

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BEYİN GELİŞİMİNDE VE NÖRON AKTİVİTESİNİN
DÜZENLENMESİNDE ROL OYNAYAN YOLAKLARDA
BULUNAN BAZI MOLEKÜLLERİN GEN İFADESİNDE
ÇİNKONUN OLASI ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Elif GÜLBAHÇE MUTLU

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. ABDÜLKERİM KASIM BALTACI

KONYA -2022

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BEYİN GELİŞİMİNDE VE NÖRON AKTİVİTESİNİN
DÜZENLENMESİNDE ROL OYNAYAN YOLAKLARDA
BULUNAN BAZI MOLEKÜLLERİN GEN İFADESİNDE
ÇİNKONUN OLASI ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Elif GÜLBAHÇE MUTLU

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. ABDÜLKERİM KASIM BALTACI

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 16202035 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2022

ÖNSÖZ

“Beyin gelişiminde ve nöron aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynayan yolaklarda bulunan bazı moleküllerin gen ifadesinde çinkonun olası etkisinin belirlenmesi” başlıklı tezimin her aşamasında ve akademik kariyerim süresince her türlü bilimsel desteğini ve katkısını sağlayan danışman hocam sayın Prof. Dr. Abdülkerim Kasım Baltacı’ya teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca lisansüstü eğitimim sırasında her türlü yardımlarından dolayı S.Ü. Tıp Fakültesi öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Rasim Moğulkoç’a, Prof. Dr. Nilsel Okudan’a ve Prof. Dr. Muaz Belviranlı’ya, deney sonuçlarımın değerlendirilmesinde istatistik analizlerde yardımcı olan S.Ü. Spor Bilimleri Fakültesi öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Süleyman Patlar’a teşekkür ederim. Deney hayvanlarının uygulama kısmında, sonlandırılmasında ve diğer analizlerin yapılması sırasında desteklerini esirgemeyen Dr. Saltuk Buğra Baltacı’ya, Arş. Gör. Dr. Ömer Ünal, Arş. Gör. Dr. Gözde Acar’a, ve Arş. Gör. Buse Günaydın’a teşekkür ederim.

Son olarak yaşamım boyunca her türlü desteğini esirgemeyen aileme, eşime ve beni her zaman sabırla bekleyen kızlarım Ayşe Beren ve Zeynep Ela’ya tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
1. GİRİŞ	1
1.1. Çinko	3
1.1.1. Çinko Eksikliği	4
1.1.2. Çinkonun Düzenlenmesi	7
1.1.3. Beyin Gelişiminde Çinkonun Önemi	8
1.1.4. Çinko ve Hipokampus	11
1.2. Beyin Gelişimi, Çinko ve Gen ifadesi	12
1.2.1. Nörotrofin Reseptörü (p75-NTR)	14
1.2.2. Nogo Reseptör (Ng-R) ve Nogo-A	16
1.2.3. Miyelin Transkripsiyon Faktörü 1 (NZF2b/7ZFMyt1)	18
2. GEREÇ ve YÖNTEM	20
2.1. Hayvan Materyali ve Gruplar	20
2.1.1. Hayvan Materyali	20
2.1.2. Deney Grupları	21
2.2. Hipokampus Dokusunun Elde edilmesi	21
2.3. Real-Time qPCR Analizi	22
2.3.1. Hipokampus Dokusundan RNA İzolasyonu	22
2.3.2. cDNA'ların elde Edilmesi	23
2.3.3. Genlerin İfade Düzeylerinin Belirlenmesi	24
2.4. İstatistiksel Değerlendirmeler	25
3. BULGULAR	26
3.1. Nörotrofin Reseptörü (p75-NTR) Gen İfadesi Bulguları	26
3.2. Nogo Reseptör (Ng-R) Gen İfadesi Bulguları	27

3.3. NOGO-A Gen İfadesi Bulguları	28
3.4. 2b/7ZFMyt1 Gen İfadesi Bulguları.....	29
4. TARTIŞMA.....	31
4.1. Nörotrofin Reseptörü (p75-NTR) Gen İfadesi Bulgularının Tartışılması.....	31
4.2. Nogo Reseptör (Ng-R) ve NOGO-A Gen İfadesi Bulgularının Tartışılması.	32
4.3. 2b/7ZFMyt1 Gen İfadesi Bulgularının Tartışılması.....	34
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	35
6. KAYNAKLAR	36
7. EKLER	50
EK-A- Etik Kurul Kararı	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
EK-B- Turnitin Raporu	50
8. ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

SİMGELER VE KISALTMALAR

7ZFMyt1: 7 çinko parmak Miyelin Transkripsiyon Faktörü-1

AMPA: α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid

BOS: Beyin omurilik sıvısındaki

cDNA: Tamamlayıcı DNA

Cu: Bakır

DNA: Deoksiribo nükleik asit

FDA: ABD Gıda ve İlaç Dairesi

FGF: Fibroblast büyüme faktörleri

GABA: Gama aminobütirik asit

GAPDH: Gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz

GPI: Glikofosfatidilinositol

JNK: c-Jun N-terminal kinaz

LTP: Uzun vadeli güçlenme

MAG: Miyelinle ilişkili glikoprotein

MAG: Miyelinle ilişkili glikoprotein

mRNA: Mesajcı RNA

MT: Metalloprotein

MyT: Miyelin transkripsiyon faktörü

NGF: Sinir büyüme faktörü

NgR: Nogo reseptörü

NMDA: N-metil-D-aspartat

NZF: Nöral spesifik çinko parmak faktörü

OD: Optik dansite

OMgp: Oligodendrosit miyelin glikoprotein

p75-NTR: p75-nörotrofin reseptörü

PSD: Postsinaptik yoğunluk

qPCR: Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu

RNA: Ribonükleik asid

SLC30: Zar Taşıma Proteinlerinin Çözünen Taşıyıcı 30

SLC39: Zar Taşıma Proteinlerinin Çözünen Taşıyıcı 39

TNFR: Tümör nekroz faktör reseptörü

Trk: Tropomiyozin ile ilişkili kinaz

TrkA: Tropomiyosin reseptör kinaz A

ZIP: Zrt ve Irt benzeri protein

Zn: Çinko

ZnT: Çinko Taşıyıcı protein

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 2.1. mRNA'dan cDNA elde etmek için uygulanan RNA-primer karışımı.....	23
Tablo 2.2. mRNA'dan cDNA elde etmek için uygulanan cDNA sentez karışımı.....	24
Tablo 2.3. Gerçek zamanlı qPCR için kullanılan primerler	24
Tablo 3.1. p75-NTR geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi.....	26
Tablo 3.2. Ng-R geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi	27
Tablo 3.3. Nogo-A geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi.....	28
Tablo 3.4. 2b/7ZFMyt1 geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi	29

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. p75-NTR geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi.....	27
Şekil 3.2. Ng-R geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi	28
Şekil 3.3. Nogo-A geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi	29
Şekil 3.4. 2b/7ZFMyt1 geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi.....	30



ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Beyin Gelişiminde ve Nöron Aktivitesinin Düzenlenmesinde Rol Oynayan Yolaklarda Bulunan Bazı Moleküllerin Gen İfadesinde Çinkonun Olası Etkisinin Belirlenmesi

Elif GÜLBAHÇE MUTLU

Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2022

Çinkonun beyinde özellikle de hipokampusta sinaptik cevabı etkilediği; yapısal, düzenleyici ve katalitik pek çok proteinin yapısında kritik rol oynadığı bilinmektedir. Beyin çinko dengesindeki bozulma nörolojik hastalıkların oluşumunda kritik bir faktördür. Nöron aktivitesinin düzenlenmesi ve beyin gelişiminde etkili olan pek çok düzenleyici moleküller arasında Nogo-A, Ng-R ve p75-NTR ile bir çinko parmak proteinleri arasında olan 2b/7ZFMyl1'de yer alır.

Bu çalışmada çinko eksik diyetle beslenen gebe sıçanların erkek yavrularında, çinko eksikliği ve uygulamasının hipokampus dokusundaki Nogo-A, Ng-R ile p75-NTR, 2b/7ZFMyl1 moleküllerin gen ifadesi düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla her grupta 10 hayvan olacak şekilde toplam 40 hayvan kullanılmıştır. Deney grupları şu şekilde oluşturulmuştur; çinko eksik diyetle beslenen grup (Grup 1), normal diyetle beslenen grup (Grup 2), çinko takviyeli diyetle beslenen grup (Grup 3), kontrol grubu (Grup 4). Grup 1, 2 ve 3'deki hayvanlar maternal çinko eksikliği olan annelerden doğdular. Grup 4'deki hayvanlar normal gebelik sonucu doğan kontrol sıçanlardan meydana geldiler. Çalışmaların deneysel aşamaları tamamlandıktan sonra tüm hayvanlar genel anestezi altında sakrifiye edilmiş ve hipokampus dokuları alınmıştır. Alınan doku örneklerinde hipokampal Nogo-A, Ng-R p75-NTR ve 2b/7ZFMyl1 genlerinin ifade düzeyleri RT-qPCR yöntemi ile belirlenmiştir.

Çalışmamızın sonuçları çinko eksikliğinin Nogo-A, Ng-R, p75-NTR ve 2b/7ZFMyl1 gen ifade düzeylerinde önemli bir baskılanmaya yol açtığını göstermektedir. Bu çalışma çinko durumu ile hipokampal Nogo-A, Ng-R, p75-NTR ve 2b/7ZFMyl1 gen ekspresyonu arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışmadır.

Anahtar Sözcükler: Beyin gelişimi; Çinko eksik diyet; Ng-R; NOGO-A; Nöron aktivitesi; p75-NTR; 2b/7ZFMyl1

SUMMARY
REPUBLIC of TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

**Determining The Possible Effect of Zinc on The Gene Expression of
Some Molecules in The Pathways That Play A Role in Brain Development and
Regulation of Neuron Activity**

Elif GÜLBAHÇE MUTLU

Department of Physiology (Medicine)

PhD THESIS / KONYA-2022

Zinc affects the synaptic response in the brain, especially in the hippocampus; It is known that it plays a critical role in the structure of many structural, regulatory and catalytic proteins. Disruption in brain zinc balance is a critical factor in the formation of neurological diseases. Among the many regulatory molecules that are effective in the regulation of neuron activity and brain development, Nogo-A, Ng-R and p75-NTR and 2b/7ZFMyt1, a zinc finger proteins, are included.

In this study, it was aimed to determine the gene expression levels of Nogo-A, Ng-R and p75-NTR, 2b/7ZFMyt1 molecules in the hippocampus tissue of zinc deficiency and administration in male offspring of pregnant rats fed a zinc deficient diet. For this purpose, a total of 40 animals were used, with 10 animals in each group. Experimental groups were formed as follows; Zinc deficient diet group (Group 1), normal diet group (Group 2), zinc supplemented diet group (Group 3), control group (Group 4). Animals in groups 1, 2, and 3 were born from maternal zinc-deficient mothers. Animals in Group 4 consisted of control rats born after normal pregnancy. After the experimental stages of the studies were completed, all animals were sacrificed under general anesthesia and hippocampus tissues were taken. Expression levels of hippocampal Nogo-A, Ng-R p75-NTR and 2b/7ZFMyt1 genes in tissue samples were determined by RT-qPCR method.

The results of our study show that zinc deficiency causes a significant suppression of Nogo-A, Ng-R, p75-NTR and 2b/7ZFMyt1 gene expression levels. This is the first study to investigate the relationship among zinc status and hippocampal Nogo-A, Ng-R, p75-NTR and 2b/7ZFMyt1 gene expression.

Key Words: Brain development; Zinc deficient diet; Ng-R; Nogo-A; Neuron activity; p75-NTR; 2b/7ZFMyt1

1. GİRİŞ

Çinko merkezi sinir sisteminde yer alan, normal beyin fonksiyonu ve devamlılığında kritik önemde olan bir eser elementtir (Rojas ve ark 2005). İnsan beyninin gri cevher ve hipokampus alanları çinko bakımından zengindir. Çinko birçok sinirsel iletimde merkezi sinir sistemi tarafından kullanılır (Tarakçı ve Öner 2006). Beyindeki çinko konsantrasyonu, çocukluk döneminde artış göstermektedir. Yetişkinlikte belirli konsantrasyonda olan beyin çinko seviyesi, yaşlılıkla birlikte önemsenecek derecede azalış göstermez. Beslenme ile yeteri kadar çinko alınmadığında, mental fonksiyon ve öğrenme yeteneğini azalır (Özmert 2005, Akdeniz ve ark 2016). Çinko eksikliğinin nörolojik ve davranışsal etkileri çeşitli hayvan çalışmaları ile kanıtlanmıştır. Gebelik döneminde annenin düşük çinko düzeylerine sahip olması, bebeğin prenatal ve postnatal davranışlarına etkisi olduğu primatlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Halas ve ark 1977, Özmert 2005). Ayrıca beyindeki çinko homeostazisi korunamadığında Alzheimer ve depresyon gibi durumların ortaya çıktığı da rapor edilmiştir (Akdeniz ve ark 2016).

Yaşamsal fonksiyonların devamında vazgeçilmez önemi olan nükleik asit sentezi ve protein metabolizmasında çinkonun önemli rolü vardır. DNA sentezinde gerekli olan DNA polimeraz çinko bağımlı bir enzimdir. Bu nedenle çinko eksikliğinde hücre çekirdeğindeki DNA ve RNA'nın yapısı da bozulmaktadır. Bununla birlikte besinsel çinko eksikliği DNA sentezi üzerine etki ederek gelişme geriliğine neden olur. Çinko eksikliği hücrelerin toplam RNA içeriğini değiştirmez, fakat mRNA kompozisyonunu etkiler. Böylece biyolojik açıdan çinko, nükleik asit ve diğer gen regülatör proteinlerinde yapısal element olarak yer alır (Ali 1993, Prasad 2002, Tarakçı ve Küçüköner 2006, Akdeniz ve ark 2016).

İntrakortikal inhibisyondaki gelişimsel artışın sinaptik plastisitenin azalmasına katkıda bulunduğunu gösteren raporlar yayınlanmıştır (Berardi ve ark 2003). Membranla ilişkisi bilinen retikülon ailesinin bir üyesi olan Nogo faktör, merkezi sinir sisteminin miyelinde güçlü bir nörit büyümesi ve kortikal plastisite inhibitörü olarak tanımlanmıştır (Grandpré ve Strittmatter 2001, Ng ve Tang 2002, Satoh ve ark 2005, Gonzenbach ve Schwab 2008). Nogo-A, miyelinle ilişkili bu inhibitörler arasında en güçlü büyüme inhibitörlerinden biridir (Taketomi ve ark 2002). Bu engelleyici sinyallere, ligand bağlayıcı Nogo reseptörü (NgR) (Barton ve

ark 2003, Hu ve ark 2005) ve iki sinyal ileten bağlayıcı ortak, p75 (Wong ve ark 2002) ile Lingo-1 (Mi ve ark 2004) içeren bir reseptör kompleksi aracılık eder (Wu ve ark 2012).

Nogo-66 reseptör ailesi (Ng-R veya NgR1) esas olarak merkezi ve periferik memeli sinir sistemindeki nöronlar tarafından eksprese edilen üç glikofosfatidilinositol (GPI) bağlantılı reseptörden (NgR1, NgR2 ve NgR3) oluşur (Borrie ve ark 2012). NgR'lerden herhangi birinin kaybı, in vitro sinaps sayısında bir artışa neden olurken, üçünün de kaybı, in vivo olarak anormal derecede yüksek sinaptogenez için gereklidir. NgR1'in, koreseptör TROY ve RhoA aracılığıyla sinyal göndererek postsinaptik nöronda yeni sinaps oluşumunu engeller (Wills ve ark 2012).

Nörodejenerasyon ve nöroplastisite sürecinde rol oynayan faktörlerden biri de Nogo-A molekülüdür. Nogo-A nogo geninin en büyük transkriptidir ve merkezi sinir sisteminde aktif olarak rol oynar. Bu protein hasar sonrası sinir liflerinin büyümesini engeller. Böylece güçlü bir inhibitör etki gösterir (GrandPre ve ark 2002, Huber ve ark 2002, Clementi 2014, Bulut 2016). Nöronal Nogo-A, fetal ve erken doğum sonrası beyinde yüksek oranda eksprese edilir. Ancak, nöronal Nogo-A ekspresyonunun fazla olduğu yüksek plastisiteye sahip bazı bölgeler (örneğin, hipokampus) hariç, yetişkinlikte çoğu bölgelerde aşağı yönde regüle edilir (Huber ve ark 2002). Özellikle yetişkin hipokampusundeki CA3 ve CA1 piramidal hücreleri dahil olmak üzere presinaptik ve postsinaptik nöronlarda yüksek oranda ifade edilir (Lee ve ark 2008). Anti-Nogo-A antikorları veya Nogo-A nakavt fare modelleri kullanan bazı çalışmalarda, CA1 ve CA3 nöronlarının bazal ve apikal dendritik dallanmanın karmaşıklığında belirgin değişikliklerin indüklendiği ve CA3 aksonlarının yoğun şekilde filizlenmesine yol açtığı göstermiştir (Zagrebelsky ve ark 2010).

Son raporlar, p75-NTR ve Nogo reseptörü (NgR) arasındaki etkileşimin nörit büyümesini inhibe ettiğini göstermektedir (Miki ve ark 2014). P75-nörotrofin reseptörü (p75-NTR), hayatta kalma, apoptoz ve aksonal büyüme gibi birçok farklı hücresel fonksiyona aracılık edebilir. Bu farklı işlevler, hücresel bağlanmaya, uyarıcı liganda, koreseptörlerin birleşmesine ve spesifik sinyal yollarını aktive etmek için hücre içi bağlayıcı proteinlerin etkinleşmesine bağlıdır. Ayrıca, p75-NTR, Nogo

reseptör sinyal kompleksinin bir parçasıdır ve aksonal büyümeyi inhibe etmek için miyelin proteinleri tarafından aktive edilmiştir. P75-NTR önemli rollerinin olduğu bilinmesine rağmen, belirli sinyal yollarını aktive ettiği mekanizmalar hakkında çok az şey bilinmektedir (Volosin ve ark 2008). Miyelin Transkripsiyon Faktörü 1 (NZF2b/7ZFMyt1) ise oligodendrositlerin gelişmesinde ifade edilir. PLP1, MAL2 vb. gibi miyeline özgü çeşitli gen ürünlerinin ifadesinde önemli bir role sahiptir (Chandrasekar ve Dreyer 2010).

Yukarıda sunulan bilgilerden yola çıkarak beyindeki çinko homeostazisi bozulduğunda Alzheimer hastalığı ve depresyon gibi hastalıklarda etkili olduğu ve çinkonun özellikle hipokampusta sinaptik cevabı etkilediği ve beyinde yapısal, düzenleyici ve katalitik pek çok proteinin yapısında kritik rol oynadığı söylenebilir. Ayrıca nöron aktivitesinin düzenlenmesi ve beyin gelişiminde etkili olan pek çok düzenleyici molekülün bulunduğu son zamanlarda yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bu nedenle, çalışmamızda çinko eksik diyetle beslenen gebe sıçanların erkek yavrularında, çinko eksikliği ve uygulamasının hipokampus dokusundaki bu düzenleyici moleküllerin gen ifadesi düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylelikle beyin gelişimini düzenleyen moleküler yollarda çinkonun olası etkilerini göstermek mümkün olabilecektir.

1.1. Çinko

Çinko insan vücudunda en bol bulunan temel elementlerden biridir. Emilimi duodenum ve jejunumda gerçekleşir ve tüm organlara, dokulara, sıvılara ve salgılara dağılır (Golan ve ark 2017). Yetişkin bireylerde, ortalama çinko miktarı 1,4-2,3 g olmakla birlikte, ~%60'ı iskelet kasında, %30'u kemikte, %5'i karaciğerde ve deride depolanır (Chasapis ve ark 2012, Kambe ve ark 2014). Ayrıca çoğunlukla testis ve beyin dokuları da çinko içerir. Beyinde ise hipokampus, amigdala, serebral korteks, talamus ve olfaktör kortekste en yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Kumar ve ark 2016). Yetişkin beynindeki toplam çinko konsantrasyonu yaklaşık 200 μ M kadardır. Bu çinko miktarının 1 μ M'den çok daha az miktarının ekstraselüler matrikste yer aldığı tahmin edilmektedir. Ayrıca, beyin omurilik sıvısındaki (BOS) çinko konsantrasyonu yaklaşık 0.15 μ M iken, plazmadaki çinko konsantrasyonu ise yaklaşık 15 μ M kadardır (Takeda ve Tamano 2009).

Çinko, tüm gıda gruplarından temin edilebilir, ancak bazı önemli çinko diyet kaynakları arasında kırmızı et, kümes hayvanları, balık, diğer deniz ürünleri, baklagiller, kuruyemişler, tam tahıllar ve süt ürünleri bulunur (Dixon ve ark 2001, Ervin ve Kennedy-Stephenson 2002). Pek çok takviye gıdalarda kullanılan çinko formları çinko asetat, çinko glukonat, çinko metionin, çinko karbonat, çinko klorür gibi amino asit şelatlarıdır. Çinko oksit ve çinko sülfat ise en sık kullanılan formlarıdır. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından genel olarak güvenli olarak kabul edilen beş çinko tuzu vardır. Bunlar çinko sülfat, çinko klorür, çinko glukonat, çinko oksit ve çinko stearattır. Ancak, hiçbir çinko bileşiğinin gıdaya doğrudan eklenmesinin FDA tarafından güvenli olmadığı da bildirilmiştir (Salgueiro ve ark 2002).

Çinko, canlı organizmalarda demirden sonra ikinci en bol bulunan geçiş metal iyonudur. Ancak hemoglobine bağlı demir dikkate alınmazsa en bol geçiş metali olarak değerlendirilir (Vasak ve Hasler 2000). Ayrıca 300'den fazla enzimin kofaktörü olan tek metal olduğu da bilinir (Rink ve Gabriel 2000). Bununla birlikte yapısal proteinlerin ve metaloproteazlar, nitrik oksit sentaz ve süperoksit dismutaz, hidrolazlar, transferazlar, oksidoredüktazlar, ligazlar, izomerazlar ve ligazlar gibi yaklaşık 2.700 enzimin yapısında bulunur (Andreini ve Bertini 2012, Nuttall ve Oteiza 2012, Prasad 2013, Terrin ve ark 2015, Golan ve ark 2017). Ayrıca reseptörler, enzimler ve hücre sinyal yollarında yer alan proteinler dahil olmak üzere birçok proteinin işlevini düzenler (Adamo ve Oteiza 2010).

İnsan proteomundaki proteinlerin ~%10'u çinkoya bağımlıdır ve bundan dolayı çinko vücuttaki en önemli eser elementlerden biridir. Vücuttaki çoğu çinko, metal şelasyonu, antioksidan koruma, hücresel onarım süreçleri, beslenme bağışıklığı, büyüme ve farklılaşma için önemli bir protein sınıfı olan metallotiyoneinlere (MT) bağlıdır (Brion ve ark 2021).

1.1.1. Çinko Eksikliği

Çinko insan sağlığı için o kadar kritik bir elementtir ki en ufak bir eksikliği bile çok büyük problemlere neden olabilir (Chasapis ve ark 2012). Çinko, homeostazda, bağışıklık fonksiyonunda, oksidatif strese, apoptozda ve yaşlanmada

kritik etkiye sahiptir ve halk sağlığı açısından büyük önem taşıyan önemli bozukluklar çinko eksikliği ile ilişkilidir (Kumar ve ark 2016).

Beslenmede inko eksikliği gelişmekte olan ülkelerde yaygındır (Black 2003). Dünya nüfusunun yaklaşık %50'si çinko eksikliği ile risk altındadır. Çocuklarda ise çinko eksikliği hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde bir beslenme ve sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (Takeda ve Tamano 2009). Çocukluk ağında çinko eksikliğinin cüceliğe, zihinsel ve fiziksel gelişme geriliğine, bağışıklık fonksiyon bozukluğuna ve öğrenme glğne neden olduğu bilinmektedir (Kumar ve ark 2016). Hatta ocuklarda çinko eksikliği normal büyümenin yanı sıra entelektüel gelişimi ve üreme sistemi sağlığını da engelleyebilmektedir (Bhowmik ve ark 2010).

Çinko eksikliği, anne ve yeni doğan morbidite ve mortalite riskinde artışa yol açar. Yapılan bir çalışmada normal doğumla doğan olgun bebekleri olan kadınlar, hamilelik sırasında anormal doğum yapan ve/veya anormal gelişmiş bebekleri olan kadınlara göre önemli ölçüde daha yüksek serum çinkoya sahip olduğunu göstermiştir (Jameson 1976). Bununla birlikte birçok çalışmada, çinko alımlarının önerilenlere kıyasla çok düşük olması nedeniyle hamile kadınların çinko eksikliği riski altında olduğunu göstermiştir. Bu riske sahip kadınların çoğunun tükettiği diyetin yüksek fitat içeriğine sahip olduğunu da bildirmiştir. Genç kızlar, çoğul gebeliği olan kadınlar, hastalık veya ilaçlar nedeniyle bağırsak emilimi bozulmuş kadınlar ve özellikle düşük proteinli, yüksek fitatlı diyet tüketen kadınlar, hamilelik sırasında çinko eksikliği geliştirme riski taşıyor olabileceğini öne srlmştir (Huddle ve ark 1998, Odland ve ark 1999, Ortega ve ark 1999).

Maternal serum çinko konsantrasyonu, hemodilüsyon, hormonal değişiklikler, idrar ile çinko atılımının artması, maternal dokular tarafından çinko alımının artması ve aktif maternal-fetal çinko transferi gibi nedenlerle gebelik döneminin 35. haftasına kadar azalır (Donangelo ve King 2012). Annenin beslenme durumu perinatal ve neonatal sağlık durumunun önemli bir belirleyicisidir. Dünya çapında hamile kadınların %82'sinin genellikle düzenli çinko alımındaki yetersizlik ve muhtemelen çinko eksikliğine bağlı sağlık problemlerinden muzdarip olduğu tahmin edilmektedir (Caulfield ve ark 1998). Gebelikte inko eksikliği, nöral tüp defektleri gibi fetal malformasyonlar, intrauterin büyüme geriliği ve erişkin yaşamda

kardiyovasküler ve böbrek hastalıkları yönünden risk oluşturabilir (Tomat ve ark 2013, Moghimi ve ark 2017, Akdas ve Yazihan 2020). Bununla birlikte, gebe kadınlarda çinko eksikliği fetal beyin hücrelerinin azalmasına neden olabilir ve gelişimlerini etkileyebilir (Bhowmik ve ark 2010).

Gebelik ve doğum sonrası erken gelişim sırasında düşük seviyedeki çinko alımı teratojenik değildir, ancak nörotransmisyon ve hücre sinyali etkiler (Chowanadisai ve ark 2005, Aimo ve ark 2010). Ayrıca, erken doğum sonrası çinko eksikliği sepet ve yıldız hücreleri, purkinje hücreleri ve serebellum granül nöronlarının sayısını ve farklılaşmasını etkiler (Dvergsten ve ark 1983, Dvergsten ve ark 1984, Dvergsten ve ark 1984). Ayrıca çinko eksikliğinin, nöronlarda muhtemelen yağ asidi metabolizmasının bozulmasına neden olan uzun ω -3 ve ω -6 zincirlerinin azaldığını gösteren bazı kanıtlar vardır (Wauben ve Wainwright 1999). Bununla birlikte çinko, tiroid hormonlarının metabolizmasında, reseptör işlevinde ve merkezi sinir sistemini etkileyebilecek diğer hormonların taşınmasında da rol oynar (Morley ve ark 1980).

Çinko eksikliğinin sıçanların bilişsel yeteneğinin bozulduğunu gösteren ilk çalışma Caldwell ve ark (1970) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu bulguları destekleyen çalışmalarda yapılmıştır ve çinko eksikliğinde elektriksel uyarı sonrasında yosun liflerinin sıra dışı tepkilerin olduğu belirlenmiştir (Hesse 1979, Hesse ve ark 1979).

Maternal çinko eksikliğinin deney hayvanlarında fetüs büyümesi üzerindeki etkisi çok açık bir şekilde gösterilmiştir. Doğumdan birkaç ay sonra azalmış bağışıklık ve öğrenme veya hafıza bozuklukları gibi sonraki dönem etkilerinin olduğu da belirlenmiştir (Caulfield ve ark 1998). Sıçanların gebeliğin son üçte birlik döneminde veya laktasyon boyunca şiddetli maternal çinko yoksunluğunun, sonraki yaşamda besinsel olarak takviye edilen soylarda anormal nöropsikolojik performansına neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca belirtiler arasında davranışta bozukluklar, kısa ve uzun süreli bellekte azalma ve artan saldırganlık olduğu da tespit edilmiştir (Sandstead 1985, Halas ve Eberhardt 1987).

1.1.2. Çinkonun Düzenlenmesi

Çinkonun organizmada katalitik, yapısal ve düzenleyici olmak üzere üç ana biyolojik rolü vardır (Chasapis ve ark 2012). DNA sentezi, büyüme, davranış, beyin gelişimi, fetal gelişim, üreme, membran geçişleri, kemik oluşumu ve yara iyileşmesi dahil olmak üzere birçok hücre sürecini kontrol eden enzimlerin kataliz ve ko-katalizde doğrudan ilişkilidir (Mocchegiani ve Fabris 1995, Barceloux 1999).

Uygun koşullar altında, fazla miktarda çinko birikimini veya eksikliğini önlemek için homeostatik kontroller devam eder. Bu homeostaz, çinkonun alımı, atılımı ve hücre içi depolanması/trafiğinde yer alan farklı proteinler tarafından gerçekleştirilen senkronize bir düzenleme sonucunda olmaktadır. Bu proteinler, hücre içi çinko seviyelerini kontrol eden membranöz taşıyıcıları (ZnT ve ZIP aileleri) ve metallothioneinleri içerir (Sekler ve ark 2002, Kambe 2013, Kambe ve ark 2015, Kambe ve ark 2017). ZIP proteinleri, hücre dışı ve veziküler çinkoyu hücre içerisine alımından sorumludur ve sitoplazmik çinko seviyesini arttırır. Bu protein taşıyıcıları ZIP1–ZIP14 olarak adlandırılan 14 üyeden oluşur ve Solute Carrier Family 39 (SLC39) olarak isimlendirilirler. ZnT proteinleri ise, hücre içi çinkonun dışarı akışını artırarak veya çinkonun veziküler alımını sınırlandırarak uzaklaştırır. ZnT1–ZnT10 olarak adlandırılan on üyeden oluşur ve Solute Carrier Family 30'a (SLC30) olarak isimlendirilirler (Huang ve Tepasamorndech 2013, Jeong ve Eide 2013, Schweigel-Röntgen 2014). ZIP1 beyin sapı, beyincik, ön beyin ve hipokampusta bulunur (Qian ve ark 2011). Metallothioneinler, tek zincirli bir proteindir ve korunmuş amino asit dizisine sahiptir. Bir metallothionein molekülü 7 atom çinko ile bağlanabilir. Hidroksil radikali veya nitrik oksit salınımı, apoptoz ve ağır metallerin (Zn, Cu ve gibi) bağlanması ve değişimi gibi görevleri mevcuttur. (Burdette ve Lippard 2003, Floriańczyk ve ark 2003, Thirumoorthy ve ark 2011, Ruttkay-Nedecky ve ark 2013, Krężel ve Maret 2017). Metallothioneinler, nörolojik hücrelerde temel çinko dengesinin korunmasında kilit bir role sahiptir. Memelilerde, üç tanesi merkezi sinir sisteminde olmak üzere toplam dört adet (MTI-MTIV) metallothioneinlerin olduğu bilinmektedir (Babula ve ark 2012, Kumar ve ark 2021). Bunlardan MTIII'den salınan çinkonun ise hipokampal CA1 bölgesi ve talamus dahil olmak üzere bazı beyin bölgelerinde nöronal ölüme katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Lee ve ark 2003, Lee ve Koh 2010, Babula ve ark 2012).

Beyin bariyer sisteminin de beyindeki çinko homeostazisine oldukça büyük katkısı vardır. Plazmadan beyin hücre dışı sıvısına ve beyin omurilik sıvısına çinko taşınması, beyin bariyer sistemi (kan-beyin ve kan-BOS bariyeri) tarafından ciddi bir şekilde düzenlenmektedir. Bu nedenle beyindeki çinko homeostazı nörolojik hastalıklarla yakından ilişkilidir (Takeda ve ark 2000, Takeda 2001, Capasso ve ark 2005, Mocchegiani ve ark 2005, Bressler ve ark 2007, Takeda ve Tamano 2009).

Çinko salınımı, hipokampusa bağımlı öğrenme ve hafıza için gereklidir (Yang ve ark 2013). Beyindeki çinko homeostazisinin, diyetle alınan çinko eksikliği ile kolayca bozulmadığını bildiren çalışmalar vardır (Takeda 2000, 2001). Bununla birlikte, araştırmacılar kronik çinko eksikliğinin hipokampustaki çinko konsantrasyonunu azaltabileceğini bildirmişlerdir. Bunun nedeninin ise hipokampusun beyindeki çinko eksikliğine duyarlı olmasından ileri gediğini öne sürmüşlerdir (Takeda 2001).

1.1.3. Beyin Gelişiminde Çinkonun Önemi

Beyin gelişimi için beslenme faktörleri arasında enerji, protein, yağ, karbonhidrat, demir, bakır (Cu), çinko (Zn), iyot, tiamin, folat, selenyum, kolin, A, B12, C, D vitaminlerinin ve uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin ideal oranlarının uygun şekilde verilmesi ve alınması yer alır (Brion ve ark 2021).

Çinkonun sinir sistemindeki fizyolojik işlevleri, hücre içi ve hücre dışı çinko konsantrasyonlarının hassas dengesine bağlıdır (Colvin ve ark 2003, Frederickson ve ark 2005). 1943 yılında ilk olarak fare ve köpeklerde yapılan bir çalışmada radyoaktif işaretleme yapılarak, bu hayvanların dokularında çinkonun varlığı tespit edilmiştir (Sheline ve ark 1943). Yaklaşık 70 yıl önce ise Maske (1955), dentat girusta ortaya çıkan yosunlu lifler olarak adlandırılan granüler hücre aksonlarının çinko açısından zengin olduğunu tespit etmiştir. Sonraki başka bir araştırmacı CA3 piramidal hücrelerin dendritleri ile sinaps yapan terminallerde çinkonun bulunduğunu belirtmiştir (McLardy 1960). Daha sonra hipokampal çinkonun yaklaşık %8'ini oluşturmak için vesiküllerde yer aldığı gösterilmiştir (Frederickson ve ark 1982).

Gelişme sırasında uygun sayıda sinaptik bağlantı kurulması, normal beyin fonksiyonu için önemlidir. Bu süreçteki başarısızlıklar, zihinsel gerilik, otizm ve

şizofreni dahil olmak üzere nörolojik bozuklukların temelini oluşturabilir (Eastwood 2004, Bassell ve Warren 2008, Südhof 2008, Wills ve ark 2012).

Çinko iyonları beyinde bol miktarda bulunur ve toplam beyin çinkosunun yaklaşık %10'u, uyarma ile salınabilen ve sinaptik sinyalleme modülasyonunda rol oynayan sinaptik veziküllerde yer alır (Frederickson ve ark 2005). Amigdala, hipokampus, serebral korteks, talamus ve olfaktör kortekste en yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Özellikle sinaptik plastisite, öğrenme, bilgi işleme, hafıza ve nöronal gelişimin düzenlenmesinde önemli görevler üstlenir (Gulya ve ark 1991, Ono ve Cherian 1999, Frederickson ve ark 2000, Kumar ve ark 2021).

Çinko beyinde proteinlere bağlı olarak bulunur (Bhatnagar ve Taneja 2001). Sinir sisteminin fizyolojisinde nöronal hücre oksidan üretiminin düzenlenmesinde, sinyal akışının sağlanmasında, hücrenin hayatta kalmasında, nöronal hücre çoğalmasında ve farklılaşmasında yer alan önemli bir mikro besindir (Adamo ve Oteiza 2010). Çinko bağımlı enzimlerin beyin büyümesinde rol oynamasının yanı sıra, çinko-parmak proteinlerinin beyin yapısı ve sinir iletimine katılması, çinko bağımlı nörotransmitterlerin beyin hafıza fonksiyonunda yer alması, nörotransmitterlerin öncü üretiminde yer alması ve metallothionein-III gibi nöronlarda çinko bağlayan proteinler için gerekli olması yönüyle çinko merkezi sinir sisteminin gelişimi için kritik bir besindir (Salgueiro ve ark 2002). Bu nedenle yaşamın her aşamasında gereklidir.

Çinko, merkezi sinir sisteminin normal gelişimi için gereklidir. Özellikle nörogelişim sırasında kök hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını yönlendiren çeşitli proteinlerin, enzimlerin, hormonların ve büyüme faktörlerinin oluşumu ve işlevi için vazgeçilmezdir. Örneğin, DNA sentezinde kritik rol oynayan DNA polimeraz gibi anahtar enzimlerin çinko gerekliliği gelişmekte olan beyin için önem arz eder. Bu nedenle, gebelik sırasındaki hafif çinko eksikliğinin bile yavrularda öğrenme ve hafıza anormalliklerine yol açması şaşırtıcı değildir (Duncan ve Hurley 1978).

Merkezi sinir sisteminde bulunan çinkonun yaklaşık olarak %20'si serbest formdadır ve glutamaterjik nöronların presinaptik veziküllerinde yer alır. Bu veziküllerdeki çinko beyin aktivitesine bağlı olarak sinaptik yarığa salınır. Daha sonra AMPA, NMDA, GABA, glisin reseptörleri gibi birçok nörotransmitter

reseptörünün ve voltaja bağlı iyon kanallarının aktivasyonunu düzenler (Kumar ve ark 2021). Bu nedenle çinko, sinaptik iletimde önemli rol oynar ve endojen nöromodülatör olarak hizmet eder. Ayrıca çinko, postsinaptik yoğunluk (PSD) stabilitesinin düzenlenmesi için de önemlidir (Takeda ve ark 2014, Prakash ve ark 2015).

Hayvanlar üzerinde yapılan çoğu takviye çalışmasının, beynin hızlı büyümesi döneminde ciddi çinko eksikliğinin duygusal gelişimi, rehabet durumunu, öğrenmeyi, dikkat ve hafızayı değiştirdiğini göstermiştir (Golub ve ark 1995, Golub ve ark 2000). Çinko eksikliği olan hayvanlardan doğan yavrularda öğrenme ve ezberleme güçlüklerinin olduğu rapor edilmiştir. Bu bulgular, nöron sayısında azalma olan yaşamın ilk haftalarındaki dönemlerde yetersiz çinko alımı ile ilişkilendirilmiştir (Favier 1992, Caulfield ve ark 1998). Bu nedenle hamileliğin ortasındaki maternal çinko durumu, optimal merkezi sinir sistemi gelişimini sağlamak için özellikle önemli olabilir. Çünkü hızlı nörojenez ve yapısal gelişim üçüncü trimesterden önce gerçekleşmektedir (Caulfield ve ark 1998).

Piechal ve ark (2012) yaptıkları çalışmada, doğum öncesi ve sonrası çinko takviyesi alan deney gruplarından doğan sıçan yavruları, hafızada önemli gelişmelerin yanı sıra kontrollere kıyasla serum çinko seviyelerinde bir artış gösterdiğini ve çinko takviyesinin erken bilişsel gelişimi olumlu etkilediğini bildirmiştir. Ayrıca, başka bir çalışmada doğumdan sonra çinko destekli bir diyetle beslenen sıçanların, sonraki diyet kaynaklı çinko eksikliğine karşı daha dirençli olabileceğini gösteren bazı kanıtlarda öne sürülmüştür (Opoka ve ark 2010). Yapılan bir başka çalışmada, sıçanlarda gebeliğin son üçte birlik döneminde çinko eksikliğinin fiziksel olarak belirgin şekil bozukluklarına neden olmadığı, ancak fetal büyüme gerilik ve beyin hücrelerinin sayısında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (McKenzie ve ark 1975).

Çinkonun ayrıca hücresel sinyal iletim süreçlerini modüle ettiği ve hatta beyindeki çinko içeren nöronların sinaptik nörotransmisyon modülatörü olarak işlev gördüğü de belirlenmiştir (Beyersmann 2002).

Beyin gelişimi sırasında çinkonun rollerinin karmaşık olduğunu gösteren bazı veriler de mevcuttur. Bu durum apoptoz bakımındandır. Çünkü apoptotik hücre

ölümü, nöronların gelişimsel kısılması ve plastisite dönemlerine katkıda bulunur. Cho ve ark (2010)'nın gerçekleştirdikleri bir çalışmanın bulgularına göre, erken neonatal dönemde merkezi sinir sistemini içermeyen çinkonun şelasyonu, normal proapoptotik yollarda bir düşüşe ve antiapoptotik proteinlerin ekspresyonunda eşzamanlı bir artışla ilişkili nöronal apoptoza yol açtığı belirlenmiştir. Bu verilerin, serbest çinkonun, gelişim dönemleri sırasında programlanmış apoptotik nöronal kısılmanın kontrolünde anahtar bir faktör olabileceğini düşündürmüştür.

1.1.4. Çinko ve Hipokampus

İnsan vücudu, vücuda dağılmış olan 2-3 gram çinko içerir ve konsantrasyonları özellikle hipokampus, hipotalamus ve amigdala dahil olmak üzere limbik sistemde yüksektir (Bhowmik ve ark 2010).

Çinko beyinde bol miktarda bulunur. Özellikle işitsel beyin sapı, koku alanı, amigdala, hipokampus ve kortekste miktarı oldukça fazladır. Beyinde bulunan çinkonun çoğunluğu (%80-90) metal bağlayıcı proteinlere bağlıyken, kalan kısım uyarıcı nöronların büyük bir alt popülasyonunun sinaptik veziküllerinde paketlenir. Bu sinaptik veya veziküler çinko, aktiviteye bağlı bir şekilde salınır ve NMDA, AMPA, GABAA ve glisin reseptörlerinin yanı sıra voltaja bağlı iyon kanalları dahil olmak üzere birçok nörotransmitter reseptörünün aktivasyonunu düzenler (Weiss ve ark 2000, Singla ve Dhawan 2012, Pekun ve ark 2014). Ayrıca hipokampusta, uzun süreli güçlenmenin (LTP) uyarılması, çinko iyonlarının konsantrasyonuna bağlıdır (Kumar ve ark 2021). Yapılan birkaç çalışmada, beyinlerinde yaralanma meydana getirilen hayvanların hipokampusunda nöronal öncü hücre proliferasyonunu ve nörojenezi arttırdığı da bildirilmiştir (Cope ve ark 2016, Levenson 2020).

Çinko özellikle hipokampusta sinaptik cevabı etkilemektedir ve beyinde yapısal, düzenleyici ve katalitik pek çok proteinin yapısında kritik rol oynamaktadır (Akdeniz ve ark 2016). Son araştırmalar, salgılanan çinkonun bilgi işleme, sinaptik plastisite, öğrenme ve hafızada çok önemli roller oynadığını öne sürülmüştür. Gerçekten de, çinkonun hipokampusta bellek oluşumunun altında yatan mekanizmalar için gerekli olduğu gösterilmiştir (Kumar ve ark 2016).

Gelişimsel çinko eksikliğinin daha sonraki nöropsikolojik performansı etkilediği mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Ancak diyet çinko eksikliğinin

öğrenme ve hafıza bozukluğuna neden olabileceğini gösteren çok sayıda araştırma mevcuttur (Halas ve ark 1986, Halas ve Eberhardt 1987, Bhatnagar ve Taneja 2001, Gao ve ark 2011). Bununla birlikte çinkonun fazla miktarda alınması ile beyin çinko homeostazı ve hafıza üzerindeki etkileri hakkında birkaç çalışma mevcuttur. Flinn ve ark (2005) ve Turner ve Soliman (2000) çinko takviyeli sıçanların uzamsal referans hafıza eksikliği gösterdiğini bildirmiştir.

Hunt (1984) gebelik ve emzirme boyunca hafif maternal çinko eksikliğinin (10 mg çinko/kg maternal diyet) yetişkin yavrularda inflamasyon bulgusu olmaksızın hipokampal piramidal hücrelerin aşırı lekelenmesine neden olduğunu göstermiştir.

Beyin bariyer sisteminin sıkı bir şekilde düzenlenmesine rağmen, hipokampusun çinko eksikliğine oldukça duyarlı olduğu yapılan bir çalışmada belirlenmiştir. Bu çalışmada 12 hafta boyunca çinkodan eksik diyetle beslenen sıçanların beyinlerindeki çinko konsantrasyonu ve Zn (65) alımı incelenmiştir. Çinko eksikliği olan sıçanlarda hipokampus dışında beyindeki çinko konsantrasyonlarının önemli ölçüde azalmadığı tespit edilmiştir. Çinko eksikliği olan sıçanlar ZnCl(2) (65) enjeksiyonundan 6 gün sonra Zn (65) ile beyin otoradyografisine tabi tutulduklarında kontrol sıçanlarından önemli ölçüde daha yüksek (artış oranı yaklaşık %150) olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın bulguları, hipokampusun yetişkin beyindeki diyet çinko yoksunluğuna en duyarlı bölgesi olduğu ve beyindeki çinko homeostazının çinko yoksunluğu ile değiştirildiği göstermiştir (Takeda 2001). Bu bulgulara karşılık in-vivo mikrodializ deneyleri ise, hipokampustaki ekstraselüler çinkonun, 2 haftalık çinko eksik diyetle beslenen genç sıçanlarda önemli ölçüde değişmediğini göstermiştir (Takeda ve ark 2006). Ancak yapılan başka çalışmalarda da 4 haftalık çinko yoksunluğundan sonra genç sıçanlarda hipokampustaki hücre dışı çinkonun azaldığı da belirlenmiştir (Takeda ve ark 2003a, Takeda ve ark 2003b).

1.2. Beyin Gelişimi, Çinko ve Gen ifadesi

Yapılan ilk çalışmalarda erken doğum sonrası çinko eksikliğinin DNA ve protein sentezinde bozulmalara neden olduğu ve beyin polisomlarında azalmaların gözlemlendiği bildirilmiştir (Sandstead ve ark 1972, Fosmire ve ark 1975, Duerre ve ark 1977).

Çinko, kromatinin yapısı, DNA'nın replikasyonu ve transkripsiyon faktörleri ve RNA ve DNA polimerazların aktivitesi yoluyla RNA'nın transkripsiyonu dahil olmak üzere çeşitli şekillerde genetik stabilite ve gen ekspresyonu süreçlerinde yer alır. DNA onarımında ve programlanmış hücre ölümünde rol oynar (Falchuk 1998). Ayrıca makromoleküllerin sentezi, sinyal kaskadlarının ve gen transkripsiyonunun düzenlenmesi ve taşıma süreçleri dahil olmak üzere çok sayıda işlemin düzenlenmesinde yer alan reseptörler ve enzimler gibi proteinlerin aktivitesini düzenler. Bu süreçlerde hücre içi sinyal iletiminin ikinci habercisi olarak çinkonun önemi son zamanlarda daha da anlaşılmıştır. (Yamasaki ve ark 2007). Ayrıca çinko redoks homeostazının düzenlenmesi, DNA onarımı, sentezi ve metilasyonu da dahil olmak üzere çeşitli etkilerle genomik dengenin korunmasında rol oynar (Nuttall ve Oteiza 2012, Nuttall ve Oteiza 2014, Kumar ve ark 2016). Ayrıca çinko, enzimlerin, proteinlerin ve sinyal transkripsiyon faktörlerinin biyolojik aktivitesinin yanı sıra DNA ve RNA polimerazlar, histon deasetilazlar ve DNA ligazları gibi çeşitli enzimler için yapısal, düzenleyici ve katalitik kofaktörler olarak görev yapan çeşitli homeostatik mekanizmaların korunmasında da rolü vardır (Choi 2012).

Proteine bağlı ve serbest çinkonun homeostazı normal beyin fonksiyonu için kritik öneme sahiptir. Çünkü, çinko çeşitli transkripsiyon faktörleri için yapısal stabilite sağlar. Bunu yaparken de gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve nöronal metabolizmadaki düzinelerce anahtar enzimin aktivitesinden sorumludur (Gower-Winter ve Levenson 2012).

Çinko, çinko parmak proteinleri olarak bilinen molekülleri oluşturmak için benzersiz bir yetenek yoluyla birçok transkripsiyon faktörünün DNA bağlama yeteneğinden sorumludur. Her yerde bulunan bu proteinler, gen ekspresyonunu doğrudan düzenler. Ayrıca RNA ile ara yüzey oluşturup, protein-protein etkileşimlerini kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Bununla birlikte nöronal büyüme ve gelişmede rol oynayan tiroid hormon reseptörü ve nöronal farklılaşmaya katılan hem retinoik asit reseptörleri hem de D vitamini reseptörlerini içerir (Gower-Winter ve Levenson 2012).

1.2.1. Nörotrofin Reseptörü (p75-NTR)

Sinir sisteminin gelişimi ve korunması, sinir hücrelerinin yayılımı ve bunlara karşılık gelen hücre yüzeyi reseptörleri arasındaki karmaşık bir etkileşim tarafından düzenlenir (Roux ve Barker 2002). p75-nörotrofin reseptörü (p75-NTR), 1970'lerde ve 1980'lerde ilk tanımlanmıştır. O yıllardan bu yana bu reseptörün işlevlerini ve bir hücre belirteci olarak rolünü açıklamaya çalışan çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. Altta yatan mekanizmaları anlamada önemli ilerleme kaydedilmiş olsa da, p75-NTR'nin kararsız işlevleri henüz tam olarak anlaşılmış değildir (Becker ve ark 2018). Ancak hücre ölümü ve hayatta kalmasının düzenlenmesi, yara oluşumu, enerji harcaması ve hipoksik tepki dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik süreçlerde merkezi bir rol oynadığı ileri sürülmektedir. Böylece doku onarımı, metabolizma ve nörodejenerasyon için hayati önem taşıyan biyolojik işlevlere katkıda bulunur (Malik ve ark 2021).

Tümör nekroz faktör reseptörü 1 (TNFR1) ve TNFR2, Fas, RANK ve CD40 dahil olmak üzere yaklaşık 25 reseptör içeren TNF reseptör süper ailesinin ilk tanımlanan üyesi p75-NTR'dir (Baker ve Reddy 1998). p75ntr geni, yaklaşık insan kromozomunun 17q12-17q22'yi kapsayan altı ekzon içerir (Huebner ve ark 1986, Sehgal ve ark 1988). Yaklaşık 300 nükleotitlik 5' UTR bölgesi ve bir tane korunmuş poliadenilasyon sinyali içeren ve ~2000 nükleotid uzunluğunda 3'UTR bölgesi olan 3.8 kb'lik bir mRNA'yı kodlar (Johnson ve ark 1986). p75-NTR promotör dizisi sıçan, fare ve insanda oldukça benzerdir (Metsis 2001).

Şimdiye kadar iyi tanımlanan memeli nöronal farklılaşma faktörleri arasında nörotrofinler yer alır. Nötrofinler önceden hayatta kalma faktörleri olarak tanımlansa da daha sonra nöroblast ve nöral krest hücre proliferasyonunun düzenlenmesini, nörit büyümesinin düzenlenmesini, sinaptik özelliklerin modülasyonunu, hayatta kalma ve apoptozun indüklenmesini içeren geniş bir cevaba aracılık ettiği düşünülmektedir (Purves ve ark 1988, Oppenheim 1991, Lewin ve Barde 1996, Bibel ve Barde 2000, Huang ve Reichardt 2001). Nörotrofinlerin çeşitli biyolojik işlevlerine aracılık eden sinyal iletim sistemleri, iki hücre yüzeyi reseptörü ile başlatılır. Bu reseptörlerden biri tropomiyozin ile ilişkili kinaz (Trk) tirozin kinaz reseptörleri, diğeri ise p75-NTR'dir. Bu reseptörler, nörotrofine bağımlı farklı sinyal yollarını aktive ederler. Bazı durumlarda ise, sadece otonom yolları aktive etmekle kalmaz, aynı zamanda

nörotrofinlerin etkilerine aracılık etmek için de birlikte hareket ederler (Roux ve Barker 2002).

p75-NTR, sitoplazmik alanı katalitik aktiviteden yoksun olduğu için geleneksel yollardan sinyal oluşturmaz (Liepinsh ve ark 1997, Caporali ve Emanuelli 2009). Bu nedenle, bu reseptörün sinyalizasyonu kısmen, nörotrofinlere yanıt olarak reseptör tarafından alınan veya reseptörle ilişkilendirilen diğer etkileşimli proteinler tarafından gerçekleştirilir (Hempstead 2002, Roux ve Barker 2002).

p75-NTR mRNA gelişimin en erken dönemlerinden itibaren merkezi, otonom ve duyuşal sinir sisteminde ifade edilir (Heuer ve ark 1990, Roux ve Barker 2002). Bununla birlikte p75NTR ekspresyon seviyeleri, çok çeşitli dokularda sinir sistemi hasarı ile artarmıştır (Armstrong ve ark 1991, Dusart ve ark 1994, Kokaia ve ark 1998, Martinez-Murillo ve ark 1998). Özellikle yaralanma sonrasında aksonal büyümeyi ve rejenerasyonu da inhibe ettiği belirlenmiştir (Choi 2012). Birçok durumda da apoptoz sürecinin başlatılmasında yakından ilişkili olduğu belirlenmiştir (Bagum ve ark 2001, Casha ve ark 2001, Roux ve ark 2001). p75NTR aracılı apoptozun sinyal iletim yolları henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Ancak seramid üretimini, c-jun kinaz aktivasyonunu, p53 birikimini ve çeşitli kaspazların aktivasyonunu içerdiği düşünülmektedir (Allington ve ark 2001). TNF reseptörü gibi birçok ölüm reseptörleri kaspaz-8'in bir dizi ardışık kaspaz olayını aktive etmek için dahil olduğu ekstrinsik apoptotik sinyal yolunu aktive ederken, p75-NTR ise kaspaz-9, 6 ve 3'ün aktive edildiği intrinsik apoptotik kaskadın gerçekleştiği yolağın aktive edilmesinde görev alır (Locksley ve ark 2001, Troy ve ark 2002). Böylece p75-NTR'nin beyin gelişimde programlanmış hücre ölümüne katkı sağlanmış olur (Majdan ve ark 1997). Ayrıca p75-NTR, aksonal büyümeyi inhibe etmek için miyelin proteinleri tarafından aktive edilen Nogo reseptör sinyal kompleksinin bir parçası olarak da bilinmektedir (Wang ve ark 2002, Wong ve ark 2002).

Sinir büyüme faktörü (NGF), hücre sağ kalımı ve büyümesinde önemli bir role sahiptir. Çinko, NGF'nin N-terminalinin histidin kalıntılarına bağlanır ve p75-NTR ve Trk reseptörüne bağlanma şeklini değiştirir. Böylece çinko biyolojik aktivitelerin inhibisyonu ile sonuçlanan konformasyonel değişiklikleri indüklemiş olur (Kumar ve ark 2021). Bu nedenle çinkonun p75-NTR üzerinde etkisi vardır. Ayrıca civciv nöral retina kültürü ile yapılan bir çalışmada kültür ortamına 100 µM

çinko eklenmesinin NGF/p75-NTR aracılı sinyalleşmeyi inhibe ettiği ve apoptozu azalttığı belirlenmiştir (Allington ve ark 2001).

Oderfeld-Nowak ve ark (2003) sıçanlarda çevresel geçici serebral iskeminin ardından, hipokampusun CA1 bölgesindeki astrositlerin çoğunda p75-NTR'in yukarı yönde regülasyona uğradığı immünohistokimya ve çift immünofloresan yöntemi ile gösterilmiştir. Başka bir çalışmada ise, p75NTR nakavt farelerde doğum sonrası hipokampal piramidal hücrelerin kontrol tip farelere göre daha fazla yüksek omurga yoğunluğuna ve daha fazla dendritik karmaşıklığa sahip olduğunu belirlenmiştir. Bu durum p75-NTR'nin hipokampal piramidal nöronlarda dendritik morfolojiyi negatif yönde düzenlediği düşündürmektedir (Zagrebelsky ve ark 2005).

1.2.2. Nogo Reseptör (Ng-R) ve Nogo-A

Nogo reseptör ailesinin yapısında bulunan lösin açısından zengin tekrar dizilerinin beyin gelişimi sırasında oluşan uyarıcı sinapsların sayısını kısıtlama işlevi bulunmaktadır (Wills ve ark 2012). Nogo ailesinin üç üyesinden biri olan Nogo-A merkezi sinir sisteminin miyelinlerinde bulunur. Özellikle nörogelişimsel, nörodejenerasyon ve nöroplastisite rol oynayan faktörlerdendir. Merkezi sinir sisteminde meydana gelen hasar sonrasında sinir lif hücrelerinin büyümesini inhibe eder (Spillmann ve ark 1998, GrandPre ve ark 2002, Huber ve ark 2002)

Nogo-A, yaşam boyunca sinaptik plastisitede merkezi rol oynayan hipokampusta CA3 ve CA1'in piramidal hücreleri dahil pre ve postsinaptik nöronlar ile miyelin oluşumundan önce gelişmekte olan ve olgunlaşmamış nöronlar tarafından yüksek oranda ifade edilir. Bu nedenle Nogo-A; korteks, hipokampus ve dorsal kök gangliyon gibi merkezi sinir sisteminin bölgelerinde yüksek bir seviyeye ulaşır (Huber ve ark 2002, Peng ve ark 2011, Clementi 2014, Bulut 2016). Bununla birlikte, yetişkinlikte ise Nogo-A, ekspresyonun yüksek olduğu hipokampus gibi bazı yüksek plastisite bölgeleri hariç çoğu anatomik yapıda aşağı yönde regüle edilir (Huber ve ark 2002, Willi ve ark 2010). Her ne kadar tartışmalı olsa da bazı insan çalışmaları, nörogelişimsel kökenli, yani şizofreni ve bipolar bozukluk olan birkaç nöropsikiyatrik hastalıkta Nogo-A ve kromozomal konumunun değiştiğini bildirmiştir (Coon ve ark 1998, Shaw ve ark 1998, Novak ve ark 2002, Tan ve ark 2005, Willi ve ark 2010).

Nogo66 reseptörü veya Reticulon 4 reseptörü olarak da bilinen Nogo Reseptör ailesinin NgR1, NgR2 ve NgR3 olmak üzere 3 üyesi bulunmaktadır. Bu NgR'lerden herhangi birinin kaybı in vitro sinaps sayısında bir artışa neden olurken, üçünün de kaybı, in vivo olarak anormal derecede yüksek sinaptogenez için gereklidir. NgR1'in, koreseptör TROY ve RhoA aracılığıyla sinyal göndererek postsinaptik nöronda yeni sinaps oluşumunu engeller. Bu durum daha önce yetişkinlerde akson büyümesini kısıtladığı gösterilen bir reseptör olan NgR1'in, beyin gelişimi sırasında uyarıcı sinaps sayısını sınırlayan bir bariyer olarak dendritte işlev gördüğünü göstermektedir (Wills ve ark 2012).

Yetişkin merkezi sinir sisteminde Nogo-A reseptörü olan NgR1 (Nogo Reseptör 1)'in fonksiyonu hakkında çok şey bilinmektedir. NgR1, Nogo-A dışında ayrıca MAG, OMgp, FGF-1 ve FGF-2 gibi çeşitli ligandlara da bağlanmaktadır (Lee ve ark 2008). NgR1 ekspresyonunun susturulması bu fenotipleri dendritik ve omurga seviyesinde çoğaltabilir. Ayrıca, akut hipokampal dilimlerdeki elektrofizyolojik kayıtlar, Nogo A veya NgR1'in fonksiyon bloke edici antikolar kullanarak veya NgR1'in nakavt edilmesi ile inaktivasyonun sağlanması sonucunda LTP'nin arttığı ortaya çıkmıştır (Raiker ve ark 2010, Delekate ve ark 2011). NgR, şizofrenide genetik yatkınlık için iyi bilinen ve sorunlu bölge olan 22q11 kromozomu üzerinde bulunan bir gen tarafından kodlanır (Liu ve ark 2002). Şizofreniden etkilenen farklı bireylerde yapılan bir çalışmada, bazıları Nogo bağlanmasını doğrudan etkileyen birkaç nokta mutasyon tanımlanmıştır. NgR nakavt farelerde, bazı şizofreni semptomlarına benzeyen davranışlar sergilendiği gösterilmiştir (Clementi 2014).

Nogo-A'nın aksine, NgR oligodendrositler üzerinde tanımlanmaz, ancak serebral kortikal piramidal nöronlar ve serebellar purkinje hücreleri de dahil olmak üzere nöronların bir alt kümesinde ve aksonlarında yapısal olarak eksprese edilir (Fournier ve ark 2001, Hunt ve ark 2002, Josephson ve ark 2002). NgR'nin aracılık ettiği sinyal yolağı, aynı zamanda Trk nörotrofin reseptörleri ailesi için bir koreseptör görevi gören düşük afiniteli sinir büyüme faktörü reseptörü olan p75NTR ile ilişkisine bağlıdır (Satoh ve ark 2005). Ayrıca, NgR nakavt fareler, beyindeki iskemik inmeden sonra gelişmiş bir aksonal plastisite sergilemişlerdir. Bununla birlikte gelişmiş fonksiyonel iyileşme sağlamıştır (Lee ve ark 2004). Bu gözlemler, Nogo-A ve NgR etkileşiminin merkezi sinir sisteminde de patolojik koşullar altında

aksonal rejenerasyonun inhibisyonunda merkezi bir rol oynadığını düşündürmektedir (Sato ve ark 2005).

1.2.3. Miyelin Transkripsiyon Faktörü 1 (NZF2b/7ZFMyt1)

Canlıların gelişimi ve bağışıklık sisteminin gelişimi belirli bir hücre tipinin erken dönemlerinde ifade edilen transkripsiyon faktörleri tarafından kontrol altında tutulur. Bu durum sinir sistemi için de geçerlidir. Gelişmekte olan sinir sisteminde spesifik nöronların oluşumundan karmaşık farklılaşma programları boyunca transkripsiyon faktörlerinin rolü iyi bilinmektedir (Yee ve Victor 1998).

Çinko parmaklar, işlevsel yapılarını aktive etmek için en az bir çinko iyonundan oluşan ve ökaryotik transkripsiyon faktörlerinde en sık kullanılan DNA bağlama motiflerini temsil eden küçük protein alanları grubudur (Kanakoglou ve ark 2022). Beyin gelişimi ve homeostazisi büyük ölçüde kontrollü hücre farklılaşmasına dayanır. Nöral kök hücreler sırasıyla nöronlara ve glial hücrelere, astrositlere ve oligodendrositlere dönüşürler. Terminal olarak farklılaşmış nöronlar ve gliyal hücreler, tüm beyin aktiviteleri için kritik öneme sahiptir. Bu nedenle farklılaşma sürecinin sıkı kontrolünün sağlanması gerekir (Al-Naama ve ark 2020).

Nöral çinko parmak proteinleri (NZF'ler), bir C2HC tipi çinko parmak motifinin DNA bağlama alanlarına sahip transkripsiyon faktörleridir (Kim ve Hudson 1992, Jiang ve ark 1996, Yee ve Victor 1998). Nöral spesifik çinko parmak faktörü 1 (NZF-1) ve NZF-2 olarak da bilinen miyelin transkripsiyon faktörü 1 (MyT1) olmak üzere iki çinko parmak proteini tanımlanmıştır. Bunlar sırası ile β -retinoik asit reseptörü ve miyelin proteolipid protein genlerinin promotöründe bulunan cis-düzenleyici elementine bağlanmaktadır (Kim ve Hudson 1992, Jiang ve ark 1996). MyT1, özellikle oligodendrositlerde fibroblastların nöronlara farklılaşmasında rol oynar. Nöronal gelişimde önemli bir rol oynayan embriyogenez sırasında yoğun bir şekilde ifade edilir (Manukyan ve ark 2018).

NZF-2/Myt1 iki izoformdan oluşur. Bunlardan bir tanesi insan ve farenin 20. kromozomunda yer alan ve düşük seviyelerde ifade edilen ifade edilen NZF-2a/Myt1 (6-çinko parmak formu) dir. Diğeri ise insan ve farenin 2. kromozomunda yer alan ve yüksek seviyelerde ifade edilen NZF-2b/7ZFMyt1 (7-çinko parmak formu) dir (Nagase ve ark 1998, Kikuno ve ark 1999, Deloukas ve ark 2001, Matsushita ve ark

2002, Nielsen ve ark 2004). 7 çinko parmak Miyelin Transkripsiyon Faktörü-1 (7ZFMyt1) olarak da adlandırılan NZF2b hem nöronlarda hem de proteolipid proteinlerinin miyeline özgü gen ekspresyonunu kararlı bir şekilde düzenler ve oligodendrositlerde ifade edilir (Kim ve Hudson 1992, Strausberg ve ark 2003, Nielsen ve ark 2004). NZF2b/7ZFMyt1, ağırlıklı olarak gelişmekte olan merkezi sinir sisteminde ifade edilir. Bu protein üç çinko parmak geninden [Myt1, Myt1L (Myt1-Like) ve NZF3] oluşan nöral spesifik transkripsiyon faktörü gen ailesinin bir üyesidir (Kim ve Hudson 1992, Armstrong ve ark 1995, Kim ve ark 1997, Strausberg ve ark 2003). Hem Myt1 hem de Myt1L proteinleri, nöronal ve oligodendrosit çekirdeklerinde farklı alanlarda bulunur (Armstrong ve ark 1995, Kim ve ark 1997). Bu çinko parmak proteinlerinin anormal ekspresyonu ve yanlış düzenlenmesi sonucunda sendromal zihinsel engellilik, şizofreni ve periventriküler lösemi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Kim ve ark 1997, Hirayama ve ark 2003, Stevens ve ark 2011).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulunun 28.02.2020 tarih ve 2020-8 karar numaralı etik kurul izni ile yapıldı (Bkz. EK A). Hayvan uygulama deneyleri Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde, moleküler analiz aşamaları ise Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Moleküler Fizyoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi.

2.1. Hayvan Materyali ve Gruplar

Çalışmada Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden elde edilen Wistar cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Erkek sıçanların 30 tanesi maternal çinko eksikliği oluşturulan 15 anne sıçandan, 10 tanesi de standart sıçan yemiyle beslenen 5 adet anne sıçandan elde edildi. Tüm sıçanların yem ve su ihtiyaçları ad libitum olarak giderildi. Normal diyetle beslenen sıçanların yemi Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama merkezinden temin edildi. Bu diyetteki rasyonun bileşimi; %89 kuru madde, %21 ham protein (hp), en fazla %5 selüloz, en fazla %10 kül, %1-2 kalsiyum, %0,5-1 fosfat, %0,5 sodyum klorür, 2850 kcal/kg metabolik enerji (ME) şeklinde oldu. Çinko eksik diyetle beslenen sıçanların yemleri ise Arden Araştırma ve Deney firmasından (Ankara-Türkiye) ticari olarak satın alındı.

2.1.1. Hayvan Materyali

Çalışmada kullanılacak olan Wistar cinsi erkek sıçanların elde edilmesi için aşağıdaki protokol uygulandı;

Çinko eksik diyetle beslenen deney grupları için 15 adet erişkin dişi sıçan ve normal diyetle beslenen anne grubu için 5 adet erişkin dişi sıçan rastgele seçildi. Sıçanlar çiftleşmesi ve gebelik oluşturulması harem usulü yoluyla gerçekleştirildi. Yaklaşık 10 gün sonra erkek sıçanlar kafeslerden ayrıldı. Daha sonra dişiler sabah saat 8:00 ve akşam 17:00 saatlerinde olmak üzere günde 2 defa gebelik açısından kontrol edildi. Gebelik vajinal plağın (embriyonik gün 0) varlığı ile saptandı.

2.1.2. Deney Grupları

Gebeliği saptanan 15 adet dişi sıçan gebelik başlangıcından doğum sonrası yavrularından ayrılacakları 21. güne kadar çinko eksik (28,20 ug/kg çinko) diyetle beslendi. Yine gebeliği saptanan 5 adet dişi sıçan gebelik başlangıcından doğum sonrası yavrularından ayrılacakları 21. güne kadar standart sıçan yemiyle beslendi. Yavru erkek sıçanlar (21 günlük) annelerinden ayrıldıktan sonra aşağıdaki şekilde gruplara ayrıldı (Hellemans ve ark 2004);

Grup 1 (n=10) Çinko eksik diyetle beslenen grup: Çinko eksik diyetle beslenen annelerinden ayrıldıktan sonra, cinsel deneyimi olmayan zamana (66 günlük) kadar yine çinko eksik diyetle beslenen erkek yavrulardan oluşturulan grup.

Grup 2 (n=10) Normal diyetle beslenen grup: Çinko eksik diyetle beslenen annelerinden ayrıldıktan sonra, cinsel deneyimi olmayan zamana (66 günlük) kadar standart sıçan yemiyle beslenen erkek yavrulardan oluşturulan grup.

Grup 3 (n=10) Çinko takviyeli diyetle beslenen grup: Çinko eksik diyetle beslenen annelerinden ayrıldıktan sonra, standart sıçan yemine ilave olarak cinsel deneyimi olmayan zamana (66 günlük) kadar çinko takviyeli (5 mg/kg/gün intraperitoneal çinko sülfat) diyetle beslenen erkek yavrulardan oluşturulan grup.

Grup 4 (n=10) Kontrol grubu: Bu grubu oluşturan sıçanlar normal diyetle beslenen annelerden doğan yavrular arasından rastgele olarak seçilmiştir. Bu grubu oluşturan hayvanlar standart sıçan yemiyle beslenmiş, cinsel deneyimi olmayan (66 günlük) erkek sıçanlardan oluşturuldu.

2.2. Hipokampus Dokusunun Elde edilmesi

Genel anestezi altında hayvanlar sakrifiye edildikten hemen sonra makasla foramen magnum'u açığa çıkarmak için kafatası üzerindeki deri ve kas tabakaları ayrıldı. Daha sonra makasın bir ucu Foramen magnum'un içinden sokularak (sağlı ve sollu olarak) beyine dokunulmadan kafatası kemiği kesildi. Kesilen kemik bir pens yardımıyla kaldırılarak beyin, foramen magnum'un alt tarafından ucu künt bir pens ile sinir bağlantıları kesilerek bulunduğu yerden çıkartıldı. Zaman kaybetmeden

beynin sağ ve sol hipokampus bölgesi sıvı azot içerisine alınarak, Real-Time qPCR analizlerine kadar -80°C’de muhafaza edildi.

2.3. Real-Time qPCR Analizi

2.3.1. Hipokampus Dokusundan RNA İzolasyonu

Real-Time qPCR analizi ile Nogo-A, Ng-R, p75-NTR, 2b/7ZFMyt1 genlerinin ifadesinin belirlenmesi için öncelikle hazır ticari kit (Bio Basic; Kanada) kullanılarak total RNA izole edildi.

Hipokampus dokusundan 25-50 mg alındı ve 1 ml lizis buffer (miRNAExtractor) ilave edilerek buz üzerinde bir homojenizatör (SONOPULSmini20, BANDELİN; Almanya) kullanılarak parçalanması sağlandı. Homojenizasyon sonrasında, örneklerin tamamen parçalandığından emin olmak için oda sıcaklığında 5-10 dakika bekletildi. Tamamen parçalanmayan örnekler yeniden homojenize edildi. Ardından 30 saniye vortekslenerek 0,2 ml (200 µl) kloroform eklendi. Bu işlemin ardından kit kılavuzunda belirtildiği gibi 4°C’de 10 dakika boyunca 12000×g’de santrifüj edildi. Santrifüjleme sonunda süpernatant temiz bir RNaz içermeyen santrifüj tüpüne aktarıldı. Üzerine 1,5 hacimde %100 etanol ilave edildi ve homojen hale gelmesi için pipet yardımı ile iyice karıştırıldı. Elde edilen çözelti kit içerisinde bulunan Spin Kolonuna aktarıldı ve 12000×g’de 2 dakika santrifüj edildi. Böylece nükleik asit molekülü kolona sabitlendi. Spin Kolona 0,5 ml RPE solüsyonu eklendi. Ardından 30 saniye boyunca 12000×g’de santrifüj edildi. Bu işlem birkaç kez tekrar edildi. Daha sonra yeni bir santrifüj tüpüne kolon yerleştirildi. Üzerine 50 µl RNaz içermeyen su eklendi ve 2 dakika süre ile bekletildi. Ardından 30 saniye boyunca 12000×g’de santrifüj edildi. Elde edilen RNA çözeltisi -20°C’de saklandı.

Elde edilen RNA’ların miktarı ve saflığını belirlemek için nanodrop (SMA 1000, Merinton, China) kullanıldı. Bu aşamada optik dansitelerinden hareketle (OD260/280) OD260/280 oranı hesaplanarak, elde edilen değerlerden 1,9 ve üzerinde olan RNA’lar çalışmada kullanıldı.

Ayrıca RNA’ların kullanılabilir olup olmadığı %1’lik agaroz jelde yürütülerek ve spesifik 18S ve 28S bantları görülerek belirlendi. Ardından cDNA

sentezine geçildi. cDNA işlemine kadar elde edilen total RNA'lar -80°C'de saklandı.

2.3.2. cDNA'ların Elde Edilmesi

Elde edilen total RNA içerisindeki mRNA'yı cDNA'ya dönüştürmek için hazır ticari kit (OneScript Plus, ABM; Canada) kullanıldı ve her bir örnekten eşit miktarda RNA alınarak üretici firmanın önerdiği protokole belirtilen basamaklar sırası ile uygulandı. Öncelikle Tablo 2.1' de belirtildiği gibi RNA-primer karışımı hazırlanarak 65°C'de 5 dakika süreyle inkübe edilerek denatüre edildi. Ardından tüpler buz üzerine alındı.

Tablo 2.1. mRNA'dan cDNA elde etmek için uygulanan RNA-primer karışımı

Bileşim	Miktar
Total RNA	25ng
Random Primer	1 µl
10mM dNTP mix	1 µl
RNAse içermeyen su	2,5 µl

Buz üzerinde bekletilen numunelere eklenmek üzere Tablo 2.2'de belirtildiği gibi cDNA sentez karışımı hazırlandı. Her bir örnek için 10 µl bu karışımdan alınıp RNA-primer karışımı üzerine ilave edildi. Her bir numune dikkatlice karıştırıldıktan sonra Thermal Cycler (Biorad, ABD) cihazına alındı ve revers transkripsiyon programı çalıştırıldı. Bu program öncelikle 25°C'de 10 dakika primer bağlanması, ardından 50°C'de 50 dakika cDNA sentezi ve ardından 85°C'de 5 dakika denatürasyon ve +4°C'de bekleme basamağını içermektedir. Elde edilen cDNA %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi ve qPCR gerçekleştirilinceye kadar -20°C'de saklandı.

Tablo 2.2. mRNA'dan cDNA elde etmek için uygulanan cDNA sentez karışımı

Bileşim	Miktar
RT buffer	4 µl
Rinhibitor	0,5 µl
OneScriptRT	1 µl

2.3.3. Genlerin İfade Düzeylerinin Belirlenmesi

Real-Time qPCR reaksiyonları hazırlanırken, hipokampus dokusunda standart eğrilerin çizilebilmesi amacıyla herhangi bir uygulama yapılmayan (Kontrol grubu) dokulardan elde edilen cDNA örneğinden 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 ve 1/32 oranlarında seri dilüsyonlar hazırlandı. PCR reaksiyonları yapılarak standart eğriler çizildi. Ayrıca primerin uygun sıcaklıkta bağlanabilmesi için sıcaklık aralıkları denenerek standardizasyon yapıldı.

Hedef genlerin mRNA düzeyinde ekspresyon analizi için kullanılan primer setleri her bir transkripsiyon analizi için spesifik olup kullanılacak olan primer dizileri referans makalelerinden alındı (Tablo 2.3). Bu belirlenen primerler, üretici firmada (Sentebiolab, Türkiye) sentezi yaptırılarak elde edildi. Kontrol olarak GAPDH geni (housekeeping gene) kullanıldı. Çalışmada kullanılan primerlerden her bir reaksiyonda yaklaşık 50 ng olacak şekilde kullanıldı.

Tablo 2.3. Gerçek zamanlı qPCR için kullanılan primerler

Gen	Primer dizisi	Referans
p75-NTR	İleri: 5'-CCTGCCTGGACAGTGTTACA-3' Geri: 5'-GCCAAGATGGAGCAATAGAC-3'	(Miki ve ark 2014)
Ng-R	İleri: 5'-ATCTTCCTGCACGGCAACCGAAT-3' Geri: 5'-AGAGGTTGTTGGCAAACAGGTAG-3'	(Miki ve ark 2014)
NOGO-A	İleri: 5'- TCAAAGGTGACTGAGGCAGC-3' Geri: 5'- ACTGGGCTGCACTACAGA-3'	(Wu ve ark 2012)
NZF2b/7Z FMyt1	İleri: 5'-GCA GAC CTC AGT TGT CCT ACC-3' Geri: 5'-CTT GGA TAC CAG GTG CTC AG-3'	(Chandrasekar ve Dreyer 2010)
GAPDH	İleri: 5'- GGGCCAAAAGGGTCATCATC-3' Geri: 5'- AACCTGGTCCTCAGTGTAGC-3'	(Wu ve ark 2012)

qPCR reaksiyonları için hazır ticari kit (FastStart Essential DNA Green Master, İsviçre) kullanıldı. Reaksiyonlar toplamda 20 µl hacimde uygulandı. Reaksiyon içeriği 10 µl Master mix karışımı (Enzim, dNTP, Mg, tampon ve su), 1 µl cDNA, 1 µl ileri ve 1 µl geri primerler (10 pmol/µl) ve 7 µl RNase içermeyen su şeklide hazırlandı.

Primerlerin optimizasyonu sonrası PCR şartları; ilk denatürasyon, 95°C’de 10 dakika, denatürasyon 95°C’de 10 saniye, bağlanma 60°C’de 10 saniye ve polimerizasyon 70°C’de 10 saniye olarak gerçekleştirildi ve döngü sayısı 45 olarak yapıldı. Melting curve analizi, 95°C’de 15 saniye, 60°C’de 10 saniye, 95°C’de 10 saniye olmak üzere 1 döngü şeklinde yapıldı. Tüm reaksiyonlar CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, Amerika) cihazında gerçekleştirildi.

2.4. İstatistiksel Değerlendirmeler

qPCR analizinin sonuçları Livak ve Schmittgen (2001)’in geliştirmiş oldukları $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen verilen istatistiksel açıdan yorumlanması SPSS 26.0 bilgisayar paket programı ile yapıldı. Bütün parametrelerin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı. Verilerin homojenliğinin belirlenmesi amacıyla “Shapiro-Wilk” testi yapıldı ve verilerin normal dağılım gösterip göstermediği belirlendi. Gruplar arasındaki farkın tespitinde “Kruskal-Wallis” testi, farklılıklarının hangi gruptan kaynaklandığının belirlenmesi için ise ikili karşılaştırma testlerinden olan “Mann-Whitney U” testi kullanıldı. $P < 0,05$ düzeyindeki farklılıklar anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Bu çalışmada kullanılan hayvan gruplarına ait hipokampus dokularının Nogo-A, Ng-R, p75-NTR ve NZF2b/7ZFMyl1 genlerinin ifade düzeyleri Real-Time qPCR kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin normalizasyonu için referans gen olarak GAPDH geni kullanılmıştır.

3.1. Nörotrofin Reseptörü (p75-NTR) Gen İfadesi Bulguları

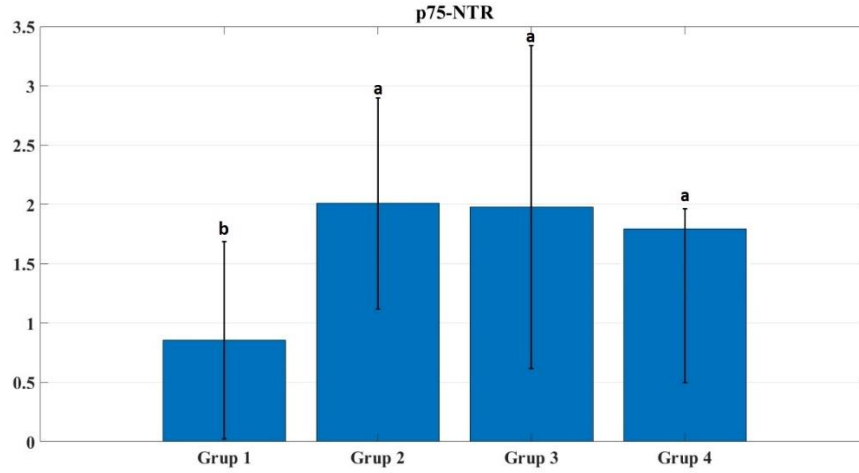
Beyin gelişiminde ve nöron aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynayan yolakta yer alan p75-NTR geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi ile çinko durumu arasındaki ilişki Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. p75-NTR geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi

Gruplar	N	p75-NTR (Ortalama±SS)
Grup 1 (Çinko eksik diyet)	10	0,85±0,83 ^b
Grup 2 (Normal diyet)	10	2,00±0,89 ^a
Grup 3 (Çinko takviyesi)	10	1,97±1,36 ^a
Grup 4 (Kontrol)	10	1,83±0,73 ^a

a,b,c: Aynı sütunda değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık önemlidir (P<0,05).

Elde edilen verilere göre kontrol grubuna (Grup 4) kıyasla çinko eksik diyetle beslenen grupta (Grup 1) p75-NTR geninin ifade düzeyi oldukça azalmıştır (P<0,05). Maternal çinko eksikliği oluşturulan annelerden doğan ve devamında standart sıçan yeni ile beslenen Grup 2 ve çinko desteği alan Grup 3’ün aynı parametreleri Grup1’den yüksek (P<0,05), kontrol grubundan (Grup 4) farklı değildi (Tablo 3.1, Şekil 3.1)



Şekil 3.1. p75-NTR geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi

3.2. Nogo Reseptör (Ng-R) Gen İfadesi Bulguları

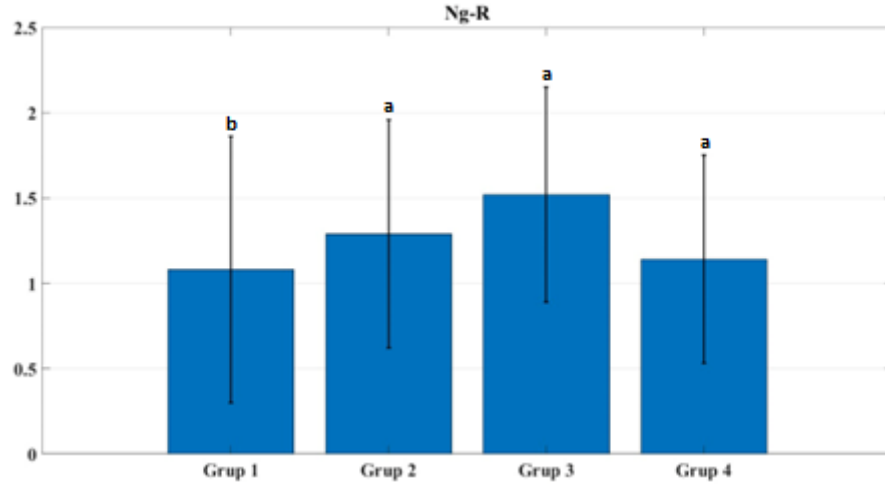
Beyin gelişiminde ve nöron aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynayan yolakta yer alan Ng-R geninin hipokampus dokusundaki ekspresyon seviyeleri Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Ng-R geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi

Gruplar	N	Ng-R (Ortalama±SS)
Grup 1 (Çinko eksik diyet)	10	1,08±0,78 ^b
Grup 2 (Normal diyet)	10	1,29±0,67 ^a
Grup 3 (Çinko takviyesi)	10	1,52±0,63 ^a
Grup 4 (Kontrol)	10	1,14±0,61 ^a

a,b,c: Aynı sütunda değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık önemlidir (P<0,05).

Elde edilen verilere göre Grup 4’e kıyasla Grup 1’in Ng-R geninin ifade düzeyi oldukça azalmıştır (P<0,05). Çinko eksikliğinde azalan Ng-R gen ifadesi hem standart sıçan yemi ile beslenen Grup 2 ve hem de çinko desteği alan Grup 3’te kontrol (Grup 4) düzeylerine ulaşmıştır (Tablo 3.2., Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Ng-R geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi

3.3. Nogo-A Gen İfadesi Bulguları

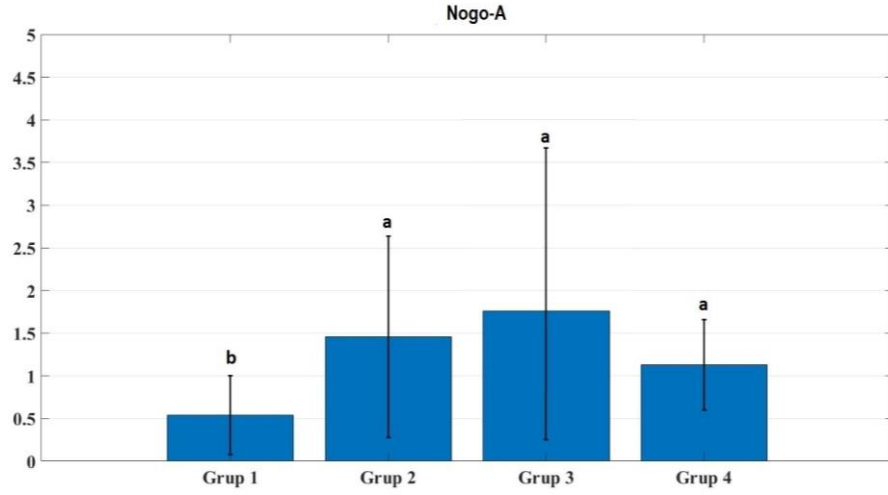
Beyin gelişiminde ve nöron aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynayan yolakta yer alan Nogo-A geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi ile çinko durumu arasındaki ilişki etkisi Tablo 3.3’de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. Nogo-A geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi

Gruplar	N	Nogo A (Ortalama±SS)
Grup 1 (Çinko eksik diyet)	10	0,54±0,46 ^b
Grup 2 (Normal diyet)	10	1,46±1,18 ^a
Grup 3 (Çinko takviyesi)	10	1,76±1,91 ^a
Grup 4 (Kontrol)	10	1,13±0,53 ^a

a,b,c: Aynı sütunda değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık önemlidir (P<0,05).

Çalışmamızın sonuçları çinko eksikliğinin hipokampal Nogo-A gen ekspresyon seviyelerinde diğer grupların tamamına oranla önemli şekilde baskılanmaya yol açtığını göstermektedir (P<0,05). Çinko eksikliğinde baskılanan hipokampal Nogo-A gen ifadesi hem standart sıçan yemi (Grup 2) ile hem de çinko desteğiyle (Grup 3) kontrol değerlerine (Grup 4) ulaşmıştır (Tablo 3.3., Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Nogo-A geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi

3.4. 2b/7ZFMyt1 Gen İfadesi Bulguları

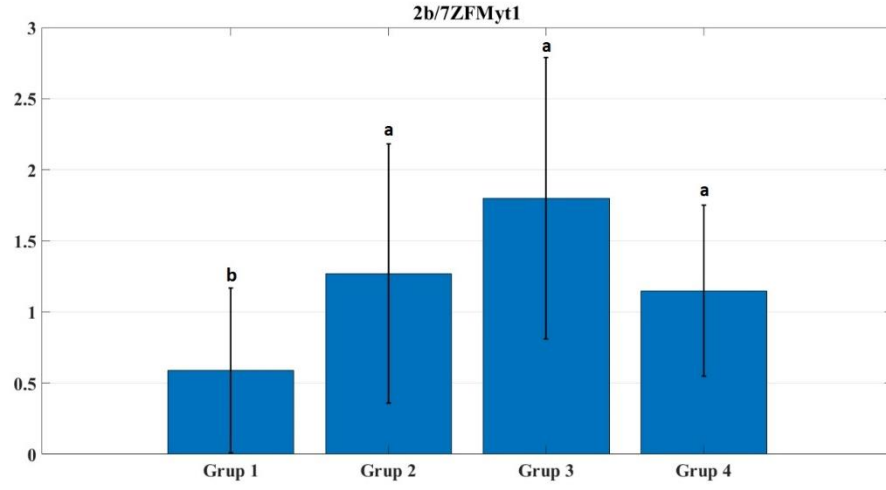
Beyin gelişiminde ve nöron aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynayan yolakta yer alan Ng-R geninin hipokampus dokusundaki ekspresyon seviyeleri Tablo 3.4’de gösterilmiştir.

Tablo 3.4. 2b/7ZFMyt1 geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi

Gruplar	N	2b/7ZFMyt1 (Ortalama±SS)
Grup 1 (Çinko eksik diyet)	10	0,59±0,58 ^b
Grup 2 (Normal diyet)	10	1,27±0,91 ^a
Grup 3 (Çinko takviyesi)	10	1,80±0,99 ^a
Grup 4 (Kontrol)	10	1,15±0,60 ^a

a,b,c: Aynı sütunda değişik harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık önemlidir ($P < 0,05$).

Çinko eksik diyetle beslenen Grup 1’in hipokampal 2b/7ZFMyt1 gen ekspresyon seviyeleri diğer grupların tamamıyla mukayese edildiğinde anlamlı şekilde baskılanmıştır ($P < 0,05$). Grup 2, Grup 3 ve Grup 4’ün hipokampal 2b/7ZFMyt1 gen ifadeleri arasında önemli bir farklılık yoktu (Tablo 3.3., Şekil 3.3.).



Şekil 3.4. 2b/7ZFMyt1 geninin hipokampus dokusundaki ifade düzeyi

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada çinko eksik diyetle beslenen gebe sıçanların erkek yavrularının hipokampus dokusunda, çinko eksikliği ve uygulamasının beyin gelişimindeki yolaklarda etkili olan bazı genlerin ifade düzeyleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Çinko, beyin fonksiyonunda yer alan en yaygın ve temel elementlerden biridir. Çinko içeren nöronlar, korteks, amigdala, koku soğanı ve hipokampal nöronlar dahil olmak üzere beynin çeşitli bölgelerinde bulunur. Bu element enzimlerin, proteinlerin ve sinyal transkripsiyon faktörlerinin biyolojik aktivitesinde ve ayrıca histon deasetilazlar ve DNA ligazlar, DNA ve RNA polimerazlar gibi çeşitli enzimler için yapısal, düzenleyici ve katalitik kofaktörler olarak hareket eden çeşitli homeostatik mekanizmaların korunmasında yer almıştır. Ayrıca hücre büyümesi ve genomik stabilite için de önemlidir (Corniola ve ark 2008, Gao ve ark 2009, Suh ve ark 2009, Adamo ve Oteiza 2010, Moon ve ark 2018). Bu nedenle bir nöromodülatör olarak çinko, beyin dokusunda çeşitli fizyolojik işlevleri yerine getirir (Choi ve ark 2020).

4.1. Nörotrofin Reseptörü (p75-NTR) Gen İfadesi Bulgularının Tartışılması

Nörotrofinlerin öncü formları düşük bir afiniteye sahip olan p75 nörotrofin reseptörü (p75-NTR) için güçlü ligandlardır ve apoptozu indükler. Bu reseptör intrinsik tirozin kinaz aktivitesine sahip değildir, bunun yerine aşağı etkileri için Trk'lar, Nogo ve miyelinle ilişkili glikoprotein (MAG) dahil olmak üzere diğer transmembran proteinleri ile birleşir (Sajanti ve ark 2020).

p75-NTR, pro-apoptozu içeren c-Jun N-terminal kinaz (JNK) yolağını, NFκB, PI3K-AKT ve Ras/mitojenle aktive olan protein kinaz dahil olmak üzere hayatta kalma yolağını ve hücre iskeletini ve hücre yenilenmesini modüle eden RhoA/Rho kinazı yolağını içeren tüm hücre içi sinyalizasyonunu aktive edebilir (Geerts 2007).

NGF'nin embriyonik civciv retinası üzerindeki proapoptotik etkileri üzerine yapılan birkaç çalışmada NGF'nin p75-NTR'ye bağlanma yoluyla apoptoza aracılık

ettiği hücrelerde yüksek afinite ile reseptörüne bağlandığını ve çinkonun NGF konformasyonunu değiştirdiği, TrkA aracılı hayatta kalma fonksiyonlarını etkilediğini ve proapoptotik aktiviteleri de zayıflattığını bildirmişlerdir (María Frade ve ark 1996, Ross ve ark 1997, Frade ve Barde 1998, Wang ve ark 1999, Allington ve ark 2001). Ayrıca gelişen sinir sisteminde hücre ölümüne aracılık etmede p75-NTR'nin önemli bir rolü sempatik nöronlarda (Bamji ve ark 1998) ve bazal ön beyin kolinerjik nöronlarında (Naumann ve ark 2002) da gösterilmiştir.

Ross ve ark (1997) ve Maitra ve ark (2000) tarafından yapılan reseptör bağlama ve konformasyonel analizin birleştirilmesi ile ilgili modelleme çalışmaları, iki değerlikli metal katyonlarının nörotrofin sinyalini engellediğini doğrulamış, çinkonun NGF inhibisyonu bağlamında belki de en iyi karakterize edilen metal olduğu bildirilmiştir. Ayrıca çinkonun yaklaşık 50 μ M konsantrasyonunun TrkA veya p75NTR'ye NGF bağlanmasını engellediği de gösterilmiştir (Maitra ve ark 2000). Bu çalışma ile uyumlu olarak civciv nöral retina kültürü ortamına 100 μ M çinko eklenmesinin NGF/p75-NTR aracılı sinyalleşmeyi inhibe ettiği belirlenmiştir (Allington ve ark 2001). Bu tez çalışmasında p75-NTR geninin baskılanmış yüksek ifade düzeyi maternal çinko eksikliği oluşturulduktan sonra çinko eksik diyetle beslenen grupta (Grup 1) belirlenmiştir. Maternal çinko eksikliği oluşturulduktan standart sıçan yemiyle beslenen (Grup 2) ile yine maternal çinko eksikliği oluşturulduktan sonra ilave çinko takviyesi yapılan grubun (Grup 3) hipokampal p75-NTR gen ifadesi düzeyi kontrol grubunun (Grup 4) seviyelerine ulaşmıştır. Mevcut çalışmada elde edilen bulgular çinko eksikliğinde önemli şekilde baskılanan hipokampal p75-NTR gen ifadesinin 66 günlük standart sıçan yemiyle ve/veya çinko desteğiyle kontrol değerlerine ulaştığını göstermektedir. Çinkonun hipokampal p75-NTR gen ifadesi üzerine etkisi doz bağımlı olabilir ve yukarıda sunulan araştırmacıların bulgularıyla da paralellik gösterir.

4.2. Nogo Reseptör (Ng-R) ve Nogo-A Gen İfadesi Bulgularının Tartışılması

Nogo ve Ng-R genlerinin tümü, embriyonik gelişim sırasında ilk ifade edilen genlerdir. Nogo transkriptleri birçok nöral ve nöral olmayan dokuda ifade edilirken, Ng-R ise sadece sinir sistemi ile sınırlıdır (Escandon ve Chao 1989).

Zebra balığı üzerinde yapılan bir çalışmada araştırmacılar Nogo/NgR'nin periferik sinir sistemi gelişimi sırasında akson büyümesinde ve bellek performansı

üzerinde etkili olduğunu göstermişlerdir (Brösamle ve Halpern 2009). Memelilerde, Nogo sinyali üzerine yapılan çalışmaların çoğu, yetişkin merkezi sinir sistemindeki rejenerasyon ve plastisitedeki rolü üzerinde odaklanılmıştır. Gelişim esnasında ise Nogo sinyalinin işlevleri hakkında çok az şey bilinmektedir. Farelerle yapılan birkaç çalışmada Nogo veya Ng-R yönünden homozigot mutant olan yetişkin farelerin genel sinir sistemi anatomisinin normal olduğu ve fertil olduğu belirlenmiştir (Simonen ve ark 2003, Zheng ve ark 2003). Ancak Kim ve ark (2003) ve Kim ve ark (2004) yaptıkları çalışmada Nogo-A/B ve Ng-R eksikliği olan farelerin daha az aktif olduğunu ve açık bir alanın merkezinde daha az zaman harcadıklarını, genellikle artan bir kaygı seviyesinin bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Ng-R nakavt farelerin motor kusurlarının olduğu da belirlenmiştir. Bu bulgular, adaptif mekanizmalar yoluyla kısmen telafi edilen ancak henüz tanımlanamayan gelişimsel kusurların olabileceğini düşündürülebilir. Alzheimer hastalığında Nogo-A'nın gen ekspresyonu ifadesini ayrıntılı olarak incelendiği başka bir çalışmada bu genin hipokampus dokusunda aşırı şekilde ifade edildiği ve özellikle bu hastalığın başlamasında temel etken olarak bilinen A β oluşumunu düzenlediği bildirilmiştir (Gil ve ark 2006).

Ng-R ve Nogo-A ile çinko ilişkisini net araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak nöronal hücrelerde NgR'nin düzenlenmesinde yer alan potansiyel yolları belirlemek için insan nöroblastom hücrelerinde ifade edilen NgR'nin, bir çinko metalloproteinazın etkisiyle proteolitik olarak işlendiği gösterilmiştir. Ayrıca Ng-R'nin kendine özgü ligandını bağlamada yeterli olduğu ancak NgR yardımcı reseptörü olan p75-NTR'yi bağlayamadığı da belirlenmiştir. (Walmsley ve ark 2004).

Bu tez çalışmasında hem Nogo-A hem de Ng-R genlerine ait en düşük ifade düzeyi maternal çinko eksikliği oluşturulduktan sonra çinko eksik diyetle beslenen grupta (Grup 1) elde ettik. Maternal çinko eksikliği oluşturulduktan sonra normal diyetle (Grup 2) ve/veya çinko uygulaması (Grup 3), baskılanan hipokampal Nogo-A ile Ng-R gen ekspresyon seviyelerini kontrol grubu (Grup 4) değerlerine ulaştırmıştır. Mevcut çalışmada elde edilen bulgular çinko durumunun hipokampal Nogo-A ve Ng-R gen ifadeleri üzerine kritik etkileri olduğunu göstermektedir. Yapılan bu çalışma nörogelişimsel, nörodejenerasyon ve nöroplastite de rol oynayan

hipokampal Nogo-A ve Ng-R gen ifadesiyle ile çinko arasındaki ilişkisini konu alan ilk çalışmadır.

4.3. 2b/7ZFMyt1 Gen İfadesi Bulgularının Tartışılması

Miyelin transkripsiyon faktörü 1 (Myt1), nöronal öncül hücrelerde ve olgun nöronların bazı alt popülasyonlarında bulunur (Bellefroid ve ark 1996, Kim ve ark 1997). Bununla birlikte gelişen oligodendrositlerde de ifade edildiği bildirilmiş bir çinko parmak DNA bağlayıcı proteindir (Armstrong ve ark 1995). Farenin 2. kromozomunda yer aldığı için NZF-2b/7ZFMyt1 olarak adlandırılan miyelin transkripsiyon faktörü ile sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Chandrasekar ve Dreyer (2010) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada NZF2b/7ZFMyt1'in kronik kokain uygulamasından sonra beyin ödül yolunda önemli ölçüde indüklendiği gösterilmiştir ve kokainin lokomotor etkilerini düzenlemede önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmüştür. Bu çalışmanın devamı olarak yapılan başka bir çalışmada araştırmacılar beyindeki bağımlılık ve haz ile ilgili yolların kesişimi olan nucleus accumbens'de NZF-2b/7ZFMyt1 aşırı ekspresyonunun, kokainin kendi kendini yönetmesi önemli ölçüde engellediğini, buna karşın NZF-2b/7ZFMyt1'in susturulmasının ise kokainin kendi kendine uygulama motivasyonunu arttırdığını göstermişlerdir (Chandrasekar ve Dreyer 2010).

NZF-2b/7ZFMyt1 geni ve çinko ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamış olup, bu konu ile ilgili ilk rapor bu tez çalışması ile sunulmaktadır. Bu çalışmada elde edilen verilere göre, NZF-2b/7ZFMyt1 geninin en düşük ifade düzeyi maternal çinko eksikliği oluşturulduktan sonra çinko eksik diyetle beslenen grupta (Grup 1) elde edildi. Çinko eksikliğinde bastırılan hipokampal NZF-2b/7ZFMyt1 gen ifadesi hem standart sıçan yemiyle (Grup 2) hem de çinko uygulamasıyla (Grup 3) geriye dönmüştür. Bu verilere göre hipokampal NZF-2b/7ZFMyt1 gen ifadesi ile çinko durumu arasında kritik bir ilişkinin olduğu söylenebilir. Mevcut çalışmada; beyin gelişimi ile ilgili moleküler yollardaki etkileri düşünüldüğünde hipokampal NZF-2b/7ZFMyt1 gen ifadesinin çinko eksikliğinde önemli şekilde baskılandığının ortaya konulması oldukça kritik bir bulgudur.

Çalışmamızın sonuçları çinko eksikliğinin Nogo-A, Ng-R, p75-NTR ve 2b/7ZFMyt1 gen ifade düzeylerinde önemli bir baskılanmaya yol açtığını

göstermektedir. Bu çalışma çinko durumu ile hipokampal Nogo-A, Ng-R, p75-NTR ve 2b/7ZFMyt1 gen ekspresyonu arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışmadır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasının verileri bir bütün olarak değerlendirildiğinde;

1. Maternal çinko eksikliği oluşturulan annelerden doğan sıçanlarda çinko eksik diyetle beslemeye devam edildiğinde hipokampus dokusundaki Nogo-A, Ng-R, p75-NTR, 2b/7ZFMyt1 genlerinin ifade düzeyleri oldukça azaldı.

2. Maternal çinko eksikliği oluşturulan annelerden doğan sıçanlarda hem normal diyete geçilmesi hem de çinko uygulaması çinko eksikliğinde baskılanan hipokampal Nogo-A, Ng-R, p75-NTR, 2b/7ZFMyt1 gen ifadesini geriye çevirdi.

3. Bu tez çalışması çinko eksik diyetle beslenen annelerin yavrularının doğum sonrası çinko eksik, çinko takviyesi ve normal beslenme ile hipokampus dokusundaki beyin gelişimi ve nöron aktivitesi üzerinde etkili olan yolaklardaki bazı moleküllerin ifade düzeyinin belirlendiği ilk çalışmadır.

6. KAYNAKLAR

- Adamo AM, Oteiza PI, 2010. Zinc deficiency and neurodevelopment: the case of neurons. *Biofactors*, 36, 2, 117-24.
- Aimo L, Mackenzie G, Keenan A, Oteiza P, 2010 Gestational zinc deficiency affects the regulation of transcription factors AP-1, NF-kB and NFAT in fetal brain. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21, 11, 1069-75.
- Akdas S, Yazihan N, 2020. Cord blood zinc status effects on pregnancy outcomes and its relation with maternal serum zinc levels: a systematic review and meta-analysis. *World Journal of Pediatrics*, 16, 4, 366-76.
- Akdeniz V, Kınık Ö, Yerlikaya O, Ecem A, 2016. İnsan sağlığı ve beslenme fizyolojisi açısından çinkonun önemi. *Akademik Gıda*, 14, 3, 307-14.
- Al-Naama N, Mackeh R, Kino T, 2020. C2H2-type zinc finger proteins in brain development, neurodevelopmental, and other neuropsychiatric disorders: systematic literature-based analysis. *Frontiers in Neurology*, 32.
- Ali B, 1993. Kuru üzüm ve pekmezin insan sağlığı ve beslenmesi açısından önemi *GIDA*, 18, 5.
- Allington C, Shamovsky I, Ross G, Riopelle R, 2001. Zinc inhibits p75NTR-mediated apoptosis in chick neural retina. *Cell Death & Differentiation*, 8, 5, 451-6.
- Andreini C, Bertini I, 2012. A bioinformatics view of zinc enzymes. *Journal of inorganic biochemistry*, 111, 150-6.
- Armstrong DM, Brady R, Hersh LB, Hayes RC, Wiley RG, 1991. Expression of choline acetyltransferase and nerve growth factor receptor within hypoglossal motoneurons following nerve injury. *Journal of comparative neurology*, 304, 4, 596-607.
- Armstrong RC, Kim JG, Hudson LD, 1995. Expression of myelin transcription factor I (MyTI), a “zinc-finger” DNA-binding protein, in developing oligodendrocytes. *Glia*, 14, 4, 303-21.
- Babula P, Masarik M, Adam V, Eckschlager T, Stiborova M, Trnkova L, Skutkova H, Provaznik I, Hubalek J, Kizek R, 2012. Mammalian metallothioneins: properties and functions. *Metallomics*, 4, 8, 739-50.
- Bagum MA, Miyamoto O, Toyoshima T, Masada T, Nagahata S, Itano T, 2001. The contribution of low affinity NGF receptor (p75NGFR) to delayed neuronal death after ischemia in the gerbil hippocampus. *Acta medica Okayama*, 55, 1, 19-24.
- Baker SJ, Reddy EP, 1998. Modulation of life and death by the TNF receptor superfamily. *Oncogene*, 17, 25, 3261-70.
- Bamji SX, Majdan M, Pozniak CD, Belliveau DJ, Aloyz R, Kohn J, Causing CG, Miller FD, 1998. The p75 neurotrophin receptor mediates neuronal apoptosis and is essential for naturally occurring sympathetic neuron death. *The Journal of cell biology*, 140, 4, 911-23.
- Barceloux D, 1999. Zinc. *Clinical Toxicology*, 37, 279–92.
- Barton WA, Liu BP, Tzvetkova D, Jeffrey PD, Fournier AE, Sah D, Cate R, Strittmatter SM, Nikolov DB, 2003. Structure and axon outgrowth inhibitor binding of the Nogo-66 receptor and related proteins. *The EMBO journal*, 22, 13, 3291-302.

- Bassell GJ, Warren ST, 2008. Fragile X syndrome: loss of local mRNA regulation alters synaptic development and function. *Neuron*, 60, 2, 201-14.
- Becker K, Cana A, Baumgärtner W, Spitzbarth I, 2018. p75 neurotrophin receptor: a double-edged sword in pathology and regeneration of the central nervous system. *Veterinary pathology*, 55, 6, 786-801.
- Bellefroid EJ, Bourguignon C, Hollemann T, Ma Q, Anderson DJ, Kintner C, Pieler T, 1996. X-MyT1, a *Xenopus* C2HC-type zinc finger protein with a regulatory function in neuronal differentiation. *Cell*, 87, 7, 1191-202.
- Berardi N, Pizzorusso T, Ratto G, Maffei L, 2003. Molecular basis of plasticity in the visual cortex. *Trends in neurosciences*, 26, 7, 369-78.
- Beyersmann D, 2002. Homeostasis and cellular functions of zinc. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*, 33, 12, 764-9.
- Bhatnagar S, Taneja S, 2001. Zinc and cognitive development. *British journal of nutrition*, 85, S2, S139-S45.
- Bhowmik D, Chiranjib K, Kumar K, 2010. A potential medicinal importance of zinc in human health and chronic disease. *International Journal Of Pharmaceutical And Bio-Medical Science*, 1, 1, 05–11.
- Bibel M, Barde Y-A, 2000. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes & development*, 14, 23, 2919-37.
- Black RE, 2003. Zinc deficiency, infectious disease and mortality in the developing world. *The Journal of nutrition*, 133, 5, 1485S-9S.
- Borrie SC, Baeumer BE, Bandtlow CE, 2012. The Nogo-66 receptor family in the intact and diseased CNS. *Cell and tissue research*, 349, 1, 105-17.
- Bressler JP, Olivi L, Cheong JH, Kim Y, Maerten A, Bannon D, 2007. Metal transporters in intestine and brain: their involvement in metal-associated neurotoxicities. *Human & experimental toxicology*, 26, 3, 221-9.
- Brion LP, Heyne R, Lair CS, 2021. Role of zinc in neonatal growth and brain growth: review and scoping review. *Pediatric Research*, 89, 7, 1627-40.
- Brösamle C, Halpern ME, 2009. Nogo–Nogo receptor signalling in PNS axon outgrowth and pathfinding. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 40, 4, 401-9.
- Bulut H, 2016. Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu olan çocuklarda, nöroplastisite ve nöroprotektif süreçlerin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Batman Üniversitesi, Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Burdette SC, Lippard SJ, 2003. Meeting of the minds: metalloneurochemistry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 7, 3605-10.
- Caldwell D, Oberleas D, Clancy J, Prasad A, 1970. Behavioral impairment in adult rats following acute zinc deficiency. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 133, 4, 1417-21.
- Capasso M, Jeng J-M, Malavolta M, Mocchegiani E, Sensi SL, 2005. Zinc dyshomeostasis: a key modulator of neuronal injury. *Journal of Alzheimer's Disease*, 8, 2, 93-108.
- Caporali A, Emanuelli C, 2009. Cardiovascular actions of neurotrophins. *Physiological reviews*, 89, 1, 279-308.
- Casha S, Yu W, Fehlings M, 2001. Oligodendroglial apoptosis occurs along degenerating axons and is associated with FAS and p75 expression following spinal cord injury in the rat. *Neuroscience*, 103, 1, 203-18.
- Caulfield LE, Zavaleta N, Shankar AH, Merialdi M, 1998. Potential contribution of maternal zinc supplementation during pregnancy to maternal and child survival. *The American journal of clinical nutrition*, 68, 2, 499S-508S.

- Chandrasekar V, Dreyer J-L, 2010. The brain-specific Neural Zinc Finger transcription factor 2b (NZF-2b/7ZFMyl1) causes suppression of cocaine-induced locomotor activity. *Neurobiology of Disease*, 37, 1, 86-98.
- Chandrasekar V, Dreyer J-L, 2010. The brain-specific neural zinc finger transcription factor 2b (NZF-2b/7ZFMyl1) suppresses cocaine self-administration in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 4, 14.
- Chandrasekar V, Dreyer J-L, 2010. The brain-specific neural zinc finger transcription factor 2b (NZF-2b/7ZFMyl1) suppresses cocaine self-administration in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14.
- Chasapis CT, Loutsidou AC, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME, 2012. Zinc and human health: an update. *Archives of toxicology*, 86, 4, 521-34.
- Cho E, Hwang J-J, Han S-H, Chung SJ, Koh J-Y, Lee J-Y, 2010. Endogenous zinc mediates apoptotic programmed cell death in the developing brain. *Neurotoxicity research*, 17, 2, 156-66.
- Choi S, 2012. Regulation and function of P75NTR: cytokine mediated P75NTR regulation and its functional role, Phd, Rutgers University-Graduate School-Newark, Newark, New Jersey.
- Choi S, Hong DK, Choi BY, Suh SW, 2020. Zinc in the brain: Friend or foe? *International journal of molecular sciences*, 21, 23, 8941.
- Chowanadisai W, Kelleher S, Lonnerdal B, 2005. Maternal zinc deficiency reduces NMDA receptor expression in neonatal rat brain, which persists into early adulthood. *Journal of Neurochemistry*, 94, 510-9.
- Clementi S, 2014. Genetic rat manipulation as an efficient model to unravel the role of Nogo-A and Staufer 2 proteins in cognitive processes, Ruprecht-Karls University, Heidelberg, Germany.
- Colvin R, Fontaine C, Laskowski M, Thomas D, 2003. Zn²⁺ transporters and Zn²⁺ homeostasis in neurons. *European Journal of Pharmacology*, 479, 171-85.
- Coon H, Myles-Worsley M, Tiobech J, Hoff M, Rosenthal J, Bennett P, Reimherr F, Wender P, Dale P, Polloi A, Byerley W, 1998. Evidence for a chromosome 2p13-14 schizophrenia susceptibility locus in families from Palau, Micronesia. *Molecular psychiatry*, 3, 6, 521-7.
- Cope EC, Morris DR, Gower-Winter SD, Brownstein NC, Levenson CW, 2016. Effect of zinc supplementation on neuronal precursor proliferation in the rat hippocampus after traumatic brain injury. *Experimental Neurology*, 279, 96-103.
- Corniola RS, Tassabehji NM, Hare J, Sharma G, Levenson CW, 2008. Zinc deficiency impairs neuronal precursor cell proliferation and induces apoptosis via p53-mediated mechanisms. *Brain research*, 1237, 52-61.
- Delekate A, Zagrebelsky M, Kramer S, Schwab M, M K, 2011. NogoA restricts synaptic plasticity in the adult hippocampus on a fast time scale. . *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 6, 2569-74.
- Deloukas P, Matthews L, Ashurst J, Burton J, Gilbert J, Jones M, Stavrides G, Almeida J, Babbage A, Bagguley C, 2001. The DNA sequence and comparative analysis of human chromosome 20. *Nature*, 414, 6866, 865-72.
- Dixon LB, Winkleby MA, Radimer KL, 2001. Dietary intakes and serum nutrients differ between adults from food-insufficient and food-sufficient families: Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *The Journal of nutrition*, 131, 4, 1232-46.
- Donangelo CM, King JC, 2012. Maternal zinc intakes and homeostatic adjustments during pregnancy and lactation. *Nutrients*, 4, 7, 782-98.

- Duerre JA, Ford KM, Sandstead HH, 1977. Effect of zinc deficiency on protein synthesis in brain and liver of suckling rats. *The Journal of Nutrition*, 107, 6, 1082-93.
- Duncan J, Hurley L, 1978. Thymidine kinase and DNA polymerase activity in normal and zinc deficient developing rat embryos. *Experimental Biology and Medicine*, 159, 39-43.
- Dusart I, Morel M, Sotelo C, 1994. Parasagittal compartmentation of adult rat Purkinje cells expressing the low-affinity nerve growth factor receptor: changes of pattern expression after a traumatic lesion. *Neuroscience*, 63, 2, 351-6.
- Dvergsten C, Fosmire G, Ollerich D, Sandstead H, 1983. Alterations in the postnatal development of the cerebellar cortex due to zinc deficiency. I. Impaired acquisition of granule cells. *Brain Research* 271, 217-26.
- Dvergsten C, Fosmire G, Ollerich D, Sandstead H, 1984. Alterations in the postnatal development of the cerebellar cortex due to zinc deficiency. II. Impaired maturation of Purkinje cells. *Brain Research*, 318, 11-20.
- Dvergsten C, Johnson L, Sandstead H, 1984. Alterations in the postnatal development of the cerebellar cortex due to zinc deficiency. III. Impaired dendritic differentiation of basket and stellate cells. *Brain Research*, 318, 21-6.
- Eastwood SL, 2004. The synaptic pathology of schizophrenia: is aberrant neurodevelopment and plasticity to blame. *International Review of Neurobiology*, 59, 1, 47-72.
- Ervin RB, Kennedy-Stephenson J, 2002. Mineral intakes of elderly adult supplement and non-supplement users in the third national health and nutrition examination survey. *The Journal of nutrition*, 132, 11, 3422-7.
- Escandon E, Chao MV, 1989. Developmental expression of the chicken nerve growth factor receptor gene during brain morphogenesis. *Developmental Brain Research*, 47, 2, 187-96.
- Falchuk KH, 1998. The molecular basis for the role of zinc in developmental biology. *Molecular and cellular effects of nutrition on disease processes*, 41-8.
- Favier AE, 1992. The role of zinc in reproduction. *Biological trace element research*, 32, 1, 363-82.
- Flinn J, Hunter D, Linkous D, Lanzirotti A, Smith L, Brightwell J, Jones B, 2005. Enhanced zinc consumption causes memory deficits and increased brain levels of zinc. *Physiology & behavior*, 83, 5, 793-803.
- Floriańczyk B, Osuchowski J, Kaczmarczyk R, Trojanowski T, Stryjecka-Zimmer M, 2003. Influence of metallothioneins on zinc and copper distribution in brain tumours. *Folia Neuropathologica*, 41, 1, 11-4.
- Fosmire G, Al-Ubaidi Y, Sandstead H, 1975. Some effects of postnatal zinc deficiency on developing rat brain. *Pediatric research*, 9, 2, 89-93.
- Fournier A, GrandPre T, Strittmatter SM, 2001. Identification of a receptor mediating Nogo-66 inhibition of axonal regeneration. *Nature* 409.6818 341-6.
- Frade JM, Barde Y-A, 1998. Microglia-derived nerve growth factor causes cell death in the developing retina. *Neuron*, 20, 1, 35-41.
- Frederickson C, Koh J, Bush A, 2005. The neurobiology of zinc in health and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 6, 449-62.

- Frederickson C, Manton W, Frederickson M, Howell G, Mallory M, 1982. Stable-isotope dilution measurement of zinc and lead in rat hippocampus and spinal cord. *Brain research*, 246, 2, 338-41.
- Frederickson CJ, Suh SW, Silva D, Frederickson CJ, Thompson RB, 2000. Importance of zinc in the central nervous system: the zinc-containing neuron. *The Journal of nutrition*, 130, 5, 1471S-83S.
- Gao H-L, Xu H, Xin N, Zheng W, Chi Z-H, Wang Z-Y, 2011. Disruption of the CaMKII/CREB signaling is associated with zinc deficiency-induced learning and memory impairments. *Neurotoxicity research*, 19, 4, 584-91.
- Gao H-L, Zheng W, Xin N, Chi Z-H, Wang Z-Y, Chen J, Wang Z-Y, 2009. Zinc deficiency reduces neurogenesis accompanied by neuronal apoptosis through caspase-dependent and-independent signaling pathways. *Neurotoxicity research*, 16, 4, 416-25.
- Geerts A, 2007. The simple truth is seldom true and never simple: dual role for p75 (NTR) in transdifferentiation and cell death of hepatic stellate cells. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 46, 2, 600-1.
- Gil V, Nicolas O, Mingorance A, Ureña JM, Tang BL, Hirata T, Sáez-Valero J, Ferrer I, Soriano E, del Río JA, 2006. Nogo-A expression in the human hippocampus in normal aging and in Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 65, 5, 433-44.
- Golan Y, Kambe T, Assaraf Y, 2017. The role of the zinc transporter SLC30A2/ZnT2 in transient neonatal zinc deficiency. *Metallomics*, 9, 1352
- Golub MS, Keen CL, Gershwin ME, 2000. Moderate zinc-iron deprivation influences behavior but not growth in adolescent rhesus monkeys. *The Journal of nutrition*, 130, 2, 354S-7S.
- Golub MS, Keen CL, Gershwin ME, Hendrickx AG, 1995. Developmental zinc deficiency and behavior. *The Journal of nutrition*, 125, suppl_8, 2263S-71S.
- Gonzenbach RR, Schwab ME, 2008. Disinhibition of neurite growth to repair the injured adult CNS: focusing on Nogo. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65, 1, 161-76.
- Gower-Winter SD, Levenson CW, 2012. Zinc in the central nervous system: from molecules to behavior. *Biofactors*, 38, 3, 186-93.
- GrandPre T, Li S, Strittmatter S, 2002. Nogo-66 receptor antagonist peptide promotes axonal regeneration. *Nature*, 417, 547-51.
- Grandpré T, Strittmatter S, 2001. Nogo: a molecular determinant of axonal growth and regeneration. *The Neuroscientist*, 7, 5, 377-86.
- Gulya K, Kovács G, Kása P, 1991. Partial depletion of endogenous zinc level by (D-Pen2, D-Pen5) enkephalin in the rat brain. *Life sciences*, 48, 12, PL57-PL62.
- Halas E, Reynolds G, Sandstead H, 1977. Intrauterine nutrition and effects on aggression. *Physiology & Behavior*, 19, 653-61.
- Halas ES, Eberhardt MJ, 1987. A behavioral review of trace element deficiencies in animals and humans.
- Halas ES, Hunt CD, Eberhardt MJ, 1986. Learning and memory disabilities in young adult rats from mildly zinc deficient dams. *Physiology & behavior*, 37, 3, 451-8.
- Hellemans KG, Benge LC, Olmstead MC, 2004. Adolescent enrichment partially reverses the social isolation syndrome. *Developmental Brain Research*, 150, 2, 103-15.
- Hempstead BL, 2002. The many faces of p75NTR. *Current opinion in neurobiology*, 12, 3, 260-7.

- Hesse GW, 1979. Chronic zinc deficiency alters neuronal function of hippocampal mossy fibers. *Science*, 205, 4410, 1005-7.
- Hesse GW, Hesse KAF, Catalanotto FA, 1979. Behavioral characteristics of rats experiencing chronic zinc deficiency. *Physiology & Behavior*, 22, 2, 211-5.
- Heuer JG, Fatemie-Nainie S, Wheeler EF, Bothwell M, 1990. Structure and developmental expression of the chicken NGF receptor. *Developmental biology*, 137, 2, 287-304.
- Hirayama A, Oka A, Ito M, Tanaka F, Okoshi Y, Takashima S, 2003. Myelin transcription factor 1 (MyT1) immunoreactivity in infants with periventricular leukomalacia. *Developmental brain research*, 140, 1, 85-92.
- Hu F, Liu B, Budel S, Liao J, Chin J, Fournier A, Strittmatter SM, 2005. Nogo-A interacts with the Nogo-66 receptor through multiple sites to create an isoform-selective subnanomolar agonist. *Journal of Neuroscience*, 25, 22, 5298-304.
- Huang EJ, Reichardt LF, 2001. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annual review of neuroscience*, 24, 1, 677-736.
- Huang L, Tepasamordech S, 2013. The SLC30 family of zinc transporters—a review of current understanding of their biological and pathophysiological roles. *Molecular aspects of medicine*, 34, 2-3, 548-60.
- Huber A, Weinmann O, Brösamle C, Oertle T, Schwab M, 2002. Patterns of Nogo mRNA and protein expression in the developing and adult rat and after CNS lesions. *Journal of Neuroscience*, 22, 9, 3553-67.
- Huddle J-M, Gibson RS, Cullinan TR, 1998. Is zinc a limiting nutrient in the diets of rural pregnant Malawian women? *British Journal of Nutrition*, 79, 3, 257-65.
- Huebner K, Isobe M, Chao M, Bothwell M, Ross AH, Finan J, Hoxie JA, Sehgal A, Buck CR, Lanahan A, 1986. The nerve growth factor receptor gene is at human chromosome region 17q12-17q22, distal to the chromosome 17 breakpoint in acute leukemias. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83, 5, 1403-7.
- Hunt C, 1984. Mild zinc deficiency affects hippocampal morphology and behavior. *Federation Proceedings*, 43, 382A.
- Hunt D, Mason MRJ, Campbell G, Coffin R, Anderson PN, 2002. Nogo receptor mRNA expression in intact and regenerating CNS neurons. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 20 4, 537-52.
- Jameson S, 1976. Variations in maternal serum zinc during pregnancy and correlation to congenital malformations, dysmaturity, and abnormal parturition. *Acta Medica Scandinavica. Supplementum*, 593, 21-37.
- Jeong J, Eide DJ, 2013. The SLC39 family of zinc transporters. *Molecular aspects of medicine*, 34, 2-3, 612-9.
- Jiang Y, Victor CY, Buchholz F, O'Connell S, Rhodes SJ, Candeloro C, Xia Y-R, Lusis AJ, Rosenfeld MG, 1996. A Novel Family of Cys-Cys, His-Cys Zinc Finger Transcription Factors Expressed in Developing Nervous System and Pituitary Gland. *Journal of biological chemistry*, 271, 18, 10723-30.
- Jiang Y, Victor CY, Buchholz F, O'Connell S, Rhodes SJ, Candeloro C, Xia Y-R, Lusis AJ, Rosenfeld MG, 1996. A Novel Family of Cys-Cys, His-Cys Zinc Finger Transcription Factors Expressed in Developing Nervous System and Pituitary Gland (*). *Journal of biological chemistry*, 271, 18, 10723-30.
- Johnson D, Lanahan A, Buck CR, Sehgal A, Morgan C, Mercer E, Bothwell M, Chao M, 1986. Expression and structure of the human NGF receptor. *Cell*, 47, 4, 545-54.

- Josephson A, Trifunovski A, Widmer HR, Widenfalk J, Olson L, Spenger C, 2002. Nogo-receptor gene activity: cellular localization and developmental regulation of mRNA in mice and humans. *Journal of Comparative Neurology*, 453, 3, 292-304.
- Kambe T, 2013. Overview of and update on the physiological functions of mammalian zinc transporters. *Nihon Eiseigaku zasshi. Japanese Journal of Hygiene*, 68, 2, 92-102.
- Kambe T, Hashimoto A, Fujimoto S, 2014. Current understanding of ZIP and ZnT zinc transporters in human health and diseases. *Cellular and molecular life sciences*, 71, 17, 3281-95.
- Kambe T, Matsunaga M, Takeda T-a, 2017. Understanding the contribution of zinc transporters in the function of the early secretory pathway. *International journal of molecular sciences*, 18, 10, 2179.
- Kambe T, Tsuji T, Hashimoto A, Itsumura N, 2015. The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. *Physiological reviews*.
- Kanakoglou DS, Pampalou A, Malakou LS, Lakiotaki E, Loupis T, Vrachnos DM, Glekas PD, Klonou A, Giannopoulou A-I, Carpenter M, 2022. Central Role of C2H2-Type Zinc Finger-Containing Genes in Pediatric Brain Tumors. *DNA*, 2, 1, 1-21.
- Kikuno R, Nagase T, Ishikawa K-i, Hirosawa M, Miyajima N, Tanaka A, Kotani H, Nomura N, Ohara O, 1999. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XIV. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins in vitro. *DNA research*, 6, 3, 197-205.
- Kim J-E, Li S, GrandPré T, Qiu D, Strittmatter SM, 2003. Axon regeneration in young adult mice lacking Nogo-A/B. *Neuron*, 38, 2, 187-99.
- Kim J-E, Liu BP, Park JH, Strittmatter SM, 2004. Nogo-66 receptor prevents raphespinal and rubrospinal axon regeneration and limits functional recovery from spinal cord injury. *Neuron*, 44, 3, 439-51.
- Kim J, Hudson L, 1992. Novel member of the zinc finger superfamily: A C2-HC finger that recognizes a glia-specific gene. *Molecular and Cellular Biology*, 12, 12, 5632-9.
- Kim JG, Armstrong RC, Agoston Dv, Robinsky A, Wiese C, Nagle J, Hudson LD, 1997. Myelin transcription factor 1 (Myt1) of the oligodendrocyte lineage, along with a closely related CCHC zinc finger, is expressed in developing neurons in the mammalian central nervous system. *Journal of neuroscience research*, 50, 2, 272-90.
- Kokaia Z, Andsberg G, Martinez-Serrano A, Lindvall O, 1998. Focal cerebral ischemia in rats induces expression of P75 neurotrophin receptor in resistant striatal cholinergic neurons. *Neuroscience*, 84, 4, 1113-25.
- Krężel A, Maret W, 2017. The functions of metamorphic metallothioneins in zinc and copper metabolism. *International journal of molecular sciences*, 18, 6, 1237.
- Kumar V, Kumar A, Singh K, Avasthi K, Kim J-J, 2021. Neurobiology of zinc and its role in neurogenesis. *European Journal of Nutrition*, 60, 1, 55-64.
- Kumar V, Kumar A, Singh S, Tripathi S, Kumar D, Singh R, Dwivedi S, 2016. Zinc deficiency and its effect on the brain: an update. *Int J Mol Genet Gene Ther*, 1, 1.

- Lee H, Raiker SJ, Venkatesh K, Geary R, Robak LA, Zhang Y, Yeh HH, Shrager P, Giger RJ, 2008. Synaptic function for the Nogo-66 receptor NgR1: regulation of dendritic spine morphology and activity-dependent synaptic strength. *Journal of Neuroscience*, 28, 11, 2753-65.
- Lee J-Y, Kim J-H, Palmiter RD, Koh J-Y, 2003. Zinc released from metallothionein-iii may contribute to hippocampal CA1 and thalamic neuronal death following acute brain injury. *Experimental neurology*, 184, 1, 337-47.
- Lee JK, Kim JE, Sivula M, Strittmatter SM, 2004. Nogo receptor antagonism promotes stroke recovery by enhancing axonal plasticity. *Journal of Neuroscience*, 24, 6209-17.
- Lee S-J, Koh J-Y, 2010. Roles of zinc and metallothionein-3 in oxidative stress-induced lysosomal dysfunction, cell death, and autophagy in neurons and astrocytes. *Molecular brain*, 3, 1, 1-9.
- Levenson CW, 2020. Zinc and traumatic brain injury: from chelation to supplementation. *Medical Sciences*, 8, 3, 36.
- Lewin GR, Barde Y-A, 1996. Physiology of the neurotrophins. *Annual review of neuroscience*, 19, 1, 289-317.
- Liepinsh E, Ilag LL, Otting G, Ibáñez CF, 1997. NMR structure of the death domain of the p75 neurotrophin receptor. *The EMBO Journal*, 16, 16, 4999-5005.
- Liu H, Abecasis GR, Heath SC, Alyson Knowles, Sandra Demars, Ying-Jiun Chen, J. Louw Roos, Judith L. Rapoport, Joseph A. Gogos, Maria Karayiorgou, 2002. Genetic variation in the 22q11 locus and susceptibility to schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 26, 16859-64.
- Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method. *methods*, 25, 4, 402-8.
- Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ, 2001. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*, 104, 4, 487-501.
- Maitra R, Shamovsky IL, Wang W, Solc M, Lawrance G, Dostaler SM, Ross GM, Riopelle RJ, 2000. Differential effects of transition metal cations on the conformation and biological activities of nerve growth factor. *Neurotoxicity Research*, 2, 4, 321-41.
- Majdan M, Lachance C, Gloster A, Aloyz R, Zeindler C, Banji S, Bhakar A, Belliveau D, Fawcett J, Miller FD, 1997. Transgenic mice expressing the intracellular domain of the p75 neurotrophin receptor undergo neuronal apoptosis. *Journal of Neuroscience*, 17, 18, 6988-98.
- Malik SC, Sozmen EG, Baeza-Raja B, Le Moan N, Akassoglou K, Schachtrup C, 2021. In vivo functions of p75NTR: challenges and opportunities for an emerging therapeutic target. *Trends in Pharmacological Sciences*, 42, 9, 772-88.
- Manukyan A, Kowalczyk I, Melhuish TA, Lemiesz A, Wotton D, 2018. Analysis of transcriptional activity by the Myt1 and Myt1l transcription factors. *Journal of cellular biochemistry*, 119, 6, 4644-55.
- María Frade J, Rodríguez-Tébar A, Barde Y-A, 1996. Induction of cell death by endogenous nerve growth factor through its p75 receptor. *Nature*, 383, 6596, 166-8.
- Martinez-Murillo R, Fernández AP, Bentura ML, Rodrigo J, 1998. Subcellular localization of low-affinity nerve growth factor receptor-immunoreactive protein in adult rat purkinje cells following traumatic injury. *Experimental brain research*, 119, 1, 47-57.

- Maske H, 1955. Über den topochemischen Nachweis von Zink im Ammonshorn verschiedener Säugetiere. *Naturwissenschaften*, 42, 14, 424-.
- Matsushita F, Kameyama T, Marunouchi T, 2002. NZF-2b is a novel predominant form of mouse NZF-2/MyT1, expressed in differentiated neurons especially at higher levels in newly generated ones. *Mechanisms of development*, 118, 1-2, 209-13.
- McKenzie JM, Fosmire GJ, Sandstead HH, 1975. Zinc deficiency during the latter third of pregnancy: Effects on Fetal rat brain, liver, and Placenia. *The Journal of Nutrition*, 105, 11, 1466-75.
- McLardy T, 1960. Neurosyncytial aspects of the hippocampal mossy fibre system. *Stereotactic and Functional Neurosurgery*, 20, 1, 1-17.
- Metsis M, 2001. Genes for neurotrophic factors and their receptors: structure and regulation. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 58, 8, 1014-20.
- Mi S, Lee X, Shao Z, Thill G, Ji B, Relton J, Levesque M, Allaire N, Perrin S, Sands B, Crowell T L, Cate RL, JM M, RB P, 2004. LINGO-1 is a component of the Nogo-66 receptor/p75 signaling complex. *Nature Neuroscience*, 7, 221–228.
- Miki T, Yokoyama T, Kusaka T, Suzuki S, Ohta K-i, Warita K, Wang Z-Y, Ueki M, Sumitani K, Bellinger FP, 2014. Early postnatal repeated maternal deprivation causes a transient increase in OMpg and BDNF in rat cerebellum suggesting precocious myelination. *Journal of the Neurological Sciences*, 336, 1-2, 62-7.
- Mocchegiani E, Bertoni-Freddari C, Marcellini F, Malavolta M, 2005. Brain, aging and neurodegeneration: role of zinc ion availability. *Progress in neurobiology*, 75, 6, 367-90.
- Mocchegiani E, Fabris N, 1995. Age-related thymus involution: zinc reverses in vitro the thymulin secretion defect. *International journal of immunopharmacology*, 17, 9, 745-9.
- Moghimi M, Ashrafzadeh S, Rassi S, Naseh A, 2017. Maternal zinc deficiency and congenital anomalies in newborns. *Pediatrics International*, 59, 4, 443-6.
- Moon M-Y, Kim HJ, Choi BY, Sohn M, Chung TN, Suh SW, 2018. Zinc promotes adipose-derived mesenchymal stem cell proliferation and differentiation towards a neuronal fate. *Stem cells international*, 2018.
- Morley J, Gordon J, Hershman J, 1980. Zinc deficiency, chronic starvation, and hypothalamic-pituitarythyroid function. . *American Journal of Clinical Nutrition*, 33, 1767-70.
- Nagase T, Ishikawa K-i, Suyama M, Kikuno R, Hirosawa M, Miyajima N, Tanaka A, Kotani H, Nomura N, Ohara O, 1998. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XII. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins in vitro. *DNA Research*, 5, 6, 355-64.
- Naumann T, Casademunt E, Hollerbach E, Hofmann J, Dechant G, Frotscher M, Barde Y-A, 2002. Complete deletion of the neurotrophin receptor p75NTRLeads to long-lasting increases in the number of basal forebrain cholinergic neurons. *Journal of Neuroscience*, 22, 7, 2409-18.
- Ng C, Tang B, 2002. Nogos and the Nogo-66 receptor: factors inhibiting CNS neuron regeneration. *Journal of Neuroscience Research*, 67, 5, 559-65.
- Nielsen JA, Berndt JA, Hudson LD, Armstrong RC, 2004. Myelin transcription factor 1 (Myt1) modulates the proliferation and differentiation of

- oligodendrocyte lineage cells. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 25, 1, 111-23.
- Novak G, Kim D, Seeman P, Tallerico T, 2002. Schizophrenia and Nogo: elevated mRNA in cortex, and high prevalence of a homozygous CAA insert. . *Molecular Brain Research*, 107, 183–9.
- Nuttall J, Oteiza P, 2012. Zinc and the ERK kinases in the developing brain. *Neurotoxicity research*, 21, 1, 128-41.
- Nuttall JR, Oteiza PI, 2014. Zinc and the aging brain. *Genes & nutrition*, 9, 1, 1-11.
- Oderfeld-Nowak B, Orzyłowska-ŚLiwińska O, Sołtys Z, Zaremba M, Januszewski S, Janeczko K, Mossakowski M, 2003. Concomitant up-regulation of astroglial high and low affinity nerve growth factor receptors in the CA1 hippocampal area following global transient cerebral ischemia in rat☆. *Neuroscience*, 120, 1, 31-40.
- Odland J, Nieboer E, Romanova N, Thomassen Y, Brox J, Lund E, 1999. Concentrations of essential trace elements in maternal serum and the effect on birth weight and newborn body mass index in sub-arctic and arctic populations of Norway and Russia. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*, 78, 7, 605-14.
- Ono S-I, Cherian MG, 1999. Regional distribution of metallothionein, zinc, and copper in the brain of different strains of rats. *Biological trace element research*, 69, 2, 151-9.
- Opoka W, Sowa-Kućma M, Stachowicz K, Ostachowicz B, Szłósarczyk M, Stypuła A, Młyniec K, Maślanka A, Baś B, Lankosz M, 2010. Early lifetime zinc supplementation protects zinc-deficient diet-induced alterations. *Pharmacological Reports*, 62, 6, 1211-7.
- Oppenheim RW, 1991. Cell death during development of the nervous system. *Annual review of neuroscience*, 14, 1, 453-501.
- Ortega RM, Quintas ME, Andrés P, Martínez RM, López-Sobaler AM, Requejo AM, 1999. Zinc status of a group of pregnant Spanish women: effects on anthropometric data and Apgar scores of neonates. *Nutrition research*, 19, 9, 1423-8.
- Özmert EN, 2005. Erken çocukluk gelişiminin desteklenmesi-I: Beslenme. *Çocuk sağlığı ve hastalıkları dergisi*, 48, 1, 79-195.
- Pekun TG, Hrynevich SV, Waseem TV, Fedorovich SV, 2014. Role of iron, zinc and reduced glutathione in oxidative stress induction by low pH in rat brain synaptosomes. *SpringerPlus*, 3, 1, 1-10.
- Peng X, Kim J, Zhou Z, Fink DJ, Mata M, 2011. Neuronal Nogo-A regulates glutamate receptor subunit expression in hippocampal neurons. *Journal of Neurochemistry*, 119, 1183–93.
- Piechal A, Blecharz-Klin K, Pyrzanowska J, Widy-Tyszkiewicz E, 2012. Maternal zinc supplementation improves spatial memory in rat pups. *Biological Trace Element Research*, 147, 1, 299-308.
- Prakash A, Bharti K, Majeed ABA, 2015. Zinc: indications in brain disorders. *Fundamental & clinical pharmacology*, 29, 2, 131-49.
- Prasad A, 2002. Zinc in health and disease. *Kuwait Medical Journal*, 34, 91-3.
- Prasad A, 2013. Discovery of human zinc deficiency: its impact on human health and disease. *Advances in Nutrition*, 4, 176–90.
- Purves D, Snider WD, Voyvodic JT, 1988. Trophic regulation of nerve cell morphology and innervation in the autonomic nervous system. *Nature*, 336, 6195, 123-8.

- Qian J, Xu K, Yoo J, Chen TT, Andrews G, Noebels JL, 2011. Knockout of Zn transporters Zip-1 and Zip-3 attenuates seizure-induced CA1 neurodegeneration. *Journal of Neuroscience*, 31, 1, 97-104.
- Raiker SJ, Lee H, Baldwin KT, Duan Y, Shrager P, Giger RJ, 2010. Oligodendrocyte-myelin glycoprotein and Nogo negatively regulate activity-dependent synaptic plasticity. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 30, 37, 12432- 45.
- Rink L, Gabriel P, 2000. Zinc and the immune system. *Proceedings of the Nutrition Society*, 4, 541–52.
- Rojas P, Franco-Pérez JE, Rojas C, Rojas-Castañeda J, Ebadi M, Fernández-Valverde F, Serrano-García N, 2005. Reduction of zinc-positive terminal fields in striatum of mouse after 1-methyl-4-phenylpyridinium neurotoxicity. *Neurotoxicology*, 26, 6, 959-68.
- Ross GM, Shamovsky IL, Lawrance G, Solc M, Dostaler SM, Jimmo SL, Weaver DF, Riopelle RJ, 1997. Zinc alters conformation and inhibits biological activities of nerve growth factor and related neurotrophins. *Nature medicine*, 3, 8, 872-8.
- Roux PP, Barker PA, 2002. Neurotrophin signaling through the p75 neurotrophin receptor. *Progress in neurobiology*, 67, 3, 203-33.
- Roux PP, Bhakar AL, Kennedy TE, Barker PA, 2001. The p75 neurotrophin receptor activates Akt (protein kinase B) through a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 25, 23097-104.
- Ruttkay-Nedecky B, Nejdil L, Gumulec J, Zitka O, Masarik M, Eckschlager T, Stiborova M, Adam V, Kizek R, 2013. The role of metallothionein in oxidative stress. *International journal of molecular sciences*, 14, 3, 6044-66.
- Sajanti A, Lyne SB, Girard R, Frantzén J, Rantamäki T, Heino I, Cao Y, Diniz C, Umemori J, Li Y, 2020. A comprehensive p75 neurotrophin receptor gene network and pathway analyses identifying new target genes. *Scientific reports*, 10, 1, 1-9.
- Salgueiro MJ, Zubillaga MB, Lysionek AE, Caro RA, Weill R, Boccio JR, 2002. The role of zinc in the growth and development of children. *Nutrition*, 18, 6, 510-9.
- Sandstead H, 1985. W.O. Atwater memorial lecture. Zinc: essentiality for brain development and function. *Nutrition Reviews*, 43, 129–37.
- Sandstead HH, Gillespie DD, Brady RN, 1972. Zinc deficiency: effect on brain of the suckling rat. *Pediatric Research*, 6, 2, 119-25.
- Satoh J-I, Onoue H, Arima K, Yamamura T, 2005. Nogo-A and nogo receptor expression in demyelinating lesions of multiple sclerosis. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 64, 2, 129-38.
- Schweigel-Röntgen M, 2014. The families of zinc (SLC30 and SLC39) and copper (SLC31) transporters. *Current topics in membranes*, 73, 321-55.
- Sehgal A, Wall D, Chao M, 1988. Efficient processing and expression of human nerve growth factor receptors in *Xenopus laevis* oocytes: effects on maturation. *Molecular and cellular biology*, 8, 5, 2242-6.
- Sekler I, Moran A, Hershfinkel M, Dori A, Margulis A, Birenzweig N, Nitzan Y, Silverman WF, 2002. Distribution of the zinc transporter ZnT-1 in comparison with chelatable zinc in the mouse brain. *Journal of Comparative Neurology*, 447, 3, 201-9.
- Shaw S, Kelly M, Smith A, Shields G, Hopkins P, Loftus J, Laval S, Vita A, De Hert M, Cardon L, Crow T, Sherrington R, LE D, 1998. A genome-wide search for

- schizophrenia susceptibility genes. . American Journal of Medical Genetics, 81, 364–76.
- Sheline G, Chaikoff I, Jones H, Montgomery ML, 1943. Studies on The Metabolism Of Zinc With The Aid of Its Radioactive Isotope: II. The Distribution Of Administered Radioactive Zinc In The Tissues of Mice and Dogs. Journal of Biological Chemistry, 149, 1, 139-51.
- Simonen M, Pedersen V, Weinmann O, Schnell L, Buss A, Ledermann B, Christ F, Sansig G, van der Putten H, Schwab ME, 2003. Systemic deletion of the myelin-associated outgrowth inhibitor Nogo-A improves regenerative and plastic responses after spinal cord injury. Neuron, 38, 2, 201-11.
- Singla N, Dhawan D, 2012. Regulatory role of zinc during aluminium-induced altered carbohydrate metabolism in rat brain. Journal of Neuroscience Research, 90, 3, 698-705.
- Spillmann AA, Bandtlow CE, Lottspeich F, Keller F, Schwab ME, 1998. Identification and characterization of a bovine neurite growth inhibitor (bNI-220). Journal of Biological Chemistry, 273, 30, 19283-93.
- Stevens SJ, van Ravenswaaij-Arts CM, Janssen JW, Klein Wassink-Ruiter JS, van Essen AJ, Dijkhuizen T, van Rheenen J, Heuts-Vijgen R, Stegmann AP, Smeets EE, 2011. MYT1L is a candidate gene for intellectual disability in patients with 2p25. 3 (2pter) deletions. American Journal of Medical Genetics Part A, 155, 11, 2739-45.
- Strausberg RL, EA F, Grouse LH, Derge JG, Klausner RD, Collins FS, Wagner L, Shenmen CM, Schuler GD, Altschul SF, Zeeberg B, Buetow KH, Schaefer CF, Bhat NK, Hopkins RF, Jordan H, Moore T, Max SI, Wang J, Hsieh F, Diatchenko L, Marusina K, Farmer AA, Rubin GM, Hong L, Stapleton M, Soares MB, Bonaldo MF, Casavant TL, Scheetz TE, Brownstein MJ, Usdin TB, Toshiyuki S, Carninci P, Prange C, Raha SS, Loquellano NA, Peters GJ, Abramson RD, Mullahy SJ, Bosak SA, McEwan PJ, McKernan KJ, Malek JA, Gunaratne PH, Richards S, Worley KC, Hale S, Garcia AM, Gay LJ, Hulyk SW, Villalon DK, Muzny DM, Sodergren EJ, Lu X, Gibbs RA, Fahey J, Helton E, Kettelman M, Madan A, Rodrigues S, Sanchez A, Whiting M, Madan A, Young AC, Shevchenko Y, Bouffard GG, Blakesley RW, Touchman JW, Green ED, Dickson MC, Rodriguez AC, Grimwood J, Schmutz J, Myers RM, Butterfield YS, Krzywinski MI, Skalska U, Smailus DE, Schnerch A, Schein JE, Jones SJ, Marra MA, 2003. Generation and initial analysis of more than 15,000 full-length human and mouse cDNA sequences. The Proceedings of the National Academy of Sciences, 99, 26, 16899–903.
- Suh SW, Won SJ, Hamby AM, Yoo BH, Fan Y, Sheline CT, Tamano H, Takeda A, Liu J, 2009. Decreased brain zinc availability reduces hippocampal neurogenesis in mice and rats. Journal of cerebral blood flow & metabolism, 29, 9, 1579-88.
- Südhof TC, 2008. Neuroligins and neuroligins link synaptic function to cognitive disease. . Nature 455, 903–11.
- Takeda A, 2000. Movement of zinc and its functional significance in the brain. Brain research reviews, 34, 3, 137-48.
- Takeda A, 2001. Zinc homeostasis and functions of zinc in the brain. Biometals, 14, 3, 343-51.
- Takeda A, Fujii H, Minamino T, Tamano H, 2014. Intracellular Zn²⁺ signaling in cognition. Journal of Neuroscience Research, 92, 7, 819-24.

- Takeda A, Hirate M, Tamano H, Nisibaba D, Oku N, 2003b. Susceptibility to kainate-induced seizures under dietary zinc deficiency. *Journal of neurochemistry*, 85, 6, 1575-80.
- Takeda A, Hirate M, Tamano H, Oku N, 2003a. Release of glutamate and GABA in the hippocampus under zinc deficiency. *Journal of Neuroscience Research*, 72, 4, 537-42.
- Takeda A, Itoh H, Tamano H, Oku N, 2006. Responsiveness to kainate in young rats after 2-week zinc deprivation. *Biometals*, 19, 5, 565-72.
- Takeda A, Takefuta S, Okada S, Oku N, 2000. Relationship between brain zinc and transient learning impairment of adult rats fed zinc-deficient diet. *Brain research*, 859, 2, 352-7.
- Takeda A, Tamano H, 2009. Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. *Brain research reviews*, 62, 1, 33-44.
- Taketomi M, Kinoshita N, Kimura K, Kitada M, Noda T, Asou H, Nakamura T, Ide C, 2002. Nogo-A expression in mature oligodendrocytes of rat spinal cord in association with specific molecules. *Neuroscience letters*, 332, 1, 37-40.
- Tan E, Chong S, Wang H, Chew-Ping Lim E, Teo Y, 2005. Genderspecific association of insertion/deletion polymorphisms in the nogo gene and chronic schizophrenia. *Mol Brain Res* 139, 212–6.
- Tarakçı Z, Küçüköner E, 2006. Esansiyel bir mineral olan çinkonun fonksiyonel özellikleri. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 717-20.
- Terrin G, Berni Canani R, Di Chiara M, Pietravalle A, Aleandri V, Conte F, De Curtis M, 2015. Zinc in early life: a key element in the fetus and preterm neonate. *Nutrients*, 7, 12, 10427-46.
- Thirumoorthy N, Shyam Sunder A, Manisenthil Kumar K, Ganesh G, Chatterjee M, 2011. A review of metallothionein isoforms and their role in pathophysiology. *World journal of surgical oncology*, 9, 1, 1-7.
- Tomat AL, Juriol LV, Gobetto MN, Veiras LC, Mendes Garrido Abregú F, Zilberman J, Fasoli H, Elesgaray R, Costa MÁ, Arranz CT, 2013. Morphological and functional effects on cardiac tissue induced by moderate zinc deficiency during prenatal and postnatal life in male and female rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 305, 11, H1574-H83.
- Troy CM, Friedman JE, Friedman WJ, 2002. Mechanisms of p75-mediated death of hippocampal neurons: role of caspases. *Journal of biological chemistry*, 277, 37, 34295-302.
- Turner TY, Soliman MR, 2000. Effects of zinc on spatial reference memory and brain dopamine (D1) receptor binding kinetics in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 24, 7, 1203-17.
- Vasak M, Hasler D, 2000. Metallothioneins: new functional and structural insights. *Current Opinion in Chemical Biology*, 4, 177–83.
- Volosin M, Trotter C, Cragolini A, Kenchappa RS, Light M, Hempstead BL, Carter BD, Friedman WJ, 2008. Induction of proneurotrophins and activation of p75NTR-mediated apoptosis via neurotrophin receptor-interacting factor in hippocampal neurons after seizures. *Journal of neuroscience*, 28, 39, 9870-9.
- Walmsley AR, McCombie G, Neumann U, Marcellin D, Hillenbrand R, Mir AK, Frentzel S, 2004. Zinc metalloproteinase-mediated cleavage of the human Nogo-66 receptor. *Journal of Cell science*, 117, 19, 4591-602.

- Wang KC, Kim JA, Sivasankaran R, Segal R, He Z, 2002. p75 interacts with the Nogo receptor as a co-receptor for Nogo, MAG and OMgp. *Nature*, 420, 6911, 74-8.
- Wang W, Post JI, Dow KE, Shin SH, Riopelle RJ, Ross GM, 1999. Zinc and copper inhibit nerve growth factor-mediated protection from oxidative stress-induced apoptosis. *Neuroscience letters*, 259, 2, 115-8.
- Wauben P, Wainwright P, 1999. The influence of neonatal nutrition on behavioral development: a critical appraisal. *Nutrition Review*, 57, 35-44.
- Weiss JH, Sensi SL, Koh JY, 2000. Zn²⁺: a novel ionic mediator of neural injury in brain disease. *Trends in pharmacological sciences*, 21, 10, 395-401.
- Willi R, Weinmann O, Winter C, Klein J, Sohr R, Schnell L, Yee BK, Feldon J, Schwab ME, 2010. Constitutive genetic deletion of the growth regulator Nogo-A induces schizophrenia-related endophenotypes. *Journal of Neuroscience*, 30, 2, 556-67.
- Wills ZP, Mandel-Brehm C, Mardinly AR, McCord AE, Giger RJ, Greenberg ME, 2012. The nogo receptor family restricts synapse number in the developing hippocampus. *Neuron*, 73, 3, 466-81.
- Wong ST, Henley JR, Kanning KC, Huang K-h, Bothwell M, Poo M-m, 2002. A p75NTR and Nogo receptor complex mediates repulsive signaling by myelin-associated glycoprotein. *Nature neuroscience*, 5, 12, 1302-8.
- Wong ST, Henley JR, Kanning KC, Huang KH, Bothwell M, Poo MM, 2002. A p75NTR and Nogo receptor complex mediates repulsive signaling by myelin-associated glycoprotein. *Nature neuroscience*, 5, 12, 1302-8.
- Wu X, Luo Y, Liu S, Li K, 2012. Experience-dependent expression of Nogo-A and Nogo receptor in the developing rat visual cortex. *Neural Regeneration Research*, 7, 1, 13.
- Yamasaki S, Sakata-Sogawa K, Hasegawa A, Suzuki T, Kabu K, Sato E, Kurosaki T, Yamashita S, Tokunaga M, Nishida K, 2007. Zinc is a novel intracellular second messenger. *The Journal of cell biology*, 177, 4, 637-45.
- Yang Y, Jing X-P, Zhang S-P, Gu R-X, Tang F-X, Wang X-L, Xiong Y, Qiu M, Sun X-Y, Ke D, 2013. High dose zinc supplementation induces hippocampal zinc deficiency and memory impairment with inhibition of BDNF signaling. *PloS one*, 8, 1, e55384.
- Yee KS, Victor CY, 1998. Isolation and characterization of a novel member of the neural zinc finger factor/myelin transcription factor family with transcriptional repression activity. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 9, 5366-74.
- Zagrebelsky M, Holz A, Dechant G, Barde Y-A, Bonhoeffer T, Korte M, 2005. The p75 neurotrophin receptor negatively modulates dendrite complexity and spine density in hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience*, 25, 43, 9989-99.
- Zagrebelsky M, Schweigreiter R, Bandtlow CE, Schwab ME, Korte M, 2010. Nogo-A stabilizes the architecture of hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience*, 30, 40, 13220-34.
- Zheng B, Ho C, Li S, Keirstead H, Steward O, Tessier-Lavigne M, 2003. Lack of enhanced spinal regeneration in Nogo-deficient mice. *Neuron*, 38, 2, 213-24.

7. EKLER

EK-B- Turnitin Raporu

BEYİN GELİŞİMİNDE VE NÖRON AKTİVİTESİNİN
DÜZENLENMESİNDE ROL OYNAYAN YOLAKLARDA BULUNAN
BAZI MOLEKÜLLERİN GEN İFADESİNDE ÇİNKONUN OLASI
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 11	% 10	% 3	% 4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	www.kisiselgelisim.com	% 1
	İnternet Kaynağı	
2	burkonturizm.com	% 1
	İnternet Kaynağı	
3	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)	% 1
	Öğrenci Ödevi	
4	acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080	% 1
	İnternet Kaynağı	
5	www.academicfoodjournal.com	% 1
	İnternet Kaynağı	
6	Submitted to Bahcesehir University	% 1
	Öğrenci Ödevi	
7	abakus.inonu.edu.tr	% 1
	İnternet Kaynağı	
8	www.kto.org.tr	% 1
	İnternet Kaynağı	