



T. C.

AMASYA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

**ADOLESAN SIÇANLARDA KAFEİN TÜKETİMİ VE FİZİKSEL
EGZERSİZİN HİPOKAMPAL ÖĞRENME VE DAVRANIŞ ÜZERİNE
ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FATMA BAKIR

DR. ÖĞR. ÜYESİ SEVAL MÜSÜROĞLU

AMASYA

OCAK-2023

**T. C. AMASYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI**

**ADOLESAN SIÇANLARDA KAFEİN TÜKETİMİ VE FİZİKSEL
EGZERSİZİN HİPOKAMPAL ÖĞRENME VE DAVRANIŞ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Fatma BAKIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Seval MÜSÜROĞLU

AMASYA

OCAK-2023

FATMA BAKIR tarafından hazırlanan “**ADOLESAN SIÇANLARDA KAFEİN TÜKETİMİ VE FİZİKSEL EGZERSİZİN HİPOKAMPAL ÖĞRENME VE DAVRANIŞ ÜZERİNE ETKİSİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Tıp** Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Seval MÜSÜROĞLU

Fizyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Adıyaman Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Başkan : Unvanı Adı SOYADI

Anabilim Dalı, Üniversite Adı

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye : Doç, Dr. Leyla ŞAHİN

Fizyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Mersin Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: / /

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Ayşe ŞAHİN YAĞLIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür V.



Sevgili aileme

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Fatma BAKIR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana rehberlik eden, zorlu pandemi koşullarında bile bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde büyük fedakarlık gösteren, tez konusu seçimimden tez çalışmamın her aşamasında bilgisi, deneyimleri ve katkılarıyla şartları iyiye çeviren değerli hocam ve tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Seval MÜSÜROĞLU'na,

Çalışmamızın deneysel aşaması için tüm imkanları sağlayan Mersin Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı'na, Doç. Dr. Leyla ŞAHİN'e ve Arş. Gör. Özge Selin ÇEVİK'e değerli yardımları ve katkıları için,

Bu sabır gerektiren zorlu süreçte yanımda olan, desteklerini esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
TABLOLAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Öğrenme ve Bellek.....	3
2.1.1. Bellek türleri	3
2.1.1.1. Kısa süreli bellek	3
2.1.1.2. Uzun süreli bellek	4
2.1.2. Hipokampus	4
2.1.2.1. Hipokampusun yapısı	4
2.1.2.2. Hipokampusun öğrenme ve bellekteki yeri	6
2.1.3. NMDA reseptörleri ve öğrenme	6
2.1.4. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör ve öğrenme.....	8
2.2. Kafein.....	8
2.2.1. Kafeinin tarihsel süreci	10
2.2.2. Kafein metabolizması	10
2.2.3. Kafeinin organizmaya etkileri.....	11
2.2.3.1. Sinir sistemi uyarıcısı olarak kafein.....	11
2.2.4. Ergojenik destek olarak kafein.....	12
2.2.5. Güvenli kafein alım düzeyleri.....	13

2.3. Egzersiz.....	14
2.3.1. Egzersizin kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi	15
2.3.2. Egzersiz Süresince Uygulanan Kafein Takviyesi	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplar	19
3.2. Kafein Uygulaması	20
3.3. Treadmill Egzersiz Uygulaması.....	21
3.4. Morris Su Tankı Testi	22
3.5. Açık Alan Testi	26
3.6. Real Time PCR Yöntemi ile Hipokampal NR2A, NR2B ile BDNF Düzeylerinin Araştırılması	27
3.6.1. Dokulardan Total RNA İzolasyonu	28
3.6.2. Elde edilen RNA dan cDNA sentezi.....	28
3.6.3. Sentezlenen cDNA'ların β -aktin yada Gapdh primerleri kullanılarak PCR için uygunluklarının belirlenmesi.....	29
3.6.4. cDNA lardan çalışmaya konu olan genlerin ekspresyon düzeylerinin real-time kantitatif PCR ile gösterilmesi (RT- qPCR).....	30
3.7. İstatiksel Yöntem	30
4. BULGULAR.....	30
4.1. Vücut Ağırlığı Takibi.....	30
4.2. Tüketilen Su ve Yem Miktarı	31
4.3. Morris Su Tankı Testi Bulguları	31
4.3.1. Öğrenme performansının değerlendirilmesi	31
4.3.2. Hafıza işlevinin değerlendirilmesi	33
4.4. Açık Alan Testi Bulguları.....	34
4.5. RT-PCR ile hipokampal NR2A, NR2B ve BDNF gen ekspresyon bulguları	35
5. TARTIŞMA.....	38

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	44
7. KAYNAKLAR.....	45
EKLER.....	61
EK-1. Etik Kurul Raporu.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	65



TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.2. Çeşitli İçeceklerin Kafein İçerikleri.....	9
--	---



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.2. Hipokampusun Üstten, Enine Kesitten, Sağdan Görünümü (Soldan Sağa Sırayla).....	4
Şekil 2.1.2.1.1. Dentat Gyrus Ve Moleküler Görünümü.....	5
Şekil 2.1.2.1.2. Hipokampusun CA1, CA2, CA3 Bölümleri.....	5
Şekil 2.1.3. Glutamat Reseptörleri Ve Sinaptik Plastisite Gösteren Nöron.....	7
Şekil 2.2. Kafeinin Açık Kimyasal Yapısı.....	9
Şekil 3.4.1. Morris Su Tankı Testi 1.Gün (Alıştırma Günü) Prosedürü.....	25
Şekil 3.4.2. Morris Su Tankı Testi 2, 3, 4 Ve 5. Gün Prosedürleri.....	26
Şekil 3.4.3. Morris Su Tankı Testi 6.Gün Prosedürü.....	27
Şekil 3.5.1. Açık Alan Testi Prosedürü.....	28
Şekil 4.3.1.1. Morris Su Tankı Testi Total Kat Edilen Mesafenin Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	33
Şekil 4.3.1.2. Morris Su Tankı Testi Platformu Bulma Süresinin Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	33
Şekil 4.3.1.3. Morris Su Tankı Testi Yüzme Hızlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması...34	
Şekil 4.3.2. Morris Su Tankı Hafıza Testi Performanslarının Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	34
Şekil 4.4.1. Açık Alan Testi Total Kat Edilen Mesafenin Gruplar Arası Karşılaştırılması.35	
Şekil 4.4.2. Açık Alan Testinde Merkezde Geçirilen Sürenin Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	36
Şekil 4.4.3. Açık Alan Testinde Merkeze Giriş Çıkış Sayısının Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	36
Şekil 4.5.1. Hipokampal NR2A Gen Ekspresyon Bulguları.....	37
Şekil 4.5.2. Hipokampal NR2B Gen Ekspresyon Bulguları.....	37
Şekil 4.5.3. Hipokampal BDNF Gen Ekspresyon Bulguları.....	38

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1.1. Standart Sıçan Kafesi.....	20
Resim 3.1.2. Deney Grupları.....	21
Resim 3.2. Kullanılan Kafein, Kafein Tartımı, Kafein Homojenizasyonu.....	22
Resim 3.3. Treadmill Egzersizde Kullanılan Koşu Bandı.....	23
Resim 3.4. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Laboratuvarında Bulunan Morris Su Tankı Testi ve Bulunduğu Oda.....	24
Resim 3.5.1. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Laboratuvarında Bulunan Açık Alan Testi.....	27
Resim 3.6. İzole Edilen Beyin Dokusu, Sağ-Sol Beyin, Korteksinden Ayrılan Hipokampus.....	29

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklama
K	Kontrol grubu
Kf	Kafein grubu
E	Egzersiz grubu
KfE	Kafein+egzersiz grubu
PND	Postnatal dönem
CA	Cornu ammonis
MSTT	Morris su tankı testi
PT-PCR	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
NMDA	N-metil-D-aspartat
Simgeler	Açıklama
β	Beta
%	Yüzde
α	Alfa
\geq	Büyük eşit

ÖZET

ADOLESAN SIÇANLARDA KAFEİN TÜKETİMİ VE FİZİKSEL EGZERSİZİN HİPOKAMPAL ÖĞRENME VE DAVRANIŞ ÜZERİNE ETKİSİ

Fatma BAKIR

Amasya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Yüksek Lisans, Ocak 2023
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Seval MÜSÜROĞLU

Kafein çoğu yiyecek, içecek, gıda takviyesi ve ilaç bileşiminde bulunan, özellikle gençlerde giderek kullanımı artan psikostimülan bir maddedir. Sinir sistemi üzerinde kafein, adenosin reseptörleri üzerinde antagonistik etki göstererek adenosinin etkisini bloke eder. Kafein dayanıklılığı, performansı ve gücü artıran ergojenik bir bileşik olarak egzersiz üzerinde etkilidir. Egzersiz kişilerin belirli amaç doğrultusunda sağlıklı olmak, zinde kalmak için planladıkları fiziksel aktivitenin alt dalıdır. Düzenli yapılan egzersizin insan vücudunda oluşturduğu yaygın etkilerin yanında öğrenme ve bellek işlevleri üzerine de olumlu etkileri olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada egzersiz uygulaması ile birlikte kafein takviyesinin öğrenme, bellek ve anksiyete davranışı üzerine etkisi araştırıldı. Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alındıktan sonra Postnatal 28 günlük, Wistar albino erkek sıçan (n=28); kontrol grubu (K), kafein grubu (Kf), egzersiz grubu (E), kafein+egzersiz grubu (KfE) olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı (n=7). Kafein içme suyunda çözdürülerek (0.3 g/L), Kf ve KfE gruplarına 4 haftalık deney prosedürü boyunca verildi. Koşu bandı egzersizi E ve KfE gruplarında, haftada 3 gün olacak şekilde 4 hafta uygulandı. Egzersiz şiddeti 0.5 km/h olarak ayarlandı. Deney prosedürünün ardından sıçanların öğrenme ve bellek performansları Morris Su Tankı Testi (MSTT) ile anksiyete düzeyleri ise açık alan testi ile değerlendirildi. Açık alan testinden sonra anestezi altında sıçanların beyin dokusu dekapite edilerek hipokampus dokusu çıkartıldı ve dokular -80C^ode saklandı. Real time PCR yöntemi ile hipokampus dokusunda N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri NR2A, NR2B ile beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) gen ekspresyon düzeyleri araştırıldı. MSTT'nde grupların öğrenme ve bellek işlevleri açısından anlamlı farklılık bulunmadı (p>0.05). Açık alan testinde, merkezde geçirilen süre KfE grubunda, merkeze giriş çıkış sayısı E ve KfE gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük olarak bulundu (p<0.05). Hipokampal NR2A, NR2B ve BDNF gen ekspresyon düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi (p>0.05). Egzersiz uygulaması ile birlikte verilen kafeinin anksiyete davranışına neden olduğu ancak öğrenme ve bellek performansı ile hipokampal NR2A, NR2B, BDNF gen ekspresyon seviyelerini adolesan sıçanlarda etkilemediği sonucuna ulaşıldı.

Anahtar kelimeler: Kafein, Egzersiz, Hipokampus, Öğrenme ve Bellek

ABSTRACT

EFFECT OF CAFFEINE SUPPLEMENTATION DURING TREADMILL EXERCISE ON HIPPOCAMPAL DEPENDENT LEARNING/MEMORY FUNCTION AND HIPPOCAMPAL GENES EXPRESSION LEVELS IN ADOLESCENT RATS

Fatma BAKIR

Amasya University, Institute of Health Sciences
Department of Molecular Medicine, MSc, January/2023
Supervisor: Assist. Prof. Seval MUSUROGLU

Caffeine is a psychostimulant substance that is found in most foods, beverages, supplements and drugs, and its use is increasing, especially in young people. On the nervous system, caffeine blocks the effect of adenosine by acting antagonistically on adenosine receptors. Caffeine is effective on exercise as an ergogenic compound that increases endurance, performance, and strength. Exercise is a sub-branch of physical activity that people plan to be healthy and fit for a specific purpose. It is known that regular exercise has positive effects on learning and memory functions as well as the widespread effects it creates on the human body. In this study, the effect of caffeine supplementation along with exercise application on learning, memory and anxiety behavior was investigated. After approval from Mersin University Animal Experiments Local Ethics Committee, Postnatal 28 days old Wistar albino male rat (n=28); they were randomly divided into 4 groups as control group (C), caffeine group (Cf), exercise group (E), caffeine+exercise group (CfE) (n=7). Caffeine was dissolved in drinking water (0.3 g/L) and administered to the Cf and CfE groups throughout the 4-week experimental procedure. The treadmill exercise was applied 3 days a week for 4 weeks in the E and CfE groups. Exercise intensity was set at 0.5 km/h. After the experimental procedure, the learning and memory performances of the rats were evaluated with the Morris Water Tank Test (MWTT), and their anxiety levels were evaluated with the open field test. After the open field test, the brain tissue of the rats was decapitated under anesthesia, the hippocampus tissue was removed and the tissues were stored at -80°C. N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors NR2A, NR2B and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene expression levels were investigated in hippocampus tissue by real-time PCR method. In MWTT, no significant difference was found in terms of learning and memory functions of the groups ($p>0.05$). In the open field test, the time spent in the center was found to be lower in the CfE group, and the number of entrances and exits to the center was lower in the E and CfE groups compared to the control group ($p<0.05$). There was no significant difference between the groups in terms of hippocampal NR2A, NR2B and BDNF gene expression levels ($p>0.05$). It was concluded that caffeine given with exercise application caused anxiety behavior but did not affect learning and memory performance and hippocampal NR2A, NR2B, BDNF gene expression levels in adolescent rats.

Key words: Caffeine, Exercise, Hippocampus, Learning and Memory

1. GİRİŞ

Öğrenme iç ve dış uyaranlara karşı merkezi sinir sisteminin gösterdiği en güçlü ve en önemli yanıt [1]. Nörofizyolojik olarak öğrenme ise deneyimler sonucu kimyasal, elektriksel ve yapısal bazı değişikliklerle yeni sinaptik bağların oluşmasıdır [2]. Bellek ise öğrenilen bilgilerin santral sinir sisteminde depolanması ve gerektiğinde geri çağrılabilmesi durumudur. Öğrenme ve bellek ile ilgili nöronal değişimlerin sinaps düzeyinde oluştuğuna dair çalışmalar mevcuttur [3]. Bir sinir ağının aktivitesi, nöronlar arasındaki iletişimi aktaran sinaptik sinyallerin ve nöronun girdi-çıkı transfer fonksiyonunu belirleyen nöron bazlı içsel akımların bir sonucudur [4].

Öğrenme ve belleğin oluşumunda rol alan hipokampus, santral sinir sisteminin önemli bir parçasıdır [5]. Hipokampus kısa süreli belleğin uzun süreli belleğe çevrilmesini ve yeni bilginin kalıcı olarak depolanması gerçekleşinceye kadar zihnin onu tekrarlamasını sağlayan sinyaller oluşturur [6].

Kafein günümüzde sıkça kullanılan, kullanım alanları hızlı bir şekilde artan, yaygın bir merkezi sinir sistemi uyarıcısı olarak öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını modüle eden ve bilişsel işlevleri artıran ergojenik destektir [7]. Kafeinin öğrenme, hafıza, performans ve koordinasyon üzerindeki etkileri, daha çok uyarılma, uyanıklık ve yorgunluk üzerindeki metilksantin etkisi ile ilgilidir. Kafein, metilksantine karşı kişisel hassasiyete göre değişen anksiyete ve uyku üzerinde bariz etkiler gösterir [8]. Kafein, uyku yoksunluğu koşulları altında bazı kişilerde bilişsel ve fiziksel performansı iyileştirebilir. Aynı zamanda kafeine hassas kişilerde kafein alımını takiben uyku bozukluğu veya kaygı davranışı görülebilir. Bu durum kafein metabolizması ile ilişkili genetik varyasyona ve fiziksel ve psikolojik tepkiye bağlanabilir [9]. Ortaokul çocuklarında yapılan bir çalışmada alınan kafein ile stres, kaygı ve depresyon arasındaki ilişki kurulmuştur [10]. Kafeinin çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda nöron koruyucu etki gösterdiği, alzheimerda nörotoksiteye karşı koruyucu olduğu bulunmuştur. Adenozin ve N-metil D-aspartik asit (NMDA) reseptörlerinin bloke edilmesi ve ryanodin reseptör aktivasyonunun nöron koruyucu bu mekanizmadan sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir [11]. Egzersiz çalışmalarının öğrenme düzeylerine olan potansiyel etkileri sürekli olarak araştırılan bir alana dönüşmüştür Yapılan fiziksel egzersizin etkilerinin gerçekleştirilen egzersiz tipine bağlı olduğu bilinmektedir [12]. Birden fazla seansta yapılan egzersizin hipokampus, prefrontal korteks ve amigdala'daki hücre sayısını artırabileceği, yaşlılık kaygısını ve depresyonu

azaltabileceği gözlemlenmiştir [13]. Yapılan bir çalışma sonucunda egzersiz eğitiminin Alzheimer hastalığının erken evrelerinde anksiyete, depresyon ve korku-kaçınma davranışı eksikliklerini önlemek için etkili bir yaklaşım olduğu sonucuna varılmıştır [14]. Egzersizin vasküler demanslı sıçanlarda anksiyete benzeri davranışı engelleyebileceği sonucuna ulaşılmıştır [15]. Meta-analizler ve sistematik incelemeler, egzersizin depresyon ve anksiyete bozukluklarının semptomlarını iyileştirebileceğini göstermektedir [16]. Egzersizin hafif ila orta dereceli depresyon için birinci basamak tedavi olarak antidepresan ilaçlara göre daha avantajlı olduğu ve ayrıca ilaçlara ek olarak kullanıldığında depresif semptomları iyileştirdiği gösterilmiştir [17]. Egzersiz kaygı için yararlı bir tedavi olabilir ancak titiz, metodolojik olarak sağlam çalışmaların eksikliği, etkinliği hakkında herhangi bir kesin sonuca varılmasını engellemektedir [18]. Alzheimerlı transgenik farelerde yapılan bir çalışmada, NMDA reseptör alt birimi olan NR2B seviyelerinin azaldığı; egzersiz uygulamasından sonra NR2B seviyelerinin önemli ölçüde arttığı ve böylece NMDA reseptör hasarının hafifleyerek bilişsel hafızanın iyileşebileceği bildirilmiştir [19]. Bunun yanında düşük ve orta şiddetteki egzersiz uygulamaları, immün sistemi düzenleyerek beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) ve diğer nörotrofik faktörlerin sentezini de arttırarak bilişsel fonksiyonlarda iyileşme ortaya çıkarmaktadır [20].

İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar, kafeinin yetişkinlerdeki davranışsal etkilerine ışık tutmaya devam etmektedir [21]. Fakat literatürde çocuklarda ve ergenlerde kafein güvenliğini değerlendiren ve kafein kullanımının kalp, kan basıncı, genel vücut fizyolojisi üzerindeki doza/tüketiciye bağlı etkilerini inceleyen çalışmalar yetişkinlere kıyasla daha azdır. Oysa ki bu grupta kafein ve kafein içeren ürünlerin tüketiminde artış söz konusudur [22]. Biz de bu bilgilerden yola çıkarak tez çalışmamızda; kafeinin ve/veya uygulanacak fiziksel egzersizin, adolesan sıçanlardaki hipokampal öğrenme ve davranış üzerine olası etkilerinin moleküler seviyede gen ekspresyonunu araştırmayı böylece hücresel seviyede değişiklik olup olmadığını belirlemeyi, glutaminerjik yolağın etkinliğini araştırmayı amaçlamış bulunmaktayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Öğrenme ve Bellek

Geçmişteki tecrübeler sonucu bilgi kazanma olayına öğrenme denir. Öğrenilen bilgilerin kalıcılığı ile ilgili kısımda ise bellek devreye girer: Bilgi bellekte sembolleştirilip kodlanır, depolanır ve hatırlanabilir hale gelir [23]. İnsanın en önemli bilişsel yetenekleri arasında yer alan bellek ve öğrenme birbirini tamamlayan süreçlerdir.

Beyinde birbiri ile bağlantılı olan nöronlar, sinir ağını oluşturur. Doğumdan ölüme kadar nöronların ve nöronlar arası sinaptik bağlantıların çeşitli uyaranların etkisinde sürekli değişikliğe uğramasına nöral plastisite denir. Nöral plastisite öğrenme, hafıza ve nörolojik hasar sonrası bozulan işlevlerin iyileştirilip çevresel değişikliklere uyum için kritik önem taşır [24]. Öğrenmede nöral plastisite, yeni sinaptik bağlantıların oluşması açısından önemlidir. Bilginin kalıcılığı için çeşitlendirilerek ve değiştirilerek yapılan tekrar daha fazla sinaptik bağlantı oluşturur. Nöral plastisitenin en fazla görüldüğü beyin bölgeleri hipokampus, amigdala, bulbus olfaktorius ve frontal korteks'tir. Yapılan her türlü zihinsel egzersizin, eğitimin, sosyal etkileşimin hipokampus hacmini ve nöral plastisiteyi arttırdığı; kalitesiz uyku, kötü beslenme, madde kullanımı, kaygı, depresyon ve stresin ise nöral plastisiteyi olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir [25].

2.1.1. Bellek türleri

Bellek genel olarak edinilen bilginin saklanma süresine göre ikiye ayrılır: Kısa süreli bellek, uzun süreli bellek. Uzun süreli bellek de bilgi içeriğine göre ikiye ayrılır: Bilinçli (açık) ve bilinçsiz (örtülü) bellek. Kısa süreli bellekte bilgilerin depolanma süresi saniyenin binde biri iken uzun süreli bellekte bu süre daha uzundur [23].

2.1.1.1. Kısa süreli bellek

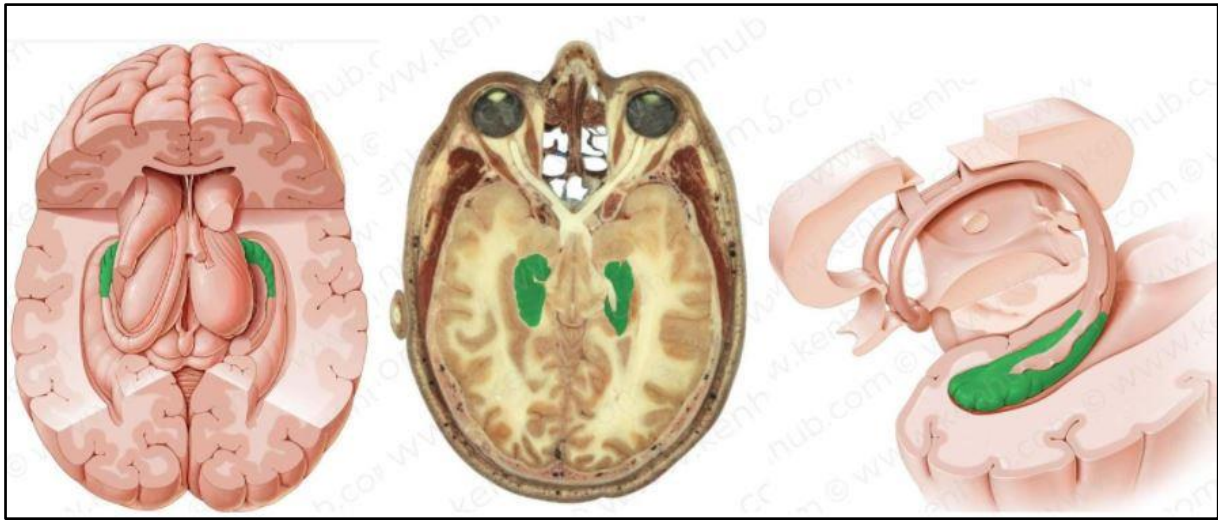
Bu bellek tipi, bilginin görüntülenmesi ve kısıtlı kapasitesi ile karakterizedir. Burada bilgi ya unutulur ya da tekrarlarla kısa süreli hafızada tutularak kodlanırsa uzun süreli belleğe transfer edilir. Kısa süreli bellekte iş yükü diğerlerine göre fazla kabul edilmektedir. Kısa süreli bellekten verim alabilmek için uygun stratejiler uygulanmalıdır. Beyinde yeni sinapsların oluşmasına zemin hazırlayan yapısal değişimler yoktur [26].

2.1.1.2. Uzun süreli bellek

Kısa süreli bellekteki bilgilerin art arda tekrarlanmasıyla meydana gelen depolamadır. Bir bilgi üst üste tekrarlarla öğrenilirse kendine yol açar ve daha sonra bu bilgiye yönelik bir uyarı geldiğinde tüm bilgi hatırlanır. Burada bilgiyi geri çağırma daha yavaştır. Uzun süreli bellekte sözcükler, taşıdıkları anlamlar ile saklanır. Aynı zamanda ses, koku, görüntülerin de saklanması mümkündür [23].

2.1.2. Hipokampus

Hipokampus bellekle ilgili konular, yön duygusunun gelişmesi ve bazı nörolojik hastalıkların patolojisi ile ilgili olan beynin en eski kısımlarından olan bir gri cevher tabakasıdır [27]. Hipokampusu içeren çalışmaların çoğunluğunu deney hayvanlarında oluşturulan çalışmalar oluşturmaktadır. Yetişkin bir insan beynindeki hipokampus 5-8 cm uzunluğunda iken; ratlarda üzüm tanesinin çekirdeği kadardır [28].



Şekil 2.1.2. Hipokampusun üstten, enine kesitten, sağdan görünümü (soldan sağa sırayla) [29]

2.1.2.1. Hipokampusun yapısı

Rodentlerdeki hipokampal oluşum, insanlardaki denizati şeklindeki hipokampal oluşumun arka-ön eksenine karşılık gelen, sırt-karın eksen boyunca uzanan at nalı benzeri kıvrık bir yapı oluşturmuştur [30].

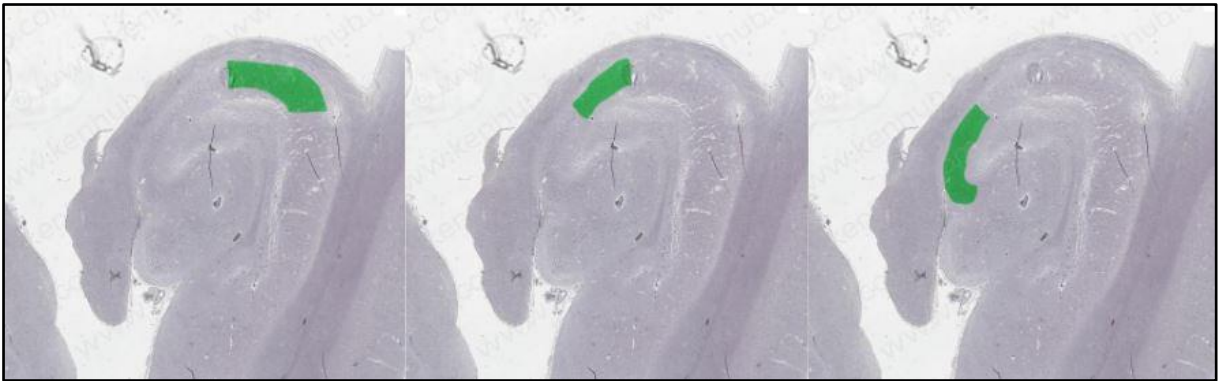
Anatomik olarak incelenen hipokampusun; ön bölgesindeki kalın ve dişli oluşuma pes hippocampi, yüzeyel çıkıntılara digitationes hippocampi ismi verilir. Hipokampusun

yüzeyi alveus tabakasıyla kaplıdır. Bu yapıların birleşmesi ile medial bölgeden dentat girus bölgesine uzanan fimbria hippocampi oluşur [31].



Şekil 2.1.2.1.1. Dentat gyrus ve moleküler görünümü [29]

Hipokampus, frontal kesitte C şeklinde bölüm içermektedir. Bu şekle koç boynuzunu andırmasından dolayı ‘Cornu Ammonis (CA)’ denmektedir. Buradaki ‘Ammon’ kelimesi koç başlı bir antik Mısır tanrısının adından gelmektedir. Hipokampus CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak işlevsel bölümlere ayrılmaktadır [31].



Şekil 2.1.2.1.2. Hipokampusun CA1, CA2, CA3 bölümleri (soldan sağa doğru) [29]

Papez 1937’de korteks ile subkortikal yapıları birbirine bağlayan, hayali devre olan ‘‘Papez devresi’’ teorisini ortaya atmıştır. Bu teori belleğin oluşumundaki yolakta nitelik olarak büyük etki göstermektedir. Kısaca Papez devresi bazı olaylardan sonra oluşan otonomik yanıtların nedenini açıklamaktadır. Bu duruma yaşanan mutluluk, üzüntü gibi

duyguların kalıcı hale gelme nedeninin açıklanması ya da limon yedikten sonra artan ağız içi salgısının neden olduğu gibi durumların açıklanması örnek teşkil etmektedir [28].

2.1.2.2. Hipokampusun öğrenme ve bellekteki yeri

Hipokampus limbik sistemin önemli bir parçasıdır; öğrenme, hafıza ve uzamsal programlama gibi yüksek beyin fonksiyonlarına aracılık eder. Bilginin kısa süreli bellekten uzun süreli belleğe aktarılmasında ve uzamsal navigasyonda kilit rol oynar [32].

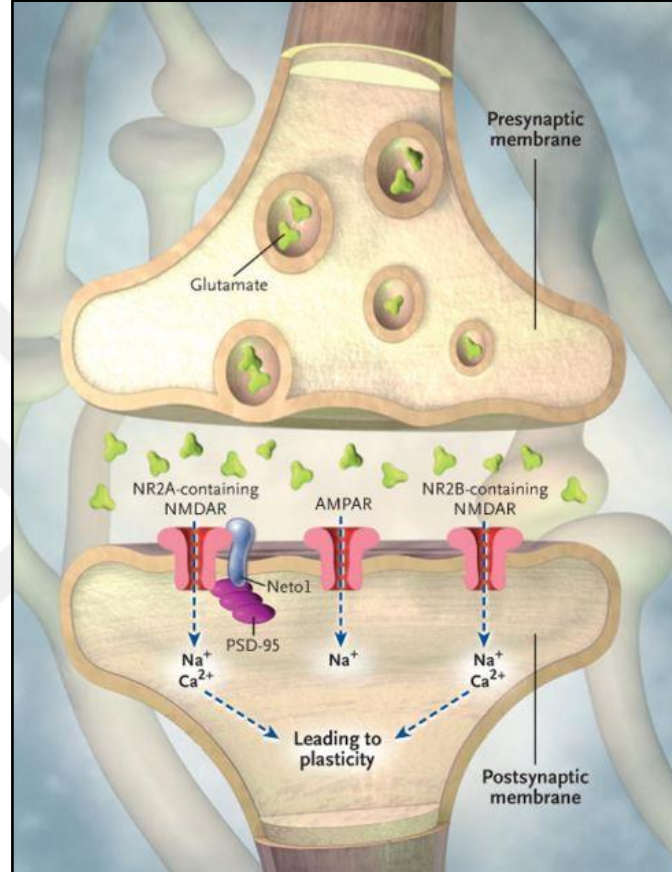
Hipokampus CA1 nöronları, uzamsal öğrenme ve bellek için gereklidir. CA1 bölge nöronları entorinal korteksten veya CA3 bölgesinden bilgileri alır ve işler. Sağlam bir CA3 ve CA1-CA3 bağlantısı referans bellek için mutlaka gereklidir. CA1 ve CA3'deki hücre sayılarının adolesan dönemden önce daha az olup bu dönemden sonra giderek artması adolesan dönemde uzamsal öğrenme ve belleğin geliştiğini göstermektedir [33]. Bildirilebilen-açık bellek olarak da bilinen deklaratif belleğe hipokampus aracılık eder. Deklaratif bellek ikiye ayrılır: Epizodik (anısal) ve semantik (anlamsal) bellek. Epizodik bellek herhangi bir olayın nasıl gerçekleştiği, ne zaman ve nerede olduğu gibi bilgileri içerir. Yeni bilgilerin öğrenilmesi, kodlanması, düzenlenmesi, eskilerle bağlantı kurulması ve bilginin geri çağırılması sonucu anılar hatırlanır. Semantik hafıza ise dünyaya ait gerçekler hakkındaki bilgiyi içerir [34]. Hipokampus hasarı ile hasardan önceki bilgiler hatırlanamayabilir, yeni bilgi öğrenilmesi ise engellenir. Ancak çok eski bilgilerin hatırlanması etkilenmez. Bu da hipokampusun bilgiyi kodladığı, konsolide ettiği ve hipokampus dışı bölgelere transfer ettiğinin göstergesidir [35]. Klinik olarak hafıza ve davranış problemleri ile kendini gösteren Alzheimer hastalığında hipokampus, ilk etkilenen bölgelerdendir [36].

2.1.3. NMDA reseptörleri ve öğrenme

Glutamat kimyasal sinapslarda veziküllerde depolanan ve aksiyon potansiyeline ulaştığında sinaptik aralığa salınan, beyinde en çok bulunan nörotransmitterdir. Glutamat reseptörleri; AMPA, NMDA, kainat ve metabolik Glutamat reseptörleri olarak sınıflandırılır. Bu reseptörlerden a-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazal-propionik asit reseptörü (AMPA) ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin genellikle hafıza, bellek ve öğrenme üzerinde etkili olduğu bilinmektedir [25].

Yapılan çalışmalar, hafıza oluşumunun postsinaptik nöronların yüzeyinde bulunan özellikle AMPA ve NMDA reseptörü içerdiğini göstermektedir. NMDA reseptörü, kanal

aktivitesinin hassas kontrolü yoluyla nöronal plastisite ve sinaptik sinyalleşmede önemli bir rol oynar [37]. Reseptör kompleksinde herbiri spesifik etki sağlayan yedi NMDA reseptör alt birimi tanımlanmıştır: NR1 alt birimi, dört tane NR2 alt birimi (NR2A, NR2B, NR2C, NR2D) ve iki tane NR3 alt birimi (NR3A ve NR3B) [38].



Şekil 2.1.3. Glutamat reseptörleri ve sinaptik plastisite gösteren nöron [39]

Orta dozda kafein tüketimi, özellikle glutaminerjik sinapslarda sinaptik plastisiteyi kontrol eden adenosin A2A reseptör blokajı ile ilişkilendirilen farklı psikiyatrik bozukluklarda fayda sağlar [40].

NMDA reseptörünün bloke edilmesi sinaptik plastisiteyi bozduğu; öğrenme ve hafızayı tehlikeye attığı sıçan beyninde tespit edilmiştir. Bunun yanında, NMDA reseptör aktivasyonu belleği geliştirir [41]. Beyin yaşlandıkça, NMDA reseptör sistemi giderek hipofonksiyonel hale gelir ve potansiyel olarak bellek ve öğrenme performansında yaşa bağlı daha fazla düşüşe katkıda bulunur. NMDA reseptör hipofonksiyonunun, kodlama ve konsolidasyonun etkinliğini daha uzun süreli depolamada düzenleyen nöral mekanizmaları tercihli olarak etkileyebilmektedir [42]. Diyet takviyesi yoluyla magnezyum L-treonatın (MgT) alımının beyindeki NR2B'yi artırabileceğini, hafıza açıklarını tersine

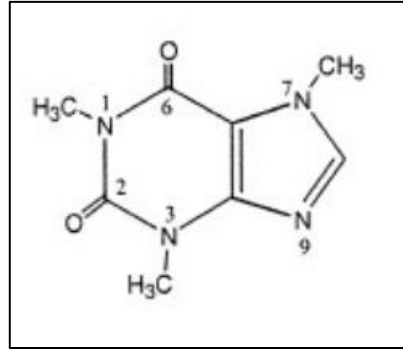
çevirebileceğini ve bilişsel yetenekleri geliştirebileceğini düşündürmektedir [43]. Çevresel zenginleştirilmenin farelerin beyinlerinde NR2B'yi artırarak hafıza ve öğrenmeyi iyileştirdiği sonucuna varılmıştır [44]. NR2B/NR2A oranı, ilişkisel öğrenme ve bilişsel yeteneklerle ilişkilidir [45]. NR2B alt biriminin ön beyine özgü aşırı ekspresyonuna sahip yaşlı transgenik farelerde, hipokampal uzun süreli güçlenme (Long Term Potentiation); yeni nesne tanıma testinde, bağlamsal ve işaretli korku koşullandırma testinde, uzamsal referans çalışma belleğinde daha iyi performans sergilemektedir. Bu durum ön beyindeki artan NR2B ifadesinin, yaşlı beyinde öğrenme ve hafıza işlevini geliştirdiğini göstermektedir [41].

2.1.4. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör ve öğrenme

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), hafızada yer alan önemli moleküllerden biridir. Farklı yapılara bağlı olan farklı bellek türlerindeki geniş rolü ve farklı bellek aşamalarına dahil olması, BDNF'yi bilişsel bozuklukları ve kaygıyla ilişkili bellek bozukluklarını tedavi etmek için olası bir hedef haline getirmiştir [46]. BDNF, pre-, post-ve perisinaptik olarak hareket ederek hem hipokampal hem de kortikal fizyoloji üzerinde etkilere sahiptir. BDNF, yetişkin memeli beyinde öğrenme ve hafızanın altında yattığı düşünülen morfolojik modifikasyonlarla tutarlı bir şekilde kalıcı yapısal değişiklikleri indükler [47]. BDNF, membran reseptör ekspresyonu ve translokasyonunda BDNF ile indüklenen değişiklikler ve ayrıca sinaptik plastisiteyi etkileyen hücresel etkileri kolaylaştırmak için birlikte hareket eden birkaç yolu aktive ederek hafızayı etkiler [48].

2.2. Kafein

Kafein tüm dünyada sık tüketilen, periferik ve santral sinir sistemi üzerinde uyarıcı etki göstererek uyanıklığı artıran psikostimülan bir maddedir [49]. Kimyasal yapısı 1,3,7 trimetilksantin olan bir pürin alkoloittir [50].



Şekil 2.2. Kafeinin açık kimyasal yapısı [50]

Kafeinin tercih edilme nedenleri arasında uyanıklığı ve dikkat düzeyini artırması, yorgunluğu azaltması ile fiziksel performansı geliştirebilmesi sıralanabilmektedir [51]. Kafeinin önemli kaynakları kahve çekirdeği, çay yaprağı, kola meyvesi, kakao tohumları; az miktarlarda da yerba mate ve guarana bitkileridir [52]. Ayrıca kafein, bazı ağrı kesiciler, soğuk algınlığı ilaçları, diyet supplementleri de dahil bir dizi farmakolojik preparatın ve reçetesiz ilacın da bileşiminde bulunur [53].

Kafeinin genel tüketimi bitkisel kaynaklı özlerin içeceği şeklindedir. Gıdalardaki kafein miktarı ürünün türüne, porsiyonuna ve hazırlama metoduna, ürünün üretim standartının olup olmamasına göre değişebilmektedir. Tüm bunların yanında insanların farklı kültürel alışkanlıkları ve çevresel şartları da kafein tüketim seviyelerini etkilemektedir.

Tablo 2.2. Çeşitli içeceklerin kafein içerikleri [54]

Kafein kaynağı içecekler	Ortalama kafein içeriği (mg)
Demlenmiş kupa kahve (480 ml)	265
Kafeinsiz kupa kahve (480 ml)	10
Espresso (30 ml)	40
Sıcak kakao (360 ml)	12
Demlenmiş çay (480 ml)	105
Latte çayı (480 ml)	100
Kolalı içecekler (360 ml)	35
Enerji içecekleri (250 ml)	80

2.2.1. Kafeinin tarihsel süreci

Kafein uyarıcı etkilerinden dolayı yüzyıllardır kullanılan bir maddedir. Tüketimine ilişkin ilk verilerin Çin’de, MÖ 2700’lerde yaprakları kaynatılarak içilen çay olduğu kabul edilmektedir. Ancak 8. yüzyılın ortalarında, Etyopyalı Çoban Khaldi’nin kahve bitkisini keşfi ile gerçek manada kafein insan hayatına girmiştir: Kaynatılan kahvenin suyu tıbbi amaçlı kullanılmış ya da gıdalara eklenmiştir. Kahvenin kavrulup, pişirilip, içilmeye başlanması yani günümüzdeki tüketim şekli ise kahvenin Arap Yarım Adası’na ulaşmasından sonraya -11.yy’a- rastlamaktadır. Genelde çay ve kahve formlarında tüketilen kafein, 16. yüzyıl başında Azteklerin çikolatayı üretmesi, 19. yüzyıl sonlarında ise gazlı içeceklere eklenmesiyle birlikte beslenmenin önemli bir parçası olmuştur [55].

Gün geçtikçe tat verici özelliğinden dolayı soğuk kahve, soğuk çay, kolalı içecekler, enerji içecekleri, çikolatalar, kakao gibi dünya genelinde yaygın olarak tüketilen yiyecek ve içeceklere eklenmiştir. Bu da kafeinin yetişkinlerdeki artan kullanımını yanı sıra çocuklardaki kullanımını da hızla artırmıştır [56].

Kafeinin böyle yaygın olarak birçok yiyecek ve içekte bulunması aslında fark edilmeden yüksek dozlarda kafein alınmasına sebep olmaktadır. Bu durum alınan kafeinin kullanılan çoğu ilaç ile etkileşime girmesine ve uygulanan tedavilerin olumsuz sonuçlanmasına da yol açabilmektedir [57].

2.2.2. Kafein metabolizması

Kafeinin büyük bir kısmı mide ve ince bağırsaktan hızla emilir, kan-beyin bariyerini geçer ve vücuttaki tüm dokulara dağıtılır. Kafein metabolizması ilk olarak karaciğer mikrozomal enzimleri tarafından gerçekleşir [58]. Kafeinin metabolize edilmesiyle oluşan paraksantin (% 80), teobromin (% 15) ve teofilin (% 4) metabolitleri; basit difüzyonla beyin, testis ve fetüs gibi hücrelere taşınır. Kafein anne sütü, plasenta ve amniyotik sıvıda da bulunur [59]. Gebelikte kafein kullanımı ile ilgili yapılan bir çalışma, kullanılan kafeinin çocukluk çağı lösemilerinde etkili olabileceğine dair kanıtlar sunmuştur [60]. Kafeinin yarılanma ömrü yaklaşık 4-6 saattir [61]. Adolesan dönemde bu sürenin 2.5-4.5 saat, yenidoğan döneminde 23 saat olabileceği bildirilmektedir. Bu süreç kadınlarda erkeklere göre % 20-30 oranında daha azdır. Ciddi karaciğer rahatsızlığı olanlarda kafein vücutta birikerek yarılanma ömrü uzar [62]. Sigara kullanımı, diyet içeriği, hamilelik, oral kontraseptiflerin kullanımı gibi faktörler de kafeinin yarılanma ömrünü etkiler [63]. Vücuda alınan kafeinin sadece %10’u metabolize edilmeden atılır [64].

2.2.3. Kafeinin organizmaya etkileri

Toplumun genelinin her yaş grubunda kendilerine hitap eden yiyeceklerin tüketimiyle oluşan kafein maruziyeti; zihinsel, fiziksel durumlara sebep olur. Genel olarak kafeinin insan sağlığı üzerine yorgunluğu azalttığı, uyanıklık süresini uzattığı, odaklanmayı artırdığı, hafızayı ve fiziksel çalışmalarını kuvvetlendirdiği yönünde çalışmalar mevcuttur [65].

2.2.3.1. Sinir sistemi uyarıcısı olarak kafein

Kafeinin etki mekanizmasında en çok kabul gören açıklama, kafeinin adenozin üzerine antogonistik aktivitesidir. Adenozin ile kafein arasındaki yapısal benzerlik, kafeinin adenozin reseptörlerine bağlanabilmesi için olanak tanır ve böylelikle adenozinin etkisini bloke eder [66].

Uykunun başlatılması ve sürdürülmesiyle ilişkili bir nöromodülatör olan adenozin; vücutta merkezi sinir sistemi, vasküler endotel, kalp, karaciğer, yağ dokusu ve kas gibi çoğu dokuda sentezlenir [61]. Kafein adenozin reseptörlerini antagonize ederek merkezi sinir sistemi stimülasyonu, metabolizma ve solunum hızında artma, diürez ve kan basıncında yükselme gibi etkiler gösterir. Böylece uyuşukluğu önleyip, uyanıklığı artırır [67]. Adenozinin down regülasyonu sinir uyarısını azaltır. Kafein, plazma katekolamin seviyesini artırır, bu durum hipertansif kişilerde adrenokortikotropin ve kortizol düzeylerini artırır [52]. Kronik kafein alımı, adenozin reseptörlerinin sayısını artırarak endojen üretilen adenozinin etkisini de artırır. Adenozin-kafein dengesinin sağlanabilmesi için de yine kafein alımının artırılması gerekir. Hal böyleyken kafein alımının birden azaltılması adenozin reseptörlerini boşa çıkarır ve bu durumda adenozinin etkisi hakim olur [68].

Kafeinin psikoaktif etkinliğini adenozin reseptörlerine bağlanan dört farklı G-proteini çiftinden (A1, A2A, A2B, A3) olan adenozin A1 reseptör blokajı ile yaptığı bilinmektedir. Adenozin A1 reseptörleri beyinde hipokampus, korteks, serebellum ve hipotalamusta bulunur [69]. Kimyasal yapı bakımından adenezine benzeyen kafein, bu özelliğiyle merkezi ve periferal sinir sistemi hücre membranlarında bulunan adenozin reseptörlerine bağlanarak; uyarıcı etkisini gösterir [59].

Yaşın ilerlemesiyle beyinde meydana gelen demans, Alzheimer, Parkinson gibi dejeneratif hastalıklara karşı kafeinin koruyucu rol üstlendiği ve demansın seyrini etkileyebildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Beyin, kafeinin etkilerine duyarlı bir

organdır. Yapılan bir çalışmada, ham kafeinin Alzheimer hastalığı için kullanılan fare modellerinde 2 ay süreyle uygulanmasının beta amiloid birikimini ve hafıza zayıflamasını azalttığı gösterilmiştir [70].

2.2.4. Ergojenik destek olarak kafein

Günümüzde amatör veya profesyonel birçok sporcu, kaybettikleri enerjiyi kazanmak ve başarıya ulaşmak için farklı stratejiler uygulamaktadır. Bunlardan biri de ergojenik desteklerdir. Ergojenik sözcüğünün Yunanca karşılığı 'iş üretmek' tir. Ergojenik besin takviyeleri/destekleri sıvı, toz, tablet, kapsül, jel, çubuk formlarına sahip doğal ve günlük beslenme gıda maddelerinin formlarıdır [71]. Bunlar egzersiz ve spor performansını, fiziksel görünümü pozitif yönde etkileyen, hastalık oluşumu ve yaralanmaları önleyen, stresle baş etmeyi sağlayan ögeler olarak pazarlanmaktadır. Kafein de bu tanıma uygun olarak uyarıcı özelliğinden, yağ asitlerinin kullanımını arttırmasından dolayı ergojenik bir destek olarak egzersiz öncesi kullanılmaktadır. Yağ asitleri birincil enerji kaynağı olarak kullanıldığında, glikojenin idareli kullanımı sağlanır yani glikojen yedekte kalır. Böylece yorgunluğun ortaya çıkması geciktirilir. Kafein beslenme destek ürünleri sınıflamasında, etkinliği olan ve vücut ağırlığını azaltan grubun kesişiminde yer alır [54]. Daha önceki yıllarda sporda, performans artışı için kullanılan kafein, eşit rekabet koşullarını ortadan kaldırdığı için yasaklanmış ve sporcuların idrarlarındaki kafein düzeyi $\geq 12\text{mg/ml}$ olduğunda sporcular dopingli sayılmıştır. Ancak 2004'ten sonra Dünya Doping Mücadele Ajansı (WADA), kafeini yasaklı maddeler listesinden çıkararak yalnızca müsabaka içinde kullanılmak şartıyla İzleme Programı kapsamına dahil etmiştir [72]. Ayrıca idrarda belirtilen kafein miktarına normal beslenmede var olan kafeinle ulaşamayacağı ancak 2 saat içinde peşpeşe 6-8 kupa kahve içilmesiyle ulaşabileceği bildirilmektedir. Alınan kafein, 2 saat içinde diüretik etki göstermekte ve bu etki 24 saat sürmemektedir. Son kurallara göre sporcular sıcak havalarda egzersiz boyunca dehidrasyon endişesi olmadan, önerilen sınırları aşmadan (300-350 mg/gün) kahve tüketebilmektedirler [54].

Yüksek yoğunluklu takım sporcularında egzersiz öncesi yaklaşık 2-6 mg/kg kafeinin dayanıklılık, güç ve performans artışı sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca kullanılan kafeinin uzun süreli dayanıklılık egzersizlerinde, kısa süreli anaerobik egzersizlere göre daha etkin rol oynadığı rapor edilmiştir [73]. Düşük dozdaki kafeinin (1-3 mg/kg); atletik performansı, dayanıklılığı ve zihinsel hesaplamayı artıran ergojenik bir yardımcı olduğu

kanıtlanmıştır [74]. Erkek sporcuların dahil edildiği, kafeinin dayanıklılık performansı üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, 3 g/kg olan kafein dozunu 6 g/kg'a çıkarmanın performansa ek bir iyileştirme sağlamadığı sonucuna ulaşılmıştır [75].

2.2.5. Güvenli kafein alım düzeyleri

Kafeinin organizma üzerine etkilerinde özellikle önemli olan, günlük tüketilen kafein miktarıdır. Genelde içeceklerle alındığından, günlük tüketilen içecek miktarlarının farklı olması ve içeceklerdeki kafein miktarlarının da birbirinden farklı olması günlük dozu direkt olarak etkilemektedir [65].

Tüketilen kafein miktarı; kişinin yaşı, cinsiyeti, beslenme alışkanlıkları ayrıca kafeinin kaynağı ve iklim gibi bazı durumlarda değişiklik gösterebilmektedir. Yetişkinlere önerilen kafein miktarı 200-300 mg/gün iken; küçük çocuklara ve gebelere önerilen (güvenli aralığı) 100-200 mg/gün'dür [55]. Düzenli kafein kullanımı olmayanlarda kafeinin kan basıncını artırıcı ve hafif bir diüretik etkisi etkisi varken; düzenli kullananlarda bu etkilere tolerans geliştiği bilinmektedir [76].

Kahve çok yüksek dozlarda (7 gr.) alındığında ölümcül olabilmektedir fakat günlük kahve, çay ve çikolata tüketerek belirtilen doza ulaşmak çok zordur [77]. Alınan kafein miktarının artması (>1000 mg/gün) ve kafein metabolizmasının azalmasıyla kafeinin toksik etkileri gelişebilmektedir [78]. Kafeinin toksik dozda tüketilmesi idrar volümü ve sodyum atımında artışa, halüsinasyonlara, kaygı artışına, bulantı ve gerginliğe, psikoza, kas yıkımına, gastrointestinal rahatsızlıklara; yerinde duramama, kıpır kıpır olma, aşırı heyecan ve coşku hissetme, tedirginlik-huzursuzluk haline, kas seyirmeleri, taşikardi ve ritim bozuklukları gibi olumsuz etkilere sebep olabilmektedir [79]. Kafeinin düşük (100 mg) veya orta dozlarda (200-300 mg) alınması ise iyilik haline, enerji artışıyla beraber konsantrasyonda ve uyanıklıkta artış gibi olumlu sonuçlara neden olmaktadır [40].

Kronik kafein kullanımında olumlu ya da olumsuz olarak yaşanan bu etkilerden bazılarının tolerans gelişirken diğerlerine gelişmeyebilmektedir. Tolerans geliştiren yetişkinler, kafeini artan oranlarda kullanarak tüketime devam edebilmektedir [80].

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından hazırlanan, Diyet Ürünler/ Beslenme ve Alerji Paneli raporunda kafein miktarı ile ilgili olarak 200 mg/gün (3 mg/kg) tek doz kafein alımının genel yetişkin popülasyonu için güvenlik endişesi yaratmayacağı belirtilmiştir. Düzenli tüketimde 400 mg/gün (5.7 mg/kg) kafein tüketiminin de gebeler hariç sağlıklı yetişkinlerde herhangi bir sorun yaratmayacağı bildirilmiştir. Gebe ve

emzicklilerde 200 mg/gün kafein alımının fetüs için güvenli olduğu açıklanmıştır. Çocuk ve ergen alt popülasyonundaki yapılan çalışmaların sınırlı olduğu belirtilerek; yetişkinlerde akut tüketim için türetilmiş dozun (3 mg/kg) çocuklar ve ergenler için de endişe edilmeyecek kafein alım düzeyi için temel olabileceği, sadece yatma saatine yakın 1.5 mg/kg kafeinin tüketimiyle uyanıklığı artırıp uyku süresini azaltabileceği bildirilmiştir. Ayrıca çocuklarda alınan kafeinin çikolata ve kolalı içeceklerden geldiği, ergenlerde ise buna enerji içeceklerinin de eklendiği vurgulanmıştır [81].

Yetişkinlerde 400 mg/gün ve üzerinde, 12-18 yaş arası adolesanlarda 100 mg/gün ve üzerinde ve 12 yaş altında 2.5 mg/kg/gün ve üzerinde kafeinin toksisiteye sebep olabileceği de bildirilmektedir [82].

2.3. Egzersiz

Egzersiz ve fiziksel aktivite genellikle birbiri yerine kullanılsa da eş anlamlı değildirler. Egzersiz; zinde ve sağlıklı olmak, bu hali sürdürmek, geliştirmek için istemli olarak yapılan, bireysel olarak bir amaç doğrultusunda önceden planlanmış, yapılandırılmış fiziksel aktivitenin alt dalıdır [83]. Fiziksel aktivite ise bazal düzey üzerinde enerji harcamayı gerektiren, iskelet kaslarının kasılmasıyla yapılan, her türlü kas hareketini içeren bedensel hareketlerdir. Bu hareketler bahçe işleri, yük taşıma, spor aktiviteleri gibi örneklendirilebilir [84].

Yapılan egzersizle beraber adrenalin ve noradrenalin salınımı, oksijen kullanımı, karbondioksit üretimi artar, parasempatik sinir sistemi aktivitesi azalır, kan pH'sı artar, glikojen başta olmak üzere vücuttaki enerji depoları azalır ve reaktif oksijen radikalleri artar. Egzersiz 4 türe ayrılır; aerobik/dayanıklılık egzersizi, kuvvet (direnç) egzersizi, denge egzersizi, hareketlilik(esneklik) egzersizi [83]. Oksijen varlığında büyük kas gruplarının uzun süreli, ritmik ve devamlı aktivitesine aerobik egzersiz denir. Bu tür egzersizler kalp ve akciğerlere yüklenerek bu organların daha fazla çalışmasına neden olur. Örnek olarak yürüme, koşma, kır kayağı, bisiklet sürme gösterilebilir. Haftanın 3 günü, 30 ila 40 dakika arasında yapılan aerobik egzersizin, maksimal aerobik güçte başta %50 sonrasında %80 oranında bir artış sağladığı, bu artışın kalp atım hacmi artışı dolayısıyla kalp dakika hacmi artışı (%15) ile karşılanmakta olduğu gösterilmiştir [85]. Aerobik egzersizlerin koordinasyon, vücut yağ oranı, genel fiziksel yeterlilik ve görünüm, kuvvet, esneklik, dayanıklılık gibi genel sağlık ve kendine güven üzerinde olumlu etkisinin olduğu bilinmektedir [86]. Uzun dönemde sürekli yapılan aerobik egzersizin obez orta yaş ve

menopoz dönemindeki kadınlarda anaerobik güç değerlerini olumlu yönde değiştiği gözlenmiştir [87].

Kuvvet egzersizleri ise kas kuvvetinin gelişmesini ve dayanıklılığının artması için doğru kurgulanmış bir antrenman döngüsü ile direnç uygulayarak yapılır [84]. Ağırlık ve spor salonu ekipmanları ile çalışma, yukarı itme-çekme, çömelme, ve elastik direnç bantları ile yapılan egzersizler bu gruba girer [83]. Kuvvet antrenmanları organizmada çeşitli fiziksel ve fizyolojik değişiklikler oluşturur. Kas hacmindeki artışın yanı sıra kasın enine kesit alanının artması (hipertrofi) da bu durumun örneğidir [88].

Düşmelere karşı merkezi kas gruplarını güçlendiren egzersizlere denge egzersizleri denir. Bu egzersizler denge ve özduyumu iyileştirir. Topuk-topuk yürüyüşü veya TaiChi (taiji veya taichichuan) gibi egzersizler bu gruba girer [83]. Düşme ve hareket problemine sahip yaşlılarda düşmelere bağlı yaralanma riskini azaltmak için denge egzersizleri haftada iki defa yapılmalıdır [89].

Esneklik antrenmanları ise sportif performansın olduğu kadar günlük yaşamın da önemli etkinliklerindedir. Esneklik egzersiz eğitim programları, bir eklem veya bir dizi eklem hareketlerini tam hareket açıklığı yoluyla içeren, böylece ana kas-tendon birimlerini hedef alan programlar olarak tanımlanır [90].

2.3.1. Egzersizin kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi

Düzenli egzersizin hemen hemen vücudumuzdaki tüm sistemleri olumlu etkilediği bilinir. Bunlar gelişmiş kardiyovasküler sağlık, yüksek kemik mineral yoğunluğu, obezite, kanser, felç ve diyabet riskinin azalması gibi sıralanabilir. Tüm bu bilinenlere rağmen insanların çoğu hareketsiz kalmayı tercih edebilmektedir. Kişilerin egzersiz yapmaya başlaması için ihtiyaç duyduğu teşvik, egzersizin beyin işlevini geliştirmenin ve korumanın bir yolu olduğunu gösteren araştırmalarca olabilir [91]. Diğer canlılardan farklı bir şekilde insanlarda kognitif gelişim, hayat standartları ve duygu durumu birbiriyle yakından ilgilidir. Kognitif fonksiyonlar, yirmili yaşlarda en yüksek seviyeye ulaşır [92]. Ancak yaşlanma, nörolojik bozukluklar, sistemik hastalıklar, depresyon, ağır stres, cinsiyet, eğitim süreci, alkol ve sigara, sedanter yaşam, sosyal aktivite, mesleki yorgunluk ve uyku bozuklukları gibi nedenlerle kognitif gelişim olumsuz yönde etkilenebilmektedir [93].

Egzersizin beyin fonksiyonları üzerine olan olumlu etkileri, bellek ve kavrama işlevlerini güçlendirdiği bilinmektedir [94]. Egzersizin nöronları çeşitli beyin hasarlarından koruduğu, nöronal hücreleri aktive ettiği, nörojenezi desteklediği, beyin plastisitesini

arttırdığı ve bilişsel işlevi geliştirdiği bilinmektedir [95]. Yapılan bir çalışma, koşu bandı egzersizinin hipokampus ve prefrontal kortekste NMDA reseptör ekspresyonunu arttırdığını göstermektedir [96]. Başka bir çalışmada da egzersizin hipokampustaki NMDA reseptörlerini aktive edebildiği ve NMDA reseptörünün fosforlanmış formunu arttırdığı saptanmıştır [37]. Egzersiz, hem doğrudan hem de dolaylı mekanizmalardan BDNF ekspresyonunu ve onun akış aşağı hücresele yollarını kolaylaştırmaya yardımcıdır [97].

Yaşa bağlı nöron disfonksiyonu ve dejenerasyonu, bazı durumlarda bilişsel gerilemeye ve kişilik değişikliklerine neden olabilir. Beyin, nöronları besleme ve koruma, nöronal plastisiteyi artırma, öğrenmeyi geliştirme ve beyinin genel bakımına yardımcı olma yeteneğine sahip destekleyici moleküller üretebilmektedir. Büyüme faktörleri protein sınıfında yer alan nörotrofik faktörler nöronlar üzerinde etki gösterir [91]. BDNF beyinde en fazla bulunan nörotrofik faktördür [98]. Yapılan egzersize yanıt olarak BDNF ve diğer büyüme faktörlerinin artan ifadesiyle egzersiz; beyin hasarına karşı direnç gösterdiği, nöronların ömrünü uzattığı ve bütünlüğünü koruduğu, vaskülarizasyonu kolaylaştırdığı, nörogenezisi uyardığı, öğrenmeyi güçlendirdiği ve yaşlanma sırasında bilişsel fonksiyonları korumaktadır [99].

Bilişsel işlev egzersiz ve diyet gibi enerji metabolizmasındaki değişikliklerle ilişkili birçok yaşam tarzı faaliyetinden etkilenmektedir. Wistar cinsi erkek sıçanlarda yapılan 6 haftalık bir çalışmada, eş zamanlı olarak diyet kısıtlaması (iki günde bir oruç tutma-EODF) ve gönüllü egzersizin (koşu tekerleği) hipokampusta uzamsal hafıza oluşumu ve BDNF seviyeleri üzerindeki birleşik etkileri araştırılmıştır. Tek başına gönüllü egzersizin hipokampusta kısa, orta, uzun vadeli hafıza oluşumunu ve BDNF protein seviyelerini önemli ölçüde artırdığı gözlenmiştir [100]. Egzersiz ile ulaşılan yüksek fiziksel uygunluk beyin hacmini artırmasının yanında sinir sisteminin fonksiyonel bağlantılarını da geliştirmektedir [101]. Egzersiz duygusal anlamda bireye kendisini daha iyi hissettirmekte ve böylece kognitif fonksiyonlar üzerine psikolojik durum doğrudan etkili olabilmektedir [102]. Fiziksel hareketsizliğin artması, insanları artan hastalık riskine yatkın kılmaktadır. Egzersizin kognitif fonksiyonlar üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 6 hafta boyunca her haftanın 3 günü günde 40 dakika/1 seans şeklinde uygulanan kombine aerobik ve denge egzersizlerinin bireylerin beyindeki hemoglobin düzeyini arttırdığı ve bu durumun kognitif fonksiyonlara ve duygu durumuna olumlu yönde etki ettiği sonucuna ulaşılmıştır [103]. Çocuklarda uygulanan egzersiz de serebral kan akımı ve sinaptik aktiviteleri uyarak mental süreçlerin hızlanmasını sağlamaktadır [104]. Kombine bilişsel

ve fiziksel egzersiz müdahaleleri, hafif bilişsel bozukluğu veya demansı olan yaşlı erişkinlerde bilişsel faydalar sağlama potansiyeline sahiptir [105]. Yaşlanmayla oluşan bilişsel bozulmaya karşı egzersizin direnç sağladığı gösterilmiştir [106]. Parkinson hastalarında fiziksel egzersiz programlarının bilişsel işlevler üzerindeki etkilerini kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak belirlemeyi amaç edinen çalışmada fiziksel egzersiz programları, 6 yıldır hafif-orta evrede Parkinson hastalarında genel bilişsel işlev, işlem hızı, sürekli dikkat ve zihinsel esneklik üzerinde olumlu ve anlamlı etkiler sağladığı, ayrıca 24 hafta boyunca haftada 3 kez yaklaşık 60 dk gerçekleştirilen koşu bandı eğitiminin, bilişte daha büyük gelişmeler sağladığı görülmüştür [107]. Orta şiddette aerobik egzersizin üç ay boyunca haftanın üç günü günde 40 dk bisiklet sürme ile sağlandığı çalışmada, egzersizin 50-80 yaşları arasında kognitif bozukluğu olan hafif Alzheimerlı yaşlılar üzerinde yapılan çalışmada bilişsel işlev üzerinde iyileştirici etkisi olduğu gösterilmiştir [108].

Egzersiz, vücutta değişime neden olabilen evrensel bir aktivitedir. Egzersizin beyin moleküler mekanizmalarını ve işlevini etkileyebileceği temel mekanizmaları anlamak, insan bilişsel sağlığının optimizasyonuna izin verecek ve egzersiz uyumluluğunu iyileştirecektir [91].

2.3.2. Egzersiz Süresince Uygulanan Kafein Takviyesi

Egzersiz sırasında kullanılan kafeinin lipolizi artırarak glikojen kullanımına olan bağımlılığı azalttığı, kas içi yağ oksidasyonunu anlamlı derecede artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur [109]. Bir diğer çalışmada egzersiz sırasında alınan kafeinin beta endorfin seviyelerini yükseltmesiyle ağrı hissini azaltıp; performans artışı sağladığı rapor edilmiştir [110].

Orta yoğunlukta bir yüzme egzersizi protokolü ve kafein takviyesi uygulanan orta yaşlı sıçanların serum sitokin seviyelerinin araştırıldığı çalışmada kafeinin sıçanların kas ve karaciğerinde oksidatif strese neden olmadan sitokin düzeylerini modüle etmede olumlu adaptasyonlar sağladığı sonucuna ulaşılmıştır [111]. Kafein ve fiziksel aktivitenin kalp morfolojisi ve kardiyovasküler yanıt üzerine etkilerinin incelendiği bir başka çalışma sonucunda gruplar arasında kan basıncı ve kalp atış hızlarında değişiklik olmadığı; kafeinin hemodinamik yanıtı değiştirmede, fiziksel egzersizin sempatik tepkileri azalttığı ve kalp ağırlığını göreceli arttırdığı tespit edilmiştir [112]. Diyabetik sıçanlarda kafein ve fiziksel egzersizin glisemik ve insülin yanıtları üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği

çalışmada, kafeinin (IP 6 mg/kg) kardiyovasküler yanıtı değiştirmediği ancak 60 dakika sũren egzersizden sonra kan şekerindeki dũřũřũ arttırdiği saptanmıştır. Çalışma sonucu, kafeinin diyabette glisemik kontrol ve insũlin kontrolũ için potansiyel olabileceğine işaret etmektedir [113]. Kafein yũksek yoğunluklu interval antrenman (HIIT)'da kas kasılması için önemli yolları modũle etmektedir [114]. HIIT protokolũnũn ardından kafein alımı kısmen de olsa immũn ve inflamatuvar değişiklikleri azaltmaktadır [115]. Kronik dũřũk yoğunluklu egzersizin yanı sıra kronik kafein alımı, soleus kasında kas hasarını ve inflamatuvar infiltrasyonu azaltmaktadır [116].

Ergenlik döneminde başlayan kafein tũketimeinin ve fiziksel egzersizin dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB)'nda davranış bozukluklarını iyileştirmede ve nöroplastisiteyi uyarmada potansiyel olduğu bildirilmektedir [117]. Doğum ncesi kafein alan dişi sıçanların yavrularında lokomotor aktivitede artma ve Morris Su Tankı Testi (MSTT)'nde gizli platforma daha hızlı ulaşma tespit edilmiştir [118]. Diğer taraftan doğum öncesi dönemde kafein tũketimeinin, yeni nesne tanıma testinde 24 saatlik bellek performansını, radyal kol labirentinde çalışma ve referans belleği bozduğu ve MSTT'de ise performansını değiştirmediği bulunmuştur [119].

İncelenen çalışmaların çoğu, kafeinin yetişkinlerde ve yaşlılarda hem kısa hem de uzun sũreli bellek üzerinde önemli bir olumlu etkiye sahip olduğunu öne sũrmektedir [120]. Kafein ve egzersiz kombinasyonunun preoptik alan ve termoregũlatuar merkez olan anterior hipotalamustaki vũcut sıcaklığı, oksijen tũketimei, kuyruk derisi sıcaklığı ve hũcre dışı dopamini artırmıştır. Noradrenalin egzersiz sırasında artarken, ne kafein ne de egzersiz serotoninini değiştirmemiştir [121]. Yũksek yoğunluklu aralıklı antrenmanın (HIIT) ve kafein takviyesinin, diyabetik sıçanlarda egzersizi beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) ve glial çizgi kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF) seviyelerini arttırdiği ancak kafein alımının nörotrofik faktörler üzerinde anlamlı bir farklılık oluşturmadiği sonucuna ulaşılmıştır [122]. Kronik kafein alımının farelerin uzun sũreli hafızasını geliştirdiği, beyin oksidatif sistemini koruyarak bilişsel gerilemeyi azalttığı ama hareket aktivitesini veya keşif davranışını değiştirmediği tespit edilmiştir [123]. Kafein (10 mg/kg ve 15 mg/kg), epizodik benzeri belleğin zamansal ve uzamsal yönlerinin konsolidasyonunda iyileşmeye yol açar ve epizodik benzeri hafıza bileşenlerini kolaylaştırır [124]. Yũzme egzersizi ve kafein uygulamasının orta yaşlı sıçanlarda hafızayı geliştirip geliştirmediğini araştırmak için tasarlanan bir çalışmada, kafeinin egzersizle geliştirilmiş uzun sũreli hafıza ve konum hafızasını baskıladığı sonucuna ulaşılmıştır [125]. Kafeinin uyku yoksunluğu kaynaklı

hipokampusu bağlı öğrenme ve hafıza açıkları üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada düşük dozda kafeinin uzun süreli kullanımının, akut uykudan mahrum bırakılmış sıçanlarda kısa süreli hafıza bozulmasını önlediği tespit edilmiştir [126]. Yaşlı sıçanlarda kognitif fonksiyonlar üzerine agmatin takviyesi ve egzersizin etkilerinin incelendiği çalışmada, MSTT’de 2. gün ve 3. gün toplam kat edilen mesafe ve platformu bulma sürelerinin agmatin+egzersiz grubunda daha düşük olduğu, BDNF seviyesinde ise anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur [127]. Ayrı ayrı kafein ve egzersizin bellek-öğrenme ve anksiyete üzerine etkileri araştırılmış olsa da bunların bir arada ve adolesanlar üzerinde incelendiği çalışmalar açık değildir. Bu amaçla bu çalışmada ılımlı dozdaki kafeinin adolesanlardaki bellek-öğrenme ve anksiyete üzerine etkisi araştırıldı.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplar

Çalışma Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (etik no: 2021/21) alındıktan sonra Mersin Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezinden sağlanan postnatal 28 günlük (PND 28) 28 adet adölesan (genç) Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar ile gerçekleştirildi.

Sıçanlar 20×40×15 cm ebatlarındaki kafeslerde barındırıldı. Beslenmelerinde standart sıçan pellet yemi ve içme suları herhangi bir kısıtlama olmaksızın kullanıldı. Sıçanların tüketilen su miktarları günlük, ağırlıkları ve tükettikleri yem miktarları da haftalık olarak takip edildi.



Resim 3.1.1. Standart sıçan kafesi

Deney süresince hayvanların bulunduğu odanın sıcaklığı $23 \pm 2^\circ\text{C}$ de sabit tutuldu ve hayvanlara 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsü uygulandı.

Deney protokolünün tüm aşaması Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı imkanları kullanılarak gerçekleştirildi. Bu çalışmada 28 adet PND 28 günlük genç Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar 4 gruba ayrılarak çalışıldı;

1. Kontrol grubu (n=7),
2. Kafein grubu (n=7),
3. Egzersiz grubu (n=7),
4. Kafein + egzersiz grubu (n=7).



Resim 3.1.2. Deney grupları (1.grup:Kontrol, 2.grup:Kafein, 3.grup:Egzersiz, 4.grup:Kafein+Egzersiz)

3.2. Kafein Uygulaması

PND 28 günlük sıçanların içme sularında çözdürülen kafein (0.3 g/L), 4 hafta boyunca uygulandı. Kullanılan kafeinin dozu insanlardaki 1-2 mg/kg'a denk gelip; bu miktar ılımlı derecede kahve tüketen bireye tekabül etmektedir [128].



Resim 3.2. Kullanılan kafein, kafein tartımı, kafein homojenizasyonu (soldan sağa doğru)

Sıçanların kafein tüketim miktarları günlük olarak ölçüldü. Kafein+egzersiz grubunda kafein uygulaması ile birlikte egzersiz uygulaması gerçekleştirildi.

3.3. Treadmill Egzersiz Uygulaması

Egzersiz uygulaması sıçanlara PND 28. günden itibaren başlatıldı. Egzersiz protokolü 4 hafta boyunca haftada 3 kez, günde 1 kere olmak üzere sıçanlar için 2 bölmeli özel koşu bandında gerçekleştirildi. Egzersiz şiddeti 4 hafta boyunca ~0,5 km/h olup; eğim artışı uygulanmadı [129].



Resim 3.3. Treadmill egzersizde kullanılan koşu bandı

Egzersiz uygulamasına başlamadan önce sıçanlar koşu bandı üzerinde ortamı tanımaları ve ortama alışmaları için 10-15 dakika kadar bekletilip, takiben egzersiz uygulaması başlatıldı. Egzersiz uygulaması birinci hafta 20 dk/gün peşpeşe 3 gün, ikinci hafta 50 dk/gün gūnaşırı 3 gün, 3. hafta 60 dk/gün peşpeşe 3 gün ve 4. hafta ise 60 dk/gün peşpeşe 3 gün olacak şekilde gerçekleştirildi. Egzersiz uygulaması tamamlanan sıçanların öğrenme bellek performansları MSTT ile anksiyete düzeyleri açık alan testi ile araştırıldı.

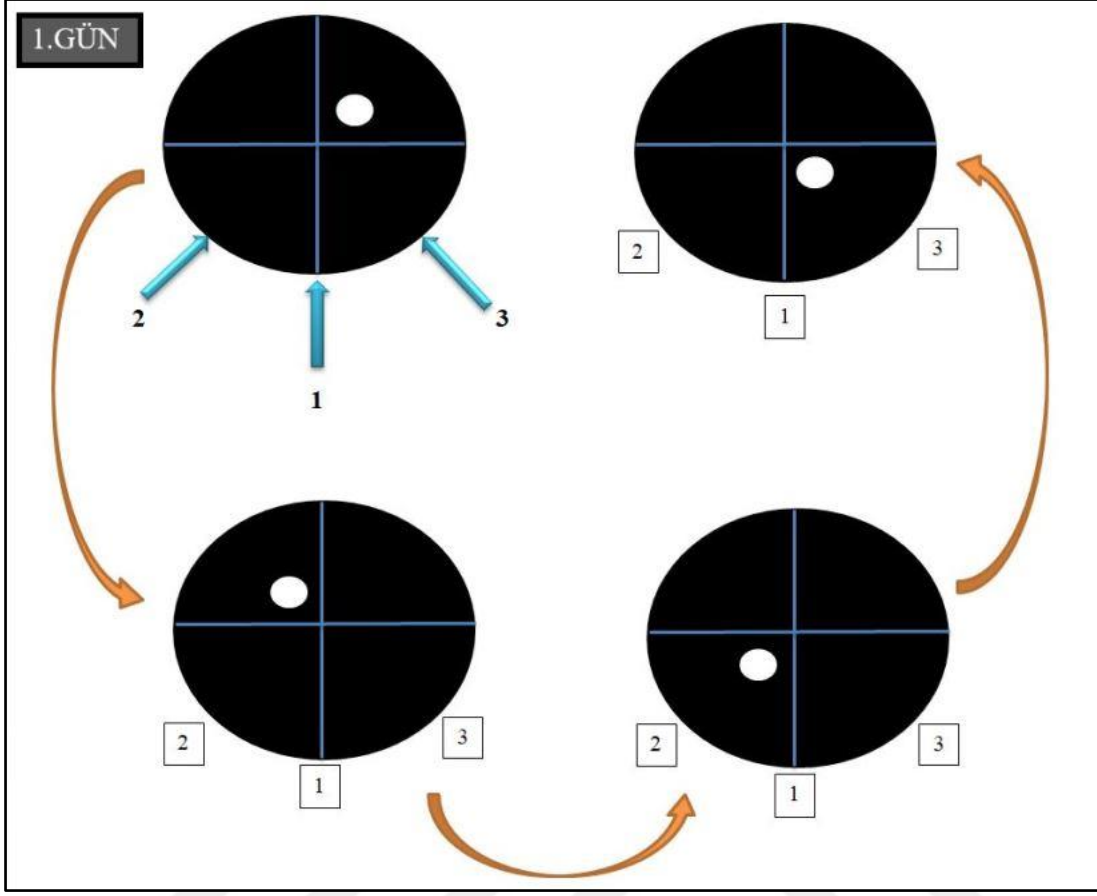
3.4. Morris Su Tankı Testi

Sıçanların öğrenme ve bellek performansının MSTT ile ölçümü amacıyla Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında bulunan 150 cm çaplı, 60 cm derinliğinde, sıcaklık kontrollü, paslanmaz çelikten yapılmış deneysel kullanıma özel bir su tankı kullanıldı. Bu tank 50 cm derinlikte ve 22 ± 1 C° sıcaklığında su ile dolduruldu. Tankın bulunduğu alanın -hayvanların suya bırakıldığı yer dışında- 3 duvarına görülebilir ve yerleri sabit görsel ipuçları (siyah karton üzerinde beyaz renkte üçgen, kare, daire şekilleri) yerleştirildi. Ayrıca tank odasının ışık standardizasyonunu sağlamak için gerekli aydınlatmadan ve siyah fon perdelerden faydalandı. Su tankını yukarıdan gören Noldus Ethovision yazılımına bağlı kameranın oluşturduğu görüntüler; bilgisayar ekranından doğu, batı, kuzey, ve güney olmak üzere dört eşit kadrana bölündü. MSTT 6 gün boyunca, hergün ortalama saat 09.00-14.00 saatleri arasında gerçekleştirildi.



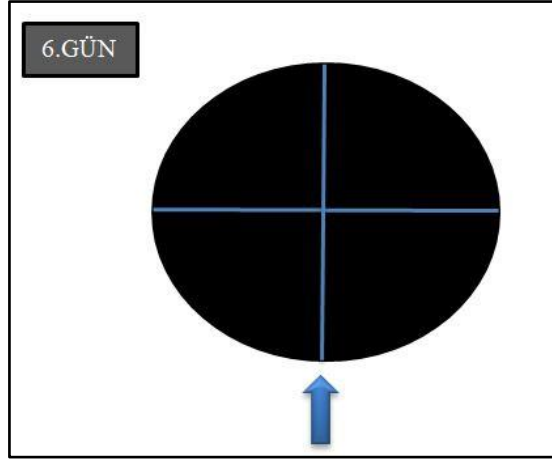
Resim 3.4. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Laboratuvarında bulunan morris su tankı testi ve bulunduğu oda

Deney modelinin ilk 5 gününde platform kullanıldı: Birinci gün görünür platform, 2-5. günler arası gizli platform. 6. gün ise işlemler platformsuz tankta gerçekleştirildi. Deneyin ilk günü alıştırma günü olarak uygulama yapıldı. İlk gün 15 cm çaplı platform, su seviyesinde güneydoğu yönünde ayarlandı. Dört grup sıçan birinci gruptan başlanarak sırasıyla tankın belirlenen ilk noktasından yüzleri tankın duvarına dönük olacak şekilde suya bırakıldı. Sıçanın 60 saniye içerisinde platformu bulması beklendi. Bu süre içerisinde sudan alındı; platformu bulamayan sıçanların ise plastik bir çubuk yardımı ile yönlendirilerek yükseltiyi bulmaları ve 5 saniye süreyle platform üzerinde kalmaları sağlandı. Aynı işlem belirlenen diğer noktalardan (2.işaretli ve 3.işaretli) tekrarlandı. Sonrasında platform diğer 3 kadrana (güneybatı, kuzeybatı, güneydoğu) konularak aynı uygulama devam ettirildi. Bu şekilde kadrana 4 kez yer değiştirdi ve her defasında belirlenen 3 noktadan tüm gruplar sırasıyla suya bırakılarak birinci gün alıştırma günü olarak tamamlandı (Şekil 3.4.1.).



Şekil 3.4.1. Morris su tankı testi 1.gün (alıştırma günü) prosedürü

Deneyin 2-5. günlerinde platform güneydoğu kadranına sabitlendi ve tanktaki su seviyesi platform suyun 1.5 cm altında kalacak şekilde artırıldı. Belirlenen 5 farklı yerden hayvanlar suya bırakıldı ve 60 saniyede platformu bulması beklendi. Bu süre içerisinde platformu bulamayan sıçanların platformu bulma süreleri 60 saniye olarak kaydedildi. Sıçanların 5 gün boyunca her atışta platformu bulma süreleri (sn), kat ettikleri toplam mesafe (cm) ve yüzme hızları (cm/sn) kaydedilerek analiz edildi (Şekil 3.4.2.).



Şekil 3.4.3. Morris su tankı testi 6.gün prosedürü

3.5. Açık Alan Testi

İlk girilen çevreye karşı oluşan davranışı ve motor yeteneği değerlendiren testlerden biri de açık alandır. Farelerdeki spontan lokomotor aktivitenin ve sedasyonun tespitinde, açık alan korkusunun sebep olduğu anksiyete kullanılır [130].

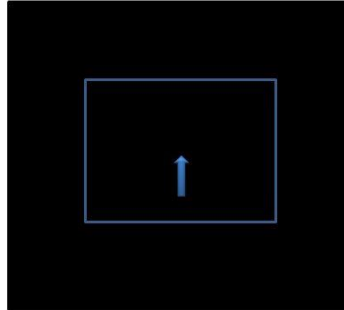
Açık alan testi Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Davranış Fizyolojisi Laboratuvarı'nda bulunan siyah opak pleksiglas akrilik levhadan yapılmış, 100 cm çaplı ve 4 kenarı yerden 40 cm yükseklikte olan düzeneğe ile gerçekleştirildi. Düzeneğin zemin ve merkez kadranı Noldus Ethovision XT kayıt sistemi yardımı ile kalibre edildi.



Resim 3.5.1. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Laboratuvarında bulunan açık alan testi

Sıçanlar, deneye başlanmadan önce, ortamı keşfetmeleri için 5 dk platforma bırakıldı. Sonrasında bu sıçanlar düzeneğin tam ortasına sırasıyla 10 dk süreyle birer kez

bırakıldı (Şekil 3.5.1.). Deney sırasında perdeler kapalı tutularak sıçanların araştırmacıyı görmemesi sağlandı ve 10 dk boyunca kayıt alındı.



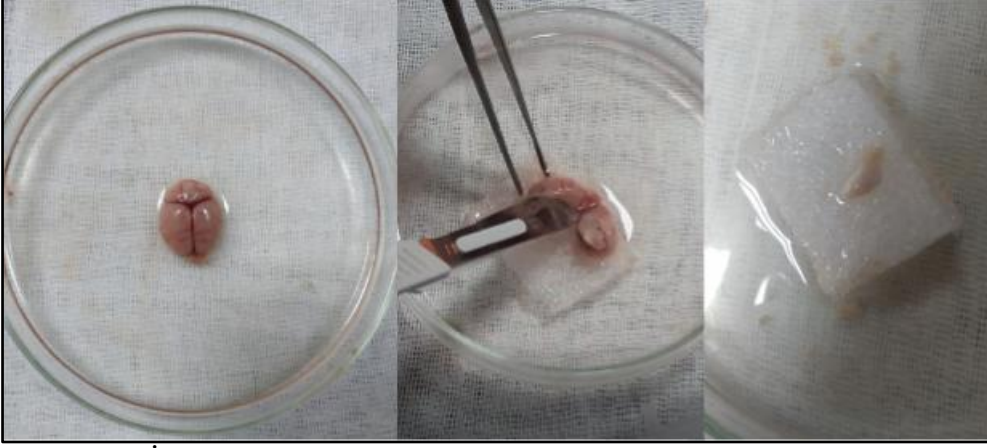
Şekil 3.5.1. Açık alan testi prosedürü

Sıçanların açık alanda toplam kat ettiği yol miktarı lokomotor aktivite olarak değerlendirildi, açık alanda geçirdikleri süre ise anksiyete davranışı için kullanıldı. Sıçanların kat ettiği toplam mesafe (cm) ve hızı (cm/s) cinsinden Noldus Ethovision XT kayıt sistemi ile ölçüldü [131]. Her hayvan uygulamasından sonra %20'lik alkol ile mekanizma temizlendi.

3.6. Real Time PCR Yöntemi ile Hipokampal NR2A, NR2B ile BDNF Düzeylerinin Araştırılması

Tüm gruplardaki sıçanlar ketamin ksilazin anestezisi altında dekapite edilerek sıçanların beyin dokuları çıkartıldı. Beyin, Buffer PBS (Phosphate Buffered Saline) çözeltisine alınarak beyinden hipokampus dokusu izole edildi. 1X PBS Hazırlanışı: 800 ml distilled H₂O içinde 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 1.44 g Na₂HPO₄ (dibazik-B) , 0.24 KH₂PO₄ (monobazik-A) maddeleri çözüldü. Ph 7.4 e ayarlandı. Distilled H₂O eklenerek volüm 1 litreye ayarlandı. Bu PBS 10 Mm dır. Çünkü tampondaki önemli komponent Na₂HPO₄ tür (177 Mm; NaCl, 2.7 Mm; KCl, 10 Mm;Na₂HPO₄, 2Mm;KH₂PO₄).

Çıkarılan beyin ortadan ikiye ayrıldı, korteks uzaklaştırıldı ve beyin sağ-sol hemisfer olarak ikiye ayrıldı . İzole edilen sağ ve sol hipokampus dokusu -80 C' de RT-PCR ile gen ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi için saklandı (Resim 3.6.). Hipokampusta NMDA reseptörleri NR2A, NR2B ve BDNF genlerinin ekspresyon düzeyleri araştırıldı.



Resim 3.6. İzole edilen beyin dokusu, sağ-sol beyin, korteksinden ayrılan hipokampus

3.6.1. Dokulardan Total RNA İzolasyonu

Total RNA izolasyonu sıçanların hipokampus dokularından, RNeasy Lipid Tissue Kit (Qiagen Inc., Valencia, CA) / TRIZOL (Invitrogen) ile manuel yöntemle gerçekleştirildi. Yöntem basamakları:

- Lizis tamponuyla ayrıştırılmak üzere dokudan homojenat elde edilir,
- Homojenat, 4500 rpm'de 10 dk santrifüjlenir,
- Hücrelere spin kolonda ekstraksiyon tamponu eklenip 42°C'de 30 dakika inkübe edilerek total RNA'nın spin kolona ekstraksiyonu sağlanır,
- RNA'nın santrifüjlenip çöktürülmesi 1000 rpm'de +4°C'de 2 dakikada gerçekleştirilir.
- Oluşan süpernatant Ribonükleaz free tüplere alınır,
- cDNA eldesi için -80°C'de muhafaza saklanır.

3.6.2. Elde edilen RNA dan cDNA sentezi

Miktar tayinleri yapılan RNA'ların tümünün saflık oranları belirlenip miktar ve saflık oranları cDNA eldesine uygun olan RNA'lardan cDNA sentezi şu şekilde gerçekleştirildi:

- Kalıp RNA: cDNA sentezinde kullanılacak RNA miktarlarının bütün örneklerde eşit olmasına dikkat edilerek,
- Random Hekzamer(0.2µg/µl) cDNA sentez primeri,
- Ribonükleaz inhibitörü(20 U/µl),

- d. dNTP karışımı (10mM),
- e. M-MuLV reverse transkriptaz (200 U/ μ l),
- f. dH₂O (reaksiyon son volümünü 20 μ l'ye tamamlayacak şekilde)' dan oluşan cDNA sentez karışımı hazırlanır. cDNA sentezi için uygulanacak PCR termal profili 25°C'de 10 dakika, 42°C'de 60 dakika ve 70°C'de 10 dakika termal cykler cihazında uygulanarak cDNA eldesi gerçekleştirilir.

3.6.3. Sentezlenen cDNA'ların β -aktin yada Gapdh primerleri kullanılarak PCR için uygunluklarının belirlenmesi

Sentezlenen cDNA'ların real time PCR (RT-PCR)'a olan uygunlukları iyi korunmuş ve tüm hücrelere aktarılan rat β -aktin'in RT-PCR ile ekspresyonunun gösterilmesi ile internal kontrol olarak test edildi. Uygulanacak yöntem aşağıda özetlenmiştir:

1. β -aktin RT-PCR için kullanılacak primer dizileri
 - a. F: 5'-GTGACGTTGACATCCGTAAAGA-3'
 - b. R: 5'-GCCGGACTCATCGTACTCC-3' dir.
 - c. Gapdh RT-PCR için kullanılacak primer dizileri
 - d. F:5'-AAGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3'
 - e. R:5'-GGGGTCGTTGATGGCAACA-3'dir.
2. Reaksiyon karışımı(total volüm 25 μ l);
 - a. dH₂O((DNase free)
 - b. 10Xreaksiyon Tamponu(MgCl₂süz)
 - c. MgCl₂ (2.5mM)
 - d. dNTP karışımı (10mM),
 - e. Primer F(25pmol)
 - f. Primer R(25pmol)
 - g. Taq DNA polimeraz(1U)
 - h. cDNA kalıp (2 μ l) olacak şekilde hazırlanır.
3. İlk denaturasyon 93°C/5 dk, denaturasyon 93°C/40 sn, bağlanma 56°C/40 sn, uzama 72°C/40 sn ve son uzama 72°C/5 dk olacak şekilde PCR uygulanır. Döngü sayısı 30, ürün büyüklüğü 320 bp'dir.

4. PCR sonrası elde edilen ürün agaroz jelde yürütülerek 320 bp'lik β -aktin bandı kontrol edilir.

3.6.4. cDNA lardan çalışmaya konu olan genlerin ekspresyon düzeylerinin real-time kantitatif PCR ile gösterilmesi (RT- qPCR)

Sentez edilen cDNA'lardan (NR2A, NR2B) BDNF genlerinin, ekspresyon düzeylerinin rölatif kantitasyonu ("Comparative CT ($\Delta\Delta$ CT)" analizi) her bir gen için ayrı ayrı belirlenen özgül primer ve prob dizileri kullanılarak Real Time PCR (ABI 7500, Applied Biosystem) ile gerçekleştirildi.

Metot hedef gen ve endojen kontrol ile pozitif RNA örneğine (TaqMan Human Control Total RNA-4307281 den sentezlenen cDNA) göre ekspresyon düzeylerindeki farklılıkları belirleme şeklindedir. Reaksiyon sonrası elde edilen $\Delta\Delta$ CT değerleri kullanılarak $2^{-\Delta\Delta$ CT hesaplanıp ve endojen kontrol ile referans RNA ya karşı araştırılan genin ekspresyon düzeyleri belirlenir.

3.7. İstatiksel Yöntem

Bu çalışmanın istatistiksel analizi SPSS programı ile yapıldı. Shapiro Wilk ($p > 0.05$) normallik testi ile verilerin normal dağılıma uygunluğu incelendi. Normal olarak dağılım gösteren veriler için, MSTT'deki denemeler boyunca (1., 2., 3., 4., gün) platformu bulma süreleri, kat edilen mesafe ve yüzme hızı gibi, grup içi tekrarlı ölçümlerde varyans analizi (ANOVA) yapıldı. MSTT de gruplar arası karşılaştırmalar ve gen ekspresyon seviyeleri için değişkenler tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey post hoc karşılaştırmaları ile yapıldı (anlamlılık $p < 0.05$ olarak belirlendi). Veriler, ortalama \pm SD olarak ifade edildi.

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı Takibi

Deney prosedürü boyunca sıçanların ağırlıkları haftalık ölçüldü ve analiz edildiğinde gruplar arasında ağırlık açısından anlamlı farklılık tespit edilmedi ($F_{3,28}=0.924$, $p=0.444$).

4.2. Tüketilen Su ve Yem Miktarı

Sıçanların günlük içtikleri su ve yedikleri yem analiz edildi. İçtikleri su ve yem açısından gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi (sırasıyla; $F_{3,28}=2.829$, $p=0.060$; $F_{3,28}=0.712$, $p=0.554$).

4.3. Morris Su Tankı Testi Bulguları

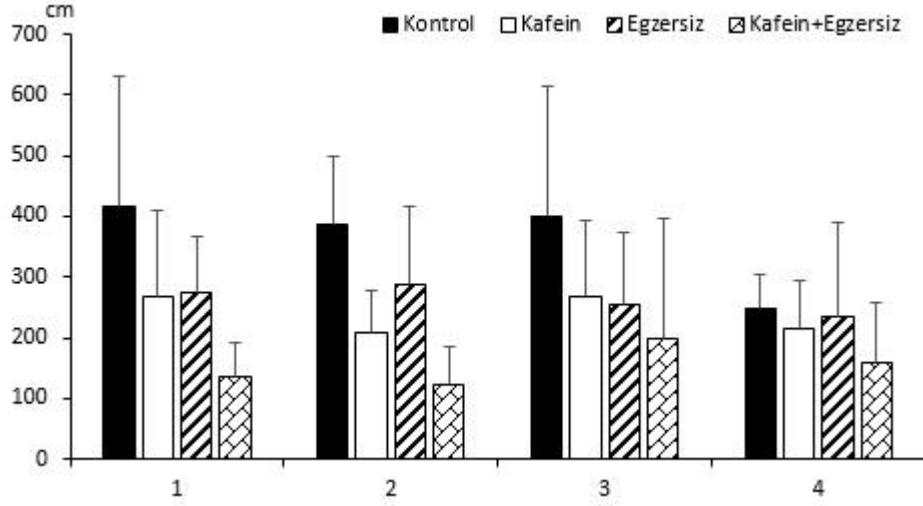
4.3.1. Öğrenme performansının değerlendirilmesi

Morris su tankı testinin 4 günlük öğrenme fazında kat ettikleri total mesafelerin ortalama değerlerinin günler arasındaki değişiminde anlamlı farklılık tespit edildi ($F_{1,32}=26.958$, $p=0.000$). Total kat edilen mesafenin günler arası farklılıkları; 1 ile 2., 3, gün arasında (sırasıyla; $p=0.000$; $p=0.009$; $p=0.000$) ve 4 ile 2., 3. gün arasında (sırasıyla; $p=0.001$; $p=0.000$) anlamlı farklı idi. Öğrenme fazında 1. günden 4. güne doğru kat edilen total mesafe azaldı (Şekil 4.3.1.1.).

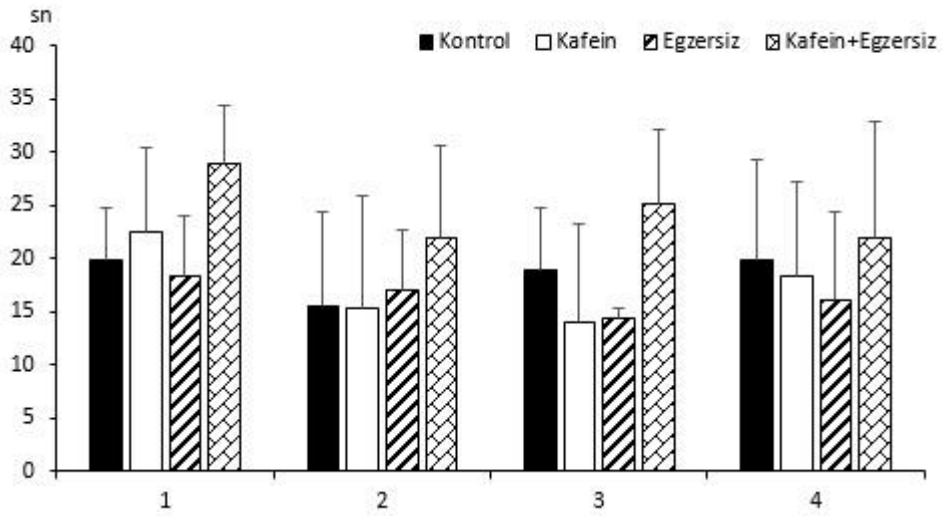
Öğrenme fazında sıçanların platformu bulmak için Morris su tankında geçirdikleri sürelerin ortalama değerlerinin günler arasında anlamlı farklı olarak tespit edildi. ($F_{1,28}=5.768$, $p=0.023$). Platformu bulmak için geçirilen sürenin günler arası farklılıkları; 1., 2., ve 3. gün ile 4. gün arasında idi (sırasıyla; $p=0.014$; $p=0.002$, $p=0.000$) (Şekil 4.3.1.2.).

Kontrol ve deney grubu sıçanların öğrenme periyodunda platformu bulmak için yüzerken sahip oldukları yüzme hızlarının ortalama değerleri arasında anlamlı farklılık tespit edildi ($F_{1,28}=4.360$, $p=0.046$). Yüzme hızları günler arası anlamlı farklılıkları; 1 ile 2., 3., 4., gün arasında (sırasıyla; $p=0.003$; $p=0.000$; $p=0.009$), 2 ile 3. ve 4. gün arasında (sırasıyla; $p=0.005$; $p=0.000$) ve 3 ile 4. gün arasında anlamlı farklı ($p=0.000$) idi. Yüzme hızı 4. günde en az olarak tespit edildi (Şekil 4.3.1.3.).

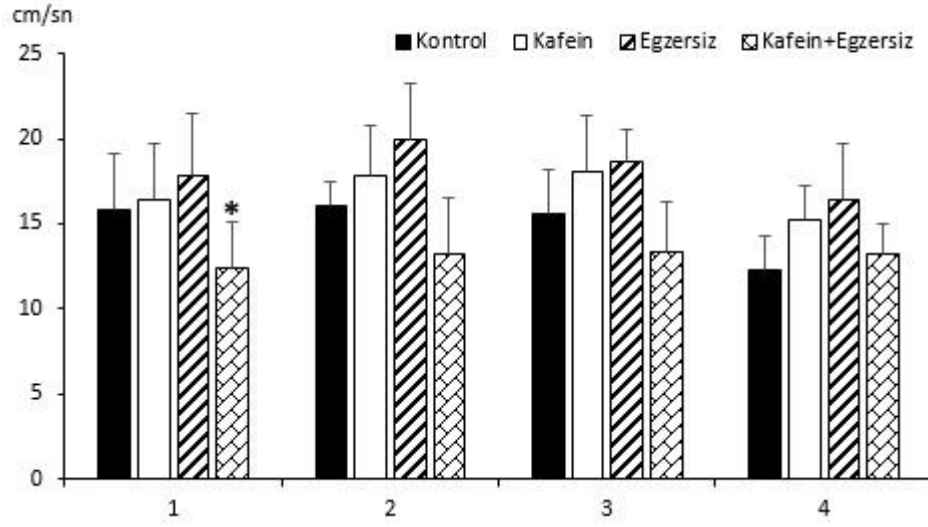
Morris su testi öğrenme fazında gruplar arası farklar sıçanların total kat ettikleri mesafeleri, platformu bulmak için geçirdikleri süre ve yüzme hızlarının analiz edilmesi ile elde edildi. Buna göre öğrenme fazında grupların total kat ettikleri mesafe ve platformu bulma süreleri açısından anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). Öğrenme fazında grupların yüzme hızları karşılaştırıldığında ise sadece 1. günde anlamlı farklılık tespit edildi ($F_{3,28}=3.779$, $p=0.024$). Kafein+egzersiz grubu ile kontrol ve kafein grubu arasında yüzme hızında anlamlı farklılık bulundu (sırasıyla; $p=0.05$; $p=0.038$). Öğrenme fazı 1. günde kafein+egzersiz grubunun yüzme hızı daha yavaş olarak saptandı.



Şekil 4.3.1.1. Morris su tankı testi total kat edilen mesafenin gruplar arası karşılaştırılması (Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.)



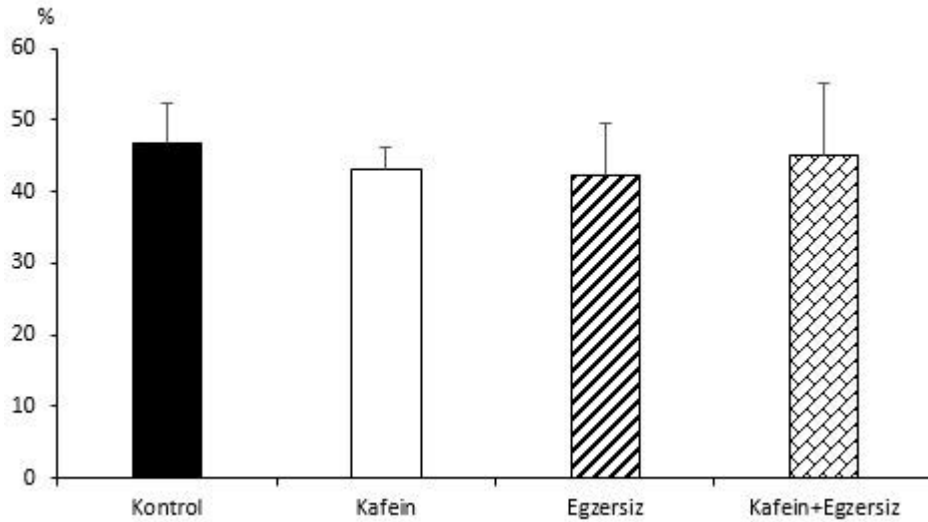
Şekil 4.3.1.2. Morris su tankı testi platformu bulma süresinin gruplar arası karşılaştırılması (Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.)



Şekil 4.3.1.3. Morris su tankı testi yüzme hızlarının gruplar arası karşılaştırılması (Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.)

4.3.2. Hafıza işlevinin değerlendirilmesi

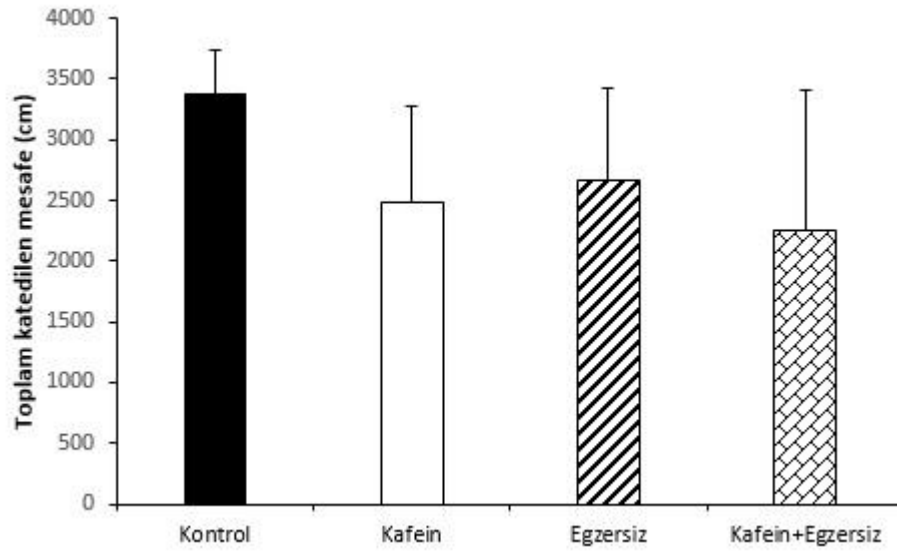
Test fazında platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre değerlerinin yüzde cinsinden karşılaştırılması yapıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi ($F_{3,28}=0.524$, $p=0.670$) (Şekil 4.3.2.).



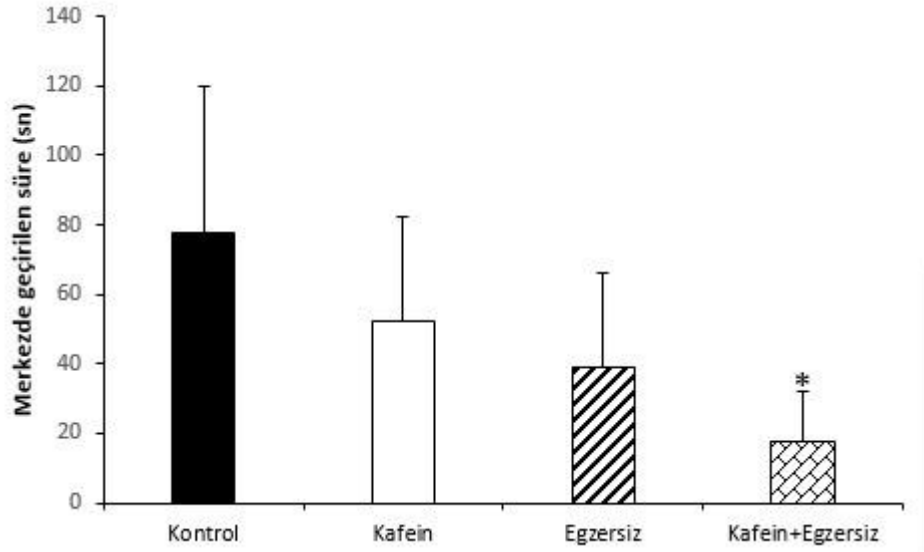
Şekil 4.3.2. Morris su tankı hafıza testi performanslarının gruplar arası karşılaştırılması (Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.)

4.4. Açık Alan Testi Bulguları

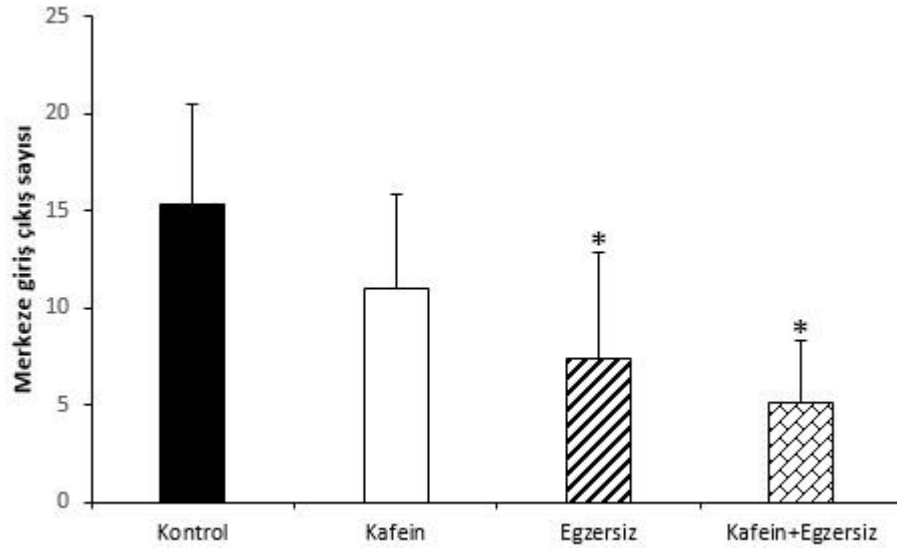
Açık alan testinde, sıçanların merkezde total kat ettikleri mesafe açısından anlamlı farklılık bulunmadı ($F_{3,28}=2.482$, $p=0.085$) (Şekil 4.4.1.), merkezde geçirilen süre açısından ise anlamlı farklılık tespit edildi ($F_{3,28}=4.402$, $p=0.014$). Merkezde geçirilen süre kafein+egzersiz grubunda kontrol grubuna göre daha kısa olarak saptandı ($p=0.009$) (Şekil 4.4.2.). Sıçanların açık alan testinde merkeze giriş çıkış sayısı açısından anlamlı farklılık bulundu ($F_{3,28}=6.122$, $p=0.003$). Merkeze giriş çıkış sayısı, kontrol grubu ile egzersiz grubu ($p=0.023$) ve kafein+egzersiz grubu arasında anlamlı ($p=0.003$) farklı. Egzersiz ve egzersiz +kafein gruplarında merkeze giriş çıkış sayısı kontrol grubuna göre daha olarak bulundu (Şekil 4.4.3.).



Şekil 4.4.1. Açık alan testi total kat edilen mesafenin gruplar arası karşılaştırılması (Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.)



Şekil 4.4.2. Açık alan testinde merkezde geçirilen sürenin gruplar arası karşılaştırılması (Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. *istatistiksel olarak anlamlı farklı kontrol grubundan ($p<0.05$).)

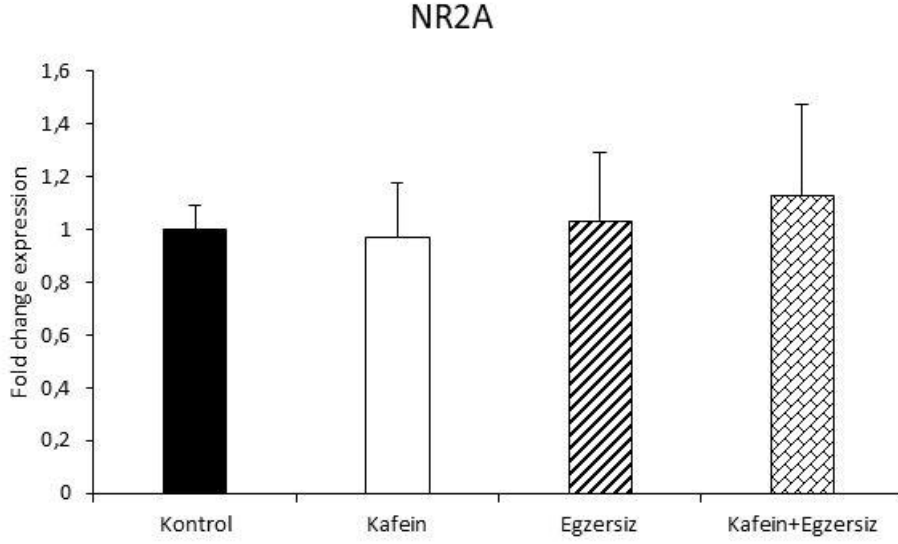


Şekil 4.4.3. Açık alan testinde merkeze giriş çıkış sayısının gruplar arası karşılaştırılması (Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. *istatistiksel olarak anlamlı farklı kontrol grubundan ($p<0.05$).)

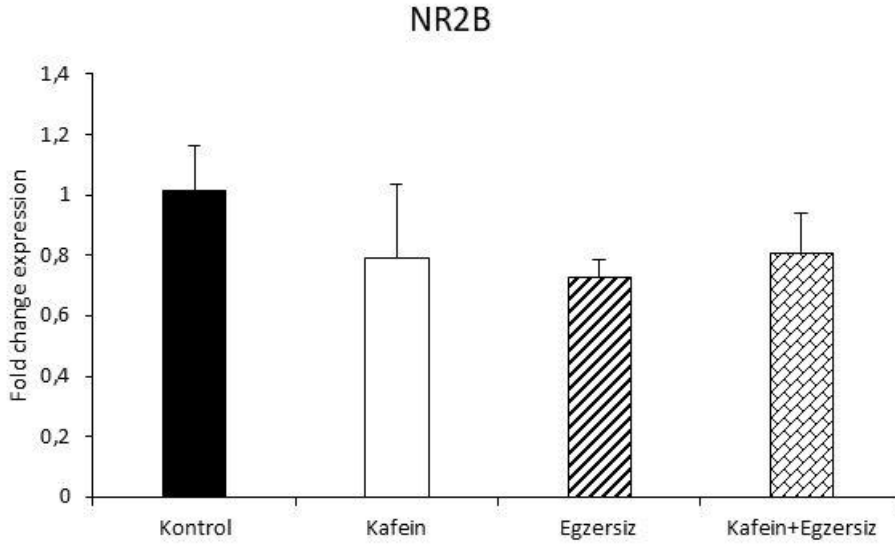
4.5. RT-PCR ile hipokampal NR2A, NR2B ve BDNF gen ekspresyon bulguları

Gruplar arasında NR2A gen ekspresyon seviyesinde anlamlı farklılık tespit edilmedi ($F_{3,28}=0.410$, $p=0.748$) (Şekil 4.5.1.). Gruplar arasında NR2B gen ekspresyon seviyesinde anlamlı farklılık tespit edilmedi ($F_{3,28}=0.017$, $p=0.997$) (Şekil 4.5.2.). Gruplar arasında

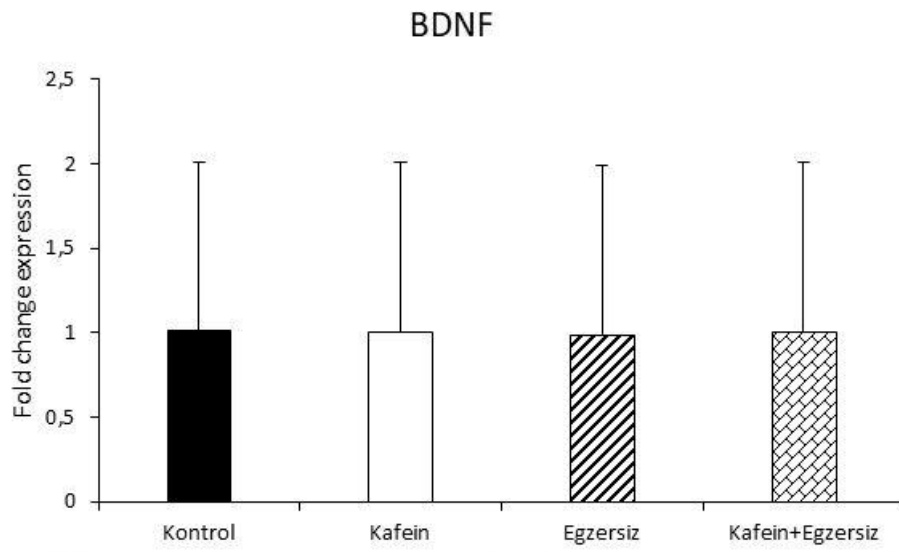
BDNF gen ekspresyon seviyesinde anlamlı farklılık tespit edilmedi ($F_{3,28}=0.723$, $p=0.553$) (Şekil 4.5.3.).



Şekil 4.5.1. Hipokampal NR2A gen ekspresyon bulguları



Şekil 4.5.2. Hipokampal NR2B gen ekspresyon bulguları



Şekil 4.5.3. Hipokampal BDNF gen ekspresyon bulguları

5. TARTIŞMA

Kafein, egzersiz uygulamalarında uyarıcı özelliğinden, yağ asitlerinin kullanımını artırmasından ve performans artışı sağlayacağı düşüncesinden dolayı sıklıkla tercih edilen ergojenik bir destektir.

Bu çalışmada insanlarda ılımlı derecede tüketilen kafein düzeyine denk gelecek şekilde uygulanan kafein takviyesinin sıçanlarda anksiyete davranışı ve hipokampal öğrenme hafıza performansı ile NR2A, NR2B ve BDNF düzeyleri üzerine etkisi araştırıldı. Bulgularımıza göre egzersiz süresince uygulanan kafeinin anksiyete davranışına neden olduğu ancak öğrenme, hafıza performansı ve hipokampal genler üzerine anlamlı etki göstermediği saptandı.

Kafeinin enerji tüketimini artırıp termojenez ve yağ oksidasyonu ile enerji dengesini etkilediği ve bu nedenle vücut ağırlığının düzenlenmesinde potansiyel olabileceği düşünülmektedir [132]. Yüksek karbonhidratlı ve yüksek yağlı diyetle obezite oluşturulan sıçanların kafeinle (16 haftalık protokolün son 8 haftasında 0.5 g/kg kafein) tedavi edilen kesiminde vücut yağlarının azaldığı gözlenmiştir [133]. Bir diğer çalışmada hem yüksek yağlı diyetle beslenen hem de kafein alan sıçanların vücut ağırlıklarının standart yemle beslenen ve kafein almayan gruptan farklı olmadığı sonucuna ulaşılmıştır [134]. Bu çalışmada ise verilen kafeinin ve uygulanan egzersizin adolesan erkek sıçanlarda vücut ağırlığını etkilemediği saptandı. Bu çalışmayı destekleyen nitelikte bir başka çalışmada kafeinin vücut ağırlığı artışını etkilemediği sonucuna ulaşılmıştır [135]. Kafeinin vücut ağırlığı üzerine etkisi uygulanan kafeinin dozu, beslenme içeriği, cinsiyet, vücut ağırlığı ya da vücut yağ bileşimindeki farklılıktan kaynaklanabilir. Nitekim kafeine verilen yanıt dolaşımdaki steroid hormonlara bağlı olarak cinsiyete özgü farklılıklar oluşturabilmektedir [136]. Bulgularımızın daha iyi yorumlanabilmesi için cinsiyete özgü ve bireyselleştirilmiş olarak uygulanan kafein dozlarıyla yapılan daha spesifik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kafeinin iştah ve enerji dengesi üzerine etkileri çelişkilidir. Çalışmalardan bazıları kafeinin hafif anorektik etki gösterdiğine işaret etmektedir [137]. Bazıları ise tam tersi şekilde kafeinin doza bağımlı olarak iştahı artırdığını göstermektedir. Düşük dozdaki kafeinin iştahı yüksek dozdaki kafeine göre önemli derecede artırdığı bulunmuştur [138]. Bunların yanında kafeinin iştahı değiştirmedeği gıda alımı üzerine etki etmediği de gösterilmiştir [139]. Yine bu çalışmada da kafeinin sıçanlar arasında yem ve su tüketimi açısından fark oluşturmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

İnsanlar tarafından yaygın şekilde tüketilen kafein, davranış üzerine etki etmektedir. Özellikle aşırı kafein tüketimi hassas bireylerde sorunlara yol açabilmektedir [140]. İnsanlarda yapılan çalışmalarda yüksek (400 mg/gün) ve orta (200 mg/gün) dozda tüketilen kafeinin düşük dozda tüketilen kafeine göre daha fazla sayıda kelime hatırlattığı [141]; ayrıca kafein takviyesinin yazma hızını artırdığı gibi olumlu sonuçlara ulaşılmıştır [142]. Ancak üniversite öğrencilerinde yapılan çalışmada işitsel-sözel öğrenme testine tabi tutulan kişilerden kafein verilen grubun daha az kelime hatırlaması kafeinin hafızayı olumsuz etkilediğini göstermiştir [143]. Kafeinin (225 mg) genç, orta yaşlı ve yaşlılarda kullanımının kıyaslandığı bir çalışmada sadece orta yaşlıların plaseboya kıyasla hafızalarında olumlu etkiler oluşturduğu ayrıca gençlerde kısa süreli hafızalarında olumsuz etkiler oluşturduğu gözlenmiştir [144]. Postnatal sıçanlara verilen kafeinin uzamsal öğrenme üzerinde faydalı etkiler oluşturabileceği yapılan çalışmalar sonucunda gösterilmiştir [145]. Gebelik boyunca kafeine (20 mg/kg günde 2 kez) maruz kalan sıçanların yavrularında bilişsel bozukluk olabileceği görülmüştür [146]. Bu çalışmada ise MSTT'nin öğrenme fazında grupların total kat ettikleri mesafe, platformu bulma süreleri, yüzme hızlarının karşılaştırılması açısından; hafıza fazında platformun bulunduğu kadranda geçirdikleri süre değerlerinin yüzde cinsinden karşılaştırılması açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Bir başka çalışmada kafeinin öğrenmeyi ölçmek için yapılan yeni nesne tanıma testinde hiçbir etki oluşturmadığı, yüzme testinin ilk günü yüzmeyi artırdığı, test gününde ise genel hareketsizliği azalttığı ve yüzmeyi artırdığı görülmüştür [147]. MSTT 'de değerlendirilen, eğitimden 30 dk önce veya hemen sonra kafein (0,3-30 mg/kg, ip, 0,1 ml/100 g vücut ağırlığı) verilen sıçanların öğrenme ve hafıza davranışı değerlendirilmiştir. Eğitim sonrası verilen kafeinin (0.3-10 mg/kg dozlarında) hafızada tutmayı iyileştirdiği ancak 30 mg/kg dozundaki kafeinin aynı sonucu vermediğine ulaşılrken tersine, eğitim öncesi kafein uygulamasının hayvanların performansını değiştirmediği görülmüştür [148]. Angelucci ve arkadaşlarının çalışması kafeinin hafızada tutmayı sağladığını ancak hafıza edinimini iyileştirmediğini göstererek literatürdeki tutarsızlıklara farklı bir bakış açısı sağlamıştır.

Fiziksel egzersizin öğrenme ve sağlıklı yaşlanma süreçlerine olan olumlu etkileri bilinmektedir. Egzersizin yaşlı farelerde öğrenme ve hipokampal nörojeniz üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada gönüllü tekerlek koşusunun yaşlanmanın bazı zararlı morfolojik ve davranışsal sonuçlarını iyileştirdiği görülmüştür [149]. Bir başka çalışma sonucunda, egzersizin sıçanlarda hem uzamsal hem de tanıma hafızasını güçlendirdiği

bulunmuştur [150]. Koşu bandı egzersizinin hafıza üzerindeki etkisini bulmak amacıyla yapılan başka çalışmada, egzersizin belirli moleküler yolların aracılık ettiği orta dönem hafızası ve yüzme hızında önemli bir gelişme sağladığını göstermiştir [151]. Hafif şiddette 7 hafta boyunca zorunlu koşu bandı egzersizi yaptırılan yaşlı sıçanların platformu kontrollere göre daha hızlı ve daha kısa sürede buldukları görülmüştür [152]. Yapılan başka bir çalışmada kronik stresin (7 hafta boyunca 10 saat/gün, 6 gün/hafta) hipokampusta bilişsel işlevi azalttığı, yoğun ve orta düzeyde egzersizin bilişsel azalmaya karşı koruma sağladığı bulunmuştur [153]. Koşu bandı egzersizinin, apoptotik hücre ölümünü baskılayarak ve hipokampusta hücre çoğalmasını artırarak travma sonrası stres bozucuların neden olduğu kısa süreli hafıza bozukluğunu hafiflettiği sonucuna ulaşılmıştır [154]. Farklı yoğunluktaki koşu bandı egzersizlerinin bellek üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, egzersiz yoğunluğu ile bellek performansı arasında ters ilişki olduğu görülmüştür [155]. Berchtold ve arkadaşları [156] yaptıkları çalışmada egzersizin bilişsel performans üzerine faydalı etkilerinin egzersiz bittikten sonra bile gelişmeye devam ettiğini ancak en fazla etkinin egzersizden hemen sonra görüldüğünü tespit etmişlerdir. Bu çalışmalar egzersizin şiddetinin türünün ve egzersizden sonra bilişsel performansın değerlendirilme zamanının önemli olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda sıçanlar zorunlu koşu bandı egzersizine tabi tutuldu. MSTT’de, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte egzersiz grubunda sıçanların platformu bulmak için suda geçirdikleri sürenin en az olduğu ve yüzme hızlarının en fazla olduğu tespit edildi. Kafein uygulanan egzersiz grubunda öğrenme eğitiminin 1.gününde anlamlı olarak yüzme hızının en düşük olduğu bulundu. MWMT testinde platformu bulma süresi, total kat edilen mesafe, yüzme hızları gibi parametreleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi. Bulgularımıza göre, egzersiz MWMT testinde yüzme hızını artırmakta ancak bilişsel performans üzerine ne kafein ve ne de egzersiz uygulaması anlamlı etki göstermemektedir. Bizim bulgularımıza benzer şekilde kafeinin (6 mg/gün veya 9 mg/gün) ve egzersizin bilişsel performansı etkilemediği [157], egzersizin biliş üzerinde doğrudan bir etkisinin gözlemlenmediği [158] yapılan çalışmalarca gösterilmiştir. Uygulanan egzersizin haftanın 3 günü uygulanması ve zorunlu olması egzersizin olası olumlu etkilerinin görülmemesine neden olmuş olabilir. İlâveten, uygulanan kafenin ılımlı dozda ve deney prosedürü boyunca uygulanması sıçanlarda tolerans gelişmesine neden olmuş olabilir.

Açık alan testine göre anksiyetesi yüksek olan sıçanlar kenar bölgelerde daha çok vakit geçirirken merkezde daha az vakit geçirmektedir [159]. Anksiyete, kaygı gibi

davranışlar üzerine kafeinin etkisinin incelendiği çalışmalarda tüketilen kafein dozu ayrıca kişinin kafeine olan hassasiyeti gibi durumlar da göz önünde bulundurulmalıdır. Haftada 300 mg'dan az kafein tüketen sağlıklı erkek ve kadınlara 0, 50, 150 ve 450 mg kafein içeren kapsüllerin verildiği çalışmada; en düşük doz kafeinin kaygı derecelerini artırmadığı, en yüksek dozun deneklerin çoğunda kaygıyı artırdığı sonucuna ulaşılmıştır [160]. On çalışmanın derlendiği bir meta analizde Parkinson hastalarının çoğunda günde 5 fincan kahveye eş değer kafein verilmesinin panik atakları indüklediğine ve bu popülasyonu sağlıklı yetişkinlerden oldukça ayırt ettiğine ulaşılmıştır [161]. Deney hayvanlarında yapılan çalışmaların çok azında kafeinin yapılan açık alan testine göre kaygı ile ilgili davranışları azalttığı görülmüştür [138]. Diğer çalışmaların çoğunluğunda ise kafeinin anksiyeteyi artırıcı etkisi olduğuna yönelik deney hayvanlarından elde edilen bulgular bulunmaktadır. Düzenli kafein alımının adolesan erkek sıçanlarda davranışsal etkisini araştıran çalışmada, düşük (0,1 mg/mL), orta (0,3 mg/mL) ve yüksek (1,0 mg/mL) olarak uygulanan kafein dozlarının lokomotor aktiviteye etki etmediği fakat anksiyojenik etkileri tetiklediği sonucuna varılmıştır. Ardais ve arkadaşları [162] yaptıkları çalışmada düşük ve orta dozlardaki kafeinin (0,3 ve 0,1 mg/mL) nesne tanıma görevindeki performansı iyileştirdiği ancak daha yüksek dozdaki kafeinin (1.0 mg/mL) açık alan arenasına alışmayı azaltması nedeniyle yüksek doz kafeinin olumsuz etkisi olduğu tespit edilmiştir. Adolesan sıçanlarda kafeinli (IP 15/30 mg/kg) grupların kontrollere göre daha hareketsiz olduğu ayrıca daha fazla idrara çıkma ve dışkılama yaptıkları gözlenmiştir [163]. Yapılan bir çalışmada kafeinin adolesan sıçanlarda yükseltilmiş artı labirent test davranışı üzerinde hiçbir etkisi gözlenmezken karanlık/aydınlık testinde; sıçanların kontrole göre ışıktaki geçirilen zamanın daha fazla olduğu görülmüştür [164]. Zorunlu koşu bandı egzersizinin beyin dokusunda oksidatif stresi azalttığı ve anksiyete benzeri davranışlarını sıçanlarda önlediği bulunmuştur [165]. Bu bulguya benzer şekilde bir diğer çalışmada koşu bandı egzersizinin (ilk 5 dakika 5 m/dk, sonraki 5 dakika 8 m/dk ve son 20 dakika 15 m/dk hız) kaygı benzeri davranışları azalttığı gözlemlenmiştir [166]. Patki ve arkadaşlarının [167] yaptığı çalışmada da orta düzeyde fiziksel egzersizin sıçanlarda uzamış stresin neden olduğu davranışsal eksiklikleri iyileştirdiği görülmüştür. Diğer taraftan Jones ve arkadaşlarının [168] çalışmasında gönüllü tekerlek egzersizinin sıçanlarda kaygı benzeri davranışları azaltmada etkili olmadığı bulunmuştur. Bizim çalışmamızın bulgularına göre açık alan testinde sıçanların merkezde total kat ettikleri mesafe açısından anlamlı farklılık bulunmazken kafein+egzersiz grubunun merkezde

geçirdiği sürenin kontrole göre anlamlı derecede düşük bulundu. Bu sonuç kafein takviyesinin egzersizin olumlu olası etkilerini tersine çevirmiş olmasından ya da uygulanan zorunlu egzersizin yarattığı anksiyeteden kaynaklanmış olabilir. Bu düşüncemizi destekleyecek bir diğer sonucumuz da kafein+egzersiz grubunun yanı sıra egzersiz grubunun diğer gruplara göre merkeze giriş çıkış sayılarının anlamlı derecede az olmasıdır.

NMDA reseptörlerinin bilişsel işlevlerde rol oynadığı bilinmektedir [169]. Ergenlik döneminde başlayan kafein takviyesinin veya NR2A antagonistlerinin kronik tüketiminin gecikmiş hafıza eksikliğini ve buna eşlik eden sinaptotoksisiteyi önlediği sonucuna ulaşılmıştır [170]. NMDA reseptör blokajının kafein yoksunluk sendromunun davranışsal belirtilerinin ifadesi üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlanan çalışmada NMDA reseptörlerinin kafein yoksunluğuna bağlı gelişen davranışsal bozukluklar üzerinde iyileştirici yönde etki gösterdiği bulunmuştur [171]. Bizim çalışmamızda sıçanlarda deney prosedürünün sonuna kadar kafein verilmesi nedeniyle yoksunluk oluşmadı ve NMDA reseptörlerinde bir değişiklik saptanmadı. NMDA tipi glutamat reseptörlerinin, kafeinin lokomotor uyarıcı etkilerine veya bu etkilere toleransına aracılık etmede önemli bir rol oynamadığına dair sonuçlar da mevcuttur [172].

Ergenlik dönemindeki gönüllü olarak yaptırılan tekerlek egzersizinin, maternal stresin yetişkin sıçanlarda depresyon benzeri davranışlar üzerindeki olumsuz etkilerini hafifletebildiği; stresli sıçanların hipokampusunda NMDA reseptörlerinin NR2A alt biriminin ifadesinde bir artış gösterdiği ayrıca antidepresan benzeri etkilerinin NR2A ekspresyonunu azaltabileceği bulunmuştur [173]. Serebral infarktüsülü sıçanların egzersiz ile NMDA reseptör kanallarının uyarıldığı iletkenlik seviyesinin iyileştirildiği görülmüştür [174]. NMDA reseptör antagonistleri ve egzersiz kombinasyonunun inme rehabilitasyonu için faydalı olabileceği gösterilmektedir [175]. Ayrıca konik kafeinin REM uykusundan yoksun sıçanlarda öğrenme ve hafızayı değiştirmeden bazı hipokampal genleri (NMDA-Grin2a) değiştirdiği gösterilmiştir [176]. Yabani tip ve E1 nakavt farelerin incelenen BDNF seviyelerinin yabani tipte tekerlek egzersizleri yoluyla arttığı, ancak nakavt farelerde olmadığı bulunurken tekerlek egzersizi ile nörojenezin artmasının da tersine çevrilebilir olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, tekerlek egzersizinin hipokampustaki NMDA reseptörlerini aktive edebileceğini ve bunun da BDNF üretimini ve nörojenezini artırabileceğini düşündürmektedir [177].

Kafein uygulamasının hem bilişsel performan hem de metabolizma üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, verilen kafeinin yüksek yağlı beslenme sonucu

gelişen kilo alımını önlediği ve artırdığı BDNF seviyeleri ile bilişsel bozukluğu önlediği sonucuna ulaşılmıştır [134]. Kafein (4 gün boyunca IP 10 mg/kg) ile akut tedavinin hipokampusteki BDNF seviyelerini artırarak nesne tanıma testindeki performansı artırarak hafızayı iyileştirdiği görülmüştür [178]. Kronik kafeinin (30 sıçan için 1 mg/mL içme solüsyonu) genç (3 aylık) ve orta yaşlı (12 aylık) sıçanlarda yaştan bağımsız olarak hipokampuste proBDNF seviyelerini artırarak hafıza kodlamasında yaşa bağlı kayıplar üzerinde kafeinin pro-bilişsel etkilerine katkıda bulunduğu şeklinde yorumlanmıştır [179]. Hamilelikte kafeine (20 mg/gün günde 2 kez) maruz kalmanın yavruda BDNF seviyelerinde düşüşe yol açtığı gözlenmiştir [146]. Bu çalışmaların farklı sonuçlar vermesi uygulanan kafein dozlarının birbirinden farklı olmasına bağlanabilir.

İstemli kronik egzersizin sıçanlarda BDNF seviyelerini artırdığı bilinse de zorunlu tekerlek egzersizinin etkileri net değildir. Buna sebep olan bir diğer faktör de koşunun yoğunluğudur. Farklı koşu yoğunluklarında akut tekerlek egzersizinin uygulandığı çalışmada, minimal stres oluşturan düşük yoğunluklu (15 m/dk) tekerlek egzersizinin daha yorucu formlara kıyasla bdnf artışı sağlayıp hipokampal işlevlerde artış sağlayabileceği sonucuna ulaşılmıştır [180]. Tekerlek egzersizinin hipokampustaki nmda reseptörlerini aktive edebileceğini ve bunun da BDNF üretimini ve nörojenezi artırabileceği yapılan başka bir çalışma sonucunda yorumlanmıştır [177]. Hamile sıçanlara uygulanan zorunlu egzersizin (8 m/dk'da 3 dakikalık ısınma ile başlanıp ilk seanslarda 10 dakikada 10 m/dk'dan sonraki eğitim günlerinde 30 dakika 12 m/dk'ya kademeli olarak artırılan protokol uygulanmıştır) hipokampal BDNF düzeylerini artırdığı görülmüştür [181]. Yine maternal sıçanlarda yapılan fakat gönüllü yapılan egzersizin hipokampal BDNF seviyelerini artırdığı gözlenmiştir [182]. Beyin BDNF içeriğinin egzersizle indüklenen nöroproteksiyona dahil olup olmadığını araştırmayı amaç edinen bir çalışmada orta yoğunluktaki (2 hafta 20 dk/gün) koşu bandı egzersizinin incelenen beyin bölgelerindeki BDNF içeriğini değiştirmediği görülmüştür [183].

Bu çalışmada egzersizle uygulanan kafein takviyesinin, egzersiz grubunda hipokampal NR2B seviyesini azalttığı ama bu farkın anlamlı olmadığı; aynı şekilde NR2A ve BDNF düzeyleri arasında da anlamlı bir farklılık oluşturmadığı sonucuna varıldı. Hipokampal NR2A, NR2B ve BDNF'e ait bulgularımız MWMT testinde öğrenme hafıza üzerine etki etmemesi bulgusu ile tutarlı görünmektedir. İlimli dozda kafein uygulaması ve zorunlu egzersizi ne tek başlarına nede birlikte uygulandıklarında öğrenme ve hafıza

performansını hem MWMT de öğrenme ve hafıza performansı ve hipokampal gen ekspresyonları üzerinde etki göstermemektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Dünyada çoğu insan tarafından tüketilen kafeinin vücuttaki çoğu sistemi olumlu ya da olumsuz etkilediği yapılan çalışmalarca gösterilmiştir. Yer verilen kimi çalışma sonuçları bizim çalışmamızı desteklese de kimi açılardan farklıdır. Örneğin bu çalışma adolesan erkek sıçanları kapsarken kimisi cinsiyete özgü çalışılıp gerek egzersizin gerek kafeinin cinsiyete bağlı kıyaslamalarını içermektedir. Burada kafein alımına yanıt değerlendirilirken bireyler arasındaki farklılıklar göz önünde bulundurulmalıdır. Kafeinin ergojenik etkisi için bireyselleştirilmiş kafein takviyelerinin uygulanması gerektiği unutulmamalıdır. Bu arada uygulanan kafeinin dozu da çok önemlidir. Kimi çalışmalar kafeine hassas olan kişileri baz alırken kimi çalışmalar kafein bağışıklığı olan kişileri kapsamaktadır. Ayrıca kafeinin birçok alana, mekanizmaya, sisteme etkisi vardır. Bunlar için deneylerde sıçanlar ya da insanlar farklı pek çok testlere tabi tutulmakta fakat bunların güvenilirliği de sorgulanmalıdır. Bu bulgularda fikirbirliğine varılması için kapsamlı araştırmalarla desteklenmelidir. Bu çalışmada egzersiz süresince uygulanan kafeinin bellek ve öğrenme üzerine etkisi olmadığı sonucunun literatüre farklı bir bakış açısı katmasını umuyoruz.

Sonuç olarak kafein ve egzersizin bellek ve öğrenme üzerine etkilerinin incelenmesinde verilecek kafein dozu, seçilen yaş grubu, cinsiyet, yaptırılacak egzersiz (zorunlu/gönüllü), egzersiz süresi, tabi tutulacak testler, incelenecek parametreler gibi birçok veriyi aynı anda titizlikle ele alan daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Genel sağlık için hafif-orta düzeyde egzersiz yaşamın bir parçası haline getirilmelidir. Eğer kafein içeren ürün tüketilecek ya da kafein takviyesi alınacaksa önerilen dozlar göz ardı edilmemelidir. Özellikle neonatal dönemlerde alınan fazla kafeinin birikerek istenmeyen durumlara yol açabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Köknel, Ö., Özüğurlu, K. ve Bahadır, G. A. (1989). *Davranış Bilimleri*. İstanbul, Bayrak Matbaacılık, 85-115.
2. Guyton, A. C. & Hall, J. E. (2013). *Tıbbi Fizyoloji*. Missisipi, Nobel Kitabevi, 673-686.
3. Barry, S. F., Randolph, B. S. and Stephen, M. R. (2000). *Synopsis of Neuropsychiatry*. New York, Maple Pres, 112-287.
4. Reuveni, I. and Barkai, E. (2018). Tune it in: mechanisms and computational significance of neuron-autonomous plasticity. *Journal of Neurophysiology*. 120(4):1781-1795.
5. Kaptan, Z. ve Üzümlü, G. (2016). Erişkin Hipokampal Nörogenezin Öğrenme ve Hafıza Fonksiyonlarındaki Rolü. *Turkish Journal of Neurology*. 22:149-155.
6. Freeman, W. J. (1994). Role of chaotic dynamics in neural plasticity. *Progress in Brain Research*, 102, 319-33.
7. Onaolapo, O. J., Onaolapo, A. Y., Akanmu, M. A. and Olayiwola, G. (2015). Caffeine/sleep-deprivation interaction in mice produces complex memory effects. *Annals of Neurosciences*. 22(3), 139-49.
8. Nehlig, A., Daval, J.L. and Debry, G. (1992). Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Research Reviews* .17(2):139-70.
9. Guest, N.S., Dusseldorp, T.A.V., Nelson, M.T., Grgic, J., Schoenfeld, B.J., Jenkins, N.D.M., Arent, S.M., Antonio, J., Stout, J.R., Trexler, E.T., Ryan, A.E.S., Goldstein, E.R., Kalman, D.S. and Campbell, B.I. (2021). International society of sports nutrition position stand: caffeine and exercise performance. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 18(1):1.
10. Richards, G. and Smith, A. (2015). Caffeine consumption and self-assessed stress, anxiety, and depression in secondary school children. *Journal of Psychopharmacology*. 29(12):1236-47.
11. Alhaider, I. A. & Alkadhi, K. A. (2015). Caffeine treatment prevents rapid eye movement sleep deprivation-induced impairment of late-phase long-term potentiation in the dentate gyrus. *European Journal of Neuroscience*, 42(10), 2843-50.
12. Mazur, F.G., Oliveira, L.F.G., Cunha, M.P., Rodrigues, A.L.S., Pertile, R.A.N., Vendruscolo, L.F. and Izidio, G.S. (2017). Effects of physical exercise and social isolation on anxiety-related behaviors in two inbred rat strains. *Behavioural Processes*.142:70-78.

13. Gökdemir, O., Çetinkaya, C., Gümüş, H., Aksu, I., Kiray, M., Ateş, M., Kiray, A., Baykara, B., Şişman, A.R. and Uysal, N. (2020). The effect of exercise on anxiety- and depression-like behavior of aged rats. *Biotechnic & Histochemistry*. 95(1):8-17.
14. Wu, C., Yang, L., Li, Y., Dong, Y., Yang, B., Tucker, L.D., Zong, X. and Zhang, Q. (2020). Effects of Exercise Training on Anxious-Depressive-like Behavior in Alzheimer Rat. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 52(7):1456-1469.
15. Fan, Y., Zhang, L., Kong, X., Liu, K. and Wu, H. (2022). Different Exercise Time on 5-HT and Anxiety-like Behavior in the Rat With Vascular Dementia. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*. 37.
16. Saeed, S. A., Cunningham, K. and Bloch, R. M. (2019). Depression and Anxiety Disorders: Benefits of Exercise, Yoga, and Meditation. *American Family Physician*. 99(10):620-627.
17. Carek, P. J., Laibstain, S. E. and Carek, S. M. (2011). Exercise for the treatment of depression and anxiety. *International Journal of Psychiatry in Medicine*. 41(1):15-28.
18. Stonerock, G. L., Hoffman, B. M., Smith, P. J. and Blumenthal, J. A. (2015). Exercise as Treatment for Anxiety: Systematic Review and Analysis. *Annals of Behavioral Medicine*. 49(4): 542–556.
19. Zhang, L., Qin, Z., Sharmin, F., Lin, W., Ricke, K. M., Zasloff, M. A., Stewart, . F. R., Chen, H. H. (2021). Tyrosine phosphatase PTP1B impairs presynaptic NMDA receptor-mediated plasticity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*. 156. 105402.
20. Pınar, L. *Sinir ve kas fizyolojisi temel bilgileri*. (2014). Ankara, Özyurt Matbaacılık, 232-255.
21. Metro, D., Cernaro, V., Santoro, D., Papa, M., Buemi, M., Benvenga, S. and Manasseri, L. (2017). Beneficial effects of oral pure caffeine on oxidative stress. *Journal of Clinical and Transational Endocrinology*, 10, 22-27.
22. Onaolapo, J. O., Onaolapo, Y. A., Akanmu, A. M. and Olayiwola, G. (2016). Caffeine and sleep-deprivation mediated changes in open-field behaviours, stress response and antioxidant status in mice. *Sleep Science*, 9(3), 236-243.
23. Korkmaz, Ö. ve Mahiroğlu, A. (2007). Beyin, Bellek ve Öğrenme. *Kastamonu Eğitim Dergisi*. 15(1); 93-104.
24. Budak M, Girgin Kardeş F, Hanoğlu L. (2018). Nöral Plastisite ve Nöromodülasyon Uygulamaları. Mutluay F, editör. *Nörolojik Hastalıklarda Fizyoterapi ve Rehabilitasyon*. Ankara: Türkiye Klinikleri. 79-88.
25. Canbay-Durmaz, S. (2021). Nörobilim Alanında Multidisipliner Yaklaşımlar. F. Taş (ed.), *Nöral Plastisite*. Ankara. 65-78.

26. Banikowski, A.K. and Mehring, T.A. (1999). Strategies to Enhance Memory Based on Brain-Research, *Focus on Exceptional Children*. 32(2);1-16.
27. Ernst, A., Alkass, K., Bernard, S., Salehpour, M., Perl, S., Tisdale, J., Possnert, G., Druid, H. and Frisen, J. (2014). Neurogenesis in the striatum of the adult human brain. *Cell*, 156:1072-1083.
28. Moser, E. and Moser M. B. (2014). Mapping your every move. *Cerebrum*. 4.
29. İnternet: [URL:http://kenhub.com/cgi/](http://kenhub.com/cgi/) Son erişim tarihi: 10.08.2022.
30. O’Leary, O. F. and Cryan, J. F. (2014). A ventral view on antidepressant action: roles for adult hippocampal neurogenesis along the dorsoventral axis. *Trends Pharmacology Science*, 35(12): 675-687.
31. Amaral, D. G. and Insausti, R. (1990). Hippocampal formation. Paxinos G. *The Human Nervous System*. İkinci baskı. California: Academic Press Inc. 1240.
32. Augustinack, J. C., Kouwe, A. J., Salat, D. H., Benner, T., Stevens, A. A., Annese, J., Fischl, B., Frosch, M. P. and Corkin, S. (2014). H.M.’s contributions to neuroscience: A review and autopsy studies. *Hippocampus*. 24(11);1267-1286.
33. Suzuki, M., Hagino, H., Nohara, S., Zhou, S. Y., Kawasaki, Y., Takahashi, T., Matsui, M., Seto, H., Ono, T. and Kurachi, M. (2005). Male-specific volume expansion of the human hippocampus during adolescence. *Cerebral Cortex*. (2);187–193.
34. Padurariu, M., Ciobica, A., Mavroudis, I., Fotiou, D. and Baloyannis, S. (2012). Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 areas of Alzheimer’s disease patients. *Psychiatria Danubina*. 24(2);152-158.
35. Park, H. K., Kim, K. J., Moon, H. J., Kim, S. J., Yun, C. H. and Park, S. H. (2012). Klüverbücy syndrome with isolated bilateral hippocampal atrophy following status epilepticus. *Journal of Epilepsy Research*, 2(1):10-12.
36. Lombroso, P. (2004). Apendizado e memória. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 26(3):207-210.
37. Dietrich MO, Mantese CE, Porciuncula LO, Ghisleni G, Vinade L, Souza DO, Portela LV. Exercise affects glutamate receptors in postsynaptic densities from cortical mice brain. *Brain Research*. 2005;1065:20–25.
38. Chaffey H, Chazot PL, NMDA receptor subtypes: Structure, function and therapeutics, *Current Anaesthesia & Critical Care*. 19, 183–201, 2008.
39. Li, F. and Tsien, J.Z. (2009). Memory and the NMDA Receptors. *New England Journal of Medicine*. 16; 361(3): 302–303.

40. Cunha, R. A. (2016). How does adenosine control neuronal dysfunction and neurodegeneration? *Journal of Neurochemistry*, 139:1019–1055.
41. Cao, X., Cui, Z., Feng, R., Tang, Y.P., Qin, Z., Mei, B. and Tsien, J.Z. (2007). Maintenance of superior learning and memory function in NR2B transgenic mice during ageing. *European Journal of Neuroscience*. 25(6); 1815-1822.
42. Newcomer, J.W. and Krystal, J.H. (2001). NMDA receptor regulation of memory and behavior in humans. *Hippocampus*.11(5).
43. Wang, D., Jacobs, S. and Tsien, J.Z. (2014). Targeting the NMDA receptor subunit NR2B for treating or preventing age-related memory decline. *Neuropharmacology*. 18(10);779-790.
44. Tang, Y.P., Wang, H., Feng, R., Kyin, M. and Tsien, J.Z. (2015). Differential effects of enrichment on learning and memory function in NR2B transgenic mice. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 56;127-138.
45. Monaco, S.A., Gulchina, Y. and Gao, W.J. (2015). NR2B subunit in the prefrontal cortex: A double-edged sword for working memory function and psychiatric disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 56;127-38.
46. Bekinschtein, P., Cammarota, M. and Medina, J.H. (2014). BDNF and memory processing. *Neuropharmacology*.76;677-683.
47. Tyler, W.J., Alonso, M., Bramham, C.R., and Pozzo-Miller, L.D. 2002. From acquisition to consolidation: On the role of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampal-dependent learning. *Learning Memory*. 9: 224-237.
48. Loprinzi, P.D. and Frith, E. (2019). A brief primer on the mediational role of BDNF in the exercise-memory link. *Clinical Physiology and Functional Imaging*.39(1):9-14.
49. Barry, R. J., Rushby, J. A., Wallace, M. J., Clarke, A. R., Johnstone, S. J. and Zlojutro, I. (2005). Caffeine effects on resting-state arousal. *Clinical Neurophysiology*, 116:2693–2700.
50. Kolaylı, S., Ocak, M., Kucuk, M. and Abbasoglu, R. (2004). Does caffeine bind to metal ions? *Food Chemistry*, 84: 383–8.
51. Hawi, Z., Matthews, N., Wagner, J., Wallace, R. H., Butler, T. J., Vance, A., Kent, L. and Gill, M. (2013) DNA variation in the SNAP25 gene confers risk to ADHD and is associated with reduced expression in prefrontal cortex. *PLoS One*, 8, e60274–e60274.
52. Nawrot, P., Jordan, S., Eastwood, J., Rotstein, J., Hugenholtzand, A. and Feeley, M. (2003). Effects of caffeine on human health. *Food Additives and Contaminants*, 20(1): 1-30.

53. Baratloo, A. and Rouhipour, A. (2016). The role of caffeine in pain management: a brief literature review. *Anesthesia and Pain Medicine*, 6(3): 33193.
54. Ersoy, G. (2016). Fiziksel Uygunluk Spor ve Beslenme İle İlgili Temel Öğretiler. Ankara Nobel Tıp Kitapevleri. 2(5);235-267.
55. International Food Information Council Foundation Caffeine & Health: Clarifying The Controversies. Washington DC. March 2008.
56. Harnack, L., Stang, J. and Story, M. (1999). Soft drink consumption among US children and adolescents: nutritional consequences. *Journal of the American Dietetic Association*, 99:436–441.
57. Baktır, G. ve Güler, E. C. (2018). İlaçlar İle Teofilin, Teobromin, Kafein İçeren Besinler Arasındaki Etkileşimler. *Lectio Scientific Journal of Health and Natural Sciences*, 2, 2, 82-96.
58. Crews, H. M., Olivier, L. and Wilson, L. A. (2001). Urinary biomarkers for assessing dietary exposure to caffeine. *Food Additives Contaminants*.18(12): 1075-87.
59. Harland, B. F. (2000). Caffeine and nutrition. *Nutrition*. 16(7-8): 522-6.
60. Bonaventure, A., Rudant, J., Goujon-Bellec, S., Orsi, L., Leverger, G., Baruchel, A., Bertrand, Y., Nelken, B., Pasquet, M., Michel, G., Sirvent, N., Bordigoni, P., Ducassou, S., Rialland, X., Zelenika, D. and Hémon, D. (2013). Clavel. Childhood acute leukemia, maternal beverage intake during pregnancy, and metabolic polymorphisms. *Journal of Cancer Causes Control*. 24(4):783-93.
61. Cano-Marquina, A., Tarin, J. J. and Cano, A. (2013). The impact of coffee on health. *Maturitas*, 75(1): 7-21.
62. Goodman & Gilman. (2009). Tedavinin Farmakolojik Temelleri. Metilksantinler. Çeviri Editörü: Süzer Ö.Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul. 336, 727-730, 920.
63. Peterson. E., Rayner, S. and Armstrong, S. (2009). Researching the psychology of cognitive style and learning style: Is there really a future? *Learning and Individual Differences*. 19 (4), 518–523.
64. Donovan, J. L. and DeVane, C. L. (2001). A primer on caffeine pharmacology and its drug interactions in clinical psychopharmacology. *Psychopharmacology Bulletin*. 35(3):30-40.
65. Hancı, M., Bakırcı, S., Bayram, S., Karahan, S. ve Kaya, E. (2013). Türk Kahvesi ve Türkiye’de Satılan Bazı İçeceklerdeki Kafein Miktarları. *Düzce Tıp Dergisi*, 15(3): 34-38.
66. Nehlig, A. (1999). Are we dependent upon coffee and caffeine? A review on human and animal data. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 23:563–576.

67. Bonita, J. S., Mandarano, M., Shuta, D. and Vinson, J. (2007). Coffee and Cardiovascular disease: Invitro, cellular, animal, and human studies. *Pharmacological Research*. 55(3):187-98.
68. Griffiths, R. R. and Woodsen, P. P. (1988). Caffeine physical dependence: a review of human and laboratory animal studies. *Psychopharmacology*, 94(4):437-51.
69. Mitchell, D. C., Knight, C. A., Hockenberry, J., Teplansky, R. and Hartman, T. J. (2013). Beverage caffeine intakes in the U.S. *Food and Chemical Toxicology*, 1;63C:136-42.
70. Chu, Y. F., Chang, W. H., Black, R. M., Liu, J. R., Sompol, P., Chen, Y., Wei, H., Zhao, Q. and Cheng, I. H. (2012). Crude caffeine reduces memory impairment and amyloid β (1-42) levels in an Alzheimer's mouse model. *Food Chemistry*, 1; 135(3):2095-102.
71. Mut, E. ve Yeşilkaya, M. (2018). Sporcularda Kullanılan Besinsel Ergojenik Destekler. *Uluslararası Hakemli Beslenme Araştırmaları Dergisi*, 13, 52-75. 24.
72. World Anti-Doping Agency (WADA). Uluslararası Standart Yasaklılar Listesi. 2021. Çeviren: Prof. Dr. Rüştü Güner.syf.16-29.
73. Ganio, M. S., Klau, J. F., Casa, D. J., Armstrong, L.E. and Maresh, C. M. (2009). Effect of caffeine on sport-specific endurance performance: a systematic review. *The Journal of Strength and Conditioning Research*, 23(1):315-24.
74. Tunnicliffe, J. M., Erdman, K. A., Reimer, R. A., Lun, V. and Shearer, J. (2008). Consumption of dietary caffeine and coffee in physically active populations: physiological interactions. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, 33(6):1301-10.
75. Desbrow, B., Biddulph, C., Devlin, B., Grant, G. D., Anoopkumar-Dukie, S. and Leveritt, M. D. (2012). The effects of different doses of caffeine on endurance cycling time trial performance. *Journal of Sports Science*, 30(2):115-20.
76. Rogers, P. J. and Dernoncourt, C. (1998). Regular caffeine consumption: a balance of adverse and beneficial effects for mood and psychomotor performance. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 59(4):1039-45.
77. Glade, M. J. (2010). Caffeine - not just stimulant. *Nutrition*, 26(10): 932-938.
78. Jabbar S.B., Hanly M.G. (2013). Fatal caffeine overdose: a case report and review of literature. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*. 34:321–324.
79. Campana, C., Griffin, P. L. and Simon, E. L. (2013). Caffeine overdose resulting in severe rhabdomyolysis and acute renal failure. *American Journal of Emergency Medicine*, 27(13)554-8.

80. Garrett, B. E. and Griffiths, R. R. (1997). The role of dopamine in the behavioral effects of caffeine in animals and humans. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 57:533–541.
81. European Food Safety Authority (EFSA). (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies), 2015. Scientific Opinion on the safety of caffeine. EFSA Journal 20YY;volume(issue):NNNN, 112 pp.
82. Gören, İ. E. ve Dağlıoğlu, N. (2019). Enerji İçeceklerinde Yüksek Risk: Kafein. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 16(2):98-103.
83. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMED)-2020. (2021). TIBBİ BESLENME ve EGZERSİZ METABOLİZMASI KILAVUZU.
84. Ardıç, F. (2014). Egzersiz Reçetesi. *Türk Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi*, 60, 1-8.
85. Yıldız, S. A. (2012). Aerobik ve Anaerobik Kapasitenin Anlamı Nedir? *Solunum Dergisi*, 14:1–8.
86. Köksal, F., Koruç, Z. And Kocaekşi, S. (2006). 8 haftalık step-aerobik dansına katılımın kadınlarda fiziksel benlik algısı üzerine etkisi. 9. Uluslararası Spor Bilimleri Kongresi, Muğla.1033-1035.
87. Karacan, S., Çolakoğlu, F. F. and Erol. E. (2004). Obez orta yaş kadınlar ile menopoz dönemindeki kadınlarda aerobik egzersizin bazı fiziksel uygunluk değerlerine etkisi. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13: 35-42.
88. Halouani, J., Chtourou, H., Gabbett, T., Chaouachi, A. and Chamari, K. (2014). Small-sided games in team sports training: a brief review. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 12: 3594–3618.
89. Savaş, S. (2010). Geriatrik Grupta Egzersiz Reçetelenmesi. *Turkish Journal of Geriatrics*, 14 (3): 281-288.
90. Kim, S. Y., Busch, A. J., Overend, T. J., Schachter, C. L., Spuy, I., Boden, C., Góes, S. M., Foulds, H. J. and Bidonde, J. (2019). Flexibility exercise training for adults with fibromyalgia. *Cochrane Database Systematic Reviews*, 2;9(9):CD013419.
91. Cotman, C. W. and Engessar-Cesar, C. (2002). Exercise enhances and protects brain function. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 30 (2), 75–79.
92. Barnett, L. M, Van Beurden, E., Morgan, P. J., Brooks, L. O. and Beard, J. R. (2009). Childhood motor skill proficiency as a predictor of adolescent physical activity. *Journal of Adolescent Health*, 44(3):252-259.
93. Cassilhas, R. C., Tufik, S. and Mello, M. T. (2016). Physical exercise, neuroplasticity, spatial learning and memory. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(5):975-83.

94. Kramer, A. F., Hahn, S., Cohen, N. J., Banich, M. T., McAuley, E., Harrison, C. R., Chason, J., Vakil, E., Bardell, L., Boileau, R. A. and Colcombe, A. (1999). Ageing, fitness and neurocognitive function, *Nature*, 400, 418-419.
95. Collins A, Hill LE, Chandramohan Y, Whitcomb D, Droste SK, Reul JM. (2009). Exercise improves cognitive responses to psychological stress through enhancement of epigenetic mechanisms and gene expression in the dentate gyrus. *PLoS One*. 4:e4330.
96. Park, J. K., Lee, S.J. and Kim, T.W. (2014). Treadmill exercise enhances NMDA receptor expression in schizophrenia mice. *Journal of Exercise Rehabilitation*. 10(1): 15–21.
97. Loprinzi, P.D. and Frith, E. (2019). A brief primer on the mediational role of BDNF in the exercise-memory link. *Clinical Physiology and Functional Imaging*.39(1):9-14.
98. Leal, G., Afonso, P.M., Salazar, I.L. and Duarte, C.B. (2015). Regulation of hippocampal synaptic plasticity by BDNF. *Brain Research*. 24;1621:82-101.
99. Cotman, C. W. and Berchtold, N. C. (2002). Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neuroscience*, 25:295-301.
100. Khabour, O. F., Alzoubi, K. H., Alomari, M. A. and Alzubi, M. A. (2010). Changes in spatial memory and BDNF expression to concurrent dietary restriction and voluntary exercise. *Hippocampus*, 20(5):637-45.
101. Chaddock, L., Erickson, K. I., Prakash, R. S., Kim, J. S., Voss, M. W. and Vanpatter, M. A. (2010). Neuroimaging investigation of the association between aerobic fitness, hippocampal volume, and memory performance in preadolescent children. *Brain Research*, 1358:172-83.
102. Voss, M. W., Vivar, C., Kramer, A. F. And Van Praag, H. (2013). Bridging animal and human models of exercise-induced brain plasticity. *Trends in Cognitive Sciences*, 17:525-44.
103. Yeniçeri, F. A. ve Budak, M. (2020). Sağlıklı Genç Bireylerde Kognitif Görevle Yapılan Egzersizlerin Kognitif Fonksiyonlara, Duygu Durumuna ve Yaşam Kalitesine Etkisi. *İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 12:340-356.
104. Griffin, É. W., Mullally, S., Foley, C., Warmington, S. A., O'Mara, S. M. and Kelly, A. M. (2011). Aerobic exercise improves hippocampal function and increases BDNF in the serum of young adult males. *Physiol&Behavior*, 104(5):934-41.
105. Karssemeijer, E. G. A., Aaronson, J. A., Bossers, W. J., Smits, T., Rikkert, M. G. M. O. And Kessels, R. P. C. (2017). Positive effects of combined cognitive and physical exercise training on cognitive function in older adults with mild cognitive impairment or dementia: A meta-analysis. *Ageing Research Reviews*, 40:75-83.

106. Laurin, D., Verreault, R., Lindsay, J., MacPherson, K. and Rockwood, K. (2001). Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Archives of Neurology*, 58;498-504.
107. Silva, L. A., Weber, V. M. R., Wouk, J., Malfatti, C. R. M. and Osiecki, R. (2018). Caffeine improves exercise recuperation by cardiovascular and biochemical response in diabetic rats. *Sport Sciences for Health*, 14:371–377.
108. Yang, S. Y., Shan, C. L., Qing, H., Wang, W., Zhu, Y., Yin, M. M., Machado, S., Yuan, T. F. and Wu, T. (2015). The Effects of Aerobic Exercise on Cognitive Function of Alzheimer's Disease Patients. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 14(10):1292-7.
109. Powers, S. K., Byrd, R. J., Tulley, R. and Callender, T. (2005). Effects of caffeine ingestion on metabolism and performance during graded exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 50(3);301-307.
110. Laurent, D., Schneider, K. E., Prusaczyk, W. K., Franklin, C., Vogel, S. M., Krssak, M. and Shulman, G. I. (2000). Effects of caffeine on muscle glycogen utilization and the neuroendocrine axis during exercise. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 85(6), 2170-2175.
111. Cechella, J. L., Leite, M. R., Dobrachinski, F., Rocha, J. T., Carvalho, N. R., Duarte, M. M. M. F., Soares, F. A. A., Bresciani, G., Royes, L. F. F. and Zeni, G. (2014). Moderate swimming exercise and caffeine supplementation reduce the levels of inflammatory cytokines without causing oxidative stress in tissues of middle-aged rats. *Amino Acids*, 46(5):1187-95.
112. Ruiz, R., Paula Ramos, S., Pinge, M.M., Moraes, S. F. and Polito, M. (2014). Caffeine and physical training: effects on cardiac morphology and cardiovascular response. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 60(1):23-8.
113. Silva, L. A., Pereira, R. A., Túrmina, J. A., Kerppers, I. I., Osiecki, R., Altimari, L. R. and Malfatti, C. R. M. (2014). Sulfonylurea induction of caffeine-enhanced insulin secretion and reduction of glycemic levels in diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, 52(8):956-60.
114. Vieira, J. M., Gutierrez, J. M., Carvalho, F. B., Pereira, L. B., Oliveira, L. S., Morsch, V. M., Schetinger, M. R. C., Rodrigues, M. V., Leitemperger, J., Loro, V., Krewer, C. C., Vencato, M. S. and Spanevello, R. M. (2017). Caffeine prevents changes in muscle caused by high-intensity interval training. *Biomed & Pharmacother*, 89, 116-123.
115. Vieira, J. M., Gutierrez, J. M., Carvalho, F. B., Stefanello, N., Oliveira, L., Cardoso, A. M., Morsch, V. M., Pillat, M. M., Ulrich, H., Duarte, M. M. F., Schetinger, M. R. C. and Spanevello, R. M. (2018).

116. Caffeine and high intensity exercise: Impact on purinergic and cholinergic signalling in lymphocytes and on cytokine levels. *Biomed Pharmacother*, 108:1731-1738.
117. Costa Santos, V. B., Ruiz, R. J., Vettorato, E. D., Nakamura, F. Y., Juliani, L. C., Polito, M. D., Siqueira, C. P. C. M. and Paula Ramos, S. (2011). Effects of chronic caffeine intake and low-intensity exercise on skeletal muscle of Wistar rats. *Experimental Physiology*, 96(11):1228-38.
118. França, A. P., Schamne, M. G., Souza, B. S., Luz Scheffer, D., Bernardelli, A. K., Corrêa, T., Souza Izídio, G., Latini, A., Silva-Santos, J. E., Canas, P. M., Cunha, R. A. and Prediger, R. D. (2020). Caffeine Consumption plus Physical Exercise Improves Behavioral Impairments and Stimulates Neuroplasticity in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR): an Animal Model of Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Molecular Neurobiology*, 57(9):3902-3919.
119. Bashkatova, V.G., Alekseeva, E.V. Bogdanova, N.G., Nazarova, G.A. and Sudakov, S.K. (2018). *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. Influence of Caffeine Consumption by Pregnant Rats on Behavior and Learning in Their Offspring. 165;299–301.
120. Soellner, D.E., Grandys, T. And Nunez, J.L. (2009). *Behavioural Brain Research*. Chronic prenatal caffeine exposure impairs novel object recognition and radial arm maze behaviors in adult rats. 205;1,191-199.
121. Fiani, B., Zhu, L., Musch, B.L., Briceno, S., Andel, R., Sadeq, N. And Ansari, A.Z. (2021). The Neurophysiology of Caffeine as a Central Nervous System Stimulant and the Resultant Effects on Cognitive Function. *Cureus*. 14;13(5):e15032.
122. Zheng, X., Takatsu, S., Wang, H. and Hasegawa, H. (2014). Acute intraperitoneal injection of caffeine improves endurance exercise performance in association with increasing brain dopamine release during exercise. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 122:136-43.
123. Sadeghi, A., Pourrazi, H., Noori, M. and Gholami, F. (2021). The Effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) and Caffeine Supplementation on Brain-derived Neurotrophic Factor and Glial Line-derived Neurotrophic Factor in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*. 28(1),21-31.
124. Abreu, R.V., Oliveira, E.M.S., Moraes, M.F.D., Pereira, G.S. and Moraes-Santos, T. (2011). Chronic coffee and caffeine ingestion effects on the cognitive function and antioxidant system of rat brains. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. (99);4:659-664.
125. Dias, A.L.A., Golzio, A.M.F.O., Santos, B.H.L., Salvadori, M.G.S.S., Santos, S.G., Santos, S.G., Silva, M.S., Almeida, R.N. and Barbosa, F.F. (2022). *Behavioural Brain Research*. Post-learning caffeine administration improves ‘what-when’ and ‘what-where’ components of episodic-like memory in rats. 433.

126. Cechella, J.L., Leite, M.R., Rocha, J.T., Dobrachinski, F., Gai, B.M., Soares, F.A.A., Bresciani, G., Royes, L.F.F. and Zeni, G. (2014). Caffeine suppresses exercise-enhanced long-term and location memory in middle-aged rats: Involvement of hippocampal Akt and CREB signaling. *Chemico-Biological Interactions*. 223;95-101.
127. Alhaider, I.A., Aleisa, A.M., Tran, T.T., Alzoubi, K.H. and Alkadhi, K.A. (2014). Chronic Caffeine Treatment Prevents Sleep Deprivation-Induced Impairment of Cognitive Function and Synaptic Plasticity. *Sleep*. 33; 4: 437–444.
128. Torlak, M.S., Okudan, N. and Belviranlı, M. (2021). Yaşlı Sıçanlarda Agmatin Takviyesi Ve Aerobik Egzersizin Uzaysal Öğrenme Üzerine Etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 22(2):98-105.
129. Han, M.E., Park, K.H., Baek, S.Y., Kim, B.S., Kim, J.B., Kim, H.J. and Oh, S.O. (2007). Inhibitory effects of caffeine on hippocampal neurogenesis and function. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 356(4);976-980.
130. Batista, D.F., Gonçalves, A.F., Rafacho, B.P., Okoshi, K., Paiva S.A.R. and Zornoff, L.A.M. (2013). Delayed rather than early exercise training attenuates ventricular remodeling after myocardial infarction. *International Journal of Cardiology*. 170(1).
131. Küçük, A. and Gölgeci, A. (2005). Deney Hayvanlarında Anksiyete Modelleri Ve Anksiyetenin Değerlendirilmesi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 14(3) 209-217.
132. Li, C., Liu, Y., Yin, S., Lu, C., Liu, D., Jiang, H., & Pan, F. (2015). Long-term effects of early adolescent stress: dysregulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis and central corticotropin releasing factor receptor 1 expression in adult male rats. *Behavioural brain research*, 288, 39–49.
133. Harpaz, E., Tamir, S., Weinstein, A. and Weinstein, Y. (2017). The effect of caffeine on energy balance. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 1;28(1):1-10.
134. Panchal, S.K., Wong, W.Y., Kauter, K., Ward, L.C. and Brown, L. (2012). Caffeine attenuates metabolic syndrome in diet-induced obese rats. *Basic Nutritional Investigation*. 28(10);1055-1062.
135. Moy, G.A. and McNay, E.C. (2013). Caffeine prevents weight gain and cognitive impairment caused by a high-fat diet while elevating hippocampal BDNF. *Physiology & Behavior*. 109;69-74.
136. Pettenuzzo, L. F., Noschang, C., Toigo, E. P., Fachin, A., Vendite, D. and Dalmaz, C. (2008). Effects of chronic administration of caffeine and stress on feeding behavior of rats. *Physiology & Behavior*. 20;95(3):295-301.
137. Temple, J.L., and Ziegler, A.M. (2011). Gender Differences in Subjective and Physiological Responses to Caffeine and the Role of Steroid Hormones. *Journal of Caffeine Research*. 1(1):41-48.

138. Moore, R.H.S., Franko, D.L., Thompson, D., Barton, B., Schreiber, G.B. and Daniels, S.R. (2006). Caffeine intake in eating disorders. *International Journal of Eating Disorders*. 39(2);162-165.
139. Sweney, P., Levack, R., Watters, J., Xu, Z. and Yang, Y. (2016). Caffeine increases food intake while reducing anxiety-related behaviors. *Appetite*. 101;171-175.
140. Correa, M., Miguel, N. S., Lopez-Cruz, L., Carratala-Ros, C., Olivaras-Garcia, R. and Salamone, J. D. (2018). Caffeine Modulates Food Intake Depending on the Context That Gives Access to Food: Comparison With Dopamine Depletion. *Front Psychiatry*, 9: 411.
141. Smith, A. (2002). Effects of caffeine on human behavior. *Food and Chemical Toxicology*. 40(9);1243-1255.
142. Loke, W. H. (1988). Effects of caffeine on mood and memory. *Physiology & Behavior*, 44(3), 367–372.
143. Traxler, P.A., Saho, R.J. and Wistner, M.B. (2022). Effects of caffeine on mood and memory. *Onu Student Research Colloquium*. 43.
144. Terry, W.S. and Phifer, B. (1986). Caffeine and memory performance on the AVLTL. Psychodynamics and Psychopathology. *Physiology & Behavior*. 42(6); 367-372.
145. Hogervorst, E., Riedel, W.J., Schmitt, J.A.J. and Jolles, J.(1998). Caffeine improves memory performance during distraction in middle-aged, but not in young or old subjects. *Human Psychopharmacology*. 13(4);277-284.
146. Singh, A.B., Xu, Y., Wang, H. and Kumar, V.H.S.(2019). The Beneficial Effects of Postnatal Caffeine on Spatial Learning in Adult Mice. *Journal of Caffeine and Adenosine Research*. 9(2).
147. Li, Y., Zhang, W., Shi, R., Sun, M., Zhang, L., Li, Na. and Xu, Z. (2018). Prenatal caffeine damaged learning and memory in rat offspring mediated by ARs/PKA/CREB/BDNF pathway. *Physiological Research*. 67(6):975-983.
148. Turgeon, S.M., Townsend, S.E., Dixon, R.S., Hickman, E.T. and Lee, S.M. (2016). Chronic caffeine produces sexually dimorphic effects on amphetamine-induced behavior, anxiety and depressive-like behavior in adolescent rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 143;26-33.
149. Angelucci, M.E.M., Cesário, C., Hiroi, R.H., Rosalen, P.L. and Cunha, C.D.(2002).Effects of caffeine on learning and memory in rats tested in the Morris water maze. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*.35(10).
150. Praag, H., Shubert, T., Zhao, C. and Gage, F.H. (2005). Exercise Enhances Learning and Hippocampal Neurogenesis in Aged Mice. *Journal of Neuroscience*. 25(38); 8680-8685.

151. Grace, L., Heschem, S., Kellaway, L.A., Bugarith, K. and Russell, V.A. (2009) Effect of exercise on learning and memory in a rat model of developmental stress. *Metabolic Brain Disease*, 24, 643.
152. Alaei, H.A., Moloudi, R. and Sarkaki, A.R. (2008). Effects of treadmill running on mid-term memory and swim speed in the rat with Morris water maze test . *Journal of Bodywork and Movement Therapies*,12(1):72-5.
153. Albeck, D.S., Sano, K., Prewit, G.E. and Dalton, L. (2006). Mild forced treadmill exercise enhances spatial learning in the aged rat. *Behavioural Brain Research*. 168(2);345-348.
154. Lee, H., Nagata, K., Nakajima, S., Ohno, M., Ohta, S. and Mikami, T. (2018). Intermittent intense exercise protects against cognitive decline in a similar manner to moderate exercise in chronically stressed mice. *Behavioural Brain Research*. 345(1);59-64.
155. Kim, T.W., Seo, J.H.,Jung, S.Y., Kim, D.Y., Kim, C.J. and Jun, S. (2011). Treadmill exercise ameliorates post-traumatic stress disorder induced memory impairment in Sprague-Dawley rats. *Physical Activity and Nutrition*. 173-182.
156. Wang, X.Q. and Wang, W.G. (2016). Effects of treadmill exercise intensity on spatial working memory and long-term memory in rats. *Life Sciences*. 149;96-103.
157. Berchtold, N.C., Castello, N. and Cotman, C.W. (2010). Exercise and time-dependent benefits to learning and memory. *Behavioural Neuroscience*. 167(3);588-597.
158. Hogervorst, E., Bandelow, S., Schmitt, J., Jentjens, R., Oliveira, M., Allgrove, J., et al. (2008). Caffeine improves physical and cognitive performance during exhaustive exercise. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 40, 1841–1851.
159. Brown, B.A., Frost, N., Rainey-Smith, S.R., Doecke, J., Markovic, S., Gordon, N., Weinborn, M., Sohrabi, H.R., Laws, S.M., Martins, R.N., Erickson, K.I. and Peiffer, J.J. (2021). High-intensity exercise and cognitive function in cognitively normal older adults: a pilot randomised clinical trial. *Alzheimer's Research & Therapy*. 13; 33.
160. Prut, I. and Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*. 463:3-33.
161. Childs, E., Hohoff, C., Deckert, J., Xu, K., Badner, J. and Wit, H. (2008). Association between *ADORA2A* and *DRD2* Polymorphisms and Caffeine-Induced Anxiety. *Neuropsychopharmacology* .33;2791-2800.
162. Klevebrant, L. and Frick, A. (2022). Effects of caffeine on anxiety and panic attacks in patients with panic disorder: A systematic review and meta-analysis. *General Hospital Psychiatry*. 74;22-31.

163. Ardais, A. P., Borges, M. F., Rocha, A.S., Sallaberry, C., Cunha, R. A. and Porciuncula, L. O. (2014). Caffeine triggers behavioral and neurochemical alterations in adolescent rats. *Neuroscience*. 270; 27-39.
164. Anderson, N.L. and Hughes, N. (2008). Increased emotional reactivity in rats following exposure to caffeine during adolescence. *Neurotoxicology and Teratology*. 30(3); 195-201.
165. Turgeon, S.M., Townsend, S.E., Dixon, R.S., Hickman, E.T. and Lee, S.M. (2016). Chronic caffeine produces sexually dimorphic effects on amphetamine-induced behavior, anxiety and depressive-like behavior in adolescent rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 143;26-33.
166. Salim, S., Sarraj, N., Taneja, M., Maria, K.S., Tejeda, V. and Chugh, S.G. (2010). Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. *Behavioural Brain Research*. 208(2);545-552.
167. Seo, J.H. (2018). Treadmill exercise alleviates stress-induced anxiety-like behaviors in rats. *Journal of Exercise Rehabilitation*. 14(5): 724–730.
168. Patki, G., Li, L., Allam, F., Solanki, N. Dao, A.T., Alkadhi, K. and Salim, S. (2014). Moderate treadmill exercise rescues anxiety and depression-like behavior as well as memory impairment in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Physiology & Behavior*. 130;47-53.
169. Jones, A.B., Gupton, R. and Curtis, K.S. (2016). Estrogen and voluntary exercise interact to attenuate stress-induced corticosterone release but not anxiety-like behaviors in female rats. *Behavioural Brain Research*. 311;279-286.
170. Hansen, K. B., Yi, F., Perszyk, R. E., Furukawa, H., Wollmuth, L. P., Gibb, A. J., & Traynelis, S. F. (2018). Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors. *The Journal of general physiology*, 150(8), 1081–1105.
171. Cognato, G.P., Agostinho, P.M., Hockemeyer, J., Müller, C.E., Souza, D.O. and Cunha, R.A. (2010). Caffeine and an adenosine A(2A) receptor antagonist prevent memory impairment and synaptotoxicity in adult rats triggered by a convulsive episode in early life. *J Neurochem*. 112(2):453-62.
172. Sukhotina, I. A., Zvartau, E. E., Danysz, W. and Besspalov, A. Y. (2004). Caffeine withdrawal syndrome in social interaction test in mice: effects of the NMDA receptor channel blockers, memantine and neramexane. *Behavioural Pharmacology*. 15(3):207-14.
173. Powel, K. R. and Holtzman, S. G. (1998). Lack of NMDA receptor involvement in caffeine-induced locomotor stimulation and tolerance in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 59(2):433-8.
174. Masrour, F.F., Peeri, M., Azarbayjani, M. and Hosseini, M.J. (2018). Voluntary Exercise During Adolescence Mitigated Negative the Effects of Maternal Separation

Stress on the Depressive-Like Behaviors of Adult Male Rats: Role of NMDA Receptors. *Neurochemical Research*. 43;1067-1074.

175. Yu, Q., Li, X., Wang, J. and Li, Y. (2013). Effect of exercise training on long-term potentiation and NMDA receptor channels in rats with cerebral infarction. *Exp Ther Med*. 6(6);1431-1436.
176. Ke, Z., Hu, S., Cui, W., Sun, J., Zhang, S., Mak, S., Wang, J., Tang, J., Pang, Y., Han, Y. and Tong, K. (2019). Bis(propyl)-cognitin potentiates rehabilitation of treadmill exercise after a transient focal cerebral ischemia, possibly via inhibiting NMDA receptor and regulating VEGF expression. *Neurochemistry International*. 128; 143-153.
177. Şahin, L., Çevik, S.Ö., Koyuncu, D.D., Kocahan, S. (2019). Caffeine as a potential arousal enhancer: altered NMDA subunit gene expression without improving cognitive performance in REM sleep deprived rats. *Cellular and Molecular Biology*. 65(2).
178. Kitamura, T., Mishina, M. and Sugiyama, H. (2003). Enhancement of neurogenesis by running wheel exercises is suppressed in mice lacking NMDA receptor epsilon 1 subunit. *Journal of Neuroscience Research*. 47(1):55-63.
179. Costa, M.S., Botton, P.H., Mioranza, S., Ardais, A.P., Moreira, J.D., Souza, D.O., Porciuncula, L.O. (2008). Caffeine improves adult mice performance in the object recognition task and increases BDNF and TrkB independent on phospho-CREB immunocontent in the hippocampus. *Neurochemistry International*. 53(3-4);89-94.
180. Sallaberry, C., Nunes, F., Costa, M.S., Fioreze, G.T., Ardais, A.P., Botton, P.H.S., Klaudat, B., Forte, T., Souza, D.O., Elisabetsky, E. and Porciuncula, L.O. (2012). Chronic caffeine prevents changes in inhibitory avoidance memory and hippocampal BDNF immunocontent in middle-aged rats. *Neuropharmacology*. 64;153-159.
181. Soya, H., Nakamura, T., Deocaris, C.C., Kimpara, A., Iimura, M., Fujikawa, T., Chang, H., McEwen, B.S. and Nishijima, T. BDNF induction with mild exercise in the rat hippocampus. *Biochem Biophys Res Commun*. 358(4);961-967.
182. Silva, S.G., Almeida, A.A., Fernandes, J., Lopim, G.M., Cabral, F.R., Scerni, D.A., Pinto, A.V., Lent, R. and Arida, R.M. (2016). Maternal Exercise during Pregnancy Increases BDNF Levels and Cell Numbers in the Hippocampal Formation but Not in the Cerebral Cortex of Adult Rat Offspring. *Plos One*. 11(1): e0147200.
183. Akhavan, M.M., Gorji, H.M., Abarghoie, M.E., Safari, M., Moghaddam, B.S., Vafaei, A.A. and Pour, A.R. (2013). Maternal Voluntary Exercise during Pregnancy Enhances the Spatial Learning Acquisition but not the Retention of Memory in Rat Pups via a TrkB-mediated Mechanism: The Role of Hippocampal BDNF Expression. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 16(9): 955–961.

184. Cechetti, F., Fochesatto, C., Scopel, D., Nardin, P., Gonçalves, C.A., Netto, C.A. and Siqueira, I.R. (2008). Effect of a neuroprotective exercise protocol on oxidative state and BDNF levels in the rat hippocampus. *Brain Research*. 1188;182-188.

