



**DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE MORİN VE HESPERİDİNİN
BİRLİKTE KULLANIMININ BEYİN DOKUSUNDA MALONDİALDEHİT
VE GLUTATYON DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Bilge PEHLİVAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2022

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen 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 çalışmasında 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.

.....
Bilge PEHLİVAN

27/12/2022

DENEYSSEL ALZHEİMER MODELİNDE MORİN VE HESPERİDİNİN BİRLİKTE
KULLANIMININ BEYİN DOKUSUNDA MALONDİALDEHİT VE GLUTATYON
DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Bilge PEHLİVAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2022

ÖZET

Yaşlanan dünya nüfusunun nörodejeneratif hastalıklarından birisi olan Alzheimer hastalığı (AH) demansın en sık rastlanan çeşididir. Alzheimer hastalığı en çok beyni dolayısıyla merkezi sinir sistemini etkileyen bir hastalıktır. Bu hastalık, sinaptik kayıp, amiloid beta (A β) ve nörofibriler yumaklar (NFT) ile karakterizedir. Oksidatif stres, Alzheimer hastalığının öncü nedenidir. Organizmadaki antioksidan seviyesi ile reaktif oksijen türleri (ROS) arasındaki denge bozulduğunda oksidatif stres ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stres ise lipid peroksidasyonunu tetikleyerek giderek artan hasara sebep olmaktadır. Lipid peroksidasyonunun en önemli belirteci malondialdehit (MDA) adı verilen üründür. Beyin lipid açısından zengin olduğundan, bu dejenerasyona en çok maruz kalan organdır. Özellikle son zamanlarda revaçta olan doğal ürünler olan flavonoidlerin bu alanda kullanımını son derece artırmıştır. Benzer şekilde, morin ve hesperidin de pek çok hastalığa pozitif yönde etki eden ve antioksidan özellik gösteren flavonoidlerdendir. Bu tezde, deneysel hayvan modeli üzerinde, morin ve hesperidin ayrı ayrı ve bir arada kullanımının, Alzheimer hastalığının neden olduğu oksidatif stres altındaki beyinde MDA ve glutatyon (GSH) düzeylerini nasıl etkilediği ele alınmıştır. Bu amaçla, 50 adet Wistar Albino erkek ratlardan oluşan; kontrol grubu (n=10), streptozotosin (STZ) ile oluşturulan Alzheimer grubu (n=10), Alzheimer modeli oluşturulduktan sonra 7 gün boyunca morin (10mg/kg) uygulanan grup (n=10), Alzheimer modeli oluşturulduktan sonra 7 gün boyunca hesperidin (100mg/kg) uygulanan grup (n=10), Alzheimer modeli oluşturulduktan sonra 7 gün boyunca morin (10mg/kg) ve hesperidin (100mg/kg) uygulanan grup (n=10) olmak üzere 5 adet grup oluşturuldu. İlk aşamada, ratlara stereotaksik olarak tek doz STZ uygulandıktan sonra 7 gün boyunca beklendi. 7 gün sonunda Alzheimer oluşumunu teyit etmek amacı ile ratlara yeni nesne tanıma testi (NOTR) uygulandı. Modelin doğrulanmasını takiben ilgili gruplara 7 gün boyunca intraperitoneal yoldan morin ve oral yoldan gavaj ile hesperidin verildi. Uygulama sürecinin sonunda ratlar sakrifiye edilerek beyin dokuları alındı. Alınan beyin dokuları homojenize edilip dokudaki MDA ve GSH düzeyleri incelendi. Alzheimer modeli oluşturulan ratlarda tek başına morinin ve hesperidin ve morin ve hesperidin birlikte uygulanmasının lipid peroksidasyonunu düşürdüğü ve antioksidan kapasiteyi artırdığı gözlemlendi.

Bilim Kodu : 20317

Anahtar Kelimeler : Alzheimer hastalığı, morin, hesperidin, flavonoid

Sayfa Adedi : 103

Danışman : Prof. Dr. Şule CEVHER COŞKUN

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF COMBINED USE OF MORIN AND
HESPERIDINE ON MALONDIALDEHYDE AND GLUTATION LEVELS IN BRAIN
TISSUE IN EXPERIMENTAL ALZHEIMER MODEL

(M. Sc. Thesis)

Bilge PEHLİVAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

December 2022

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD), one of the neurodegenerative diseases of the aging world population, is the most common type of dementia. Alzheimer's disease is a disease that mostly affects the brain and therefore the central nervous system. This disease is characterized by synaptic loss, amyloid beta (A β) and neurofibrillary tangles (NFT). Oxidative stress is a leading cause of Alzheimer's disease. Oxidative stress occurs when the balance between antioxidant levels and reactive oxygen species (ROS) in the organism is disturbed. Oxidative stress, on the other hand, triggers lipid peroxidation and causes increasing damage. The most important marker of lipid peroxidation is the product called malondialdehyde (MDA). Because the brain is rich in lipids, it is the organ most prone to degeneration. The use of flavonoids, which are natural products that have been in demand recently, has increased tremendously in this area. Similarly, morin and hesperidin are flavonoids that have a positive effect on many diseases and show antioxidant properties. In this thesis, it is discussed how the use of morin and hesperidin separately and together on an experimental animal model affects MDA and glutathione (GSH) levels in the brain under oxidative stress caused by Alzheimer's disease. For this purpose, 50 Wistar Albino male rats; control group (n=10), Alzheimer group induced with streptozotocin (STZ) (n=10) After the Alzheimer's model was created, the group in which morin (10mg/kg) was administered for 7 days (n=10), after the Alzheimer's model was created, hesperidin (100mg/kg) was administered for 7 days (n=10), after the Alzheimer's model was created, morin was administered for 7 days (10mg/kg) and hesperidin (100mg/kg) administered group (n=10). 5 groups were formed. In the first stage, after a single dose of STZ was administered stereotaxically to the rats, it was waited for 7 days. At the end of 7 days, the new object recognition test (NOTR) was applied to the rats in order to confirm the development of Alzheimer's. Following the validation of the model, the groups were given morin intraperitoneally and hesperidin orally by gavage for 7 days. At the end of the application process, the rats were sacrificed and brain tissues were taken. The brain tissues taken were homogenized and the MDA and GSH levels in the tissue were examined. It was observed that the co-administration of morin and hesperidin alone and morin and hesperidin in Alzheimer's model rats decreased lipid peroxidation and increased antioxidant capacity.

Science Code : 20317

Key Words : Alzheimer's disease, morin, hesperidin, flavonoid.

Page Number : 103

Supervisor : Prof. Dr. Şule CEVHER COŞKUN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecim boyunca konu seçiminden, araştırmanın yürütülmesi sürecine kadar benden hiçbir şekilde desteğini esirgemeyip, bilgi, beceri ve engin tecrübeleri ile her daim zor anlarımda yanımda olan, bana yol gösteren kıymetli hocam, danışmanım Prof. Dr. Şule CEVHER COŞKUN'a; çalışmalarım, eğitim hayatım ve tezimin oluşması sürecinde bilgi beceri ve deneyimleri ile daima bana yardımcı olan çok değerli hocam Prof. Dr. K. Barbaros BALABANLI'ya özellikle proje ve laboratuvar çalışmalarımda deneyimleri ile bana yardımcı olan değerli hocalarım Doç. Dr. Şevin GÜNEY'e, Doç. Dr. A. Seda YAR SAĞLAM'a en içten sevgi ve saygılarımla teşekkürü borç bilirim. Laboratuvar deneyleri sürecinde bana yardım eden çalışma arkadaşlarım Pınar ARIBAL'a, Sevim KÖMÜR'e, Elif Naz ALVER'e, Eren ÇAVUŞOĞLU'na, Umur Tuğcu YILMAZER'e ve GÜDAM'daki çalışmalarımda bana yardım eden GÜDAM ekibine teşekkür ve şükranlarımı sunmaktan büyük mutluluk duyarım.

Yüksek lisans sürecimde ve bu günlere gelmemde büyük emekleri olan, maddi ve manevi olarak bana destek olan, sevgilerini esirgemeyen, beni cesaretlendiren ve sarsılmaz güvenleri ile her an yanımda olan annem, babam ve kardeşime sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım. Son olarak, bu tezde her türlü yardım ve destekleri ile yanımda olan sevgili arkadaşlarım, Müge KİRAZ ve Osman ÖZTÜRK'e çok teşekkür ederim.

Streptozotosin (STZ) ile indüklenen Deneysel Alzheimer modelinde morin ve hesperidinin oksidatif stres ve bilişsel fonksiyonlar üzerine etkisi adlı proje kapsamında bu araştırmayı destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (BAP) teşekkürlerimi sunarım. (Proje numarası:05/2020-10).

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Merkezi Sinir Sistemi.....	5
2.2. Nörodejeneratif Hastalıklar.....	7
2.3. Alzheimer Hastalığı.....	7
2.4. Alzheimer Hastalığı Risk Faktörleri.....	10
2.4.1. Alzheimer hastalığı ile ilişkili genler.....	11
2.4.2. Epigenetik Faktörler.....	13
2.5. Alzheimer Hastalığı Patolojisi.....	16
2.6. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....	22
2.7. Oksidatif Stresin Biyobelirteçleri.....	24
2.8. Alzheimer Hastalığı ve Oksidatif Stres.....	26
2.9. Antioksidanlar.....	29
2.10. Flavonoidler.....	31
2.10.1. Hesperidin.....	33

	Sayfa
2.10.2. Morin.....	37
3. MATERYAL METOT.....	40
3.1. Deney Hayvanları.....	41
3.1.1. Deney grupları.....	41
3.1.2. Alzheimer modelinin stereotaksik cerrahi yöntemi ile intraserebroventriküler streptozotosin uygulanmasıyla oluşturulması.....	42
3.1.3. yBOS hazırlanması ve içeriği.....	44
3.1.4. Deney gruplarının oluşturulması ve yapılan işlemler.....	45
3.2. Yöntem.....	49
3.2.1. Yeni nesne tanıma testi (NORT).....	49
3.2.2. Dokuda MDA düzeylerinin belirlenmesi.....	51
3.2.3. Dokuda GSH düzeylerinin belirlenmesi.....	52
3.3. İstatistiksel Analiz.....	53
4. BULGULAR.....	55
4.1. Yeni Nesne Tanıma Testi (NOTR).....	55
4.2. MDA Düzeyleri.....	58
4.3. GSH Düzeyleri.....	60
5. TARTIŞMA.....	61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
KAYNAKLAR.....	71
ÖZGEÇMİŞ.....	103

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. AH ile ilişkili risk faktörleri.....	10
Çizelge 2.2. Alzheimer ile ilişkili genler.....	11
Çizelge 3.1. Deneyde oluşturulan gruplar.....	41
Çizelge 3.2. yBOS içeriği.....	44
Çizelge 4.1. Grupların yeni nesne tanıma testi sonuçları.....	55
Çizelge 4.2. Grupların DI sonuçları.....	57
Çizelge 4.3. Deney gruplarında MDA düzeyleri.....	58
Çizelge 4.4. Deney gruplarında GSH düzeyleri.....	60

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. AH patogenezinin genel bir modeli olarak ACH.....	13
Şekil 2.2. Cu-A β kompleksi tarafından katalize edilen indirgeyici mekanizma.....	14
Şekil 2.3. Mitokondride ROS üretimi.....	15
Şekil 2.4. Nörodejeneratif hastalıkta hücre ölümünün çoklu mekanizmaları.....	17
Şekil 2.5. ROS oluşumunu tetikleyen faktörler.....	23
Şekil 2.6. ROS'un üretim kaynakları.....	24
Şekil 2.7. AH'de oksidatif stresin indüklenmesi.....	25
Şekil 2.8. Bilişsel ve davranışsal bozukluklarla oksidatif stres arasındaki ilişki.....	27
Şekil 2.9. Sinapsın yapısı.....	28
Şekil 2.10. Flavonoidlerin fonksiyonları.....	32
Şekil 2.11. Flavonoidlerin alt sınıfları ve kaynakları.....	32
Şekil 2.12. Hesperitin ve hesperidin'in kimyasal yapıları.....	34
Şekil 2.13. Hesperidin'in nöroprotektif etkili moleküler mekanizmalarının teorik şeması.....	35
Şekil 2.14. Nöroinflamasyon modellerinde hesperidin'in etkileri.....	36
Şekil 2.15. Morinin kimyasal yapısı.....	38
Şekil 2.16. Morin'in doğal kaynakları.....	38
Şekil 2.17. Morin'in sağlık üzerine etkileri.....	39
Şekil 3.1. Deney zaman akışı.....	45
Şekil 4.1. Yeni nesne tanıma testinin sonuçlarının grafiksel verileri.....	56
Şekil 4.2. DI verilerinin grafiği.....	58
Şekil 4.3. Deney gruplarında MDA düzeylerinin grafiği.....	59
Şekil 4.4. Deney gruplarında GSH düzeylerinin grafiği.....	61

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Nöronlar.....	4
Resim 2.2. Beyin, talamus ve serebellum.....	5
Resim 2.3. Amiloid plaklar.....	17
Resim 2.4. AH'de nörofibriler yumaklar.....	18
Resim 2.5. Fosforillenmiş tau.....	18
Resim 2.6. Mikroglialar.....	19
Resim 2.7. Alzheimer patolojisi görülen beyin.....	20
Resim 2.8. Temporal boynuzun genişlemesi ve hipokampal atrofi.....	20
Resim 3.1. Stereotaksi cihazı.....	41
Resim 3.2. Ratın stereotaksi cihazına yerleştirilmesi, üstten görünüm.....	42
Resim 3.3. Ratın stereotaksi cihazına yerleştirilmesi yandan görünüm.....	42
Resim 3.4. Bregma çizgisi referans alınarak rata i.c.v yöntemi ile STZ uygulanması..	43
Resim 3.5. Sakrifiye edilen ratın beyin dokusu örneği.....	45
Resim 3.6. Sakrifiye edilen ratın kafasının açılması.....	46
Resim 3.7. Sakrifiye edilen ratın beyninin alınması.....	47
Resim 3.8. Yeni nesne tanıma testi birinci gün.....	48
Resim 3.9. Yeni nesne tanıma testi ikinci gün.....	49
Resim 3.10. Yeni nesne tanıma testi üçüncü gün.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Kısaltmalar	Açıklamalar
AB	Amiloid beta
ACH	Amyloid cascade hypothesis
ACh	Acetylcholine
AH	Alzheimer hastalığı
ALS	Amyotrofik lateral skleroz
APOE	Apolipoprotein E
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CAT	Catalase
CLU	Clustrein gene
COX	Cyclo-oxygenase
DNA	Deoksiribonükleik asit
DI	Discrimination index
ER	Endoplazmik retikulum
ESR	Estrogen receptor gene
GLO-1	Gliksalaz
GPx	Glutathione peroxidase
GSR-1	Glutathione reductase
GSH	Glutasyon
GSSG	Glutathione disulfide
HNE	4-hidroksi-2-transnonenal
HO	Heme oksijenaz
IL	İnterlökin
I.c.v.	Intracerebroventricular
I.p.	Intraperitoneal
MDA	Malondialdehit
MSS	Merkezi sinir sistemi
MTL	Medial temporal lob

Kısaltmalar**Nrf2****NOTR****PH****PSEN1****PSEN2****PUFA****RNA****ROS****SOD****SP****STZ****TBARS****TNF α** **Açıklamalar**

Nuclear factor erythroid 2

Novel object recognition test

Parkinson hastalığı

Presenilin 1

Presenilin 2

Polyunsaturated fatty acids

Ribonükleik asit

Reactive oxygen species

Süperoksit dismutaz

Senil plak

Streptozotosin

Thiobarbituric acid reagents

Tümör nekroz faktörü alfa



1. GİRİŞ

AH merkezi sinir sistemindeki (MSS) nöronların kaybına ve/veya hasarına neden olan ve geri dönüşü olmayan nörodejeneratif bir hastalıktır. Alois Alzheimer 1907'de "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde" (Serebral korteksin olağandışı hastalığı üzerine) adlı makalesinde 51 yaşındaki bir hastasında hafıza kaybı, kognitif bozukluk ve halüsinasyon gibi bulgulara rastladığı nadir bir vakasını anlatmıştır. Bu hastanın ölümünden sonra beyni üzerinde otopsi yaparak korteksinde özel bir maddenin biriktiğine, nörofibrillerde çarpıcı değişiklikler olduğuna ve beynin atrofiye uğradığına dair bulgulara ulaşmıştır [1, 2]. Bu buluştan bir asır sonra Alzheimer hastalığı olarak adlandırılan bu hastalık etiyojisi henüz keşfedilememiş en yaygın nörodejeneratif hastalık haline gelmiştir [1, 3]. AH ne yazık ki, mevcut tüm terapilere rağmen durmaksızın ilerlemektedir. AH'li hastalarda görülen semptomlar bir kez ortaya çıktıktan sonra geri döndürülemede hatta gün geçtikçe daha kötü bir hale gelmektedir AH'nin verdiği en önemli ve en büyük zarar hafızanın giderek bozulmasıdır. Afazi, yürütücü işlev bozukluğu ve çevreye karşı ilgisizlik hastalığın erken dönemlerinde kendini göstermektedir. Hastalığın başlangıcında genellikle yakın geçmişteki anılar kaybedilirken, daha uzak geçmişteki anılar korunmaktadır. Bununla birlikte, hastalık ilerledikçe epizodik hafızanın tümü etkilenmeye başlamaktadır [4]. Başlangıçta görülen hafıza bozulmasına ek olarak, zamanla, oryantasyon ve muhakeme bozukluğu, konuşma anormallikleri ve hatta kişinin öz bakımında problemler yaşadığı görülmeye başlamaktadır [5]. Bunlarla birlikte, hastalığın ileri aşamalarında, halüsinasyon, depresyon, sinirlilik, saldırganlık gibi semptomlar da meydana gelmektedir [6]. AH'nin en belirgin patolojisi, bölgesel nöronal ve sinaptik kaybın sonucunda meydana gelen beyin atrofi, nöritik plaklar şeklinde oluşan hücre dışında A β plaklar ve NFT şeklinde biriken intranöronal tau proteinleridir. A β 'nin hücre dışında birikmesine ilave olarak, bu yapı serebral kan damarlarında da birikmektedir. A β birikimlerinin klinik semptomların ortaya çıkmasından yaklaşık 20 yıl önce meydana geldiği düşünülmektedir [7, 8]. NFT oluşumu ve nöronal kayıplar, bilişsel gerileme ile güçlü bir ilişki içerisindedir [4, 7, 9]. Alzheimer hastaları son zamanlarını ve hatta bazen yıllarını yatağa bağlı yaşamaktadırlar. Bu hastalıktan muzdarip bireyler artık bireysel olarak bir yaşam sürememektedir [5]. AH patolojisi ilk olarak orta yaşlarda birikmektedir fakat klinik semptomlar genellikle 65 yaş ve sonrasında kendini göstermektedir [7, 8, 10]. Ancak ilerleyen yaş bir risk faktörü olsa da tek risk faktörü değildir. Dünya çapında kendini gösteren AH erken mevcut yöntemlerle erken evrelerde teşhis edilebiliyor olmasına rağmen, ne yazık ki hastalığı tamamen önleyen veya modifiye

eden ilaçlar hala bulunmamaktadır. Bu hastalık sadece AH'den muzdarip bireyleri değil bu hastaların yakınları da yıkıcı bir şekilde etkilemektedir. AH'ye bir tedavi bulunamazsa dünya nüfusunun yaş ortalamasının artması dolayısıyla yaşlanan dünya nüfusunda AH hastalığı giderek artacaktır. Bu sebeple, AH artık sadece bu hastalığı etkileyen bireyleri değil tüm toplumu etkileyen bir hale gelecektir.

Narenciye flavonoidleri anti-inflamatuvar ve antioksidan biyoaktivitelere sahip bileşiklerdir. Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda narenciye flavonoidlerinin nöroprotektif etki gösterdiğini, hatta bilişsel durumu desteklediğini bildirmişlerdir [11, 12].

Hesperidin ($C_{28}H_{34}O_{15}$) narenciye flavonoidlerinden olan doğal bir bileşiktir. Hwang ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada hesperidin antioksidan ve nöroinflamatuvar etki gösterdiğini bildirmişlerdir [11, 12]. Yine bu çalışmada hesperidin tercih edilmesinin sebepleri yüksek güvenli bir bileşik olması, çoklu nöroprotektif mekanizmalara sahip olması ve kan beyin bariyerini geçebilmesi olarak sıralanmıştır [11, 13]. Shaban ve arkadaşlarının γ -radyasyonuna maruz kalan sıçanlar ile oluşturdukları bir modelde artan oksidatif stres sonucunda MDA düzeyinin arttığı, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalazın (CAT) enzim aktivitesinin ve GSH seviyesinin düştüğü gözlemlenmiştir. Hesperidin uygulanan gruplarda ise MDA seviyesinin düştüğü, SOD ve CAT'ın enzim aktivitesinin ve GSH düzeyinin arttığı gözlemlenmiştir. Dolayısıyla, hesperidin oksidatif strese bağlı toksisiteyi engellediği bildirilmiştir [14].

Morin ($C_{15}H_{10}O_7$), *Moraceae* familyasının üyesi olan bir flavonoiddir. Morinin antioksidan ve anti-inflamatuvar etki gösteren bir diyet flavonoidi olduğu Kim ve arkadaşlarının, Manna ve arkadaşlarının ve Denda ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalar gibi pek çok çalışma ile rapor edilmiştir [15-17]. Morinin oksidatif stresten koruma yeteneğinin sebebi süperoksit anyonlarına, hidroksil radikallerine ve ROS'a karşı koyması sebebiyledir [15, 18-20]. Caselli ve arkadaşlarının yaptıkları bir *in vivo* deneyde morinin kronik uygulamasının düşük toksisite gösterdiği, dolayısıyla, morin uygulamasının güvenilir bir yol olduğu gösterilmiştir [21]. Olonode ve arkadaşlarının yaptıkları bir başka çalışmada, morinin oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun belirteçleri MDA ve TBARS gibi reaktif maddelerin düzeylerini azalttığı ve GSH düzeyini ise arttırdığı gözlemlenmiştir [22].

Yeni nesne tanıma testi (NOTR) öğrenme ve hafıza üzerinde çeşitli araştırmaların yapılması için yaygın olarak kullanılan bir testtir [23]. Bu testte uzun süreli bellek ve uzun süreli bellek ayrı ayrı gözlemlenebilmektedir Uygulaması 3 gün sürmektedir ve bu günler sırasıyla alışma aşaması, alıştırma aşaması ve test aşaması olarak adlandırılmaktadır. Alıştırma aşamasında farelerin iki adet birbirinden farklı nesneyi öğrenmesi ve keşfetmesi sağlanmaktadır. Test gününde ise bu nesnelere biri değiştirilmektedir. Farelerin doğasında yeni olana daha fazla ilgili olmak görülmektedir. Bu test ilk kez 1988'de Ennaceur ve Delacour tarafından oluşturulmuş ve ratlar üzerinde kullanılmıştır [23, 24]. İlk kez NOTR testinin uygulanmasından itibaren pek çok kez fareler üzerinde başarı ile uygulanmıştır [25-30].

Bu bağlamda, tez kapsamında yapılan çalışmada deney model-i oluşturulacak ratlara stereotaksik cerrahi yöntemi ile intraserebroventriküler (i.c.v.) yoldan yapay beyin omurilik sıvısı (yBOS) içinde çözdürülmüş olan streptozotosin (STZ) verilmiştir. Bu şekilde deneysel Alzheimer modeli oluşturulmuştur. Alzheimer modeli oluşturulan ratlarda oksidatif stresi geriletme amacı ile intraperitoneal (i.p.) yoldan morin ve oral yoldan gavaj ile hesperidin uygulanmıştır. Morin ve hesperidin uygulanmasının ardından NOTR testi ile kısa süreli bellek üzerinde araştırma yapılmıştır. Morin ve hesperidin oksidatif stres üzerindeki etkilerinin araştırılması amacı ile beyin dolusunda malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyleri incelenmiştir.



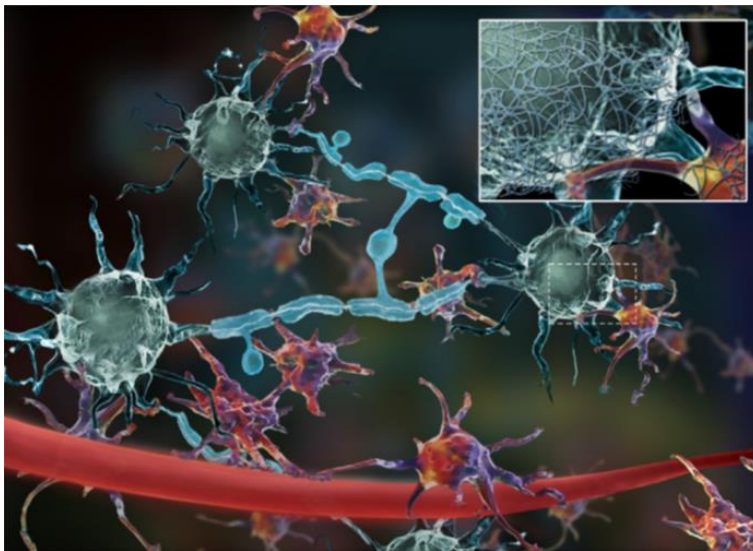
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Merkezi Sinir Sistemi

İnsanlar ve hayvanlar çevresinden gelen ve vücudunda cereyan eden pek çok uyarana maruz kalmaktadır. Canlıların bu uyarılara karşı tepki vermesi ise sinir sistemi sayesinde mükemmel bir şekilde yapılmaktadır [31].

Nöronlar

Nöronlar, bir diğer deyişle sinir hücreleri, çevreden aldıkları sinyalleri uzantıları sayesinde MSS'ye ya da tam tersi olarak, MSS'den aldıkları uyarıları da MSS'nin başka bir bölgesine veya herhangi bir organa iletmekle görevli hücrelerdir (Resim 2.1.) [31]. Bu iletim yeteneğinin yanı sıra, gerekli durumlarda gelen sinyalleri ihtiyaca göre güçlendirebilir veya azaltabilirler [31, 32] Nöronların dendrit ve aksonları ile birbirine bağlanarak sinir sistemini oluşturmaktadırlar [31]. Nöronlar esas olarak santral sinir organlarında (medulla spinalis ve cerebrum-beyin) gri cevherlerin belirli bir bölgesinde toplanarak nükleus denilen sinir çekirdeklerini oluşturmaktadırlar [32]. Bu sistemin herhangi bir kısmı hasar aldığı zaman, canlının fonksiyonlarında az ya da çok miktarda bir azalma mutlaka görülmektedir [31].

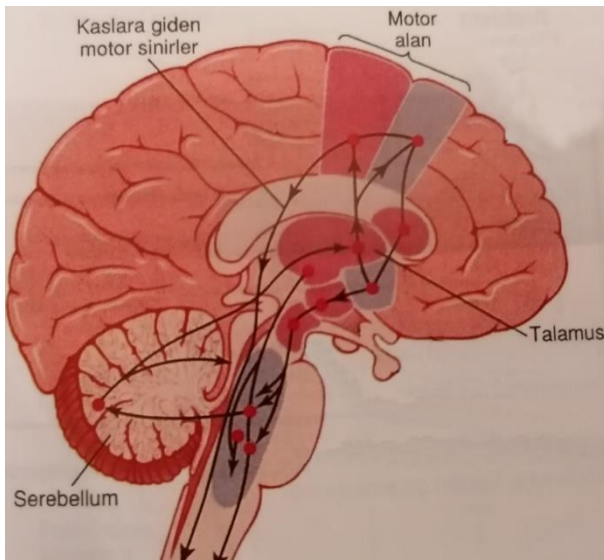


Resim 2.1. Nöronlar [33]

Encephalon (Beyin)

Beyin, ceviz şeklinde ve soğuk yulaf ezmesi kıvamında bir dokuya sahip olan organlarımızdan biridir (Resim 2.2) [34]. Beynin ağırlığı erkeklerde ortalama 1375 gram kadınlarda ise ortama 1245 gramdır [32]. Ağırlığı insan vücudunun yaklaşık %2'sine denk gelmektedir [31]. Yenidoğanlarda beyin vücut ağırlığının onda biri kadarken, doğumdan sonraki ilk aylarda beyin çok çabuk büyümektedir. Dokuz ay sonra neredeyse iki kat hacme ulaşmaktadır. Yaşlandıkça ise beyin ağırlığı tekrar azalmaya başlamaktadır [32].

Beynin akla gelen ilk görevleri düşünebilmesi ve anıları hafızada biriktirebilmesidir. Fakat bunlar beynin fonksiyonlarının çok az bir kısmıdır. Çevreden ve vücuttan gelen uyarıyı algılayarak hafızaya kaydedebilen ayrıca daha önceki deneyimleri yeni bilgi ve deneyimlerle bütünleştirerek gereken yanıtı oluşturabilen bir organdır [35]. Beynin diğer görevleri, konsantrasyonu sağlamak, şuurluluk halinde olabilmek, uyuyabilmek, hayal kurabilmek, düşünebilmek, bir şeyler yaratmayı sağlamak, motor aktiviteleri yapabilmek, endokrin sistemin, somatik sistemlerin ve organların düzenli çalışmasını sağlamaktır [31]. Buradaki nöronların gövdeleri beynin dış bölgesine yakın yerleşmiştir. Beynin dış bölgesine doğru yerleşmiş olan nöron gövdelerinin oluşturduğu gri cevher tabakasına cortex cerebri (beyin kabuğu) denir [35]. Beyin makroskobik olarak incelendiğinde, beyin yarı küreleri, beyin sapı (truncus cerebri) ve serebellum (beyincik) olarak üç ana bölüme ayrılmaktadır [31].



Resim 2.2. Beyin, talamus ve serebellum [36]

Serebellum

Beynin ikinci büyük bölümü olan serebellum, yapısı itibariyle karnabahara benzemektedir. Yaklaşık 150 gram ağırlığındadır, MSS'nin yaklaşık 1/10'una tekabül etmektedir [34]. Beyinciğin yüzeyi tamamen gri cevher tabakası ile kaplıdır [32]. Serebellum, günlük hayat aktivitelerini gerçekleştirme aşamasında önemli rol oynamaktadır. İskelet kaslarının doğru zamanda doğru şekilde çalışmasını sağlamaktadır. Örneğin araba sürmek, yazı yazmak, müzik enstrümanları çalmak gibi işlevleri koordineli bir şekilde yapmamızı sağlamaktadır. Serebellum'un bu aktiviteleri istemsizce meydana gelmektedir yani kişinin bu aktiviteleri gerçekleştirmekle ilgili bir farkındalığı yoktur [34]. Bu bölge hasar aldığı anda, kişi ayakta dengelerini bulmakta zorlanmaktadır. Hasta bacaklarını açarak dengeli durmayı sağlamaya çalışmaktadır. Herhangi bir harekette bulunurken titreme (tremor) meydana gelmektedir [35].

2.2. Nörodejeneratif Hastalıklar

Nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasının ana sebebi MSS'deki hücrelerin hasara uğraması ve kaybıdır. Bu hastalıklar genel hatları ile beyin atrofisi, NFT, plak oluşumları ve kümelenmiş yapılar ile karakterizedir [37-40]. Bu bozukluklar zamanla birikmekte ve bu duruma beyin ve periferik organlarda fizikokimyasal özelliklerinin değişmesi eklenmektedir [41, 42]. İnsan vücudunun diğer kısımlarındaki hücrelerin kendilerini yenileme yeteneği daha yüksekken, beyindeki hücrelerin kendilerini yenileme yetenekleri sınırlıdır. Bu sebeple beyin, hücre kaybına daha yatkın bir organdır [6]. Bu tür hastalıklar büyük oranda ileri yaşlarda kendini göstermekte ve hafızada bozukluklara, lokomotor bozukluklara, duygusal, davranışsal ve bilişsel bozulmalara sebep olmaktadır [41, 43, 44]. Parkinson hastalığı (PH), Huntington, Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) ve AH en sık görülen nörodejeneratif hastalıklar arasındadır [6].

2.3. Alzheimer Hastalığı

AH'nin bilişsel semptomları, kısa süreli bellekte, görsel – uzaysal işlevde bozukluktur. AH, sinsice ilerleyen bilişsel ve işlevsel gerilemenin yanı sıra davranışsal değişiklikleri de içeren nörodejeneratif bir hastalıktır [5]. İlerleyen çalışmalarla, AH, başlangıç yaşına bağlı olarak iki klinik gruba ayrılmıştır. 65 yaşından genç kişilerde görülen erken başlangıçlı Alzheimer

“presenil” demans olarak adlandırılırken, Tomlinson, Roth ve Blessed’in çalışmaları sonucunda 65 yaşın üstündeki kişilerde görülen geç başlangıçlı Alzheimer ise “senil” demans olarak adlandırılmıştır [5, 45]. Geç başlangıç gösteren AH, erken başlangıçlı AH’ye göre daha komplekstir. Geç başlangıçlı AH’ye neden olan genlerin birbirleriyle ve çevreyle olan etkileşimi hastalığın seyrini büyük ölçüde etkilemektedir [6].

Tanı

Kişiye AH tanısı koyulabilmesi için sosyal yaşam kalitesinin düşmesi ile birlikte bellek kaybı olduğuna dair klinik kanıt gerekmektedir [5]. AH tanısı için birkaç nöropatolojik kriter bulunmaktadır [46-48]. Henderson tarafından AH’nin A β , senil plaklar (SP), NFT gibi karakteristik patolojik özellikleri tanımlanmıştır [49-52]. Ayrıca nöronların ve sinapsların kaybı gibi mikroskopik değişiklikler de gözlemlenmiştir. NFT ve SP intranöronal boşluklarda ve hücre dışında protein agregatlarının birikimidir. NFT’nin ana proteini hiperfosforile tau’dur. SP’nin ana proteini ise, amiloid öncü proteinden (APP) üretilen A β ’dir. Bazı çalışmalara göre, bu patolojilerin oluşmasına oksidatif stres sonucu ortaya çıkan ROS neden olmaktadır [46]. AH multinörotransmitter eksikliğinden de kaynaklanan bir hastalıktır. Örneğin, serebral kortekste kolinerjik belirteçlerden olan kolin, asetil transferazlar ve asetilkolinesterazlar kayıptır [46, 53]. Ayrıca serotonin, noradrenalin, somatosin ve kortikotropin salıcı faktör eksikliği de bulunmaktadır [46, 54-56]. AH’de birtakım nöromedyatörlerin ve odaklanmayı sağlayan, öğrenmeye yardımcı olan asetilkolinin (ACh) seviyelerinde (diğer nöromedyatörlere göre daha fazla) değişiklikler tanımlanmıştır [6, 57]. AH’de meydana gelen bu kolinerjik kaybın hastalarda depresyon, ajitasyon, anksiyete, psikoz vb. davranışsal ve psikolojik sorunlara neden olduğu ortaya koyulmuştur [6, 58].

Aşamaları

Alzheimer hastalığı dört ana aşamada toplanmaktadır. Birinci aşama başlangıç aşamasıdır. Bu aşamada hastalarda çok hafif bilişsel bozukluklar görülmektedir. Bireyler bu bilişsel bozulmaların üstesinden gelebilmektedir. Buna rağmen, karmaşık olan görevler zorlayıcı olabilmektedir. Bu aşamadaki hastalar, hastalığı kabullenemeyerek üstesinden gelemedikleri eylemlerden kaçmakta ve bu eylemleri küçümsemektedirler. Klinik tanıdan beş yıl kadar

sonra depresif bir ruh haline bürünerek, kendilerini sosyal hayattan izole etmektedirler [59, 60].

İkinci aşama hafif bunama aşamasıdır. Bu aşamada hastalarda görülen en belirgin klinik özellikler öğrenmede zorluk çekme ve hafızada görülen bozukluklardır. Bu aşamadaki hastalar hala bağımsız olarak yaşayabilmektedirler. Buna rağmen, günlük faaliyetlerini zor şekilde gerçekleştirmektedirler. İletişim kurarken bu bireylerin kelime dağarcığının büyük oranda daraldığı ve akıcı konuşamadıkları belirgin şekilde fark edilebilmektedir [59, 61, 62]. Hastalar hızlarını ve cisimler arasındaki mesafelerini muhakeme etmekte zorlanmaya başladıkları için bu aşamadaki bireylerin artık araba kullanmasına izin verilmemesi gerektiğine dair düşünceler bulunmaktadır [59, 63]. Bunların dışında iştah ve uyku bozuklukları, algıda ve düşüncelerde değişiklikler (sanrılar) gibi semptomlar ilerleyen evrelerde görülmektedir [7].

Üçüncü aşama orta derecedeki demans aşamasıdır. Bu hastaların yakın belleğinde ciddi bir hasar meydana geldiğinden, dışarıdan bakıldığında bu kişiler geçmişte yaşıyor gibi görülmektedir [59, 64]. Bu aşamadaki hastaların konuşma becerisinin yanı sıra okuma becerileri de deforme olmaya başlamıştır. Okuduklarını anlamakta zorlanmaktadırlar [59, 65]. Benzer olarak yazdıkları yazılarda da pek çok hata ve eksiklikler bulunmaktadır [59, 66]. Hastalar eskiden tanıdıkları kişiyi artık tanıyamamaktadırlar [7].

Dördüncü ve son aşama şiddetli demans aşamasıdır. Artık bu aşamada hastaların neredeyse tüm bilişsel işlevleri ciddi derecede bozulmuştur. Henüz yeni gerçekleşmiş olan anılar bile unutulabilmektedir. Hastalar en basit bireysel ihtiyaçlarını dahi gerçekleştirememektedirler. Öyle ki, çiğneme ve yutma işlevlerinde bozulmalar olabilmektedir. Konuşma dilleri çok basitleşmiş ve hatta tek kelimeye indirgenmiştir [59].

Prevalans

AH, toplam demans vakalarının %70'ini oluşturmaktadır [5, 67, 68]. 2006 yılında dünya çapında 26,6 milyon AH vakası saptanmıştır. 2050 yılında ise 106,8 milyon insanda AH vakası görüleceği ve 86 kişiden 1'inin bu hastalığa yakalanacağı ileri sürülmüştür [69, 70]. Dünya Alzheimer Raporunda belirtilene göre 2015 yılında dünya çapında 46,8 milyon insan bunama hastasıydı ve bu sayının her 20 yılda bir ortalama iki katına çıkması beklenmektedir

[71]. Prevalans sıralaması Asya’da 22,9 milyon, Avrupa’da 10,5 milyon ve Amerika’da 9,4 milyondur [1]. İstanbul Kadıköy’de yapılan Türkiye Alzheimer Hastalığı Prevalansı çalışmasına göre 70 yaş üstü kişilerde AH prevalansı %11’dir. Bu veriler ışığında Türkiye’de 250-300 bin Alzheimer hastası olduğu düşünülmektedir [72, 73].

2.4. Alzheimer Hastalığı Risk Faktörleri

Önceki incelemelerde, demans ve AH ile ilgili pek çok risk faktörü tanımlanmıştır [49, 52, 74-68]. AH ile ilişkili risk faktörleri faktörler tablo 2.1.’de özetlenmiştir.

Çizelge 2.1. AH ile ilişkili risk faktörleri [49]

GRUP	RİSK FAKTÖRLERİ
Demografik	Yaş, eğitim, cinsiyet, ırk ve sosyal sınıf [49, 52, 78-80]
Genetik	APP, PSEN1, PSEN2, apolipoprotein E (APOE), Clustrein geni (CLU), Östrojen reseptör geni (ESR), Vitamin D reseptör geni ve Epigenetik faktörler [81-91].
Yaşam Şekli	Alkol tüketimi, yetersiz egzersiz, yetersiz zihinsel aktivite, beslenme bozukluğu ve sigara kullanımı [52, 80, 92-99].
Tıbbi	Kanser, kardiyovasküler hastalıklar, konjestif kalp yetmezliği, immün sistem disfonksiyonu, obezite, inme, bozulmuş kolesterol homeostazı ve travmatik beyin hasarı (TBI) [52, 74, 84, 99-116].
Psikolojik	Depresyon ve stres [117-120].
Çevresel	Hava kirliliği, metaller, organik çözücüler, meslek, vitamin eksikliği [52, 114, 121-127].

Yaşlanma, hastalıkların ve ölüm olasılığının artması ile karakterize olan bir durumdur. Özellikle yaş faktörü AH için en önemli bir risk faktörüdür. Yaş ilerledikçe, AH'nin görülme oranı 75-84 yaş arasındaki bireylerde %19'a, 85 yaş üstünde ise %50'ye varan oranlara ulaşmaktadır [49, 128, 129]. Yaşlanan bireylerin beyinde de SP ve NFT oluşumu, beyin hacminde ve ağırlığında azalma, ventriküllerin genişlemesi ve belirli bölgelerde sinaps ve dendrit kaybı oluşmaktadır [49, 131].

2.4.1. Alzheimer hastalığı ile ilişkili genler

AH vakalarının çoğu sporadik olmakla birlikte, %10'undan azı A β peptitlerinin üretiminde görevli olan APP, APOE, presenilin 1 (PSEN1) ve presenilin 2 (PSEN2) ve başka birçok genlerdeki mutasyonlardan oluşmaktadır [59]. Birinci dereceden akrabalarına AH teşhisi koyulan bir bireyin, aile geçmişinde bu hastalığın görülmediği bireylere göre hastalığa yakalanma riski daha yüksektir [7, 9]. Bu genlerde görülen mutasyonlar erken başlangıçlı AH'ye neden olmakla birlikte otuzlu ve kırklı yaşlarda kendini göstermektedir. APP, PSEN1 ve PSEN2 genlerinin üçündeki mutasyon da amiloid seviyelerini arttırmaktadır [7]. AH ile ilişkili genlerin bir kısmı tablo 2.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2. Alzheimer ile ilişkili genler [132-135]

GEN	BAŞLANGIÇ YAŞI
PSEN2	30-40
PSEN1	50-65
APOE	60 yaş üstü
APP	40-50

Amiloid prekürsör protein

Bu protein 1984 yılında Glenner ve Wong tarafından Alzheimer ile ilişkilendirilen amiloid plaklarından izole edilmiştir ve 4.2 kDa büyüklüğünde bir integral membran proteinidir [6, 40, 126]. SP çekirdeklerinin ve A β 'nin ana protein bileşenidir [5, 137]. APP çeşitli dokularda ve özellikle MSS'de eksprese edilmektedir [1, 138]. Fizyolojik işlevi hala belirsiz olmasına rağmen APP'nin beyin gelişiminde, hafızada ve sinaptik plastisitede önemli rol oynadığı raporlanmıştır [1, 139].

Presenilin 1 (PSEN1)

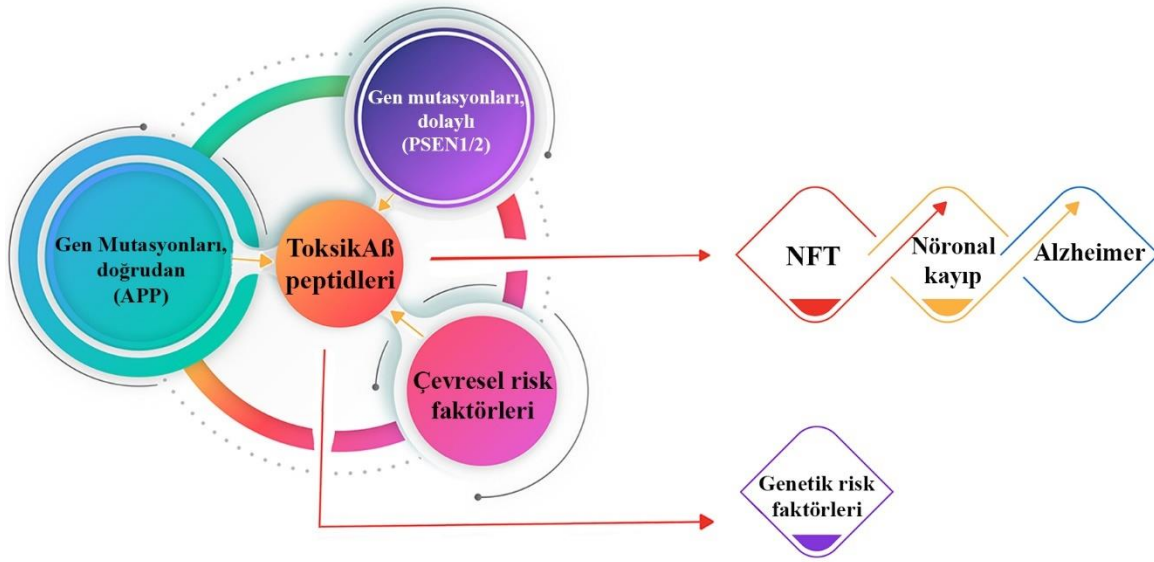
PSEN'in çeşitli görevleri bulunmaktadır. Örneğin, ephrin-B sayesinde nöroprotektif bir rol oynamaktadır. Bu nöroprotektif etkideki düşüş AH'ye neden olmaktadır [49, 140]. Erken başlangıçlı AH'ye yakalanan bireylerin %18-50'sinde bu genin mutasyona uğradığı ortaya koyulmuştur. Fakat, sadece bu genin mutasyona uğraması erken başlangıçlı AH için bir etken değildir. PSEN1 geninde meydana gelen mutasyon APP'nin hatalı bölünmesiyle birlikte toksik düzeyde A β üretimine neden olmakta, ayrıca tau proteinlerinin hiperfosforilasyonuna neden olarak NFT oluşumunu tetiklemektedir [141, 142]. PSEN2 geninde mutasyon gerçekleşen bireylerde ise AH başlangıç yaşı 40-88'dir [6].

Apolipoprotein E

APOE, kişinin AH'ye yatkınlığını artıran 37 kDa'lık bir proteindir [132, 135]. APOE, karaciğer ve makrofajlarda üretilmektedir. Beyinde, astrosit ve bazen de nöronlar tarafından da üretilmektedir [6]. Corder ve arkadaşları, geç başlangıçlı ailesel ve sporadik AH hastalarında apolipoprotein ϵ 4 allelinin risk faktörü olduğunu ortaya koymuşlardır [46, 89, 143]. Bu alel amiloid plakların ve NFT'lerin oluşumunu tetiklemektedir [141, 144, 145]. APOE ve A β etkileşime girdiğinde, bilişsel gerilemeye ve serebrovasküler disfonksiyona neden olabilmektedir [49, 146].

AH çok faktörlü bir hastalıktır. Halen hastalıkla ilgili çoklu mekanizmalar belirsiz durumdadır. A β sağlıklı bireylerin beyninde çözünür durumdayken, AH'li bireylerin beyninde kümelenmiş ve çözünmez halde bulunmaktadır. SP'lerin oluşumunu açıklamak amacıyla 90'ların başında 'amiloid kaskad hipotezi' (ACH) AH patogenezi için baskın bir

model haline gelmiştir (Şekil 2.1.). Bu hipoteze göre A β 'nin birikmesi ile birlikte NFT'nin hücre içinde oluşması ve sinaptik fonksiyonların bozulması gibi olaylar meydana gelmektedir [1, 147-152].



Şekil 2.1. AH patogenezinin genel bir modeli olarak ACH [49, 148]

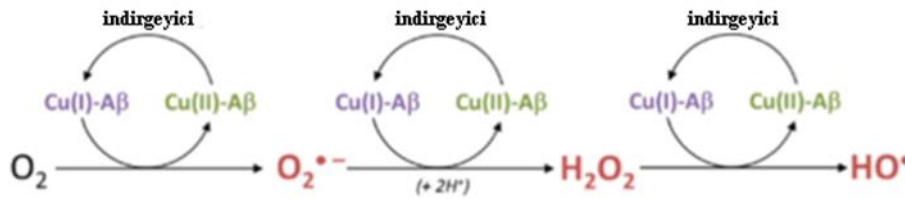
Şekilde görüldüğü üzere APP geni direkt olarak etki ederken, PSEN1 ve PSEN2 genleri dolaylı olarak etki etmektedir. Çevresel risk faktörleri, APOE, toksik A β , ve NFT nöronal kayba yol açmakta ve sonuç olarak AH oluşmaktadır [49]. Genetik yapı risk faktörü olmasına rağmen tek başına rol oynamamaktadır. Çevresel faktörler ve yaşam şekli de bu riskte rol oynamaktadır [7]. Bu çevresel risk faktörlerine örnek olarak: düşük eğitim seviyesi, ağır kafa travmaları, geç yaşta anne olmak, alkol kullanımı, depresyon verilebilir [141, 155].

2.4.2. Epigenetik Faktörler

Epigenetik, DNA'daki değişikliklerden bağımsız olarak genin ifadesinin değişmesidir. Çevresel faktörlerin gen ifadesine yansımalarını incelemektedir [6].

Metaller

Hücrelerin enerji üretimi, onarım ve rejenerasyon gibi işlevlerini sağlıklı şekilde gerçekleştirebilmesi için metallerin gerekli olduğu bilinmektedir. Tüm insanlar, alüminyum, kurşun, demir ve bakır gibi eser elementlere sürekli olarak maruz kalmaktadır [49, 121]. Son verilere göre, AH patogenezinde pek çok metal rol oynamaktadır. AH'de demir (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn), magnezyum (Mg), mangan (Mn) ve alüminyum (Al) gibi biyoaktif metallerin bozulmuş homeostazı söz konusudur [154-158]. Homeostazdaki bu bozulmanın sebebinin AH'deki A β ve tau agregasyonu olduğu düşünülmektedir [154, 159-161]. Proteinlerin yanlış katlanması ve agregasyonu ile metaller arasında sıkı bir ilişki bulunmaktadır. Al, Zn, Fe ve Cu, A β 'nin agregasyonuna öncülük etmektedir (Şekil 2.2) [154, 162-163].



Şekil 2.2. Cu-A β kompleksi tarafından katalize edilen indirgeyici mekanizma [1]

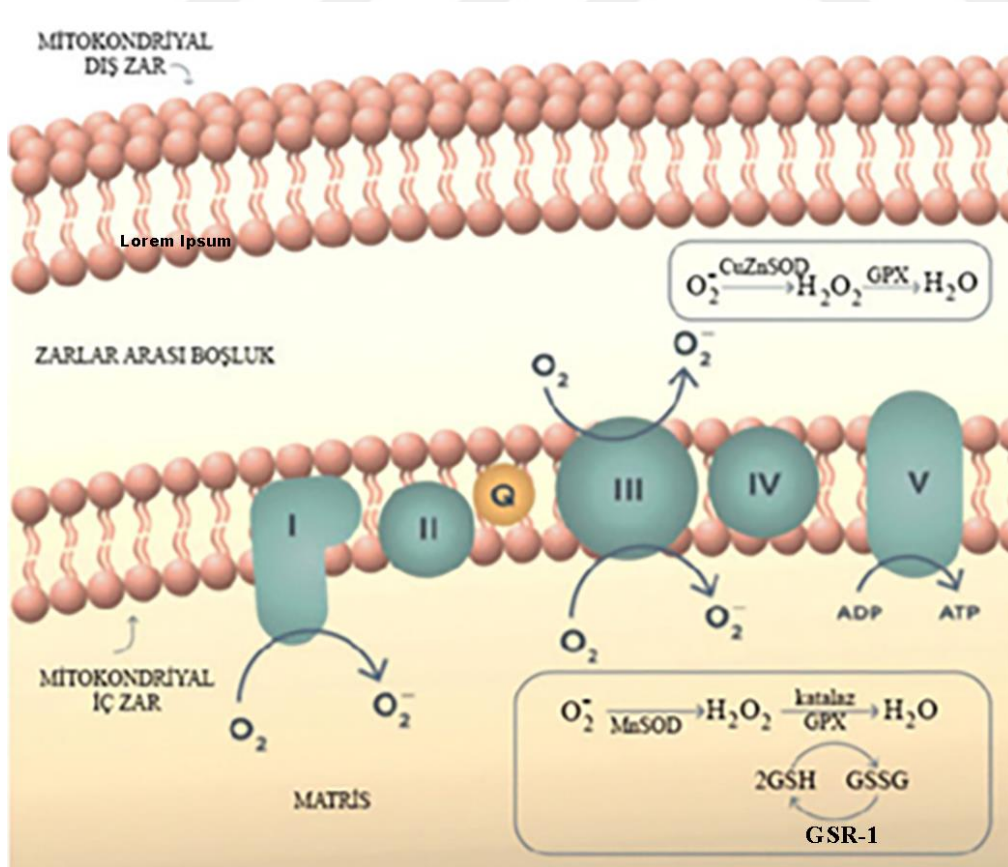
Bir çalışmada, A β peptitlerinin Cu veya Fe'ye bağlanmasının H₂O₂ üretimine neden olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 2.2.) [1, 154, 165]. Bu metallerin birçoğunun doğrudan APP metabolizması ve APOE ile etkileşime girdiği gösterilmiştir [49, 166]. Yapılan pek çok çalışma, AH hastalarının beyinde Fe metabolizmasının bozulduğunu ortaya koymuştur. Yapılan bir deneyde AH'li bireylerin NFT içermeyen nöronlarına kıyasla NFT taşıyan nöronlarda yüksek Fe bulunmuştur [46, 167]. Fe, gevşek bağlı bir elektrona ve birden fazla değerliğe sahip olması nedeniyle serbest radikal oluşumu için en önemli katalizör role sahiptir. AH'nin patolojisi olan amiloid plaklarında Cu, Zn ve Fe metallerinin biriktiği gözlemlenmiştir [1, 169]. AH'li bireylerin beyinde sağlıklı bireylerin beyinlerine göre daha fazla gevşek bağlı Cu bulunduğu bildirilmiştir [1, 169].

Yetersiz beslenme

Abalan yetersiz beslenmenin AH için risk faktörü olabileceğini fikrini ortaya atan ilk araştırmacılardan biridir [49, 98]. AH'den muzdarip hastaların plazmasında E, A, D ve K vitaminlerinin eksik olduğu gözlemlenmiştir. Bu vitaminlerin düzenli olarak hasta kişilere takviyesinin, bilişsel problemleri ve Aβ birikimini azaltabileceği düşünülmektedir [49, 123].

Mitokondriyal disfonksiyon

Mitokondrinin işlevinde meydana gelen bozukluk ROS oluşumunun ana kaynağıdır [69, 170]. Mitokondride elektron transferinden kaçan elektronlar antioksidan sisteme rağmen ROS oluşumunun %90'ından sorumlu olan O_2^- anyon üretimine yol açmaktadır [69]. Mitokondriyal disfonksiyonun AH'deki rolüne dair birçok teori bulunmaktadır [49, 171]. Bu teorilerden biri mitokondriyal kaskad hipotezidir (Şekil 2.3.). Hipoteze göre, geç başlangıçlı AH 'de mitokondriyal fonksiyon kaybı APP ekspresyonunu etkileyerek Aβ birikimini başlatmaktadır [154, 172].



Şekil 2.3. Mitokondride ROS üretimi [155]

Aerobik solunum esnasında mitokondriyal taşıma zincirinin kompleks I ve Kompleks III bölgeleri O_2^- ana üretim merkezidir. Şekilde de görüldüğü üzere, O_2^- , zarlar arası mitokondriyal boşlukta MnSOD ya da Cu/ZnSOD aracılığı ile H_2O_2 'ye dönüştürülür. Glutasyon peroksidaz (GPx) veya CAT enzimleri H_2O_2 'yi detoksifiye ederek suya indirger. GPx indirgeyici olarak GSH'ı kullanmaktadır. Ortaya çıkan GSH, glutasyon redüktaz (GSR-1) tarafından glutasyon disülfid (GSSG) oluşturma amacıyla reaksiyona girmektedir. Bu reaksiyonlar mitokondriyal matriste meydana gelmektedir [154].

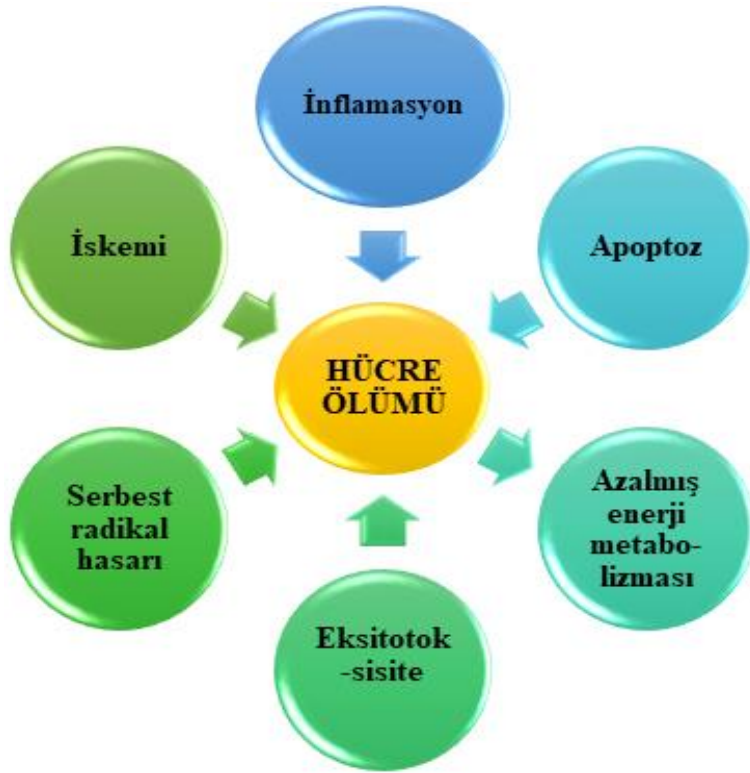
Yapılan pek çok AH hayvan modeli çalışmasında A β ve tau patolojisinden önce erken evrede meydana gelen mitokondriyal disfonksiyonun, glukoz metabolizmasında bozulmaya, oksidatif strese ve sinaptik disfonksiyona neden olabileceği bildirilmiştir [154, 158, 173-185].

Vasküler hastalıklar

Henderson, AH ile vasküler hastalıkların yaygın olarak birlikte seyrettiğini ortaya koymuştur. Demans hastalarında yapılan otopsilerin %18'sinde iki hastalığında bir arada bulunduğunu kayıtlara geçmiştir. Vasküler hastalıklar, AH patogenezi hızlandırmaktadır. Vasküler sistemin sağlıklı olması, beynin normal fonksiyonuna devam edebilmesi için elzemdir [49, 52, 106].

2.5. Alzheimer Hastalığı Patolojisi

AH'nin fizyopatolojisi pek çok nöronal hasarla ilgili olduğundan oldukça karmaşıktır (Şekil 2.4.) [132].

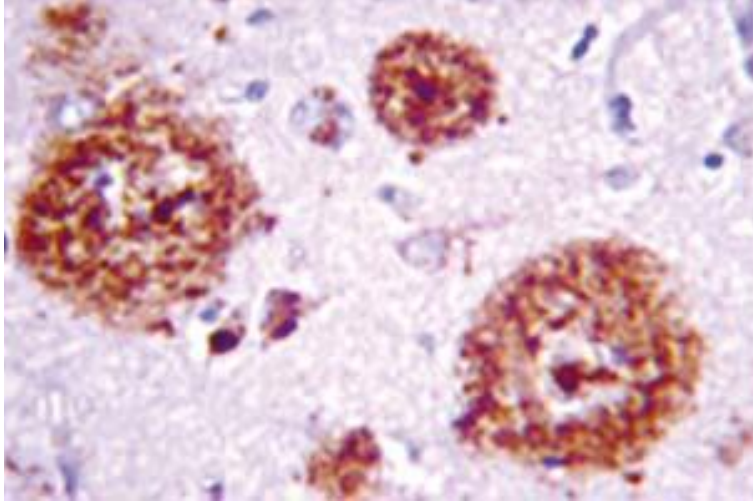


Şekil 2.4. Nörodejeneratif hastalıkta hücre ölümünün çoklu mekanizmaları [132]

AH patolojisi sık olarak serebral korteksin asosiasyon bölgelerinde ve medial temporal lobda (MTL) gerçekleşmektedir [5, 185]. Amigdala, AH'li kişilerde patolojik değişikliklere en duyarlı bölgedir. Bu bölge nörofibriler patolojinin yanı sıra bol plak içerme eğilimi göstermektedir [5, 186]. AH beyninin tipik bir örneğinde nöronal ve dendritik kayıplar, nörofil iplikler, distrofik nöritler, Hirano cisimcikleri ve serebrovasküler amiloidler görülmektedir. Sinaps kayıpları da AH'nin en spesifik özelliğidir [5, 137, 185]. Hücre hasarı apoptozu teşvik etmekte, sinaptik disfonksiyona neden olmakta ve nöronal ölümle sonuçlanmaktadır [49, 188].

Amiloid Plaklar

AH'nin patolojik bulgularının en başında amiloid plaklar (Resim 2.3.) bulunmaktadır [6]. Alzheimer'ın orijinal raporunda bu plaklar 10-200 µm çapındadır [2, 5]. Amiloid birikiminin klinik semptomların gelişmesinden 20 yıl önce başladığı düşünülmektedir [7].

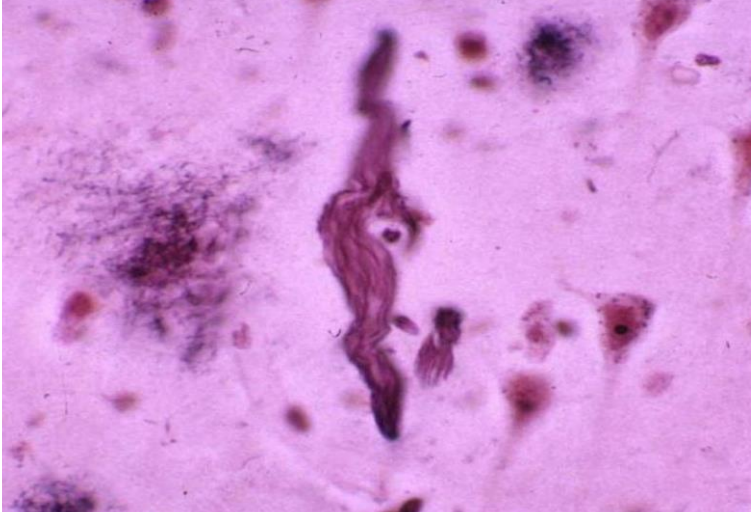


Resim 2.3. Amiloid plaklar [72]

Amiloid plaklar AH patolojisi olan beyinde hücre dışı boşluklarda ve özellikle hipokamus bölgesinde bulunmaktadır [1]. Bu senil plaklarda APP'den üretilen A β ekstraselüler olarak birikmektedir [6, 189]. APP'nin mutasyona uğradığı durumda patolojik olan A β 40 veya A β 42 oluşmaktadır [154]. Bu mutasyon sonucunda en fazla oluşan peptit SP'de bol miktarda bulunan A β 42'dir. Hastalığın ileri aşamalarında görülen ve daha çözünür olan A β 40 ise serebral mikrodamarlarda bulunmaktadır [49, 190]. Hücre dışında birikmesinin yanı sıra oluşan mutasyonlu A β peptitleri nöronlarda da birikebilmektedir [154, 191, 192]. Hücrelerin arasında biriken A β , sinaptik hasara ve tau proteinin hiperfosforilasyonuna neden olarak hücresel fonksiyonlara zarar vermektedir [6, 191, 194]. A β 'nin verdiği hasarların ROS üretimini hızlandığı rapor edilmiştir [154, 158, 186, 195-199]. Bu durum da ekstra A β birikimine, tau fosforilasyonuna ve nörodejeneratif hasara neden olarak bir kısır döngüyü beraberinde getirmektedir [154, 200-208].

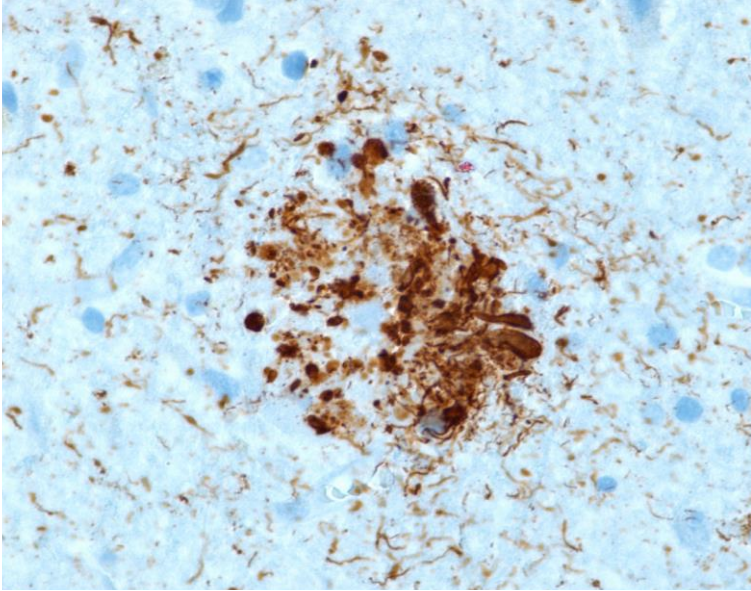
Nörofibriler yumaklar

Tipik nörit plaklarının çapı 10-50 μ m'dir. Bu yumaklar küresel şekilde hücre dışı lezyonlardır (Resim 2.4). NFT, AH'nin önemli mikroskobik bir patolojisidir. NFT standart kriterler ile tanımlanamamaktadır. Bu sebeple, beyin içindeki konumuna bağlı olarak tanımlanmaktadır [5, 185].



Resim 2.4. AH'de nörofibriler yumaklar [5, 45]

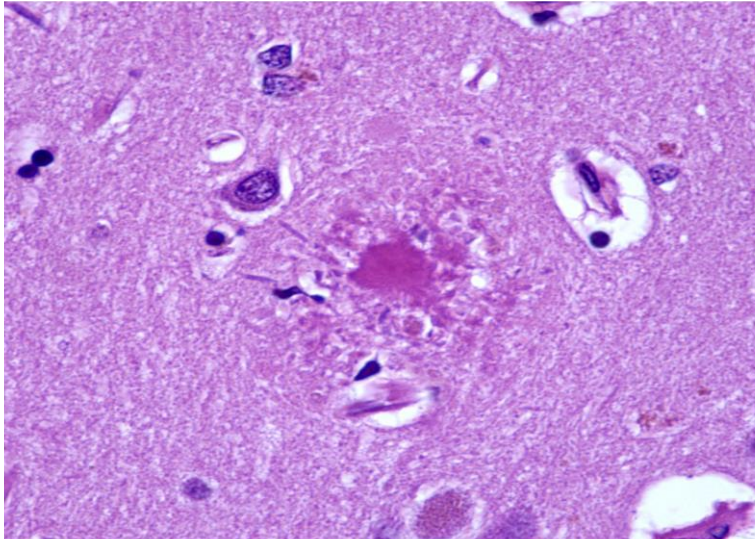
Fosforile tau NFT'nin ana protein bileşeni olarak tanımlanmıştır (Resim 2.5.). Tau normal şartlar altında mikrotübülleri stabilize etmekte görevli olan bir proteindir. AH ile birlikte artan tau fosforilasyonu $A\beta$ ve oksidatif stres gibi diğer faktörlerin de etkisiyle tau'nun mikrotübüllerden ayrılmasına sebep olmaktadır [5]. Bu durum ise nöronal iletişim yollarının bozulmasına sebep olmaktadır [154, 208].



Resim 2.5. Fosforillenmiş tau. İmmünohistokimyasal boyama [5]

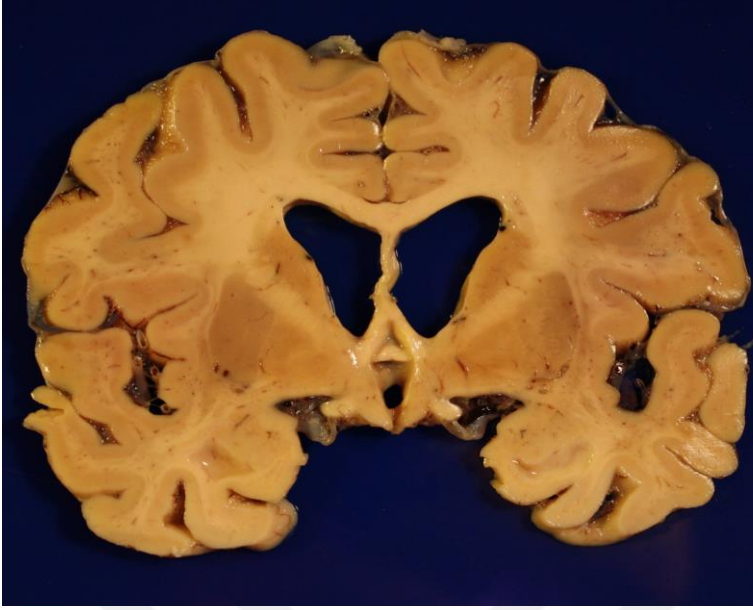
Bilim insanları beyinde sadece A β peptidlerinin birikmesinin tau hiperfosforilasyonu olmadan AH'ye neden olmadığını gözlemlemiştir. Bu bilgiler ışığında A β ve tau proteinleri arasındaki etkileşimin nörodejenerasyona yol açarak AH'ye sebebiyet verdiği ortaya koyulmuştur [154, 209, 210].

Biriken hasarlarla birlikte, hiperfosforilize tau en sonunda MSS'de sinaptik dejenerasyona neden olmaktadır [5]. Kimi zaman nöritik plaklarda hala aktif olan mikroglialar bulunmaktadır (Resim 2.6.). Bunların hastalık sürecinde de görülme sebebinin AH'li beyinin aşırı iltihaplanması olduğu düşünülmektedir [211].



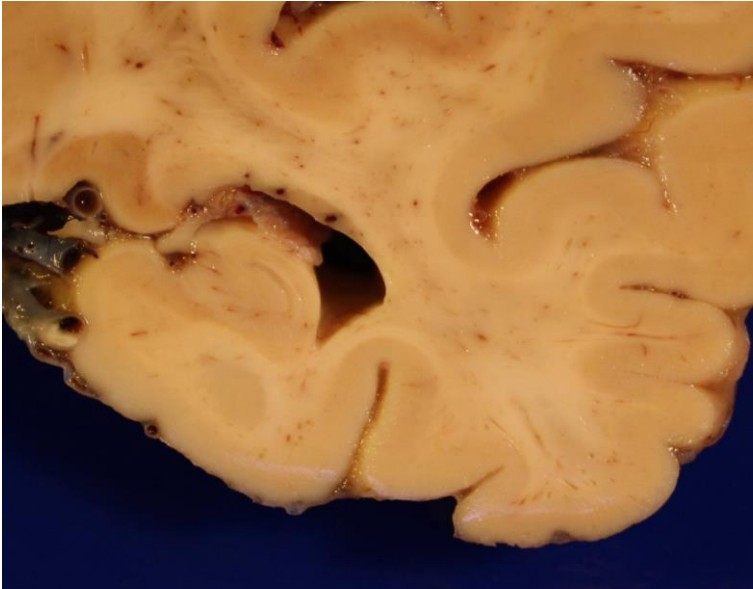
Resim 2.6. Mikroglialar [5]

Alzheimer hastalarının beyinlerinde görülen diğer patolojiler atrofi, daralmış giruslar, sulkus ve ventriküllerde genişlemedir (Resim 2.7. ve 2.8.) [6, 212]. Atrofinin meydana gelmesinin nedeni sinapsların dejenerasyonu ve hipokamusta bulunan nöronların ölümüdür [1, 213].



Resim 2.7. Alzheimer patolojisi görülen beyin [5]

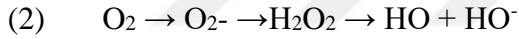
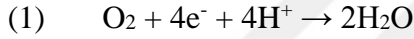
Ayakta tedavi gören 73 yaşındaki bir demans hastasının ölümünden sonra incelenen beyni. Beynin genelinde oluşan atrofi, ventriküler dilatasyon ve medial temporal atrofiye de dikkat ediniz [5].



Resim 2.8. Temporal boynuzun genişlemesi ve hipokampal atrofi [5]

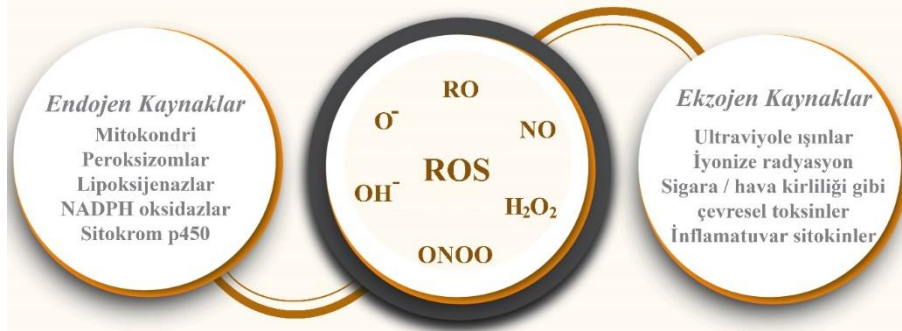
2.6. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Enerjinin dönüşme süreci yaşamın en temel mekanizmalarındandır. Dolayısıyla enerjinin dönüşmesi yaşamın kökeninden beri meydana gelmektedir. İyon gradyanını ATP şeklinde kimyasal enerjiye çeviren temel mekanizma tüm canlılarda ana hatları ile aynıdır [1, 213]. Elektronların kaynağı aldığımız besinlerdir. Bu sebeple yaşamamız için gereksinim duyduğumuz enerji alınan gıdalar ile O₂ arasındaki redoks reaksiyonu ile meydana gelmektedir. ROS üretiminde endoplazmik retikulumun (ER) ve peroksizomların da rol oynamasına rağmen ROS'un en büyük kaynağı mitokondridir [154, 212, 215]. Moleküler oksijen mitokondri tarafından indirgenirken tüm aerobik organizmalarda yan ürün olarak O₂⁻ başta olmak üzere çeşitli serbest radikaller üretilmektedir. Reaksiyon (1)'de görüldüğü üzere iki molekül suyun üretimi için O₂ dört elektron ve dört proton almaktadır. Reaksiyon (2)'de ise O₂'nin kısmi olarak indirgenmesi O₂⁻, H₂O₂ ve HO[•]'nun ortaya çıkmasına neden olmaktadır [216].



ROS genel tanımı ile reaktif özellikleri olan ve oksijen içeren kimyasallardır. ROS dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektronu bulunan atom ya da moleküllerdir. Dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron olması bu moleküllerin çok kararsız ve çok reaktif olmasına neden olmaktadır. Bu ara maddeler çok reaktif olduklarından dolayı kontrol edilememektedirler. Bu sebeple çok tehlikelidirler. Kısmen indirgemiş olan O₂⁻, H₂O₂ ve HO[•] gibi oksijen türleri ROS olarak adlandırılan bileşiklerdir [1, 217]. Oksijen ile yaşamamızın sonucu olarak vücudumuzda sürekli olarak ROS üretimi gerçekleşmektedir. Çoğu durumda ROS tamamen ortadan kaldırılamamasına rağmen düşük seviyelerde tutulmaktadır [1]. Hücrenin fonksiyonlarını normal olarak idame ettirebilmesi için ROS üretimi ile antioksidan sistem arasında bir denge olması gerekli bir durumdur. Bu denge bozulduğunda oksidatif stres ortaya çıkmaktadır [154, 218]. Oksijenin oynadığı rol, ROS'un üretimi ve eliminasyonu gibi durumlar göz önüne alındığında birçok hastalıkta oksidatif stresin gözlemlenmesi olağan bir durumdur. Üretilen ROS daha çok ROS üretimine ve birikimine neden olduğundan bu durum bir kısır döngüye dönüşmektedir [1]. MSS, beynin yüksek oksijen tüketmesinden, bol

Metabolik süreçlere ek olarak, ilaç toksisitesi, mikroglialar sigara dumanı, ultraviyole radyasyon, hava kirliliği, yoğun fiziksel aktivite ve alkol kullanımı gibi çevresel uyaranların etkisi de serbest radikal üretimine neden olmaktadır (Şekil 2.6.) [222-224].



Şekil 2.6. ROS'un üretim kaynakları [222]

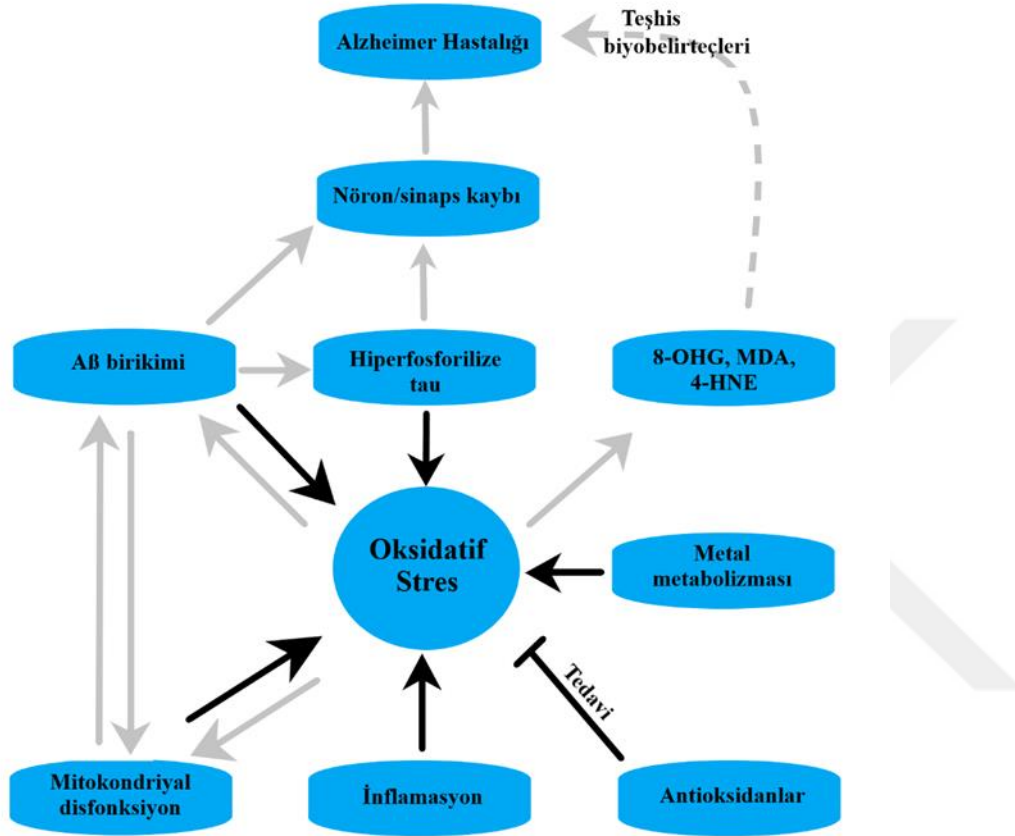
ROS normal seviyede bulunduğu zaman moleküllerin sinyalleşmesini sağlamak gibi faydalı işlevlerde bulunurken, seviyesinin yükseldiği durumlarda nükleik asitler (DNA, RNA), proteinler ve lipidler gibi büyük biyomolekülleri oksitleyerek biyolojik sisteme zarar vermektedir [69, 225].

2.7. Oksidatif Stresin Biyobelirteçleri

Yapılan araştırmalara göre, oksidatif stresin temel sebepleri arasında mitokondriyal disfonksiyon, metal birikimi, hiperfosforile tau, inflamasyon, A β birikimi bulunmaktadır [155, 226-235]. Oksidatif stresin pek çok göstergesi tanımlanmıştır. Örneğin, DNA ve RNA oksidasyonunun en büyük göstergesi 8-hidroksil-2-deoksiguanozin (8OHdG) ve 8-hidroksiguanozin (8OHG) seviyelerinin artmasıdır. AH'de DNA kırılması oldukça fazla meydana gelmektedir. Bu hastalıktan muzdarip bireylerde DNA onarım eksikliği de söz konusudur [216, 234-237].

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada A β açısından zengin olan beynin bölgelerinde protein ve lipid oksidasyonunun meydana geldiği ortaya koyulmuştur [1, 238]. Eğer protein oksidasyonu söz konusu ise bunun göstergesi yüksek protein karbonil seviyesi ve tirozin kalıntılarının nitrasyonudur [216, 239, 240]. ROS'un lipidlere saldırması sonucunda lipid peroksitlerinin oluşmasına lipid peroksidasyonu adı verilmektedir [232, 241]. Bu tezde de ele alınacak olan lipid peroksidasyonunun göstergesi ise, tiyobarbitürik asit reaktif maddelerinin (TBARS), MDA'nın, 4-hidroksi-2-transnonenal'ın (HNE) ve izosprostanın

seviyelerinin artmasıdır [216, 242, 241]. Bu biyobelirteçler, yapılan pek çok çalışmada AH'li bireylerin beyin dokusunda ve beyin omurilik sıvılarında (BOS) tespit edilmiştir [213]. Bu biyobelirteçlerin oluşması nöronal hücrelere hasar vermektedir (Şekil 2.7.) [216].



Şekil 2.7. AH'de oksidatif stresin indüklenmesi [226]

8-OHG, MDA ve 4-HNE gibi oksidatif stres ürünleri AH teşhisinde biyobelirteç olarak kullanılabilir. Tedavi için ise antioksidanlar kullanılmaktadır [226].

Lipid peroksidasyonu ve malondialdehit

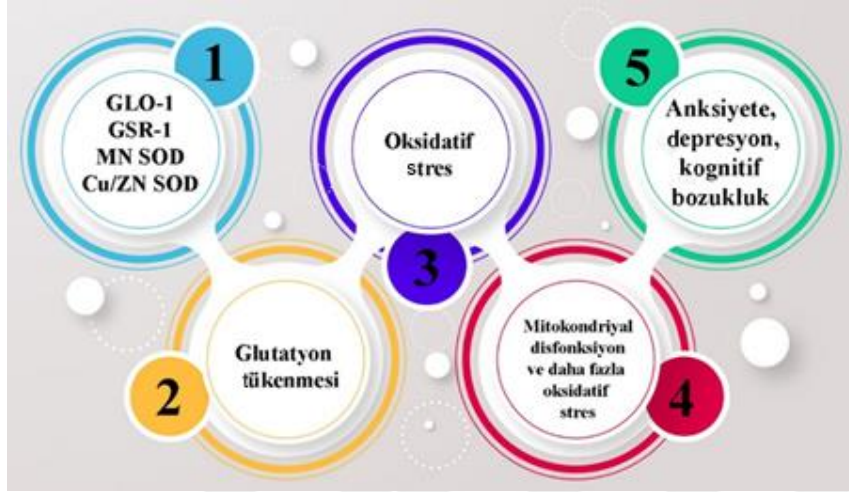
Hücre membranlarında bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağlarıyla serbest radikaller çok kolay bir şekilde reaksiyona girmektedir. Bu reaksiyon sonucunda lipid peroksidasyonu oluşmaktadır. Lipid peroksidasyonu yağ asidi zincirinden hidrojen atomlarının kopmasıyla birlikte yağ asidi zincirinin lipid radikali haline gelmesi ile başlamaktadır. Lipid peroksidat radikalleri de benzer şekilde membranda bulunan yağ asitlerini uyarıp yeni lipid radikalleri oluşumuna neden olarak zincirleme bir reaksiyon

başlatmaktadır. Lipid peroksidleri yıkıldığı zaman ortaya çıkan acrolein, MDA ve HNE gibi ürünler biyolojik olarak aktif olan ürünlerdir. Bunlar ya metabolize edilir ya da hücrenin diğer bölümlerine doğru giderek biriken bir hasar oluşturmaktadır. Yapılan bazı çalışmalara göre MDA, gen ekspresyonunu düzenlemekte ve haberci olarak görev yapmaktadır [222, 244-247]. Fakat, MDA'nın DNA gibi biyomoleküllerle kolay reaksiyona girebilmesi nedeniyle, yapılan çalışmalarda aşırı MDA oluşumunun oksidatif strese yol açtığı rapor edilmiştir. Bu nedenle de MDA üretimi ile AH, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, karaciğer hastalıkları ve PH gibi hastalıklar arasında bir ilişki bulunmuştur [222, 245, 248-250].

2.8. Alzheimer Hastalığı ve Oksidatif Stres

Beyin, vücut kütlelerinin yalnızca %2-3'ü gibi bir kısmını oluşturmasına rağmen vücuttaki bazal oksijenin %20'sini kullanmaktadır. Yağ asitlerince zengin olması, geçiş metalleri içermesi ve diğer organlara kıyasla yetersiz antioksidan savunmasına sahip olması nedeniyle oksidatif hasara karşı ekstra savunmasızdır [232, 216]. Bununla birlikte, beynin temel fonksiyonel parçası olan nöronlar da diğer hücrelerle karşılaştırıldığında daha yüksek metabolizma hızına sahip olduğundan dolayı oksidatif strese daha fazla duyarlıdır. AH'nin altında yatan nedenin özellikle beyinde gerçekleşen oksidatif stresin olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarda iyice anlaşılmıştır. 1991'de Floyd, Stadtman ve çalışma arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, AH'li hastaların beyinde enzim disfonksiyonunun neden olduğu aşırı protein oksidasyonunun meydana geldiğini ortaya koymuşlardır [130, 240]. AH'de nöronların içeriğindeki lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin oksidasyonu yaygın olarak görülmektedir [226, 251, 252]. Nöronlar, bol miktarda yağ asitleri (PUFA) içerdiğinden ROS ile etkileşime girerek sürekli olarak lipid peroksidasyonuna ve moleküler yıkıma maruz kalmaktadır [226, 253]. Lipid peroksidasyonunun artması ve antioksidan aktivitesinin azalması AH'li bireylerin beyinde plak oluşumuna neden olmaktadır [222]. Tüm bu durumlarla birlikte, nöronlarda serbest radikalleri ortadan kaldırma özelliği olan GSH'ın seviyesi de azalmış durumdadır [226, 254]. Hipokampus bölgesi nöronal bağlantıları ve işlevlerini belirleyen bir bölge olmakla birlikte yeniden şekillenme kapasitesine de sahiptir [37, 255-257]. Hipokampus ve amigdala, oksidatif strese karşı antioksidan sistemin yetersizliği sebebiyle büyük ölçüde savunmasızdır. AH'li kişilerde de görülen stres durumunun beyinde oksidan-antioksidan dengesini bozduğuna dair düşünceler bulunmaktadır [37]. Bu durum GSH tükenmesine yol açarak oksidatif stresi tetiklemektedir.

Eş zamanlı olarak gerçekleşen GSH toksisitesi, kalsiyum dengesizliği ve mitokondriyal bozulmalar oksidatif stresi daha fazla tetikleyerek beyinde biyokimyasal olumsuzluklara neden olmaktadır. Sonuç olarak bilişsel sıkıntılar oluşmaktadır (Şekil 2.8.) [37].

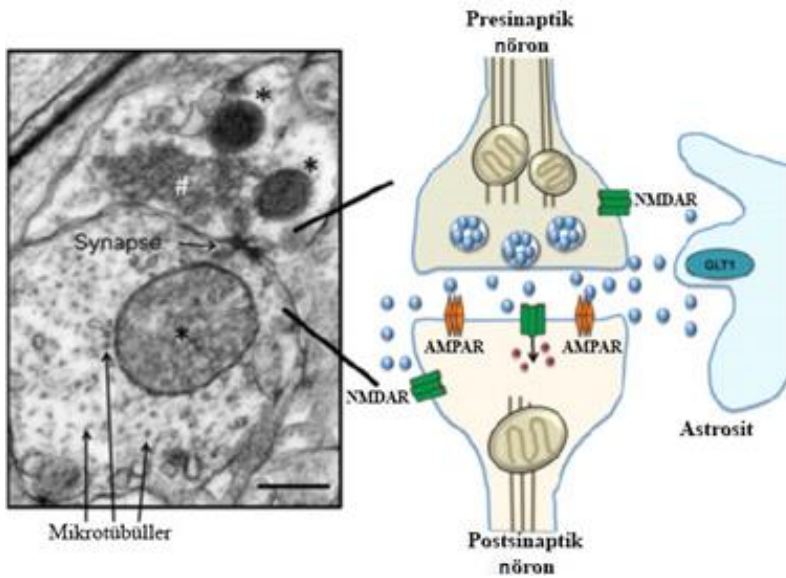


Şekil 2.8. Bilişsel ve davranışsal bozukluklarla oksidatif stres arasındaki ilişki [37]

Sürekli psikolojik olarak stres altında olmak beyindeki oksidan antioksidan dengesini bozmaktadır. Bu durum, glioksalaz (GLO-1), glutasyon redüktaz- 1 (GSR-1), MnSOD ve Cu/Zn SOD'un azalmasına neden olmaktadır. Oksidatif stresle birlikte bu bileşiklerin azalması daha fazla oksidatif strese yol açan GSH tükenmesine yol açmaktadır [37].

Daha önce de bahsedildiği üzere beyinde bulunan fosfolipidlerin ROS aracılı peroksidasyona özellikle savunmasız olmasının yanı sıra, beyindeki proteinler ve DNA'da ROS tarafından hasara uğramaktadır. Bu durum özellikle yaşın ilerlemesi ile birlikte büyük bir tehlike haline gelmektedir. Yapılan birkaç çalışmada yaşlı bireylerin beyinlerindeki mitokondriyal DNA'da oksidatif stres kaynaklı birçok mutasyon tespit edilmiştir [37, 258-261]. Başka bir araştırmada ise, AH'de oksidatif stresin sadece nöronal hücreler üzerinde değil periferik hücreler üzerinde de olumsuz etkisi olduğu ortaya çıkmıştır [130, 262]. Dolayısıyla, oksidatif stres AH'nin başlangıcında ve ilerlemesinde aktif rol oynamaktadır [37]. AH'de antioksidan enzimlerin aktivitesi yetersiz kaldığından, oksidatif hasar giderek artarak ve birikerek devam etmektedir [154, 262]. AH'de, ROS üretiminin artmasının ve sonucunda oluşan mitokondriyal hasarın, Aβ patolojisinden ve klinik semptomlardan önce, erken evrelerde, ortaya çıktığına dair bulgulara ulaşılmıştır [152, 219].

AH patolojisi başlayan bir beyinde demir konsantrasyonu artarken bir yandan da ferritin seviyesinde azalma görülmektedir. Artan demiri detoksifiye etmek için ferritin artmazsa, nöronlar ROS'a karşı savunmasız hale gelmektedir [216, 264]. AH'li bireylerin nöronlarındaki A β birikintilerinde ve NFT'lerinde redoks-aktif demir varlığı gözlemlenmiştir. SP de bol miktarda demir içermektedir ki bu durum serbest radikal oluşumunda kritik bir role sahiptir [167, 216]. A β aracılığı ile ROS'un üretilmesi sonucunda lipid peroksidasyonu indüklenmekte, membran geçirgenliği bozulmakta ve artan kalsiyum (Ca^{2+}) akışı başlamaktadır. Bu durum sonucunda da eksitotoksikite mekanizmasının bozulduğu bildirilmiştir. Eksitotoksitenin ortaya çıkması sonucunda protein oksidasyonu, lipid peroksidasyonu, ROS üretiminin artması, A β oluşumu, tau fosforilasyonu ve sinaptik disfonksiyon gibi pek çok bozulmaya neden olmaktadır (Şekil 2.9.) [154, 265-267]. Bu durumlarında, nörotransmisyon ve bilişsel işlevleri büyük ölçekte değiştirdiği düşüncesi bulunmaktadır [37].



Şekil 2.9. Sinapsın yapısı [154]

Şekil 2.9'da sol taraftaki görüntü C57/B16 faresinin nöronlarının yaptığı sinapsın elektron mikroskobu görüntüsü [145, 260]. Glutamat (mavi küreler) presinaptik nöronlardan salgılanarak her iki nöronda birden NMDAR ve AMPAR glutamat reseptörlerini aktive etmektedir. Ca^{2+} (kırmızı küreler) nöronlara aşırı madde girişine neden olarak eksitotoksikite durumunu ortaya çıkarmaktadır. Eksitotoksikite nöron mitokondirisine zarar vererek sinaptik iletimin bozulmasına ve nöronal disfonksiyona neden olmaktadır [154].

Hastalıkların pek çoğunun patofizyolojisinde serbest radikallerin rol oynadığı vurgulanmaktadır [130, 269, 270]. Tüm bu sebepler nedeniyle, oksidatif stresi önlemenin veya en aza indirmenin çeşitli hastalıkların tedavisinde önemli bir adım olacağı aşikardır. Normal şartlarda, hücreler oluşan oksidatif stresi antioksidan sistem giderebilmektedir. Bu durumun aksine AH'de SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin azalması nedeniyle, antioksidan sistem ROS aracılı oksidatif stresle başa çıkamamakta ve yetersiz kalmaktadır [41, 271].

2.9. Antioksidanlar

Antioksidanlar oksitlenebilir olan substratın oksidasyonunu geciktiren ya da inhibe eden endojen veya eksojen kaynaklı moleküller olarak tanımlanmaktadır [1, 272]. Antioksidanların bazılarının hücre içindeki ve dışındaki süperoksit radikalleri ve H₂O₂ gibi hücrelere zarar veren bileşiklerin parçalanmasına yardımcı olabileceği daha önceki çalışmalarda raporlanmıştır. Antioksidanlar bazı durumlarda prooksidanlar olarak hareket etmektedirler. Sonuç olarak, antioksidanların görevlerini radikal süpürücü özellikte olmaları, redoks metalleri şelatlayabilmeleri, A β agregasyonunu ve tau proteinin hiperfosforilasyonunu inhibe edebilmeleri, son olarak antiinflamatuvar aktiviteye sahip olmaları şeklinde özetlenebilmektedir [273, 274].

Antioksidan savunma sistemi enzimatik olan sistem ve enzimatik olmayan sistem olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Enzimatik olmayan antioksidanlar vücuda beslenme yolu ile alınmaktadır. Bu gruba örnek olarak, A, E ve C vitaminleri, sebze, meyve, baharat ve tahıllarda bol miktarda bulunan fenolik maddeler ve flavonoidler verilebilir [222]. Enzimatik olan antioksidanlar ise vücutta hücresel düzeyde üretilmektedir. Serbest radikal oluşumunu ilk basamakta engelleyen antioksidanlar (enzimatik antioksidanlar), SOD, CAT, GPx'dir [37, 222, 273-275]. SOD O₂'yi detoksifiye etmekte ve H₂O₂ oluşumunu engellemektedir [275, 278]. CAT'da benzer olarak H₂O₂'yi su ve oksijene katalize ettiğinden dolayı önemli antioksidanlardan biridir. Bununla birlikte, GPx lipid peroksidasyonunu önlemeye yardımcı olmakta ve kofaktör olarak GSH'ın yardımıyla da H₂O₂'yi toksik olmayan ürünlere katalize etmektedir [278, 279].

Antioksidanların temel olarak dört adet mekanizması vardır. Bunlardan ilki temizleme etki mekanizmasıdır. Bu mekanizmada antioksidanlar ROS üzerinde etki ederek bu radikalleri tutmakta veya daha az radikal bir moleküle dönüştürerek etkisiz hale getirmektedirler. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu şekilde etki etmektedir. İkinci etki mekanizması ise baskılama etkisidir. Bu etki oksidanlara bir oksijen aktarılarak bu oksidanlar etkisiz hale getirilerek veya en azından reaksiyon hızları azaltılarak sağlanmaktadır. Vitaminler ve flavonoidlerin etki mekanizması bu şekildedir. Üçüncü etki mekanizması, onarma etkisidir. Bu mekanizmada serbest radikallerin lipid ve DNA gibi moleküllerde oluşturduğu hasar onarılmaktadır. Dördüncü ve son etki mekanizması ise zincir koparma etkisidir. ROS'a bağlanan antioksidanlar bu oksidanların zincirlerini kırarak işlevlerini engellemektedir [222, 280].

Bazı durumlarda, ROS saldırısı esnasında bir yandan biyomolekül ürünleri artarken, bir yandan da antioksidan ve antioksidan enzimlerinin seviyelerinde belirgin bir düşüş yaşanmaktadır. AH'li bireylerde antioksidan özellikleri olan albüminin, bilirubinin, ürik asitin, likopenin, A, C ve E vitaminlerinin seviyelerinde düşüş yaşandığı rapor edilmiştir [69, 264, 281]. Başka bir çalışmada ise, AH'li bireylerin beyindeki frontal ve temporal kortekste ve daha pek çok bölgede SOD, GSH, GPx ve heme oksijenaz (HO) gibi antioksidan enzimlerinin aktivesinde düşüş olduğu gözlemlenmiştir [69, 282-284]. Hücreler oksidatif strese yanıt olarak nükleer faktör eritroid 2'yi (Nrf2) aktive ederek ve antioksidan savunmalarını güçlendirmektedirler [37, 285]. Nrf2 aktive edildiğinde bazı endojen antioksidanların ekspresyonunu artırmaktadır. Yapılan bir çalışmada, AH'den muzdarip bireylerde Nrf2 ekspresyon seviyesinin azaldığı bilgisi elde edilmiştir [154, 286].

Hiçbir ilaç maalesef nöronları tamamen korumamaktadır. Antioksidan takviyesi sayesinde antioksidan kapasitesi artırılarak serbest radikal oluşumu ve hücrel hasar en aza indirilebilmektedir. Antioksidanların pek çoğunun yaşa bağlı hastalıkların insidansını azaltabilmesi ve yaşam süresini uzatması gibi birçok farklı biyolojik sistemde faydalı etki gösterdikleri ortaya koyulmuştur [130, 287]. Antioksidanlar AH gibi nörodejeneratif hastalıklarda nöroprotektif etkileri olan potansiyel terapötiklerdir [226]. AH için umut verici olan terapötik stratejilerden biri olan antioksidan tedavisi üzerine yıllardır çalışmalar yapılmaktadır. AH'de oksidatif stresin büyük rol oynadığına dair güçlü kanıtlar olmasına rağmen [279], FDA tarafından onaylanmış mevcut bir antioksidan tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Buna rağmen son zamanlarda antioksidan tedavisi üzerine yoğunlaşmış

ve pek çok inceleme yapılmıştır [154, 289, 290]. APP transgenik farelerinde yapılan son çalışmalarda MnSOD'un AH'nin ilerlemesine karşı koruyucu bir rol oynadığını ve MnSOD eksikliğinin Aβ seviyesinin artmasına neden olduğu ortaya koyulmuştur. MnSOD açısından eksiklik olan bu farelerde davranış değişikliklerinin daha erken dönemlerde meydana geldiği gözlemlenmiştir [273, 291].

2.10. Flavonoidler

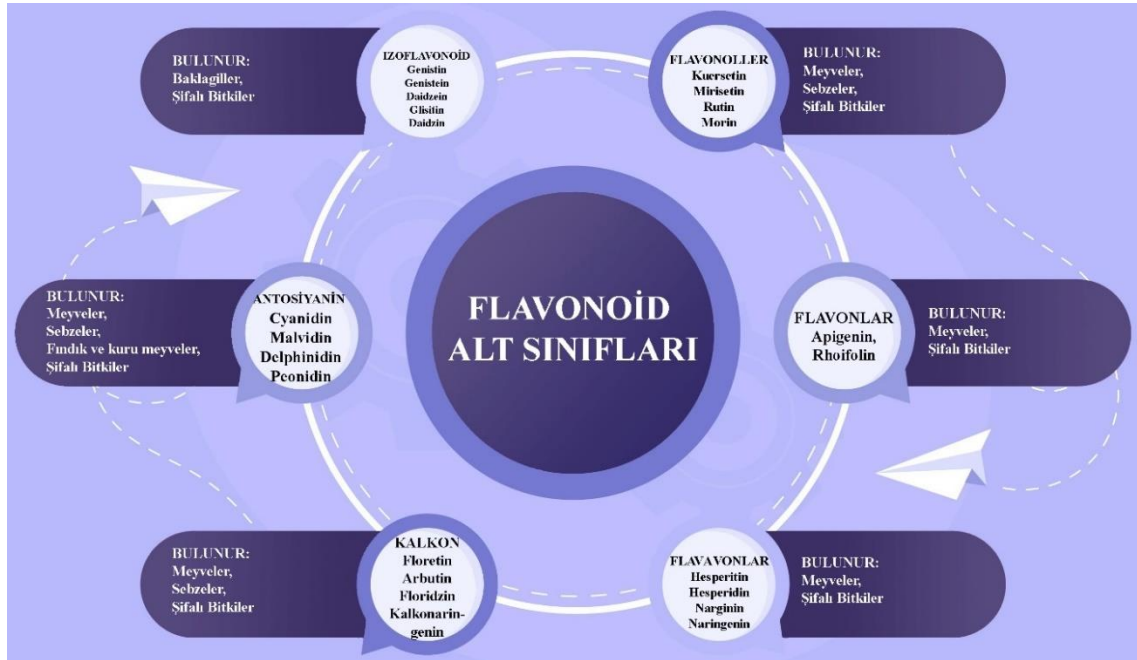
Son zamanlarda, nörodejeneratif hastalıklarda kullanılan yaygın ilaçlara alternatif olarak doğal içerikli ürünlere ve geleneksel tedavilere karşı olan ilgi artmıştır [41, 392]. Flavonoidler, özellikle meyvelerde, sebzelerde ve belirli içeceklerde bulunan doğal ürünlerdir. Bitkilerin sekonder metaboliti olan flavonoidler polifenolik bir yapıya sahiptirler. Flavonoid bileşikler, bitkilerin çeşitli bölgelerinden elde edilmektedirler. Meyve ve sebzeler dışında çay, kakao ve şarap gibi pek çok üründe bol miktarda bulunmaktadır [41].

Flavonoidler hücrel enzim aktivitelerini modüle etmeleri ve antioksidan, antiinflamatuvar, anti-mutajenik, anti-kanserojen özellikleri sebebiyle tıp ve kozmetik alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu özelliklerine ilave olarak, ksantin oksidaz (XO), siklo-oksijenaz (COX), lipoksijenaz ve fosfoinositid 3-kinaz gibi birçok enzimin üzerinde inhibitör etki göstermektedirler [293-296]. Bu ürünler, AH, ateroskleroz vb. pek çok hastalıklar üzerinde antioksidan özellik göstermektedirler [293, 297-299]. Son çalışmalarla flavonoidlerin beyin enzim reseptör sisteminde önemli bir rol oynadığı, AH ve PH gibi pek çok nörodejeneratif hastalıklarda MSS'de gerçekleşen nörodejenerasyonu engellediği ortaya koyulmuştur [293, 300, 301]. Flavonoidlerin gıdalar ile alınması ile vücutta antioksidan etkisi gösterdiği ve vasküler hastalık riskini de düşürdüğü gibi pek çok yararı olduğu yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur [293]. Flavonoidlerin fonksiyonları şekil 2.10.'da da gösterilmiştir.



Şekil 2.10. Flavonoidlerin fonksiyonları [293]

Flavonoidler izoflavonoidler, flavonoller, flavonlar, flavanonlar, kalkonlar ve antosiyaninler olmak üzere pek çok alt gruba ayrılmaktadır. Bu alt grupların kaynakları farklıdır (Şekil 2.11.) [293].



Şekil 2.11. Flavonoidlerin alt sınıfları ve kaynakları [293]

Flavonoller

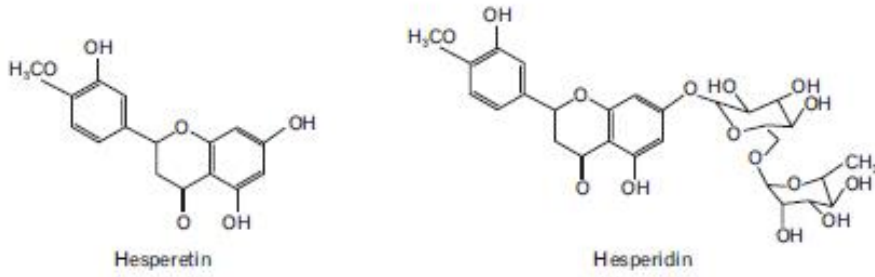
Keton grubu içeren flavonoid sınıfıdır. Bu tezde de uygulanacak olan morin bu sınıfa ait bir bileşiktir. Soğan, lahana, marul, elma, üzüm, çilek gibi meyvelerin yanı sıra çay ve kırmızı şarap da bol miktarda flavonol içermektedir [293].

Flavavonlar

Portakal, limon ve üzüm gibi bütün turunçgillerde bol miktarda bulunan bir sınıftır. Bu sınıfın serbest radikalleri temizleme özelliğine sahip olduğundan, sağlık üzerinde pek çok pozitif etkisi bulunmaktadır. Bu tezde uygulanacak olan hesperidin bu alt gruba aittir. Bu narenciye flavonoidlerinin antioksidan, anti-inflamatuvar, kandaki lipidleri düşürücü ve kolesterol düşürücü olması gibi farmakolojik özellikleri bulunmaktadır [293]. Jager ve Saaby [301], Hwang ve Yen [302] gibi pek çok bilim insanı hesperidin, hesperitin ve naringenin gibi narenciye flavanonlarının kan beyin bariyerinden geçebildiğini ve nörodejeneratif hastalıkların üzerinde pozitif etkili rol oynadığını öne sürmüşlerdir. Flavonoidlerin anti-diyabetik aktivite ve yaşlanma üzerinde geciktirici rol oynadığını göstermişlerdir [293, 303-306].

2.10.1. Hesperidin

Hesperidin ($C_{28}H_{34}O_{15}$) limon, tatlı portakal ve greyfurt gibi birçok turunçgilde bol miktarda bulunan bir flavanon glikozittir [41]. Hesperidin hesperitin'e dönüşerek kalın bağırsakta emilip kan-beyin bariyerinden beyne nüfuz etmek üzere kan dolaşımına girmektedir [310]. Hesperidin ve hesperitinin kimyasal yapıları yapılan çalışmalarda tanımlanmıştır (Şekil 2.12.) [307, 308, 311].

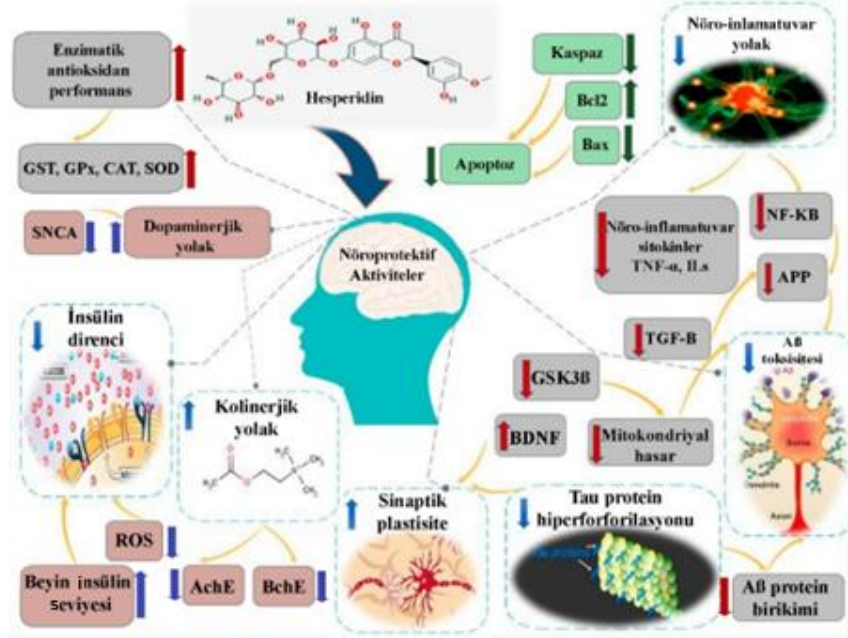


Şekil 2.12. Hesperitin ve hesperidin'in kimyasal yapıları [308]

Doğal bileşikler AH gibi nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesini kontrol etmeye yardımcı bileşiklerdir. Aromatik bitkiler, uzun zamandır nörodejeneratif ajanlar olarak kullanılmaktadırlar. Pek çok çalışmada, doğal polifenollerin (flavonoidler, fenolik asitler, vitaminler vb.) insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösterdiği ortaya koyulmuştur. Hwang ve arkadaşları, narenciye flavonoidlerinin (dolayısıyla hesperidin) GSH, peroksit, CAT ve Mn-SOD ekspresyonunu düzenleyerek antioksidan özellik gösterdiğini ortaya koymuştur [13, 41, 312, 313]. Bununla birlikte, hesperidin, diyabet modellerinde pozitif etkilere ve kansere karşı önleyici özelliklere sahiptir [306, 313, 314]. AH, PH, Huntington hastalığı, depresyon, multipl skleroz (MS) beyin iskemisi reperfüzyon hasarı ve MSS dokularındaki travmatik yaralanmalar üzerinde semptomları iyileştirici özelliklere sahiptir [307, 315-324]. Bu belirtilen nöroinflamatuvar hastalıkların etiyolojileri çok çeşitli ve farklıdır. Buna rağmen, oksidatif strese etkilenen MSS dokuları belirtilen hastalıkların ortak noktasıdır. Bu olumsuz değişiklikler antioksidan flavonoidler tarafından tersine çevrilebilmektedir [307].

Bir araştırmada, hesperidin ve diğer narenciye flavonoidlerinin radikalleri süpürme aktivitesi dışında pek çok sinyal yolu mekanizması ile hücresel savunmayı artırarak antioksidan etki gösterdiği ortaya koyulmuştur [39, 312]. Sirt1, hücre metabolizması, yaşlanma apoptoz, inflamasyon ve oksidatif stres gibi durumlarla ilişkili bir nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺) bağımlı histon deasetilazdır [325, 326]. Nrf2 ise, hücreleri oksidatif strese karşı korumak için anahtar rolde olan bir transkripsiyon faktörüdür [325, 327]. Nrf2 aktive edildiğinde, ROS seviyesi kısıtlanırken ve antioksidan proteininin ekspresyonu antioksidan etki göstermesi amacıyla uyarılmaktadır [325, 328]. Sirt1, Nrf2'yi düzenleyerek antioksidan ve antiinflamatuvar yanıtlar üzerinde etki göstermektedir [325, 329]. Yapılan bir çalışmada, hesperidin Sirt1 ve Nrf2'nin ekspresyonunu desteklediği dolayısı ile AH sonucu ortaya çıkan Sirt1 ve Nrf2'nin tükenmesini tersine çevirdiği rapor edilmiştir. Bu yol ile hesperidin

oksidatif stres ve inflamasyonla savaşmaktadır [325]. Hesperidinin fonksiyonları şekil 2.13.'te gösterilmiştir.

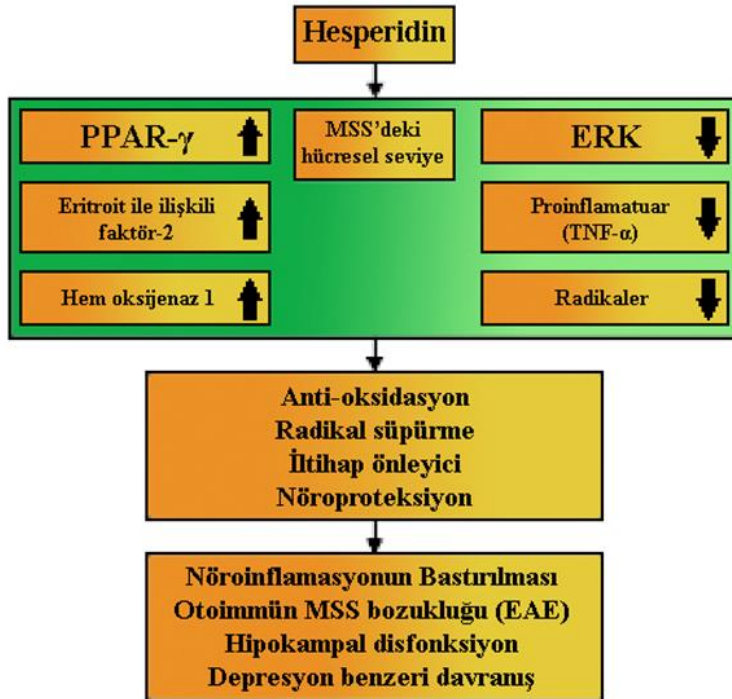


Şekil 2.13. Hesperidin'in nöroprotektif etkili moleküler mekanizmalarının teorik şeması [41]

Nörotrofin ailesinin bir üyesi olan beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF), nörotrofik faktör olan bir salgı proteindir. MSS ve periferik sinir sisteminde nöronların farklılaşma hızı arttırmaktadır [11, 330]. Diğer görevleri arasında nöronların hayatta kalmasını düzenlemek, nöronal göçü, nörojenezi ve sinaps oluşumunu sağlamak ve anıları korumak, anılar arasında bağlantı kurmak ve anıları depolamak bulunmaktadır. BDNF ve reseptörlerinin AH'li hayvanların serebral korteksinde azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum AH'de hali hazırda görülen hücresel ve sinaptik kayıplara ayrıca hafızada bozulmaya daha fazla sebep verebilmektedir [11, 331]. BDNF nörotrofik fonksiyonlarını tropomiyozin reseptör kinaz B'ye (TrkB) bağlanarak gerçekleştirmektedir. BDNF ve reseptörü olan TrkB memelilerin beyinde eksprese edilmektedir. BDNF/TrkB sinyalleşmesi, nöronal morfogenez ve nöronal plastisite açısından, dolayısı ile hayatta kalabilmek için çok önemlidir [11, 332]. Ayrıca, BDNF, nöronları nitrozatif ya da oksidatif stresin yol açtığı hasarlardan etkili bir şekilde koruyabilmektedir [11]. İyi modüle edilmiş BDNF-TrkB sinyal yolu nörodejeneratif hastalıkları iyileştirebilmektedir. Hesperidin uygulaması BDNF-TrkB sinyal yolunu hızlandırmaktadır. Bir çalışmada, hesperidinin TrkB gen ekspresyonunu önemli şekilde arttırdığı bildirilmiştir [11]. Yapılan başka çalışmalarda ise hesperidinin MAPK/ERK, ERK/Nfr2 ve BDNF yolağını yukarı yönde regüle ettiği gözlemlenmiştir [13, 39, 312, 333].

Hesperidin, NF- κ B yolağı sayesinde amiloid öncü protein (APP) ekspresyonunu zayıflatıcı ve sıçanların hipokampusundaki ve korteksindeki A β seviyelerini bastırıcı özelliği olduğu bildirilmiştir [41, 334]. Bu sayede AH'nin yol ağtığı bilişsel işlev bozuklukları tersine çevrilebilmektedir. Hesperidin Bcl2'yi yukarı regüle ederek nöroprotektif etki göstermektedir. [41, 335].

Hesperidin'in kullanım avantajlarından biri, hamilelik döneminde bile vücutta birikim yapmaması ve sınırlı yan etkisiyle güvenli bir uygulama olmasıdır. Fareler ile yapılan bir deneyde 13 haftalık uygulamadan sonra bile mutajenik, toksik ve kanserojen etki göstermemiştir [41, 43]. Hesperidin'in bu yararlı etkileri radikal süpürücü aktivitesi ve hücrel antioksidan mekanizmaları güçlendirebilmesi sebebiyledir [298, 303]. Bazı deney modellerinde yapılan çalışmalara göre, beyinde azalmış seviyelerde bulunan GPx, GSR-1, CAT ve SOD gibi pek çok antioksidan enzimlerin eksikliklerini hesperidin tamamlayıcı özellik göstermektedir [307, 336, 337]. Tıpkı antioksidanların etki alanındaki gibi, hesperidin de oksidatif streste yanıt olarak ortaya çıkan Nrf-2 ve HO gibi koruma mekanizmalarını da aktive etmektedir (şekil 2.14.) [307, 338, 339].

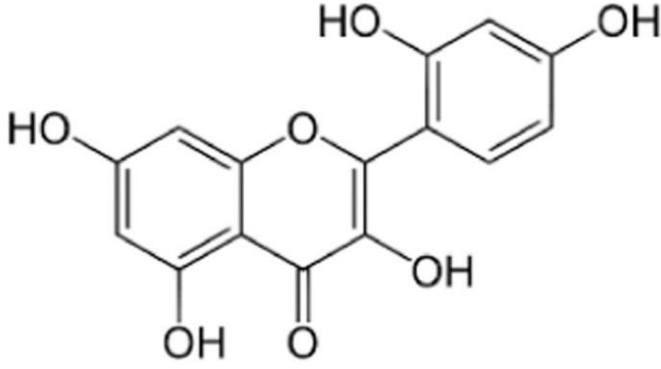


şekil 2.14. Nöroinflamasyon modellerinde hesperidin'in etkileri [297]

Bir çalışmada hesperidinin beyindeki interlökin-1 β (IL-1 β), IL-6 ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinlerin seviyesini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Dolayısıyla, tıpkı diğer antioksidan flavonoidler gibi hesperidinin de radikal süpürücü aktiviteyi başlattığı ve hücre ölümüne karşı koruyucu özellikte olduğu söylenebilmektedir [307, 340]. Hesperidin'in sitokinleri baskılaması ve radikal süpürücü enzimlerin aktivasyonunu artırtması gibi özellikleri göz önüne alındığında beyindeki inflamasyonun başlangıcına karşı koyduğu gözlemlenmektedir. Alüminyum klorür ile oluşturulan bir eksitotoksisite modelinde, hesperidinin hipokampal eksitotoksisiteye karşı nöroprotektif etki gösterdiği gözlemlenmiştir [305, 341]. Hesperidin uygulanan farelerin hipokampüsünde nitrat/ nitrit düzeyinde azalma, beyin kaynaklı nörotrofik faktör düzeyinde artış ve eksitotoksisiteyi takiben oluşan glutamat salgılanmasını inhibe ettiği bildirilmiştir [307, 342, 343]. Hesperidin, asetilkolinesteraz aktivitesini modüle ederek STZ'den kaynaklanan bilişsel bozukluğu olan farelerde hafızayı güçlendirmekte ve beyin hücrelerini ölüme karşı korumaktadır [307, 344, 345]. Hesperidin, yüzme testi uygulanan bir modelde hareket süresini azaltmış ve hipokamusta nöronal aktiviteyi desteklemiştir [307, 343, 346]. Tüm bunlarla birlikte, hesperidinin depresyon benzeri davranışlar üzerinde pozitif yönde etkileri olduğu bulunmuştur [307, 311].

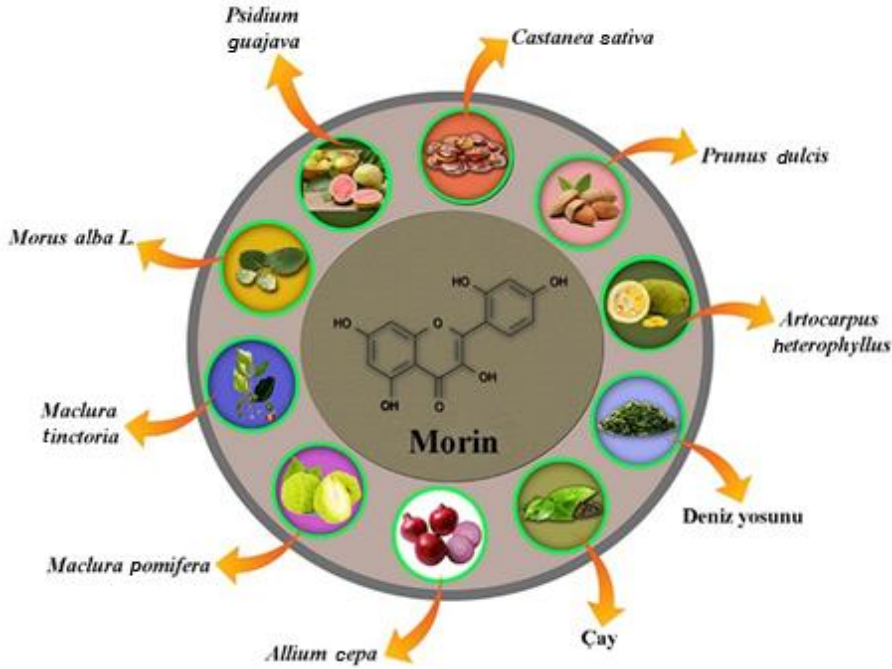
2.10.2. Morin

Bir flavon olan morin (C₁₅H₁₀O₇) (Şekil 2.15.), çeşitli bitkilerden sarı pigment olarak izole edilmektedir [21, 278]. Bu ürün flavonoidlerin flavonol sınıfına ait bir polifenolik bileşiktir. Morin saf halde acıdır ve su ile karıştırıldığında sarı renkli bir halde görünmektedir. Onlarca yıldır pamuk, yün ve ipeği sarı renge boyamak amacıyla da kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda morinin geniş biyolojik ve farmakolojik yelpazeye sahip olduğu kanıtlanmıştır [278]. Buna karşın, suda çözünmesi zor olduğundan ve ışık, oksijen, pH gibi çevresel faktörler ile çabuk bozunabilir bir yapıda olduğundan dolayı kozmetik gibi sektörlerde kullanımını kısıtlanmaktadır [347, 348].



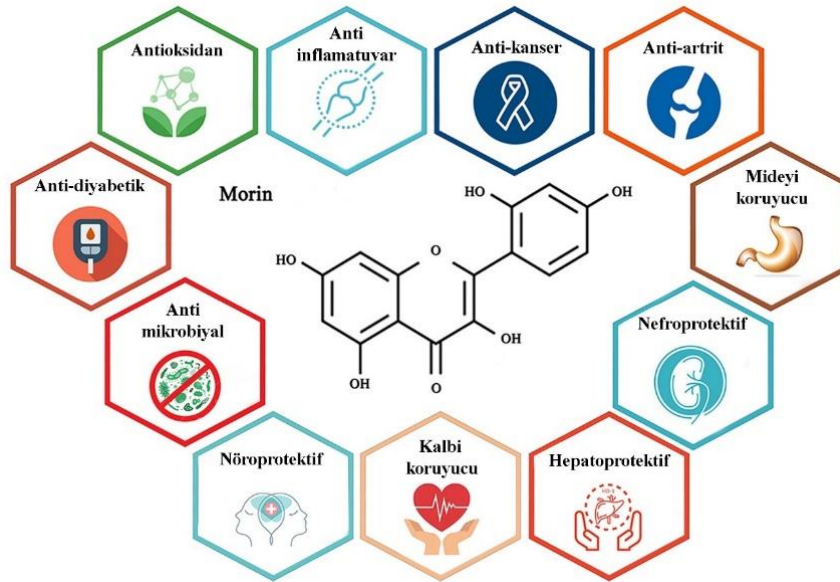
Şekil 2.15. Morinin kimyasal yapısı [278]

Morin, Rosaceae, Moraceae ve Fagaceae familyasına ait bitkilerde bulunmaktadır. *Morus alba l.* (beyaz dut), *Psidium guajava* (guava), *Psidium guajava l.* (guava yaprakları), *Maclura pomifera* (yalancı portakal), *Malus pumila* (elma kabuğu), *Allium cepa* (soğan), *Prunus dulcis* (badem), *Chlorophora tinctoria* (incir), *Castanea sativa* (tatlı kestane), kırmızı şarap, deniz yosunu, çay, kahve ve tahıllardan morin elde edilebilmektedir [278, 21, 349, 350]. Morinin doğal kaynakları şekil 2.16.'da verilmiştir.



Şekil 2.16. Morin'in doğal kaynakları [278]

Morin, antioksidan, antiinflamatuvar özelliğindedir. Kanser, akut akciğer hasarı, karaciğer hasarı, nöroinflamatuvar bozukluklar, nefrotoksisite, diyabet, gastrit gibi pek çok hastalığa iyi gelen, ayrıca mitokondriyal disfonksiyonu düzelten doğal bir flavonoldür [278, 351-364]. Bu özellikler şekil 2.17.'de özetlenmiştir.



Şekil 2.17. Morin'in sağlık üzerine etkileri [278]

Polifenoller, ROS'a karşı hücresel savunmanın ilk basamağı olan doğal yapıdaki antioksidanlardır [278, 365, 366]. Morin, yüksek seviyede antioksidan potansiyeli gösterdiğinden, polifenoller arasında benzersizdir. Yapılan araştırmalara göre morin'in sıçanlara uygulanması MDA seviyesini azaltıp, GPx, SOD ve GSH gibi antioksidan enzim aktivitelerini artırmaktadır. Dolayısıyla, beyinde başlamış olan oksidatif stresi geriletmektedir [278, 367]. Yapılan çalışmalar ile morinin metabolik enzimlerin aktivitelerini düzenlediği, miyosit, endotel hücreleri, hepatositler ve eritrositler gibi pek çok hücre çeşidini oksidatif stresin neden olduğu hasara karşı koruduğu bildirilmiştir [368-371]. İn vitro ve in vivo deneylerde morinin karsinojeneze karşı koruyucu bir bileşik olduğu ortaya koyulmuştur [372, 373].

Al Numair ve çalışma ekibinin Wistar ratlarda oluşturdukları miyokard enfarktüsü modelinde, morinin kalpteki mitokondrilerin fonksiyonunu olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir [368, 374, 375]. Yapılan bu deneyde miyokard enfarktüsü olan ratların kalbinde TBARS seviyelerinin arttığı gözlemlenirken, morin uygulaması yapılan gruptaki ratların TBARS seviyelerinin düştüğü gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, miyokard

enfarktüsü olan ratların kalbindeki SOD, CAT ve GPx'in enzim aktivitelerinde ve GSH'ın seviyesinde önemli bir düşüş olduğu, morin uygulanmış grupta ise SOD, CAT ve GPx antioksidanların aktivitelerinin ve GSH seviyesinin arttığı ortaya koyulmuştur [368]. Park C. ve çalışma arkadaşları insan lösemi hücreleri üzerinde bir deney modeli oluşturmuşlardır. Modelde, insan lösemi hücrelerine 48 saat boyunca morin uygulaması yapılmıştır. Özetle, yapılan bu deneyde, morinin çeşitli kaspazları inhibe edip bazılarını ise aktive ederek kaspaz bağımlı apoptozu indüklediği gözlemlenmiştir [376]. Dolayısıyla, bu çalışma morinin insan lösemi hücrelerinde antikanser faaliyet gösterdiğine dair kanıt niteliğindedir. Lee J. ve çalışma arkadaşlarının meme kanseri üzerinde yaptığı bir diğer çalışmada morinin kanserli hücreler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu deneyde morinin hiçbir toksisite göstermeden, kanserli hücrelerin çoğalmasını inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Kanserli hücrelerin metastaz yapmasını da engellediğini bildirmişlerdir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da morin uygulaması yapılan grupların kanser kütesinin küçüldüğü ve skar dokusunda da pozitif yönde etkileşime girdiği de gözlemlenmiştir [377]. Bununla birlikte, morinin UV-B radyasyonuna karşı da korucuyu etkisi olduğu bildirilmiştir [347, 378, 379]. Bu sebeple morin topikal bir şekilde uygulandığında cilt sağlığı üzerinde faydalı etkiler gösterebilmektedir [347].

Doğal bir flavonol olan morin, kronik inflamatuvar hastalıklarda koruyucu bir etki sağlamaktadır. Morin aşırı regüle edilen IgE, IL-4 ve IL-13 seviyelerini aşağı regüle etmektedir. Elde edilen verilere göre ROS seviyesinin artması MAPK yolağının aktivasyonuna yol açmaktadır. MAPK sinyali, MCP-1 ve IL-8 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerinin ekspresyonunda rol oynamaktadır [380-382]. Morin ROS'u baskıladığından, TNF- α ile indüklenen ROS/MAPK yolağının aktivasyonunu ve bu aktivasyonun sonucunda ortaya çıkan inflamasyonu da inhibe etmektedir [380]. ROS normal koşullar altında NF- κ B yolağı sayesinde inflamatuvar yanıtları aktive etmede önemli bir yol oynamaktadır. NF- κ B yolağı ayrıca TNF, IL-1, H₂O₂ ve γ radyasyonu gibi çeşitli inflamatuvar uyaranlarla aktive edilmektedir. Morinin NF- κ B yolağı ile düzenlenen birkaç pro-inflamatuvar gen ürününü modüle ettiği bildirilmiştir, fakat mekanizmaları halen belirsiz durumdadır [15, 383, 384]. Yapılan bir çalışmada, morinin ERK, p38 MAPK yollarını modüle ederek ROS kaynaklı NF- κ B aktivasyonunu baskıladığı ve bu şekilde antioksidan aktivite gösterdiği ortaya koyulmuştur [15]. Yapılan çalışmalarda morinin Nfr2'yi aktive ederek oksidatif stres aracılı DNA hasarına karşı koruma gösterdiği bildirilmiştir. Bu durum sayesinde morin hücrenin hayatta kalmasını sağlamaktadır [385].

3. MATERYAL METOT

Oluşturulan deney modeli ile ilgili yapılan çalışmalar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (GÜDAM) ve Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Fizyoloji ve Biyokimya Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

3.1. Deney Hayvanları

Yürütülen bu deneyde GÜDAM tarafından sağlanan 50 adet Wistar Albino ırkı erkek ratlar (300-370 gr) kullanıldı. Ratlara sabit sıcaklıkta tutulan hayvan barındırma odasında 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüde bakıldı ve *ad libitum* olarak beslenmesi sağlandı.

3.1.1. Deney grupları

Toplamda 5 grup oluşturuldu. Her grupta toplam 10 adet rat bulunmaktadır. Oluşturulan grupların özeti çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneyde oluşturulan gruplar

GRUP ADI	GRUP İÇERİĞİ
A grubu	Kontrol grubu
B grubu	Alzheimer grubu
C grubu	Morin grubu
D grubu	Hesperidin grubu
E grubu	Morin ve hesperidin grubu

3.1.2. Alzheimer modelinin stereotaksik cerrahi yöntemi ile intraserebroventriküler streptozotosin uygulanmasıyla oluşturulması

İ.c.v. yöntemi ile STZ enjeksiyonunun yapılacağı koordinatların doğruluğu ön deneyler ile belirlendi. Bu amaçla, her rat ketamin (50mg/kg) ve ksilazin (5mg/kg) uygulaması ile genel anesteziye alınarak stereotaksi cihazına (Resim 3.1.) yerleştirildi.



Resim 3.1. Stereotaksi cihazı

İ.c.v. enjeksiyonu yapılacak yer Paxinos'un rat beyin atlasının yardımı ile belirlendi [386]. Koordinatlar, ratın kafa derisi gözlerin hizasından enseye kadar kesilerek kafatası üzerindeki periost dokusu sıyrıldığında ortaya çıkan bregma çizgisi yardımı ile belirlendi [387-389]. Daha sonra ratın i.c.v. enjeksiyonu ile lateral serebral ventrikülüne 200 µm metilen mavisi verildi ve bir süre beklendi. Bekleme süresinin sonunda rat sakrifiye edildi ve beyin dokusu çıkarıldı. Metilen mavisinin lateral ventrikülde yayıldığı görüldüğünde koordinatların doğruluğu onaylandı.

İlk aşamada, AH oluşturulacak 40 adet ratın her birine i.p. yoldan ketamin (50mg/kg) ve ksilazin (5mg/kg) uygulanması ile ratlar genel anesteziye alındı. Bu şekilde ratlar stereotaksiye yerleştirilerek i.c.v. uygulaması için hazır hale getirildi (Resim 3.2. ve 3.3.).

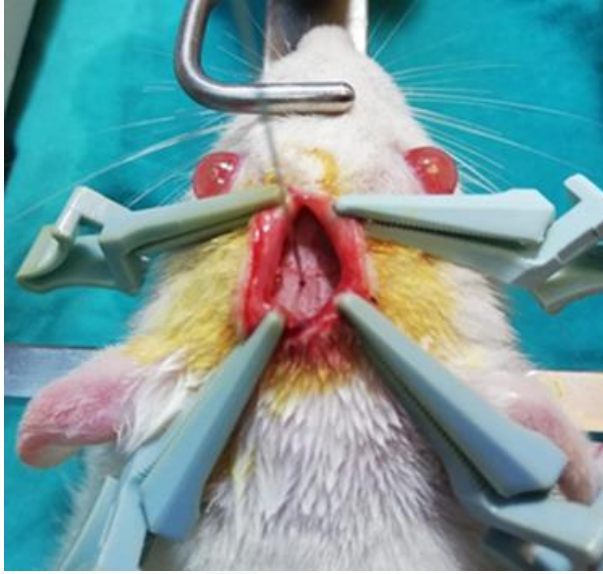


Resim 3.2. Ratın stereotaksi cihazına yerleştirilmesi, üstten görünüm



Resim 3.3. Ratın stereotaksi cihazına yerleştirilmesi yandan görünüm

STZ'nin verileceği koordinatlar bregma noktası referans alındığında antero-posterior'da -0,6mm, lateral'de 1.5mm ve dorsoventral'de 3.8mm olarak belirlenmiştir [386, 387]. Uygulanacak olan 3mg/kg STZ, yBOS içerisinde çözdürüldü. Stereotaksi cihazına yerleştirildikten sonra STZ uygulaması yapıldı (Resim 3.4.).



Resim 3.4. Bregma çizgisi referans alınarak rata i.c.v yöntemi ile STZ uygulanması

3.1.3. yBOS hazırlanması ve içeriği

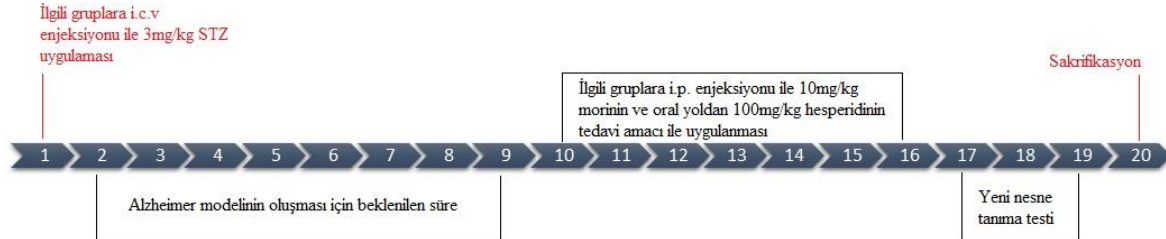
Deneyde yBOS hazırlanmasının amacı, STZ'nin bu madde içerisinde çözdürülmesidir. yBOS'un hazırlanması için gerekli olan maddeler çizelge 3.2.'de gösterilmiştir. Tablodaki maddeler tartıldı ve 500 ml steril distile su içerisinde çözdürüldü. Bu şekilde iki ayrı çözelti elde edildi. Daha sonra iki çözelti 1:1 hacminde karıştırılarak yBOS elde edildi [387, 390].

Çizelge 3.2. yBOS içeriği [387, 390]

1. Bileşik		2. Bileşik	
Kimyasal	Miktar (g)	Kimyasal	Miktar (g)
NaCl	8,66	Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	0,214
KCl	0,224	NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	0,027
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,163		
CaCl ₂ .H ₂ O	0,204		

3.1.4. Deneysel grupların oluşturulması ve yapılan işlemler

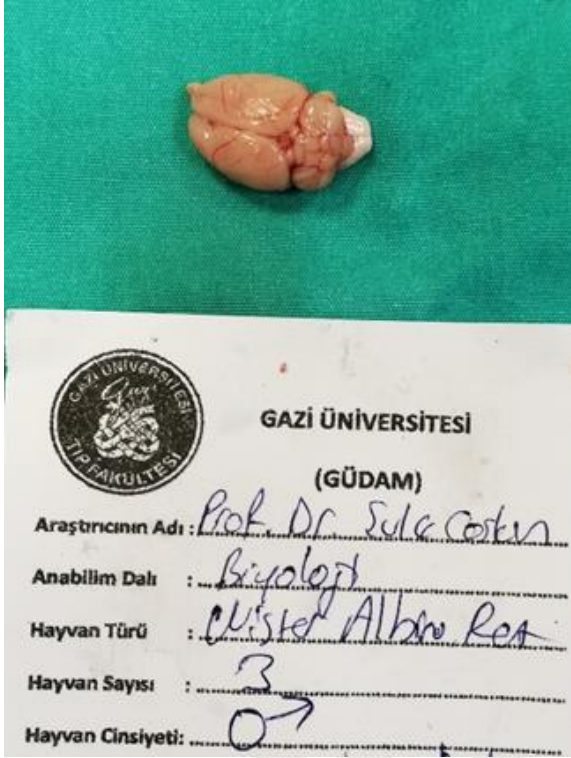
Deneysel grupların oluşturulmasındaki zaman akışı aşağıdaki gibidir:



Şekil 3.1. Deneysel zaman akışı

Kontrol grubu

Hiçbir uygulama yapılmamış sağlıklı ratlardan oluşan gruptur. STZ ile Alzheimer oluşturulan grupla ve uygulama yapılan gruplarla karşılaştırma yapılması için bu grup oluşturuldu. NOTR testi diğer gruplarla karşılaştırılma yapılabilmesi amacıyla bu gruba da uygulandı. Diğer grupların STZ uygulaması ve morin ve hesperidin uygulamasından sonra 3 gün boyunca (22., 23. ve 24. günlerde) 3 gün boyunca NOTR testi yapıldı. Test tamamlandığında ratlar 50mg/kg ketamin ve 5mg/kg ksilazin ile genel anestezi altına alınarak sakrifiye edildi. Tüm ratların beyin dokuları uygun şekilde alındı. Alınan beyin dokuları (Resim 3.5.) MDA ve GSH tayinleri için -80°C’de saklandı.



Resim 3.5. Sakrifiye edilen ratın beyin dokusu örneği

Alzheimer grubu

Bu grubun amacı kontrol grubu ve morin ve hesperidin uygulanan gruplar ile karşılaştırma yapılmasıdır. Stereotaksiye alınan ratın tek lateral ventrikülüne daha önce yBOS'da çözdürülen 3mg/kg STZ 10 µl hacminde Hamilton enjektörüyle i.c.v. yoluyla uygulandı. STZ'nin i.c.v. enjeksiyonu ile uygulanmasından sonra 7 gün boyunca beklendi. Buradaki amaç ratlarda Alzheimer modelinin oluşmasını beklemektir. Bu gruba herhangi bir uygulama yapılmadığından, 7 gün boyunca (9-16. günlerde) bu gruba hiçbir işlem yapılmadı. Diğer grupların uygulama süreci bittiğinde 3 gün boyunca (17., 18. ve 19. günlerde) NOTR testi yapıldı. Davranış testi bittikten sonra, ratlar 50mg/kg ketamin ve 5mg/kg ksilazin ile genel anestezi altına alınarak sakrifiye edildi. Tüm ratların beyin dokuları uygun şekilde alındı (Resim 3.6.). Alınan beyin dokuları MDA ve GSH tayinleri için -80°C'de saklandı.



Resim 3.6. Sakrifiye edilen ratın kafasının açılması

Morin uygulaması yapılan Alzheimer grubu

Alzheimer modeli oluşturmak amacıyla 3mg/kg STZ i.c.v. yöntemi ile uygulanmıştır. Ratlarda morinin tedavi edici etkilerini araştırmak amacıyla oluşturulan bir gruptur. STZ'nin uygulanmasından sonra 7 gün boyunca hiçbir işlem yapılmadan ratların Alzheimer olması sağlandı. Daha sonra 7 gün boyunca (9-16. günlerde) 10mg/kg oranında morin i.p. yoldan uygulandı. Uygulama bittikten sonraki 3 gün boyunca (17., 18, ve 19. günlerde) NOTR testi yapıldı. Davranış testi bittikten sonra, ratlar 50mg/kg ketamin ve 5mg/kg ksilazin ile genel anestezi altına alınarak sakrifiye edildi. Uygun yöntemlerle tüm ratların beyin dokuları alındı. Beyin dokuları MDA ve GSH tayinlerinin yapılması için -80°C'de uygun olarak saklandı.

Hesperidin uygulaması yapılan Alzheimer grubu

3mg/kg STZ'nin i.c.v yolundan oranında uygulanması ile Alzheimer modeli oluşturuldu. Hesperidin'in tedavi edici etkilerini araştırmak amacıyla oluşturulan bir gruptur. STZ'nin uygulanmasından 7 gün boyunca ratlarda Alzheimer modelinin oluşması beklendi. Daha sonra 7 gün boyunca (9-16. günlerde) 100mg/kg oranında hesperidin oral yoldan gavaj ile uygulandı. Uygulama aşaması bittikten sonra 3 gün boyunca (17., 18. ve 19. günlerde) NOTR testi yapıldı. Davranış testi bittikten sonra, ratlar 50mg/kg ketamin ve 5mg/kg ksilazin ile genel anestezi altına alınarak sakrifiye edildi. Uygun yöntemlerle tüm ratların

beyin dokuları alındı (Resim 3.7.). Beyin dokuları MDA ve GSH tayinleri için -80°C’de uygun olarak saklandı.



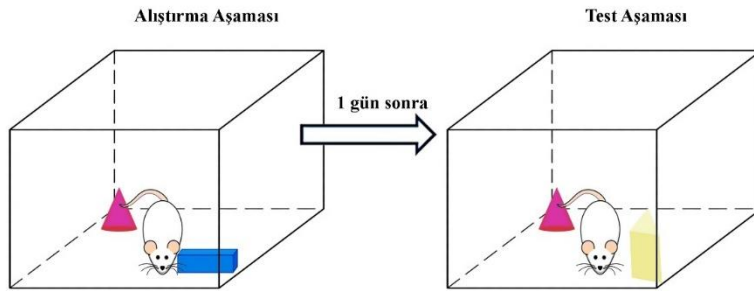
Resim 3.7. Sakrifiye edilen ratın beyninin alınması

Morin ve hesperidin uygulaması yapılan Alzheimer grubu

STZ'nin i.c.v. yolundan 3mg/kg uygulanması ile Alzheimer modeli oluşturuldu. Morin ve hesperidin kombinasyonunun tedavi edici etkilerini araştırma amacıyla oluşturulan bir gruptur. STZ'nin uygulanmasından sonra 7 gün süresince ratlarda AH modeli oluşması beklendi. 7 gün boyunca (9-16. günlerde) 100mg/kg oranında hesperidin oral yoldan gavaj yolu ile ve 10mg/kg morin ise i.p. yoldan uygulama yapıldı. Uygulama bitiminden sonra, 3 gün boyunca (17., 18. Ve 19. günlerde) NOTR testi yapıldı. Davranış testi bittikten sonra, ratlar 50mg/kg ketamin ve 5mg/kg ksilazin ile genel anestezi altına alınarak sakrifiye edildi. Uygun yöntemlerle tüm ratların beyin dokuları alındı. Beyin dokuları MDA ve GSH tayinlerinin yapılabilmesi için -80°C’de uygun olarak saklandı.

3.2. Yöntem

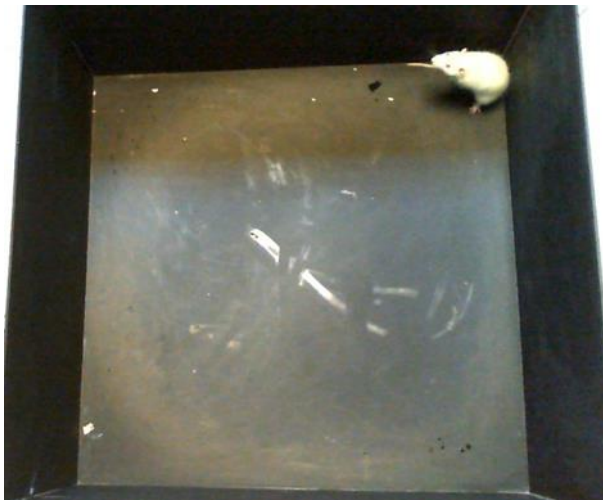
3.2.1. Yeni nesne tanıma testi (NORT)



Şekil 3.1. Yeni nesne tanıma testi şematik görünüm.

Testin amacı ratların öğrenmesinin ve hafızasının çeşitli yönlerini araştırmaktır [391]. Kutunun yüksekliği 40 cm, eni ve genişliği 80'er santimdir. Bu testin yapılma amacı sağlıklı, Alzheimer'lı ve uygulama yapılan grupların davranışlarını gözlemleyerek uzun süreli bellekleri üzerinde karşılaştırmalar ve yapılan uygulamaların etkisi üzerinde araştırmalar yapabilmektir. 3 günlük aşamadan oluşmaktadır [31]. Davranış testinin 3 gün boyunca günlere yayılarak yapılmasındaki amaç ratlardaki uzun belleği test etmektir.

İlk gün ratlar boş kutuda 5 dakika geçirmektedir ve bu aşamaya alışma aşaması denmektedir. Bu aşamadaki amaç ratın alanı tanınmasını sağlamaktır (Resim 3.8.).



Resim 3.8. Yeni nesne tanıma testi birinci gün

2. günün aşamasına alıştırma aşaması denmektedir. Ratlar 5 dakika boyunca biri mavi renkli dikdörtgen prizma ve diğeri de kırmızı renkli koni şeklinde olan iki adet nesne ile vakit geçirmiştir. Bu süreçte ratlar nesnelere keşfedip tanımıştır (Resim 3.9.).



Resim 3.9. Yeni nesne tanıma testi ikinci gün

3. gün ise bir önceki gün koyulan nesnelere dikdörtgen prizma değiştirilerek yerine sarı renkte üçgen prizma koyuldu ve 5 dakika boyunca nesnelere bırakıldılar. Bu aşamaya test aşaması adı verilmektedir (Resim 3.10.).



Resim 3.10. Yeni nesne tanıma testi üçüncü gün

Nesnenin yalnızca birinin değiştirilmesinin amacı, ratlar yeni şeyler ile içten gelen bir şekilde daha fazla vakit geçirmektedir. Rat, eski nesneyi tanıyıp kısa bir vakit geçirdikten sonra, yeni nesneye yönelip o nesne ile daha çok vakit geçirmektedir. Rat nesnenin yeni olduğunu fark ettiğinde şaha kalkmak ve nesneyi koklamak gibi hareketler yapmaktadır. Her

test aşamasında, her bir ratın 5 dakikalık sürecinden sonra kutu ve nesnelere %20'lik alkolle temizlenip, silinmiştir. Testin istatistiksel olarak analizinde yalnızca alıştırma ve test aşamaları kullanılmıştır. Bunun sebebi ise alışma aşamasında kutu boş olduğundan ve ilgileneceği bir nesnenin bulunmamasından dolayı karşılaştırma yapılacak bir veri olmamasıdır. Davranış testi bittiğinde eski nesne ile geçirilen zamanla (alıştırma aşaması olarak adlandırıldı) yeni nesne ile geçirilen zaman (test aşaması olarak adlandırıldı) karşılaştırılmıştır. Eski nesne (EN) ile geçirilen zaman ve yeni nesne (YN) ile geçirilen zamanın verileri kullanılarak, alıştırma aşamasına oranla test aşamasında keşif için ne kadar süre geçirdiği hesaplanmıştır [391, 393]. Bu orana diskriminasyon oranı (DI) adı verilmektedir ve formülü aşağıdaki gibidir [391]:

$$DI = \frac{(YN-EN) \times 100}{(YN+EN)}$$

3.2.2. Dokuda MDA düzeylerinin belirlenmesi

Oksidatif stres sebebiyle gerçekleşen lipid peroksidasyonunun sonucunda oluşan ürün olan MDA en çok çalışılan üründür. Yağ asidinin oksidasyona uğramasının en büyük kantitatif göstergesi olan MDA, lipid peroksidasyonunun ne derece gerçekleştiğini de göstermektedir [222]. Doku MDA tayininde modifiye Buege ve Steven'in yöntemi kullanılmıştır [394].

Reaktifler

0.15 M KCl

%5'lik TCA

%67'lik TBA

%95'lik etanolde çözdürülmüş BHT

%1'lik H₂SO₄

1 Mm TEP (25 µl tetraetoksipropan/100mL distile su)

Doku ve numunenin hazırlanması

Beyin dokusu tartıldı. Buz tankı üzerine alınan beyin, tartılan dokunun 9 katı miktarında KCl içerisinde homojenize edildi. Oluşan homojenizasyon ürününde proteinin çökmesi amacıyla TCA eklendi ve karıştırıldı. Bu işlemden sonra, 3000 rcf'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonrasında oluşan süpernatanta TBA ve BHT eklenerek 10 dakika boyunca kaynar su banyosunda tutuldu. Sürenin sonunda ürün soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra, absorbans 535 nm'de spektrofotometrik okuma yapıldı. Dokulardaki MDA konsantrasyonu nmol/g doku başına olarak hesaplandı.

3.2.3. Dokuda GSH düzeylerinin belirlenmesi

Dokuda GSH tayini yapılabilmesi için modifiye Elman yöntemi kullanıldı [395].

Reaktifler

0.15 M KCl

Reaktif karışımı = 30 g NaCl + 1,67 g metafosforik asit + 0.2 g EDTA/100 mL distile su

%1'lik Na₂HPO₄ içine 0.4 mg/mL DTNB

Doku ve numunenin hazırlanması

Beyin dokusu tartıldı. Buz tankı üzerine alınan beyin, tartılan dokunun 9 katı miktarında KCl içerisinde homojenize edildi. Deproteinizasyonun gerçekleşebilmesi için oluşan homojenata 0.75 mL reaktif karışımı eklendi. 4.000 rpm'de 20 dakika santrifüjleme yapıldı. Bu işlemin sonucunda oluşan süpernatana Na₂HPO₄ içinde solüsyon haline getirilen DTNB ilave edildi. Daha sonra, 412 nm'de spektrofotometre cihazında okundu. Sonuçlardaki doku GSH düzeyleri µmol/g doku başına hesaplandı.

3.3. İstatistiksel Analiz

Elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizlerinde Graphpad Prism 8.4.2. programı kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama değer \pm standart sapma (\pm SD) olarak ifade edilmiştir. Gruplar arasındaki karşılaştırma tek yönlü ANOVA testi ile analiz edildi. $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.





4. BULGULAR

4.1. Yeni Nesne Tanıma Testi (NOTR)

NOTR testinde alışma aşaması olarak adlandırılan 1. gün sonucu istatistiksel hesaplamaya dahil edilmemiştir. Bunun sebebi ilk gün ratların koyuldukları kutuya alışmasını sağlamak olduğundan ve kutuda nesne bulunmadığından, karşılaştırma yapılabilecek bir veri bulunmamaktadır. NOTR testinden elde edilen bulgular çizelge 4.1. ve şekil 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Grupların yeni nesne tanıma testi sonuçları

GRUPLAR (n=10)	ALİŞTİRMA AŞAMASI (2.GÜN) (saniye)	TEST AŞAMASI (3.GÜN) (saniye)
Kontrol Grubu	13,00±2,00	18,90±3,59
Alzheimer Grubu	5,11±2,18*	8,67±2,16*
Morin Uygulanan Grup	7,50±2,06*	15,30±2,97 ^a
Hesperidin Uygulanan Grup	10,11±2,77 ^a	16,33±2,45 ^a
Morin ve Hesperidin Uygulanan Grup	11,25±1,64 ^a	15,75±3,63 ^a

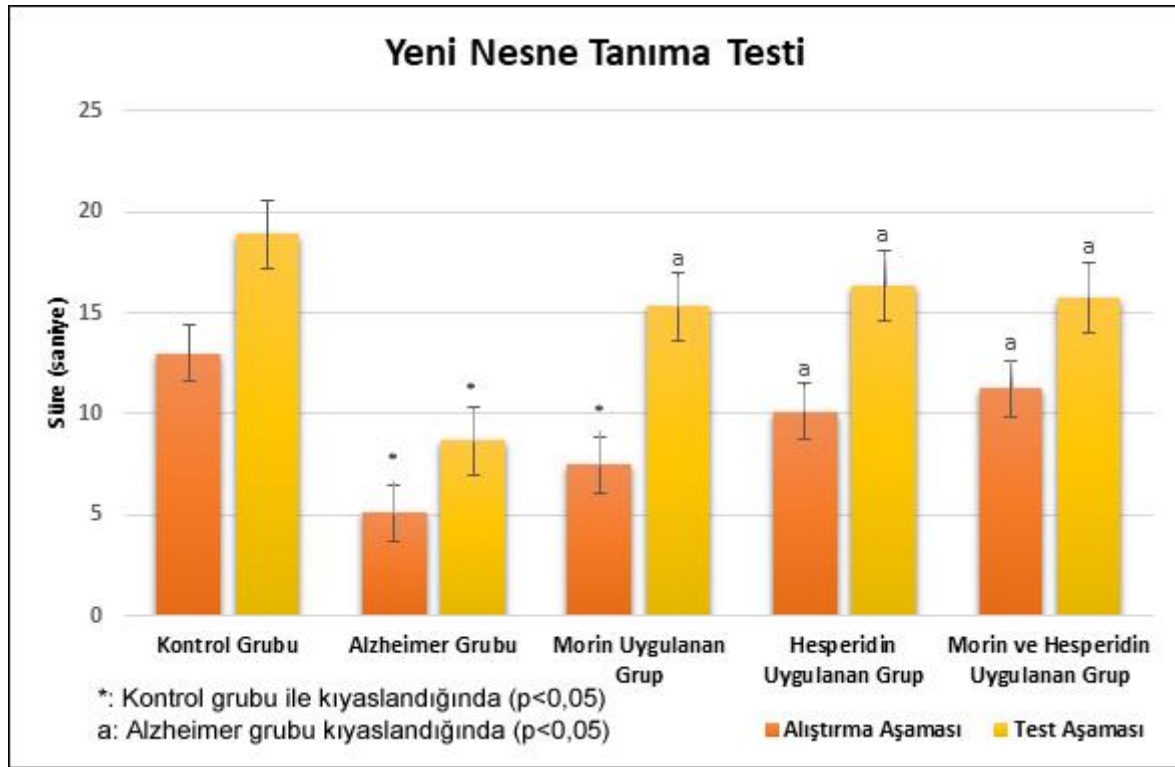
*: Kontrol grubu ile kıyaslandığında ($p<0,05$)

^a: Alzheimer grubu kıyaslandığında ($p<0,05$)

Alıştırma aşaması için: Kontrol grubu ile Alzheimer grubu arasında ve kontrol grubu ile morin uygulaması yapılan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$). Alzheimer grubu ile hesperidin uygulaması yapılan arasında ve Alzheimer grubu ile morin ve hesperidin uygulaması yapılan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır.

Test aşaması için: Kontrol grubu ile Alzheimer grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$). Alzheimer grubu ile morin uygulanan grup arasında, Alzheimer grubu ile hesperidin uygulaması yapılan grup arasında ve Alzheimer grubu ile morin ve hesperidin uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$).

Çizelge 4.1.'de verilen değerlerin tümünün grafik olarak yorumu şekil 4.1.'de sunulmuştur.



Şekil 4.1. Yeni nesne tanıma testinin sonuçlarının grafiksel verileri

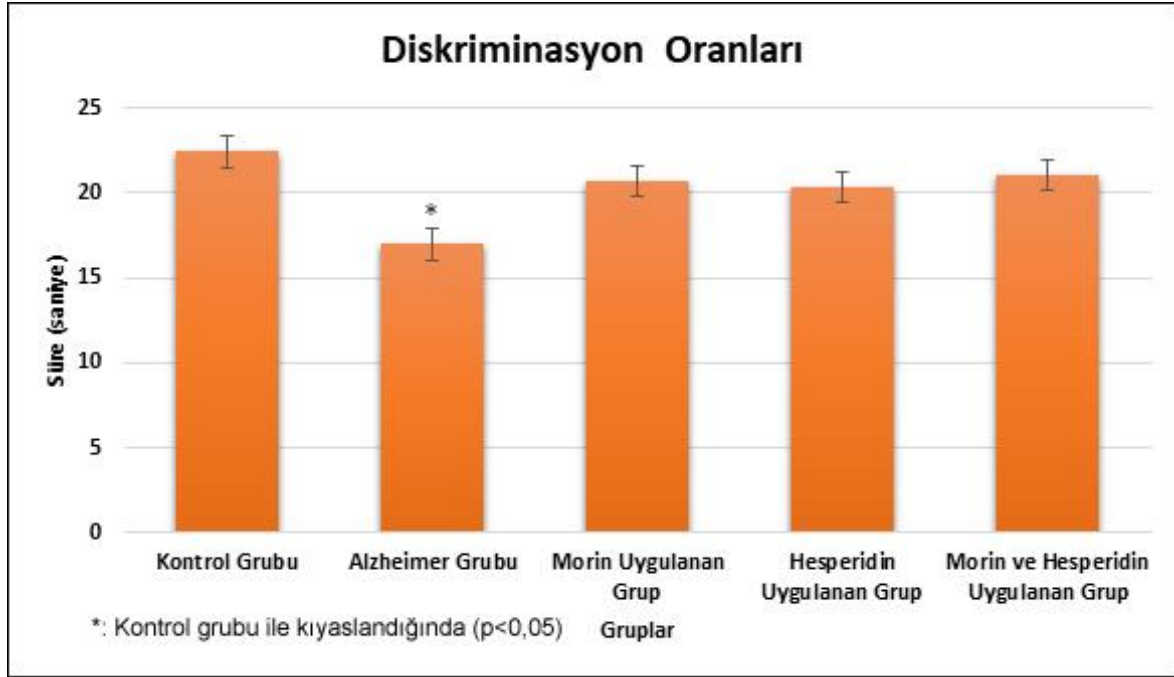
Çizelge 4.2. Grupların DI sonuçları

GRUPLAR (n=10)	DI (saniye)
Kontrol Grubu	22,42±3,53
Alzheimer Grubu	16,98±2,18*
Morin Uygulanan Grup	20,68±3,91
Hesperidin Uygulanan Grup	20,30±2,20
Morin ve Hesperidin Uygulanan Grup	21,05±2,23

*: Kontrol grubu ile kıyaslandığında ($p<0,05$)

Kontrol grubu ile Alzheimer grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$).

Çizelge 4.2.'de verilen sonuçların grafiksel yorumu şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. DI verilerinin grafiği

4.2. MDA Düzeyleri

Çizelge 4.3. Deney gruplarında MDA düzeyleri

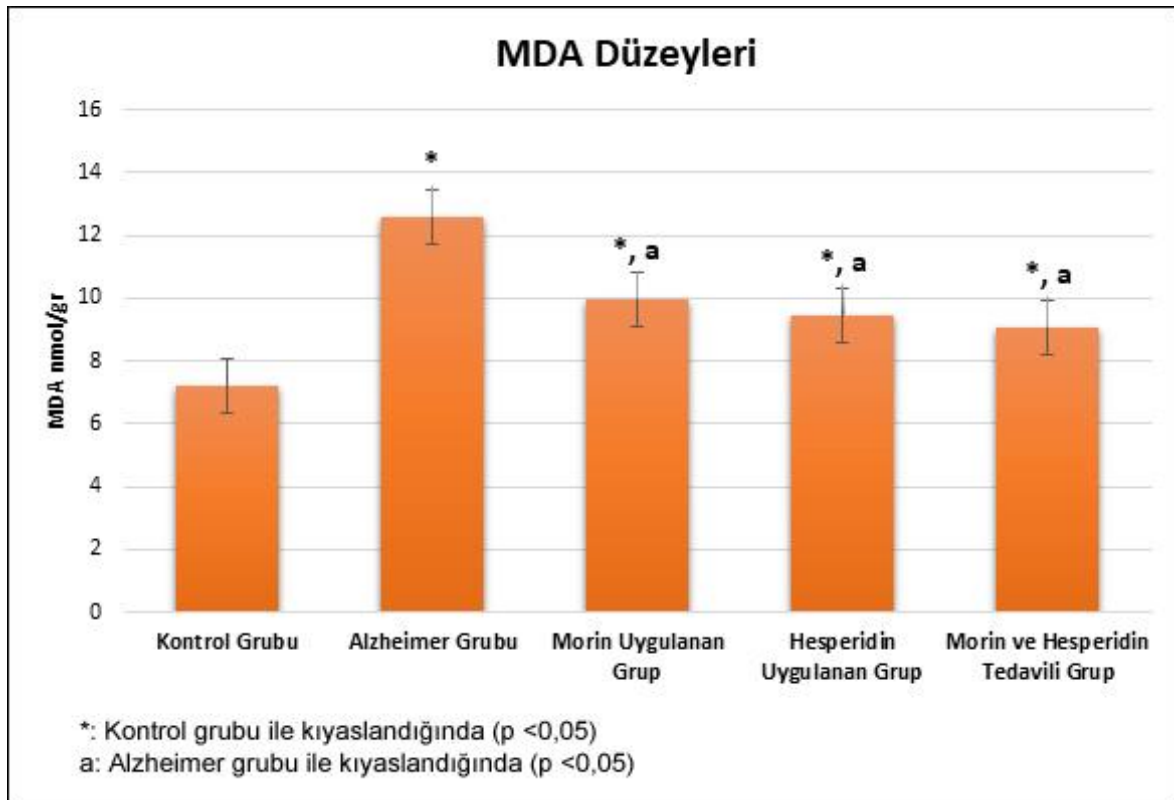
GRUPLAR (n=10)	MDA (nmol/g)
Kontrol Grubu	7,21±1,04
Alzheimer Grubu	12,61±0,95*
Morin Uygulanan Grup	9,96±1,57*, a
Hesperidin Uygulanan Grup	9,46±1,70*, a
Morin ve Hesperidin Uygulanan Grup	9,07±0,46*, a

*: Kontrol grubu ile kıyaslandığında (p < 0,05)

a: Alzheimer grubu ile kıyaslandığında (p < 0,05)

Kontrol grubu ile kıyaslandığında, tüm gruplarda MDA artışı gözlemlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Alzheimer Grubu ile tüm uygulama yapılan gruplar kıyaslandığında, uygulama yapılan grupların MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). Uygulama yapılan gruplar birbiriyle kıyaslandığında anlamlı fark bulunmamaktadır.

Çizelge 4.3.'te verilen değerlerin tümünün grafik olarak yorumu şekil 4.3.'te sunulmuştur.



Şekil 4.3. Deney gruplarında MDA düzeylerinin grafiği

4.3. GSH Düzeyleri

Çizelge 4.4. Deney gruplarında GSH düzeyleri

GRUPLAR (n=10)	GSH ($\mu\text{mol/g}$)
Kontrol Grubu	2,30 \pm 0,31
Alzheimer Grubu	2,06 \pm 0,15
Morin Uygulanan Grup	2,67 \pm 0,34 ^a
Hesperidin Uygulanan Grup	3,22 \pm 0,36 ^{*, a, b}
Morin ve Hesperidin Uygulanan Grup	2,88 \pm 0,23 ^{*, a}

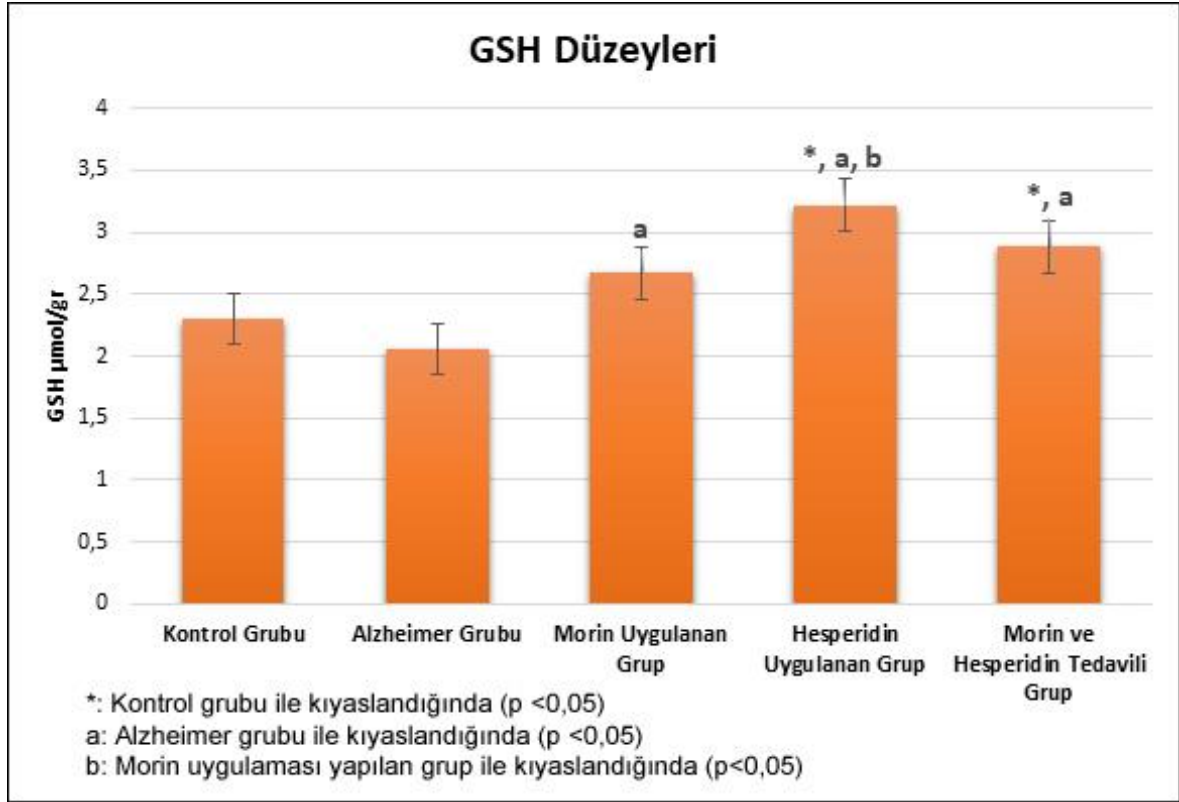
*: Kontrol grubu ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

a: Alzheimer grubu ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

b: Morin uygulaması yapılan grup ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

Kontrol grubu ile hesperidin uygulanan grup arasında, kontrol grubu ile morin ve hesperidin uygulaması yapılan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlenmektedir ($p < 0,05$) Alzheimer grubu ile kıyaslandığında, tüm uygulama gruplarında GSH değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmektedir ($p < 0,05$). Morin uygulaması yapılan grup ile hesperidin uygulaması yapılan grup kıyaslandığında; hesperidin uygulanan grubun GSH değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmektedir ($p < 0,05$)

Çizelge 4.4.'te verilen değerlerin tümünün grafik olarak yorumu şekil 4.4.'te sunulmuştur.



Şekil 4.4. Deneysel gruplarında GSH düzeylerinin grafiği



5. TARTIŞMA

Alzheimer hastalığı amiloid plaklar, NFT, sinaps kaybı ve hücre ölümü gibi pek çok patoloji ile karakterize edilen nörodejeneratif bir hastalıktır. Belirtilen bu patolojilerin altındaki en büyük sebep, bu tezde de ele alınmış olan, antioksidan sistem ile ROS arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkan oksidatif strestir. Normal şartlar altında, ROS antioksidan sistem tarafından uzaklaştırılmaktadır. Beyindeki birincil antioksidan GSH'dır. Bununla birlikte, SOD, GSH ve CAT gibi antioksidanların seviyelerinin Alzheimer hastalarının MSS'de ve periferik sistemlerinde azaldığı bildirilmiştir [396]. Oksidatif stres verdiği hasarlar ile lipid peroksidasyonuna neden olmakta ve sonucunda ürün olarak MDA ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple, MDA lipid peroksidasyonunun varlığını kanıtlayan bir biyobelirteçtir. Lipidlerce zengin olan beyin, AH'de lipid peroksidasyonuna en çok maruz kalan organdır. Aβ ile indüklenmiş bir in vitro modelde hücre içinde ROS ve MDA seviyelerinin arttığı gözlemlenirken, SOD ve GPx seviyelerinin azaldığı gözlemlenmiştir [397]. Benzer şekilde Aβ indüklemesi ile oluşturulan bir in vivo modelde ROS miktarının sağlıklı gruba göre on kat arttığı rapor edilmiştir [398]. Zhang ve çalışma arkadaşları sıçanlar ile bir Alzheimer modeli oluşturmuşlardır. Çalışmalarında, AH'li sıçanlarının beyin dokularında SOD aktivitesinin azaldığı ve MDA seviyelerinin de arttığını tespit edilmiştir [399].

Yapılan tüm bu çalışmalar ışığında Alzheimer hastalığına yakalanmış kişilerin antioksidan kapasitesinin düştüğü, oksidatif stresin olduğu ve buna bağlı lipid peroksidasyonu gibi dokulara hasar veren reaksiyonların arttığı sonucuna varılmaktadır. Bu duruma karşılık doğal flavonoid bileşiklerden morin ve hesperidinin başta nörodejeneratif hastalıklar olmak üzere pek çok hastalıkta antioksidan kapasiteyi arttırdığına ve oksidatif stres hasarına karşı koruma sağladığına dair birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin, Abdollahi ve çalışma arkadaşları hesperidinin antioksidan rolü sayesinde serebral korteks hasarını azalttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada hesperidinin serebral kortekste oksidatif stres belirteçlerinin seviyelerini düşürdüğü de rapor edilmiştir. Hesperidinin deneysel felç modelinde inflamasyonu ve serbest radikalleri azalttığı bildirilmiştir [11]. Hesperidin uygulamasının hücre içi sinyal yollarını başlatabildiği gözlemlenmiştir. Bu sayede oksidatif stresi engelleyebildiği ve Aβ ile ilişki nörotoksisiteye karşı dirençli proteinleri indükleyebildiği ortaya koyulmuştur [11, 400]. Ayrıca, hesperidin CAT, GSH, MnSOD ve GPx ekspresyonunu artırarak antioksidan özellik göstermektedir [400]. Bir başka çalışmada da

hesperidinin GPx ve CAT'ın enzim aktivitesini ve GSH seviyesini yükselterek oksidatif stresi hafiflettiği bulgularına ulaşılmıştır. Bu çalışmada, hesperidinin oksidatif stres altındaki böbrek hücrelerinde MDA, ALT ve AST seviyelerini düşürdüğü ve SOD seviyesini yükselttiği gözlemlenmiştir [401]. Liu ve arkadaşları, hesperidinin inflamasyon ile ortaya çıkan IL-6 ve TNF- α düşürdüğü gözlemlenmiştir. Bu çalışmada da pek çok çalışmada olduğu gibi hesperidinin MDA seviyesini düşürürken CAT, SOD ve GSH seviyelerini yükselttiği rapor edilmiştir [402]. Dolayısı ile bu flavonoid nörodejeneratif hastalıklar için potansiyel bir koruyucudur. Benzer şekilde doğal bir flavonoid olan morinin de antioksidan özelliklere sahip olduğu pek çok çalışma ile bildirilmiştir. Örneğin, Heeba ve arkadaşlarının fruktoz ile indüklenen ratlarda yaptığı bir çalışmada morin uygulaması yapılan gruplarda MDA seviyesinin düştüğü, GSH ve CAT seviyelerinin ise arttığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, morinin inflamatuvar bir belirteç olan TNF- α düzeyini düşürdüğü rapor edilmiştir. Özetle, bu deneyde morinin lipid peroksidasyonunu azalttığı, oksidatif stres sonucunda oluşan mitokondriyal disfonksiyon gibi durumları önleme özelliğine sahip olduğu ve antioksidan kapasiteyi artırdığı bulgularına ulaşılmıştır [403]. Nöronal hücreler ile yapılan bir in vitro çalışmada morin uygulaması sayesinde A β oligomerlerinin neden olduğu oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve nörotoksisite gibi durumların azaldığı ortaya koyulmuştur [404]. STZ ile indüklenmiş diyabetik ratlarda morinin SOD, CAT ve GPx aktivitelerini ve GSH seviyesini artırdığı gözlemlenmiştir [405]. Bir başka in vitro deney ile oluşturulan oksidatif stres ve inflamasyon modelinde iyileştirici etki göstermesi amacıyla morin açısından zengin *Arctium lappa l.* yaprakları kullanılmış ve sonuçta morinin inflamasyonu ve oksidatif stresi azalttığı rapor edilmiştir [406]. Ayrıca morinin Nfr2 yolağını regüle ederek SOD, CAT ve GPx gibi Nfr2'ye bağlı antioksidan enzimleri yukarı regüle ettiği bildirilmiştir [406].

Schindler ve arkadaşlarının ve Herring ve arkadaşlarının doğum öncesinde kokaine maruz kalan ratlar üzerinde yaptıkları deneyde NOTR testi uygulamasından sonra bu ratların kısa süreli hafızalarında eksiklik saptanmıştır [407, 408]. Hammond ve arkadaşları hipokampus üzerinde bir araştırma yapmak üzere NOTR testini kullanmışlardır. Bu çalışmada NOTR testinden önce hipokampusu geçici olarak işlevsiz hale getirmek için lidokain uygulaması yapılmıştır. Çalışma sonucunda hipokampus inaktivasyonunun alıştırma aşamasında veya test aşamasında herhangi bir etkiye neden olmadığı bulgusuna ulaşılmıştır. Bununla birlikte, 24 saat sonra ise hipokampusun inaktivasyonuna bağlı olarak ratların nesnelere tanıma hafızasında bir bozukluk olduğu, yani uzun süreli belleğin bozulduğu gözlemlenmiştir [409].

Botton ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada, kafein uygulamasının ratlarda öğrenme ve hafıza üzerine etkilerini araştırmak amacıyla NOTR testi kullanılmıştır. Kafein dozunun ve uygulama zamanlamasının nasıl bir etki oluşturduğu çalışmanın ana konusu olarak ele alınmıştır. Deney sonucunda kafein ile tedavinin kısa süreli ve uzun süreli hafızanın bozulmasını önleyici etki gösterdiği ortaya koyulmuştur [410]. Bu çalışmalar dahil pek çok çalışmada [411-415] görüldüğü üzere NOTR testi hafızanın çeşitli yönlerini incelemek için kullanılan en yaygın testlerden biridir.

Bu kısa literatür örnekleme göz önüne alındığında, oksidatif stresin ve buna bağlı olarak azalmış antioksidan kapasitesinin AH hastalığı için en önemli risk faktörü olduğu ortadadır. Bu sebeple bu hastalığın yönetiminde antioksidan özellik gösteren flavonoidler ile uygulanan tedavi yöntemleri önemli bir hamledir. Morin ve hesperidin antioksidan özellik gösteren ve oksidatif strese karşı koruyucu özelliği olan önemli birer doğal flavonoiddir. Bu sebeple bu tezde morin ve hesperidinin birlikte kullanımının AH üzerindeki etkileri araştırılmıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Daha önce yapılan i.c.v. yöntemi ile STZ uygulanarak ratlarda oluşturulan Alzheimer modeli referans alınarak model oluşturulmuştur [387, 31]. STZ uygulamasından sonra ratlarda modelin oluşup oluşmadığını teyit etmek amacıyla NOTR testi yapılmıştır. Yapılan testlerde Alzheimer'lı grupların nesnelere olan ilgisinin ve nesnelere geçirdikleri sürenin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu veriler ile gruplarda başarılı şekilde Alzheimer modeli oluşturulduğu tespit edilmiştir.

NOTR testi sonuçları için ilk olarak alıştırma aşaması için analiz yapılmıştır. Alzheimer grubunun kontrol grubuna göre nesnelere daha az vakit geçirdiği tespit edilmiştir. Benzer şekilde morin uygulaması yapılan grubun da kontrol grubuna göre nesnelere daha az vakit geçirdiği görülmüştür. Fakat bu ilgisizlik Alzheimer modeli oluşturulan ratlardaki kadar olmamakla birlikte bu gruba göre daha iyi durumdadır. Hesperidin uygulaması yapılan ve morin ve hesperidin uygulaması yapılan grupların Alzheimer'lı gruba göre nesnelere daha fazla ilgilendiği gözlemlenmiştir. Dolayısıyla, uygulamaların iyileştirici etkisi olduğu ve ratların çevresine karşı ilgisinin tekrar arttığı sonucuna varılmıştır.

Test aşaması için istatistiksel analizler de yapılmıştır. Elde edilen verilere göre Alzheimer grubunun kontrol grubuna göre değiştirilen nesnelere daha az vakit geçirdiği tespit edilmiştir. Alzheimer grubunun çevresine karşı ilgisiz olması ile birlikte, bu gruptaki ratlar nesnelere değiştiğini de fark etmemiştir. Dolayısıyla, bilişsel aktiviteleri ve hafızaları zayıftır. Tüm uygulama yapılan gruplar Alzheimer grubuna göre yeni nesnelere daha fazla vakit geçirmiştir. Morin ve hesperidinin gerek tek tek uygulanması gerek kombinasyon uygulamasının sinerjistik etki göstererek, bilişsel semptomlar üzerinde iyileştirici etki gösterdiği tespit edilmiştir. Uygulama yapılan ratların çevresine karşı daha ilgili durumda ve daha hareketli oldukları gözlemlenmiştir.

DI oranının Alzheimer grubunda kontrol grubuna göre daha az olduğu bulunmuştur. DI oranı eski nesneye oranla yeni nesne ile geçirilen zamanı vermektedir. Dolayısıyla, yeni nesne ile Alzheimer grubu daha az zaman geçirmiştir. Nesnenin değiştiğine dair bir hafızaya sahip olmamakla birlikte çevresine karşı ilgisiz olduğu bulgusuna ulaşılmıştır.

MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre tüm gruplarda arttığı gözlemlenmiştir. Kontrol grubu sağlıklı olduğundan MDA düzeyi diğer gruplara göre düşüktür. Alzheimer grubu AH sebebiyle oksidatif stres altındadır. Dolayısıyla lipit peroksidasyonu artmış durumdadır. Alzheimer grubuna göre ise tüm uygulama yapılan grupların MDA oranında düşüş olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında tüm uygulama gruplarında uygulamaların başarılı olduğu ve lipit peroksidasyonunu düşürdüğü sonucu elde edilmiştir. Uygulama grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

GSH düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla hesperidin uygulaması yapılan grupta ve morin ve hesperidin uygulanan grupta arttığı gözlemlenmiştir. Diğer çalışmalarla uyumlu olarak uygulanan morin ve hesperidin uygulamasının antioksidan seviyesini yükselttiği, dolayısıyla oksidatif strese karşı koyabilecek bir uygulama yöntemi olduğu bulgusuna ulaşılmıştır. Öyle ki, GSH düzeyleri sağlıklı gruba oranla daha yüksek seviyededir. GSH düzeyleri Alzheimer grubuna kıyasla tüm uygulama gruplarında artmıştır. Uygulamalardan önce Alzheimer'lı olan ratlardaki antioksidan eksikliği ve oksidatif stres durumu uygulamalar sayesinde pozitif yöne çevrilmiştir. Hesperidin uygulaması yapılan grubun GSH düzeyi morin uygulaması yapılan gruba göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla, hesperidin morine oranla antioksidan kapasiteyi daha fazla artırabilir nitelikte olabileceği bulgusuna ulaşılmıştır.

Sonuç olarak, morin ve hesperidin birlikte uygulandığı yöntemde Alzheimer grubuna göre MDA seviyesi düşmüştür ve GSH düzeyi ise Alzheimer grubuna göre artmıştır. Hatta GSH düzeyi kontrol grubundan da iyi durumdadır. Bu veriler, morin ve hesperidin birlikte kullanımının birlikte güçlü bir antioksidan özellik gösterdiğini, AH'nin altında yatan sebeplerden biri olan oksidatif stres ve lipit peroksidasyonuna karşı koyduğunu ve elimine ettiğini düşündürmektedir.

AH gibi pek çok nörodejeneratif hastalığın maalesef kesin bir çözümü halen bulunamamıştır. Bunun yanı sıra, bu hastalıklarda kullanılan mevcut ilaçların birçok yan etkisi bulunmaktadır. Flavonoidler doğal bileşikler olması ve yan etkilerinin de az olması sebebiyle son zamanlarda oldukça fazla ilgi görmeye başlamıştır. Bu sebeple pek çok çalışmanın odak noktası olmuştur. Morin ve hesperidin dahil pek çok antioksidanın bu tezdeki faydalı fonksiyonları dışında oldukça fazla etkisi bulunmaktadır. Bu keşfedilmemiş fonksiyonları üzerine çalışmalar yapılmasına gereksinim duyulmaktadır. Flavonoidlerin

uygun dozunu bulmak amacı ile ve uzun süreli kullanımı üzerine de araştırmalar yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Henüz keşfedilmemiş çok sayıda flavonoid de bulunmaktadır. Yeni flavonoidler keşfetmek üzerine çalışmalar yapılmasında büyük fayda bulunmaktadır. Meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunan ve pek çok yararlı etkisi bulunan bu flavonoidleri günlük diyetimizde tkmemizin sağlığımız üzerinde de büyük faydası olacaktır.





KAYNAKLAR

1. Cheignon, C., Tomas, M., Bonnefont-Rousselot, D., Faller, P., Hureau, C. and Collin, F. (2018). Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biology*, 14, 450-464.
2. Alzheimer, A., Stelzmann, R. A., Schnitzlein, H. N. and Murtagh, F. R. (1995). An English translation of Alzheimer's 1907 paper," Uber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". *Clinical Anatomy*, 8(6), 429-431.
3. Goedert, M. and Spillantini, M. G. (2006). A century of Alzheimer's disease. *Science*, 314(5800), 777-781.
4. Apostolova, L. G., Zarow, C., Biado, K., Hurtz, S., Boccardi, M., Somme, J. and Watson, C. (2015). Relationship between hippocampal atrophy and neuropathology markers: A 7T MRI validation study of the EADC-ADNI harmonized hippocampal segmentation Protocol. *Alzheimer's and Dementia*, 11(2), 139-150.
5. Castellani, R. J., Rolston, R. K., and Smith, M. A. (2010). Alzheimer disease. *Disease-a-month, DM*, 56(9), 484.
6. Özpak, L., Pazarbaşı, A. ve Keser, N. (2017). Alzheimer hastalığının genetiği ve epigenetiği. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 26(1), 34-49.
7. Apostolova, L. G. (2016). Alzheimer disease. *Continuum: Lifelong Learning in Neurology*, 22(2), 419-434.
8. Villemagne, V. L., Burnham, S., Bourgeat, P., Brown, B., Ellis, K. A., Salvado, O. and Masters, C. L. (2013). Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *The Lancet Neurology*, 12(4), 357-367.
9. Sabbagh, M. N., Cooper, K., DeLange, J., Stoehr, J. D., Thind, K., Lahti, T. and Beach, T. G. (2010). Functional, global and cognitive decline correlates to accumulation of Alzheimer's pathology in MCI and AD. *Current Alzheimer Research*, 7(4), 280-286.
10. Jack Jr, C. R., Knopman, D. S., Jagust, W. J., Shaw, L. M., Aisen, P. S., Weiner, M. W. and Trojanowski, J. Q. (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *The Lancet Neurology*, 9(1), 119-128.
11. Abdollahi, H., Edalatmanesh, M. A., Hosseini, E. and Foroozanfar, M. (2021). The Effects of Hesperidin on BDNF/TrkB Signaling Pathway and Oxidative Stress Parameters in the Cerebral Cortex of the Utero-placental Insufficiency Fetal Rat Model. *Basic and Clinical Neuroscience*, 12(4), 511.
12. Estruel-Amades, S., Massot-Cladera, M., Pérez-Cano, F. J., Franch, À., Castell, M. and Camps-Bossacoma, M. (2019). Hesperidin effects on gut microbiota and gut-associated lymphoid tissue in healthy rats. *Nutrients*, 11(2), 324.
13. Hwang, S. L., Shih, P. H. and Yen, G. C. (2012). Neuroprotective effects of citrus flavonoids. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 60(4), 877-885.

14. Shaban, N. Z., Ahmed Zahran, A. M., El-Rashidy, F. H. and Abdo Kodous, A. S. (2017). Protective role of hesperidin against γ -radiation-induced oxidative stress and apoptosis in rat testis. *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 24(1), 1-11.
15. Kim, J. M., Lee, E. K., Park, G., Kim, M. K., Yokozawa, T., Yu, B. P. and Chung, H. Y. (2010). Morin modulates the oxidative stress-induced NF- κ B pathway through its anti-oxidant activity. *Free radical research*, 44(4), 454-461.
16. Manna, S. K., Aggarwal, R. S., Sethi, G., Aggarwal, B. B. and Ramesh, G. T. (2007). Morin (3, 5, 7, 2', 4'-pentahydroxyflavone) abolishes nuclear factor- κ B activation induced by various carcinogens and inflammatory stimuli, leading to suppression of nuclear factor- κ B-regulated gene expression and up-regulation of apoptosis. *Clinical Cancer Research*, 13(7), 2290-2297.
17. Denda, A., Ura, H., Tsujiuchi, T., Masahiro, T., Eimoto, H., Takashima, Y. and Konishi, Y. (1989). Possible involvement of arachidonic acid metabolism in phenobarbital promotion of hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis*, 10(10), 1929-1935.
18. Xie, M. X., Long, M., Liu, Y., Qin, C. and Wang, Y. D. (2006). Characterization of the interaction between human serum albumin and morin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1760(8), 1184-1191.
19. Brown, E. J., Khodr, H., Hider, C. R. and Rice-Evans, C. A. (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochemical Journal*, 330(3), 1173-1178.
20. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.
21. Caselli, A., Cirri, P., Santi, A. and Paoli, P. (2016). Morin: a promising natural drug. *Current Medicinal Chemistry*, 23(8), 774-791.
22. Olonode, E. T., Aderibigbe, A. O., Adeoluwa, O. A. and Ajayi, A. M. (2018). Protective effects of morin hydrate on acute stress-induced behavioral and biochemical alterations in mice. *Basic and Clinical Neuroscience*, 9(3), 195.
23. Lueptow, L. M. (2017). Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. *Journal of Visualized Experiments*, 126, 1-9.
24. Ennaceur, A. and Meliani, K. (1992). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. III. Spatial vs. non-spatial working memory. *Behavioural brain research*, 51(1), 83-92.
25. Akkerman, S., Blokland, A., Reneerkens, O., van Goethem, N. P., Bollen, E., Gijsselaers, H. J. and Prickaerts, J. (2012). Object recognition testing: methodological considerations on exploration and discrimination measures. *Behavioural brain research*, 232(2), 335-347.
26. Antunes, M. and Biala, G. (2012). The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive processing*, 13 (2), 93-110.
27. Leger, M., Quiedeville, A., Bouet, V., Haelewyn, B., Boulouard, M., Schumann, B. P. and Freret, T. (2013). Object recognition test in mice. *Nature protocols*, 8(12), 2531-2537.

28. Van Goethem, N. P., Rutten, K., van der Staay, F. J., Jans, L. A., Akkerman, S., Steinbusch, H. W. and Prickaerts, J. (2012). Object recognition testing: rodent species, strains, housing conditions, and estrous cycle. *Behavioural brain research*, 232(2), 323-334.
29. Lueptow, L. M., Zhan, C. G. and O'Donnell, J. M. (2016). Cyclic GMP-mediated memory enhancement in the object recognition test by inhibitors of phosphodiesterase-2 in mice. *Psychopharmacology*, 233(3), 447-456.
30. Ennaceur, A. (2010). One-trial object recognition in rats and mice: methodological and theoretical issues. *Behavioural brain research*, 215(2), 244-254.
31. Arıncı, K. ve Elhan, A. (2006). *Anatomi* (Dördüncü Baskı). Türkiye: Güneş Kitabevi, 211-272.
32. Odar, İ., V. (1970). *Anatomi Ders Kitabı*. (Yedinci Baskı). Ankara: Yeni Desen Yayınevi, 282-359.
33. Lei, Y., Han, H., Yuan, F., Javeed, A. and Zhao, Y. (2017). The brain interstitial system: Anatomy, modeling, in vivo measurement, and applications. *Progress in Neurobiology*, 157, 230-246.
34. Marieb, E., N. (2017). *Anatomi ve Fizyoloji*. (çev. Tatar, İ.). Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık, 382-418.
35. Kurtoğlu, Z. (2014). *Sağlık Yüksekokulları İçin Kliniğe Yönelik Anatomi Kitabı*. (Birinci Baskı). Ankara: Akademisyen Kitabevi, 136-139.
36. Hall, J., E., (2016). *Tıbbi Fizyoloji*. (On üçüncü baskı). Ankara : Güneş Kitabevi, 579.
37. Salim, S. (2017). Oxidative stress and the central nervous system. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 360(1), 201-205.
38. Kipps, C. M., Duggins, A. J., Mahant, N., Gomes, L., Ashburner, J. and McCusker, E. A. (2005). Progression of structural neuropathology in preclinical Huntington's disease: a tensor based morphometry study. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 76(5), 650-655.
39. Obeso, J. A., Rodríguez, O. M. C., Benitez, T. B., Blesa, F. J., Guridi, J., Marin, C. and Rodriguez, M. (2008). Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease. *Movement disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 23(3), 548-S559.
40. Gandhi, S. and Abramov, A. Y. (2012). Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 1-11.
41. Hajjalyani, M., Hosein, F. M., Echeverría, J., Nabavi, S. M., Uriarte, E. and Sobarzo-Sánchez, E. (2019). Hesperidin as a neuroprotective agent: a review of animal and clinical evidence. *Molecules*, 24(3), 648.
42. Kovacs, G. G. (2018). Concepts and classification of neurodegenerative diseases. *In Handbook of Clinical Neurology*, 145, 301-307.
43. Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L. J. D. and Singla, A. K. (2001). Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytotherapy Research*, 15(8), 655-669.

44. Solanki, I., Parihar, P. and Parihar, M. S. (2016). Neurodegenerative diseases: from available treatments to prospective herbal therapy. *Neurochemistry International*, 95, 100-108.
45. Berrios, G. E. (1990). Alzheimer's disease: A conceptual history. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 5, 355-365.
46. Markesbery, W. R. (1997). Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(1), 134-147.
47. Khachaturian, Z. S. (1985). Diagnosis of Alzheimer's disease. *Archives of Neurology*, 42(11), 1097-1105.
48. Mirra, S. S., Heyman, A., McKeel, D., Sumi, S. M., Crain, B. J., Brownlee, L. M. and Berg, L. (1991). The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD): Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology*, 41(4), 479-479.
49. Armstrong, R. A. (2019). Risk factors for Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol*, 57(2), 87-105.
50. Glenner, G. G., and Wong, C. W. (1984). Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 122(3), 1131-1135.
51. Goedert, M., Wischik, C. M., Crowther, R. A., Walker, J. E. and Klug, A. (1988). Cloning and sequencing of the cDNA encoding a core protein of the paired helical filament of Alzheimer disease: identification as the microtubule-associated protein tau. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(11), 4051-4055.
52. Henderson, A. S. (1988). The risk factors for Alzheimer's disease: a review and a hypothesis. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 78(3), 257-275.
53. Bartus, R. T., Dean, R. 3., Beer, B. and Lippa, A. S. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 217(4558), 408-414.
54. Bowen, D. M., Palmer, A. M., Francis, P. T., Proctor A. W. and Lowe, S. L. (1988). Classical neurotransmitters in Alzheimer's disease. *Aging and the Brain*, 115-128.
55. Palmer, A. M., Francis, P. T., Benton, J. S., Sims, N. R., Mann, D. M. A., Neary, D. and Bowen, D. M. (1987). Presynaptic serotonergic dysfunction in patients with Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 48(1), 8-15.
56. Davies, P., Katzman, R. and Terry, R. D. (1980). Reduced somatostatin-like immunoreactivity in cerebral cortex from cases of Alzheimer disease and Alzheimer senile dementia. *Nature*, 288(5788), 279-280.
57. Fisher, A. (2008). Cholinergic treatments with emphasis on m1 muscarinic agonists as potential disease-modifying agents for Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics*, 5(3), 433-442.
58. Grossberg, G. T. (2002). The ABC of Alzheimer's disease: behavioral symptoms and their treatment. *International Psychogeriatrics*, 14(1), 27-49.
59. Förstl, H. and Kurz, A. (1999). Clinical features of Alzheimer's disease. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 249(6), 288-290.

60. Jost, B. C. and Grossberg, G. T. (1995). The natural history of Alzheimer's disease: a brain bank study. *Journal of the American Geriatrics Society*, 43(11), 1248-1255.
61. Chobor, K. L. and Brown, J. W. (1990). Semantic deterioration in Alzheimer's: the patterns to expect. *Geriatrics*, 45(10), 68-70.
62. Locascio, J. J., Growdon, J. H. and Corkin, S. (1995). Cognitive test performance in detecting, staging, and tracking Alzheimer's disease. *Archives of Neurology*, 52(11), 1087-1099.
63. Trobe, J. D., Waller, P. F., Cook, F. C. A., Teshima, S. M. and Bieliauskas, L. A. (1996). Crashes and violations among drivers with Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 53(5), 411-416.
64. Beatty, W. W., Salmon, D. P., Butters, N., Heindel, W. C. and Granholm, E. L. (1988). Retrograde amnesia in patients with Alzheimer's disease or Huntington's disease. *Neurobiology of Aging*, 9, 181-186.
65. Cummings, J. L., Houlihan, J. P. and Hill, M. A. (1986). The pattern of reading deterioration in dementia of the Alzheimer type: Observations and implications. *Brain and Language*, 29(2), 315-323.
66. Neils, J., Boller, F., Gerdeman, B. and Cole, M. (1989). Descriptive writing abilities in Alzheimer's disease. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 11, 692-698.
67. Fratiglioni, L., De Ronchi, D. and Agüero-Torres, H. (1999). Worldwide prevalence and incidence of dementia. *Drugs & Aging*, 15(5), 365-375.
68. Small, G. W., Rabins, P. V., Barry, P. P., Buckholtz, N. S., DeKosky, S. T., Ferris, S. H. and Tune, L. E. (1997). Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders: consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society. *Jama*, 278(16), 1363-1371.
69. Wang, X., Wang, W., Li, L., Perry, G., Lee, H. G. and Zhu, X. (2014). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1842(8), 1240-1247.
70. Brookmeyer, R., Johnson, E., Ziegler-Graham, K. and Arrighi, H. M. (2007). Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 3(3), 186-191.
71. Prince, M. J., Wimo, A., Guerchet, M. M., Ali, G. C., Wu, Y. T. and Prina, M. (2015). World Alzheimer Report 2015-The Global Impact of Dementia: An analysis of Prevalence, Incidence, Cost and Trends. *ADI Report*, London, 1-37.
72. Yazıcı, T. G. ve Şahin, H. A. (2010). Alzheimer Hastalığı. *Klinik Gelişim*, 23(1), 48-52.
73. Gurvit, H., Emre, M., Tinaz, S., Bilgic, B., Hanagasi, H., Sahin, H. and Harmanci, H. (2008). The prevalence of dementia in an urban Turkish population. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*, 23(1), 67-76.

74. Heyman, A., Wilkinson, W. E., Stafford, J. A., Helms, M. J., Sigmon, A. H. and Weinberg, T. (1984). Alzheimer's disease: a study of epidemiological aspects. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 15(4), 335-341.
75. Heyman, A., William, W. E., Hurwitz, B. J., Schmechel, D., Sigmon, A. H., Weinberg, T. and Swift, M. (1983). Alzheimer's disease: genetic aspects and associated clinical disorders. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 14(5), 507-515.
76. Helgason T. (1973). Epidemiology of mental disorder in Iceland. A geriatric follow-up (preliminary report). *Ex Med Inter Cong Series*. 274,350-357.
77. Larsson T., Sjogren T., and Jacobsen O. (1963) Senile dementia: a clinical sociomedical and genetic study. *Acta Psychiatr Scand*, 167,1-259.
78. Doruk, H., Naharci, M. I., Bozoglu, E., Isik, A. T. and Kilic, S. (2010). The relationship between body mass index and incidental mild cognitive impairment, Alzheimer's disease, and Vascular Dementia in elderly. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*, 14(10), 834-838.
79. Herrup, K. (2010). Reimagining Alzheimer's disease an age-based hypothesis. *Journal of Neuroscience*, 30(50), 16755-16762.
80. Jonaitis, E., La Rue, A., Mueller, K. D., Koscik, R. L., Hermann, B. and Sager, M. A. (2013). Cognitive activities and cognitive performance in middle-aged adults at risk for Alzheimer's disease. *Psychology and Aging*, 28(4), 1004.
81. Ryan, J., Carrière, I., Carcaillon, L., Dartigues, J. F., Auriacombe, S., Rouaud, O. and Ancelin, M. L. (2014). Estrogen receptor polymorphisms and incident dementia: the prospective 3C study. *Alzheimer's & Dementia*, 10(1), 27-35.
82. Ponomareva, N., Andreeva, T., Protasova, M., Shagam, L., Goltsov, A., Malina, D. and Rogaev, E. (2013). Age-dependent effect of Alzheimer's risk variant of CLU on EEG alpha rhythm in non-demented adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 5, 86.
83. Wang, L., Hara, K., Van Baaren, J. M., Price, J. C., Beecham, G. W., Gallins, P. J. and Gilbert, J. R. (2012). Vitamin D receptor and Alzheimer's disease: a genetic and functional study. *Neurobiology of Aging*, 33(8), 1844.
84. Leduc, V., Jasmin, B. S. and Poirier, J. (2010). APOE and cholesterol homeostasis in Alzheimer's disease. *Trends in Molecular Medicine*, 16(10), 469-477.
85. Kwok, J. B. (2010). Role of epigenetics in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Epigenomics*, 2(5), 671-682.
86. Lahiri, D. K. and Maloney, B. (2010). The "Learn"(Latent Early-life Associated Regulation) model integrates environmental risk factors and the developmental basis of Alzheimer's disease, and proposes remedial steps. *Experimental Gerontology*, 45(4), 291-296.
87. Levy, L. E., Wasco, W., Poorkaj, P., Romano, D. M., Oshima, J., Pettingell, W. H. and Wang, K. (1995). Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science*, 269(5226), 973-977.

88. Strittmatter, W. J., Weisgraber, K. H., Huang, D. Y., Dong, L. M., Salvesen, G. S., Pericak, V. M. and Roses, A. D. (1993). Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid beta peptide: isoform-specific effects and implications for late-onset Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 8098-8102.
89. Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D., George, H. P. S., Pericak, V. M. A., Joo, S. H. and Roses, A. D. (1993). Association of apolipoprotein E allele ϵ 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*, 43(8), 1467-1467.
90. Chartier, H. M. C., Crawford, F., Houlden, H., Warren, A., Hughes, D., Fidani, L. and Mullan, M. (1991). Early-onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the β -amyloid precursor protein gene. *Nature*, 353(6347), 844-846.
91. Goate, A., Chartier, H. M. C., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L. and Hardy, J. (1991). Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*, 349(6311), 704-706.
92. Grant, W. B. (2014). Trends in diet and Alzheimer's disease during the nutrition transition in Japan and developing countries. *Journal of Alzheimer's Disease*, 38(3), 611-620.
93. Kirk, S. N. J. and McGough, E. L. (2014). Physical exercise and cognitive performance in the elderly: current perspectives. *Clinical Interventions in Aging*, 9, 51.
94. Chang, R. C. C., Ho, Y. S., Wong, S., Gentleman, S. M. and Ng, H. K. (2014). Neuropathology of cigarette smoking. *Acta Neuropathologica*, 127(1), 53-69.
95. Rantanen, T. (2013). Midlife fitness predicts less burden of chronic disease in later life. *Clinical Journal of Sport Medicine*, 23(6), 499-500.
96. Solas, M., Aisa, B., Tordera, R. M., Mugueta, M. C. and Ramírez, M. J. (2013). Stress contributes to the development of central insulin resistance during aging: implications for Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1832(12), 2332-2339.
97. Von Arnim, C. A., Gola, U. and Biesalski, H. K. (2010). More than the sum of its parts? Nutrition in Alzheimer's disease. *Nutrition*, 26(7-8), 694-700.
98. Abalan, F. (1984). Alzheimer's disease and malnutrition: a new etiological hypothesis. *Medical Hypotheses*, 15(4), 385-393.
99. Soininen, H. and Heinonen, O. P. (1982). Clinical and etiological aspects of senile dementia. *European Neurology*, 21(6), 401-410.
100. Mazon, J. N., de Mello, A. H., Ferreira, G. K. and Rezin, G. T. (2017). The impact of obesity on neurodegenerative diseases. *Life Sciences*, 182, 22-28.
101. Liu, G., Yao, L., Liu, J., Jiang, Y., Ma, G., Chen, Z. and Li, K. (2014). Cardiovascular disease contributes to Alzheimer's disease: evidence from large-scale genome-wide association studies. *Neurobiology of Aging*, 35(4), 786-792.
102. Hjelm, C., Broström, A., Dahl, A., Johansson, B., Fredrikson, M. and Strömberg, A. (2014). Factors associated with increased risk for dementia in individuals age 80 years or older with congestive heart failure. *Journal of Cardiovascular Nursing*, 29(1), 82-90.

103. Tolppanen, A. M., Ngandu, T., Kåreholt, I., Laatikainen, T., Rusanen, M., Soininen, H. and Kivipelto, M. (2014). Midlife and late-life body mass index and late-life dementia: results from a prospective population-based cohort. *Journal of Alzheimer's Disease*, 38(1), 201-209.
104. Jordan, B. D. (2013). The clinical spectrum of sport-related traumatic brain injury. *Nature Reviews Neurology*, 9(4), 222-230.
105. McKee, A. C., Stein, T. D., Nowinski, C. J., Stern, R. A., Daneshvar, D. H., Alvarez, V. E. and Cantu, R. C. (2013). The spectrum of disease in chronic traumatic encephalopathy. *Brain*, 136(1), 43-64.
106. Kalaria, R. N. (2010). Vascular basis for brain degeneration: faltering controls and risk factors for dementia. *Nutrition Reviews*, 68, S74-S87.
107. Zhang, X. and Le, W. (2010). Pathological role of hypoxia in Alzheimer's disease. *Experimental Neurology*, 223(2), 299-303.
108. Gustafson, D. R. (2010). Adiposity hormones and dementia. *Journal of the Neurological Sciences*, 299(1-2), 30-34.
109. Geddes, J. F., Vowles, G. H., Nicoll, J. A. R. and Revesz, T. (1999). Neuronal cytoskeletal changes are an early consequence of repetitive head injury. *Acta Neuropathologica*, 98(2), 171-178.
110. Armstrong, R. A., Winsper, S. J. and Blair, J. A. (1995). Hypothesis: is Alzheimer's disease a metal-induced immune disorder?. *Neurodegeneration*, 4(1), 107-111.
111. Bouras, C., Hof, P. R. and Morrison, J. H. (1993). Neurofibrillary tangle densities in the hippocampal formation in a non-demented population define subgroups of patients with differential early pathologic changes. *Neuroscience Letters*, 153(2), 131-135.
112. McGeer, P. L., McGeer, E. G., Kawamata, T., Yamada, T. and Akiyama, H. (1991). Reactions of the immune system in chronic degenerative neurological diseases. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 18(S3), 376-379.
113. Rogers, J. and Lubert, N. J. (1988). Immune actions in the nervous system: A brief review with special emphasis on Alzheimer's disease. *Drug Development Research*, 15(2-3), 227-235.
114. Mortimer, J. A., French, L. R., Hutton, J. T. and Schuman, L. M. (1985). Head injury as a risk factor for Alzheimer's disease. *Neurology*, 35(2), 264-264.
115. Shalat, S. L., Seltzer, B., Pidcock, C. and Baker, E. L. (1986). A case-control study of medical and familial history and alzheimer's-disease. *In American Journal of Epidemiology*, 124(3), 540-540.
116. Armstrong, R. A., Winsper, S. J. and Blair, J. A. (1995). Hypothesis: is Alzheimer's disease a metal-induced immune disorder?. *Neurodegeneration*, 4(1), 107-111.
117. Piirainen, S., Youssef, A., Song, C., Kalueff, A. V., Landreth, G. E., Malm, T. and Tian, L. (2017). Psychosocial stress on neuroinflammation and cognitive dysfunctions in Alzheimer's disease: the emerging role for microglia?. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 77, 148-164.

118. Hoeijmakers, L., Ruigrok, S. R., Amelanchik, A., Ivan, D., van Dam, A. M., Lucassen, P. J. and Korosi, A. (2017). Early-life stress lastingly alters the neuroinflammatory response to amyloid pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Brain, Behavior, and Immunity*, 63, 160-175.
119. Barclay L. L., Kheifets, S, Zemcov, A, Blass, J. P., McDowell F. H. (1986) Risk factors in Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Parkinson's disease*, 141-146.
120. French, L. R., Schuman, L. M., Mortimer, J. A., Hutton, J. T., Boatman, R. A. and Christians, B. (1985). A case-control study of dementia of the Alzheimer type. *American Journal of Epidemiology*, 121(3), 414-421.
121. Hsu, H. W., Bondy, S. C. and Kitazawa, M. (2018). Environmental and dietary exposure to copper and its cellular mechanisms linking to Alzheimer's disease. *Toxicological Sciences*, 163(2), 338-345.
122. Killin, L. O., Starr, J. M., Shiue, I. J. and Russ, T. C. (2016). Environmental risk factors for dementia: a systematic review. *BMC Geriatrics*, 16(1), 1-28.
123. Grimm, M. O., Mett, J. and Hartmann, T. (2016). The impact of vitamin E and other fat-soluble vitamins on Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(11), 1785.
124. Peters, S., Reid, A., Fritschi, L., De Klerk, N. and Musk, A. B. (2013). Long-term effects of aluminium dust inhalation. *Occupational and Environmental Medicine*, 70(12), 864-868.
125. Roberts, B. R., Ryan, T. M., Bush, A. I., Masters, C. L. and Duce, J. A. (2012). The role of metallobiology and amyloid- β peptides in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 120, 149-166.
126. Arsene, D., Preoteasa, V., Petrescu, A., Balan, A. and Ardeleanu, C. (2011). Trace metals as factors involved in human neurodegeneration: real role or random association? An autopsy study. *Trace Elements & Electrolytes*, 28(4).
127. McCaddon, A., Kelly, C. L. and Tibblin, G. (1994). Familial Alzheimer's disease and vitamin B12 deficiency. *Age and Ageing*, 23(4), 334-337.
128. Knopman, D. S. (2001). An overview of common non-Alzheimer dementias. *Clinics in Geriatric Medicine*, 17(2), 281-301.
129. Ferri, C. P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M. and Sczufca, M. (2005). Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *The Lancet*, 366(9503), 2112-2117.
130. Vina, J., Lloret, A., Ortı, R. and Alonso, D. (2004). Molecular bases of the treatment of Alzheimer's disease with antioxidants: prevention of oxidative stress. *Molecular Aspects of Medicine*, 25(1-2), 117-123.
131. Imhof, A., Kövari, E., von Gunten, A., Gold, G., Rivara, C. B., Herrmann, F. R. and Giannakopoulos, P. (2007). Morphological substrates of cognitive decline in nonagenarians and centenarians: a new paradigm?. *Journal of the Neurological Sciences*, 257(1-2), 72-79.

132. Praticò, D. and Delanty, N. (2000). Oxidative injury in diseases of the central nervous system: focus on Alzheimer's disease. *The American Journal of Medicine*, 109(7), 577-585.
133. Lovestone, S. (1999). Early diagnosis and the clinical genetics of Alzheimer's disease. *Journal of Neurology*, 246(2), 69-72.
134. Selkoe, D. J. (1997). Alzheimer's Disease--Genotypes, Phenotype, and Treatments. *Science*, 275(5300), 630-631.
135. Roses, A. D. (1997). A model for susceptibility polymorphisms for complex diseases: apolipoprotein E and Alzheimer disease. *Neurogenetics*, 1(1), 3-11.
136. Vilatela, M. E. A., López, L. M. and Yescas, G. P. (2012). Genetics of Alzheimer's disease. *Archives of Medical Research*, 43(8), 622-631.
137. Walsh, D. M., and Selkoe, D. J. (2007). A β oligomers—a decade of discovery. *Journal of Neurochemistry*, 101(5), 1172-1184.
138. Jakob, R. R. and Jacobsen, H. (2009). Alzheimer's disease: from pathology to therapeutic approaches. *Angewandte Chemie International Edition*, 48(17), 3030-3059.
139. Nalivaeva, N. N. and Turner, A. J. (2013). The amyloid precursor protein: a biochemical enigma in brain development, function and disease. *FEBS Letters*, 587(13), 2046-2054.
140. Barthet, G., Dunys, J., Shao, Z., Xuan, Z., Ren, Y., Xu, J. and Robakis, N. K. (2013). Presenilin mediates neuroprotective functions of ephrinB and brain-derived neurotrophic factor and regulates ligand-induced internalization and metabolism of EphB2 and TrkB receptors. *Neurobiology of Aging*, 34(2), 499-510.
141. Özkay, Ü. D., Öztürk, Y. ve Can, Ö. (2011). Yaşlanan dünyanın hastalığı: Alzheimer hastalığı. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 18(1), 35-42.
142. Maccioni, R. B., Muñoz, J. P. and Barbeito, L. (2001). The molecular bases of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Archives of Medical Research*, 32(5), 367-381.
143. Corder, E. H., Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D. E., Gaskell, P. C., Small, G. and Pericak, V. M. A. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*, 261(5123), 921-923.
144. Kok, E., Haikonen, S., Luoto, T., Huhtala, H., Goebeler, S., Haapasalo, H. and Karhunen, P. J. (2009). Apolipoprotein E-dependent accumulation of Alzheimer disease-related lesions begins in middle age. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 65(6), 650-657.
145. Wang, X. P. and Ding, H. L. (2008). Alzheimer's disease: epidemiology, genetics, and beyond. *Neuroscience Bulletin*, 24(2), 105-109.
146. Marottoli, F. M., Katsumata, Y., Koster, K. P., Thomas, R., Fardo, D. W. and Tai, L. M. (2017). Peripheral inflammation, apolipoprotein E4, and amyloid- β interact to induce cognitive and cerebrovascular dysfunction. *ASN neuro*, 9(4), 1-19.

147. Selkoe, D. J. and Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO molecular medicine*, 8(6), 595-608.
148. Hardy, J. A. and Higgins, G. A. (1992). Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, 256(5054), 184-186.
149. Hardy, J. and Allsop, D. (1991). Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 12, 383-388.
150. Selkoe, D. J. (1991). The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron*, 6(4), 487-498.
151. Beyreuther, K., Dyrks, T., Hilbich, C., Mönning, U., König, G., Multhaup, G. and Masters, C. L. (1992). Amyloid precursor protein (APP) and beta A4 amyloid in Alzheimer's disease and Down syndrome. *Progress in Clinical and Biological Research*, 379, 159-182.
152. Glenner, G. G. and Wong, C. W. (1984). Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 120(3), 885-890.
153. Topçuoğlu, E. S. and Selekler, K. (1998). Alzheimer disease. *Turkish Journal Geriatr*, 1(2), 63-7.
154. Tönnies, E. and Trushina, E. (2017). Oxidative stress, synaptic dysfunction, and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57(4), 1105-1121.
155. Greenough, M. A., Camakaris, J. and Bush, A. I. (2013). Metal dyshomeostasis and oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neurochemistry international*, 62(5), 540-555.
156. Wang, P. and Wang, Z. Y. (2017). Metal ions influx is a double edged sword for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews*, 35, 265-290.
157. Liu, G., Huang, W., Moir, R. D., Vanderburg, C. R., Lai, B., Peng, Z. and Huang, X. (2006). Metal exposure and Alzheimer's pathogenesis. *Journal of Structural Biology*, 155(1), 45-51.
158. Beal, M. F. (2005). Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Annals of Neurology. Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 58(4), 495-505.
159. Barnham, K. J. and Bush, A. I. (2014). Biological metals and metal-targeting compounds in major neurodegenerative diseases. *Chemical Society Reviews*, 43(19), 6727-6749.
160. Boom, A., Pochet, R., Authelet, M., Pradier, L., Borghgraef, P., Van Leuven, F. and Brion, J. P. (2004). Astrocytic calcium/zinc binding protein S100A6 over expression in Alzheimer's disease and in PS1/APP transgenic mice models. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1742(1-3), 161-168.
161. Heizmann, C. W. and Cox, J. A. (1998). New perspectives on S100 proteins: a multi-functional Ca²⁺, Zn²⁺- and Cu²⁺-binding protein family. *Biometals*, 11(4), 383-397.
162. Tougu, V., Karafin, A. and Palumaa, P. (2008). Binding of zinc (II) and copper (II) to the full-length Alzheimer's amyloid- β peptide. *Journal of Neurochemistry*, 104(5), 1249-1259.

163. Bush, A. I., Pettingell, W. H., Multhaup, G. D. P. M., d Paradis, M., Vonsattel, J. P., Gusella, J. F. and Tanzi, R. E. (1994). Rapid induction of Alzheimer A beta amyloid formation by zinc. *Science*, 265(5177), 1464-1467.
164. Mantyh, P. W., Ghilardi, J. R., Rogers, S., DeMaster, E., Allen, C. J., Stimson, E. R. and Maggio, J. E. (1993). Aluminum, iron, and zinc ions promote aggregation of physiological concentrations of β -amyloid peptide. *Journal of Neurochemistry*, 61(3), 1171-1174.
165. Huang, X., Atwood, C. S., Hartshorn, M. A., Multhaup, G., Goldstein, L. E., Scarpa, R. C. and Bush, A. I. (1999). The A β peptide of Alzheimer's disease directly produces hydrogen peroxide through metal ion reduction. *Biochemistry*, 38(24), 7609-7616.
166. Mutter, J., Naumann, J., Schneider, R. and Walach, H. (2007). Mercury and Alzheimer's disease. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie*, 75(9), 528-538.
167. Good, P. F., Perl, D. P., Bierer, L. M. and Schmeidler, J. (1992). Selective accumulation of aluminum and iron in the neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: a laser microprobe (LAMMA) study. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 31(3), 286-292.
168. Miller, L. M., Wang, Q., Telivala, T. P., Smith, R. J., Lanzirotti, A. and Miklossy, J. (2006). Synchrotron-based infrared and X-ray imaging shows focalized accumulation of Cu and Zn co-localized with β -amyloid deposits in Alzheimer's disease. *Journal of Structural Biology*, 155(1), 30-37.
169. James, S. A., Volitakis, I., Adlard, P. A., Duce, J. A., Masters, C. L., Cherny, R. A. and Bush, A. I. (2012). Elevated labile Cu is associated with oxidative pathology in Alzheimer disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(2), 298-302.
170. Swerdlow, R. H. (2011). Brain aging, Alzheimer's disease, and mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1812(12), 1630-1639.
171. Blass, J. P. and Zemcov, A. (1984). Alzheimer's disease. A metabolic systems degeneration?. *Neurochemical pathology*, 2(2), 103-114.
172. Swerdlow, R. H., Burns, J. M. and Khan, S. M. (2014). The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis: progress and perspectives. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1842(8), 1219-1231.
173. Caldwell, C. C., Yao, J. and Brinton, R. D. (2015). Targeting the prodromal stage of Alzheimer's disease: bioenergetic and mitochondrial opportunities. *Neurotherapeutics*, 12(1), 66-80.
174. Trushina, E., Nemetlu, E., Zhang, S., Christensen, T., Camp, J., Mesa, J. and Poduslo, J. F. (2012). Defects in mitochondrial dynamics and metabolomic signatures of evolving energetic stress in mouse models of familial Alzheimer's disease. *PloS One*, 7(2), e32737.
175. Schmitt, K., Grimm, A., Kazmierczak, A., Strosznajder, J. B., Götz, J. and Eckert, A. (2012). Insights into mitochondrial dysfunction: aging, amyloid- β , and tau—a deleterious trio. *Antioxidants & Redox Signaling*, 16(12), 1456-1466.

176. Reddy, P. H. (2011). Abnormal tau, mitochondrial dysfunction, impaired axonal transport of mitochondria, and synaptic deprivation in Alzheimer's disease. *Brain research*, 1415, 136-148.
177. Sultana, R., Mecocci, P., Mangialasche, F., Cecchetti, R., Baglioni, M. and Butterfield, D. A. (2011). Increased protein and lipid oxidative damage in mitochondria isolated from lymphocytes from patients with Alzheimer's disease: insights into the role of oxidative stress in Alzheimer's disease and initial investigations into a potential biomarker for this dementing disorder. *Journal of Alzheimer's Disease*, 24(1), 77-84.
178. Cardoso, S. M., Pereira, C. F., Moreira, P. I., Arduino, D. M., Esteves, A. R. and Oliveira, C. R. (2010). Mitochondrial control of autophagic lysosomal pathway in Alzheimer's disease. *Experimental Neurology*, 223(2), 294-298.
179. Yao, J., Irwin, R. W., Zhao, L., Nilsen, J., Hamilton, R. T. and Brinton, R. D. (2009). Mitochondrial bioenergetic deficit precedes Alzheimer's pathology in female mouse model of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(34), 14670-14675.
180. Bubber, P., Haroutunian, V., Fisch, G., Blass, J. P. and Gibson, G. E. (2005). Mitochondrial abnormalities in Alzheimer brain: mechanistic implications. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 57(5), 695-703.
181. Blass, J. P. (2000). The mitochondrial spiral: an adequate cause of dementia in the Alzheimer's syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 924(1), 170-183.
182. Valla, J., Yaari, R., Wolf, A. B., Kusne, Y., Beach, T. G., Roher, A. E. and Reiman, E. M. (2010). Reduced posterior cingulate mitochondrial activity in expired young adult carriers of the APOE ϵ 4 allele, the major late-onset Alzheimer's susceptibility gene. *Journal of Alzheimer's Disease*, 22(1), 307-313.
183. Reddy, P. H., Tripathi, R., Troung, Q., Tirumala, K., Reddy, T. P., Anekonda, V. and Manczak, M. (2012). Abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration as early events in Alzheimer's disease: implications to mitochondria-targeted antioxidant therapeutics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822(5), 639-649.
184. Trushina, E., Dutta, T., Persson, X. M. T., Mielke, M. M. and Petersen, R. C. (2013). Identification of altered metabolic pathways in plasma and CSF in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease using metabolomics. *PLoS One*, 8(5), e63644.
185. Braak, H. and Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathologica*, 82(4), 239-259.
186. Vogt, L. K., Hyman, B. T., Van Hoesen, G. W. and Damasio, A. R. (1990). Pathological alterations in the amygdala in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 37(2), 377-385.
187. Lue, L. F., Kuo, Y. M., Roher, A. E., Brachova, L., Shen, Y., Sue, L. and Rogers, J. (1999). Soluble amyloid β peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *The American Journal of Pathology*, 155(3), 853-862.

188. Soler, L. M., Badiola, N., Zanzoni, A. and Aloy, P. (2012). Towards Alzheimer's root cause: ECSIT as an integrating hub between oxidative stress, inflammation and mitochondrial dysfunction: Hypothetical role of the adapter protein ECSIT in familial and sporadic Alzheimer's disease pathogenesis. *Bioessays*, 34(7), 532-541.
189. Octave, J. N. and Pierrot, N. (2008). Alzheimer's disease: cellular and molecular aspects. *Bulletin de L'Academie Nationale de Medecine*, 192(2), 323-31.
190. Miller, D. L., Papayannopoulos, I. A., Styles, J., Bobin, S. A., Lin, Y. Y., Biemann, K. and Iqbal, K. (1993). Peptide compositions of the cerebrovascular and senile plaque core amyloid deposits of Alzheimer's disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 301(1), 41-52.
191. Selkoe, D. J. (2008). Biochemistry and molecular biology of Amyloid β -Protein and the mechanism of Alzheimer's disease. *Handbook of Clinical Neurology*, 89, 245-260.
192. Selkoe, D. J. (2008). Soluble oligomers of the amyloid β -protein: Impair synaptic plasticity and behavior. *Synaptic Plasticity and the Mechanism of Alzheimer's Disease*, 89-102.
193. Mohandas, E., Rajmohan, V. and Raghunath, B. (2009). Neurobiology of Alzheimer's disease. *Indian Journal of Psychiatry*, 51(1), 55.
194. Reddy, P. H. and Beal, M. F. (2008). Amyloid beta, mitochondrial dysfunction and synaptic damage: implications for cognitive decline in aging and Alzheimer's disease. *Trends in Molecular Medicine*, 14(2), 45-53.
195. Calkins, M. J., Manczak, M., Mao, P., Shirendeb, U. and Reddy, P. H. (2011). Impaired mitochondrial biogenesis, defective axonal transport of mitochondria, abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Human Molecular Genetics*, 20(23), 4515-4529.
196. Manczak, M., Calkins, M. J. and Reddy, P. H. (2011). Impaired mitochondrial dynamics and abnormal interaction of amyloid beta with mitochondrial protein Drp1 in neurons from patients with Alzheimer's disease: implications for neuronal damage. *Human Molecular Genetics*, 20(13), 2495-2509.
197. Gibson, G. E., Karuppagounder, S. S. and Shi, Q. (2008). Oxidant induced changes in mitochondria and calcium dynamics in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1147, 221.
198. Manczak, M., Anekonda, T. S., Henson, E., Park, B. S., Quinn, J. and Reddy, P. H. (2006). Mitochondria are a direct site of A β accumulation in Alzheimer's disease neurons: implications for free radical generation and oxidative damage in disease progression. *Human Molecular Genetics*, 15(9), 1437-1449.
199. Baloyannis, S. J., Costa, V. and Michmizos, D. (2004). Mitochondrial alterations Alzheimer's disease. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*, 19(2), 89-93.
200. Haughey, N. J., Bandaru, V. V., Bae, M. and Mattson, M. P. (2010). Roles for dysfunctional sphingolipid metabolism in Alzheimer's disease neuropathogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1801(8), 878-886.

201. Mattson, M. P., Cutler, R. G. and Jo, D. G. (2005). Alzheimer peptides perturb lipid-regulating enzymes. *Nature Cell Biology*, 7(11), 1045-1047.
202. Grimm, M. O., Grimm, H. S., Pätzold, A. J., Zinser, E. G., Halonen, R., Duering, M. and Hartmann, T. (2005). Regulation of cholesterol and sphingomyelin metabolism by amyloid- β and presenilin. *Nature Cell Biology*, 7(11), 1118-1123.
203. Lee, J. T., Xu, J., Lee, J. M., Ku, G., Han, X., Yang, D. I. and Hsu, C. Y. (2004). Amyloid- β peptide induces oligodendrocyte death by activating the neutral sphingomyelinase-ceramide pathway. *The Journal of Cell Biology*, 164(1), 123-131.
204. Cutler, R. G., Kelly, J., Storie, K., Pedersen, W. A., Tammara, A., Hatanpaa, K. and Mattson, M. P. (2004). Involvement of oxidative stress-induced abnormalities in ceramide and cholesterol metabolism in brain aging and *Alzheimer's disease*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(7), 2070-2075.
205. Szabados, T., Dul, C., Majtényi, K., Hargitai, J., Péntzes, Z. and Urbanics, R. (2004). A chronic Alzheimer's model evoked by mitochondrial poison sodium azide for pharmacological investigations. *Behavioural brain research*, 154(1), 31-40.
206. Ichimura, H., Parthasarathi, K., Quadri, S., Issekutz, A. C. and Bhattacharya, J. (2003). Mechano-oxidative coupling by mitochondria induces proinflammatory responses in lung venular capillaries. *The Journal of Clinical Investigation*, 111(5), 691-699.
207. Blass, J. P., Baker, A. C., Ko, L. W. and Black, R. S. (1990). Induction of Alzheimer antigens by an uncoupler of oxidative phosphorylation. *Archives of Neurology*, 47(8), 864-869.
208. Andreadis, A., Brown, W. M. and Kosik, K. S. (1992). Structure and novel exons of the human tau gene. *Biochemistry*, 31(43), 10626-10633.
209. Ossenkoppele, R., Schonhaut, D. R., Schöll, M., Lockhart, S. N., Ayakta, N., Baker, S. L. and Rabinovici, G. D. (2016). Tau PET patterns mirror clinical and neuroanatomical variability in Alzheimer's disease. *Brain*, 139(5), 1551-1567.
210. Wang, L., Benzinger, T. L., Su, Y., Christensen, J., Friedrichsen, K., Aldea, P. and Ances, B. M. (2016). Evaluation of tau imaging in staging Alzheimer disease and revealing interactions between β -amyloid and tauopathy. *JAMA Neurology*, 73(9), 1070-1077.
211. McGeer, P. L., Rogers, J. and McGeer, E. G. (2006). Inflammation, anti-inflammatory agents and Alzheimer disease: the last 12 years. *Journal of Alzheimer's Disease*, 9(3), 271-276.
212. Baysal, A. İ. ve Yeşilbudak, Z. (2003). Alzheimer Hastalığı'nın klinik bulguları. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi*, 1(1), 1-5.
213. Sousa, F. L., Thiergart, T., Landan, G., Nelson-Sathi, S., Pereira, I. A., Allen, J. F. and Martin, W. F. (2013). Early bioenergetic evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1622), 2-30.
214. Ray, P. D., Huang, B. W. and Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*, 24(5), 981-990.

215. Holmström, K. M. and Finkel, T. (2014). Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(6), 411-421.
216. Zhu, X., Raina, A. K., Lee, H. G., Casadesus, G., Smith, M. A. and Perry, G. (2004). Oxidative stress signalling in Alzheimer's disease. *Brain Research*, 1000(1-2), 32-39.
217. Gorrini, C., Harris, I. S. and Mak, T. W. (2013). Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 12(12), 931-947.
218. Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P. and Mahajan, R. (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current Neuropharmacology*, 7(1), 65-74.
219. Coyle, J. T. and Puttfarcken, P. (1993). Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*, 262(5134), 689-695.
220. Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P. and Victor, V. M. (2016). Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-44.
221. Trushina, E. and McMurray, C. T. (2007). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *Neuroscience*, 145(4), 1233-1248.
222. Aslankoç, R., Demirci, D., Ümmahan, İ., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M. ve Yılmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3), 362-369.
223. Poljsak, B., Šuput, D. and Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-11.
224. Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R. and De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytochemicals: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3(1), 91-100.
225. Ferrer, M. D., Sureda, A., Mestre, A., Tur, J. A. and Pons, A. (2010). The double edge of reactive oxygen species as damaging and signaling molecules in HL60 cell culture. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 25(2-3), 241-252.
226. Chen, Z. and Zhong, C. (2014). Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neuroscience Bulletin*, 30(2), 271-281.
227. Zhao, Y. and Zhao, B. (2013). Oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 1-10.
228. Federico, A., Cardaioli, E., Da Pozzo, P., Formichi, P., Gallus, G. N. and Radi, E. (2012). Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. *Journal of the Neurological Sciences*, 322(1-2), 254-262.
229. Yan, M. H., Wang, X. and Zhu, X. (2013). Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 62, 90-101.
230. Ayton, S., Lei, P. and Bush, A. I. (2013). Metallostatics in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 62, 76-89.

231. Dias, S. D., Fulga, T. A., Duttaroy, A. and Feany, M. B. (2007). Oxidative stress mediates tau-induced neurodegeneration in *Drosophila*. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(1), 236-245.
232. Stamer, K., Vogel, R., Thies, E., Mandelkow, E. and Mandelkow, E. M. (2002). Tau blocks traffic of organelles, neurofilaments, and APP vesicles in neurons and enhances oxidative stress. *The Journal of Cell Biology*, 156(6), 1051-1063.
233. Candore, G., Bulati, M., Caruso, C., Castiglia, L., Colonna, R. G., Di Bona, D. and Vasto, S. (2010). Inflammation, cytokines, immune response, apolipoprotein E, cholesterol, and oxidative stress in Alzheimer disease: therapeutic implications. *Rejuvenation Research*, 13(2-3), 301-313.
234. Mecocci, P., MacGarvey, U. and Beal, M. F. (1994). Oxidative damage to mitochondrial DNA is increased in Alzheimer's disease. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 36(5), 747-751.
235. Nunomura, A., Perry, G., Pappolla, M. A., Wade, R., Hirai, K., Chiba, S. and Smith, M. A. (1999). RNA oxidation is a prominent feature of vulnerable neurons in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 19(6), 1959-1964.
236. Nunomura, A., Perry, G., Pappolla, M. A., Friedland, R. P., Hirai, K., Chiba, S. and Smith, M. A. (2000). Neuronal oxidative stress precedes amyloid- β deposition in Down syndrome. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 59(11), 1011-1017.
237. Nunomura, A., Perry, G., Aliev, G., Hirai, K., Takeda, A., Balraj, E. K. and Smith, M. A. (2001). Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 60(8), 759-767.
238. Butterfield, D. A. (2014). The 2013 SFRBM discovery award: selected discoveries from the butterfield laboratory of oxidative stress and its sequela in brain in cognitive disorders exemplified by Alzheimer disease and chemotherapy induced cognitive impairment. *Free Radical Biology and Medicine*, 74, 157-174.
239. Good, P. F., Werner, P., Hsu, A., Olanow, C. W. and Perl, D. P. (1996). Evidence of neuronal oxidative damage in Alzheimer's disease. *The American Journal of Pathology*, 149(1), 21.
240. Smith, C.D., Carney, J.M., Sarke-Redd, P.E., Oliver, C.N., Stadtman, E.R., Floyd, R.A., and Markesbery, W.R., (1991). Excess brain protein oxidation and enzyme dysfunction in normal aging and in Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88, 10540-10543.
241. Gutteridge, J. M. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, 41(12), 1819-1828.
242. Sayre, L. M., Zelasko, D. A., Harris, P. L., Perry, G., Salomon, R. G. and Smith, M. A. (1997). 4-Hydroxynonenal-derived advanced lipid peroxidation end products are increased in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 68(5), 2092-2097.
243. Butterfield, D. A., Drake, J., Pocernich, C. and Castegna, A. (2001). Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role for amyloid β -peptide. *Trends in Molecular Medicine*, 7(12), 548-554.

244. Young, I. S. and Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176-186.
245. Ayala, A., Muñoz, M. F. and Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-31.
246. Wang, X., Lei, X. G. and Wang, J. (2014). Malondialdehyde regulates glucose-stimulated insulin secretion in murine islets via TCF7L2-dependent Wnt signaling pathway. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 382(1), 8-16.
247. Garcia-Ruiz, I., de la Torre, P., Díaz, T., Esteban, E., Fernández, I., Muñoz, Y. T. and Solís, H. J. A. (2002). Sp1 and Sp3 transcription factors mediate malondialdehyde-induced collagen $\alpha 1$ (I) gene expression in cultured hepatic stellate cells. *Journal of Biological Chemistry*, 277(34), 30551-30558.
248. Sanyal, J., Bandyopadhyay, S. K., Banerjee, T. K., Mukherjee, S. C., Chakraborty, D. P., Ray, B. C. and Rao, V. R. (2009). Plasma levels of lipid peroxides in patients with Parkinson's disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 13(2), 129-132.
249. Blair, I. A. (2008). DNA adducts with lipid peroxidation products. *Journal of Biological Chemistry*, 283(23), 15545-15549.
250. Del Rio, D., Stewart, A. J. and Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316.
251. Tholey, G. and Ledig, M. (1990). Neuronal and astrocytic plasticity: metabolic aspects. In *Annales de Medecine Interne*, 141, 13-18.
252. Pratico, D. (2008). Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. *Trends in Pharmacological Sciences*, 29(12), 609-615.
253. Nunomura, A., Castellani, R. J., Zhu, X., Moreira, P. I., Perry, G. and Smith, M. A. (2006). Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 65(7), 631-641.
254. Pocernich, C. B. and Butterfield, D. A. (2012). Elevation of glutathione as a therapeutic strategy in Alzheimer disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822(5), 625-630.
255. McEwen, B. S. (2008). Understanding the potency of stressful early life experiences on brain and body function. *Metabolism*, 57, 11-15.
256. Sousa, N., Lukoyanov, N. V., Madeira, M. D., Almeida, O. F. X. and Paula, B. M. M. (2000). Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement. *Neuroscience*, 97(2), 253-266.
257. Popov, V. I. and Bocharova, L. S. (1992). Hibernation-induced structural changes in synaptic contacts between mossy fibres and hippocampal pyramidal neurons. *Neuroscience*, 48(1), 53-62.

258. Trifunovic, A., Wredenberg, A., Falkenberg, M., Spelbrink, J. N., Rovio, A. T., Bruder, C. E. and Larsson, N. G. (2004). Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature*, 429(6990), 417-423.
259. Chomyn, A. and Attardi, G. (2003). MtDNA mutations in aging and apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 304, 519-529.
260. Kraysberg, Y., Nekhaeva, E., Bodyak, N. B. and Khrapko, K. (2003). Mutation and intracellular clonal expansion of mitochondrial genomes: two synergistic components of the aging process?. *Mechanisms of Ageing and Development*, 124(1), 49-53.
261. Gross, N. J., Getz, G. S. and Rabinowitz, M. (1969). Apparent turnover of mitochondrial deoxyribonucleic acid and mitochondrial phospholipids in the tissues of the rat. *Journal of Biological Chemistry*, 244(6), 1552-1562.
262. Cecchi, C., Latorraca, S., Sorbi, S., Iantomasi, T., Favilli, F., Vincenzini, M. T. and Liguri, G. (1999). Glutathione level is altered in lymphoblasts from patients with familial Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 275(2), 152-154.
263. Kim, T. S., Pae, C. U., Yoon, S. J., Jang, W. Y., Lee, N. J., Kim, J. J. and Lee, C. U. (2006). Decreased plasma antioxidants in patients with Alzheimer's disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 21(4), 344-348.
264. Connor, J. R., Snyder, B. S., Arosio, P., Loeffler, D. A. and LeWitt, P. (1995). A quantitative analysis of isoferritins in select regions of aged, parkinsonian, and Alzheimer's diseased brains. *Journal of Neurochemistry*, 65(2), 717-724.
265. Kamat, P. K., Rai, S., Swarnkar, S., Shukla, R., Ali, S., Najmi, A. K. and Nath, C. (2013). Okadaic acid-induced Tau phosphorylation in rat brain: role of NMDA receptor. *Neuroscience*, 238, 97-113.
266. Rai, S., Kamat, P. K., Nath, C. and Shukla, R. (2013). A study on neuroinflammation and NMDA receptor function in STZ (ICV) induced memory impaired rats. *Journal of Neuroimmunology*, 254(1-2), 1-9.
267. De Felice, F. G., Velasco, P. T., Lambert, M. P., Viola, K., Fernandez, S. J., Ferreira, S. T. and Klein, W. L. (2007). A β oligomers induce neuronal oxidative stress through an N-methyl-D-aspartate receptor-dependent mechanism that is blocked by the Alzheimer drug memantine. *Journal of Biological Chemistry*, 282(15), 11590-11601.
268. Zhang, L., Trushin, S., Christensen, T. A., Bachmeier, B. V., Gateno, B., Schroeder, A. and Trushina, E. (2016). Altered brain energetics induces mitochondrial fission arrest in Alzheimer's Disease. *Scientific Reports*, 6(1), 1-12.
269. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*, (3rd ed.), London: Oxford University Press, 1-851.
270. Özben, T. (Ed.). (1998). *Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants: Pathological and Physiological Significance*. USA: Springer Science & Business Media, 296.
271. Andersen, J. K. (2004). Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence?. *Nature Medicine*, 10(7), S18-S25.
272. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. (5th edition). USA: Oxford University Press, 186.

273. Feng, Y. and Wang, X. (2012). Antioxidant therapies for Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 1-18.
274. Simunkova, M., Alwasel, S. H., Alhazza, I. M., Jomova, K., Kollar, V., Rusko, M. and Valko, M. (2019). Management of oxidative stress and other pathologies in Alzheimer's disease. *Archives of Toxicology*, 93(9), 2491-2513.
275. Ighodaro, O. M. and Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293.
276. Griendling, K. K., Sorescu, D., Lassègue, B. and Ushio-Fukai, M. (2000). Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20(10), 2175-2183.
277. Niki, E. (1993). Antioxidant defenses in eukariotic cells: an overview. *Free Radicals: from Basic Science to Medicine*, 1, 365-373.
278. Rajput, S. A., Wang, X. Q. and Yan, H. C. (2021). Morin hydrate: A comprehensive review on novel natural dietary bioactive compound with versatile biological and pharmacological potential. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 111511.
279. Liu, X. F., Zhang, L. M., Guan, H. N., Zhang, Z. W. and Xu, S. W. (2013). Effects of oxidative stress on apoptosis in manganese-induced testicular toxicity in cocks. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 168-176.
280. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
281. Foy, C. J., Passmore, A. P., Vahidassr, M. D., Young, I. S. and Lawson, J. T. (1999). Plasma chain-breaking antioxidants in Alzheimer's disease, vascular dementia and Parkinson's disease. *Qjm*, 92(1), 39-45.
282. Venkateshappa, C., Harish, G., Mahadevan, A., Bharath, M. S. and Shankar, S. K. (2012). Elevated oxidative stress and decreased antioxidant function in the human hippocampus and frontal cortex with increasing age: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochemical Research*, 37(8), 1601-1614.
283. Doré, S. (2002). Decreased activity of the antioxidant heme oxygenase enzyme: implications in ischemia and in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(12), 1276-1282.
284. Omar, R. A., Chyan, Y. J., Andorn, A. C., Poeggeler, B., Robakis, N. K. and Pappolla, M. A. (1999). Increased expression but reduced activity of antioxidant enzymes in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 1(3), 139-145.
285. Maes, M., Galecki, P., Chang, Y. S. and Berk, M. (2011). A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro) degenerative processes in that illness. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 35(3), 676-692.

286. Ramsey, C. P., Glass, C. A., Montgomery, M. B., Lindl, K. A., Ritson, G. P., Chia, L. A. and Jordan, S. K. L. (2007). Expression of Nrf2 in neurodegenerative diseases. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 66(1), 75-85.
287. Beckman, K. B. and Ames, B. N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews*, 8, 547-581,
288. Padurariu, M., Ciobica, A., Lefter, R., Lacramioara S. I., Stefanescu, C. and Chirita, R. (2013). The oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Psychiatria Danubina*, 25(4), 0-409.
289. Wojtunik, K. K. A., Oniszczyk, A., Oniszczyk, T. and Waksmundzka H., M. (2016). The influence of common free radicals and antioxidants on development of Alzheimer's Disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 78, 39-49.
290. Mecocci, P. and Polidori, M. C. (2012). Antioxidant clinical trials in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822(5), 631-638.
291. Esposito, L., Raber, J., Kekonius, L., Yan, F., Yu, G. Q., Bien-Ly, N. and Mucke, L. (2006). Reduction in mitochondrial superoxide dismutase modulates Alzheimer's disease-like pathology and accelerates the onset of behavioral changes in human amyloid precursor protein transgenic mice. *Journal of Neuroscience*, 26(19), 5167-5179.
292. Mottay, D. and Neergheen, B. V. S. (2015). Anticholinesterase and antioxidant effects of traditional herbal medicines used in the management of neurodegenerative diseases in mauritius. *Archives of Medical and Biomedical Research*, 2(4), 114-130.
293. Panche, A. N., Diwan, A. D. and Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, 47.
294. Walker, E. H., Pacold, M. E., Perisic, O., Stephens, L., Hawkins, P. T., Wymann, M. P. and Williams, R. L. (2000). Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. *Molecular Cell*, 6(4), 909-919.
295. Metodiewa, D., Kochman, A. and Karolczak, S. (1997). Evidence for antiradical and antioxidant properties of four biologically active N, N-Diethylaminoethyl ethers of flavaone oximes: A comparison with natural polyphenolic flavonoid rutin action. *IUBMB Life*, 41(5), 1067-1075.
296. Hayashi, T., Sawa, K., Kawasaki, M., Arisawa, M., Shimizu, M. and Morita, N. (1988). Inhibition of cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. *Journal of Natural Products*, 51(2), 345-348.
297. Castañeda, O. A., de Lourdes, P. H. M., Páez, H. M. E., Rodríguez, J. A. and Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A Review. *Food Chemistry*, 113(4), 859-871.
298. Lee, Y. K., Yuk, D. Y., Lee, J. W., Lee, S. Y., Ha, T. Y., Oh, K. W. and Hong, J. T. (2009). Epigallocatechin-3-gallate prevents lipopolysaccharide-induced elevation of beta-amyloid generation and memory deficiency. *Brain Research*, 1250, 164-174.
299. Burak, M. and Imen, Y. (1999). Flavonoids and their antioxidant properties. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 19, 296-304.

300. Panche, A., Chandra, S., Ad, D. I. W. A. N. and Harke, S. (2015). Alzheimer's and current therapeutics: A review. *Asian Journal of Pharmaceutical Clinical Research*, 8(3), 14-9.
301. Jäger, A. K. and Saaby, L. (2011). Flavonoids and the CNS. *Molecules*, 16(2), 1471-1485.
302. Hwang, S. L. and Yen, G. C. (2008). Neuroprotective effects of the citrus flavanones against H₂O₂-induced cytotoxicity in PC12 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 859-864.
303. Waisundara, V. Y., Hsu, A., Tan, B. K. H. and Huang, D. (2009). Baicalin reduces mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 25(7), 671-677.
304. Zhang, L., Jie, G., Zhang, J. and Zhao, B. (2009). Significant longevity-extending effects of EGCG on *Caenorhabditis elegans* under stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 46(3), 414-421.
305. Saul, N., Pietsch, K., Menzel, R., Stürzenbaum, S. R. and Steinberg, C. E. (2009). Catechin induced longevity in *C. elegans*: from key regulator genes to disposable soma. *Mechanisms of Ageing and Development*, 130(8), 477-486.
306. Meng, Q., Velalar, C. N. and Ruan, R. (2008). Effects of epigallocatechin-3-gallate on mitochondrial integrity and antioxidative enzyme activity in the aging process of human fibroblast. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(6), 1032-1041.
307. Kim, J., Wie, M. B., Ahn, M., Tanaka, A., Matsuda, H. and Shin, T. (2019). Benefits of hesperidin in central nervous system disorders: a review. *Anatomy & Cell Biology*, 52(4), 369-377.
308. Youdim, K. A., Dobbie, M. S., Kuhnle, G., Proteggente, A. R., Abbott, N. J. and Rice-Evans, C. (2003). Interaction between flavonoids and the blood-brain barrier: in vitro studies. *Journal of Neurochemistry*, 85(1), 180-192.
309. Testai, L. and Calderone, V. (2017). Nutraceutical value of citrus flavanones and their implications in cardiovascular disease. *Nutrients*, 9(5), 502.
310. Haghmorad, D., Mahmoudi, M. B., Salehipour, Z., Jalayer, Z., Rastin, M., Kokhaei, P. and Mahmoudi, M. (2017). Hesperidin ameliorates immunological outcome and reduces neuroinflammation in the mouse model of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, 302, 23-33.
311. Roohbakhsh, A., Parhiz, H., Soltani, F., Rezaee, R. and Iranshahi, M. (2014). Neuropharmacological properties and pharmacokinetics of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin-a mini-review. *Life Sciences*, 113(1-2), 1-6.
312. Parhiz, H., Roohbakhsh, A., Soltani, F., Rezaee, R. and Iranshahi, M. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phytotherapy Research*, 29(3), 323-331.
313. Roohbakhsh, A., Parhiz, H., Soltani, F., Rezaee, R. and Iranshahi, M. (2015). Molecular mechanisms behind the biological effects of hesperidin and hesperetin for the prevention of cancer and cardiovascular diseases. *Life Sciences*, 124, 64-74.

314. Umeno, A., Horie, M., Murotomi, K., Nakajima, Y. and Yoshida, Y. (2016). Antioxidative and antidiabetic effects of natural polyphenols and isoflavones. *Molecules*, 21(6), 708.
315. Jung, U. J. and Kim, S. R. (2018). Beneficial effects of flavonoids against Parkinson's disease. *Journal of Medicinal Food*, 21(5), 421-432.
316. Kosari-Nasab, M., Shokouhi, G., Ghorbanihaghjo, A., Abbasi, M. M. and Salari, A. A. (2018). Hesperidin attenuates depression-related symptoms in mice with mild traumatic brain injury. *Life Sciences*, 213, 198-205.
317. Sawikr, Y., Yarla, N. S., Peluso, I., Kamal, M. A., Aliev, G. and Bishayee, A. (2017). Neuroinflammation in Alzheimer's disease: the preventive and therapeutic potential of polyphenolic nutraceuticals. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 108, 33-57.
318. Antunes, M. S., Jesse, C. R., Ruff, J. R., de Oliveira, E. D., Gomes, N. S., Altvater, E. E. T. and Boeira, S. P. (2016). Hesperidin reverses cognitive and depressive disturbances induced by olfactory bulbectomy in mice by modulating hippocampal neurotrophins and cytokine levels and acetylcholinesterase activity. *European Journal of Pharmacology*, 789, 411-420.
319. Ciftci, O., Ozcan, C., Kamisli, O., Cetin, A., Basak, N. and Aytac, B. (2015). Hesperidin, a citrus flavonoid, has the ameliorative effects against experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in a C57BL/J6 mouse model. *Neurochemical Research*, 40(6), 1111-1120.
320. Antunes, M. S., Goes, A. T., Boeira, S. P., Prigol, M. and Jesse, C. R. (2014). Protective effect of hesperidin in a model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine in aged mice. *Nutrition*, 30(11-12), 1415-1422.
321. Menze, E. T., Tadros, M. G., Abdel, T A. M. and Khalifa, A. E. (2012). Potential neuroprotective effects of hesperidin on 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rats. *Neurotoxicology*, 33(5), 1265-1275.
322. El-Marasy, S. A., Abdallah, H. M., El-Shenawy, S. M., El-Khatib, A. S., El-Shabrawy, O. A. and Kenawy, S. A. (2014). Anti-depressant effect of hesperidin in diabetic rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 92(11), 945-952.
323. Kumar, P. and Kumar, A. (2010). Protective effect of hesperidin and naringin against 3-nitropropionic acid induced Huntington's like symptoms in rats: possible role of nitric oxide. *Behavioural Brain Research*, 206(1), 38-46.
324. Gaur, V. and Kumar, A. (2010). Hesperidin pre-treatment attenuates NO-mediated cerebral ischemic reperfusion injury and memory dysfunction. *Pharmacological Reports*, 62(4), 635-648.
325. Liu, P., Li, J., Liu, M., Zhang, M., Xue, Y., Zhang, Y. and Chu, L. (2021). Hesperetin modulates the Sirt1/Nrf2 signaling pathway in counteracting myocardial ischemia through suppression of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111552.
326. Yang, D., Tan, X., Lv, Z., Liu, B., Baiyun, R., Lu, J. and Zhang, Z. (2016). Regulation of Sirt1/Nrf2/TNF- α signaling pathway by luteolin is critical to attenuate acute mercuric chloride exposure induced hepatotoxicity. *Scientific Reports*, 6(1), 1-12.

327. Mercado, N., Thimmulappa, R., Thomas, C. M., Fenwick, P. S., Chana, K. K., Donnelly, L. E. and Barnes, P. J. (2011). Decreased histone deacetylase 2 impairs Nrf2 activation by oxidative stress. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 406(2), 292-298.
328. Chen, Z., Yu, J., Fu, M., Dong, R., Yang, Y., Luo, J. and Tu, L. (2020). Dipeptidyl peptidase-4 inhibition improves endothelial senescence by activating AMPK/SIRT1/Nrf2 signaling pathway. *Biochemical Pharmacology*, 177, 1-15.
329. Yang, B., Xu, B., Zhao, H., Wang, Y. B., Zhang, J., Li, C. W. and Cao, F. (2018). Dioscin protects against coronary heart disease by reducing oxidative stress and inflammation via Sirt1/Nrf2 and p38 MAPK pathways. *Molecular Medicine Reports*, 18(1), 973-980.
330. Verma, A., Sharma, D. K., Sarma, R., Chetia, H. and Saikia, J. (2013). Comparative insights using the molecular homology model of BDNF (Brain derived neurotrophic factor) of *Varanus komodoensis* and the known NGF (Nerve growth factor) structure of *Naja atra*. *Bioinformation*, 9(15), 755.
331. Miranda, M., Kent, B. A., Morici, J. F., Gallo, F., Saksida, L. M., Bussey, T. J. and Bekinschtein, P. (2018). NMDA receptors and BDNF are necessary for discrimination of overlapping spatial and non-spatial memories in perirhinal cortex and hippocampus. *Neurobiology of learning and memory*, 155, 337-343.
332. Dekeyster, E., Geeraerts, E., Buyens, T., Van den Haute, C., Baekelandt, V., De Groef, L. and Moons, L. (2015). Tackling glaucoma from within the brain: an unfortunate interplay of BDNF and TrkB. *PLoS One*, 10(11), 1-28.
333. St-Pierre, J., Drori, S., Uldry, M., Silvaggi, J. M., Rhee, J., Jäger, S. and Spiegelman, B. M. (2006). Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. *Cell*, 127(2), 397-408.
334. Thenmozhi, A. J., Raja, T. R. W., Janakiraman, U. and Manivasagam, T. (2015). Neuroprotective effect of hesperidin on aluminium chloride induced Alzheimer's disease in Wistar rats. *Neurochemical research*, 40(4), 767-776.
335. Justin Thenmozhi, A., William Raja, T. R., Manivasagam, T., Janakiraman, U. and Essa, M. M. (2017). Hesperidin ameliorates cognitive dysfunction, oxidative stress and apoptosis against aluminium chloride induced rat model of Alzheimer's disease. *Nutritional Neuroscience*, 20(6), 360-368.
336. Said, U. Z., Saada, H. N., Abd-Alla, M. S., Elsayed, M. E. and Amin, A. M. (2012). Hesperidin attenuates brain biochemical changes of irradiated rats. *International Journal of Radiation Biology*, 88(8), 613-618.
337. Raza, S. S., Khan, M. M., Ahmad, A., Ashafaq, M., Khuwaja, G., Tabassum, R. and Islam, F. (2011). Hesperidin ameliorates functional and histological outcome and reduces neuroinflammation in experimental stroke. *Brain Research*, 1420, 93-105.
338. Chen, B., Lu, Y., Chen, Y. and Cheng, J. (2015). The role of Nrf2 in oxidative stress-induced endothelial injuries. *Journal Endocrinol*, 225(3), 83-99.
339. Zhu, C., Dong, Y., Liu, H., Ren, H. and Cui, Z. (2017). Hesperetin protects against H₂O₂-triggered oxidative damage via upregulation of the Keap1-Nrf2/HO-1 signal pathway in ARPE-19 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 88, 124-133.

340. Li, M., Shao, H., Zhang, X. and Qin, B. (2016). Hesperidin alleviates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in mice by promoting the miRNA-132 pathway. *Inflammation*, 39(5), 1681-1689.
341. Jovanova, N. K., Shoenfeld, Y. and Herbert Spector, N. (2012). Aluminum excitotoxicity and neuroautoimmunity: the role of the brain expression of CD32+ (FcγRIIIa), ICAM-1+ and CD3 in aging. *Current Aging Science*, 5(3), 209-217.
342. Chang, C. Y., Lin, T. Y., Lu, C. W., Huang, S. K., Wang, Y. C., Chou, S. S. P. and Wang, S. J. (2015). Hesperidin inhibits glutamate release and exerts neuroprotection against excitotoxicity induced by kainic acid in the hippocampus of rats. *Neurotoxicology*, 50, 157-169.
343. Donato, F., de Gomes, M. G., Goes, A. T. R., Borges Filho, C., Del Fabbro, L., Antunes, M. S. and Jesse, C. R. (2014). Hesperidin exerts antidepressant-like effects in acute and chronic treatments in mice: possible role of l-arginine-NO-cGMP pathway and BDNF levels. *Brain Research Bulletin*, 104, 19-26.
344. Javed, H., Vaibhav, K., Ahmed, M. E., Khan, A., Tabassum, R., Islam, F. and Islam, F. (2015). Effect of hesperidin on neurobehavioral, neuroinflammation, oxidative stress and lipid alteration in intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive impairment in mice. *Journal of the Neurological Sciences*, 348(1-2), 51-59.
345. Nones, J. and Gomes, F. C. A. (2011). Hesperidin, a flavone glycoside, as mediator of neuronal survival. *Neurochemical Research*, 36(10), 1776-1784.
346. Carlos Filho, B., Del Fabbro, L., de Gomes, M. G., Goes, A. T., Souza, L. C., Boeira, S. P. and Jesse, C. R. (2013). Kappa-opioid receptors mediate the antidepressant-like activity of hesperidin in the mouse forced swimming test. *European Journal of Pharmacology*, 698(1-3), 286-291.
347. Arriagada, F., Correa, O., Günther, G., Nonell, S., Mura, F., Olea-Azar, C. and Morales, J. (2016). Morin flavonoid adsorbed on mesoporous silica, a novel antioxidant nanomaterial. *PloS One*, 11(11), 2-22.
348. Parisi, O. I., Puoci, F., Restuccia, D., Farina, G., Iemma, F. and Picci, N. (2014). Polyphenols and their formulations: different strategies to overcome the drawbacks associated with their poor stability and bioavailability. *In Polyphenols in Human Health and Disease*, 1, 29-45.
349. Solairaja, S., Andrabi, M. Q., Dunna, N. R. and Venkatabalasubramanian, S. (2021). Overview of morin and its complementary role as an adjuvant for anticancer agents. *Nutrition and Cancer*, 73(6), 927-942.
350. Gopal, J. V. (2013). Morin hydrate: botanical origin, pharmacological activity and its applications: a mini-review. *Pharmacognosy Journal*, 5(3), 123-126.
351. Yu, S., Liu, X., Yu, D., Changyong, E. and Yang, J. (2020). Morin protects LPS-induced mastitis via inhibiting NLRP3 inflammasome and NF-κB signaling pathways. *Inflammation*, 43(4), 1293-1303.
352. Li, X., Yao, Q., Huang, J., Jin, Q., Xu, B., Chen, F. and Tu, C. (2019). Morin hydrate inhibits TREM-1/TLR4-mediated inflammatory response in macrophages and protects against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1089.

353. Bachewal, P., Gundu, C., Yerra, V. G., Kalvala, A. K., Areti, A. and Kumar, A. (2018). Morin exerts neuroprotection via attenuation of ROS induced oxidative damage and neuroinflammation in experimental diabetic neuropathy. *Biofactors*, 44(2), 109-122.
354. Lee, M. H., Cha, H. J., Choi, E. O., Han, M. H., Kim, S. O., Kim, G. Y. and Choi, Y. H. (2017). Antioxidant and cytoprotective effects of morin against hydrogen peroxide-induced oxidative stress are associated with the induction of Nrf-2-mediated HO-1 expression in V79-4 Chinese hamster lung fibroblasts. *International Journal of Molecular Medicine*, 39(3), 672-680.
355. Komirishetty, P., Areti, A., Sistla, R. and Kumar, A. (2016). Morin mitigates chronic constriction injury (CCI)-induced peripheral neuropathy by inhibiting oxidative stress induced PARP over-activation and neuroinflammation. *Neurochemical Research*, 41(8), 2029-2042.
356. Rizvi, F., Mathur, A., Krishna, S., Siddiqi, M. I. and Kakkar, P. (2015). Suppression in PHLPP2 induction by morin promotes Nrf2-regulated cellular defenses against oxidative injury to primary rat hepatocytes. *Redox Biology*, 6, 587-598.
357. Hyun, H. B., Lee, W. S., Go, S. I., Nagappan, A., Park, C., Han, M. H. and Choi, Y. H. (2015). The flavonoid morin from Moraceae induces apoptosis by modulation of Bcl-2 family members and Fas receptor in HCT 116 cells. *International Journal of Oncology*, 46(6), 2670-2678.
358. Sinha, K., Sadhukhan, P., Saha, S., Pal, P. B. and Sil, P. C. (2015). Morin protects gastric mucosa from nonsteroidal anti-inflammatory drug, indomethacin induced inflammatory damage and apoptosis by modulating NF- κ B pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1850(4), 769-783.
359. Jonnalagadda, V. G., Pittala, S., Lahkar, M. and Pradeep, V. (2013). Ameliorative effect of morin hydrate, a flavonoid against gentamicin induced oxidative stress and nephrotoxicity in sprague-dawley rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 852-6.
360. Paoli, P., Cirri, P., Caselli, A., Ranaldi, F., Bruschi, G., Santi, A. and Camici, G. (2013). The insulin-mimetic effect of Morin: A promising molecule in diabetes treatment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(4), 3102-3111.
361. Nandhakumar, R., Salini, K. and Niranjali Devaraj, S. (2012). Morin augments anticarcinogenic and antiproliferative efficacy against 7, 12-dimethylbenz (a)-anthracene induced experimental mammary carcinogenesis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 364(1), 79-92.
362. Sivaramakrishnan, V. and Devaraj, S. N. (2009). Morin regulates the expression of NF- κ B-p65, COX-2 and matrix metalloproteinases in diethylnitrosamine induced rat hepatocellular carcinoma. *Chemico-Biological Interactions*, 180(3), 353-359.
363. Sivaramakrishnan, V., Shilpa, P. N. M., Kumar, V. R. P. and Devaraj, S. N. (2008). Attenuation of N-nitrosodiethylamine-induced hepatocellular carcinogenesis by a novel flavonol Morin. *Chemico-Biological Interactions*, 171(1), 79-88.

364. Fang, S. H., Hou, Y. C., Chang, W. C., Hsiu, S. L., Chao, P. D. L. and Chiang, B. L. (2003). Morin sulfates/glucuronides exert anti-inflammatory activity on activated macrophages and decreased the incidence of septic shock. *Life Sciences*, 74(6), 743-756.
365. Agah, S., Akbari, A., Sadeghi, E., Morvaridzadeh, M., Basharat, Z., Palmowski, A. and Heshmati, J. (2021). Resveratrol supplementation and acute pancreatitis: A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 137, 111268.
366. Kim, H. S., Quon, M. J. and Kim, J. A. (2014). New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties; lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate. *Redox Biology*, 2, 187-195.
367. Chen, Y., Li, Y., Xu, H., Li, G., Ma, Y. and Pang, Y. J. (2017). Morin mitigates oxidative stress, apoptosis and inflammation in cerebral ischemic rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(2), 348-355.
368. Al-Numair, K. S., Chandramohan, G., Alsaif, M. A., Veeramani, C. and Newehy, A. E. (2014). Morin, a flavonoid, on lipid peroxidation and antioxidant status in experimental myocardial ischemic rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(3), 14-20.
369. Kitagawa, S., Sakamoto, H. and Tano, H. (2004). Inhibitory effects of flavonoids on free radical-induced hemolysis and their oxidative effects on hemoglobin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 52(8), 999-1001.
370. Hodek, P., Trefil, P. and Stiborová, M. (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*, 139(1), 1-21.
371. Wu, T. W., Zeng, L. H., Wu, J. and Fung, K. P. (1993). Morin hydrate is a plant-derived and antioxidant-based hepatoprotector. *Life Sciences*, 53(13), 213-218.
372. Brown, J., O'Prey, J. and Harrison, P. R. (2003). Enhanced sensitivity of human oral tumours to the flavonol, morin, during cancer progression: involvement of the Akt and stress kinase pathways. *Carcinogenesis*, 24(2), 171-177.
373. Kawabata, K., Tanaka, T., Honjo, S., Kakumoto, M., Hara, A., Makita, H. and Mori, H. (1999). Chemopreventive effect of dietary flavonoid morin on chemically induced rat tongue carcinogenesis. *International Journal of Cancer*, 83(3), 381-386.
374. Al-Numair, K. S., Chandramohan, G. and Alsaif, M. A. (2012). Pretreatment with morin, a flavonoid, ameliorates adenosine triphosphatases and glycoproteins in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Journal of Natural Medicines*, 66(1), 95-101.
375. Al Numair, K. S., Chandramohan, G., Alsaif, M. A. and Baskar, A. A. (2012). Protective effect of morin on cardiac mitochondrial function during isoproterenol-induced myocardial infarction in male Wistar rats. *Redox Report*, 17(1), 14-21.
376. Park, C., Lee, W. S., Go, S. I., Nagappan, A., Han, M. H., Hong, S. H. and Choi, Y. H. (2014). Morin, a flavonoid from moraceae, induces apoptosis by induction of BAD protein in human leukemic cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(1), 645-659.

377. Lee, J., Jin, H., Lee, W. S., Nagappan, A., Choi, Y. H., Kim, G. S. and Kim, H. J. (2016). Morin, a flavonoid from moraceae, inhibits cancer cell adhesion to endothelial cells and EMT by downregulating VCAM1 and ncadherin. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(7), 3071-3075.
378. Lee, C. W., Shih, Y. H. and Kuo, Y. M. (2014). Cerebrovascular pathology and amyloid plaque formation in Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*, 11(1), 4-10.
379. Shetty, P. K., Venuvanka, V., Jagani, H. V., Chethan, G. H., Ligade, V. S., Musmade, P. B. and Mutalik, S. (2015). Development and evaluation of sunscreen creams containing morin-encapsulated nanoparticles for enhanced UV radiation protection and antioxidant activity. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 6477.
380. Ma, Y., Ge, A., Zhu, W., Liu, Y. N., Ji, N. F., Zha, W. J. and Huang, M. (2016). Morin attenuates ovalbumin-induced airway inflammation by modulating oxidative stress-responsive MAPK signaling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-13.
381. Kamata, H., Honda, S. I., Maeda, S., Chang, L., Hirata, H. and Karin, M. (2005). Reactive oxygen species promote TNF α -induced death and sustained JNK activation by inhibiting MAP kinase phosphatases. *Cell*, 120(5), 649-661.
382. Sakon, S., Xue, X., Takekawa, M., Sasazuki, T., Okazaki, T., Kojima, Y. and Nakano, H. (2003). NF- κ B inhibits TNF-induced accumulation of ROS that mediate prolonged MAPK activation and necrotic cell death. *The EMBO journal*, 22(15), 3898-3909.
383. Raso, G. M., Meli, R., Di Carlo, G., Pacilio, M. and Di Carlo, R. (2001). Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage J774A. *Life Sciences*, 68(8), 921-931.
384. Kempuraj, D., Madhappan, B., Christodoulou, S., Boucher, W., Cao, J., Papadopoulou, N. and Theoharides, T. C. (2005). Flavonols inhibit proinflammatory mediator release, intracellular calcium ion levels and protein kinase C theta phosphorylation in human mast cells. *British Journal of Pharmacology*, 145(7), 934-944.
385. Vanitha, P., Senthilkumar, S., Dornadula, S., Anandhakumar, S., Rajaguru, P. and Ramkumar, K. M. (2017). Morin activates the Nrf2-ARE pathway and reduces oxidative stress-induced DNA damage in pancreatic beta cells. *European Journal of Pharmacology*, 801, 9-18.
386. Paxinos, G. and Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. (5th edition). San Diego: Elsevier Academic Press, 1-216.
387. Yıldırım, Ç. (2019). *Deneysel Alzheimer Modelinde Bor ve Taurin Uygulamasının Protein Karbonil ve İleri Oksidasyon Protein Ürünleri Düzeylerine Etkisinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
388. Ramezani, M., Darbandi, N., Khodagholi, F. and Hashemi, A. (2016). Myricetin protects hippocampal CA3 pyramidal neurons and improves learning and memory impairments in rats with Alzheimer's disease. *Neural Regeneration Research*, 11(12), 1976.

389. Yalabık, M. Ş., Şehirli, Ö., Utkan, T. ve Arıcıoğlu, F. (2013). Streptozotosin ile oluşturulan deneysel alzheimer modelinde agmatinin etkilerinin araştırılması. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 3(3), 145-153.
390. Yılmaz, Ü. (2015). *Merkezi olarak FGF21 uygulamasının hipotalamus-hipofiz-tiroid aksı ve UCP1 gen ifadesi üzerine etkilerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
391. Ramadan, W. S. and Alkarim, S. (2021). Ellagic acid modulates the amyloid precursor protein gene via superoxide dismutase regulation in the entorhinal cortex in an experimental alzheimer's model. *Cells*, 10(12), 3511.
392. Grayson, B., Idris, N. F. and Neill, J. C. (2007). Atypical antipsychotics attenuate a sub-chronic PCP-induced cognitive deficit in the novel object recognition task in the rat. *Behavioural Brain Research*, 184(1), 31-38.
393. Buege, J. A. and Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *In Methods in enzymology* 52, 302-310.
394. Aykaç, G., Uysal, M., Yalçın, A. S., Koçak-Toker, N., Sivas, A. and Öz, H. (1985). The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*, 36(1), 71-76.
395. Ji, S., Li, S., Zhao, X., Kang, N., Cao, K., Zhu, Y. and Liu, Y. (2019). Protective role of phenylethanoid glycosides, Torenoside B and Savatiside A, in Alzheimer's disease. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 17(5), 3755-3767.
396. Hur, J., Pak, S. C., Koo, B. S. and Jeon, S. (2013). Borneol alleviates oxidative stress via upregulation of Nrf2 and Bcl-2 in SH-SY5Y cells. *Pharmaceutical Biology*, 51(1), 30-35.
397. Zhang, X., Wang, X., Hu, X., Chu, X., Li, X. and Han, F. (2019). Neuroprotective effects of a *Rhodiola crenulata* extract on amyloid- β peptides (A β 1-42)-induced cognitive deficits in rat models of Alzheimer's disease. *Phytomedicine*, 57, 331-338.
398. Özkan, G., Ö. (2022). Alzheimer hastalığı üzerine flavonoidlerin etkisi. *Sağlık Bilimleri ve Yaşam Dergisi*, 6(1), 26-38.
399. Tamilselvam, K., Braidly, N., Manivasagam, T., Essa, M. M., Prasad, N. R., Karthikeyan, S. and Guillemin, G. J. (2013). Neuroprotective effects of hesperidin, a plant flavanone, on rotenone-induced oxidative stress and apoptosis in a cellular model for Parkinson's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-11
400. Ansar, S., Abudawood, M., Alaraj, A. S. and Hamed, S. S. (2018). Hesperidin alleviates zinc oxide nanoparticle induced hepatotoxicity and oxidative stress. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 19(1), 1-6.
401. Liu, P., Li, J., Liu, M., Zhang, M., Xue, Y., Zhang, Y. and Chu, L. (2021). Hesperetin modulates the Sirt1/Nrf2 signaling pathway in counteracting myocardial ischemia through suppression of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111552.

402. Heeba, G. H., Rabie, E. M., Abuzeid, M. M., Bekhit, A. A. and Khalifa, M. M. (2021). Morin alleviates fructose-induced metabolic syndrome in rats via ameliorating oxidative stress, inflammatory and fibrotic markers. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology: Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*, 25(3), 177-187.
403. Alberdi, E., Sánchez-Gómez, M. V., Ruiz, A., Cavaliere, F., Ortiz-Sanz, C., Quintela-López, T. and Matute, C. (2018). Mangiferin and morin attenuate oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and neurocytotoxicity, induced by amyloid beta oligomers. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1-12.
404. Lawal, A. O., Folorunso, I. M. and Iwaloye, O. (2022). Morin hydrate protects type-2-diabetic wistar rats exposed to diesel exhaust particles from inflammation and oxidative stress. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 21(1), 805-816.
405. Cui, J., Zong, W., Zhao, N. and Yuan, R. (2022). Burdock (*Arctium lappa* L.) leaf flavonoids rich in morin and quercetin 3-O-rhamnoside ameliorate lipopolysaccharide-induced inflammation and oxidative stress in RAW264. 7 cells. *Food Science & Nutrition*, 10(8), 2718-2726.
406. Vanitha, P., Senthilkumar, S., Dornadula, S., Anandhakumar, S., Rajaguru, P. and Ramkumar, K. M. (2017). Morin activates the Nrf2-ARE pathway and reduces oxidative stress-induced DNA damage in pancreatic beta cells. *European Journal of Pharmacology*, 801, 9-18.
407. Schindler, A. G., Li, S. and Chavkin, C. (2010). Behavioral stress may increase the rewarding valence of cocaine-associated cues through a dynorphin/ κ -opioid receptor-mediated mechanism without affecting associative learning or memory retrieval mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 35(9), 1932-1942.
408. Herring, N. R., Schaefer, T. L., Gudelsky, G. A., Vorhees, C. V. and Williams, M. T. (2008). Effect of (+)-methamphetamine on path integration learning, novel object recognition, and neurotoxicity in rats. *Psychopharmacology*, 199(4), 637-650.
409. Hammond, R. S., Tull, L. E. and Stackman, R. W. (2004). On the delay-dependent involvement of the hippocampus in object recognition memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(1), 26-34.
410. Botton, P. H., Costa, M. S., Ardais, A. P., Mioranza, S., Souza, D. O., da Rocha, J. B. T. and Porciúncula, L. O. (2010). Caffeine prevents disruption of memory consolidation in the inhibitory avoidance and novel object recognition tasks by scopolamine in adult mice. *Behavioural Brain Research*, 214(2), 254-259.
411. Walf, A. A., Koonce, C., Manley, K. and Frye, C. A. (2009). Proestrous compared to diestrous wildtype, but not estrogen receptor beta knockout, mice have better performance in the spontaneous alternation and object recognition tasks and reduced anxiety-like behavior in the elevated plus and mirror maze. *Behavioural Brain Research*, 196(2), 254-260.

412. Albasser, M. M., Davies, M., Futter, J. E. and Aggleton, J. P. (2009). Magnitude of the object recognition deficit associated with perirhinal cortex damage in rats: Effects of varying the lesion extent and the duration of the sample period. *Behavioral Neuroscience*, 123(1), 115.
413. Schröder, N., O'Dell, S. J. and Marshall, J. F. (2003). Neurotoxic methamphetamine regimen severely impairs recognition memory in rats. *Synapse*, 49(2), 89-96.
414. Goulart, B. K., De Lima, M. N. M., De Farias, C. B., Reolon, G. K., Almeida, V. R., Quevedo, J., and Roesler, R. (2010). Ketamine impairs recognition memory consolidation and prevents learning-induced increase in hippocampal brain-derived neurotrophic factor levels. *Neuroscience*, 167(4), 969-973.
415. Nanfaro, F., Cabrera, R., Bazzocchini, V., Laconi, M. and Yunes, R. (2010). Pregnenolone sulfate infused in lateral septum of male rats impairs novel object recognition memory. *Pharmacological Reports*, 62(2), 265-272.





Gazili olmak ayrıcalıktır