELISA reader'da okutuldu. Belirlenen OD<sub>450</sub> değerleri Magellan Standard Tracker (V7-2) yazılımı ile standartlara ait OD<sub>450</sub> değerleri dikkate alınarak hesaplandı.

### **Beyin Dokusunda Translokator Protein Düzeyinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi**

Beyin dokusundaki Translokator protein düzeyinin belirlenmesi için ratta spesifik Translokator protein (TSPO) kiti ile kantitatif sandwic enzim immunoassay prensibine dayanan yöntem kullanılarak belirlendi. ELISA testinin saptama aralığının 0,31-20 ng/ml ve saptayabildiği en düşük konsantrasyonun da 0,19 ng /ml altında olduğu bildirilmiştir. Test metoduna göre öncelikle tüm solüsyonlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Örnekler çözdürdükten sonra santrifüj edildi.

Standart vialini 6000-10000 rpm de 1dk santrifüj edildi ve Standard vialine 1,0 ml örnek sulandırıcısı ilave edilerek sulandırıldı. Konsante standart 20 ng/ml olup 7 adet ependorf alınarak içine 500 µl örnek sulandırıcısı konularak 2 katlı sulandırması yapıldı. Son tüp içine sulandırma yapılmadı ve son tüpte sadece sample dilüent olacak şekilde bırakıldı (Tablo 2).

**Tablo 2.** Konsantre standart çözelti dilüsyonları

	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
Standart konsantrasyonu (ng/mL)	20	10	5	2,5	1,25	0,63	0,31	0

30 mL olan konsantre yıkama solüsyonu hazırlandı. 30 mL konsantre olan yıkama solüsyonuna 720 mL distile su ilave edilerek 750 Ml yıkama solüsyonu hazırlandı. Kuyucuklarda örnek, standart ve bank'in yerleri belirlendi. 100µl ilave edilerek 37°C'de 90 dk inkübe edildi. İçindeki sıvı dökülerek tüm kuyucuklara 100µl Biotinylated Detection Ab(1X) eklenerek 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 3 defa yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işleminden sonra tüm kuyucuklara 100µl Concentrated HRP Conjugate (1X) ilave edilerek 37°C'de 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 5 defa yıkama işlemi takiben tüm kuyucuklara 90µl Substrate

ilave edildi. 5 dk içinde 450 nm'de ELISA reader'da okutuldu. Belirlenen OD<sub>450</sub> değerleri Magellan Standard Tracker (V7-2) yazılımı ile standartlara ait OD<sub>450</sub> değerleri dikkate alınarak hesaplandı.

### **Beyin Dokusunda DNA Kırılmalarının ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi**

Beyin dokusundaki DNA kırılma düzeyi olan apoptozis düzeyinin belirlenmesi için Faktör İlişkili Apoptozis düzeyi (FAS) kiti kantitatif sandwic enzim immunoassay prensibine dayanan yöntem kullanılarak belirlendi (CSB-E07324r). ELISA testinin saptama aralığının 0,78 ng/ml-50 ng/ml ve saptayabildiği en düşük konsantrasyonun da 0,195 ng/ml altında olduğu bildirilmiştir. Test metoduna göre öncelikle tüm solüsyonlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Standart vialini 6000-10000 rpm'de 30 sn santrifüj edildi ve Standard vialine 1 ml örnek sulandırıcısı ilave edilerek sulandırıldı. Konsante standart 50 ng/ml olup 7 adet ependorf alınarak içine 250 µl örnek sulandırıcısı konularak 2 katlı sulandırması yapıldı (Tablo 3).

**Tablo 3.** Konsantre standart çözelti dilüsyonları

<b>STANDART KONSANTRASYON</b>	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
Standart Konsantrasyon (ng/ml)	50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39

Biotin işaretli antikor (1x) - açılmadan önce santrifüj edildi. Biotin antikoruna 100 katlı sulandırıldı. Bu amaçla 10 µl Biotin-antikoruna 990 µl Biotin-antikor sulandırıcısı ilave edildi. HRP-avidin (1x) - açılmadan önce santrifüj edildi ve HRP-avidin 100 katlı sulandırıldı. Bunun için 10 µl HRP-avidin 990 µl HRP-avidin sulandırıcısı ilave edildi. Yıkama solüsyonu hazırlandı. Bunun için 20 ml yıkama tampon solüsyonuna (25 x) 480 ml distile su ilave edilerek 500 ml yıkama solüsyonu hazırlandı (1 x). Çalışma öncesinde kitin içinden çıkan tüm solüsyonlar oda sıcaklığına getirildi. Kuyucuklara 100µl standart ve örnek konularak 37°C'de 2 saat inkübe edilerek süre sonunda kuyucukların içindeki sıvı döküldü ama yıkama yapılmadı. Tüm kuyucuklara 100µl biotin-Antibody (1X) eklenerek 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 3 defa yıkama yapıldıktan sonra kuyucuklara 100µl HRP-avidin (1X) eklenerek 37°C'de 1 saat inkübe edildi. 5 defa yıkama yapıldıktan sonra tüm kuyucuklara 90µl TMB-Substrate eklenerek 37°C'de 15-30 dk karanlık ortamda inkübe edildi (ışık almayacak şekilde). Tüm kuyucuklara 50µl Stop solüsyonu eklenerek 5 dk içinde 450 nm'ye

ayarlanmış olan ELISA reader'da okutuldu. Belirlenen OD<sub>450</sub> değerleri Magellan Standard Tracker (V7-2) yazılımı ile standartlara ait OD<sub>450</sub> değerleri dikkate alınarak hesaplandı.

### **Beyin Dokusunda Total Beta Amiloid Protein Düzeyinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi**

Beyin dokusundaki Total Beta Amiloid Protein (TBAP) düzeyinin belirlenmesi için ratta spesifik olan TBAP kiti ile kantitatif sandwic enzim immunoassay prensibine dayanan yöntem kullanılarak belirlendi (Mybiosource). ELISA testinin saptama aralığının 0,25 - 8 ng/ml ve saptayabildiği en düşük konsantrasyonun da 0,1 ng /ml altında olduğu bildirilmiştir. Test metoduna göre öncelikle tüm solüsyonlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi ve örnekler çözüldükten sonra hafif santrifüj edildi. Standart vialini 6000-10000 rpm de 30 sn santrifüj edildi konsantre standart sulandırıcısı konularak 2 katlı sulandırılması yapıldı. 15 ml olan konsantre yıkama solüsyonuna (20X) 285 ml distile su ilave edilerek yıkama solüsyonu (1X) hazırlandı.

ELISA pleyti üzerinde standart ve blank'in yerleri belirlenerek Blank olan kuyucuklara 50µl örnek sulandırıcısı konuldu. Standart olan ve örnek olan kuyucuklara ise 50µl standart ve örnek konuldu. Tüm kuyucuklara 100µl HRP-conjugate eklenerek 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 4 defa hazırlanmış olan yıkama solüsyonu ile yıkama yapıldı. Tüm kuyucuklara 50µl chromogen A ve 50µl chromogen B ilave edilerek 37°C'de 15 dk karanlık ortamda inkübe edildi (ışık almayacak şekilde). Tüm kuyucuklara 50µl Stop solüsyonu eklenerek 5 dk içinde 450 nm'ye ayarlanmış olan ELISA reader'da okutuldu. Belirlenen OD<sub>450</sub> değerleri Magellan Standard Tracker (V7-2) yazılımı ile standartlara ait OD<sub>450</sub> değerleri dikkate alınarak hesaplandı.

### **3.2.3. Serumda Bazı Rutin Biyokimyasal Analizlerin Yapılışı ve Prensipleri**

Serumda ürik asit, Kreatin kinaz, total kolesterol, HDL, LDL, ürik asit, AST, ALT miktarları spektrofotometrik yöntemle otoanalizör cihazında (Biosistem A25, İspanya) spesifik Biosistem kitleri kullanılarak ölçüldü. Bu cihazda kısaca numune ve reaktifler cihaz tarafından uygun ölçülerde alınıp karıştırılarak, belirli süre ve ısıda optik okuma yapılarak, ilgili analiz sonuçları hesaplanmış olarak cihazdan alındı.

**Total Kolesterol Düzeyinin Belirlenmesi:** Total Kolesterol düzeyi Biosistem-TC kiti kullanılarak otoanalizör (Biosistem A25, İspanya) ile direkt enzimatik olarak ölçüldü (Sacks, 1999). Bu yöntemde kolesterol esteraz, kolesterol esterlerini ayırdıktan sonra 4-kolesteron oluşturmakta ve kırmızı renkli quinon üretilmekte olup serumdaki kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılı olmaktadır. Test amacıyla serumlardan 10 µL alınarak 100 µL çalışma reaktifi ile karıştırıldı. 37°C’de 5 dakika inkübasyon sonrasında dakikadaki absorbans değişimi 500 nm dalga boyu otoanalizör ile ölçüldü (Tablo 4). Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

**Tablo 4.** Total kolesterol düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler

Reaktif	Konsantrasyon
Phosphatebuffer	100mmol/L
Phenol	5 mmol/L
4-Aminoantipyrine	0,3mmol/L
Cholesterolesterase	>150KU/L
Cholesteroxidase	>100KU/L
Peroxidase	5 KU/L

**Tablo 5.** Total Kolesterol düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler

	Blank	Örnek
Reaktif	1000 µL	1000 µL
Distilesu	10 µL	—
Örnek	—	10 µL

37°C’de 10 dk inkubasyondan sonra absorbansı okundu.  
 $\Delta A = [\Delta A_{\text{sample}}] - [\Delta A_{\text{blank}}]$

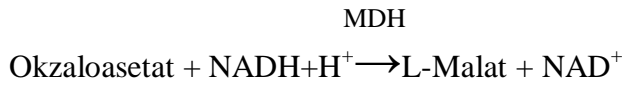
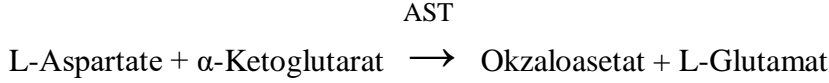
### Alanin Aminotransferaz Düzeyinin Belirlenmesi

Ölçümler Biosistem (Biosistem A25, İspanya) marka kit ile otoanalizör kullanılarak yapıldı. Bu işlem, IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) metodu kullanılan kinetik bir yöntemdir (Bergmeyer ve ark., 1978).

Aspartat aminotransferaz düzeyinin kantitatif ölçümünde International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) metodu kullanıldı (Stein ve ark., 1985).

### Testin Prensibi

Aspartat amino transferaz aktivitesinin kinetik olarak saptanması: Bu metot örneklerin ön inkubasyonu için L-Aspartat, MDH ve LDH içeren Tris (hydroxymethyl) aminomethan tampon solusyonu ile olmaktadır. Bu reaksiyona NADH eklenerek kinetik ölçüm yapıldı. AST aktivitesi tükenen NADH miktarı ile orantılı olarak gerçekleşmektedir.



MDH = Malat dehidrojenaz.

Oluşan okzaloasetat, alkali ortamda 2,4 difenilhidrazin ile reaksiyona girer. Oluşan fenilhidrazonların renk şiddeti AST aktivitesi ile doğru orantılıdır.

### Kullanılan Reaktifler

R1:	Tris buffer, pH 7.,	100 mmol/L
	L-Aspartat	330 mmol/L
	LDH	≥ 750 U/L
	MDH	≥ 530 U/L
R2:	α-Ketoglutarat	75 mmol/L
	NADH	0,23 mmol/L

### Yapılışı

Serumda AST aktivitesi ADM107 katalog no'lu kit kullanılarak belirlendi. Deneme grubunun serumunun 20µL'si, 200 µL çalışma reaktifi ile karıştırıldı ve 50 saniye inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 175 saniye içinde 340 nm dalga boyunda ölçüldü.

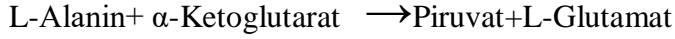
### Alanin Aminotransferaz Düzeyinin Belirlenmesi

Ölçümler Biosistem (Biosistem A25, İspanya) marka kit ile otoanalizör kullanılarak yapılmıştır. Bu işlem, IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) metodu kullanılan kinetik bir yöntemdir (Bergmeyer ve ark, 1978).

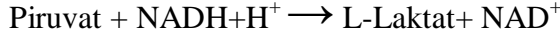
### Testin Prensibi

Alanin aminotransferaz aktivitesinin kinetik olarak belirlenmesinde;

ALT



Laktat-Dehidrogenaz



ALT etkisiyle alanin,  $\alpha$ -Ketoglutarik asitle reaksiyona girer ve pirüvat ile L-glutamayı verir. Oluşan pirüvat, alkali ortamda 2,4 dinitrofenilhidrazin ile reaksiyona girer. Oluşan fenilhidrazonların renk siddeti ALT aktivitesi ile doğru orantılıdır.

### Kullanılan Reaktifler

R1:	Tris buffer, pH 7.8	125 mmol/L
	L-Alanin	625 mmol/L
	LDH	1500 U/L
R2:	$\alpha$ -Ketoglutarat	94 mmol/L
	NADH	0.23 mmol/L

### Yapılışı

Numune serumunun 20 $\mu$ L'si, 200 $\mu$ L çalışma reaktifi ile karıştırıldı, 50 saniye inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 175 saniye içinde 340 nm dalga boyu otoanalizörde ölçüldü.

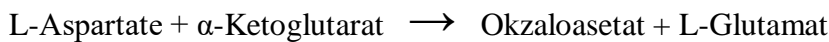
### Aspartat Aminotransferaz Düzeyinin Belirlenmesi

Aspartat aminotransferaz düzeyinin kantitatif ölçümünde International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) metodu kullanıldı (Stein ve ark., 1985).

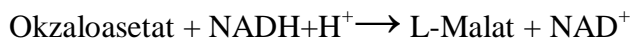
### Testin Prensibi

Aspartat amino transferaz aktivitesinin kinetik olarak saptanması: Bu metot örneklerin ön inkubasyonu için L-Aspartat, MDH ve LDH içeren Tris (hydroxymethyl) aminomethan tampon solusyonu ile olmaktadır. Bu reaksiyona NADH eklenerek kinetik ölçüm yapılmıştır. AST aktivitesi tükenen NADH miktarı ile orantılı olarak gerçekleşmektedir.

AST



MDH



MDH = Malat dehidrojenaz.

Oluşan okzaloasetat, alkali ortamda 2,4 difenilhidrazin ile reaksiyona girer. Oluşan fenilhidrazonların renk şiddeti AST aktivitesi ile doğru orantılıdır.

### **Kullanılan Reaktifler**

R1:	Tris buffer, pH 7,8	100 mmol/L
	L-Aspartat	330 mmol/L
	LDH	≥ 750 U/L
	MDH	≥ 530 U/L
R2:	α-Ketoglutarat	75 mmol/L
	NADH	0,23 mmol/L

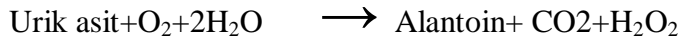
### **Yapılışı**

Serumda AST aktivitesi ADM107 katalog no'lu kit kullanılarak belirlendi. Deneme grubunun serumunun 20µL'si, 200 µL çalışma reaktifi ile karıştırıldı ve 50 saniye inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 175 saniye içinde 340 nm dalga boyunda ölçüldü.

### **Ürik Asit Düzeyinin Belirlenmesi**

Ürik asit düzeyi Biosistem analizör kitleri kullanılarak otoanalizör (Biosistem A25, İspanya) cihazında oluşan renkli kompleks spektrofotometrik yöntemle ölçüldü (Barham ve Trinder, 1972; Fossati ve ark., 1980).

urikaz



peroxidase

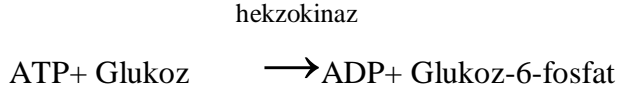


### **Kreatin Kinaz Düzeyinin Belirlenmesi**

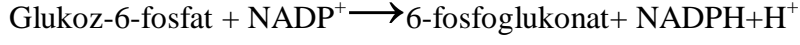
Kreatin kinaz düzeyi Biosistem analizör kitleri kullanılarak otoanalizör (Biosistem A25, İspanya) cihazında oluşan renkli kompleks 340 nm spektrofotometrik yöntemle ölçüldü (Schumann ve ark., 2002; Schumann ve ark., 2010).

Kreatin kinaz





Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz



### 3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler için SPSS statistical software for Windows (SPSS-PC, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) kullanıldı. Gruplar arasında farklılığın belirlenmesinde One-way analysis of variance (ANOVA) testi ve Duncan's multiple range-test ve gruplar arasındaki ilişkiyi belirlemek için Pearson korelasyon testi uygulandı.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Vücut Ağırlık Değişimi

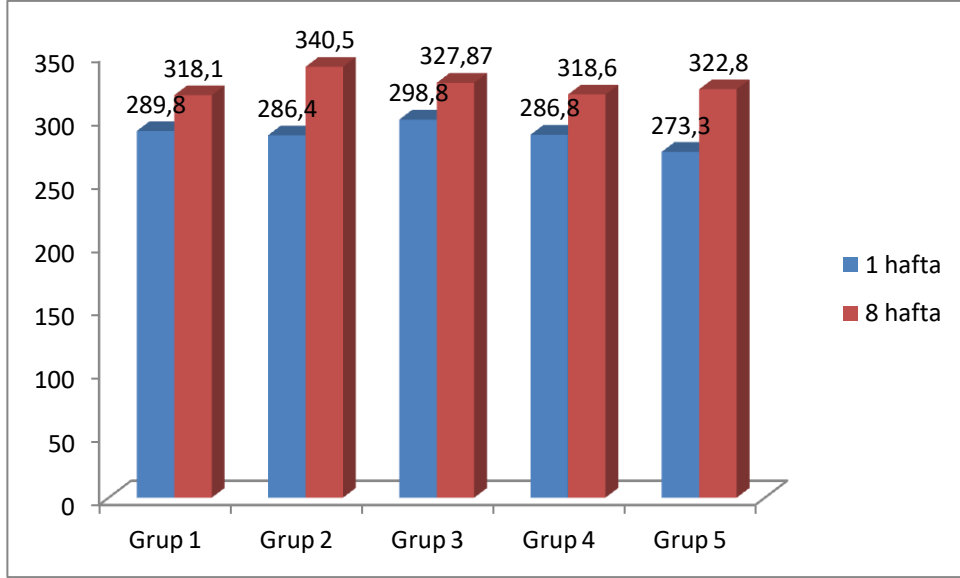
Çalışmada, vücut ağırları 273-298g ağırlığında olan 50 adet Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek rat rastgele olarak 5 gruba ayrıldı. Her hafta düzenli olarak tek tek ratların ağırlıkları belirlendi. Aşağıdaki tabloda her grupta yer alan ratların vücut ağırlıklarının haftalık değişimi gösterildi (Tablo 6).

**Tablo 6.** Gruplarda yer alan ratların haftalık olarak vücut ağırlık değişimleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
<b>1 hafta</b>	289,8±9,34 <sup>ab</sup>	286,4±6,93 <sup>ab</sup>	298,8±7,8 <sup>b</sup>	286,8±7,17 <sup>ab</sup>	273,3±5,79 <sup>a</sup>
<b>2 hafta</b>	309,3±11,98 <sup>a</sup>	305,7±8,26 <sup>a</sup>	297,4±7,78 <sup>a</sup>	285,2±9,51 <sup>a</sup>	301,7±9,83 <sup>a</sup>
<b>3 hafta</b>	308±9,52 <sup>a</sup>	301,5±6,22 <sup>a</sup>	308,7±8,03 <sup>a</sup>	291,5±6,77 <sup>a</sup>	291±5,29 <sup>a</sup>
<b>4 hafta</b>	303,1±6,49 <sup>a</sup>	310,3±6,77 <sup>a</sup>	314,4±8,05 <sup>a</sup>	304,3±6,73 <sup>a</sup>	303,9±4,62 <sup>a</sup>
<b>5 hafta</b>	306,7±5,66 <sup>a</sup>	312,4±8,43 <sup>a</sup>	276,9±8,41 <sup>b</sup>	296,7±8,51 <sup>ab</sup>	290,9±5,1 <sup>ab</sup>
<b>6 hafta</b>	311,5±7,51 <sup>a</sup>	328,1±6,12 <sup>a</sup>	316,22±9,89 <sup>a</sup>	307,8±8,27 <sup>a</sup>	305,9±3,75 <sup>a</sup>
<b>7 hafta</b>	311,4±5,8 <sup>a</sup>	333,7±6,75 <sup>b</sup>	327,5±8,86 <sup>ab</sup>	315±8,23 <sup>ab</sup>	319,7±4,55 <sup>ab</sup>
<b>8 hafta</b>	318,1±5,8 <sup>a</sup>	340,5±5,65 <sup>b</sup>	327,87±5,8 <sup>ab</sup>	318,6±8,19 <sup>a</sup>	322,8±5,36 <sup>ab</sup>

<sup>a, b, c, d:</sup> Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen gruplar arası farklar önemli (P<0,05)

Çalışmanın başlangıcında ratların vücut ağırlık ortalamaları yaklaşık olarak 273-298 g arasındaydı. Çalışma sonunda ise (8. haftada) vücut ağırlık değişimleri Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla 318,1±5,8, 340,5±5,65, 327,87±5,8, 318,6±8,19, 322,8±5,36 olarak belirlendi. Yüksek fruktoz verilen Grup 2'de deneme sonunda vücut ağırlık artışının kontrol gruplarına (Grup 1) göre önemli düzeyde yüksek olduğu (P<0,05), diğer gruplarda ise hafif azaldığı, probiyotik verilen grupta (Grup 4) ise kontrol grubuna yaklaştığı belirlendi (P>0,05) (Şekil 13).



Şekil 13. Çalışmanın başlangıcında ve çalışma sonunda vücut ağırlık

#### 4.2. Serumda Bazı Rutin Biyokimyasal Parametrelerin Düzeyleri

Kontrol grubu ile yüksek fruktoza maruz bırakılan ratlara tedavi amacıyla curcumin ve *L. acidophilus* probiyotiğinin tek tek ve kombinasyon hâlinde verilen grupların (Grup 1, 2, 3, 4 ve 5) serumdaki yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), düşük yoğunlukta lipoprotein (LDL), total kolesterol (TK), ürik asit (UA) düzeyleri tablo ve Aspartat transaminaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), kreatin kinaz (CK) aktivitesi ise tabloda ortalama ve standart hataları değerleri sunuldu (ortalama±SE) (Tablo 7).

Tablo 7. Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), düşük yoğunlukta lipoprotein (LDL), total kolesterol (TK), ürik asit (UA) düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
<b>HDL(mg/dl)</b>	23,16±0,99 <sup>a</sup>	18,67±0,98 <sup>b</sup>	22,77±1,84 <sup>a</sup>	22,02±1,3 <sup>ab</sup>	25,7±1,55 <sup>a</sup>
<b>LDL(mg/dl)</b>	5,7±0,53 <sup>a</sup>	13,22±0,66 <sup>b</sup>	7,42±0,42 <sup>a</sup>	7,55±0,62 <sup>a</sup>	9,88±1,2 <sup>c</sup>
<b>TK(mg/dl)</b>	34,2±2,39	39±3,02	34,7±2,38	33,4±1,89	36,5±2,53
<b>UA(mg/dl)</b>	1,28±0,11 <sup>a</sup>	2,61±0,25 <sup>b</sup>	1,57±0,43 <sup>b</sup>	1,99±0,2 <sup>ac</sup>	1,87±0,1 <sup>bc</sup>

<sup>a, b, c</sup>: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arası farklar önemli (P<0,05)

**Tablo 8.** Serumda Aspartat Transaminaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), kreatin kinaz (CK) aktivitesinin düzeyleri

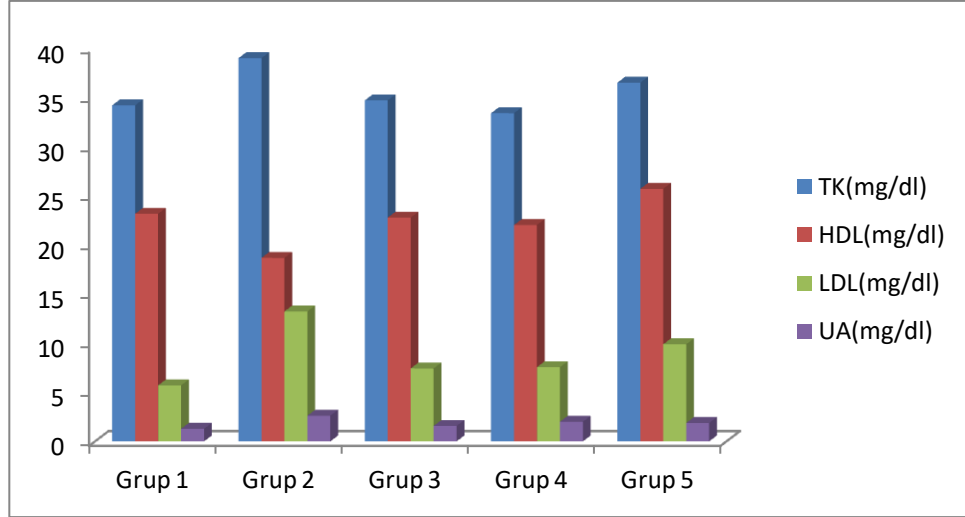
	AST	ALT	CK
<b>Grup 1</b>	127,2±5,03 <sup>a</sup>	25,3±1,3 <sup>a</sup>	247,7±23,73 <sup>a</sup>
<b>Grup 2</b>	166±9,69 <sup>b</sup>	33,55±1,95 <sup>b</sup>	420,22±26,63 <sup>b</sup>
<b>Grup 3</b>	137,9±9,82 <sup>ab</sup>	31,4±1,94 <sup>b</sup>	351,3±32,2 <sup>bc</sup>
<b>Grup 4</b>	153,11±34,06 <sup>ab</sup>	32,4±2,01 <sup>b</sup>	308,55±40,05 <sup>ac</sup>
<b>Grup 5</b>	156,4±11,86 <sup>ab</sup>	32,4±2 <sup>b</sup>	338,28±35,78 <sup>abc</sup>

<sup>a, b, c:</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arası farklar önemli (P<0,05)

Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeyi Grup 1, 2, 3 4 ve 5'te sırasıyla 23,16±0,99, 18,67±0,98, 22,77±1,84, 22,02±1,3, 25,7±1,55 (mg/dL) belirlendi. Serumda HDL düzeyinin fruktoz verilen (Grup 2) grupta kontrol grubuna göre önemli düzeyde azaldığı (P<0,05), diğer gruplarda ise artmaya başladığı belirlendi (P<0,05).

Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) düzeyi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla 5,7±0,53, 13,22±0,66, 7,42±0,42, 7,55±0,62, 9,88±1,2 (mg/dL) belirlendi. Serumda LDL düzeyinin fruktoz verilen (Grup 2) grupta kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı (P<0,05), diğer gruplarda ise azalmaya başladığı belirlendi (P<0,05).

Ürik asit düzeyi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla 1,28±0,11, 2,61±0,25, 1,57±0,43, 1,99±0,2, 1,87±0,1(mg/dL) belirlendi. Serumda UA düzeyinin fruktoz verilen grupta (Grup 2) kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı (P<0,05), diğer gruplarda ise azalmaya başladığı belirlendi (P<0,05).



**Şekil 14.** Gruplardaki HDL, LDL, TK ve UA arasındaki ilişki

Kontrol grubu ile yüksek fruktoza maruz bırakılan ratlara tedavi amacıyla curcumin ve *L. acidophilus* probiyotığının tek tek ve kombinasyon hâlinde verilen gruplarında (Grup 1, 2, 3, 4 ve 5) Serumda Aspartat Transaminaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), total kolesterol (TK), kreatin kinaz (CK) aktivitesinin düzeylerinin ortalama ve standart hataları değerleri tabloda sunuldu (ortalama±SE) (Tablo 8).

Aspartat Transaminaz aktivitesi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla  $127,2 \pm 5,03$ ,  $166 \pm 9,69$ ,  $137,9 \pm 9,82$ ,  $153,11 \pm 34,06$ ,  $156,4 \pm 11,86$  (U/L) belirlendi. Serumda AST düzeyi fruktoz verilen (Grup 2) grupta diğer gruplara göre önemli düzeyde arttığı ( $P < 0,05$ ), Grup 3, 4 ve Grup 5'te ise azalarak kontrol grubuna yaklaştığı belirlendi ( $P > 0,05$ ).

Alanin amino transferaz aktivitesi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla  $25,3 \pm 1,3$ ,  $33,55 \pm 1,95$ ,  $31,4 \pm 1,94$ ,  $32,4 \pm 2,01$ ,  $32,4 \pm 2$  (U/L) belirlendi. Serumda ALT düzeyi fruktoz verilen (Grup 2) grupta kontrol gruplara göre önemli düzeyde arttığı ( $P < 0,05$ ), diğer gruplarda ise hafif azaldığı, bunun istatistik olarak önemli olmadığı belirlendi ( $P > 0,05$ ).

Kreatin kinaz aktivitesi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla  $247,7 \pm 23,73$ ,  $420,22 \pm 26,63$ ,  $351,3 \pm 32,2$ ,  $308,55 \pm 40,05$ ,  $338,28 \pm 35,78$  (U/L) belirlendi. Serumda CK düzeyi fruktoz verilen grupta (Grup 2) kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı ( $P < 0,05$ ), diğer gruplarda ise hafif azaldığı probiyotik verilen (Grup 4) grupta CK aktivitesinde azalmanın daha fazla olduğu belirlendi ( $P > 0,05$ ).

Total kolesterol düzeyi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te ise sırasıyla 34,2±2,39, 39±3,02, 34,7±2,38, 33,4±1,89, 36,5±2,53 (mg/dl) belirlendi. Serumda TK düzeyi fruktoz verilen grupta (Grup 2) kontrol gruplara göre arttığı (P>0,05), diğer gruplarda ise hafif azaldığı, bunun istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi (P>0,05).

#### 4.4. Beyin Doku Süpernatantındaki Faktör İlişkili Apoptozis (FAS), Total Beta Amiloid Protein (TBAP), Translokator Protein (TSPO) Düzeyi

Kontrol grubu ile yüksek fruktoza maruz bırakılan ratlara tedavi amacıyla curcumin ve *L. acidophilus* probiyotiğinin tek tek ve kombinasyon hâlinde verilen grupların (Grup 1, 2, 3, 4 ve 5) beyin doku süpernatantındaki faktör ilişkili apoptozis (FAS), Total beta amiloid protein (TBAP), Translokator protein (TSPO) düzeyi tabloda sunuldu (Tablo 9).

**Tablo 9.** Beyin dokusunda süpernatantında ölçülen faktör ilişkili apoptozis (FAS), Total beta amiloid protein (TBAP), Translokator protein (TSPO) düzeyinin düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
<b>FAS (ng/mg doku)</b>	2,24±0,01 <sup>a</sup>	3,78±0,57 <sup>b</sup>	2,35±0,04 <sup>a</sup>	2,55±0,21 <sup>a</sup>	2,71±0,32 <sup>a</sup>
<b>TSPO (ng/mg doku)</b>	4,37±0,27 <sup>a</sup>	5,3±0,51 <sup>b</sup>	4,93±0,33 <sup>b</sup>	4,4±0,13 <sup>ab</sup>	4,26±0,41 <sup>ab</sup>
<b>TBPA (ng/mg doku)</b>	2,27±0,06 <sup>a</sup>	2,53±0,03 <sup>a</sup>	2,48±0,03 <sup>a</sup>	2,46±0,05 <sup>a</sup>	2,41±0,07 <sup>ab</sup>

<sup>a, b, c, d</sup>: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arası farklar önemli (P<0,05)

#### Beyin Dokusundaki Faktör İlişkili Apoptozis (FAS) Düzeyi

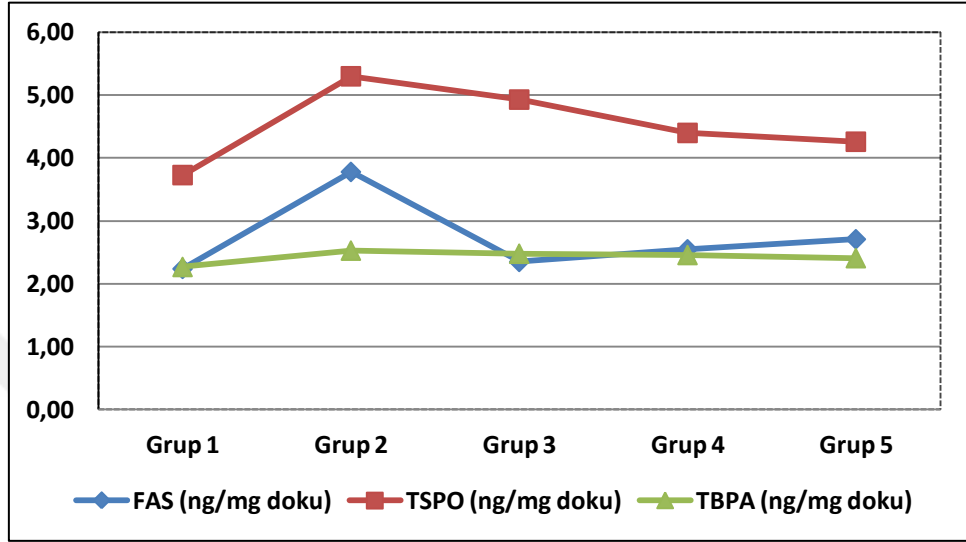
FAS düzeyi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla 2,24±0,01, 3,78±0,57, 2,35±0,04, 2,55±0,21, 2,71±0,32 (ng/mg doku) belirlendi. Beyin dokusunda FAS düzeyi fruktoz verilen grupta (Grup 2) kontrol gruplara göre önemli düzeyde arttığı (P<0,05), diğer gruplarda ise azalarak kontrol grubuna yaklaştığı belirlendi (P>0,05).

#### Beyin Dokusundaki Düzeyi Translokator Protein (TSPO) Düzeyi

TSPO düzeyi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla 4,37±0,27, 5,3±0,51, 4,93±0,33, 4,4±0,13, 4,26±0,41 (ng/mg doku) belirlendi. Beyin dokusunda TSPO düzeyi fruktoz verilen grupta (Grup 2) kontrol gruplara göre önemli düzeyde arttığı (P<0,05), diğer gruplarda ise hafif düzeyde azalmaya başladığı belirlendi (P>0,05).

### Beyin Dokusundaki Total Beta Amiloid Protein (TBAP) Düzeyi

TBPA düzeyi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla  $2,27\pm 0,06$ ,  $2,53\pm 0,03$ ,  $2,48\pm 0,03$ ,  $2,46\pm 0,05$ ,  $2,41\pm 0,07$  (ng/mg doku) belirlendi. Beyin dokusunda TBPA düzeyi fruktoz verilen grupta (Grup 2) kontrol grubuna göre düzeyinin arttığı ( $P>0,05$ ), diğer gruplarda ise hafif düzeyde azalmaya başlayarak kontrol grubuna yaklaştığı belirlendi ( $P>0,05$ ).



Şekil 15. Gruplardaki FAS, TSPO ve TBPA arasındaki ilişki

### Beyin Doku Süpernatantındaki Bazı Nörosteroidlerin Düzeyi

Kontrol grubu ile yüksek fruktoza maruz bırakılan ratlara tedavi amacıyla curcumin ve *L. acidophilus* probiyotiğinin tek tek ve kombinasyon hâlinde verilen grupların (Grup 1, 2, 3, 4 ve 5) beyin doku süpernatantındaki östradiol, testosteron ve progesteron düzeyi tabloda sunuldu.

Tablo 10. Beyin dokusunda süpernatantında estradiol, testosteron ve progesteron düzeyleri

	Östradiol (ng/mg doku)	Testosteron (ng/mg doku)	Progesteron (ng/mg doku)
Grup 1	$2,37\pm 0,44^a$	$1,94\pm 0,01^a$	$19,62\pm 0,67$
Grup 2	$2,2\pm 0,07^b$	$1,72\pm 0,08^b$	$18,44\pm 0,45$
Grup 3	$2,52\pm 0,04^c$	$1,95\pm 0,06^a$	$19,1\pm 0,61$
Grup 4	$2,38\pm 0,07^{ac}$	$1,94\pm 0,06^a$	$19,77\pm 0,58$
Grup 5	$2,29\pm 0,04^{ab}$	$2,27\pm 0,53^c$	$19,82\pm 0,55$

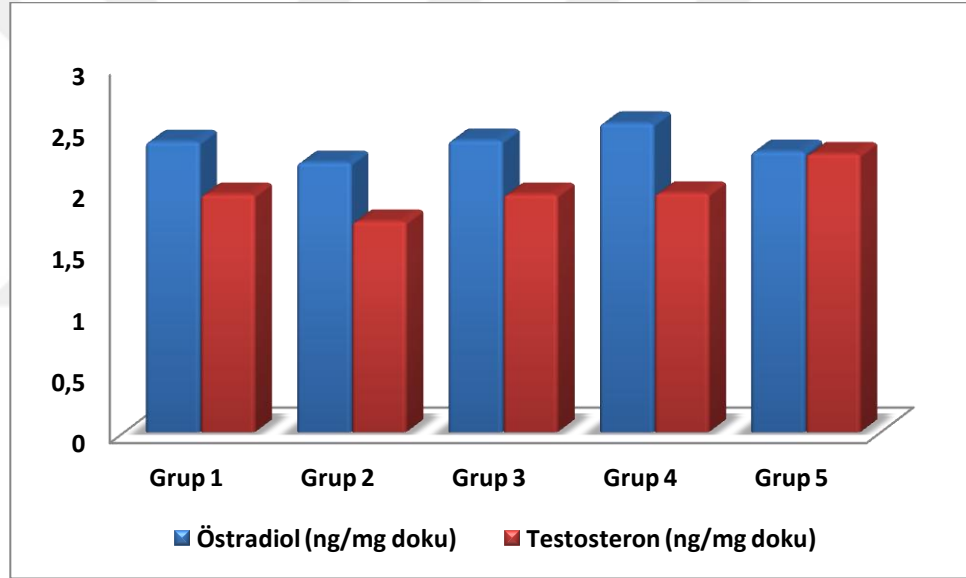
<sup>a, b, c</sup>: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arası farklar önemli ( $P<0,05$ )

### Beyin Dokusunda Östradiol Hormon Düzeyi

Östradiol hormon düzeyi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla  $2,37\pm 0,44$ ,  $2,2\pm 0,07$ ,  $2,52\pm 0,04$ ,  $2,38\pm 0,07$ ,  $2,29\pm 0,04$  (ng/mg doku) belirlendi. Beyin dokusunda östradiol hormon düzeyi fruktoz verilen grupta (Grup 2) kontrol grubuna göre azaldığı ( $P<0,05$ ), diğer gruplarda ise hafif arttığı belirlendi.

### Beyin Dokusunda Testosteron Hormon Düzeyi

Testosteron hormon düzeyi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla  $1,94\pm 0,01$ ,  $1,72\pm 0,08$ ,  $1,95\pm 0,06$ ,  $1,94\pm 0,06$ ,  $2,27\pm 0,53$  (ng/mg doku) belirlendi. Beyin dokusunda testosteron hormon düzeyi fruktoz verilen grupta (Grup 2) kontrol grubuna göre önemli düzeyde azaldığı ( $P<0,05$ ), diğer gruplarda ise arttığı, bu artışın curcumin ve probiyotik birlikte verilen grupta (Grup 5) en fazla olduğu belirlendi.



Şekil 16. Gruplardaki Östrodiol ve testosteron arasındaki ilişki

### Beyin Dokusunda Progesteron Hormon Düzeyi

Progesteron hormon düzeyi Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla  $19,62\pm 0,67$ ,  $18,44\pm 0,45$ ,  $19,1\pm 0,61$ ,  $19,77\pm 0,58$ ,  $19,82\pm 0,55$  (ng/mg doku) belirlendi. Beyin dokusunda progesteron hormon düzeyi fruktoz verilen grupta (Grup 2) kontrol grubuna göre düzeyinin azaldığı ( $P>0,05$ ), diğer gruplarda ise arttığı bu artışın önemli olmadığı belirlendi ( $P>0,05$ ).

### Korelasyon İlişkisi

Gruplar arasındaki AST, ALT, TK, CK ve UA düzeyleri arasındaki korelasyon ilişkisi tablo 11’de sunuldu.

ALT’nin AST enzim aktiviteleri ve UA arasında önemli düzeyde pozitif korelasyon olduğu ( $r= 0,767^{**}$ ,  $r= 0,404^{**}$ ) belirlendi.

AST enzim aktiviteleri ile ürik asit düzeyi ile arasında pozitif korelasyon olduğu ( $r= 0,352^{*}$ ) belirlendi.

**Tablo 11.** Gruplar arasındaki Serumda Aspartat Transaminaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), total kolesterol (TK), ürik asit (UA) kreatin kinaz (CK) aktivitesinin korelasyon ilişkisi

	ALT	AST	UA	CK	TC
ALT	1	0,767**	0,404**	0,110	0,251
AST		1	0,352*	0,102	0,248
UA			1	0,191	-0,044
CK				1	-0,076
TC					1

\*( $P<0,05$ ), \*\*( $P<0,001$ )

Östradiol (EST), testosteron (TES), progesteron (PRO), faktör ilişkili apoptozis (FAS), Total beta amiloid protein (TBAP), Translokator protein (TSPO) düzeylerinin korelasyon ilişkisi tablo 12’de sunuldu.

**Tablo 12.** Gruplar arasındaki beyin doku süpernatantındaki östradiol (ÖST), testosteron (TES), progesteron (PRO), faktör ilişkili apoptozis (FAS), Total beta amiloid protein (TBAP)Translokator protein (TSPO) düzeylerinin korelasyon ilişkisi

	FAS	TSPO	TBPA	ÖST	TES	PRO
FAS	1	0,164	0,164	-0,192	-0,183	-0,244
TSPO		1	0,274	-0,074	-0,201	-0,207
TBPA			1	-0,023	-0,081	-0,240
ÖST				1	-0,1	0,119
TES					1	0,015
PRO						1



## 5. TARTIŞMA

Fruktoz meyve, sebze ve bal gibi doğal gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır. Ticari olarak tatlılığı, lezzetliliği ile işlenmiş yiyecek ve içeceklerle yaygın olarak ilave edilmektedir. Yapılan çalışmalarda yüksek fruktoz alımının obezite, koroner hastalıklar, metabolik değişiklikler, insülin direncini arttırma, hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve hipertansiyona yol açarak kronik hastalık gelişimini tetiklediği bildirilmiştir (Tappy ve Lee, 2010). Yüksek fruktoz diyetinin çeşitli zararlı etkilere neden olduğu hatta zararlı etkilerinin beyine ulaşabileceği görülmüştür (Ross ve ark., 2009; Mamikutty ve ark., 2014; Aydın ve ark., 2014; Reshidan ve ark., 2019). Fruktoz tüketiminin sistemik düzeyde zararlı etkisini gösteren çok sayıda çalışma olmasına rağmen merkezî sinir sistemindeki etkileri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır.

Bu çalışmada yüksek fruktoza maruz bırakılan ratlara tedavi amacıyla curcumin ve *L. acidophilus* probiyotiğinin tek tek ve kombinasyon hâlinde verilmesi durumunda beyinde nörosteroid (testosteron, östrojen ve progesteron), beta amyloid protein (TBAP), translokotor protein (TSPO) ve apoptozis (FAS) düzeyleri ile serumda bazı biyokimyasal parametrelere (HDL, LDL, Ürik Asit, AST, ALT, Total Kolesterol ve Kreatin Kinaz aktivitesine) etkisinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmanın başlangıcında vücut ağırlık ortalamaları yaklaşık olarak 273-298 g arasında olan ratlardan rastgele seçilerek gruplar oluşturuldu. Çalışma sonunda (8. haftada) vücut ağırlıkları Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'te sırasıyla 318,1±5,8, 340,5±5,65, 327,87±5,8, 318,6±8,19, 322,8±5,36 olduğu kaydedildi. Yüksek fruktoz verilen Grup 2'de kilo artışının kontrol grubuna (Grup 1) göre istatistiksel olarak dikkat çekici biçimde arttığı (P<0,05), diğer gruplarda ise hafif azaldığı, probiyotik verilen grupta (Grup 4) ise kontrol grubuna yaklaştığı saptandı (P>0,05). Mamikutty ve ark., (2015) tarafından yapılan çalışmada erkek wistar ratlar %20 fruktoz içeren içme suyu ile 8 hafta boyunca beslenmiştir. Kontrol grubu ve fruktoz grubu arasında canlı ağırlık artışı, vücut kitle indeksinde artış ve bel çevresinde kalınlaşmanın olduğu 8 hafta sonunda kontrol grubundaki ağırlık artışı %36,12 iken fruktozla beslenen ratlardaki ağırlık artışının %43,03 düzeyinde olduğu belirlenmiştir (Mamikutty ve ark., 2015). Başka bir çalışmada %20 fruktoza maruz kalan erkek wistar ratlarda obeziteye neden olduğu ve tedavi amacıyla verilen *Pandanus amaryllifolius*'un obeziteyi iyileştirici rolü olduğu saptanmıştır (Reshidan ve ark., 2019). Kelany ve ark., (2016) tarafından yapılan

çalışmada %65 fruktozlu diyetle 8 hafta boyunca beslenerek Metabolik Sendrom oluşturulmuş Sprague-Dawley ratlarda curcuminin etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucu, kontrol grubu (K), fruktozlu diyetle beslenen grup (F) ve diyete ilaveten curcumin (FC) alan grubun canlı ağırlık artışları kaydedilmiştir. K, F ve FC grupların canlı ağırlık ortalamaları sırasıyla 210,8g, 300,9g, 237,1g bulunmuştur. Curcumin uygulamasının fruktozun neden olduğu canlı ağırlık artışını engellediği görülmektedir. Li ve ark., (2016) tarafından yapılan çalışmada gıda indüksiyonu yoluyla metabolik sendrom oluşturulmuş ratlara verilen *L. acidophilus* takviyesinin canlı ağırlık artışını azalttığı ve obezite karşıtı etkili olduğu kanıtlanmıştır.

Bu çalışmada serumda LDL düzeyinin fruktoz verilen (Grup 2) gruptaki artışın kontrol grubuna göre dikkat çekici olduğu ( $P<0,05$ ), diğer gruplarda ise azalmaya başladığı belirlendi. Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeyi ise fruktoz verilen (Grup 2) grupta kontrol grubuna göre büyük oranda azaldığı ( $P<0,05$ ), diğer gruplarda ise artmaya başladığı saptandı. Total kolesterol düzeyinin ise fruktoz verilen (Grup 2) grupta kontrol grubuna göre az düzeyde arttığı, bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı görüldü. Jayakumar ve ark., (2016) tarafından yapılan çalışmada yüksek fruktoz tüketiminin kan lipid parametrelerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada Kontrol Grubu (K), %60 fruktozlu diyetle beslenen grup (F), sadece curcumin takviyesi alan grup (C) ve %60 fruktozlu diyetle beraber curcumin takviyesi alan grup (FC) olmak üzere 4 farklı grup oluşturulmuştur. 8 hafta süren deney sonucunda HDL, LDL ve total kolesterol düzeyleri karşılaştırılmıştır. Kontrol grubunda TK, HDL ve LDL değerleri sırasıyla 142,16 mg/dl, 47,16 mg/dl, 73,7 mg/dl bulunurken fruktozlu diyetle beslenen grubun TK, HDL ve LDL değerleri sırasıyla 263,33 mg/dl, 37,5 mg/dl ve 172,00 mg/dl olarak bulunmuştur. %60 fruktozlu diyetle beraber curcumin takviyesi alan grubun TK, HDL ve LDL değerleri sırasıyla 162,16 mg/dl, 95,16 mg/dl ve 46,46 mg/dl olarak belirlenmiş ve fruktoz tüketimine bağlı olarak TK ve LDL düzeyinin artarken HDL düzeyinin azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda probiyotik ve curcumin kullanımının TK ve LDL değerlerini düşürdüğü, HDL değerini artırdığı belirlendi.

Alaninaminotransferaz (ALT) ve Aspartataminotransferaz (AST) aktiviteleri karaciğer fonksiyon testleri için yaygın olarak kullanılan karaciğer enzimleridir. De Castro ve ark., (2013) tarafından yapılan çalışmada 4 haftalık genç ratlar ve 12 haftalık ergin ratlar 13 hafta boyunca yüksek fruktozlu diyet ile beslenmiş ve çalışma sonucunda

kan parametreleri değerlendirildiğinde ALT ve AST aktivitesi artışının her iki çalışma grubunda istatistiksel olarak değerli olduğu görülmektedir. Çalışmada yüksek fruktozun ALT ve AST enzim aktivitesi ile birlikte lipid metabolizmasını bozduğu ve karaciğerde yağ birimine neden olduğu görülmektedir. Kösele ve ark., (2018), tarafından yapılan çalışmada %10 ve %30 fruktozlu solüsyonlarla beslenen ratlarda serum ALT ve AST değerleri incelendiğinde kullanılan solüsyonun yoğunluğuna bağlı olarak bu değerlerde farklılıklar oluşmaktadır. %10 fruktozlu su ile beslenen ratlarda ALT ve AST değerlerinde belirli miktarda artış olurken %30 fruktozlu su ile beslenen ratlarda ALT ve AST değerleri ile referans değerler arasında ( $P < 0,05$ ) farkın istatistiksel olarak önemli olduğu anlaşılmaktadır. Çalışmamızda serum AST ve ALT enzim aktivite düzeyi yüksek fruktoza maruz kalan grupta (Grup 2) kontrol grubuna göre artışta anlamlı fark görüldüğü ( $P < 0,05$ ), Grup 3, 4 ve 5'te ise azaldığı kaydedildi. ALT ve AST aktivitesi artışı çoğu zaman karaciğer hasarı ile ilişkilidir. Curcumin ve probiyotik kullanımının ALT ve AST enzim aktivitesini düşürdüğü saptandı. Bulboaca ve ark., (2016) yüksek fruktoz maruziyeti ile metabolik sendrom oluşturulmuş ratlara curcumin takviyesinin kan ALT ve AST aktivitesi benzer şekilde düşürdüğünü bildirmiştir. Javadi ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada *L. acidophilus* bakterileri kullanımının karaciğer hasarı bulunan hastalarda serum ALT ve AST enzim düzeylerini düşürdüğü kaydedilmiştir. Çalışmamızdaki sonuçlar mevcut yayınlarla uyumlu olup curcumin ve *L. acidophilus* probiyotiği kullanımının ALT ve AST enzim aktivitesini azaltıcı yönde etkisi olduğu belirlendi.

Ürik asitin endotel fonksiyonu, trombosit yapışması ve toplanması ile nitrik oksit biyoyararlanımı üzerinde zararlı etkileri bulunmaktadır. Endotel kaynaklı nitrik oksit eksikliğinin, insülinin etkisini engelleyen ve hiperinsülinemiye neden olan dokulara kan akışını azalttığı düşünülmektedir (Meshkani ve ark., 2011). Nakagawa ve ark., (2006) tarafından yapılan çalışmada erkek Sprague-Dawley ratlar yüksek fruktoz maruziyetine bağlı olarak serum ürik asit seviyesi, kan basıncı ve insülin düzeyinin yükseldiği ve vücut ağırlığının arttığı kaydedilmiştir. Cox ve ark., (2012) tarafından yapılan çalışmada enerji ihtiyacının %25'i fruktozdan sağlanan çalışma grubunda 10 hafta sonunda hiperürisemi olduğu ve fruktozun neden olduğu hiperüriseminin, hipertrigliseridemi, insülin direnci ve hipertansiyon gibi metabolik sendrom ile ilişkili bazı anormalliklere aracılık edebileceği öne sürülmüştür. Bu araştırmada yüksek

fruktoza maruz kalan ratların (Grup 2) serumunda ürik asit düzeylerinin yüksekliğinin kontrol grubundaki (Grup 1) ratlara göre istatistiksel açıdan değerli olduğu belirlendi. Grup 3, 4 ve 5'te ise ürik asit düzeyinin azalarak kontrol grubuna yaklaştığı belirlendi. Garcia-Arroyo ve ark., (2018) tarafından yapılan çalışmada hiperürisemi oluşturulmuş ratlara *L. acidophilus* KB27 (5,0 B CFU/günlük) ve *L. rhamnous* KB79 (5,0 B CFU/günlük) probiyotik karışım hâlinde *L. acidophilus* KB27 (5,0 B CFU/gün), *L. rhamnous* KB79 (5,0 B CFU/günlük) ve curcumin birlikte verilerek etkileri incelenmiştir. Her iki grubun da ürik asit değerlerini düşürdüğü görülmektedir. Çalışmamız sonucunda yüksek fruktoz tüketiminin ürik asit düzeyini yükselttiği, curcumin ve *L. acidophilus* probiyotik bakteri kullanımının ise ürik asit düzeyini azalttığı belirlendi.

Çalışmada kullanılan probiyotik *L. acidophilus*, Lactobacillus cinsinin karakterizasyonunda önemli rol oynayan, uzun bir geçmişi olan önemli bir ticari bakteridir. Lactobacillus taksonomisinin son derece büyüleyici doğası göz önüne alındığında *L. acidophilus*'un karakterizasyonu yanlış tanımlanmış ve tanıtılmıştır (Bull ve ark., 2013). *L. acidophilus*'un genom dizisinin analizi ile probiyotik etkileri daha iyi karakterize edilmiştir. Probiyotik suşların karakterizasyonu genel olarak iki kategoriye ayrılabilir. Bunlardan ilki; ürünlerde stabilite, safraya direnç ve düşük pH'a tolerans, hücre kültüründe insan kolonositlerine bağlılık, antimikrobiyal üretim ve laktaz aktivitesi gibi in vitro olarak gösterilebilen probiyotik fizyolojisidir. İkinci kategori ise konakçı immün tepkisine aracılık etmek, konakçı serum kolesterolünü düşürmek, konakçı laktoz metabolizmasını iyileştirmek ve enfeksiyonu önlemek veya tedavi etmek gibi besleme çalışmaları bağlamında gözlemlenen probiyotik etkiyi kapsamaktadır (Bull ve ark., 2013). Çalışmada kullanılan *L. acidophilus* ana etki mekanizması bağırsak ve beyin aksı arasında etkileşim yoluyla olmaktadır. Bağırsak-beyin ekseninin strese bağlı tepkileri düzenlemedeki önemi uzun zamandır bilinmektedir. Son zamanlarda mikrobiyota bu eksenin kontrolünde özellikle stres koşulları sırasında önemli bir oyuncu olarak ortaya çıkmıştır. Diyet ve mikrobiyota bağırsak-beyin ekseninin en önemli değiştirici faktörlerinden biridir. Karmaşık ve çok yönlü bağırsak-beyin iletişim sistemi sadece davranış ve fizyolojik süreçleri desteklemekle kalmaz aynı zamanda ruh hâlini ve daha yüksek bilişsel fonksiyonlar üzerinde derin etkiler yaratabilmektedir (Foster ve ark., 2017). *L. acidophilus*'un beyin üzerine etki mekanizması incelendiğinde

Janik ve ark., (2016) tarafından Laktobasillus türü bakterilerden oluşan probiyotik takviyesinin farelerde hipokampal ve frontal kortekste GABA , NAA (toplam N-asetilaspartat + N-asetilaspartilglutamik asidi) ve glutamat + glutamin metabolit seviyesini artırdığı saptanmıştır. *L. acidophilus* ve Bifidobacterium türü bakterilerden oluşan takviyenin orta yaşlı farelerde myo-inositol seviyesini artırdığı gözlenmiştir. Myo-inositoldeki artışın glia'nın GABA aktivitesindeki değişikliklere duyarlılığı artırdığı düşünülmektedir. *L. acidophilus*'un merkezî sinir sistemi üzerindeki etkilerini Gama-Aminobütirik Asit ve metabolitlerinin muhtemel etkileri üzerine gerçekleştiği kabul edilmektedir. Frontal korteks ve hipokampustaki metabolitlerin düzeylerindeki değişikliklerin GABA-Glutamat ve glial-nöronal etkileşimler de dâhil olmak üzere birçok yoldan sinyal gönderimine neden olduğu görülmektedir. (O' Hagan ve ark., 2017). Ma ve ark., (2019) tarafından yapılan çalışmada Travmatik Beyin Hasarı oluşturulmuş ratlara *L. acidophilus* probiyotik takviyesinin nörolojik hasara karşı nöroprotektif etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda *L. acidophilus*'un bağırsak-beyin aksı yoluyla nöronlarda koruyucu etkileri olduğu görülmüştür. Michael ve ark., (2019) tarafından yapılan invitro çalışmalarda *L. acidophilus*'un ve *Bifidobacterium* türleri ile SH-SY5Y nöronal hücre kültürü üzerine birlikte uygulandığında antioksidan etki gösterdiği, bu şekilde nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir. Ziada ve ark., (2013) yapılan çalışmada *L. acidophilus* uygulamasının hepatik ensefalopatik hastaların beyinlerinde glutamine+glutamat ve myo-inositol oranlarını artırdığını tespit etmişlerdir. Bu çalışma sonuçlarına göre *L. acidophilus* probiyotiğinin, yüksek fruktoz maruziyetine bağlı nöral hasara karşı etkili bir terapötik olduğu görülmektedir.

Curcumin (diferuloylmehane) (CUR), 1,7-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion kimyasal formülü ile ünlü flavonoiddir. Flavonoidler hastalıkların tedavisi için seçilen kapsamlı yaşamsal yetenekleri olan bitkilerin ana bileşimidir. Flavonoidler ayrıca anti-mikrobiyal, anti-enflamatuar, anti-trombotik, antioksidan, anti-alerjik, anti-mikrobiyal, analjezik ve vazodilatuar etkiler gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip polifenolik bileşenlerdir (Farkhondeh ve ark., 2016). Curcuminin geniş bir biyolojik aktivitesi, etki mekanizması ve farmakolojik etkileri üzerine yapılan kapsamlı çalışmalar sonucu, bu bileşikten yeni ilaçlar geliştirmenin mümkün olduğu görülmektedir. Curcumin çok çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahip, toksik olmayan umut verici bir doğal antioksidan bileşiktir. Curcuminin enflamatuar bozukluklar,

karsinogenez ve oksidatif stres kaynaklı patogenez dâhil olmak üzere çeşitli hastalıkları kontrol etmek için yakın gelecekte yeni bir ilaç olarak kullanılması beklenmektedir (Chattopadhyay ve ark., 2004).

Curcuminin nöro-koruyucu etkileri üzerine yapılan çalışmalarda nörodejeneratif hastalıkların temelinde yatan protein agregatların birikmesi, oksidatif hasar ve enflamasyona karşı etkili olduğu kaydedilmiştir (Cole ve ark., 2007). Ayrıca stresli ratlara curcumin takviyesi beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) düzeyini artırmaktadır. Nörotrofin ailesinin bir üyesi olan beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) olgunlaşmamış nöronların gelişimini teşvik etmekte yetişkin nöronların yaşamını ve işlevini, depresyon ve travma gibi stresli koşullar sırasında hücre yaşamını düzenlemektedir (Nabiuni ve ark., 2013). Lim ve ark., (2001) tarafından yapılan çalışmada transgenetik APP plak oluşumlu deneysel fare grubunda curcumin ilavesinin sadece antioksidan ve anti enflamatuar etkili olmadığı, aynı zamanda amiloid plak oluşumu ve A $\beta$  birikimini azalttığını gözlemlemiştir. Curcuminin beyinde meydana gelen enflamasyonda pro-enflamatuar transkripsiyon faktörlerini ve bunlara ait yolakları modüle ederek kontrol etmektedir (Ullah ve ark., 2017). Curcumin mitokondriyal membran potansiyelini düzenleyerek hücre içi ROS üretimini inhibe ettiği, nöronları oksidatif hasardan koruduğu bildirilmiştir (Jagatha ve ark., 2008). Xu ve ark., (2016) tarafında yapılan çalışmada yüksek fruktoz maruziyetinin MSS'de oluşturduğu zararlı etkileri curcumin ile engellenmeye çalışılmıştır. Fruktoz maruziyeti sonucu Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) ve Nükleer Transkripsiyon Faktörü  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) sinyalinin aktivasyonu ile nöroinflamasyon oluşmakta ve nörogenesis engellenmektedir. Curcumin uygulaması ile mikroglia aktiviteleri inhibe edilerek nöronal hasara karşı koruma sağlandığı düşünülmektedir. Mevcut yayınlar incelendiğinde curcuminin nöroprotektif etkilerinin altında yatan mekanizma açık olmamakla birlikte anti enflamatuar ve anti oksidan etkinin baskın olduğu görülmektedir. Bu araştırmada curcumin takviyesinin rat beyininde beklenen nöro-koruyucu etkiyi gösterdiği ve yüksek fruktoz tüketimine bağlı etkileri azaltmada olumlu katkısı olduğu belirlendi.

Santral sinir sistemindeki TSPO ekspresyonu normal fizyolojik koşullar altında çok düşük olup salınımları astrositler ve mikroglia ile sınırlıdır. TSPO, kolesterolün mitokondriye taşınmasında ve nörosteroid hormonların sentezlenmesinde görevlidir. (Selvaraj ve Stocco, 2015). Beckers ve ark., (2018) yapılan çalışmada Translocator

proteini (TSPO) MSS patolojileri sırasında reaktif glial hücrelerde ekspresyon düzeyi artığından nöroinflamasyonu görüntülemenin aracı olarak kullanılabilceği ileri sürülmüştür. Bu açıdan TSPO, yüksek fruktoz tüketimine bağı MSS de oluşan hasarın ölçülmesinde iyi bir belirteçtir. Steroidlerin nöronal GABA<sub>A</sub> ve diğere reseptörler üzerinde etkili olduğu, böylece nörotransmisyon ve nöronal fonksiyonu etkilediğı bilinmektedir. Nörosteroid oluşumunda görevli TSPO'nun, ilaç ligandlarının bağlanabileceğı önemli bir biyomolekül olabileceğı ihtimali incelenmektedir (Papadopoulos ve ark., 2015).

TSPO ligandları sinir sistemindeki terapötik etkilerini, nöroaktif steroid sentezini düzenlemesi yoluyla göstermektedir. Nöroaktif steroidlerdeki artış ile TSPO ligandlarının nöral hücrelerde etkileri arasındaki bağlantıya dair bilgiler sınırlıdır (Arbo ve ark., 2015). Bu çalışmada TSPO seviyesi ile nörosteroid seviyeleri arasında negatif korelasyon olduğı belirlendi. TSPO seviyelerinin artmasına rağmen nörosteroid seviyesi azalmaktadır. Bununla birlikte prelinik modelde TSPO'nun bağlayıcı ilaçlarla hastalık etkilerini iyileştirilmesinde etkili olduğı ileri sürülmüştür. Rupperecht ve ark., (2010) tarafından yapılan çalışmada TSPO ligandlarının merkezî sinir sisteminde multipl skleroz, travmatik yaralanma, kontüzyon, nöropati, nöroinflamatuvar ağrı ve anksiyete bozukluklarında kullanılabileceğı bildirilmiştir. Yüksek fruktoz tüketimi sonucunda Grup 2'de TSPO düzeyleri önemli ölçüde artmıştır. Curcumin ve probiyotiğın birlikte kullanıldığı Grup 5'te TSPO seviyesi kontrol grubuna en yakın düzeydedir. *L. acidophilus* kullanılan Grup 4'te TSPO düzeyindeki azalmanın curcumin kullanılan Grup 3'e göre daha fazla düzeyde olduğı belirlendi. Bu çalışmada TSPO düzeyindeki azalmada en etkili takviyenin curcumin ve *L. acidophilus* kombinasyonu olduğı görüldü.

Beta Amiloid Protein; normal beyin dokusunda eser miktarda bulunmakta olup nörotrofik ve nörogenezisi artırma, sinaptik esnekliğı ve hafıza oluşumunu düzenlemek, antioksidan, kan-beyin bariyerinin yapısal bütünlüğünü sağlamak ve kalsiyum dengesini kurmak gibi fizyolojik birtakım görevler üstlenmektedir. Düzeyinin artması durumunda ise nörotoksik olup sinapslar ve hafızaya zarar vermekte, lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (Cardenas-Aguayo ve ark., 2014). %10 sakkaroz içeren su tüketiminin nöronal apoE seviyesi ve beta amiloid düzeyini artırdığı transgenik fare çalışmalarında kanıtlanmıştır (Cao ve ark., 2007). Luo ve ark., (2011) tarafından yapılan çalışmada 6

haftalık Wistar ratlar 16 hafta boyunca %10 fruktoz içeren solüsyon ile beslenmiştir. Çalışma sonunda ratların beyin dokuları western blot tekniği ile analiz edilmiştir. Sonuç olarak beta amiloid protein birikiminin arttığı,  $\beta$  sekretaz-1 (BACE) ve  $\gamma$  sekretaz (PS) düzeyinin yükseldiği, insülin degrade enzim aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar göz önüne alındığında fruktoz tüketimi ile A $\beta$  birikimi arasında anlamlı bir ilişki kurulabilmektedir. Bu çalışmada yüksek fruktoz maruziyeti sonucu A $\beta$  düzeyinin arttığı belirlendi. Total Beta Amiloid Protein seviyesini düşürmede en etkili yöntemin curcumin ve probiyotik kullanımı (Grup 5) olduğu görülmektedir. Ono ve ark., (2004) tarafından yapılan çalışmada curcumin kullanımının, A $\beta$  birikimi ve fibril oluşumunu in vitro inhibe etme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir. Probiyotik ve curcuminin tek tek uygulamasının A $\beta$  protein düzeyini düşürdüğü görülmüştür. Bu çalışmada A $\beta$  protein düzeyinin azalmasında LAB ve curcumin kombinasyonu kullanımının en etkili yöntem olduğu belirlendi.

Programlanmış hücre ölümü olarak da bilinen Apoptosis merkezî sinir sisteminde (MSS) normal gelişim, rejenerasyon, proliferasyon ve patolojik dejenerasyon durumlarında gerçekleşen başlıca hücre ölümü türüdür. Fas-FasL sistemi; hücre aracılı sitotoksisite, periferik immün düzenleme ve hücre ölümünün prototipik bir indükleyicisi olarak bilinmektedir. Fas ve FasL fizyolojik koşullarda MSS’de az miktarda eksprese edilmektedir. İltihaplı ve dejenere olan beyin dokusunda ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir. Fas ve FasL ekspresyonu, çeşitli nörolojik hastalıklarda belirgin şekilde yükselmekte ve bu sistemin MSS’deki dejeneratif ve enflamatuvar yanıtlarda rol oynayabileceği ihtimalini göstermektedir. Fas ve FasL’nin enflamatuvar, dejeneratif, enfeksiyöz, travmatik, neoplastik, gelişimsel ve iskemik bozukluklar gibi çeşitli nörolojik bozuklukların olduğu durumlarda beyindeki ifadesinin yükseldiği ve FasL–Fas sisteminin bu hastalıkların patogenezinde önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmektedir (Choi ve Benveniste, 2004). Li ve ark., (2019) tarafından yapılan çalışmada yüksek fruktoz tüketiminin hipokampal nöroinflamasyona ve nöral hasara neden olduğu kanıtlanmıştır. Yüksek fruktoz tüketimi nöronal hücrelerde hasara yol açmaktadır. Hasarlı hücrelerin programlı bir biçimde yok edilip sağlıklı hücrelerin varlığını devam etmesi gerekmektedir. Van Der Borght ve ark., (2011) tarafından yapılan çalışmada 4 hafta boyunca yüksek fruktoz tüketiminin rat beyin dokusunda nörogenezi azalttığı ve hipokampusta apoptozisi arttırdığı



bildirilmiştir. Yu ve ark., (2015) tarafından yapılan çalışmada oksijen azlığına bağlı beyin hasarı oluşturulmuş ve curcumin kullanımının Fas-FasL apoptozis seviyesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Beyin hasarı oluşturulmuş grupta Fas / FasL ekspresyonu artarken curcumin uygulaması yapılan grupta apoptozis düzeyinin azaldığı belirlenmiştir. Yüksek fruktoza maruz kalan grupta (Grup 2) FAS düzeyi kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek olduğu belirlendi. Yüksek fruktoz kullanılan (Grup 2) grupta Fas veya FasL'nin yüksek ifadesi, beyinlerde apoptotik hücre ölüm seviyelerinin artması ile ilişkilidir. Farklı yayınlarda nöro-koruyucu etkisi kanıtlanmış curcuminin önemli seviyede etkili olduğu görülmektedir. Bu çalışmada curcumin kullanılan Grup 3'te nöronal hasarın göstergesi olan FAS düzeyini en etkili şekilde düşürdüğü belirlendi. *L. acidophilus* kullanılan Grup 4 daha az etkili olduğu görüldü. Fakat probiyotik ve curcumin (Grup 5) kombinasyonu birlikte uygulanması tek başına kullanımdan daha az etkili olduğu belirlendi.

Testosteron, merkezî sinir sisteminde nörosteroid olarak görev yapan endojen anabolik / androjenik steroid hormondur. Hücresel gelişimde değişim ve farklılaşmada temel rol oynamaktadır. Hücresel düzeyde değişiklikleri tetikleyebilir; bu da davranış, ruh hâli ve bellekte değişikliklere neden olur. Ayrıca testosteronun nöroprotektif etki sağlayan antioksidan ve anti-apoptotik potansiyele sahip olduğu kabul edilmektedir. Testosteronun diğer nörotrofik etkileri arasında hücre farklılaşması, nörogenez, hipokampustaki nöronların gelişimi gibi etkiler de bulunmaktadır (Siddiqui ve ark., 2016). Testosteronun nöroprotektif etki gösterme mekanizması üzerine yapılan çalışmalarda (Zhang ve ark., 2004) hsp70 ekspresyonunun artmasıyla nöroproteksiyon etkinliği olduğunu Pike (2001) apoptotik ve hızlı hücre sinyal yollarını inhibe edilmesi yoluyla AR-bağımlı nöroproteksiyon etkinliği olduğunu kabul etmektedir. Testosteron ve metabolitlerinin hem hipokampal nöronlarda (Ishihara ve ark., 2016) hem de astroglial hücrelerde (Toro-Urrego ve ark., 2016) glukoz yoksunluğu koşulları altında nöroprotektif etkisi olduğu kanıtlanmıştır. Benzer şekilde testosteronun, nöron çevresinde ölümcül uyarılmaların ardından motor nöronlardaki dendritik atrofiyi önlediği bildirilmiştir (Cai ve ark., 2017). Ayrıca kronik stres koşullarında testosteron tükenmesinin beyindeki oksidatif hasara duyarlılığı arttırdığı rapor edilmiştir (Son ve ark., 2016). Gouras ve ark., (2000) yüksek dozda testosteron uygulanmasının sAPPa'yı (100 kDa amiloidojenik olmayan çözülebilir APP) artırdığını ve primer nöronal

kültürlerden A $\beta$  salımını azalttığını deneysel olarak kanıtlamıştır. Testosteronun sinir büyüme faktörü ekspresyonunu artırdığı (Tirassa ve ark., 1997), nöranal büyüme ve arborizasyon yoluyla interneural iletişimin geliştirilmesine aracılık ettiğini kanıtlamıştır (Kujawa ve ark., 1991). Nörosteroidler öncü steroidlerden *de novo* sentez yoluyla glial hücreler ve nöronlar tarafından da üretilmektedir. Yüksek fruktoz tüketimi nörosteroid (testosteron, östrojen ve progesteron) üretimini olumsuz etkilemekte ve beyindeki düzeylerini düşürmektedir. Bu çalışmada yüksek fruktoz maruziyetine bağlı testosteron hormon düzeyinin kontrol grubuna göre ( $P<0,05$ ) önemli düzeyde azaldığı saptandı. Curcumin uygulanan Grup 3 ve probiyotik kullanılan Grup 4'te ise etkilerinin olumlu ve birbirlerine yakın olduğu belirlendi. Testosteron hormon düzeyini artırıcı etkinliğinin en fazla curcumin ve probiyotik birlikte uygulanan grupta olduğu görüldü.

Östradiol, üreme sistemindeki görevlerine ek olarak merkezî sinir sisteminin gelişiminde ve yetişkinlikte normal beyin işlevinin sürdürülmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Östradiol bu eylemleri geliştirmekte olan beyindeki nöronal ve glial plastisite, dendritik büyüme, sinaptogenez, farklılaşma, nörogenez ve hücre göçü dâhil olmak üzere çok sayıda hücre işlevi etkileyerek uygulamaktadır. Östradiol normal beyin fonksiyonunun korunmasında ve çeşitli nörodejeneratif hastalık ve yaralanmalara karşı korumada önemli bir rol oynamaktadır. Çeşitli nörolojik hastalıkların ve yaralanmanın önlenmesi ve tedavisi için farmakolojik yaklaşımların yanı sıra terapötik bilgiler de sağlayabilmektedir (Suzuki ve ark., 2006). 17-beta-estradiolün (östrojen) merkezî sinir sisteminde oluşan yaralanmaların ilerlemesini yavaşlattığı, apoptotik yolları baskılayarak hücre ölümü derecesini azalttığı ve hücre sağkalımı genlerinin ifadesini artırdığı bildirilmiştir (Wise ve ark., 2005). Goodman ve ark., (1996) östrojen ön muamelesi ile kültürlenmiş hipokampal nöronların oksidatif stres hasarı, glukoz yoksunluğu, glutamat, FeS04 ve amiloid beta-peptid toksisitelerine karşı koruyabildiğini ve hücre sağkalımını desteklediğini kanıtlamıştır. Östrojenin nöronlar üzerindeki koruyucu etkileri incelendiğinde (Simpkins ve Singh, 2008; Brown, 2009; Acosta ve ark., 2013; Luine, 2014; Arevalo ve ark., 2015) yapılan çalışmalarda östrojenin nöroprotektif etkisi olduğu ortaya konulmuştur. Östrojenler; serebro-vasküler yapılar üzerinde vasodilasyonu artırarak, vasküler enflamasyonu azaltarak ve mitokondriyal fonksiyonu artırarak çoklu koruyucu etki göstermektedir (Duckles ve Krause, 2011). Nöronların hayatta kalması ve sürdürülmesi sinir büyüme faktörü (NGF)

ve beyin kaynaklı nörotrofik faktör de dâhil olmak üzere nörotrofinlere bağlıdır. Nörotrofinlerin östrojen kaynaklı nöroproteksiyonun bir mekanizması olabileceği ileri sürülmüştür (Granholm, 2000). Östrojenlerin ROS üretimini önlemede güçlü olduğu, lipit peroksidasyonunun inhibe edilmesinde rolü olduğu bildirilmiştir. İn vitro nöroproteksiyon testlerinde östrojenlerin suda çözünen antioksidan glutation ile etkileşime girdiği görülmüştür (Green ve ark., 1998). Östrojenlerin mental yaşlanma, yaralanma ve hastalık ile ilişkili farklı hücre tiplerini, nöronal sinyalleşme kaskadlarını ve sinir sistemi substratlarını etkilediği gösterilmiştir. Bu nedenle östrojenin nörokoruyucu etkilerinin arkasındaki mekanizma büyük olasılıkla çeşitli nörobiyolojik ve sinyalleşme etkilerinin çok faktörlü birleşimidir (Prokai ve Simpkins, 2007). Bu çalışmada yüksek fruktoza maruz kalan Grup 2’de beyinde östrodiol düzeyinin azaldığı belirlendi. Beyin östrodiol seviyenin yükseltilecek nöroprotektif etkinin artırılmasında curcuminin (Grup 3) en etkili doğal takviye olduğu belirlendi. *L. acidophilus* (Grup 4) kullanımında östrodiol düzeyinin kontrol grubuna yaklaştığı görülmektedir. Fakat curcumin ve *L. acidophilus*’un tek başına kullanılmasında sağlanan yarara karşılık birlikte kullanıldıklarında nöroprotektif etki sağlamalarına rağmen mevcut etkilerinin beklenen değerden düşük kaldığı tespit edildi.

Progesteronun hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda nöroprotektif etkileri kanıtlanmıştır. Ayrıca progesteron hipotalamus, hipokampus ve korteks başta olmak üzere beyin bazı bölgelerinde etkilidir. Çalışmaların çoğunda progesteronun hipokampal ve kortikal bölgede nöroprotektif ve/veya rejeneratif etkileri olduğu ileri sürülmüştür. Son yıllarda prelinik çalışmalarda akut yaralanma aşamasında verilen progesteronun travmatik beyin hasarı (TBI), omurilik hasarı, felç, diyabetik nöropati ve diğer akut nöral yaralanma türlerinde kullanıldığı rapor edilmiştir. Progesteronun beyin yapısının düzenlenmesi ve yenilenmesi, miyelinlenme, biliş, ruh hâli değişikliği, enflamasyon ve mitokondriyal fonksiyonlardaki rolleri için farklı hayvan modellerinde olumlu etkileri olduğu rapor edilmiştir (Siddiqui ve ark., 2016). Progesteronun eksitotoksik etkilere karşı koruduğu ve omurilik dejenerasyonu hayvan modeli olan Wobblers farelerinde morfolojik ve fonksiyonel iyileşmeyi teşvik ettiği gösterilmiştir (Gonzalez ve ark., 2002). Progesteronun, beyin hücrelerinin yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıklara ve çeşitli yaralanma biçimlerine karşı korunmasını da sağlayabilen

antioksidan etkilere sahip olduğu kabul edilmektedir (Roof ve ark., 1997). Progesteronun koruyucu etkilerinin altında sayısız etki mekanizması olabileceği düşünölmektedir. Progesteron etkisinin klasik genomik mekanizma ile hücrenin hayatta kalmasını teşvik edebilen nörotrofin ekspresyonunun düzenlenmesi yoluyla etkili olduğu belirtilmiştir (Kaur ve ark., 2007). Bu çalışmada yüksek fruktoz (Grup 2) tüketimine bağlı olarak progesteron düzeyinin az miktarda azaldığı belirlendi. Grup 5'te ise gerek curcuminin gerekse probiyotik etkisiyle progesteronun önemli düzeyde artırdığı göröldü. Grup 4'te *L. acidophilus* nöroprotektif etkinin Grup 3'te curcumin kullanımından daha etkili olduğu saptandı. Yüksek fruktoz maruziyetinde (Grup 2) azalan progesteron değerlerinin normal düzeye çıkarılmasında nöroprotektif etkinlik açısından curcumin ve *L. acidophilus*'un birlikte kullanımının daha etkili olduğu tespit edildi.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada yüksek fruktoz tüketiminin merkezî sinir sistemi üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla Sprague-Dawley ırkı erişkin erkek ratlara 4 hafta boyunca %20 fruktoz içme suyu *ad libitum* olarak tüketmeleri sağlandı ve 4. haftanın sonunda fruktozun olumsuz etkilerini gidermek amacıyla curcumin, *L. acidophilus* probiyotiği terapötik etkinliği araştırmak amacıyla tek tek ve kombinasyon hâlinde uygulandı. Çalışma sonuna kadar her hafta ratların vücut ağırlıkları tartılarak grupların ortalama vücut ağırlıkları kaydedildi. Çalışma sonunda ratlardan alınan kandan elde edilen serumlarda AST, ALT, ÜA, HDL, LDL ve TK düzeyleri spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Beyin doku örneklerinde TBPA, TSPO, FAS ve nörosteroid hormonlar (östrodiol, testosteron ve progesteron) düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlendi. Çalışma sonucunda;

1-Deney sonunda canlı ağırlık artışının fruktoz verilen grupta (Grup 2) anlamlı ölçüde artarak fruktoz tüketiminin önemli düzeyde canlı ağırlık artışına neden olduğu belirlendi. *L. acidophilus* verilen grupta canlı ağırlık azalışının daha fazla olduğu ve kontrol grubuna yaklaştığı görüldü.

2- Serum AST ve ALT enzim aktivite düzeyinin yüksek fruktoza maruz kalan grupta (Grup 2) kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek olduğu ( $P<0,05$ ), Grup 3, 4 ve 5'te ise azaldığı görüldü.

3-Yüksek fruktoza maruz kalan ratların (Grup 2) serumunda ürik asit düzeylerindeki artışın kontrol grubundaki (Grup 1) ratlara göre anlamlı fark içerdiği belirlendi. Grup 3, 4 ve 5'te ise ürik asit düzeyinin azaldığı kaydedildi.

4- Serumda LDL düzeyinin fruktoz verilen grupta (Grup 2) kontrol grubuna göre büyük oranda arttığı ( $P<0,05$ ), diğer gruplarda ise azalmaya başladığı tespit edildi. Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeyi ise fruktoz verilen (Grup 2) grupta kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan dikkat çekici olarak azaldığı ( $P<0,05$ ), diğer gruplarda ise artmaya başladığı belirlendi. Total kolesterol düzeyinin ise fruktoz verilen (Grup 2) grupta kontrol grubuna göre az miktarda arttığı, bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı görüldü.

5-Yüksek fruktoz tüketimine bağlı olarak beyin dokusunda TBPA, TSPO ve FAS düzeylerinde anlamlı bir artış olduğu belirlendi. TBPA, TSPO ve FAS yüksek fruktoz maruziyetine bağlı beyin nöronal hasarın oluşması ve hasarın nöronal seviyede

cevabın önemli bir göstergesidir. Mevcut kaynaklarda bu üç parametre de nörolojik hasar durumlarında düzeyleri artan belirteçler olarak kabul edilmektedir. Bu açıdan yüksek fruktoz tüketiminin beyinde oluşturduğu etkinin ölçülmesinde yararlı ve kullanışlı parametreler olduğu anlaşılmaktadır. FAS düzeyinin düşmesinde sırasıyla Grup 3 en etkili olurken daha sonra Grup 4'ün, ardından Grup 5'in etkili olduğu belirlendi. TSPO ve TBPA seviyelerinin azalmasında probiyotiklerin ve curcumin kombinasyonlarının en güçlü araç olduğu ve probiyotik uygulamasının tek başına kullanımının curcuminden daha etkili olduğu kanıtlandı.

7-Nörosteroidler olarak bilinen beyinde lokal olarak sentezlenen östrojen, progesteron ve testosteronun, nöronal hasar durumlarında nöroprotektif etkileri olduğu bilinmektedir. Yüksek fruktoz tüketimine bağlı hasar sonucunda nöronlarda nörosteroid seviyesi düşmektedir. Östrojen, progesteron ve testosteron seviyelerinin curcumin, probiyotik ve kombinasyonlarına bağlı olarak seviyelerinin arttığı fakat her birinin etki düzeyinin uygulanan preparata bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Östrojen düzeyinin Grup 3'te en yüksek seviyede olduğu, ardından Grup 4 ve Grup 5'te etkili iken testosteron seviyesinin Grup 5'te en yüksek olduğu, ardından sırasıyla Grup 3 ve Grup 4'te yükselmekte olduğu; progesteron seviyesinin Grup 5'te en yüksek, Grup 4 ve Grup 3'te daha az düzeyde etkili olduğu görülmektedir.

Çalışma sonucunda yüksek fruktoz maruziyeti ile beyin dokusunda oluşan nöronal hasarın önlenmesinde curcumin, *L. acidophilus* ve kombinasyonlarının kullanılmasının nörosteroid sentezini artırdığı ve nöronal hasar belirteçleri olan beta amiloid protein, TSPO ve FAS düzeylerini düşürdüğü belirlendi. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda yüksek fruktoz tüketiminin merkezî sinir sistemi üzerindeki olumsuz etkilerinin giderilmesinde kullanılmasının uygun olabileceği kanaatine varıldı.

## KAYNAKLAR

- Acosta JJ, Hiroi R, Camp BW, Talboom JS, Bimonte-Nelson HA. An update on the cognitive impact of clinically-used hormone therapies in the female rat: models, mazes, and mechanisms. *Brain Res* 2013;1514:18-39.
- Aggarwal BB, Kumar A, Bharti A. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 2003;23:363-398.
- Aggarwal BB, Shishodia S, Takada Y, Banerjee S, Newman RA, Bueso-Ramos CE, Price JE. Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kappaB pathway in breast cancer cells and inhibits lung metastasis of human breast cancer in nude mice. *Clin. Cancer Res* 2005;11:7490-7498.
- Aggarwal BB, Shishodia S. Suppression of the nuclear factor-kappaB activation pathway by spice-derived phytochemicals: reasoning for seasoning. *Acad Sci* 2004;1030:434-441.
- Agís-Balboa RC, Pinna G, Zhubi A, et al. Characterization of brain neurons that express enzymes mediating neurosteroid biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 2006;103:14602–14607.
- Akbay GD, Pekcan AG. Zerdeçal: Beslenme ve sağlık yönünden değerlendirilmesi. *Beslenme ve diyet dergisi* 2016;44(1): 68-72.
- Alonso-Solís R, Abreu P, Leopez-Coviella I, et al. Gonadal steroid modulation of neuroendocrine transduction: a transynaptic view. *Cellular and Molecular Neurobiology* 1996;16(3):357-382.
- Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Mol Pharm* 2007;4(6):807-818.
- Arbo BD, Benetti F, Garcia-Segura LM, Ribeiro MF. Therapeutic actions of translocator protein (18 kDa) ligands in experimental models of psychiatric disorders and neurodegenerative diseases. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 2015;154:68-74.
- Arevalo MA, Azcoitia I, Garcia-Segura LM. The neuroprotective actions of oestradiol and oestrogen receptors. *Nature Reviews Neuroscience* 2015;16(1):17.
- Arimatsu Y, Hatanaka H. Estrogen treatment enhances survival of cultured fetal rat amygdala neurons in a defined medium. *Developmental Brain Research* 1986;26(1):151-159.
- Arslan S, Şanlıer N. Fruktöz ve sağlık. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2016; 9(3): 150-158.
- Ashe PC, Berry MD. Apoptotic signaling cascades. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2003;27(2):199-214.

- Auta J, Romeo A, Kozikowski A, Ma D, Costa E, Guidotti A. Participation of mitochondrial diazepam binding inhibitor receptors in the anticonflict, antineophobic and anticonvulsant action of 2-aryl-3-indoleacetamide, and imidazopyridine derivatives. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1993;265:649–656.
- Aydin S, Aksoy A, Aydin S, Kalayci M, Yilmaz M, Kuloglu T, Cital C, Catak Z. Today's and yesterday's of pathophysiology: biochemistry of metabolic syndrome and animal models. *Nutrition* 2014;30(1):1-9.
- Barham D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by oxidase system. *Analyst* 1972;27:142-145.
- Basmaz G. Zerdeçaldan kurkuminlerin ekstraksiyonu ve kurkuminin voltametik davranışının çeşitli elektrotlarla incelenmesi. Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, Yüksek Lisans Tezi, 2014; 1.
- Baulieu EE, Robel P, Schumacher M, Neurosteroids: beginning of the story, *Int. Rev. Neurobiol* 2001;46:1-32.
- Baulieu EE, Robel P. Neurosteroids: a new brain function? *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 1990;37:395-403.
- Baulieu EE. Neurosteroids: of the nervous system, by the nervous system, for the nervous system. *Recent Prog Horm Res* 1997;52:1-32.
- Bayram Ş. Fas/Faslı yolağının diyabetik erkek infertilitesindeki rolünün değerlendirilmesi. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne, Yüksek Lisans Tezi, 2015; 12-14.
- Becit M, Aydın S, Başaran, N. Curcuminin terapötik ve toksik etkilerinin değerlendirilmesi. *Journal of literature pharmacy sciences* 2017;6(2):126-142.
- Beckers L, Ory D, Geric I, Declercq L, Koole M, Kassiou M, Bormans G, Baes M. Increased expression of translocator protein (TSPO) marks pro-inflammatory microglia but does not predict neurodegeneration. *Molecular imaging and biology* 2018;20(1):94-102.
- Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. *Clinical Chemistry* 1978;24-58.
- Bermejo-Millo JC, Guimarães MRM, de Luxán-Delgado B<sup>1</sup>, Potes Y, Pérez-Martínez Z, Díaz-Luis A, Caballero B, Solano JJ, Vega-Naredo I, Coto-Montes A. High-Fructose consumption impairs the redox system and protein quality control in the brain of syrian hamsters: therapeutic effects of melatonin. *Molecular neurobiology* 2018;55(10):7973-7986.
- Beyer C, Green SJ, Hutchinson JB. Androgens influence sex differentiation of developing hypothalamic aromatase neurons in vitro. *Endocrinology* 1994;135:1220-1226.



- Bialek M, Zaremba P, Borowicz KK, Czuczwar SJ. Neuroprotective role of testosterone in the nervous system. *Pol. J. Pharmacol* 2004;56:509-518.
- Boztepe Ö. Mesanenin ürotelyal hücreli karsinomlarında apoptozis yollarında rol oynayan fas, fasl, bcl-2 ve bax ekspresyonlarının değerlendirilmesi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Tokat, Uzmanlık Tezi, 2010, 18-20.
- Brinton RD, Tran J, Prott P, Montoya M. 17  $\beta$ -estradiol enhances the outgrowth and survival of neocortical neurons in culture. *Neurochemical Research* 1997;22(11):1339-1351.
- Brown C. Estradiol is a potent protective, restorative, and trophic factor after brain injury. *Semin. Reprod Med* 2009;27:240-249.
- Bulboacă AD, Bolboacă S, Suci S. Protective effect of curcumin in fructose-induced metabolic syndrome and in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Iranian journal of basic medical sciences* 2016;19(6):585-593.
- Bull M, Plummer S, Marchesi J, Mahenthiralingam E. The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: a tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. *FEMS microbiology letters* 2013;349(2):77-87.
- Bulut İK, Mir S. Fruktöz ve böbrek hastalıkları. *Cumhuriyet Tıp Dergisi* 2011;33:499-507.
- Cai Y, Chew C, Muñoz F, Sengelaub DR. Neuroprotective effects of testosterone metabolites and dependency on receptor action on the morphology of somatic motoneurons following the death of neighboring motoneurons. *Developmental neurobiology* 2017;77(6):691-707.
- Calabrese V, Butterfield DA, Stella AM. Nutritional antioxidants and the heme oxygenase pathway of stress tolerance: novel targets for neuroprotection in Alzheimer's disease. *Italian Journal of Biochemistry* 2003;52(4):177-181.
- Cao D, Lu H, Lewis TL, Li L. Intake of sucrose-sweetened water induces insulin resistance and exacerbates memory deficits and amyloidosis in a transgenic mouse model of Alzheimer disease. *Journal of Biological Chemistry* 2007;282(50):36275-36282.
- Cardenas-Aguayo MDC, et al. <https://www.intechopen.com/books/neurochemistry/physiological-role-of-amyloid-beta-in-neural-cells-the-cellular-trophic-activity>, 2014. Erişim tarihi : 05.02.2019
- Chattopadhyay I, Biswas K, Bandyopadhyay U, Banerjee RK. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Current Science-Bangalore* 2004;87:44-53.

- Chen GF, Xu TH, Yan Y, Zhou YR, Jiang Y, Melcher K, Xu HE. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacologica Sinica* 2017;38(9):1205.
- Choi C, Benveniste EN. Fas ligand/Fas system in the brain: regulator of immune and apoptotic responses. *Brain Research Reviews* 2004;44(1):65-81.
- Chowen JA, Torres-Alemán I, García-Segura LM. Trophic effects of estradiol on fetal rat hypothalamic neurons. *Neuroendocrinology* 1992;56(6):895-901.
- Ciriza I, Azcoitia I, Garcia-Segura LM. Reduced progesterone metabolites protect rat hippocampal neurons from kainic acid excitotoxicity in vivo. *Journal of Neuroendocrinology* 2004;16(1):58-63.
- Cirrito JR, May PC, O'Dell MA, Taylor JW, Parsadanian M, Cramer JW, Audia JE, Nissen JS, Bales KR, Paul SM, DeMattos RB, Holtzman DM. In vivo assessment of brain interstitial fluid with microdialysis reveals plaque-associated changes in amyloid-beta metabolism and half-life. *J Neurosci* 2003;23(26):8844-8853.
- Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochemical Journal* 1997;326(1):1-16.
- Cole GM, Teter B, Frautschy SA. Neuroprotective effects of curcumin. In: Aggarwal BB, Surh YJ, Shishodia S. (eds) *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*, Boston MA, Springer, 2007;595:197-212.
- Collino, M. High dietary fructose intake: sweet or bitter life? *World journal of diabetes* 2011;2(6):77-81.
- Costa E, Guidotti A. Diazepam binding inhibitor (DBI), a peptide with multiple biological actions. *Life Sciences* 1991;49:325-344.
- Cox CL, Stanhope KL, Schwarz JM, Graham JL, Hatcher B, Griffen SC, Bremer AA, Berglund L, McGahan JP, Keim NL, Havel PJ. Consumption of fructose-but not glucose-sweetened beverages for 10 weeks increases circulating concentrations of uric acid, retinol binding protein-4, and gamma-glutamyltransferase activity in overweight/obese humans. *Nutrition & metabolism* 2012;9(1):68.
- Day JR, Frank AT, O'Callaghan JP, Jones BC, Anderson JE. The effect of age and testosterone on the expression of glial fibrillary acidic protein in the rat cerebellum. *Experimental Neurology* 1998;151(2):343-346.
- De Castro UG, Dos Santos RA, Silva ME, De Lima WG, Campagnole-Santos MJ, Alzamora AC. Age-dependent effect of high-fructose and high-fat diets on lipid metabolism and lipid accumulation in liver and kidney of rats. *Lipids in health and disease* 2013;12(1): 136.

- Deutsch SI, Mastropaolo J, Hitrı A. GABA-active steroids: endogenous modulators of GABA-gated chloride ion conductance. *Clinical Neuropharmacology* 1992;15:352–364.
- Dinçel GÇ, Kul O. Patolojik apoptozis ve tanı yöntemleri. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2016;5(1):86-108.
- Djebaili M, Hoffman SW, Stein DG. Allopregnanolone and progesterone decrease cell death and cognitive deficits after a contusion of the rat pre-frontal cortex. *Neuroscience* 2004;123(2):349-359.
- Dönmez HG. Beta-Katenin ile apoptozis arasındaki ilişkinin sitolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırılması. *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Doktora Tezi*, 2015, 48-55.
- Duckles SP, Krause DN. Mechanisms of cerebro vascular protection: Oestrogen, inflammation and mitochondria. *Acta Physiol* 2011;203:149-154.
- Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. *Afyonkarahisar, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları*, 2000.
- Elmadhun NY, Sabe AA, Lassaletta AD, Chu LM<sup>1</sup>, Kondra K, Sturek M, Sellke FW. Metabolic syndrome impairs notch signaling and promotes apoptosis in chronically ischemic myocardium. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 2014;148(3):1048-1055.
- Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology* 2007;35(4):495-516.
- Faivre-Bauman A, Rosenbaum E, Puymirat J, Grouselle D, Tixier-Vidal, A. Differentiation of fetal mouse hypothalamic cells in serum-free medium. *Developmental Neuroscience* 1981;4(2):118-129.
- Falkenstein E, Tillman HC, Christ M, Feuring M, Wehling M. Multiple actions of steroid hormones—a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacological Reviews* 2000;52(4):513-556.
- Farkhondeh T, Samarghandian S, Samini F. Antidotal effects of curcumin against neurotoxic agents: An updated review. *Asian Pacific journal of tropical medicine* 2016;9(10):947-953.
- Fındık H. Kronik böbrek yetersizliği hastalarında idrar bulundurmayan mesane dokusunda apoptotik bulguların incelenmesi. *Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Yüksek Lisans Tezi*, 2013, 7-10.
- Finan B, Yang B, Ottaway N, Stemmer K, Müller TD, Yi CX, Habegger K, Schriever SC, García-Cáceres C, Kabra DG, Hembree J, Holland J, Raver C, Seeley RJ, Hans W, Irmeler M, Beckers J, de Angelis MH, Tianio JP, Mauvais-Jarvis F, Perez-Tilve D, Pfluger P, Zhang L, Gelfanov V, DiMarchi RD, Tschöp

- MH. Targeted estrogen delivery reverses the metabolic syndrome. *Nature medicine* 2012;18(12):1847-1856.
- Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980;26:227-231.
- Foster JA, Rinaman L, Cryan JF. Stress and the gut-brain axis: regulation by the microbiome. *Neurobiology of stress* 2017;7:124-136.
- Funari VA, Crandall JE, Tolan DR. Fructose metabolism in the cerebellum. *The Cerebellum* 2007;6(2):130.
- Gaby AR. Adverse effects of dietary fructose. *Altern. Med. Rev.* 2005;10(4):294-306.
- Garcea G, Berry DP, Jones DJL, Parveen I, Threadgill MD, Sharma RA, Williams ML, Steward WP, Gescher AJ. Consumption of the putative chemopreventive agent curcumin by cancer patients: assessment of curcumin levels in the colorectum and their pharmacodynamic consequences. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent* 2005;14:120-125.
- Garcea G, Jones DJ, Singh R, Dennison AR, Farmer PB, Sharma RA, Steward WP, Gescher AJ, Berry DP. Detection of curcumin and its metabolites in hepatic tissue and portal blood of patients following oral administration. *Br J Cancer* 2004;90:1011-1015.
- Garcia-Arroyo FE, Gonzaga G, Muñoz-Jimenez I, Blas-Marron MG, Silverio O, Tapia E, Soto V, Ranganathan N, Ranganathan P, Vyas U, Irvin A, Ir D, Robertson CE<sup>4</sup>, Frank DN, Johnson RJ, Sánchez-Lozada LG. Probiotic supplements prevented oxonic acid-induced hyperuricemia and renal damage. *PloSone* 2018;13(8): e0202901.
- Garcia-Segura LM, Azcoitia I, DonCarlos LL. Neuroprotection by estradiol. *Progress in neurobiology* 2001;63(1):29-60.
- Gavish M, Veenman L. Regulation of mitochondrial, cellular, and organismal functions by TSPO. In *Advances in Pharmacology* 2018;82:103-136.
- Genazzani AR, Stomati M, Morittu A, Bernardi F, Monteleone P, Casarosa E, Gallo R, Salvestroni C, Luisi M. Progesterone, progestagens and the central nervous system. *Human Reproduction* 2000;15(1):14-27.
- Gill HS, Cross ML. Probiotics and Immune Function. *Nutrition and Immune Function* 2002;251.
- Gonzalez Deniselle MC, Lopez-Costa JJ, Saavedra JP, Pietranera L, Gonzalez SL, Garay L, Guennoun R, Schumacher M, De Nicola AF. Progesterone neuroprotection in the Wobbler mouse, a genetic model of spinal cord motor neuron disease. *Neurobiology of disease*, 2002;11(3):457-468.

- Goodman Y, Bruce AJ, Cheng B, Mattson MP. Estrogens attenuate and corticosterone exacerbates excitotoxicity, oxidative injury, and amyloid  $\beta$ -peptide toxicity in hippocampal neurons. *Journal of neurochemistry* 1996;66(5):1836-1844.
- Gouras GK, Xu H, Gross RS, Greenfield JP, Hai B, Wang R, Greengard P. Testosterone reduces neuronal secretion of Alzheimer's  $\beta$ -amyloid peptides. *Proceedings of the national academy of sciences* 2000;97(3): 1202-1205.
- Granhölm AC. Oestrogen and nerve growth factor neuroprotection and repair in Alzheimer's disease. *Expert Opin. Investig. Drugs* 2000;9:685-694.
- Green PS, Gridley KE, Simpkins JW. Nuclear estrogen receptor-independent neuroprotection by estratrienes: a novel interaction with glutathione. *Neuroscience* 1998;84:7-10.
- Gulyas B, Vas A, Toth M, Takano A, Varrone A, Cselényi Z, Schain M, Mattsson P, Halldin C. Age and disease related changes in the translocator protein (TSPO) system in the human brain: positron emission tomography measurements with [<sup>11</sup>C] vinpocetine. *Neuroimage* 2011;56(3):1111-1121.
- Gürdöl F, Ademoğlu E. Karbonhidrat metabolizması, Fruktöz ve Sorbitol Mekanizması. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2010;219.
- Haradahira T, Tanaka A, Maeda M, Kanazawa Y, Ichiya YI, Masuda K. Radiosynthesis, rodent biodistribution, and metabolism of 1-deoxy-1-[<sup>18</sup>F] fluoro-D-fructose. *Nucl Med Biol.* 1995;22:719-725.
- Hariom Y, Shalini J, Sinha PR. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats. *Nutrition* 2007;23(1):62-68.
- Havel PJ. Dietary fructose: Implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr. Rev.* 2005;63(5):133-157.
- Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000;407(6805):770.
- Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S. Consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2014;11(8):506.
- Ho L, Qin W, Pompl PN, Xiang Z, Wang J, Zhao Z, Peng Y, Cambareri G, Rocher A, Mobbs CV, Hof PR, Pasinetti GM. Diet-induced insulin resistance promotes amyloidosis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *The FASEB journal* 2004;18(7):902-904.
- Iqbal MJ, Dalton M, Sawers RS. Binding of testosterone and oestradiol to sex hormone binding globulin, human serum albumin and other plasma proteins: evidence for

- non-specific binding of oestradiol to sex hormone binding globulin. *Clinical Science* 1983;64(3):307-314.
- Ishihara Y, Fujitani N, Sakurai H, Takemoto T, Ikeda-Ishihara N, Mori-Yasumoto K, Nehira T, Ishida A, Yamazaki T. Effects of sex steroid hormones and their metabolites on neuronal injury caused by oxygen-glucose deprivation/reoxygenation in organotypic hippocampal slice cultures. *Steroids* 2016;113:71-77.
- İşgüzar Y, Akbulut G. Yüksek fruktoz tüketimi ve kanser. *İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi* 2016;1(2):35-40.
- Jagatha B, Mythri RB, Vali S, Bharath MS. Curcumin treatment alleviates the effects of glutathione depletion in vitro and in vivo: therapeutic implications for Parkinson's disease explained via in silico studies. *Free radical biology and medicine* 2008;44(5): 907-917.
- Jaiswal N, Maurya CK, Arha D, Avisetti DR, Prathapan A, Raj PS, Raghu KG, Kalivendi SV, Tamrakar AK. Fructose induces mitochondrial dysfunction and triggers apoptosis in skeletal muscle cells by provoking oxidative stress. *Apoptosis* 2015;20(7):930-947.
- Janik R, Thomason LAM, Stanisiz AM, Forsythe P, Bienenstock J, Stanisiz GJ. Magnetic resonance spectroscopy reveals oral *Lactobacillus* promotion of increases in brain GABA, N-acetyl aspartate and glutamate. *Neuroimage* 2016;125:988-995.
- Javadi L, Ghavami M, Khoshbaten M, Safaiyan A, Barzegari A, Gargari BP. The effect of probiotic and/or prebiotic on liver function tests in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A double blind randomized clinical trial. *Iranian Red Crescent Medical Journal* 2017;19:4.
- Jayakumar V, Ahmed SS, Ebenezar KK. Multi variate analysis and molecular interaction of curcumin with PPAR $\gamma$  in high fructose diet induced insulin resistance in rats. *Springer Plus* 2016;5(1): 1732-1746.
- Jichao Y, Wei L, Haitao Z, Xuan Z, Yang F, Yaxing C, Hua F, Jiangkai L. Curcumin attenuates blood-brain barrier disruption after subarachnoid hemorrhage in mice. *Journal of Surgical Research* 2017;207:85-91.
- Kang SJ, Wang S, Kuida K, Yuan J. Distinct downstream pathways of caspase-11 in regulating apoptosis and cytokine maturation during septic shock response. *Cell Death and Differentiation* 2002;9(10):1115.
- Karbalay-Doust S, Valizadeh A, Aliabadi E. Ameliorative effects of curcumin on the structural parameters of seminiferous tubules and Leydig cells in metronidazole-treated mice: a stereological approach. *Noorafshan A, Exp Toxicol Pathol* 2011;63(7-8):627-33.
- Kartalçı Ş. Testosteron ve depresyon. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar* 2010;2(4):457-472.

- Kaur P, Jodhka PK, Underwood WA, Bowles CA, de Fiebre NC, de Fiebre CM, Singh M. Progesterone increases brain-derived neurotrophic factor expression and protects against glutamate toxicity in a mitogen-activated protein kinase-and phosphoinositide-3 kinase-dependent manner in cerebral cortical explants. *Journal of Neuroscience Research* 2007;85(11):2441-2449.
- Kelany ME, Hakami TM, Omar, AH. Curcumin proves the metabolic syndrome in high-fructose-diet-fed rats: role of TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, and oxidative stress. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 2016;95(2):140-150.
- Keskin E. Yetişkin bireylerde farklı miktarlarda fruktoz tüketimeinin antropometrik ölçümler ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisinin incelenmesi. Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Yüksek Lisans Tezi, 2016; 8.
- Korkmaz ÖA. Yüksek fruktozun oluşturduğu metabolik sendromda *I. plantarum* ve *I. helveticus*'un böbrek fonksiyonları ile oksidan ve antioksidan parametreler üzerine etkilerinin incelenmesi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Doktora Tezi, 2019; 14-19.
- Korneyev A, Pan BS, Polo A, Romeo E, Guidotti A, Costa E. Stimulation of brain pregnenolone synthesis by mitochondrial diazepam binding inhibitor receptor ligands in vivo. *Journal of Neurochemistry* 1993;61:1515–1524.
- Köseler E, Kızıltan G, Türker PF, Saka M, Ok MA, Bacanlı D, Aydos R, Bayraktar N, Özdemir H. The effects of glucose and fructose on body weight and some biochemical parameters in rats. *Progress in Nutrition* 2018;20(1): 46-51.
- Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Haggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA, Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Endocrinology* 1997;138(3): 863-870.
- Kujawa KA, Emeric E, Jones KJ. Testosterone differentially regulates the regenerative properties of injured hamster facial motoneurons. *Journal of neuroscience* 1991;11(12): 3898-3906.
- Kunwar A, Priyadarsini KI. Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *J Med Allied Sci.* 2011;1(2):53-60.
- Laurens-Hattin A, Viljoen BC. Yogurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.* 2001;11: 1-17.
- Lee Y, Mckinnon PJ. Detection of apoptosis in the central nervous system. In: *Apoptosis*. Totowa, NJ, Humana Press, 2009:273-282.
- Levi B, Werman MJ. Long-term fructose consumption accelerates glycation and several age-related variables in male rats. *The Journal of nutrition* 1998; 128(9): 1442-1449.

- Li JM, Yu R, Zhang LP, Wen SY, Wang SJ, Zhang XY, Xu Q, Kong LD. Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: a benefit of short-chain fatty acids. *Microbiome* 2019;7(1):1-14.
- Li Z, Jin H, Oh SY, Ji GE. Anti-obese effects of two Lactobacilli and two Bifidobacteria on ICR mice fed on a high fat diet. *Biochemical and biophysical research communications* 2016 480(2): 222-227.
- Lim GP, Chu T, Yang F, Beech W, Frautschy SA, Cole GM. The currys spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *Journal of Neuroscience*, 2001;21(21):8370-8377.
- Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001;104(4):487-501.
- Luine VN. Estradiol and cognitive function: past, present and future. *Horm Behav.* 2014;66:602-618.
- Luo D, Hou X, Hou L, Wang M, Xu S, Dong C, Liu X. Effect of pioglitazone on altered expression of A $\beta$  metabolism-associated molecules in the brain of fructose-drinking rats, a rodent model of insulin resistance. *European journal of pharmacology* 2011;664(1-3): 14-19.
- Luongo C, Moser AR, Gledhill S, Dove WF. Loss of Apc (+) in intestinal adenomas from Min mice. *Cancer Res* 1994;54:5947-5952.
- Ma Y, Tianyao L, Jingjing F, Shaoli F, Chen H, Bo S, Xiaotang F, Jingci Z. Lactobacillus acidophilus Exerts Neuroprotective Effects in Mice with Traumatic Brain Injury, *The Journal of Nutrition* 2019, 149(9): 1543–1552,
- Mallappa, RH, et al. Management of metabolic syndrome through probiotic and prebiotic interventions. *Indian Journal of endocrinology and metabolism* 2012;16(1): 20.
- Mamikutty N, Thent ZC, Haji SF. Fructose-drinking water induced nonalcoholic fatty liver disease and ultrastructural alteration of hepatocyte mitochondria in male Wistar rat. *Bio Med Research International*, 2015, 2015.
- Mamikutty N, Thent ZC, Sapri SR, Sahrudin NN, Mohd Yusof MR, Haji Suhaimi F. The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats. *BioMed Research International* 2014;1-7.
- Markowiak P, Katarzyna S. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients* 2017;9(9):1021-1051.
- Marteau P, Shanahan F. Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2003;17(5):725-740.



- Matsumoto A. Hormonally induced neuronal plasticity in the adult motoneurons. *Brain res bull*, 1997;44: 539–547.
- Mensah-Nyagan AG, Do-Rego JL, Beaujean D, Luu-The V, Pelletier G, Vaudry H. Neuroactive steroids, expression of steroidogenic enzymes and regulation of steroid biosynthesis in the central nervous system. *Pharmacological Reviews* 1999;51:63–81.
- Meshkani R, Zargarı M, Larijani B. The relationship between uric acid and metabolic syndrome in normal glucose tolerance and normal fasting glucose subjects. *Acta diabetologica* 2011;48(1):79-88.
- Michael DR, Davies TS, Loxley KE, Allen MD<sup>1</sup>, Good MA, Hughes TR, Plummer SF. In vitro neuroprotective activities of two distinct probiotic consortia. *Beneficial microbes* 2019;10(4):437-447.
- Milenkovic VM, Rupprecht R, Wetzel CH. Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nature reviews Drug discovery* 2010;9(12): 971.
- Mishra S, Kalpana P. The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer's disease: An overview *Annals of Indian Academy of Neurology* 2008;11(1):13-19.
- Monroy A, Gordon J, Lithgow, Silvestre A. Curcumin and neurodegenerative diseases. *Biofactors* 2013;39(1):122-132.
- Nabiuni M, Nazari Z, Safaeinejad Z, Delfan B, Miyan JA. Curcumin downregulates aquaporin-1 expression in cultured rat choroid plexus cells. *Journal of medicinal food* 2013;16(6):504-510.
- Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan J. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- $\beta$ . *Nature* 2000;403(6765):98.
- Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Glushakova O, Ouyang X, Feig DI, Block ER, Herrera-Acosta J, Patel JM, Johnson RJ. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 2006;290(3):625-631.
- Noorafshan A, Ashkanı-Esfahanı S. A review of therapeutic effects of curcumin. *Current pharmaceutical design* 2013;19(11):2032-2046.
- Nutt D, Weizman A, Zhang MR, Gavish M. Translocator protein (18kDa), new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends in Pharmacological Sciences* 2006;27:402–409.
- Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions—a review. *International Journal of Medical Microbiology* 2010;300(1):57-62.

- Ogata T, Nakamura Y, Tsuji K, Shibata Y, Kataoka K. Steroid hormones protect spinal cord neurons from glutamate toxicity. *Neuroscience* 1993;55:445-449.
- Oh S, Kim SH, Worobo RW. Characterization and Putrifaction of a Bacteriocin Produced by Potential Probiotic Culture, *Lactobacillus acidophilus* 30SC. *Journal of Dairy Science* 2000;83: 2747-2752.
- O'Hagan C, Li JV, Marchesi JR, Plummer S, Garaiova I, Good MA. Long-term multi-species *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* dietary supplement enhances memory and changes regional brain metabolites in middle-aged rats. *Neurobiology of learning and memory* 2017;144:36-47.
- Ono K, Hasegawa K, Naiki H, Yamada M. Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's  $\beta$ -amyloid fibrils in vitro. *Journal of neuroscience research* 2004;75(6):742-750.
- Osuna JA, Gomez-Perez R, et al., Relationship between BMI, total testosterone, sex hormone-binding-globulin, leptin, insulin and insulin resistance in obese men. *Arch Androl* 2006;52(5): 355-361.
- Ozan G, Kaya N, Yılmaz OF, Erdem E, Ozan E. Yüksek fruktoz diyeti ile metabolik sendrom oluşturulan ratların testis dokusunda ghrelin dağılımına oleuropeinin etkisi. *FÜ Sağ. Bil. Vet. Derg.* 2014;28(3): 127-133.
- Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 2015;6(3):331-336.
- Özer E. Alzheimer hastalığında oluşan  $\beta$ -amiloid fibrillerin yeni sentezlenen kolinesteraz inhibitörleri ile destabilizasyonu. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Doktora Tezi, 2007; 4-6.
- Pan MH, Huang TM, Lin JK. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metab Dispos* 1999;27(4):486-494.
- Panay N, Studd JWW. The psychotherapeutic effects of estrogens. *Gynecological Endocrinology* 1998;1(5):353-365.
- Papadopoulos V, Baraldi M, Guilarte TR, Knudsen TB, Lacapère JJ, Lindemann P, Norenberg MD. Translocator protein (18 kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends in Pharmacological Sciences* 2006;27(8):402-409.
- Papadopoulos V, Aghazadeh Y, Fan J, Campioli E, Zirkin B, Midzak A. Translocator protein-mediated pharmacology of cholesterol transport and steroidogenesis. *Molecular and cellular endocrinology* 2015;408:90-98.
- Park Heon Y, Kim JG, Won Shin Y, Hun Kim S, Youn KW. Effect of dietary inclusion of *Lactobacillus acidophilus* atcc 43121 on cholesterol metabolism In Rats. *J. Microbiol Biotechnol* 2007;17(4):655-662.

- Pasinetti GM, Eberstein JA. Metabolic syndrome and the role of dietary lifestyles in Alzheimer's disease. *Journal of neurochemistry* 2008;106(4):1503-1514.
- Patte-Mensah C, Kappes V, Freund-Mercier MJ, Tsutsui K, Mensah-Nyagan AG. Cellular distribution and bioactivity of the key steroidogenic enzyme, cytochrome P450side chain cleavage, in sensory neural pathways. *Journal of Neurochemistry* 2003;86:1233–1246.
- Perkins S, Verschoyle RD, Hill K, Parveen I, Threadgill MD, Sharma RA, Williams ML, Steward WP, Gescher AJ. Hemopreventive efficacy and pharmacokinetics of curcumin in the Min/+ mouse, a model of familial adenomatous polyposis. *Cancer Epidem Biomar Prevent* 2002;11:535-540.
- Peter ME, Krammer PH. Mechanisms of CD95 (APO-1/Fas)-mediated apoptosis. *Current opinion in immunology* 1998;10(5):545-551.
- Pike CJ. Estrogen modulates neuronal bcl-xl expression and  $\beta$ -amyloid-induced apoptosis: Relevance to alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry* 1999;72(4):1552-1563.
- Pike CJ. Testosterone attenuates  $\beta$ -amyloid toxicity in cultured hippocampal neurons. *Brain research* 2001;919(1):160-165.
- Prokai L, Simpkins JW. Structure–nongenomic neuroprotection relationship of estrogens and estrogen-derived compounds. *Pharmacology therapeutics* 2007;114(1):1-12.
- Rägo L, Kiiwet JH, et al. Central-and peripheral-type benzodiazepine receptors: Similar regulation by stres and GABA receptor agonists. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1989;32(4):879-883.
- Rai NK, Tripathi K, Sharma D, Shukla VK. Apoptosis: A basic physiologic process in wound healing. *The International Journal of Lower Extremity Wounds* 2005;4(3): 138-144.
- Reddy DS. Neurosteroids: endogenous role in the human brain and therapeutic potentials. In: *Progress in brain research*. Elsevier 2010;113-137.
- Reshidan NH, Muid SA, Mamikutty N. The effects of Pandanus amaryllifolius (Roxb.) leaf water extracts on fructose-induced metabolic syndrome rat model. *BMC complementary and alternative medicine* 2019;19(1):232.
- Rettberg JR, Jia Y, Roberta DB. Estrogen: a master regulator of bioenergetic systems in the brain and body. *Frontiers in neuroendocrinology* 2014;35(1):8-30.
- Rizkalla SW. Health implication of fructose consumption: A review of recent data. *Nutrition and Metabolism* 2010;7:82.

- Roof RL, Hoffman SW, Stein DG. Progesterone protects against lipid peroxidation following traumatic brain injury in rats. *Molecular and Chemical Neuropathology* 1997;31(1):1-11.
- Ross AP, Bartness TJ, Mielke JG, Parent MB. A high fructose diet impairs spatial memory in male rats. *Neurobiology of Learning and Memory* 2000;92: 410–416.
- Rupprecht R, Papadopoulos V, Rammes G, Baghai TC, Fan J, Akula N, Schumacher M. Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nature reviews Drug Discovery* 2010;9(12): 971.
- Rupprecht R, Rammes G, Eser D, Baghai TC, Schüle C, Nothdurfter C, Troxler T, Gentsch C, Kalkman HO, Chaperon F, Uzunov V, McAllister KH, Bertaina-Anglade V, La Rochelle CD, Tuerck D, Floesser A, Kiese B, Schumacher M, Landgraf R, Holsboer F, Kucher K. Translocator protein (18 kD) as target for anxiolytics without benzodiazepine-like side effects. *Science* 2009;325(5939):490–493.
- Saad F, Gooren L. The role of testosterone in the metabolic syndrome: a review. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 2009;114(1-2):40-43.
- Saas P, Boucraut J, Quiquerez AL, Schnuriger V, Perrin G, Desplat-Jego S, Bernard D, Walker PR, Dietrich PY. CD95 (Fas/Apo-1) as a receptor governing astrocyte apoptotic or inflammatory responses: a key role in brain inflammation? *The Journal of Immunology* 1999;162(4):2326-2333.
- Sacks H. Max Weber's ancient judaism. *Theory, culture society* 1999;16(1):31-39.
- Sarı E, Babacan O. Fruktöz; bir halk sağlığı sorunu mu? *TAF Preventive Medicine Bulletin* 2014;13(5).
- Sarıkaya G. Yeni Beta–Amiloid agregasyon inhibitörü bileşikler üzerinde sentez ve biyoaktivite çalışmaları. *Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Doktora Tezi*, 2018; 8-12.
- Sayeed I, Parvez S, Wali B, Siemen D, Stein DG. Direct inhibition of the mitochondrial permeability transition pore: a possible mechanism for better neuroprotective effects of allopregnanolone over progesterone. *Brain Research* 2009;1263:165-173.
- Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Clerc-Renaud P, Ferrero, CA, Ferard G, Kanno, T. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 C. Part 2. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of creatine kinase. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 2002;40(6): 635-642.
- Schumann G, Canalias F, Joergensen PJ, Kang D, Lessinger JM, Klauke R. IFCC reference procedures for measurement of the catalytic concentrations of enzymes: corrigendum, notes and useful advice. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 2010;48(5): 615-621.

- Selle K, Klaenhammer T. *Lactobacillus acidophilus*. Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition) 2014;412-417.
- Selvaraj V, Stocco DM. The changing landscape in translocator protein (TSPO) function. Trends in Endocrinology & Metabolism 2015;26(7):341-348.
- Shahraki MR, Harati M, Shahraki AR. Prevention of high fructose-induced metabolic syndrome in male wistar rats by aqueous extract of Tamarindus indicaseed. Acta MedicaIranica 2011; 277-283.
- Shortt, C. The Probiotic Century: Historical and Current Perspectives. Trends in Food Science & Technology 1999, 10:411-417.
- Siddiqui AN, Siddiqui N, Khan RA, Kalam A, Jabir NR, Kamal MA, Firoz CK, Tabrez S. Neuroprotective role of steroidal sex hormones: an overview. CNS neuroscience therapeutics 2016;22(5):342-350.
- Simon D, Charles MA, et al., Association between plasma total testosterone and cardiovascular risk factors in healthy adult men: The Telecom Study. J. Clin. Endocrinol metab. 1997;82(2): 682–685.
- Simpkins JW, Singh M. More than a decade of estrogen neuroprotection. Leon Thal Symp. Prev. Dement. 2008; 4:131-136.
- Singh M, Su C. Progesterone and neuroprotection. Hormones and behavior 2013;63(2):284-290.
- Singh M, Chang SU. Progesterone-induced neuroprotection: Factors that may predict therapeutic efficacy. Brain research 2013;1514:98-106.
- Son SW, Lee JS, Kim HG, Kim DW, Ahn YC, Son CG. Testosterone depletion increases the susceptibility of brain tissue to oxidative damage in a restraint stress mouse model. Journal of neurochemistry 2016;136(1):106-117.
- Stein W. Med Welt. 1985;36:572 & Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fund. Of Clin. Chem 30-54.
- Sundström I, Backstrom T, Wang M, et al. Premenstrual syndrome, neuroactive steroids and the brain. Gynecological Endocrinology 1999;13(3):206-220.
- Suzuki S, Brown C, Wise MP. Mechanisms of Neuroprotection by Estrogen. Endocrine 2006;29:209-215.
- Tappy L, Le KA. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. Physiol. Rev. 2010;90(1):23-46.
- Thirunavukkarasu V, Nandhini AT, Anuradha CV. Effect of  $\alpha$ -lipoic acid on lipid profile in rats fed a high-fructose diet. Journal of Diabetes Research 2004;5(3):195-200.

- Thiyagarajan M, Sharma SS. Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. *Life Sciences* 2004;74(8):969-985.
- Tirassa P, Thiblin I, Agren G, Vigneti E, Aloe L, Stenfors C. High-dose anabolic androgenic steroids modulate concentrations of nerve growth factor and expression of its low affinity receptor (p75-NGFr) in male rat brain. *Journal of neuroscience research* 1997;47(2):198-207.
- Toro-Urrego N, Garcia-Segura LM, Echeverria V, Barreto GE. Testosterone protects mitochondrial function and regulates neuroglobin expression in astrocytic cell exposed to glucose deprivation. *Frontiers in Aging Neuroscience* 2016;8:152.
- Tran LT, Yuen VG, McNeill JH. The Fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2009;332(1-2):145-159.
- Ullah F, Liang A, Rangel A, Gyengesi E, Niedermayer G, Münch G. High bioavailability curcumin: an anti-inflammatory and neurosupportive bioactive nutrient for neurodegenerative diseases characterized by chronic neuroinflammation. *Archives of Toxicology* 2017;91(4):1623-1634.
- Van der Borght K, Köhnke R, Göransson N, Deierborg T, Brundin P, Erlanson-Albertsson C, Lindqvist A. Reduced neurogenesis in the rat hippocampus following high fructose consumption. *Regulatory peptides* 167(1):26-30.
- Vos MB, Kimmons JE, Gillespie C, Welsh J, Blanck HM. Dietary fructose consumption among us children and adults: the third national health and nutrition examination survey. *Medscape Journal of Medicine* 2008;10(7):160.
- Watanabe M, Shimono R, Kihara T. The distribution of [U-14] Fructose in the mice studied by whole-body autoradiography. *Acta Histochem Cytochem* 1981;14:153-162.
- Westfall S, Lomis N, Kahouli I, Dia SY, Singh SP, Prakash S. Microbiome, probiotics and neurodegenerative diseases: deciphering the gut brain axis. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2017;74(20):3769-3787.
- Wiernsperger N, Geloën A, Rapin JR. Fructose and cardio metabolic disorders: the controversy will, and must, continue. *Clinics* 2010;65(7):729-738.
- Wise PM, Dubal DB, Rau SW, Brown CM, Suzuki S. Are estrogens protective or risk factors in brain injury and neurodegeneration? Reevaluation after the Women's health initiative. *Endocrine Reviews* 2005;26(3):308-312.
- Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, Fairus A, Nirwana SI. Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutrition & Metabolism* 2016;13(1):65.

- Xu DP, Li Y, Meng X, Zhou T, Zhou Y, Zheng J, Zhang JJ, Li HB. Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International journal of Molecular Sciences*, 2017;18(1):96-108.
- Xu MX., et al. Up-regulated fractalkine (FKN) and its receptor CX3CR1 are involved in fructose-induced neuroinflammation: Suppression by curcumin. *Brain, Behavior, and Immunity* 2016;58:69-81.
- Yang F, Lim GP, Begum AN, Ubeda OJ, Simmons MR, Ambegaokar SS, Chen PP, Kayed R, Glabe CG, Frautschy SA, Cole GM. Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. *J Biol Chem* 2005;280:5892-5901.
- Yu L, Fan Y, Ye G, Li J, Feng X, Lin K, Dong M, Wang Z. Curcumin inhibits apoptosis and brain edema induced by hypoxia-hypercapnia brain damage in rat models. *The American journal of the Medical Sciences* 2015;349(6):521-525.
- Zhang Y, Champagne N, Beitel LK, Goodyer CG, Trifiro M, LeBlanc A. Estrogen and androgen protection of human neurons against intracellular amyloid  $\beta$ 1-42 toxicity through heat shock protein 70. *Journal of Neuroscience* 2004;24(23):5315-5321.
- Ziada DH, Soliman HH, El Yamany SA, Hamisa MF, Hasan AM. Can *Lactobacillus acidophilus* improve minimal hepatic encephalopathy? A neuro metabolite study using magnetic resonance spectroscopy. *Arab Journal of Gastro Enterology* 2013;14(3):116-122.

## EKLER

### EK 1: Etik Kurul İzni



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
SAMSUN

Sayı : B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04 –141  
Konu : Dilekçeniz hk.

30/03/2016

Doç. Dr. Gülay ÇİFTÇİ  
OMÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

2016/15 numaralı Yüksek Fruktoz'un neden olduğu metabolik sendromlu ratlara *Lactobacillus acidophilus* ve curcumin uygulamasının nörosteroidlere, beta Amyloid Protein ve Apoptozis oranına etkisinin araştırılması konu başlıklı dilekçenizdeki araştırmanın başlığını "Ratlarda yüksek fruktoza bağlı metabolik sendromda *Lactobacillus acidophilus* ve Curcuminin Nörosteroid, Beta Amyloid Protein ve Apoptozise Etkisi" şeklinde değiştirme isteğinizi; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29.03.2016 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Keramettin AYDIN  
HADYEK Başkanı



## ÖZ GEÇMİŞ

Adı Soyadı: Hüseyin Kürşad ERENSAYIN

Doğum Yeri: Ankara

Doğum Tarihi: 17.04.1986

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2011)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumu Tokat İl Koordinatörlüğü (2012-2019)

E-posta: vethke@maill.com