



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**STREPTOZOTOSİN ile OLUŞTURULAN NONTRANSJENİK DENEYSEL
ALZHEİMER MODELİNDE KARAYEMİŞ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Fulya ÖZSOY

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Hafize UZUN**

Biyokimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Haziran, 2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Fulya Özsoy tarafından, Prof. Dr. Hafize Uzun danışmanlığında hazırlanan "STREPTOZOTOSİN ile OLUŞTURULAN NONTRANGENİK DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE KARAYEMİŞ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 20/06/2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

	Tez Jürisi	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Hafize UZUN		☒
	İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa		Kabul
	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı		☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Hüseyin Avni SÖNMEZ		☒
	İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa		Kabul
	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı		☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Pınar ATUKEREN		☒
	İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa		Kabul
	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı		☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Ahmet BELCE		☒
	Biruni Üniversitesi		Kabul
	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı		☐ Ret
ÜYE	Doç. Dr. Şölen HİMMETOĞLU		☒
	Biruni Üniversitesi		Kabul
	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı		☐ Ret

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

Fulya ÖZSOY

(İmza)

Tezimi sevgilerini ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım Anneme ve Babama ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

STREPTOZOTOSİN ile OLUŞTURULAN NONTRANSGENİK DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE KARAYEMİŞ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 33036

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum tez projemin yazım aşamasında yanımda olan, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak umudumun kırıldığı anda bana destek olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hafize Uzun'a,

Doktora eğitimim ve tez yapım aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Sayın hocam Prof. Dr. Ezel Uslu'ya

Doktora eğitimim boyunca emeği geçen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hüseyin Avni Sönmez'e ve Anabilim Dalı'ndaki saygıdeğer hocalarıma,

Doktora tezimin hayvan deneyleri aşamalarında bana destek olan Bezmialem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Birsan Elibol, Deney Hayvanları Laboratuvarı ekibinden Vet. Hek. Mert Çelikten, Arş. Asistanı Önder Hüseyinbaş, Vet. Tek. Nurhayat Dönek'e

Doktora tezimdeki laboratuvar çalışmalarında benden yardımlarını ve sabrını esirgemeyen arkadaşım Doç. Dr. Karolin Yanar'a,

Doktora tezimin istatistik bölümündeki yardımları için İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üyesi Uğurcan Saygılı'ya

Projede yararlandığım laboratuvar ve cihazlardan dolayı Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'na ve bu konuda bana destek olan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına,

Doktora tezimin yazım aşamasında büyük bir sabır göstererek bana destek olan Öğr. Gör. Nensi Cavak ve Öğr. Gör. Öner Aytaş'a

Doktora eğitim hayatım boyunca manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi SHMYO'daki ve Işık Üniversitesi MYO'daki çalışma arkadaşlarıma ve sevgili arkadaşlarım Nazlı Demirtaş ve Derya Sezar'a,

Tüm hayatım boyunca sonsuz desteklerini ve sevgilerini benden esirgemeyen ve bana her zaman inan ve destek olan canım anneme ve babama en içten teşekkürlerimi sunarım.

Haziran 2022

Fulya ÖZSOY

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xii
ÖZET	xvi
ABSTRACT	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	5
2.1. DEMANS HASTALIĞI	5
2.2. ALZHEİMER HASTALIĞI.....	6
2.3. EPİDEMİYOLOJİ	7
2.4. PATOGENEZİ.....	8
2.4.1. Amiloid Kaskat Hipotezi.....	10
2.4.2. Hiperfosforillenmiş Tau Proteinlerinin Hipotezi	13
2.4.3. Oksidatif Stres Hipotezi	15
2.4.4. Metal İyon Hipotezi	15
2.4.5. Kolinergik Hipotez.....	16
2.5. DİABETES MELLİTUS	18
2.5.1. Diabetes Mellitus Tanımı ve Epidemiyolojisi.....	18
2.5.2. Diabetes Mellitusun Sınıflandırılması.....	18
2.5.3. Tip 1 Diyabet.....	20
2.5.4. Tip 2 Diyabet.....	20
2.5.5. Tip 3 Diyabet.....	22
2.6. GLİKOJEN SENTAZ KİNAZ 3-β (GSK3-β)	24
2.7. GLUKOZ TAŞIYICISI- 4 (GLUT4).....	26

2.8. GLUKAGON BEZNERİ (LIKE) PEPTİT-1 (GLP-1)	28
2.9. AMİLOİD BETA (A β)	30
2.10. İNTERLÖKİN-1 (IL-1)	33
2.11. KARAYEMİŞ	35
3. YÖNTEM	37
3.1. KULLANILAN ALETLER VE KİMYASAL MADDELER	37
3.1.1. Aletler ve Cam Malzemeler	37
3.1.2. Kimyasal Maddeler	37
3.2. DENEY HAYVANLARINA UYGULANAN İŞLEMLER	38
3.2.1. Deney Hayvanlarından Kan ve Doku Örneklerinin Alınması	40
3.2.2. Doku Homojenizasyonu	41
3.2.3. Morris Water Maze (MWM) Testi	41
3.2.4. Streptozotosin (STZ) ile intraserebroventriküler (i.c.v) enjeksiyon	42
3.2.5. Streptozotosin ile intraperitoneal (i.p) enjeksiyon	43
3.3. SERUM ve BEYİN ÖRNEKLERİNDE ÇALIŞILAN PARAMETRELER	43
3.3.1. Serum biyokimyasal testlerinin analizi	43
3.3.2. Serum ve beyin örneklerinde amiloid beta (A β) konsantrasyonunun ölçümü	43
3.3.3. Serum ve beyin örneklerinde glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) konsantrasyonunun ölçümü	44
3.3.4. Serum ve beyin örneklerinde glukoz taşıyıcısı 4 (GLUT-4) konsantrasyonunun ölçümü	45
3.3.5. Serum ve beyin örneklerinde interlökin-1 (IL-1) konsantrasyonunun ölçümü	46
3.3.6. Serum ve beyin örneklerinde glikojen sentaz kinaz 3 betanın (GSK3- β) konsantrasyonunun ölçümü	47
3.3.7. Serum ve beyin örneklerinde glutatyon (GSH) konsantrasyonunun ölçümü	48
3.3.8. Serum ve beyin örneklerinde asetilkolin esterase (AChE) konsantrasyonunun ölçümü	49
3.3.9. Beyin örneklerinde total protein tayini	50
3.4. İSTATİKSEL ANALİZ	52
4. BULGULAR	53
4.1. SERUM GLUKOZ DEĞERLERİ	53
4.2. VÜCUT AĞIRLIK DEĞERLERİ	55
4.3. BEYİN PARAMETRELERİ	57
4.4. SERUM PARAMETRELERİ	61
4.5. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	64

4.6. HAYVANLARIN YÜZME SÜRELERİ.....	67
5. TARTIŞMA.....	69
6. SONUÇ VE ÖNERİ	81
KAYNAKLAR.....	82
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	97
ETİK KURUL İZİN YAZISI	98
KURUM İZNİ YAZILARI.....	99
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Alzheimer Patofizyolojisi için Hipotezler (20)	9
Şekil 2.2: APP'nin amiloidojenik olmayan ve amiloidojenik yolları (59).....	11
Şekil 2.3: Amiloid prekürsör proteinden klinik demans oluşum tablosu (6).....	13
Şekil 2.4: Kolinerjik iletim fizyolojisi (79)	17
Şekil 2.5: Diyabet Komplikasyonları (93).....	22
Şekil 2.6: Alzheimer hastalığında T2DM/insülin direncinin şematik gösterimi (98)	23
Şekil 2.7: GSK3- β 'nın A β ve tau metabolizmasına etkisi (106)	25
Şekil 2.8: Tau proteinlerinin GSK3- β tarafından hiperfosforilasyonu (103)	25
Şekil 2.9: Amiloid Kaskat Hipotezi (147).....	31
Şekil 3.1: MWM Tankı.....	42
Şekil 3.2: A β Standart Grafiği	44
Şekil 3.3: GLP-1 Standart Grafiği	45
Şekil 3.4: GLUT-4 Standart Grafiği	46
Şekil 3.5: IL-1 Standart Grafiği	47
Şekil 3.6: GSK3- β Standart Grafiği.....	48
Şekil 3.7: GSH Standart Grafiği	49
Şekil 3.8: AChE Standart Grafiği	50
Şekil 3.9: Protein Standart Grafiği	52

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1: Diabetes Mellitus Sınıflandırması (86)	19
Tablo 4.1: Grupların serum glukoz (mg/dL) düzeylerindeki değişiklikler	53
Tablo 4.2: Sıçanların deney boyunca vücut ağırlıklarındaki (g) değişiklikler	55
Tablo 4.3: Grupların beyin doku GSK3- β , GSH, IL-1, GLUT4, β -Amiloid, GLP-1 ve AChE düzeyleri	57
Tablo 4.4: Grupların serum GSK3- β , GSH, IL-1, GLUT4, β -Amiloid, GLP-1 ve AChE düzeyleri	61
Tablo 4.5: Grupların serum biyokimyasal parametrelerinin düzeyleri.....	64
Tablo 4.6: Hayvanların MWM ile değişiklik gösteren yüzme süreleri (sn).....	67

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
μg	: Mikrogram
β	: Beta
γ	: Gama
Cu	: Bakır
Fe	: Demir
L	: Litre
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
sn	: Saniye
nmol	: Nanomol
nM	: Nanomolar
Na	: Sodyum
pmol	: Pikomol
Ser	: Serin aminoasidi
Thr	: Treonin aminoasidi

Kısaltmalar	Açıklama
4-ONE	: 4-oksotrans-2-nonenal
8OHG	: 8-hidroksiguanozin
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolin esterase
AChEI	: Asetilkolin esterase inhibitörleri
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
ADA	: Amerikan Diyabet Derneği
AH	: Alzheimer hastalığı
AICD	: APP hücre içi domain

AKH	: Amiloid kaskad hipotezi
AKŞ	: Açlık kan şekeri
ALS	: Amyotrofik latera skleroz
ALT	: Alanin transaminaz
ALZ	: Alzheimer
APH1	: Anterior Farinks Defekti 1
APOE	: Apolipoprotein E
APP	: Amiloid prekürsör protein
APLP	: APP benzeri protein
Asetil-CoA	: Asetil Koenzim A
AST	: Aspartat transaminaz
BBB	: Kan-beyin bariyeri
BACE-1	: APP'yi β bölgesinden kesen enzim
BCA	: Bicinchoninic asit
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CDK5	: Siklin bağımlı kinaz-5
ChAT	: Kolin asetiltransferaz
DM	: Diabetes Mellitus
FDA	: Gıda ve İlaç İdaresi
GABA	: γ -aminobütirik asit
GDM	: Gestasyonel diyabet
GIP	: Glukoza bağımlı insülinotropik polipeptit
GLP-1	: Glukagon benzeri peptid-1
GLP-1R	: Glukagon benzeri peptid-1reseptörleri
GLP-1RA	: Glukagon benzeri peptid-1reseptör agonistleri
GLUT4	: Glukoz taşıyıcısı-4
GS	: Glikojen sentaz
GSH	: Glutasyon
GSK3	: Glikojen sentaz kinaz 3
GSK3- α	: Glikojen sentaz kinaz 3- α
GSK3- β	: Glikojen sentaz kinaz 3- β
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HNE	: 4-hidroksi-trans-2-nonenal
İ.C.V	: İntraserebroventriküler

IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IGF	: İnsülin büyüme faktörü
IL	: İnterlökin
IL-1β	: İnterlökin-1 β
IDDM	: İnsüline bağımlı diabetes mellitus
İ.P.	: İntraperitoneal
KH	: Karbohidrat
KY	: Karayemiş
LDL	: Düşük dasiteli lipoprotein
LiCl	: Lityum klorür
MAP	: Mikrotübüller ilişkili protein
MCI	: Hafif bilişsel bozukluk
MODY	: Gençlerin olgunluk başlangıçlı diyabeti
MRS	: Manyetik Rezonans Spektroskopisi
MSC	: Subjektif hafıza şikayeti
MSS	: Merkezi sinir sistemi
MWM	: Morris water maze
NDDG	: Ulusal Diyabet veri grubu
NFκB	: Nükleer faktör kappa B
NFT	: Nörofibriller yumaklar
NIDDM	: İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitus
NMDA	: N-metil D-aspartat
NTS	: Nükleus traktus solitarius
OA	: Oral antidiyabetik
PEN2	: Presenilin Enhancer-2
PH	: Parkinson hastalığı
PI3K	: Fosfotidilinozitol 3 kinaz
PS1	: Presenilin 1
PS2	: Presenilin 2
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SAH	: Sporadik Alzheimer hastalığı
SP	: Senil plak
STZ	: Streptozotosin

T1DM	: Tip 1 Diabetes Mellitus
T2DM	: Tip 2 Diabetes Mellitus
T3DM	: Tip 3 Diabetes Mellitus
TDZD	: Tiadiazolidinon
TG	: Trigliserid
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü
VaD	: Vasküler Demans
VACHT	: Veziküler asetilkolin taşıyıcı
VC	: Vaccinium corymbosum
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YYD	: Yüksek yağlı diyet

ÖZET

[DOKTORA TEZİ]

[STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN NONTRANSGENİK DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE KARAYEMİŞ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ]

[Fulya ÖZSOY]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyokimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

[Danışman : Prof. Dr. Hafize UZUN]

[Alzheimer hastalığı (AH), demans ile birlikte yaşa bağlı nörodejeneratif bozukluğun en yaygın şeklidir. Klinik olarak AH, ilerleyici hafıza kaybı ve bilişsel işlevler ile karakterizedir. Diyabet ve AH, bilişsel işlevleri, insülin duyarlılığını ve beyin glukoz metabolizmasını içeren çoklu patofizyolojik mekanizmaları paylaşırlar. Hiperglisemiye uzun süre maruz kalmak diyabetik komplikasyonların patogeneğinde birincil neden olarak kabul edilmektedir. Diyabetik hayvan ve insanlarda gözlemlenen, proteinlerin ve lipidlerin enzimatik olmayan glikozilasyonu, artan oksidatif stres, inflamatuvar sitokinlerde artış ve inflamasyon gibi patolojik değişikliklerin çoğunu kapsayan ana mekanizmalardan bazılarıdır.

Türkiye’de “taflan” veya “karayemiş” İngilizce’de "cherry laurel=kiraz defnesi" olarak da bilinen *Prunus Laurocerasus*, Türkiye’de Karadeniz bölgesinde yetiştirilmekte ve meyveleri yaygın olarak reçel, marmelat, meyve suyu, çay, konserve veya salamura olarak tüketilmektedir. İyi bir antioksidan etki gösterdiğinden kolinesteraz inhibisyonu, nöroprotektif ve antiinflamatuvar etkileri antioksidan aktivitesine bağlanmaktadır.

Bu tez çalışmasında, karayemiş ve metformin varlığında/yoksunluğunda streptozotosin (STZ) ile tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ve nontransgenik Alzheimer modelindeki sıçanlarda karayemişin inflamasyon, sitokin ve oksidatif stres üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada, intraserebroventriküler (i.c.v.) olarak uygulanan STZ ile oluşturulan nontransgenik Alzheimer modeli ve intraperitoneal (i.p) uygulanan STZ ile oluşturulan T2DM modeli sıçanlarda Laz kirazı olarak bilinen karayemiş (taflan) meyvesinin öğrenme/bellek fonksiyonları, glikojen sentaz kinaz 3- β (GSK3- β), β -Amiloid (β A), glutasyon

(GSH), sitokin olarak interlökin-1 (IL-1), glukoz taşıyıcısı 4 (GLUT4), glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1) ve asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir.

Çalışmada 450 ± 50 gram 57 adet erkek Sprag Dawley türü sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar, kontrol grubunda 6, diğer her grupta 9 adet olacak şekilde 7 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu (n=6); Grup: Kontrol + Karayemiş grubu (n=6); Grup: T2DM grubu (n=9); Grup: T2DM + Karayemiş grubu (n=9); Grup: T2DM + Oral Antidiyabetik grubu (n=9); Grup: ALZ grubu (n=9); Grup: ALZ + Karayemiş grubu (n=9). T2DM grubu ilk gün intraperitoneal (i.p) yolla STZ verilerek T2DM modeli oluşturulan sıçan grubudur. ALZ grubu, sıçanlara birinci ve üçüncü günlerde STZ, yapay serebrospinal sıvı içerisinde çözünerek Hamilton enjektörü ile her bir ventriküle 10 µL toplamda günde 20 µL olacak enjekte edilmiş sıçan grubudur.

Bu tez çalışmasında kan glukoz düzeyleri T2DM grubunda diğer gruplara göre anlamlı yüksek bulunurken, karayemiş ve metformin uygulanmasından sonra anlamlı düşüş saptandı. ALZ grubunda kan glukoz düzeyinde deney boyunca değişiklik bulunmadı. T2DM grubunda diğer gruplara göre sıçanların ağırlıkları anlamlı yüksek bulunurken, karayemiş ve metformin uygulanmasından sonra anlamlı düşüş saptandı. Aynı şekilde karayemiş uygulanmasından sonra sıçanların ağırlıkları ALZ grubunda anlamlı düşüş saptanırken, karayemiş uygulanmayan ALZ grubunda değişiklik bulunmadı. GSK3-β düzeylerinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. GSH düzeyleri T2DM grubunun hem karayemiş hem de metformin uygulamasından sonra anlamlı artış saptandı. Serum ve beyin dokusu GSH düzeylerinde ALZ grubunda karayemiş uygulamasından sonra anlamlı olarak arttığı bulundu. Serum Aβ ve AChE düzeylerinde ALZ grubunda karayemiş uygulamasından sonra anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi.

Mevcut sonuçlar, yaygın olarak tüketilen bir gıda bitkisi olan Türk kökenli karayemiş meyvesinin hem Aβ ve AChE inhibisyonunun hem de antioksidan aktivitenin üstün etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda kan glukoz düzeylerini de düşürerek antidiyabetik etkiye de sahiptir. Bu nedenle, karayemişin bu mekanizmalar yoluyla bir dereceye kadar nöroprotektif etki gösterdiği tahmin edilebilir. Karayemişin zengin toplam fenol içeriğine sahip olduğunu ve bu içeriğin üzerinde çalışılan etkilerine önemli bir katkıda bulunduğunu göstermiş olsak da uygun fitokimyasal içeriğinin tanımlanması için yine de daha fazla çalışmaya gerek olduğunu düşünülmektedir. |

Haziran 2022 , |119| sayfa.

Anahtar kelimeler: | Alzheimer hastalığı, Tip 2 diyabet, Karayemiş, STZ |

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CHERRY LAUREL ON THE NONTRANSGENIC EXPERIMENTAL ALZHEIMER MODEL WITH STREPTOZOTOCIN

Fulya ÖZSOY

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Biochemistry

Biochemistry Programme

Supervisor : Prof. Dr. Hafize UZUN

Alzheimer's disease (AD) is the most common form of age-related neurodegenerative disorder along with dementia. Clinically, AD is characterized by progressive memory loss and cognitive functions. Diabetes and AD share multiple pathophysiological mechanisms, including cognitive functions, insulin sensitivity, and brain glucose metabolism. Prolonged exposure to hyperglycemia is accepted as the primary cause in the pathogenesis of diabetic complications. Non-enzymatic glycosylation of proteins and lipids observed in diabetic animals and humans are some of the main mechanisms that encompass most of the pathological changes such as increased oxidative stress, increase in inflammatory cytokines and inflammation.

Prunus laurocerasus, also known as "taflan" or "karayemiş" in Turkey and "cherry laurel=kiraz defnesi" in English, is grown in the Black Sea region of Turkey and its fruits are widely used in jam, marmalade, fruit juice, tea, canned food or consumed as brine. Since it has a good antioxidant effect, cholinesterase inhibition, neuroprotective and anti-inflammatory effects are attributed to its antioxidant activity.

In this thesis, it was aimed to investigate the effects of cherry laurel and metformin on inflammation, cytokine and oxidative stress in rats in nontransgenic Alzheimer's model caused by streptozotocin (STZ) and type 2 diabetes mellitus (T2DM). In this study, nontransgenic Alzheimer's models with intracerebroventricular (i.c.v.) STZ and T2DM models with intraperitoneal (i.p) STZ were created in rats. The effects of "karayemiş" known

as Laz cherry, on learning/memory functions, glycogen synthase kinase 3- β (GSK3- β), β -Amyloid (β A), glutathione (GSH), cytokines as interleukin-1 (IL-1), glucose transporter 4 (GLUT4), glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and acetylcholin esterase (AChE) activity were investigated.

In the study, 57 male Sprag Dawley rats, 450 $\pm$ 50 grams, were used. The rats were divided into 7 groups, 6 in the control group and 9 in the study group. Control group (n=6); Group: Control + Cherry laurel group (n=6); Group: T2DM group (n=9); Group: T2DM + Cherry laurel group (n=9); Group: T2DM + Oral Antidiabetic group (n=9); Group: ALZ group (n=9); Group: ALZ + Cherry laurel group (n=9). T2DM group is the group of rats for which T2DM model was created by giving STZ intraperitoneally (i.p) on the first day. ALZ group is the group of rats injected with STZ, with a Hamilton syringe, dissolving in artificial cerebrospinal fluid and injected into each ventricle with 10 μ L, in total 20 μ L per day on the first and third days.

In this thesis study, blood glucose levels were found to be significantly higher in the T2DM group compared to the other groups, while a significant decrease was found after the administration of cherry laurel and metformin. There was no change in blood glucose level in the ALZ group throughout the experiment. While the weight of rats was found to be significantly higher in the T2DM group compared to the other groups, there was a significant decrease after the administration of cherry laurel and metformin. After the application of cherry laurel, a significant decrease was found in the weights of rats in the ALZ group, there was no change in the ALZ group that did not receive cherry laurel. There was no significant difference between the groups in GSK3- β levels. GSH levels were significantly increased in the T2DM group after the administration of both cherry laurel and metformin and the ALZ group after the application of cherry laurel. It was found that serum and brain tissue GSH levels increased significantly in the ALZ group after the application of cherry laurel. It was found that serum A β and AChE levels decreased significantly in the ALZ group after the application of cherry laurel.

The present results showed that the Turkish origin cherry laurel, which is a widely consumed food plant, has superior effects on both β A and AChE inhibition and antioxidant activity. It also has an antidiabetic effect by reducing blood glucose levels. Therefore, it can be predicted that cherry laurel exerts some degree of neuroprotective effect through these mechanisms. Although we have shown that cherry laurel has rich total phenol content and this content contributes significantly to the effects studied, it is thought that more studies are still needed to define the appropriate phytochemical content. |

June 2022, |119| pages.

Keywords: | Alzheimer's disease, Type 2 diabetes, Cherry laurel, STZ |

1. GİRİŞ

Demans, günlük yaşamın normal aktivitelerini gerçekleştirememesiyle ilişkili ilerleyici, bilişsel bozulmanın gelişimini ifade eden klinik bir durumdur. Demans, (1) belirli bir semptom grubu için genel bir terimdir. Demansın karakteristik semptomları, kişinin günlük aktivitelerini gerçekleştirme yeteneğini etkileyen hafıza, dil, problem çözme ve diğer düşünme becerilerindeki zorluklardır. Demansın birçok nedeni vardır. Alzheimer hastalığı (AH), demansın önde gelen nedenidir, ilerleyici hafıza kaybı ve diğer bilişsel işlevlerle karakterizedir. Aynı zamanda dejeneratif bir hastalıktır, yani zamanla daha da kötüleşir. AH, semptomlar ortaya çıkmadan 20 yıl veya daha uzun süre önce başladığı ve etkilenen kişi tarafından beyinde fark edilmeyen değişikliklerle başladığı düşünülmektedir. AH, demansın en yaygın nedeni olup vakaların neredeyse dörtte üçünü oluşturmaktadır, geri kalanı vasküler demans (VaD), karışık Alzheimer ve VaD, Lewy cisimcikli demans ve frontotemporal demanstır (1–6)

Günümüzde tip 1 veya tip 2 diyabetin dışında yakın zamanda tanımlanmış olan, tip 3 diyabet (T3DM) olarak bilinen başka bir diyabet türü daha vardır. Bu daha az bilinen tip, beyinde insülin direnci olarak kendini gösterir, nörobilişi etkileme potansiyeline sahiptir ve AH etiyojisine katkıda bulunur. AH, ABD'de altıncı önde gelen ölüm nedeni olup 65 yaş ve üstü kişilerde beşinci önde gelen ölüm nedeni olarak tanımlanmıştır. Şu anda bir tedavisi yoktur; ancak semptomlara yönelik tedaviler mevcut ve araştırmalar devam etmektedir. Nörotransmitter eksiklikleri, dejenere nöronlar, sinaptik disfonksiyon, hücre dışı β -amiloid ($A\beta$) birikimi ve hücre içi nörofibriler yumaklar, AH'de bulunan başlıca kaba şekil bozukluklarıdır. Ne yazık ki diyabet, AH'yi yedinci önde gelen ölüm nedeni olarak takip etkilemekte ve 2045 yılına kadar neredeyse yarım milyar insanı etkilemesi beklenmektedir (7). Her iki hastalığın da hem çevreyi hem de daha az derecede genetiği içeren çok faktörlü etkileşimlere sahip olduğu kabul edilmiştir. Yine de insülin duyarsızlığı bellek eksiklikleri, bilişsel gerileme ve AH'de sergilenen birçok karakteristik semptomla ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda, Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM), AH'nin gelişimi için en ayarlanabilir risk faktörlerinden biridir (8).

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve reaktif nitrojen türlerinin (RNS) üretimi ile hücre içi antioksidan savunmalar arasındaki dengesizliğin doğrudan sonucu olan oksidatif stres,

diyabet, AH, Parkinson hastalığı ve amiotrofik lateral skleroz gibi nörolojik patolojilerin başlangıcında her zaman rol oynar. Çoğu durumda diyabet, genellikle kardiyovasküler hastalık, ateroskleroz ve diyabetik nefropati gibi başka komplikasyonlara neden olur. Bu nedenle, kısmen AH'nin başlangıcına yol açan diyabet hipotezi ilgi çekici bir konudur ve pek çok çalışma ile literatürde tartışılmaktadır (9).

Glikojen sentaz kinaz 3 (GSK3), bazıları nörodejenerasyonda da rol oynayan birçok anahtar hücre yolunun düzenlenmesinde yer alan, hemen hemen her hücrede eksprese edilen ve yapısal olarak aktif bir serin-treonin kinazdır. GSK3'ün iki farklı gen tarafından kodlanan GSK3- α ve GSK3- β olmak üzere iki izoformu vardır (10). Merkezi sinir sisteminde (MSS), GSK3- β en bol olanıdır ve ekspresyon düzeylerinin yaşla birlikte arttığı bilinmektedir (11). GSK3- β , Alzheimerlı hastaların beyinde hiperaktif şekilde bulunur ve güçlü kanıtlar, farklı mekanizmalar ile ALZ patolojisine katkısını destekler (12). Bu kinazın düzensizliğinin hem A β hem de tau metabolizmasını, in vitro ve in vivo ALZ modellerinde toksisiteyi etkilediği bildirilmiştir. Ek olarak, GSK3- β aktivitesi, hafıza konsolidasyonu, nörojenez, sinaptik plastisite, uzun süreli güçlenme ve inflamasyon ile ilişkilendirilmiştir (13).

Çoklu doymamış yağ asitleri, araşidonik asit ve dokosaheksaenoik asit, serebral kortekste ve görsel sistemde bol miktarda bulunur ve beyindeki tüm hücre tiplerinde eşit olarak dağılır. Çoklu doymamış yağ asitlerinin ROS aracılı lipid peroksidasyonu, aralarında 4-hidroksi-trans-2-nonenal (HNE), 4-okso-trans-2-nonenal (4-ONE), akrolein, ve 4-okso-trans-2-heksenal, bunların tümü iyi bilinen nörotoksik maddelerdir (9). Glutasyon (GSH) olarak bilinen tripeptid, γ -L-glutamil-L-sisteinil-glisin, hücrelerde sentezlenen en önemli düşük moleküler ağırlıklı antioksidandır. GSH'nin sülfhidril grupları proteinlerinkilerle etkin bir şekilde rekabet ettiğinden, HNE ve 4-ONE'nin neden olduğu hasarı hafifletebilir. Bununla birlikte, GSH düzeyleri genellikle kronik diyabet veya ALZ vakalarında azaldığı bildirilmiştir (14,15).

İnflamasyon, proinflamasyon bir durum olan yaşlanma ile ilişkili olduğundan, yaşlılarda psikiyatrik bozukluklarda patolojik bir rol oynayabilir. Yaşlanma, proinflamatuvar sitokinlerin salınımı ve antiinflamatuvar moleküllerin azalması ile aşırı doğal immun aktiviteye yol açan periferik immun sistemi bozarak proinflamatuvar durumu kolaylaştırır (16). İnterlökin-1 β (IL-1 β) makrofajlar, endotel hücreleri ve astrositler tarafından üretilir. Depresyon veya Alzheimer hastalığı olan yaşlıların, Bonferroni düzeltmesinden önce önemli ölçüde daha yüksek periferik IL-1 β seviyelerine sahip olduğu bildirilmiştir (17). T2DM patogenezinde inflamatuvar yanıtların rolüne ilişkin kanıtlar son yıllarda giderek artmaktadır.

IL-1 β 'nın β -hücre yetmezliğine katkıda bulunduğu bildirilmiştir. β -hücrelerinin kendileri, glukoz uyarımı üzerine IL-1 β salgırlar. Ayrıca, IL-1 β , β -hücrelerinde kendi üretimini uyarır ve ekstra bir IL-1 β ve diğer sitokin kaynağı olarak hareket edebilen makrofajları çeker. T2DM progresyonunda inflamatuvar yanıtların, birincil neden mi yoksa ikincil bir etki mi olduğu şu anda belirsiz olsa da IL-1 β 'yi hedefleyen tedaviler, farklı klinik çalışmalarda farklı sonuçlar da olsa cesaret verici ilerleme göstermiştir (18).

Glukoz taşıyıcısı 4 (GLUT4), T2DM'nin patofizyolojisinde önemli bir rol oynar. T2DM hastalarında periferik hücre plazma zarına kusurlu ekspresyonu veya translokasyonu, enerji üretimi için glukozun hücreye girişini engeller. Uygun ilaçlara ek olarak, T2DM hastalarının glukoz metabolizmasını yönetirken GLUT4 ekspresyonundaki, GLUT4 konsantrasyonlarındaki ve GLUT4 translokasyonundaki artışı hedeflemek için uygun bir diyet ve/veya egzersiz uygulanabilir. T2DM'nin etkin yönetimi için insülin bağımsız GLUT4 sinyal yollarını aktive edebilen bazı potansiyel olan sentetik ve doğal bileşikler, gelecekteki antidiyabetik ilaç gelişimi için olası hedefler veya ortaya çıkan alternatif kaynaklar olarak vurgulanmaktadır (19).

Amiloid- β (A β), pro-oksidan olan ve Alzheimer hastalığına kritik olarak katkıda bulunan bir antioksidandır. Yaşlanma sırasında artan oksidatif stresin etkisi altında artan A β üretiminin, ardından geçiş metal iyonlarının şelasyonu, A β -metal lipoprotein komplekslerinin birikmesi, ROS üretimi ve nörotoksitenin olayların geçici dizisini oluşturduğu varsayılmaktadır. AH'nin gelişiminde: (i) A β bakırı, demirden ve diğer geçiş metallerinden daha güçlü bağladığından, (ii) bakır diğer geçiş metallerinden daha verimli bir oksidasyon katalizörü olduğundan, bakırın A β tarafından şelatlanmasının bu yolun en önemli bir parçası olduğu öne sürülmektedir (20,21).

Glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1), gastrointestinal sistemin enteroendokrin L-hücrelerindeki pre-proglukagon molekülünden türetilen 30 amino asitli endojen bir hormondur. GLP-1 ayrıca MSS'de, ağırlıklı olarak beyin sapında üretilir ve daha sonra MSS'de çok sayıda bölgeye taşınır. GLP-1 reseptör agonistleri (GLP-1 RA) diyabet ve obezite tedavisinde kullanılmaktadır. GLP-1 insülin salgısını uyarır, glukagon salgısını inhibe eder, besin alımını azaltır, iştahı azaltır, mide boşalmasını geciktirir, kilo vermeyi sağlar ve β hücrelerini apoptozdan korur (22). Tüm diyabet ilaçlarının, kan şekerini, insülin düzeylerini ve ardından inflamatuvar belirteçlerin, ROS ve AGE'lerin düzeylerini azaltarak dolaylı olarak AH'yi etkileyebileceği düşünülmektedir. Ancak istenen ilaç, kan-beyin bariyerini geçen ve insülin sinyal yolunu etkileyendir (23). GLP-1 ve analogları kan beyin bariyerini geçebilir ve

bu nedenle biliş ve nöroproteksiyon gibi merkezi sinir sistemi fonksiyonlarını etkileyebilir. AH'nin hücre kültürü ve sıçan modellerinde GLP-1 agonistlerinin klinik öncesi çalışmaları cesaret verici olmuştur (24–26).

Asetilkolinesteraz enzimi (AChE), karboksilesteraz enzim ailesine ait spesifik bir esterazdır. Ağırlıklı olarak nörotransmitter asetilkolini (ACh) hidrolize eder. AChE, esas olarak kırmızı kan hücrelerinde ve ayrıca beyinde nöromusküler kavşaklarda ve kolinerjik beyin sinapslarında yüksek konsantrasyonlarda bulunur (27,28). AChE, A β -AChE kompleks oluşumunun neden olduğu amiloid oluşumunu, astrositoz ve nöral hücre kaybını teşvik ederek Alzheimer hastalarının beyinlerinde görülen bazı nörodejeneratif değişikliklerle ilişkilidir (29). AChE, serebral kortekste β -amiloid plakların oluşumunu teşvik ederek AH'nin patogeneğinde önemli bir rol oynayabilir (30).

Laurocerasus officinalis Roem. (Rosaceae), [syn: *Padus laurocerasus* (L.) Miller, *Cerasus laurocerasus* (L.) Lois, *Laurocerasus vulgaris* Carr., *Prunus laurocerasus* L.], İngilizce'de “cherry laurel = kiraz defnesi” olarak bilinir. Bitkinin Orta ve Batı Asya, Güneydoğu Avrupa ve Anadolu kökenli olduğu ve Türkiye'de “taflan, karayemiş, laz kirazı, karamış” olarak bilinir (31). Yapılan çalışmalarda güçlü bir antioksidan etki gösterdiğinden, nöroprotektif etkisi, kolinesteraz inhibisyonu ve antioksidan aktivitesine bağlanmaktadır. Ayrıca, toplam fenol içeriği ile yaprak metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi arasında bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (31–33). Ayla ve ark. (34) karayemişin, artan granülasyon dokusunu, epidermal rejenerasyonu ve anjiyogenezi arttırarak yara iyileşmesinde yararlı etkileri olabileceğini bildirmişlerdir.

Bu tez çalışmasında, intraserebroventriküler (i.c.v.) şekilde verilen streptozotosin (STZ) ile oluşan nontransgenik Alzheimer modeli ve intraperitoneal şekilde verilen STZ ile oluşturulan T2DM modeli sıçanlarda Laz kirazı olarak tanımlanan karayemiş meyvesinin öğrenme/bellek fonksiyonlarına ve oksidan-antioksidan sistemler üzerine etkisi incelenmiştir. Beyin dokusunda ve serumda GSK3- β , GSH, IL-1, GLUT4, β -Amiloid, GLP-1, AChE düzeyleri saptanarak karayemiş meyvesinin bu parametreler üzerine etkisi araştırıldı.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. DEMANS HASTALIĞI

Demans, günlük yaşamın normal aktivitelerini gerçekleştirememesiyle ilişkili ilerleyici, bilişsel bozulmanın gelişimini ifade eden klinik bir terimdir (35). Demans, hafıza bozukluğu ve yürütücü işlev bozukluğu gibi tipik belirtilerle, günlük yaşam aktivitelerine müdahale edebileceği gibi hafıza bozukluğundan önce de belirgin klinik problemler dil, görsel, pratik veya yönetsel sorunları da içeren atipik belirtilerle de ortaya çıkabilir (36). Demans terimi, normal günlük aktivitelere müdahale eden hafıza bozukluğu ve diğer entelektüel yeteneklerin kaybını ifade eder. Demanslı hastaların hipokampus, temporal ve frontal korteksinde progresif nöron kaybı ve beyin atrofisi bildirilmiştir (3).

Bellek ve bilişsel bozulmanın inme, Parkinson hastalığı ve Alzheimer hastalığı (AH) da dahil olmak üzere hem fizyolojik yaşlanma hem de merkezi sinir sistemi patolojik durumları ile ilişkili olduğu belgelenmiştir (4).

Alzheimer hastalığı, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından küresel bir halk sağlığı önceliği olarak kabul edilmektedir. Alois Alzheimer 1907'de ilk vakayı bildirdiği halde AH patogenezinin ve hastalığın nasıl kavramsallaştırıldığı konusundaki büyük kazanımlara rağmen hala hastalığı değiştirici bir tedavi yoktur (37).

Demans, günlük yaşama müdahale edecek kadar şiddetli bilişsel yetenekte bir düşüş için genel bir terimdir. Alzheimer hastalığı, demans vakalarının neredeyse dörtte üçünü oluşturmaktadır, geri kalanı vasküler demans (VaD), karışık Alzheimer ve VaD, Lewy cisimcikli demans ve frontotemporal demanstır (6).

Demansın tanımı, klinik ve nöroanatomist bir psikiyatrist olan Alois Alzheimer'in, ilerleyici uyku ve hafıza bozuklukları, saldırganlık ve kafa karışıklığı olan 50 yaşındaki bir kadında “şiddetli serebral korteks hastalığının tuhaf bir süreci” olarak rapor ettiği 1906 yılına dayanmaktadır. 5 yıl sonra ölen Auguste Deter'e yapılan otopside, beyninin histolojisinde belirgin plaklar ki bunlar hiperfosforillenmiş ve bölünmüş tau proteinleri ve nörofibriler düğümler gözlenmiştir. 1910'da Alzheimer akıl hocası Kraepelin, Psikiyatri metninin

sekizinci baskısına bu hastalığı “Alzheimer Hastalığı” olarak bildirmiştir [1-2].

Demans için bilinen birçok risk faktörü vardır. Değiştirilebilir olanlar diyet, düşük eğitim seviyesi, fiziksel ve zihinsel hareketsizlik, obezite, sigara içmek, hava kirliliği, hipertansiyon, diyabet, yüksek total serum kolesterolü, kardiyovasküler hastalıkları içerir ve bunlar bunama riskinin % 30'unu oluşturur. Aksine, değiştirilemeyen risk faktörleri arasında ilerleyen yaş, kadın cinsiyeti, siyah etnik köken ve genetik faktörler de bulunmaktadır (36).

2000-2018 yılları arasında inme, HIV ve kalp hastalığından kaynaklanan ölümler azalırken, Alzheimer kaynaklı ölümler %146,2 artmıştır. Demansı olan 65 yaş ve üstü kişiler için 2020 yılında sağlık, uzun süreli bakım ve bakım hizmetlerine yönelik toplam ödemelerin 305 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir (38).

Alzheimer demansı gelişen insanların büyük çoğunluğu 65 yaş ve üzerindedir. Buna geç başlangıçlı Alzheimer denir. Uzmanlar, AH'nin diğer yaygın kronik hastalıklar gibi tek bir neden yerine birden çok faktörün bir sonucu olarak geliştiğine inandıkları halde istisnalar, Alzheimer'ın riski artıran nadir genetik değişikliklerle ilgili vakalar olduğu da gözlemlenmiştir (38).

2.2. ALZHEİMER HASTALIĞI

AH en az 27 milyon kişiyi etkileyen ve tüm demans vakalarının %60-70'ine karşılık gelen en yaygın demans türüdür (39).

AH, DSÖ tarafından küresel bir halk sağlığı önceliği olarak kabul edilmektedir. Alois Alzheimer 1907'de ilk vakayı bildirdiği günden beri AH patogenezi ve hastalığın nasıl kavramsallaştırıldığı konusundaki büyük kazanımlara rağmen hala hastalığı tamamen yok eden bir tedavisi bulunmamaktadır (37).

Tipik olarak, hastalığın semptomları hafif hafıza güçlükleri ile başlar ve bilişsel bozukluk, günlük karmaşık aktivitelerdeki işlev bozuklukları ve bilişin diğer farklı yönlerine doğru gelişir. AH klinik olarak teşhis edildiğinde birçok beyin bölgesinde nöron kaybı ve nöropatolojik lezyonlar ortaya çıkar (40).

Beynin limbik bölgesinin ve kortekslerinin bu yıkıcı bozukluğuna sahip olan hastalar önce önemsiz bilgilerden başlayarak yeni bilgiler kodlama ve en sonunda da yaşamın önemli ve köklü ayrıntılarını kaybederler. Alzheimer hastalığı ailesel bir bozukluk da olabilir; ancak

hastalığın çoğu formu sporadiktir. İnme ve kafa travması, yüksek tansiyon ve hatta diyet gibi bir dizi risk faktörü ile ilişkilidir. Ailesel ve sporadik ALZ formu, aynı nöropatolojik paterni paylaşır (41).

AH, iki temel özellik ile karakterize edilir. Bunlar senil plakların oluşumu ve nörofibriler düğümlerdir. Hücre dışındaki patolojik değişiklikler senil plaklar yani amiloid- β ($A\beta$) plakları ve hücre içi değişikliklerde de hiperfosforillenmiş tau proteinlerinden ortaya çıkan nörofibriler düğümlerdir (NFT) (42).

NFT'ler, anormal hiperfosforile tau proteininden oluşan sarmal filamentlerin intranöronal birikimi ile oluşur. Senil plaklar ise amiloid- β peptidi ($A\beta$) içerir. Bu patolojik bulguların kesin önemi tam olarak anlaşılmamış olsa da yapılan çalışmalar ile hipokampüste tau proteininin anormal hiperfosforilasyonunun AH'nin nörodejenerasyonun ilerlemesi için kritik olduğunu işaret etmektedir (43).

2.3. EPİDEMİYOLOJİ

Uluslararası Alzheimer Hastalığı Federasyonunun (Alzheimer Disease International/ADI) 2019'da yayımladığı rapora göre küresel olarak demansla yaşayan 50 milyondan fazla insan olduğu tahmin edilmektedir ve bu rakam 2050 yılına kadar 152 milyona yükselecektir. Demansın şu anki yıllık maliyetinin 1 trilyon dolar olduğu ve 2030'a kadar iki katına çıkacağı tahmin edilmektedir (44).

Türkiye İstatistik Kurumunun (TÜİK) Mart 2020'de yayımladığı rapora göre Alzheimer hastalığından hayatını kaybeden yaşlıların sayısı, 2014 yılında 10.236 iken 2018 yılında bu oran 13 bin 767'ye yükselmiştir. Alzheimer hastalığından ölen 65 yaş ve üstü oranı 2014 yılında %3,9 iken 2018 yılında %4,6'ya yükselmiştir. Alzheimer hastalığından ölen yaşlıların oranı cinsiyete göre incelendiğinde ise her iki cinsiyette de artış olduğu görülmüştür. Alzheimer hastalığından ölen yaşlıların oranı 2014 yılında erkeklerde %3,1 kadınlarda %4,6 iken bu oranlar 2018 yılında erkeklerde %3,5'e kadınlarda ise %5,7'ye yükselmiştir (45).

Demans prevalansının, özellikle gelişmiş ülkelerden daha çok nüfusun daha genç olduğu gelişmekte olan ülkelere arttığı tahmin edilmektedir. 1990-2016 yılları arasında demansı olan birey sayısında, yaşlanan nüfus ve büyümesi ile birlikte %117 artış olmuştur. Kadınlarda baskınlık vardır ve demans, sosyoekonomik etkiye sahip dünyada en sık görülen

beşinci ölüm nedenidir (46). Ana neden Alzheimer hastalığıdır (% 75'e kadar) ve hastaların çoğunluğu 65 yaşından büyüktür (47).

Önümüzdeki yıllarda, demans prevalansındaki en büyük artışın kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon ve diyabetin artmasına neden olan düşük ve orta gelirli ülkelerde olması beklenmektedir. AH, demansın en büyük tek nedenidir ve % 50-75 oranındadır ve AH özellikle 65 yaşından sonra her 5 yılda bir prevalansının iki katına çıktığı görülmüştür (48).

2.4. PATOGENEZİ

AH, ilerleyici hafıza kaybı ve bilişsel bozulma ile tanımlanan ve moleküler düzeyde nörofibriler yumakların ve çözünmeyen β -amiloid ($A\beta$) plakların varlığı ile oluşan nörodejeneratif bir hastalıktır (49).

Son 30 yılda Alzheimer hastalığı ile ilgili yapılan araştırmalarda, amiloid plaklarda ve nöronal yumaklarda anormal katlanmış $A\beta$ ve tau proteinlerinin birikmesi hastaların beyinlerinde nörodejeneratif süreçlerle ilişkili olduğuna dair önemli kanıtlar üretmiştir (50).

Hücre içi NFT'ler ve hücre dışı amiloidal proteinlerin birikmesi senil plakların patolojik olarak oluşumunu karakterize eder (51).

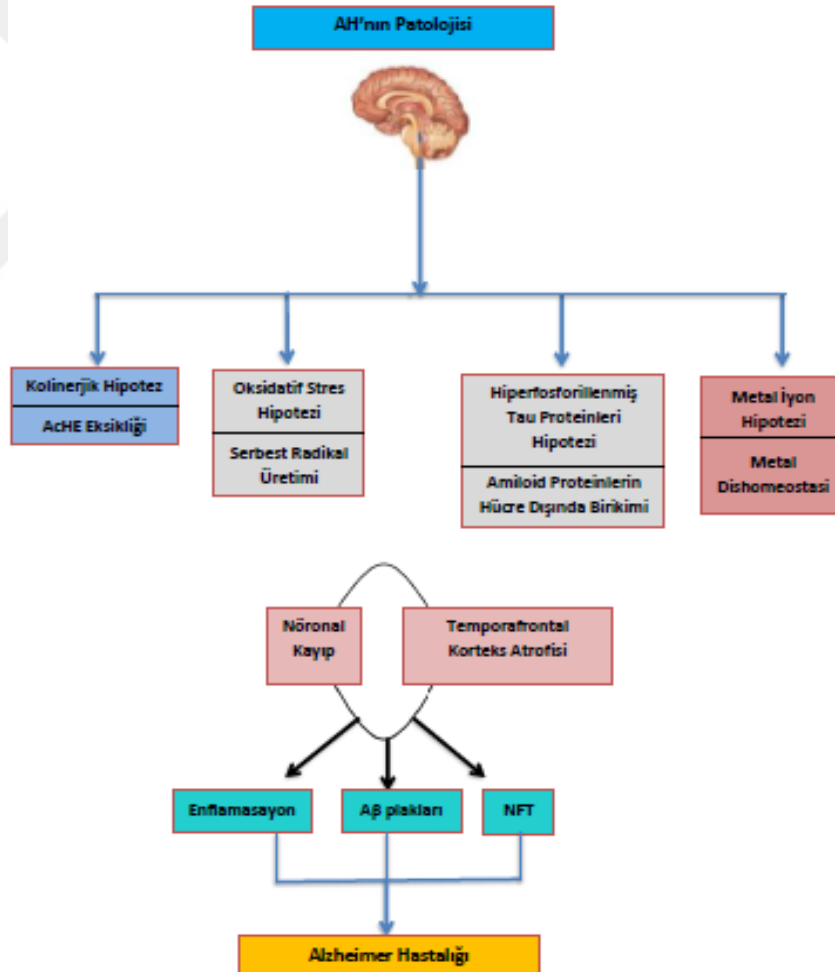
Beyinde gerçekleşen bu değişikliklerin bilişsel gerilemeye yol açtığı mekanizmalar, hala tartışılrsa da hücre içinde ve dışında biriken bu moleküllerin eksitotoksisite proseslerine, kalsiyum homeostazının bozulmasına, enflamasyona, enerji ve nöronal faktörlerin tükenmesi gibi olayların oluşmasına yol açtığına inanılmaktadır. Bu sürecin sonunda, nöronlara ve sinapslara zarar verildiği, öğrenme ve diğer bilişsel işlevlerin gerilemeye yol açtığı sonucuna varılmıştır (52).

Beyin parankiminde ve serebral kan damarlarındaki $A\beta$ birikimlerine amiloid plaklar denir. NFT'ler, hiperfosforillenmiş tau proteinleri ile birleşmiş sarmal filamentleri oluşturur. Bu NFT'ler nöronal ve sinaptik kayıp ve bazı belirgin lezyonların oluşmasıyla görülür. Nöron kaybı ve/veya patolojisi özellikle hipokampus, amigdala, entorhinal korteks ve frontal, temporal ve parietal kortekslerin kortikal birleşim alanlarında görülebilir. Yumakların birikmesi, trans-entorhinal korteksten başlayarak entorhinal korteks, hipokampusun CA1 bölgesi ve daha sonra frontal, parietal ve temporal lobların özellikle etkilendiği kortikal birleşme alanlarını da kapsayacak şekilde bir yol izler. Amiloid plaklarının sayısından çok

yumakların oluşum alanı ve yerleşimi demansın şiddeti ile ilişkilidir (51).

Tau proteinlerinin birikmesi ve hipokampal atrofi, bilişsel azalma ve beyin atrofisi ile çok yakından ilişkilidir. Alzheimer hastalığının nöropatolojisinde temporofrontal kortekste nöron kayıpları ve atrofi vardır. Bu da enflamasyona ve amiloid plaklara ve anormal bir protein kümesinin oluşmasına neden olur. Bu nedenle serebral kortekste monositler ve makrofajların varlığında bir artış olur ve ayrıca parankimdeki mikrogliya hücrelerinin de aktif hale gelmesini sağlar (51).

AH'yi açıklamak için kolinerjik hipotez, A β hipotezi, tau hipotezi, metal iyon hipotezi ve enflamasyon hipotezi gibi hipotezler bu multifaktöriyel hastalığı açıklamak için ortaya konmuştur (53).



Şekil 2.1: Alzheimer Patofizyolojisi için Hipotezler (20)

2.4.1. Amiloid Kaskat Hipotezi

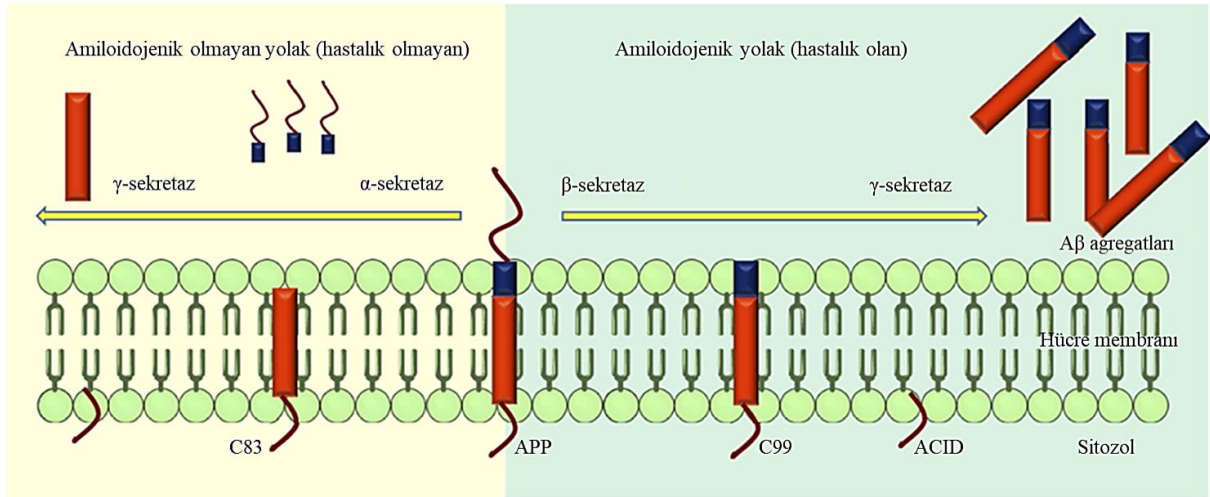
AH'nin ana patolojik nedenlerinden biri, A β birikiminin neden olduğu senil plakların (SP) oluşumudur. Amiloid patogenezi, plazma membranının integral proteini olan amiloid prekürsör proteinin (APP) değişken kırılmalarıyla yani farklı uzunluklarda bölünmesiyle başlar (54).

APP ve APP benzeri proteinler (APLP'ler), benzer modüler alan yapısına sahip olan transmembran glikoproteinlerdir (55). APP, memelilerde amiloid prekürsör benzeri proteinleri (APLP1 ve APLP2) içeren ilgili protein ailesinin bir üyesidir (35). APP'nin fizyolojik fonksiyonu hala tam olarak belirlenememiştir; ancak potansiyel olarak hücre içi kalsiyum regülasyonu, hücre büyümesi regülasyonu, aksonlar boyunca vezikül taşınması ve metal iyon homeostazi, beyin gelişimi, hafıza gibi görevleri olduğu ileri sürülmüştür. Yapısal olarak APP'nin hücre dışında bulunan N-terminal bölgesi ki APP'nin büyük bir kısmı hücre dışında, küçük bir kısmı yani C-terminal bölgesi ise sitoplazmada bulunur, bazı araştırmacılar tarafından metal bağlayıcı alan içerdiği için kritik bir biyolojik işlevi olduğu düşünülmektedir. Bu alan bakır iyonlarına karşı güçlü bir afiniteye sahiptir (56).

A β , APP'nin α -sekretaz, β -sekretaz ve γ -sekretaz etkisiyle bölündüğünde üretilen çözünür küçük peptitlerdir (51). A β üretimi ve klirensi arasındaki dengesizlik, protofibriller, fibriller ve oligomerizasyonun derecesine göre plaklar olarak adlandırılan çeşitli toksik oligomerik yapıların oluşumuna yol açar. A β oluşumunun nedeni hala belirsizdir; ancak A β 'nin stabilite koşulları ve konsantrasyonu önemli faktörlerdir (57).

APP için iki temel yol tanımlanmıştır. Bunlar: amiloidojenik olmayan α -sekretaz aracılı yol ve amiloidojenik olan β ve γ -sekretaz aracılı yoldur. α -sekretaz, APP'yi 16-17. aminoasitlerinden parçalayarak hücre dışında sAPP α (APPs α) ve hücre içinde 83 aminoasit uzunluğunda (C83 veya α CTF) birer molekül oluşturur. Oluşan sAPP α molekülü nöroprotektif fonksiyona sahip, nöronların plastisitesinde ve hayatta kalmasında önemli rol oynayan ve eksitotoksositeye karşı koruma sağlayan çözünür bir moleküldür (39). Daha sonra gerçekleşecek olan olay hücre içerisinde bulunan 83 aminoasit uzunluğundaki α CTF'nin γ -sekretaz tarafından parçalanmasıdır. α CTF, γ -sekretaz enzimi tarafından p3 peptidine ve APP hücre içi domainine (AICD) parçalanır. Sitozole salınan bu AICD'in nükleer sinyalizasyonda bir işlevi olduğu düşünülmektedir (58).

APP hastalık durumunda farklı şekillerde parçalanır. Amiloidojenik yolda ilk basamak β -sekretaz enzimi ile parçalama işlemidir ve bu reaksiyon hız kısıtlayıcı basamaktır. $A\beta$, aktif bölgesi lümende yer alan ve membranı kateden bir aspartik proteaz olan β -sekretaz yani BACE-1 (Beta-side APP Cleaving Enzyme) tarafından parçalanarak APP'den oluşur (59). APP'den oluşan bu yapılar hücre dışında sAPP β ve hücre içinde 99 aminoasitten oluşan (C99 veya β CTF) bir fragmenttir. sAPP β , nöronların ölümlerini arttırdığı bilinirken β CTF'nin aşırı üretimi sinyal iletimini engelleyerek nöronal dejenarasyona neden olmaktadır (39). Daha sonra ikinci enzim olarak $A\beta$ proteinini oluşturmak için 4 proteinden oluşan γ -sekretaz kompleksi işin içine girer. γ -sekretaz, presenilin, nicastrin, anterior farinks-defektif 1 (APH1) ve PEN2 (presenilin enhancer-2) proteinlerinin birleşerek oluşturduğu bir intramembran aspartik proteazdır. Bu proteinlerin birleşmesiyle oluşan kompleks, çözünmeyen ve nörotoksik olan $A\beta$ fragmentlerini üreten γ -sekretazın aktivitesine katkıda bulunur. γ -sekretaz, β CTF'yi farklı uzunluklarda parçalayarak $A\beta$ peptidinin oluşmasına neden olur (59). Oluşan $A\beta$ proteinleri plazma ve beyin omurilik sıvısı gibi ekstrasellüler sıvılarda bulunabilir (58).



Şekil 2.2: APP'nin amiloidojenik olmayan ve amiloidojenik yolları (59)

38 ile 43 aminoasit arasında değişen uzunluktaki $A\beta$ peptitleri, genellikle iki formda bulunur. Bunlardan baskın form olan ve 40 aminoasit içeren $A\beta$ 40 ve yaklaşık %10 oranında sentezlenen, 42 aminoasit kalıntısı içeren $A\beta$ 42'dir. Fizyolojik koşullarda, amiloidojenik ve amiloidojenik olmayan yollar dengede bir arada bulunur, ikinci yol tercih edilir (60).

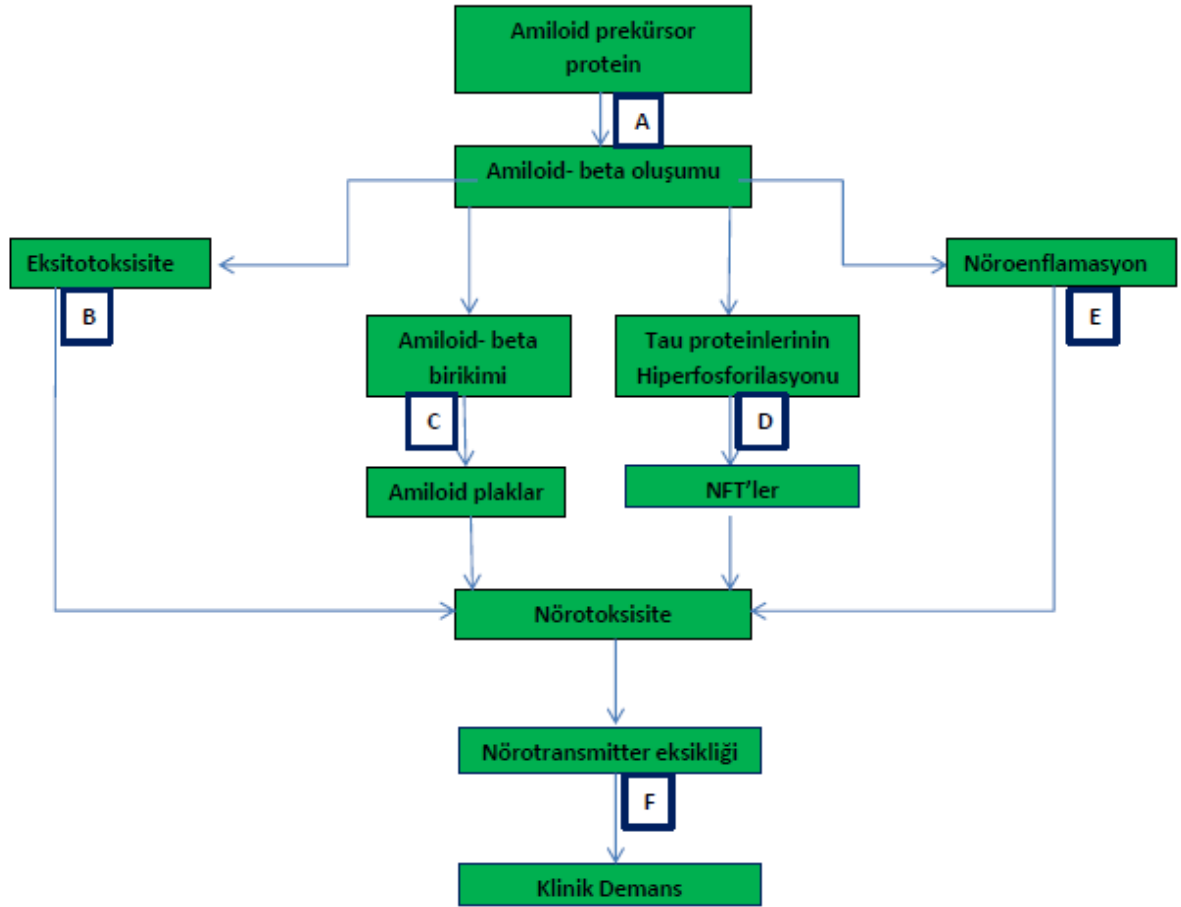
A β 40, A β 42'den daha fazla bulunur ve daha az nörotoksiktir. A β 42 ise hidrofobik, çözünmeyen, ciddi nörotoksik ve daha fazla agregatlaşmaya eğilimi olan ve A β peptidinin toksik bir fraksiyonu olarak işlev görür. A β 40/A β 42 agregasyonu, iyon kanallarının bloke edilmesine, kalsiyum homeostazının değişmesine, mitokondriyal oksidatif stresin artmasına, nöronal sağlığın bozulmasına ve nöronların ölümüne katkıda bulunan azalmış enerji metabolizması ve glukoz regülasyonuna neden olur (61).

Sağlıklı bir beyinde oluşan çözünebilir, fibril olmayan ve nöral hücreler arasındaki sıvı içinde çözünebilir A β protein parçaları beyinden uzaklaştırılır. A β peptitlerinin amiloid plaklar şeklinde depolanması esas olarak beyin hipokampus, neokorteks ve aynı zamanda serebrovasküler bölgesinde gözlemlenir (55).

İmmünohistokimyasal analizler A β 42'nin başlangıçta biriktiğini ve Alzheimer hastalarında gözlenen amiloid plaklarda daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunu göstermektedir. Birçok çalışma, beyin omurilik sıvısındaki (BOS) A β 42 düzeylerinin beyin amiloidozunun temsili kanıtı olduğunu göstermiştir. Aksine, serum A β 42 seviyeleri ile serebral amiloidoz arasındaki ilişki henüz gösterilmemiştir. Alzheimer hastalarının beyin omurilik sıvısında A β 42 seviyelerinde bir azalma gözlenir; bu, kısmen β -amiloid plaklarında daha yüksek birikimi ile açıklanabilir (62).

Fizyolojik durumda, A β 'nin üretimi ve klirensi dengelidir, ancak patolojik durumlarda, toplam A β veya A β 42/A β 40 oranının artması veya A β degradasyonu/klirensinin azalması, A β 42 seviyesinin yükselmesine neden olur. A β , mikromolar ve nanomolar konsantrasyonlarda bile nörotoksositeye ve sonuçta hücre ölümüne yol açar. A β sinaptik aktiviteyi modüle ettiği için öğrenme ve hafızada birçok endikasyona sahiptir (63).

Beyinde hücre dışı nöritik A β plakları, mikroglia ve astrositlerin aktivasyonunu arttırdığı için Alzheimer hastalarında bilişsel düşüş olarak ortaya çıkan nöronal sinaptik kayıplara neden olur. Öte yandan, tau proteinin hiperfosforilasyonu ile üretilen nörofibriler düğümler (NFT'ler) ağırlıklı olarak frontal kortekste, entorhinal kortekste ve hipokampusteki nöronların dejenerasyonu ile sonuçlanır ve bu da Alzheimer patolojisinin şiddetini belirler (63).



Şekil 2.3: Amiloid prekürsör proteinden klinik demans oluşum tablosu (6)

A: Sekretaz enzim inhibitörleri B: NMDA reseptör modülatörü C: İmmünoterapi, monoklonal antikorları içeren antiamiloid tedavi ve aşı D: Anti-Tau Terapi E: Anti-enflamasyon uygulamaları F: Antikolinesteraz inhibitörleri

APP bölünmesinin üçüncü bir yolu yakın zamanda keşfedilmiştir. η -sekretaz enzimi APP'yi 504-505. aminoasitlerinden parçalar ve sırasıyla α - ve β -sekretaz ile ikinci kez parçalanmasından sonra daha yüksek molekül ağırlıklı karboksi-terminal fragmanları $A\eta$ - α ve $A\eta$ - β oluşumuna neden olur. İlki, $A\eta$ - α , dizisinde $A\beta$ 1-16 peptit içerir ve nörotoksik olduğu bildirilmiştir. Esas olarak endosomlar gibi veziküllerde üretilirler ve nöronal aktivite sırasında Alzheimer patolojisine yol açmadan sağlıklı beynin hücre dışı boşluğunda salınırlar (64).

2.4.2. Hiperfosforillenmiş Tau Proteinlerinin Hipotezi

Tau proteinin Alzheimerlı hastaların beyin dokusunda birikmesi ilk olarak 1986'da tanımlanmıştır (65).

Mikrotübülleri stabilize etmek, uygun mikrotübül ağını oluşturmak ve bunları bir arada tutmak için mikrotübüller arasında birbirine bağlanan köprüler oluşturma yeteneğine sahip Tau proteinleri nöronlar tarafından sentezlenir. Özellikle aksonların morfolojisi ve büyümesiyle birlikte nöronların düzgün çalışmasını, büyümesini, membran etkileşimlerini teşvik eder ve organellerin sinir terminallerine aksonal taşınmasını kolaylaştırır (66,67).

Tau proteini, ortamdaki A β fazlalığından dolayı salınan kinazlarla temas ettiğinde, hiperfosforile olur. Hiperfosforilasyonu, oligomerler oluşturmaya yol açar. Mikrotübüller, tübül alt birimlerinin ayrışması nedeniyle kararsız hale gelir ve daha sonra NFT'lere dönüşen büyük Tau filamentleri parçalarını oluşturur (1).

Tau proteinleri, nörofibriler yumakların ana bileşenidir. Tau çözünür bir protein olduğu halde nöronun yapısını ve fonksiyonunu bozan nörofibriler yumakların oluşumu sırasında çözünmeyen agregatlar üretir. Tau monomerleri ilk önce oligomerler oluşturmak için birbirine bağlanır, daha sonra nörofibriler yumaklar oluşturmada önce β yaprak yapısı halinde toplanır. Amiloid kaskad hipotezi, Tau ve bunun sonucunda ortaya çıkan nörofibriler yumakların oluşumundaki değişikliklerin toksik A β oluşumunu arttırdığını ileri sürmektedir. Nörofibriler yumaklardaki Tau proteini hiperfosforile olur; ancak fosforilasyonun Tau'nun agregasyonuna neden olup olmadığı belirsizdir ve Tau'nun mikrotübüllere olan afinitesini azaltmada önemli bir görevi olduğu bilinmektedir. Tau filamentleri oluştuktan sonra, beynin diğer bölgelerine de bulaşabilir (68).

Alzheimerlı hastalarda, Tau proteinlerindeki bazı aminoasitlerin hiperfosforilasyonu, proteinlerin mikrotübüllerden ayrılmasına, aksonal transport yapısının bozulmasına, nöronların açıklığına ve sonuç olarak da hücre ölümüne sebep olur. Bu nedenle hiperfosforile Tau, hücre içi nörofibriler değişikliklere, AH'ye ve tauopatilerin patogenezinde önemli bir role sahiptir (69).

Tau'nun hiperfosforilasyonu, AH'nin gelişmesindeki en erken gelişen olaylardan biridir ve fosforilasyon derecesi, hem protein kinazların hem de fosfatazların anormal aktivitesini yansıtır. Alzheimerlı bireylerin beyinlerindeki aktif kinaz seviyelerindeki değişiklikler, kinazın yukarı regülasyonuna veya regülasyonunun bozulmasının bir sonucu olabilir (70).

Alzheimerlı hastaların beyinlerinden ölüm sonrası alınan dokudan elde edilen kanıtlar, glikojen sentaz kinaz 3- β (GSK3 β) ve siklin bağımlı kinaz 5 (CDK5) dahil olmak üzere

birçok kinazın düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir. GSK3 β ve CDK5, Tau proteinlerinin hiperfosforilasyonundan birincil olarak sorumlu kinazlar olmasına rağmen, Protein Kinaz C, Protein Kinaz A, ERK2, serin/treonin kinaz, kaspaz 3 ve kaspaz 9 gibi diğer kinazlar da A β tarafından aktive edilebilen önemli rollere sahiptir (71).

Tau fosforilasyonundaki rollerine ek olarak, anormal şekilde aktive edilmiş kinazlar, diğer mekanizmalar yoluyla nörodejenerasyonu teşvik edebilir. Aşırı aktif GSK3 β , nükleer faktör κ B (NF κ B) yoluyla inflamasyonu indükleyerek apoptozu ve aksonal taşınmanın bozulmasını teşvik eder (72).

Bu bulgular, artırılmış kinaz aktivitesinin patolojiye birçok yoldan katkıda bulunabileceğini ve bu enzimleri müdahale için çekici bir hedef haline getirdiğini göstermektedir (70).

2.4.3. Oksidatif Stres Hipotezi

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) insanlarda normal ve anormal birçok süreçte üretilir. Her ikisi de hücresel sinyal yollarında yararlı işlevlere sahipken hücre zarı, lipid, protein ve DNA gibi hücresel yapıların zarar görmesine de yol açabilirler (73).

Beyin mitokondriyal solunum yapan diğer dokulara göre %20 daha fazla oksijen kullanır. Bu da beyin oksidatif strese karşı daha savunmasız olduğu anlamına gelir. Nöron, çok sayıda çoklu doymamış yağ asidi içeren beyin temel işlevsel birimidir. ROS ile etkileşerek lipid peroksidasyonuna ve moleküler apoptozu yol açabilir, ayrıca nöronlarda daha az glutatyon olması da oksidatif stres hasarının nedenlerinden biridir (74).

2.4.4. Metal İyon Hipotezi

Metal iyonları, protein stabilizasyonu, hücresel iletişimi, enzimatik reaksiyon katalizi ve kanda oksijenin taşınması gibi birçok fonksiyonda görev alırlar. Özellikle bakır, çinko ve demir metalleri AH'nin patolojisi ile ilişkilidir (75).

Vücutta bulunan bakırın yaklaşık %9'u beyinde proteinlere bağlanmış olarak ve sinaptik havuzda serbest halde bulunmaktadır. Vücutta en fazla bulunan ikinci metal çinkodur ve genellikle beyinde lokalize olmuştur. Çinkonun nörolojik iletimde rolü tam olarak bilinmese de GABA (γ -aminobütirik asit) ve NMDA (N-metil D-aspartat) reseptörleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Beyin yüksek oksijen tüketimine bağlı olarak beyinde en

yoğun bulunan metal ise demirdir. Demir başta hemoglobin olmak üzere transferrin ve ferritin proteinlerine bağlanmış halde bulunur (76).

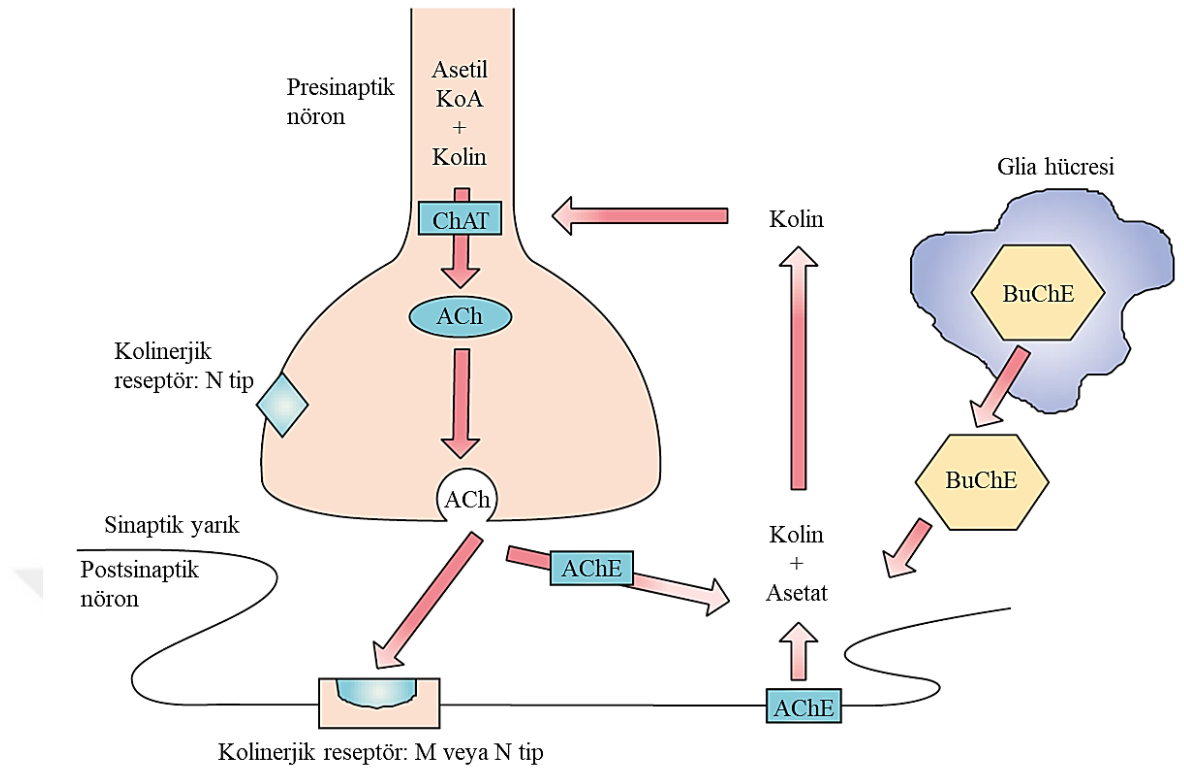
Metal dishomeostazı, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser dâhil olmak üzere birçok hastalığın ilerlemesinde ve patogeneğinde rol oynar. Özellikle demir ve bakır gibi redoks geçiş metallerinin dengesindeki değişiklikler reaktif oksijen türlerinin artmasına bu da oksidatif strese neden olur. Ayrıca demir, çinko ve bakır gibi geçiş metallerinin yüksek konsantrasyonlarda bulunması A β agregasyonunu ve NFT'lerin birikimini arttırarak nöroinflamasyona neden olur. Bu metallerin Alzheimerlı hastaların beyinlerdeki seviyelerinin yüksek olduğu bulunmuştur. Metal şelatlayıcılar ve iyonoforlar, geçiş metali homeostazının sağlanmasında bilinen en iyi modölatörleridir ve bu moleküllerin bir kısmı anti-Alzheimer tedavisi amacıyla klinik deneylerde kullanılmaktadır (77).

2.4.5. Kolinerjik Hipotez

Asetilkolin (ACh), bilişsel performansı, öğrenme ve hafıza sürecini düzenleyen nörotransmitterdir. Beyin hücrelerinin ağlarında, karmaşık bilişsel işlevlere hizmet edecek olan serebral kortikal devrelerin yeniden şekillenmesi için sinaptik bağlantılar kurar (73).

Kolinerjik sinir iletimi, nörotransmitter olan ACh'nin sentezinde, depolanmasında, taşınmasında ve degrade olmasına dayanır. ACh sentezi, kolinerjik nöronların sitoplazmasında gerçekleşir. Kolin asetiltransferaz (ChAT) enzimi, kolin ve asetil-koenzim A'dan (asetil-CoA) ACh'i sentezler. Bunu takiben nörotransmitter, veziküler asetilkolin taşıyıcısı (VAChT) tarafından sitozolden sinaptik veziküllere taşınır (78).

Nöronlardan salınan asetilkolin, nikotinik ve muskarinik kolinerjik reseptörlere bağlandıktan sonra postsinaptik nöronlarda ve sinaptik yarıқта asetilkolin esterase (AChE) ve bütirilkolin esterase (BuChE) enzimleriyle kolin ve asetata hidrolize olur (79).



Şekil 2.4: Kolinerjik iletim fizyolojisi (79)

Bartus ve ark. 1970'lerde sağlıklı yaşlıların ve demans hastalarının beynindeki kolinerjik aktivitenin işlev bozukluğunun hafıza kaybına ve buna bağlı olarak bilişsel bozulmada rol oynayabileceğine dair kolinerjik hipotezi önermişlerdir. Bu nedenle kolinerjik işlevin yeniden yapılandırılması ciddi bilişsel işlev eksikliğini azaltabilir (80).

Kolinerjik hipoteze göre, kolinerjik fonksiyondaki bozulma AH'de özellikle neokorteks ve hipokampusu içeren öğrenme, hafıza, davranış ve duygusal tepkilerle ilgilenen beyin alanlarında kritik öneme sahiptir. Beyin atrofisi, bir sinir hücresinden başka bir sinir hücresine elektriksel uyarıların iletilmesinden sorumlu bir nörotransmitter olan asetilkolin düzeylerinin, AChE enziminin hızlı hidrolizinden dolayı azalması AH'nin en belirgin klinik bulgusudur (81).

Asetilkolinin bellek ve öğrenmedeki rolünün tanınmasıyla birlikte, Alzheimerlı hastalarda kolinerjik aktiviteyi arttırmaya yönelik terapötik çalışmalar başlamıştır. Bu çalışmalar, presinaptik hücredeki asetilkolin sentezini ve salınımı arttırmak, postsinaptik hücredeki kolinerjik reseptörlerin stimülasyonunu sağlamak ve sinaptik yarıktaki AChE enzimi tarafından hidrolize edilen ACh'i yıkımını azaltmaktır. Asetinkolin esteraz inhibitörleri (AChEI) sayesinde sinaptik yarıktaki asetilkolini parçalayan kolinesteraz enzimini

bloke ederek kolinerjik iletimi güçlendirmeye yönelik çalışmalar yoğunlaşmıştır. AChEI'nden olan tetrahidroaminoakridin (takrin) ilk olarak Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından 1996 yılında AH'nin tedavisinin kullanımı için onaylanmıştır. Ancak takrinin kötü farmakokinetik etkileri dolayısıyla vazgeçilmiş ve donepezil, rivastigmin ve galantamin kullanımına başlanmıştır (82).

2.5. DİABETES MELLİTUS

2.5.1. Diabetes Mellitus Tanımı ve Epidemiyolojisi

Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği'nin 2020 yılında yayımlanan Diabetes Mellitus (DM) ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzuna göre DM, insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat (KH), yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, hiperglisemi ile karakterize olan sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik, geniş spektrumlu bir metabolizma bozukluğudur (83).

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) 2021 verilerine göre tüm dünyada 20-79 yaşları arasında 537 milyon yetişkin diyabetli yaşamaktadır. Bu da dünya nüfusunun 10'da 1'i yapmaktadır. Bu sayının 2030'da 643 milyona ve 2045'te 783 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (84).

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından diyabet prevalansı hakkında yayımlanan güncel veriler, 2020 yılında Türkiye'de 20-79 yaş aralığında yaklaşık 7 milyon diyabet hastası olduğunu ve bu rakamın toplam yetişkin nüfusun yaklaşık %15'ine denk geldiğini göstermektedir (85).

2.5.2. Diabetes Mellitusun Sınıflandırılması

Diyabetin ilk sınıflandırması 1979'da Ulusal Diyabet Veri Grubu (NDDG) tarafından yayınlanmış 1980 yılında da Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından onaylanmış ve 1985'te ise modifiye edilmiştir. DM'nin NDDG tarafından yapılan sınıflandırması, uygulanan farmakolojik tedaviye dayanmaktadır. Buna göre insüline bağımlı diabetes mellitus (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan diabetes mellitus (NIDDM) olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. NDDG ayrıca DM'yi (a) gestasyonel diyabet (b) yetersiz beslenmeye bağlı diabetes mellitus ve diğer bazı tiplerde alt sınıflara ayırmıştır (86).

NDDG tarafından yapılan bu sınıflandırma 1980'ler ve 1990'larda popüler hale geldiği halde NIDDM'li birkaç hastanın, hastalığını tedavi etmek için insüline ihtiyaç duyması ve bu hastaların hangi tip sınıflandırmaya dahil olacağı tam olarak bilinmemesi gibi problemler ortaya çıkmıştır. Diğer bir problem de diğer diyabet türleri hakkında daha fazla bilginin elde edilmesi ve diyabet patogenezi hakkında artan bilginin NDDG tarafından yapılan sınıflandırmada yetersiz kalmış olmasıdır (87).

Mevcut diyabet sınıflandırması 1997'de Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tarafından oluşturuldu ve yayınlanmıştır. Bu revize edilmiş sınıflandırma 1998'de DSÖ tarafından onaylanmış ve ADA tarafından 2003'te ve yine DSÖ tarafından 2006'da modifiye edilmiştir. Yeni sınıflandırma hastalığın tedavisine değil patogeneze dayanmaktadır. Buna göre dört ana kategori önerilmiştir. Bunlar: Tip 1 diabetes mellitus (T1DM), Tip 2 diabetes mellitus (T2DM), diğer spesifik diyabet türleri ve gestasyonel diyabettir (88).

Tablo 2.1: Diabetes Mellitus Sınıflandırması (86)

1. Tip 1 Diyabet
a. İmmün aracılı
b. İdiyopatik
2. Tip 2 Diyabet
3. Diğer Türleri
* β -Hücre Fonksiyonunun Genetik Kusurları (MODY, Mitokondriyal)
* İnsülin Fonksiyonundaki Genetik Kusurlar
* Ekzokrin Pankreas Hastalıkları
* Endokrinopatiler
* İlaç veya Kimyasal Kaynaklı olanlar
* Enfeksiyonlar
* Bağışıklık Aracılı Diyabetin yaygın olmayan formları
* Diğer genetik sendromlar (Down sendromu, Turner Sendromu vs.)
4. Gestasyonel Diyabet (GDM)

2.5.3. Tip 1 Diyabet

Daha önceleri juvenil başlangıçlı, ketoza eğilimli diyabet veya IDDM gibi terimlerle ifade edilen ve diyabetlilerin sadece %5-10'unu oluşturan bu diyabet formu, progresif insülin eksikliği ile sonuçlanan pankreasın β hücrelerinin hücresel aracılı otoimmün yıkımından kaynaklanmaktadır (89).

İmmün aracılı diyabet genellikle çocukluk ve ergenlik döneminde ortaya çıkar. β -hücrelerinin otoimmün yıkımı, genetik yatkınlığa sahiptir; ancak aynı zamanda hala tam olarak tanımlanamayan çevresel faktörlerle de ilişkilidir. Bu tip diyabetle başvuran hastalar nadiren obez olsalar da obezitenin varlığı tanı ile uyumsuz değildir. Bu hastalar ayrıca Graves hastalığı, Hashimoto tiroidi, Addison hastalığı, Çölyak hastalığı, otoimmün hepatit ve pernisiyöz anemi gibi diğer otoimmün hastalıklara da yatkındır (90).

Tip 1 diyabetin tanısı için özellikle β hücre fonksiyonu ölçümlerine, otoimmünite ölçümlerine veya spesifik genetik testlere ihtiyaç duyulur. Tip 1 diyabet tanısı ve teşhisi için β hücre fonksiyon testi, adacık hücresi antikörleri ve insülin otoantikörleri ve C-peptid testi gibi testler yapılarak belirlenebilir (89).

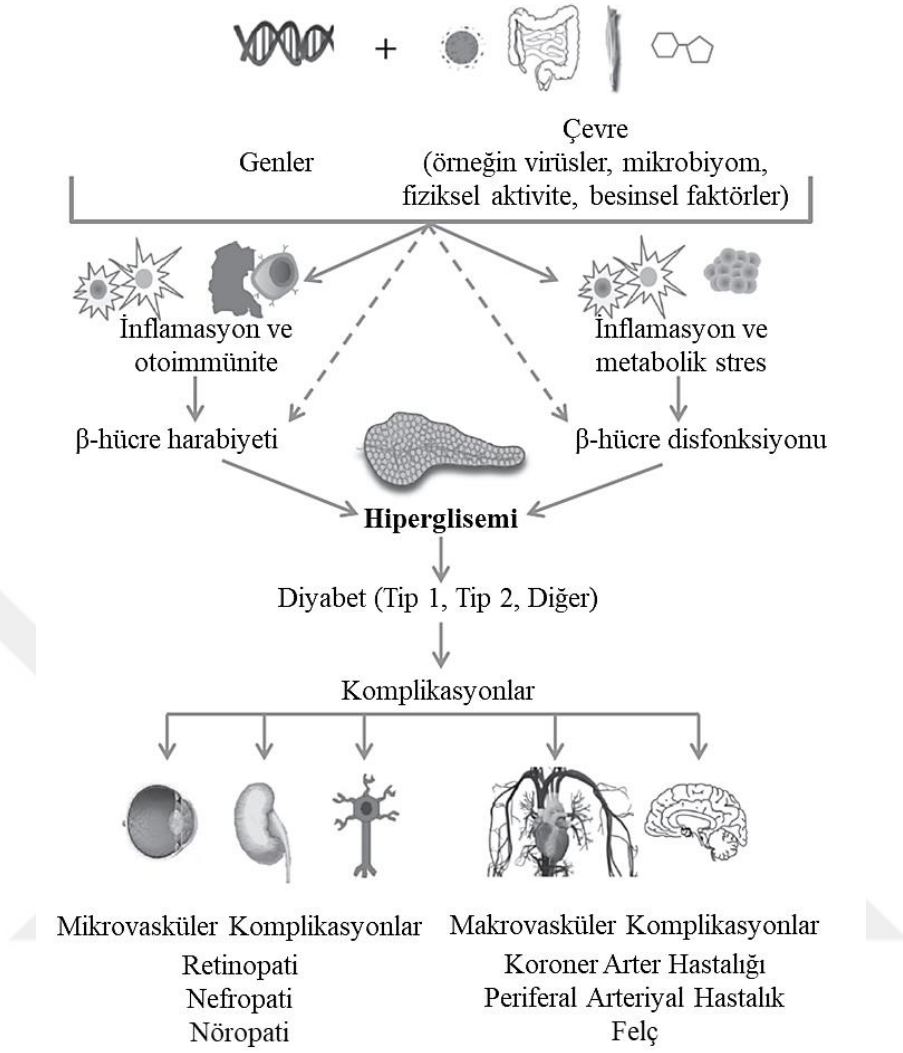
T1DM hastalığında β hücre yıkım hızı bebekler ve çocuklarda hızlı, yetişkinler de ise yavaş olmak üzere oldukça değişkendir. Özellikle çocuklar ve ergenler, hastalığın ilk belirtisi olarak ketoasidoz ile başvurabilirler. Diğerlerinde enfeksiyon veya stres varlığında hızla şiddetli hiperglisemiye ve/veya ketoasidoza dönüşebilen orta düzeyde açlık hiperglisemisi vardır. Yetişkinlerde fonksiyonunu daha yavaş kaybeden β hücreleri, kişileri yıllarca ketoasidozdan koruyabilir; ancak bu tür bireyler sonunda hayatta kalmak için insüline bağımlı hale gelirler ve ketoasidoz riski altındadırlar (91).

2.5.4. Tip 2 Diyabet

Daha önce insüline bağımlı olmayan diyabet, Tip 2 diyabet veya erişkin başlangıçlı diyabet olarak adlandırılan bir diyabet tipidir. Diyabetlilerin %90-95'ini oluşturan bu diyabet, insülin direnci olan ve genellikle genetik geçişli formudur. En azından başlangıçta ve/veya hayatta kalmak için bu bireylerin insülin tedavisine ihtiyaçları yoktur ya da hastalık durumlarına göre nadiren insüline bağımlı hale gelirler. Etiyolojisi bilinmemekle birlikte β -hücrelerinde otoimmün yıkım meydana gelmez (90).

T2DM, hiperglisemi, insülin direnci, göreceli insülin sekresyonun eksikliği ve/veya kombinasyonu ile karakterizedir. Bu, kas, karaciğer ve yağ hücrelerinin insüline duyarlılığının azalmasından kaynaklanır ki bu insülin direnci olarak da adlandırılır. Genelde yemekten hemen sonra pankreas tarafından insülin üretiminde artış olur. İnsülin için hedeflenen organlar yağ dokusu, iskelet kası ve karaciğerdir. İnsülin, kandan glukoz alımını indükler ve hücre içinde glukoz üretimini engelleyerek glikojenezi teşvik eder (92).

Progresif β -hücre yetmezliği T2DM hastalığının önemli bir özelliğidir. Hastalıkta ketoasidoz nadir görülür. Hastalık 40 yaşından sonra daha sık görülmektedir; ancak şimdilerde obezitedeki artış nedeniyle genç erişkinlerde ve ergenlerde arttığı gözlemlenmiştir. T2DM, obezite, hipertansiyon, dislipidemi dahil olmak üzere çeşitli metabolik bozukluklarla ilişkilidir. Ortaya çıkan metabolik bozukluk, retinopati, periferik nöropati ve nefropati gibi diyabet semptomlarının çoğunun doğrudan nedeni olan kronik hiperglisemiye yol açar ve hastalarda ateroskleroz ve felç gibi hastalıklarda da artış bulunmaktadır. Bu tip diyabetin spesifik nedeni bilinmemektedir; ancak hastalığı oluşturan çevresel ve genetik faktörleri çok heterojenik bir fenotiple birleştirir (86,92) .



Şekil 2.5: Diyabet Komplikasyonları (93)

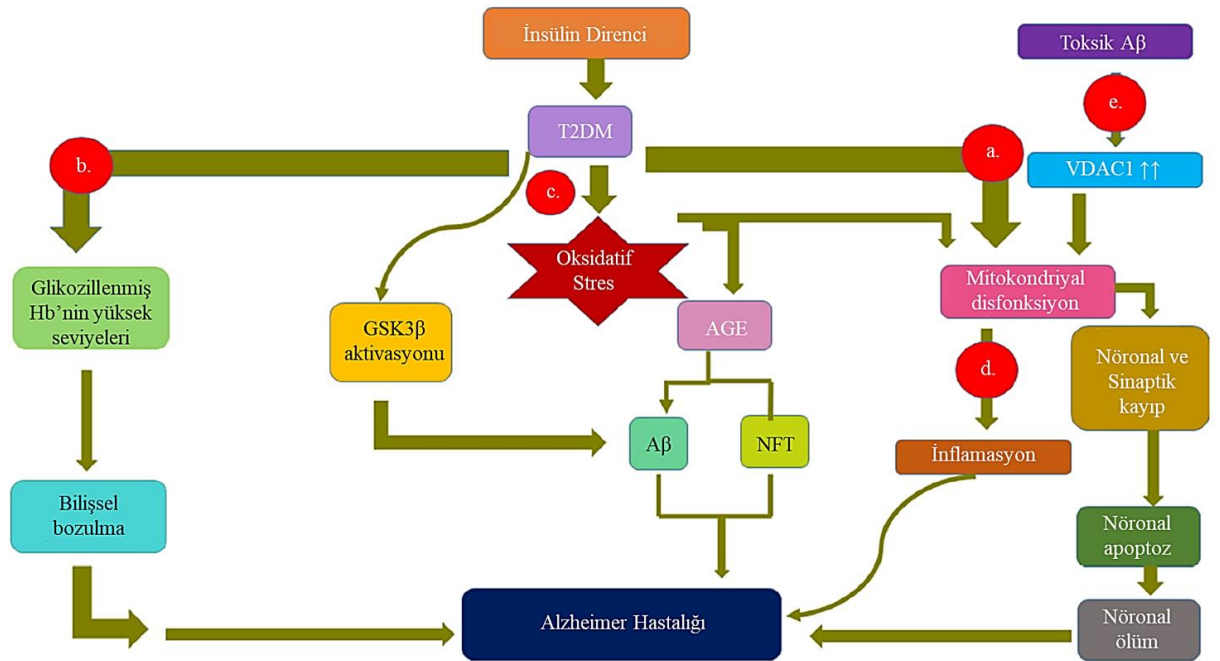
2.5.5. Tip 3 Diyabet

AH, patogenezinin bakıldığında hem genetik hem de çevresel faktörlerin rol oynadığı görülür. Alzheimer vakalarının küçük bir kısmı, hastalığın otozomal dominant geçişli olduğunu gösterir ve erken başlangıçlı ailesel Alzheimer vakalarında karakterize edilmiştir. AH için en iyi tanımlanmış risk faktörleri yaş ve ailede pozitif bir demans öyküsüdür; çünkü Alzheimer hastalarının üçte birinden fazlasının bir veya daha fazla etkilenmiş birinci derece akrabası vardır. AH gelişimi ile ilişkili olabilecek diğer risk faktörleri arasında şiddetli kafa travması, düşük eğitim düzeyi, kadın cinsiyeti, depresyon ve vasküler faktörler sayılabilir (93).

Önemli epidemiyolojik çalışmalar, T2DM'nin, nöronlarda enerji üretimi için glukozun absorbe olamaması nedeniyle bilişsel bozulmanın başladığını göstermiş ve aralarında güçlü bir ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. T2DM ve AH arasındaki ilişki karmaşıktır; her ikisi de insülin direnci, insülin büyüme faktörü (IGF), inflamatuvar yanıt, oksidatif stres, glikojen sentaz kinaz 3- β (GSK3 β) sinyal mekanizması, amiloid prekürsör proteinden A β oluşumu, nörofibriler yumak oluşumu ve asetilkolin esterase aktivite regülasyonu ile ilişkilidir (94).

Periferik insülin direnci beyinde de insülin direncinin gelişmesine katkıda bulunan bir faktör olabileceği, glukoz alımında bir azalmaya ve nihayetinde A β düzeylerinin artmasına yol açabileceği yapılan çalışmalarda açıkça görülmüştür. Hiperinsülinemi ve hiperglisemi varlığında senil plakların oluşumu hızlanır. BOS'taki insülin konsantrasyonunun kandaki insülin konsantrasyonuna oranı azalmıştır. Mitokondriyal mekanizmadaki değişiklikler, iki hastalık arasındaki ana bağlantı olmaya devam etmektedir (95).

Bir anabolik hormon olan insülin, artan oksidatif stresi önlediği için beyinde A β protein birikimine karşı koruyucu bir role sahiptir. Bu nedenle, özellikle T2DM ile insülin direnci, beyin A β proteinlerine duyarlılığını artırarak AH'nin ilerlemesi için gizli bir risk faktörü olabilir. T2DM ve AH arasındaki ortak mekanizmalar nedeniyle; araştırmacılar bu hastalığı Tip 3 Diyabet (T3DM) olarak adlandırmıştır (96).



Şekil 2.6: Alzheimer hastalığında T2DM/insülin direncinin şematik gösterimi (98)

2.6. GLİKOJEN SENTAZ KİNAZ 3- β (GSK3- β)

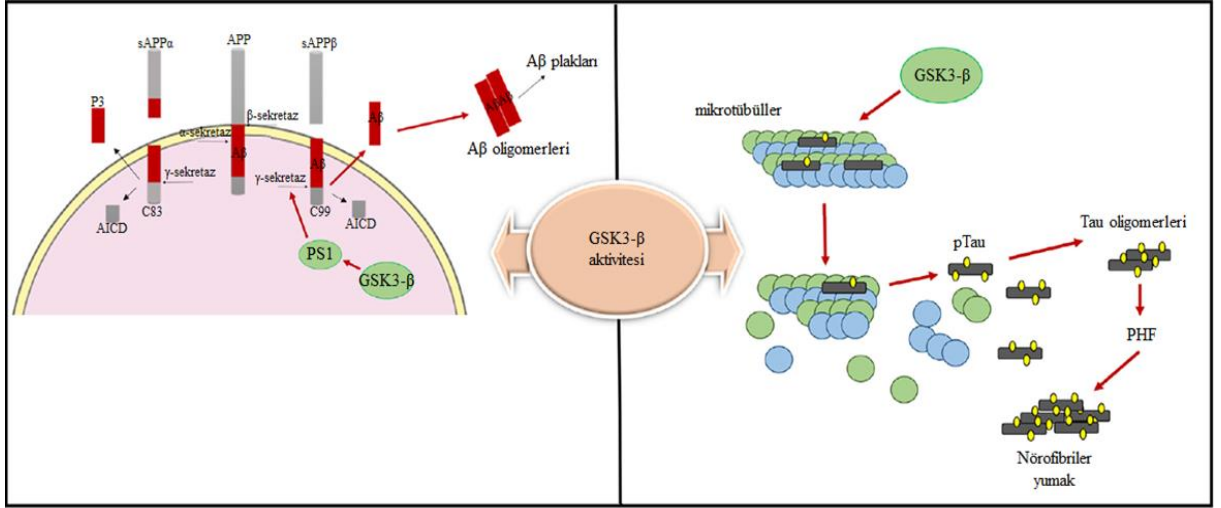
Bir Ser/Thr kinazı olan glikojen sentaz kinaz 3 (GSK3, EC 2.7.11.26), adını glikojen sentezinde yer alan ve bir anahtar enzim olan glikojen sentazdan (GS) alır. İki farklı gen tarafından kodlanan GSK3, GSK3- α ve GSK3- β olmak üzere iki izoformu vardır. (97)

Benzer yapılarının aksine, bu izoenzimlerin farklı substratlar üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Aslında in-vivo çalışmalar, GSK3- β 'nin tamamen ortadan kaldırılmasının bir embriyoda ölüme neden olmak için yeterli olabileceğini gösterse de GSK3- α genetik delesyonunun hayatta kalma üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (98,99).

GSK3, hücre apoptozu, farklılaşması, proliferasyonu ve mikrotübül morfolojisi, insülin sinyali, nöronal fonksiyon, onkogenezen embriyonik gelişimde dahil olmak üzere birçok hayati hücreyel sürecin düzenlenmesinde yer almıştır (100).

Glikojen sentaz kinaz 3 aktif bir enzim olmakla birlikte MSS'de yüksek düzeyde eksprese edilir ve Alzheimer, diyabet, bipolar bozukluk, Huntington hastalığı ve diğer nörodejeneratif bozukluklar gibi çeşitli nörolojik bozukluklarla ilişkilidir (101).

Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda GSK3- β 'nin aktivasyonu APP'nin bölünmesini modüle ederek Alzheimerlı beyinde A β oluşumunu ve birikimini göstermiştir. Beyinde amiloidojenik olmayan ve amiloidojenik olan iki farklı yol farklı proteazların etkisiyle APP'nin bölünmesinde rol oynar. APP'nin amiloidojenik olmayan yolda bölünmesi, α -sekretaz kompleksi ve γ -sekretaz tarafından yapılır. α -sekretaz tarafından yapılan bölünme sonucunda kolayca parçalanen peptidler üretilir. Buna karşılık AH'de amiloidojenik yolda APP başlangıçta β -sekretaz (BACE-1) enzimi tarafından parçalanır, ardından fibrilleşmeye ve oligomerleşmeye sonunda da A β peptidlerinin oluşumuna ve birikimine neden olan γ -sekretaz kompleksi tarafından parçalanır. Önceki çalışmalar, γ -sekretaz kompleksinin katalitik bileşenlerinden olan APP ve PS1'in GSK3- β 'nin substratları olarak tanımlamış (Şekil 2.7), bu da APP'nin bölünmesinin ve PS1 fonksiyonunun GSK3- β aktivitesinden etkilendiğini ve sonuç olarak da AH'de daha yüksek A β üretimine ve birikmesine neden olduğunu düşündürmüştür (102,103).



Şekil 2.7: GSK3-β'nin Aβ ve tau metabolizmasına etkisi (106)

Tau, mikrotübülleri stabilize ettiği bilinen bir proteindir (MAP). Tau'nun fonksiyonu esas olarak mikrotübüllerin fosforilasyon durumuna bağlıdır. AH'de tau proteinleri hiperfosforillenerek sitoplazmada birikir. Bu da mikrotübüllerin parçalanmasına, nöronal bütünlüğün kaybolmasına ve sonuç olarak da NFT'lerin oluşumuna yol açar (104).

Tau'nun hiperfosforilasyonu üzerine daha önce yapılan çalışmaların çoğu beyindeki kinaz/fosfataz dengesizliğini araştırmış ve AH patolojisinde GSK3-β'yi Tau'nun fosforilasyonunda rol oynayan temel kinaz olarak tanımlamıştır (105). AH'de, Tau'nun GSK3-β ve diğer kinazlar tarafından hiperfosforilasyonu çözünmeyen kümeler halinde toplanmasını teşvik ettiği ileri sürülmüştür (Şekil 2.8) (101).



Şekil 2.8: Tau proteinlerinin GSK3-β tarafından hiperfosforilasyonu (103)

GSK3-β tarafından fosforillenen Tau proteininin önemli sayıda aminoasit kalıntısı vardır. AH'de Tau proteininin hangi bölgelerinin fosforillendiğini araştıran çalışmalar yapılmış ve Tau proteininin GSK3-β aracılı fosforilasyonu, mikrotübül bağlanma bölgelerine

ve bunların aminoasit kalıntılarına yakın olan alanlarda olduğu görülmüştür (106).

Protein-protein etkileşimlerinin bu bağlanma alanlarında yer aldığı bilinmektedir, bu nedenle GSK3- β ile indüklenen tau fosforilasyonu toksik bir şekilde kendi kendine toplanmaya eğilimlidir (Şekil 2.7) (107).

Transgenik Alzheimer modeli oluşturulmuş Drosophilalar ile yapılan bir çalışmada GSK3- β 'nin anormal up-regülasyonunun, toksik Tau agregatlarının birikimi ile pozitif korelasyon gösterdiği görülmüştür (106).

Yapılmış in vivo çalışmaların sonuçları in vitro çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olarak bulunmuştur. İnsan nöroblastom hücrelerinin AH'de Tau patolojisine çarpıcı bir şekilde benzeyen GSK3- β aracılı fosforilasyondan kaynaklanan agregatlarının oluştuğu gösterilmiştir (108). Bu nedenle yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar, GSK3- β inhibe edildiğinde Tau'nun hiperfosforile olamadığını gösterdiğinden Tau patolojisine karşı ilaç keşfetme ve geliştirme programlarının çoğu GSK3'ü hedef olarak belirlemiştir (109,110).

GSK-3, inhibitör çalışmalarının genellikle odak noktası olmuştur ve lityum klorür (LiCl), indirubinler, paullonlar, tiadiazolidinonlar (TDZD), maleimidler ve tiyazoller dahil olmak üzere birkaç GSK-3 inhibitörü sınıfı araştırılmış ve tedavi amacıyla kullanılmıştır (69).

2.7. GLUKOZ TAŞIYICISI- 4 (GLUT4)

Glukoz beyindeki en önemli ve eşsiz enerji maddesidir ve beyindeki nöronların yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü korumada anahtar rol oynar. Ayrıca beyin öğrenme ve hafızayı destekleyen ana nöromodülatörlerden biri olduğu bilinmektedir. Sonuç olarak, glukoz metabolik bozuklukları her zaman bilişsel bozukluklara neden olur (111).

Glukoz metabolik bozukluklarının bilişsel bozukluklara neden olduğu mekanizma için birkaç hipotez önerilmiştir. Bunlar, bilişsel aktivitenin hipokampüste hücre dışı glukozu tüketebileceğini öne süren “hipokampal hipotezi ve fetal alkol spektrum bozukluğu (FASD) olan beyinlerde görülen insülin/insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) sinyalleşmesindeki bozulmaların aracılık ettiğini öne süren “insülin hipotezi”dir (112). Bununla birlikte, glukoz metabolik bozukluklarının neden olduğu öğrenme ve hafıza eksiklikleri için spesifik mekanizma belirsizliğini korumaktadır (113).

Glukoz, memeli hücrelerde ana enerji kaynağıdır ve plazma zarı boyunca hareketi, başta GLUT'lar olmak üzere taşıyıcılar tarafından gerçekleştirilir (114). Beyinde, SLC2 ailesine ait kolaylaştırıcı difüzyon yapan GLUT1, GLUT2, GLUT3 ve GLUT4 taşıyıcıları ve SGLT1 dahil olmak üzere SLC5 ailesine ait Na^+ -D-glukoz ortak taşıyıcıları tespit edilmiştir (115).

GLUT4, vücut glukoz homeostazının düzenlenmesinde anahtar rol oynayan insüline duyarlı bir glukoz taşıyıcısıdır. GLUT4 en çok yağ dokusu, iskelet kası ve kalpte eksprese edilir. Hücre dışı insüline yanıt olarak hücre içi bölmelerden plazma zarına aktarılır (116). Glukoz açısından zengin gıdaların alınmasından sonra kan şekeri yükseldiğinde ve pankreas insülin salgısı indüklendiğinde insülin aracılı D-glukozun adipositlere ve kas hücrelerine alımının hızlandırılması kan şekeri artışını dengeler. Pankreatik insülin sekresyonunun bozulduğu, yağ ve kas hücrelerindeki insülin reseptörlerinin duyarlılığının azaldığı T2DM'de bu düzenleyici devre kusurludur. İnsan GLUT4'ü D-glukoz ve D-galaktozu taşır; ancak substrat olarak D-fruktozu kabul etmez (117).

Beyindeki GLUT4'ün nöronları hareketlendirmek için metabolik enerjinin sağlanmasında, aktif nöronal devrelerin insüline bağımlı olarak düzenlenmesinde ve tüm vücut glukoz homeostazının sağlanmasında yer aldığı varsayılmaktadır. Hareketlenen nöronlarda artan enerji talebi ATP sentezinin up-regülasyonu ile karşılanır (118). Glikoliz ve mitokondriyal ATP sentezi ile ATP üretimi için hücre içi glukoz gereklidir. Sürekli nöronal aktivasyon sırasında artan enerji talebinin, GLUT4'ün aksonal plazma zarına yerleştirilmesini desteklediğine ve GLUT4'ün eklenmesinin AMP ile aktive olan protein kinazın (AMPK) kontrolü altında olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır (119). Motorik nöronlarda, enerji talebi egzersiz sırasında keskin bir şekilde artarken, hipokampal nöronlardaki enerji talebi, entelektüel zorlama veya duygusal strese yanıt olarak artar (115).

Araştırmacılar, GLUT4'ün hipokampus gibi yüksek enerji ihtiyacı olan nöronlarda bulunması nedeniyle, GLUT4'ün artan enerji talebi zamanlarında nöronlara glukoz arzı talebini karşılamada başlıca nöronal glukoz taşıyıcısı olan GLUT3'ü desteklediğini tahmin etmişlerdir (120). GLUT4'ün bu rolü muhtemelen nöronlara özgüdür. Hipokampüste GLUT4 insülin reseptörlerinin olduğu her yerde bol gibi görünmektedir; ancak bunun tersi doğru değildir. İnsülin reseptörleri nöronlar, astrositler, endotelyal ve mikrogliya gibi birçok hücre tipinde tanımlanmış olsa da GLUT4 nörona özgü lokalizasyon gösterir. Yapılan birkaç çalışma, hipokampal GLUT4 için 'talep üzerine enerji arzı' hipotezini desteklemektedir (121).

İnsülin, ön beyin, hipotalamus ve hipokampus dahil olmak üzere beyin çeşitli bölgelerinde bulunan nöronlardaki insülin reseptörü ile etkileşime girer ve beyinde önemli düzenleyici roller oynar. İnsülin, nöronal aktivite üzerinde D-glukoz aracılı etkilerinin yanı sıra doğrudan etkiler de gösterebilir. İnsülinin kortikal ve hipokampal nöronlar ve nöronal progenitör hücreler tarafından sentezlendiğine dair kanıtlar sunulmuştur (122).

İnsülin direnci hipokampal bilişsel ve metabolik süreçleri bozduğundan, beyin insülin direncinin moleküler sonuçlarını belirlemek önemlidir (123). Öğrenme ve hafıza oluşumu sırasında, GLUT4, nöronal membranlara yerleşir ve fosfatidilinositol 3 kinaz-protein kinaz B (PI3K-Akt) sinyal yolunu içeren bir süreç yoluyla sinapsların yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü korumak için nöronlara bir glukoz kaynağı sağlar (124).

2.8. GLUKAGON BENZERİ (LIKE) PEPTİT-1 (GLP-1)

İnkretinlerin 1932'de La Barre J. tarafından tanımlandığından beri T2DM patofizyolojisi üzerindeki etkileri her geçen gün artmaktadır. İnkretin kelimesi, “**IN**testinal se**CRET**ion of **IN**sulin”den oluşur. İnce bağırsağın distalinden salgılanan glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve duodenumdan salgılanan glukoz bağımlı insülinotropik polipeptit (GIP) şimdiye kadar açıklanan inkretin hormonlarıdır. GLP-1, proglukagon geninin prohormon dönüştürücü 1/3 (PC1/3) tarafından dokuya özgü posttranslasyonel işlemeden türetilen 30 amino asit uzunluğunda bir peptid hormonudur. Proglukagonun nihai ürünleri bağırsaklarda GLP-1, GLP-2, glisin ve oksintomodulin'dir (23,125).

GLP-1 esas olarak bağırsağın enteroendokrin L hücrelerinde üretilir ve besin duodenuma girdiğinde kan dolaşımına salgılanır. Besin, yağ ve/veya protein ve/veya glukoz içerebilir. GLP-1 salınımı, besin içeriğinden bağımsızdır. GLP-1 ayrıca merkezi sinir sisteminde (MSS), ağırlıklı olarak beyin sapında üretilir ve MSS'deki bazı bölgelere taşınır. Beyinde preproglukagon, nükleus traktus solitarius'ta (NTS) yapılır. Bu alandaki nöronal hücreler GLP-1'i sentezleyebilir ve hipotalamusa, bazı talamik ve kortikal bölgelere kadar uzanır (24).

İnsanlarda, besin alımına yanıt olarak GLP-1 salgılanması, hem erken (30-45 dakika) hem de daha sonra (60-90 dakika) bir tepe noktası ile iki fazlıdır (126). Erken pik, proksimal bağırsaktaki besinler tarafından sinir vagusunun aktivasyonu yoluyla dolaylı olarak aracılık eder, bu daha sonra L hücreleri tarafından eksprese edilen muskarinik reseptörleri uyarır.

Buna karşılık, GLP-1 salgılanmasının sonraki zirvesi, lümen besinlerin doğrudan L hücresi tarafından algılanmasıyla indüklenir (127).

GLP-1, multifonksiyonel bir peptittir. GLP-1, beyin sapı içindeki soliter yolun nöronal seviyesinde üretilir. Ek olarak, bağırsaktan salınan bu peptid, hepato-portal glukoz sensörünü oluşturan vagal duyu nöronları üzerinde bulunan GLP-1R'yi aktive ederek, beyin sapı nöronları ile iletişim kurarak, etkisini farklı beyin bölgelerine yayar. Birkaç çalışma, GLP-1'in termojenez, kan basıncı kontrolü, nörojenez, nörodejenerasyon, retina onarımı ve enerji homeostazı gibi nöronal fonksiyon üzerindeki etkisini göstermiştir (128).

GLP-1R'ler farklı beyin bölgelerinde eksprese edildiğinden, GLP-1, tokluk kontrolü, su alımı ve stres reaksiyonu dahil olmak üzere farklı özel etkilerde yer alan bir nöropeptid gibi davranır. GLP-1 ile uyarılan beyin GLP-1R'leri, çoklu stres tepkilerinin aracısıdır (129–131). GLP-1'in doğrudan sıçan beynine uygulanması, stresle aktive olan ACTH ve kortikosteron hormonlarının daha yüksek üretimi ile bağlantılı olarak kaygı düzeyini artırır. GLP-1, hem amigdala hem de hipotalamusun paraventriküler çekirdeği tarafından aynı anda bir yanıtı uyatabildiğini gösterir (131).

Dolaşımdaki GLP-1 artışı beyne ulaşabilir ve gıda alımını düzenleyebilir (132). Son çalışmalar, deksametazon (GLP-1/Dexa) ile GLP-1'in kombinasyonu, ruh hali veya hafıza kayıplarına neden olmadan obez farelerde gıda alımını azaltabildiğini ve vücut ağırlığını azaltabildiğini göstermiştir (133). T2DM, insülin duyarlılığının değişmesi ve nörogenez bozuklukları, besinlere yanıt olarak GLP-1 düzeylerinde bir düşme ve bunun sinyal aktivitesi ile ilişkilidir (134).

Son zamanlarda, birkaç grup GLP-1'in nörolojik ve bilişsel işlevlerin düzenlenmesine katkıda bulunduğunu bildirmiştir (135). Gerçekten de GLP-1 sinaptik plastisitenin kontrolünde ve bazı nöroproteksiyon (nöron korunması) formlarında yer alır. Bu nedenle öğrenme, hafıza ve diğer sinaptik fonksiyonla bağlantılı çeşitli sinyal yollarında düzenleyici bir role sahiptir (23,136).

GLP-1 reseptör agonistleri (GLP-1RAs), hayvan modellerinde beyin iskemisi üzerinde, beyin enfarktüsü alanının azaltılması ve nörolojik açığın iyileştirilmesi gibi, esas olarak oksidatif stres, iltihaplanma ve apoptozun inhibisyonu yoluyla etki gösteren faydalı etkiler göstermiştir (137). Sinaptik plastisiteyi modüle ederek öğrenmeyi ve hafızayı geliştiren diyabet veya obezitenin neden olduğu bilişsel bozulma üzerinde de faydalı bir etki gösterebilirler (138). Ayrıca, GLP-1RA'lar hipokampal nörodejenerasyonu azalttığı bildirilmiştir (139).

AH'nin hayvan modellerinde GLP-1 reseptör agonistlerinin (GLP-1RA) nöroprotektif etkileri hakkında büyük miktarda kanıt bulunmasına rağmen, insan çalışmaları hala yetersizdir. Alzheimer'lı hastalarda yapılan randomize, kontrollü, çift kör çalışmasında, plaseboya kıyasla 6 ay boyunca liraglutid ile tedavi edilen hastalarda A β birikimi üzerinde hiçbir etki gözlenmemiştir (140). Gejl ve ark. (141)'nin 2016 tarihli, randomize, plasebo kontrollü, çift kör klinik çalışmasında, liraglutid ile tedavi edilen Alzheimer'lı hastalarda plaseboya kıyasla birden fazla bölgede glukoz metabolizması artmış olsa da, çalışmanın istatistiksel gücü, A β yükü ve kognisyon önlemleri hakkında bir sonuca varmak için yetersiz bulunmuştur.

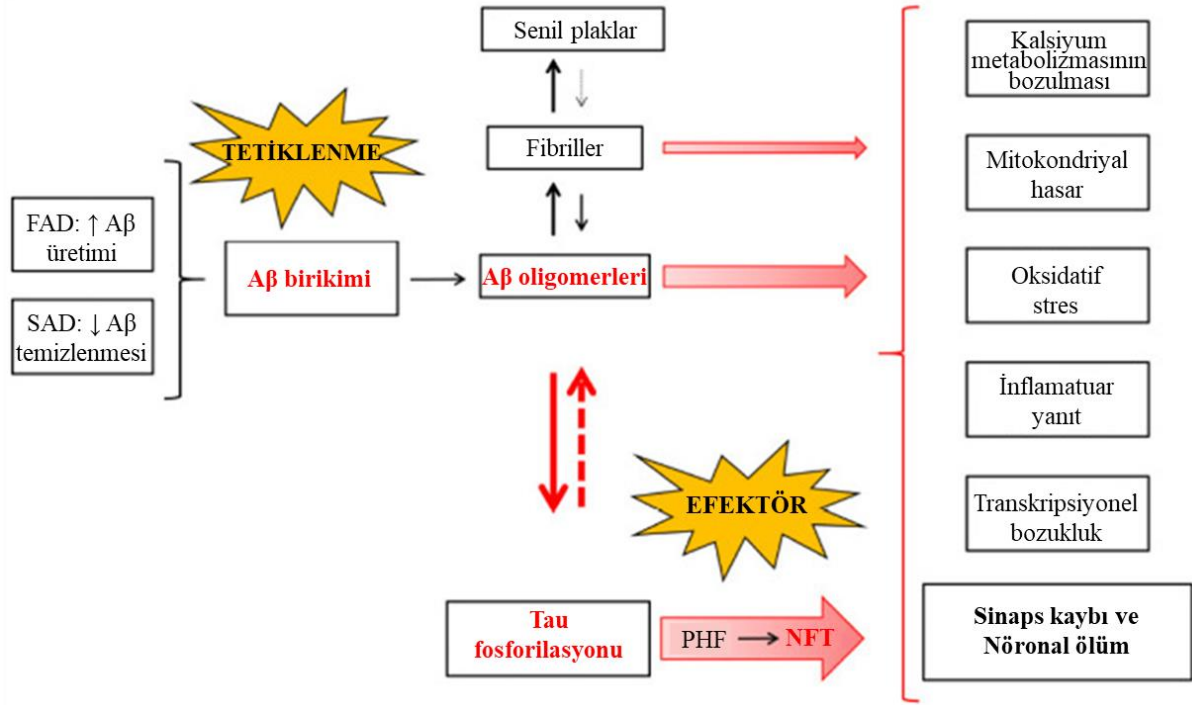
2.9. AMİLOİD BETA (A β)

Amiloid- β (A β), esas olarak nöronlarda üretilen 4 kDa'lık bir peptittir. A β , transmembran protein amiloid prekürsör proteininin (APP) β -sekretaz ve γ sekretaz tarafından sıralı bölünmesiyle oluşturulan, 39-43 kalıntı uzunluğunda A β fragmanlarıdır. A β birikiminin AH'nin gelişiminde merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir. A β 'nin senil plaklar şeklinde birikmesi, hastalığın patolojik bir özelliğidir. A β 'nin en yaygın iki izoformu, uzunluk olarak A β 40 ve A β 42 kalıntısıdır. Yaygın olarak kabul edilen amiloid kaskadı hipotezine göre, özellikle daha uzun ve daha amiloidojenik formu A β 42'nin artan A β üretimi, amiloid plaklarının oluşumuna yol açar (142).

Hücre dışı yerleşimli plaklar daha sonra hücre içi yerleşimli nörofibriler yumakların oluşumuna neden olur. AH'nin bir diğer temel özelliği beynin ve nöronal ölüme neden olmasıdır. A β 'nin bu temporal dizilimdeki birincil rolünü destekleyen iyi deneysel kanıtlar vardır. Genetik olarak AH'ye bağlı olan mutasyonlar, yani APP, presenilin 1 (PS1) ve presenilin 2 (PS2)'yi kodlayan genlerdeki mutasyonlar, A β metabolizmasında değişiklikler ile toplam A β veya A β 42'nin beyinde yükselmesine neden olur (143).

1992 yılında ailesel Alzheimer hastalığı vakaları göz önüne alındığında, APP geninin 21. kromozom üzerindeki yerleşiminin Down sendromlu bireylerin orta ve geç yaşta AH'ye yakalanmalarına neden olduğu gerçeğiyle birlikte amiloid kaskadı hipotezi (AKH) olduğu varsayılmıştır (144,145) (Şekil 2.9). AKH, A β peptid birikiminin nörofilament düğümleri şeklinde tau hiperfosforilasyonunu ve kümelenmesini tetiklediğini ve bu kümelenmelerin inflamasyona, sinaptik bozulmaya, nöronal kayba, dolayısıyla bilişsel düşüşe ve davranışsal anormalliklere yol açtığını belirtir. Bununla birlikte, sporadik AH (SAH) içeren A β oto-antikorlarındaki azalma A β klirensinde bir bozulmaya işaret ettiğinden, A β 'nin aşırı üretimi

AH'nın tek nedeni değildir. SAH geliştirmek için en iyi bilinen genetik risk faktörü, apolipoprotein E'yi kodlayan apolipoprotein E (APOE) genidir ve risk, özellikle APOEε4 aleli mevcut olduğunda ortaya çıkar (146,147).



Şekil 2.9: Amiloid Kaskat Hipotezi (147)

Aβ sentezinde genetik olarak belirlenmiş herhangi bir artışın yokluğunda amiloid plakların nasıl oluşabileceği açıklanamamıştır. Dikkat çekici bir şekilde, AKH, nöronlarda ve diğer birçok hücrede meydana geldiği bilinen bazal Aβ üretimi için herhangi bir açıklama içermemektedir. Bu nedenle Aβ'nın fizyolojik rolünün gizemini korumaya devam etmesi şaşırtıcı değildir. APP ve PS genlerindeki mutasyonların aksine, normal yaşlanma, ailesel AH (artan Aβ üretim seviyelerine rağmen beyin gerekli bir aşamaya gelene kadar gelişmeyen) dahil olmak üzere tüm ALZ vakalarına açık bir katkıda bulunan bir faktörü temsil eder. Yaşlanan beyinde Aβ birikiminden hangi faktörlerin sorumlu olduğu açık değildir (148,149).

Son zamanlarda, Aβ'nın geçiş metal iyonları için çok verimli bir şelatör olduğu gösterilmiştir. Diğer geçiş metallerine göre daha etkili bir oksidasyon katalizörü olan bakır için özellikle güçlü bağlanma gözlenir. Aβ1-42, Cu(II)'ye Aβ1-40'tan daha yüksek afiniteye sahiptir; bu, etilenamintetraasetik asitler gibi şimdiye kadar bilinen en iyi metal şelatörlerin afinitesi ile karşılaştırılabilir. Bakır ile karşılaştırıldığında demir, Aβ için daha az uygun bir

ligandır. A β , afinitelerinde farklılık gösteren bakır için (artık 6 ve 14 arasında yer alan) iki bağlanma bölgesine sahip görünmektedir (150).

A42'nin A40'tan daha etkili bir indirgeyici olduğunu belirtmekte fayda vardır (151). Bu da metal şelatör olarak daha yüksek verimliliği ile ilişkilendirilebilir (150). Bu nedenle, A β tarafından metal indirgeme etkinliği, metalin peptite bağlanmasının etkinliğinden etkilenebilir. Bununla uyumlu olarak A β , Cu (II)'yi Fe (III)'den daha verimli bir şekilde azaltır.

Bu veriler, A β 'nin benzersiz bir redoks özellikleri kombinasyonuna sahip olduğunu göstermektedir. A β , metal indirgeme aktivitesine sahip lipofilik bir metal şelatördür. Bugüne kadar bilinen fizyolojik metal şelatörleri, esas olarak metal oksitleyici aktiviteye sahip hidrofilik proteinlerdir (152). Metal şelatlama, metal indirgeme ve radikal temizlemeden oluşan karmaşık bir kombinasyondur. Bu nedenle, temel olarak anti- ve pro-oksidatif etkilerin tam spektrumunu kapsayabilen, A β 'nin oksidasyona yönelik genel aktivitesini yönetmesi beklenebilir.

A β 'nin (mikromolar konsantrasyonlarda) lipoprotein oksidasyonu üzerindeki pro-oksidan etkisinin (153) düşük geçiş metalleri konsantrasyonlarında (154) vitamin E'ninkine çok benzediğini belirtmek ilginçtir. Geçiş metallerinin konsantrasyonları azaldığında, E vitamini lipoprotein oksidasyonuna yönelik aktivitesini anti-oksidatiftan prooksidatife değiştirir ve α -tokoferol aracılı peroksidasyon yoluyla işlev görür (155). C vitamininin yokluğunda, lipoproteinlerin E vitamini içeriğindeki artış, hem metal redüksiyonunu (156) hem de lipoprotein oksidasyonunu (157) hızlandırır ve A β varlığında kaydedilenlere benzer oksidasyon kinetiği ile sonuçlanır. Bu ayrıca, A β 'nin pro-oksidatif etkisinde metal indirgemenin merkezi rolünü tartışır (153).

Pro-oksidatif özelliklerin aksine, A β peptidlerinin antioksidan aktivitesi neredeyse hiç çalışılmamıştır. Güçlü metal şelatörlerinin tipik olarak güçlü antioksidanlar olduğu ve A β 'nin metal bağlama özelliklerinin uzun süredir bilindiği gerçeği göz önüne alındığında, bu biraz şaşırtıcıdır. Son zamanlarda, insan BOS ve plazmadan eksojen olarak eklenen A β 'nin lipoproteinlerin metal katalizli oksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (153). Etki bu biyolojik sıvılarda (0.1-1.0 nM) ölçülen peptid konsantrasyonunda gözlenirken, daha yüksek A β konsantrasyonlarında antioksidan etkisi ortadan kalkar.

Hem A β 1-40 hem de A β 1-42 etkili antioksidanlardır, oysa A β 25-35 fragmanı çok daha az etkilidir. Buna karşılık, tüm A β peptidleri, metalden bağımsız lipoprotein oksidasyonunu önemli ölçüde etkileyemezler; bu, A β 'nin antioksidan aktivitesinin, Met35

yoluyla serbest radikal temizlemesinden ziyade, esas olarak geçiş metal iyonlarının hidrofilik kısmı tarafından şelatlanması aracılığıyla gerçekleştiğini düşündürür (158).

A β 'nin in vivo antioksidan rolü, AH nöronlarına oksidatif hasarın dağılımına ilişkin son verilerle uyumludur. Nükleik asit oksidasyonunun önemli bir ürünü olan 8-hidroksiguanozin (8OHG), AH'deki serebral nöronların sitoplazmasında belirgin bir şekilde birikir. Beklenmedik bir şekilde, AH korteksindeki A β birikimindeki bir artış, nöronal 8OHG seviyesinde bir azalma ile yani oksidatif hasarın azalmasıyla ilişkilidir (159). Bu nedenle, yaygın amiloid plakların oluşumu, oksidatif stresi azaltan bir telafi edici yanıt olarak düşünülebilir (160).

2.10. İNTERLÖKİN-1 (IL-1)

Pro-inflamatuar sitokin interlökin-1 (IL-1) 1970'lerde keşfedilmiş ve inflamasyondaki, özellikle ateş, lenfosit aktivasyonu ve hematopoezdeki işlevleriyle tanınmıştır (161). IL-1 ve IL-1 reseptörü ile ilgili moleküllerin gen klonlanması ve moleküler tanımlanması, artık evrimsel olarak korunmuş ligandları ve reseptörleri içeren bir "sistem" olarak kabul edilen tüm IL-1 ailesinin tanımlanmasına izin verdi. IL-1 aile reseptörlerinin yeni bir isimlendirmesi yakın zamanda önerilmiştir (162). IL-1 sistemi, agonist aktiviteye sahip ligandları (IL-1 α , IL-1 β , IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β ve IL-36 γ), reseptör antagonistlerini (IL-1Ra, IL) içerir. Ayrıca IL-36R α , IL-38 ve bir anti-inflamatuar sitokin olan IL-37 ve sinyal molekülleri olarak görev yapan reseptörler (IL-1R1, IL-1R4/ST2, IL-1R5/IL-18R α , IL1R6/IL-1Rrp2/IL-36R), yardımcı proteinler (IL-1R3/IL-1RAcP, IL1R7/IL-18R β), tuzak veya negatif düzenleyici reseptörler (IL-1R2, IL-1R8/SIGIRR/TIR8) bulunur. Son olarak, sistem hala yetim olarak kabul edilen veya işlevi yetersiz tanımlanmış (IL-1R9/TIGIRR-2, IL-1R10/TIGIRR-1) reseptörleri de içerir (162).

İnflamasyonla ilgili faktörler arasında, IL-1 ailesinin sitokinleri ve reseptörleri, inflamatuvar tepkilerini aktive etme ve düzenleme yetenekleri açısından özellikle önemlidir (163,164). İnflamatuvar bir sitokin olan IL-1 β ve onun izoform sitokini IL-1 α , büyük olasılıkla zararlı vazoaktif etkilerinden dolayı genellikle dolaşımda sadece çok düşük seviyelerde bulunur (165). IL-1 β ve IL-1 α 'nın aktivitesi, bir dizi tuzak reseptör ve çözünür antagonistler tarafından etkin bir şekilde düzenlenir. IL-1 α ve β , aksesuar zinciri IL-1R3 ile bir sinyal kompleksi oluşturan IL-1R1 reseptörüne bağlanır. IL-1R1, sinyal kompleksinin oluşumunu bloke eden ve böylece IL-1 ile indüklenen reseptör aracılı inflamatuvar

aktivasyonu inhibe eden antagonist IL-1R α 'yı da bağlayabilir. Hücre dışı IL-1R1 domeni, membrana bağlı olmadığında (çözünür IL-1R1, sIL-1R1) çözünür bir tuzak görevi görerek solüsyonda IL-1 sitokinlerini yakalayabilir. IL-1 için ikinci reseptör, IL-1R2, IL-1 β 'yi yüksek afinite ile bağlar ve IL-1R3'ü alır, ancak hücre içi sinyalleşmeyi başlatmaz, aynı zamanda bir tuzak reseptör görevi görür. IL-1R3'ün çözünür formunun, çözünür IL-1R2'nin IL-1 β 'yi yakalama/inhibe etmedeki afinitesini arttırdığı gösterilmiştir. IL-1 aktivitesinin sıkı düzenlenmesi, patolojik düzensizliklerden kaçınmak için yakından kontrol edilmesi gereken güçlü inflamatuvar etkilerinin olduğunu gösterir (166,167).

AH, IL-1 ailesi sitokinlerinin ve reseptörlerinin dolaşımdaki düzeylerinde önemli bir değişiklik ile karakterizedir (168). Italiani ve ark. (169) AH'de sIL-1R4'ün yükselmesi, diğer hastalıklardaki bulgularla uyumludur ve devam eden inflamasyonun bir belirteci olarak kabul edilebilir. Yüksek IL-1R α , sIL-1R1, sIL-1R4 ve IL-18BP düzeyleri, AH'yi hafif bilişsel bozukluk (MCI), subjektif hafıza şikayetlerinden (MSC) ve diğer inflamatuvar hastalıklardan ayırabileceğini bildirdiler. MSC'de bulunmayan, dolaşımdaki sIL-1R2 ve serbest IL-18'in önemli bir artışı, MCI'nin özelliğidir ve AH'de kaybolur. Bu durum onları MCI'dan AH'de ilerlemeyi değerlendirmek için ek ilginç işaretler haline getirir. Aynı zamanda, sIL-1R1, sIL-1R3, sIL-1R4 ve IL-18BP bilişsel bozulma ile negatif korelasyon gösterir (169).

Temel olarak, AH'da bulunan yapısal ve metabolik hasar, T1DM'da bulunan bir özellik olan IL-1 β 'nin sürekli yükselmesinden kaynaklanmaktadır. Benzer şekilde, Alzheimer beyinde bulunan β -amiloid protein tortuları, T2DM'de pankreas β hücrelerinde bulunan amilin tortularıyla aynı moleküler yapıyı paylaşır ve eşit derecede nörotoksiktir (168). Plaschke ve Hoyer (170), diyabetik olmayan sıçanlarda bozulmuş serebral glukoz ve glikojen metabolizmasını yeniden üretmeyi amaçladılar. STZ'nin intraserebroventriküler (i.c.v) enjeksiyonu uygulanan sıçanlara, T2DM'de bulunan patobiyokimyasal pertübasyonlara paralel olarak beyin korteksinde ve hipokampusta 'glikolitik glukoz yıkımını ve glikojen metabolizmasını kontrol eden enzim aktivitesinde önemli değişiklikler' buldular. Lorenzo ve arkadaşları (171) tarafından bildirilen bir başka ilginç çalışma, T2DM hastalarında pankreas adacık hücrelerinde oluşan beta-amiloid birikintilerinin ana bileşeni olan amilinin, yetişkin sıçanların ve insanların insülin üreten β -hücreleri için toksik olduğunu bulmuşlardır.

Arnold ve ark. kısmi en küçük kareler regresyonu (PLSR) analizinde, karışık AH-T2DM modelinde yüksek insülin seviyeleri ve insülin direnci ile ilişkili sitokin ekspresyonundaki değişiklikleri ortaya çıkardılar. Hem insülin hem de insülin direnci, AH ve T2DM'deki merkezi komplikasyonlara başlıca katkıda bulunanlar olduğunu bildirdiler. IL1- α ,

IL-5, IL-12p70, tümör nekroz faktörü (TNF- α) ve IL1- β , APP/PS1x db/db farelerinde insülin seviyeleri ile yüksek oranda ilişkili olduğu gösterilmiştir. Özellikle IL-1 sitokin ailesi, T2DM ile yakın ilişki içinde, inflamatuvar strese yanıtta önemli bir rol oynamaktadır (96).

Önceki çalışmalar insülinin, insülin reseptörü, glukoz metabolizması, ROS üretimi ve IL-1 salgılanması yoluyla proinflamatuvar bir durumu desteklediğini göstermiştir (172). Ayrıca, T2DM hastalarında pankreas β -hücresi IL-1 ekspresyonu artmıştır (173). Bu anlamda, IL1- α ve β blokajı, insülin sekresyonu ve glisemide bir iyileşme gösterir (174). IL-1 β 'nin insülin kaynaklı glukoz alımını ve insülin direncini azalttığı rapor edilmiştir (175). Yüksek yağlı diyet (YYD) ile beslenen fareler üzerinde yapılan kısa süreli çalışmalarda, serum IL-1 α ve IL-1 β etkilenmemiş gibi görünmektedir (176). Bununla birlikte, YYD'e ve insülin direncine daha uzun süre maruz kalmak, hipokampusta IL-1 β mRNA'yı artırır (177). IL-1 β , AH'nın başlamasına katkıda bulunanlardan biri olarak da önerilmiştir (178). Benzer şekilde, obez olmayan diyabetik farelerde yapılan çalışmalar, plazmada IL-1 α 'nın arttığını ve insülin tedavisinin splenositlerde IL-1 α salınımını arttırdığını bildirmiştir (179). Ayrıca, IL-1 genellikle TNF- α ile sinerji oluşturur, çünkü her iki sitokin de lokal inflamasyon bölgelerinde üretilir (173).

2.11. KARAYEMİŞ

Karayemiş, Rosaceae (Güller) familyasından bilinen ismiyle *Prunus Laurocerasus* ya da *Laurocerasus officinalis* Roem olarak bilinen bitki, 6 metreye kadar boylanabilen, geniş yapraklı ve peyzaj için en yaygın kullanılan süs bitkilerinden biridir (180). Orta ve Batı Asya, Güneydoğu Avrupa, Bulgaristan, Sırbistan, Kafkasya ve Anadolu'da özellikle Karadeniz çevresinde ortaya çıkan meyve türlerinden biridir (181). Türkiye'nin kuzey kesiminde yaygın olarak yayılış gösterir ve farklı karakterizasyon gösteren birçok çeşidi vardır. Tarihsel olarak, tür ilk olarak 1546 yılında Trabzon'da bir Fransız araştırmacı Pierre Belon tarafından tanımlanmış ve adına Trabzon kirazı denmiştir (182).

Karayemişe ülkemizde farklı isimler verilmiştir. En yaygın kullanılanları taflan, Laz kirazı, Laz üzümü, Laz yemişi, Gürcü kirazı, Karamıştır (183). Karayemiş meyvesi yaklaşık 8-20 mm çapında olup olgunlaştığında kırmızı koyu mor veya siyah renge dönen yaprak dökmeyen ve her daim yeşil kalabilen bir bitkidir. Meyve hem taze hem de kurutulmuş olarak doğrudan tüketilebildiği gibi buruk tadı nedeniyle reçel, pekmez, marmelat ve içecek şeklinde de tüketilmektedir (32).

Karayemiş bitkisinin yaprağından, çekirdeğinden ve meyvesinde faydalanılmaktadır. Meyvenin tok tutma özelliğinin yanı sıra sindirimi de kolaydır. Karayemiş meyvesi mide ülseri ve bağırsak tembelliği gibi sindirim sistemi hastalıklarında, idrar söktürücü özelliği dolayısıyla boşaltım rahatsızlıklarında, egzama, doku ve cilt hastalıkları, bronşit gibi bazı hastalıkların tedavisinde halk arasında kullanıldığı bilinmektedir. Karayemişin taze yaprakları çay gibi demlenip içildiğinde öksürük kesici, spazm kesici ve bulantı giderici olarak da kullanılmaktadır (184). Ayrıca antidiyabetik özelliği de bulunmaktadır (185).

Bitkinin meyveleri ve çekirdekleri diyabete ve komplikasyonlarına karşı yaygın olarak kullanılmaktadır. Fırında kurutulduktan sonra meyvelerinden ayrılan çekirdekler öğütülür ve sabahları aç karnına 1-2 tatlı kaşığı öğütülmüş çekirdeklerden oluşan toz diyabete karşı tüketilir (186).

Yapılan çalışmalarda karayemiş meyvesinin yüksek bir besin maddesi olmasının yanında yağ asitleri, şeker, fenolik asitler ve antioksidan maddeler açısından da önemli bir içeriği olduğu bulunmuştur. Bitkinin olgun meyvesinde şeker olarak yüksek oranda fruktoz, glukoz ve sorbitol, fenolik asit olarak vanilik asit ve doymamış yağ asidi olarak başta linoleik asit az miktarda da palmitik, stearik ve oleik asit içerdiği bildirilmiştir. Ayrıca su, C vitamini, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve sodyum gibi mineraller de ihtiva etmektedir (32,187)

İçerdiği fenolik asitler, flavanoidler, antosiyaninler, taninler, lignanlar ve kateşinler gibi fenolik bileşikler sayesinde güçlü antioksidan özelliği göstermekte ve kalp-damar hastalıkları, bazı kanser çeşitleri, inme ve oksidatif strese bağlı olarak oluşabilen birçok hastalığın gelişmesinin önlenmesinde faydası olduğu görülmüştür (188).

3. YÖNTEM

3.1. KULLANILAN ALETLER VE KİMYASAL MADDELER

3.1.1. Aletler ve Cam Malzemeler

- 10 mL’lik EDTA’lı kan alma tüpleri
- 0,5 mL ve 2 mL’lik eppendorf tüpleri
- Balon Joje
- Bistüri
- Buzdolabı (Beko)
- Deney Tüpleri
- Derin Dondurucu (Haier, Ultra Low Temperature Freezer, -80°C)
- Distile Su Cihazı (Ultramax-Silver, PA-E)
- Eppendorf Santrifüj Cihazı (Isolab)
- Glukometre (Accucheck Performans Nano)
- Glukometre Stribi (Accucheck Performans Nano)
- Hassas Terazı (Denver Instrument, TP-214)
- Kar-Buz Makinesi (Brema Ice Makers)
- Mezür
- Mikropipetler (Corning Lambda Plus)
- Mikroplate Okuyucusu (BioTech, Synerg, Hybrid Reader)
- Morris Water Maze Deney Aparatı
- Petri Kapları
- pH Metre (Hanna Instrument, HI 221)
- Santrifüj Cihazı (Sigma)
- Santrifüj Tüpleri
- Sarı ve Mavi Mikropipet Uçları
- Vortkes (Velp Scientifica)

3.1.2. Kimyasal Maddeler

- %0,9’luk Sodyum Klorür (NaCl) (Baxter)
- %4’lük Bakır Sülfat (CuSO₄.5H₂O) (Merck)

- %1'lik Sığır Serum Albumin (BSA) (Sigma)
- BCA (Bicinchoninic Asit) Çözeltisi (Sigma)
- Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (Tablet) (Sigma)
- Glukoz ($C_6H_{12}O_6$) (Merck)
- Kalsiyum Klorür Dihidrat ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) (Sigma)
- Magnezyum Klorür Hekzahidrat ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) (Tekkim)
- Metformin Hidroklorik Asit (Bilim İlaç)
- Potasyum Klorür (KCl) (Sigma)
- Sıçan Asetilkolinesteraz (AChE) ELISA Kiti (Abbkine)
- Sıçan Glutatyon (GSH) ELISA Kiti (Abbkine)
- Sıçan Glikojen Sentaz Kinaz 3 Beta (GSK-3 β) ELISA Kiti (Abbkine)
- Sıçan Interlökin-1 (IL-1) ELISA Kiti (Abbkine)
- Sıçan Glukoz Transporter Tip 4 (GLUT4) ELISA Kiti (Abbkine)
- Sıçan Glukagon-Like Peptit-1 (GLP-1) ELISA Kiti (Abbkine)
- Sıçan Amiloid beta (A β) ELISA Kiti (Abbkine)
- Sitrik Asit ($C_6H_8O_7$) (Tekkim)
- Sodyum Dihidrojen Fosfat (NaH_2PO_4) (Merck)
- Sodyum Klorür (NaCl) (Sigma)
- Sodyum Monohidrojen Fosfat (Na_2HPO_4) (Merck)
- Sodyum Pentatol (İE Ulagay İlaç)
- Sodyum Sitrat Dihidrat ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$) (Tekkim)
- Streptozotosin (STZ) (AdipoGen)

3.2. DENEY HAYVANLARINA UYGULANAN İŞLEMLER

Bu çalışmada 20.07.2017 tarihinde 2017/196 sayılı karar ile Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulundan onay alınmıştır. Çalışmada Sprague Dawley soyundan 57 adet, ortalama ağırlıkları 450 ± 50 gr olan 5-6 aylık yetişkin erkek sıçanlar aynı laboratuvardan temin edilmiştir.

Grup başına düşen hayvan sayısı “One Way ANOVA Power Analysis” yöntemi ile hesaplanmıştır. Bu analiz ile hayvan sayıları kontrol grupları için 6, çalışma grupları için 8 olarak belirlenmiştir. Fakat STZ ile indüklenmiş deneysel Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) ve

Alzheimer modelinde hayvan kayıpları yaşanması ihtimali göz önünde bulundurulduğunda çalışma gruplarında grup başına düşen hayvan sayısı bir arttırılmıştır.

Sıçanlar rastgele şekilde gruplandırılmış olup kontrol gruplarında bulunan sıçanlar her kafeste 6 adet olacak şekilde iki kafese, çalışma grubundaki sıçanlar ise her grup için dörderli ve beşerli olacak şekilde ikişer kafese bölünmüştür. Deneyler süresince sıçanlar 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık döngü içerisinde yem ve su alımları serbest bırakılarak (ad libitum), standart konut koşullarında (oda sıcaklığı 21 ± 2 °C ve nem % 60-65) muhafaza edilmiştir.

1. Grup: Kontrol grubu (n=6)
2. Grup: Kontrol + Karayemiş grubu (n=6)
3. Grup: T2DM grubu (n=9)
4. Grup: T2DM + Karayemiş grubu (n=9)
5. Grup: T2DM + Oral Antidiyabetik grubu (n=9)
6. Grup: Alzheimer grubu (n=9)
7. Grup: Alzheimer + Karayemiş grubu (n=9)

1. Grup (n=6): Kontrol grubudur. Sıçanlara birinci ve üçüncü günlerde 20 µL yapay serebrospinal sıvı bilateral olarak intraserebroventriküler (i.c.v) şekilde enjekte edilmiştir. Sıçanlara birinci gün i.c.v şekilde yapay serebrospinal sıvı verilmeden önce, verildikten üç gün sonra ve deney süresince üç günde bir ağırlıkları ve kuyruk kanlarından elde edilen glukoz düzeyleri ölçülmüştür.

2. Grup (n=6): Sıçanlara birinci ve üçüncü günlerde 20 µL yapay serebrospinal sıvı bilateral olarak i.c.v şekilde enjekte edilmiştir. Sıçanlara birinci gün i.c.v şekilde yapay serebrospinal sıvı verilmeden önce, verildikten üç gün sonra ve deney süresince üç günde bir ağırlıkları ve kuyruk kanlarından elde edilen glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Sıçanlara her sabah ortalama 0,37 g/mL karayemiş gavaj yoluyla verilmiştir.

3. Grup (n=9): T2DM modeli oluşturulan deney modelidir. İlk gün intraperitoneal (i.p) yolla 65 mg/kg STZ verilerek T2DM modeli oluşturulan sıçan grubudur. Birinci gün STZ verilmeden önce, verildikten üç gün sonra ve deney süresince üç günde bir ağırlıkları ve kuyruk kanlarından elde edilen glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Kuyruk kanından alınan örneklerdeki glukoz düzeyi 200 mg/dL'nin üzerinde olan sıçanlarda T2DM modelinin olduğu kabul edilmiştir.

4. Grup (n=9): T2DM modeli oluşturulan ve karayemiş verilen deney modelidir. İlk gün i.p yolla 65 mg/kg STZ verilerek T2DM modeli oluşturulan sıçan grubudur. Birinci gün STZ verilmeden önce, verildikten üç gün sonra ve deney süresince üç günde bir ağırlıkları ve kuyruk kanlarından elde edilen glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Kuyruk kanından alınan örneklerdeki glukoz düzeyi 200 mg/dL'nin üzerinde olan sıçanlarda T2DM modelinin oluştuğu kabul edilmiştir. Sıçanlara her sabah ortalama 0,37 g/mL karayemiş gavaj yoluyla 21 gün boyunca verilmiştir.

5. Grup (n=9): T2DM modeli oluşturulan ve oral antidiyabetik verilen deney modelidir. İlk gün i.p yolla 65 mg/kg STZ verilerek T2DM modeli oluşturulan sıçan grubudur. Birinci gün STZ verilmeden önce, verildikten üç gün sonra ve deney süresince üç günde bir ağırlıkları ve kuyruk kanlarından elde edilen glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Kuyruk kanından alınan örneklerdeki glukoz düzeyi 200 mg/dL'nin üzerinde olan sıçanlarda T2DM modelinin oluştuğu kabul edilmiştir. Sıçanlara 300 mg/kg/gün metformin gavaj yoluyla 21 gün boyunca verilmiştir.

6. Grup (n=9): Alzheimer modeli oluşturulan deney grubudur. Sıçanlara birinci ve üçüncü günlerde 3 mg/kg STZ, yapay serebrospinal sıvı içerisinde çözünerek Hamilton enjektörü ile her bir ventriküle 10 µL toplamda günde 20 µL olacak enjekte edilmiştir. Birinci gün STZ verilmeden önce, verildikten üç gün sonra ve deney süresince üç günde bir ağırlıkları ve kuyruk kanlarından elde edilen glukoz düzeyleri ölçülmüştür.

7. Grup (n=9): Alzheimer modeli oluşturulan ve karayemiş verilen deney grubudur. Sıçanlara birinci ve üçüncü günlerde 3 mg/kg STZ, yapay serebrospinal sıvı içerisinde çözünerek Hamilton enjektörü ile her bir ventriküle 10 µL toplamda günde 20 µL olacak enjekte edilmiştir. Birinci gün STZ verilmeden önce, verildikten üç gün sonra ve deney süresince üç günde bir ağırlıkları ve kuyruk kanlarından elde edilen glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Sıçanlara her sabah ortalama 0,37 g/mL karayemiş gavaj yoluyla 21 gün boyunca verilmiştir.

Her grupta bulunan sıçanlara 14. günden itibaren Morris Su Labirent (MWM) testi 5 gün süresince uygulanmıştır. Sıçanlar 21 gün boyunca yaşamış ve 22. gün sakrifiye edilmiştir.

3.2.1. Deney Hayvanlarından Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Deney süresinin sonunda i.p olarak Na-pentotal (35 mg/kg) verilerek anestezi uygulaması gerçekleştirilmiş olup biyokimya parametrelerinin çalışılabilmesi için intrakardiyak kan alınıp sakrifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sıçanlardan alınan beyin

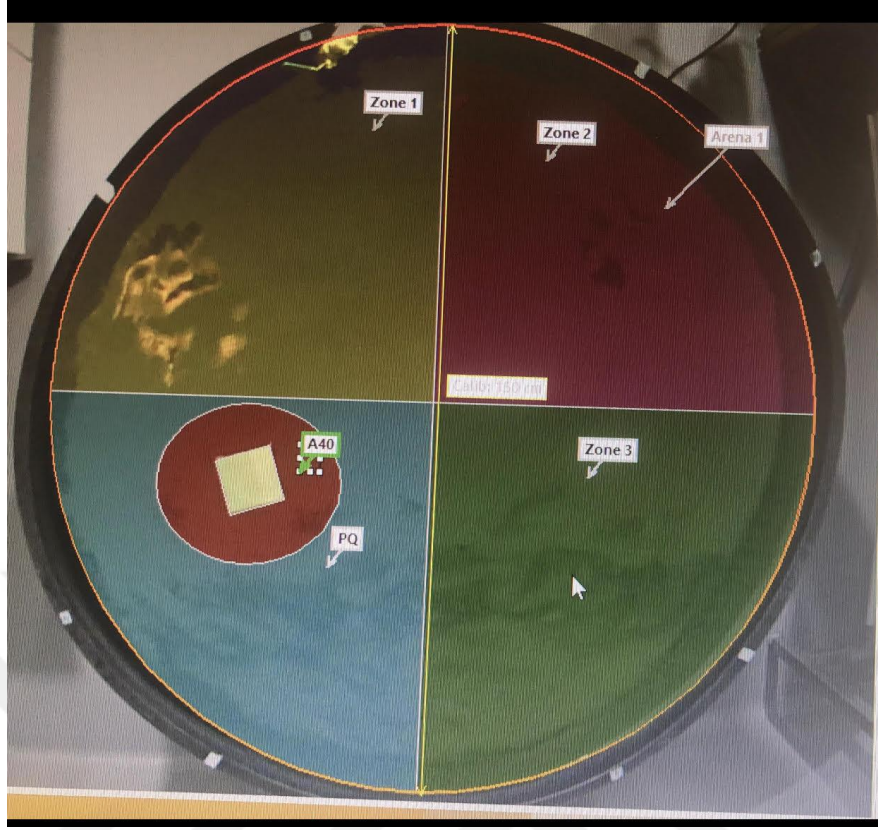
dokuları biyokimyasal analizler yapılana kadar -80°C 'de saklanmıştır. Sıçanlardan alınan intrakardiyak kan örnekleri ise EDTA'lı tüplere alınmıştır. Soğutmalı santrifüj cihazında 1000 g'de 15 dakika santrifüj işlemi ile plazma örnekleri elde edilmiş ve örnekler eppendorflara bölünerek biyokimyasal analizler yapılana kadar -80°C 'de saklanmıştır.

3.2.2. Doku Homojenizasyonu

Sıçanlardan alınan dokulardaki hemolizli kan, sonuçları etkileyebileceği için dokular alındığı anda soğuk fosfat tamponunda (0,01 M pH=7,4) yıkanmıştır. Doku parçaları yaşı olarak tartıldıktan sonra %10'luk (w/v) homojenatlar hazırlamak üzere $+4^{\circ}\text{C}$ 'de fosfat tamponu içerisinde cam homojenizatör kullanılarak küçük parçalar haline gelecek şekilde parçalanmıştır. Hazırlanan homojenatlar, biyokimyasal parametreler için soğutmalı eppendorf santrifüjü ile 5000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiş, çalışmalar süpernatantlardan alınan örneklerle yapılmıştır. Süpernatantlar çalışma anına kadar -80°C 'de saklanmıştır.

3.2.3. Morris Water Maze (MWM) Testi

Sıçanların mekansal öğrenmesini ve hafızasını izlemek için dairesel bir MWM tankı (150 cm x 60 cm) kullanılmıştır. Tank, toksik olmayan gıda boyası içeren su ile doldurulmuş ve suyun sıcaklığı otomatik bir ısıtıcıyla 23°C 'de sabit tutulmuştur. Labirent dört eşit çeyrek bölgeye ayrılmış ve gizli bir platform (11×11 cm) rastgele seçilen bölgenin içerisine su yüzeyinin 2 cm altında olacak şekilde yerleştirilmiştir. Bu platformun yeri deneme süresi boyunca sabit tutulmuştur. Testin yapıldığı odaya, sıçanların platformu bulmaları için bir takım ipuçları konulmuş ve bu görsel ipuçlarını kullanarak gizli platformu bulmaları beklenmiştir. Sıçanlar, her gün dört deneme olmak üzere üst üste dört gün boyunca her gün farklı bir bölgeden, yüzleri havuzun duvarına dönük şekilde suya bırakılmıştır. Hayvanların tüm hareketleri (yüzme hızı, mesafe ve yörünge ve kaçış gecikmesi) (EthoVision XT11 yazılımı, Noldus Bilgi Teknolojisi, Hollanda) otomatik olarak kaydedilmiştir. Eğer sıçan, 60 saniye içerisinde platformu bulamazsa testi uygulayan kişi tarafından platforma çıkarılıp 10 saniye boyunca bekletildikten sonra kafesine alınmıştır. Deneme, sıçanlar platformu bulduğunda veya 60 saniye geçtiğinde durdurulmuştur. Beşinci gün yapılan prob çalışmasında platform yerinden çıkarılmış ve sıçanlar bir dakika boyunca havuzda yüzdürülmüştür. Platform kadranında ve platform etrafındaki 40 cm çapında hayali bir dairede mesafe değişimleri ve harcanan zaman yüzdeleri ölçülmüştür.



Şekil 3.1: MWM Tankı

3.2.4. Streptozotosin (STZ) ile intraserebroventriküler (i.c.v) enjeksiyon

Hayvanlar, i.c.v. enjeksiyon öncesinde intraperitoneal olarak ksilazin ve ketamin hidroklorür karışımı (sırasıyla 3 mg/kg ve 75 mg/kg) ile anestezi altına alınmıştır. Kafa derileri tıraş edilmiş, temizlenmiş ve kafatasını açığa çıkarmak için kesilmiştir. Sıçanların kafaları stereotaksik bir çerçeveye yerleştirilmiş ve kafa derisinde orta hat sagittal insizyonu yapılmıştır. Bregmanın 0,8 mm posterioru; sagittal suturun 1,5 mm laterali ve kafatası yüzeyinin 3,5 mm altında olacak şekilde koordinatlar kullanılarak lateral ventriküller üzerinde kafatasında delikler açılmıştır.

STZ (3 mg/kg) yapay serebrospinal sıvısı (3 mM KCl, 140 mM NaCl; 1,2 Mm CaCl₂, 1 mM MgCl₂; 0,3 mM NaH₂PO₄, 1 mM Na₂HP0₄, 3 mM D-glukoz, pH=7,4) içinde çözünerek hazırlanmıştır. Birinci ve üçüncü günlerde aynı koordinatlar ile her bir lateral ventriküle 10 µl'lik hacimde Hamilton enjektörü kullanılarak yavaşça enjekte edilmiştir. Bu çözelti enjeksiyondan hemen önce hazırlanmıştır.

3.2.5. Streptozotosin ile intraperitoneal (i.p) enjeksiyon

STZ (65 mg/kg) sitrat tamponu içerisinde (0,0456 M $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ ve 0,544 M $C_6H_8O_7$) çözünerek hazırlanmıştır. Sıçanlara T2DM modelinin oluşturulabilmesi için 65 mg/kg STZ pH=4,5 olan sitrat tamponu içerisinde çözünmüş ve hayvanlara 2 mL olacak şekilde intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

3.3. SERUM ve BEYİN ÖRNEKLERİNDE ÇALIŞILAN PARAMETRELER

3.3.1. Serum biyokimyasal testlerinin analizi

Serum glukoz, üre, kreatinin, alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), kolesterol, trigliserid (TG), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düzeyleri Roche Cobas c702 cihazında ölçüldü.

3.3.2. Serum ve beyin örneklerinde amiloid beta ($A\beta$) konsantrasyonunun ölçümü

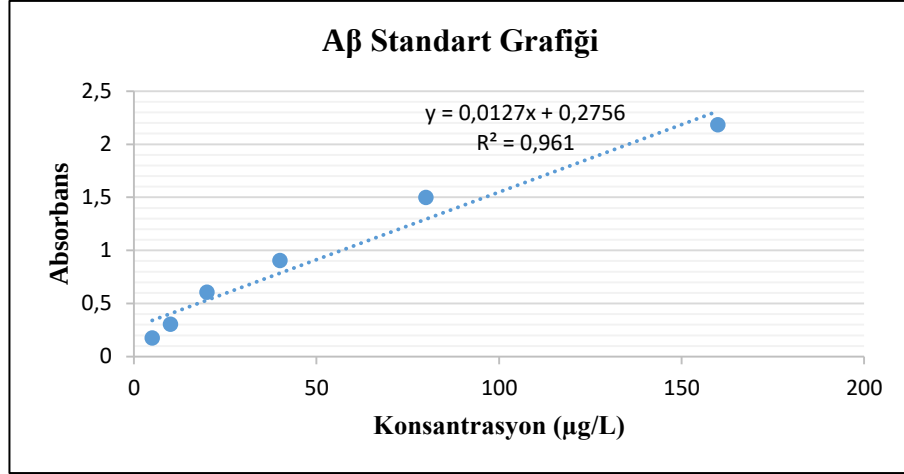
Serum $A\beta$ düzeyinin tayininde ELİSA yöntemi kullanıldı. (Rat Amyloid beta ($A\beta$) ELISA Kit, Abbkine, China, Katalog Numarası: KTE101129; Intra-Assay: CV(%) <%9 ve Inter-Assay: CV(%) <%11).

3.3.2.1. Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandviç ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu önceden $A\beta$ için spesifik antikorlar ile kaplanan mikroparka üzerine eklenen standart ve örnekler var olan $A\beta$ immobilize antikor tarafından bağlanır. Bağlanmamış örneklerin yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra kuyucuklara horseredish peroksidaz (HRP) - Konjugat $A\beta$ saptama antikorlu ilave edilir. Bağlanmamış HRP reaktifi yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra kuyucuklara kromojen solüsyonu ilave edilir. Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat reaksiyonu sonucu oluşan rengin yoğunluğu, plakta tutulan $A\beta$ miktarı ile orantılıdır. Renk oluşumu stop reaktifi ile durdurulur ve hem örneklerin hem de standart çözeltilerin absorbansı 450 nm’de ölçülür.

3.3.2.2. Hesaplama

Standart (5 μ g/L ile 160 μ g/L) çözeltilerin ve örneklerin absorbanslarından görün absorbansı çıkarılmıştır. Hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyonları x eksenine, elde edilen absorbanslar y eksenine yerleştirilerek bir standart eğri oluşturulmuştur. Ölçülen örneklerin absorbansları $A\beta$ kalibrasyon grafiği kullanılarak μ g/L cinsinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.2: Aβ Standart Grafiği

3.3.3. Serum ve beyin örneklerinde glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) konsantrasyonunun ölçümü

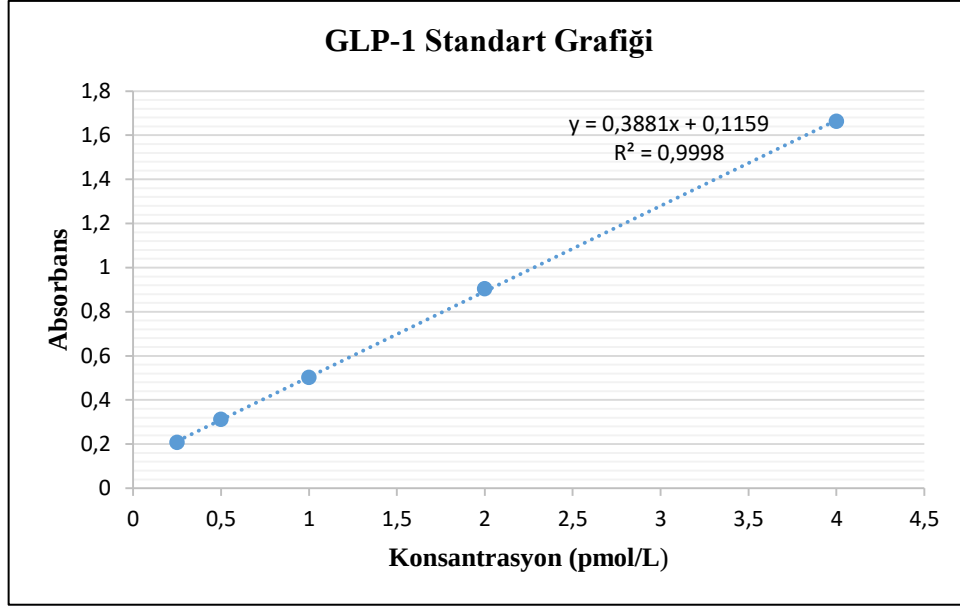
Serum GLP-1 düzeyinin tayininde ELİSA yöntemi kullanıldı. (Rat Glukagon Like Peptid-1 (GLP-1) ELISA Kit, China, Abbkine, Katalog Numarası: KTE101096; Intra-Assay: CV (%) < %9 ve Inter-Assay: CV(%)< %11).

3.3.3.1. Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandviç ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu önceden GLP-1 için spesifik antikorlar ile kaplanan mikroparka üzerine eklenen standart ve örnekler var olan GLP-1 immobilize antikor tarafından bağlanır. Bağlanmamış örneklerin yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra kuyucuklara HRP-Konjugat GLP-1 saptama antikoruna ilave edilir. Bağlanmamış HRP reaktifi yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra kuyucuklara kromojen solüsyonu ilave edilir ve ilk aşamada bağlanan GLP-1 miktarıyla orantılı olarak renk oluşur. Renk oluşumu stop reaktifi ile durdurulur ve hem örneklerin hem de standart çözeltilerin absorbansı 450 nm’de ölçülür.

3.3.3.2. Hesaplama

Standart (0,25 pmol/L ile 8 pmol/L) çözeltilerin ve örneklerin absorbanslarından görün absorbansı çıkarılmıştır. Hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyonları x eksenine, elde edilen absorbanslar y eksenine yerleştirilerek bir standart eğri oluşturulmuştur. Ölçülen örneklerin absorbansları GLP-1 standart grafiği kullanılarak pmol/L cinsinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.3: GLP-1 Standart Grafiği

3.3.4. Serum ve beyin örneklerinde glukoz taşıyıcısı 4 (GLUT-4) konsantrasyonunun ölçümü

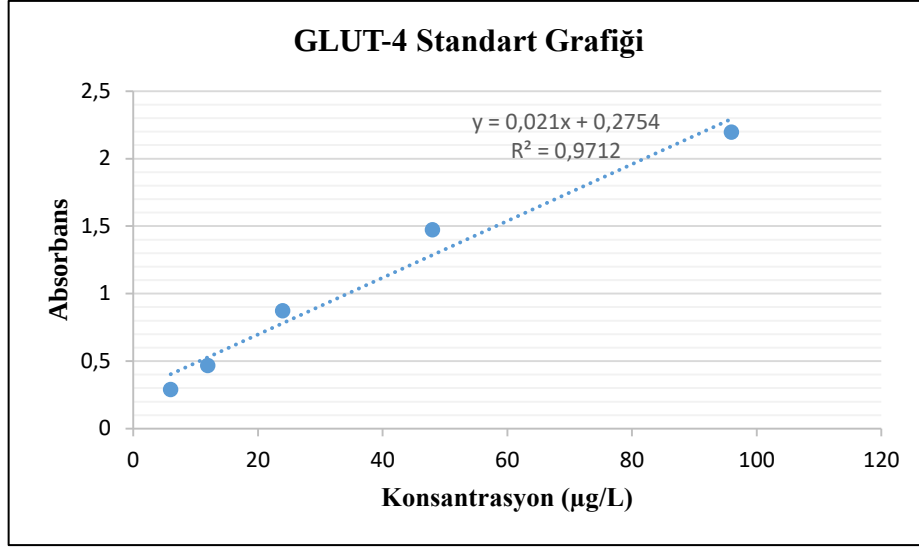
Çalışmada Abbkine GLUT-4 ELISA Kiti (Katalog No: KTE101133) kullanılmıştır. (Rat Glucose Transporter Type 4 [GLUT4] ELISA Kit, China, Abbkine, Katalog Numarası: KTE101133; Intra-Assay: CV (%) < %9 ve Inter-Assay: CV(%)< %11).

3.3.4.1. Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandviç ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu önceden GLUT-4 için spesifik antikorlar ile kaplanan mikrolaka üzerine eklenen standart ve örnekler var olan GLUT-4 immobilize antikor tarafından bağlanır. Bağlanmamış örneklerin yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra kuyucuklara HRP-Konjugat GLUT-4 saptama antikorlu ilave edilir. Bağlanmamış HRP reaktifi yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra kuyucuklara Kromojen solüsyonu ilave edilir ve ilk aşamada bağlanan GLUT-4 miktarıyla orantılı olarak renk oluşur. Renk oluşumu durdurulur ve hem örneklerin hem de standart çözeltilerin absorbansı 450 nm’de okunur.

3.3.4.2. Hesaplama

Standart (3µg/L ile 96µg/L) çözeltilerin ve örneklerin absorbanslarından görün absorbansı çıkarılmıştır. Hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyonları x eksenine, elde edilen absorbanslar y eksenine yerleştirilerek bir standart eğri oluşturulmuştur. Ölçülen örneklerin absorbansları GLUT-4 standart grafiği kullanılarak µg/L cinsinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.4: GLUT-4 Standart Grafiği

3.3.5. Serum ve beyin örneklerinde interlökin-1 (IL-1) konsantrasyonunun ölçümü

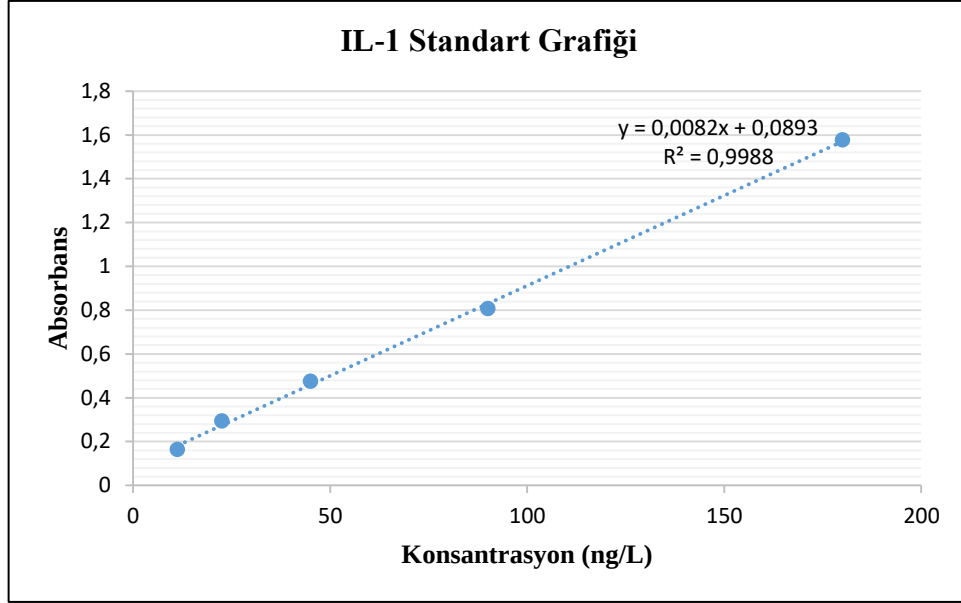
Çalışmada Abbkine IL-1 ELISA Kiti (Katalog No: KTE101104) kullanılmıştır. (Rat Interleukin-1 (IL-1) ELISA Kit, China, Abbkine, Katalog Numarası: KTE101104; Intra-Assay: CV (%) < %9 ve Inter-Assay: CV(%)< %11).

3.3.5.1. Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandviç ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu önceden IL-1 için spesifik antikorlar ile kaplanan mikropłaka üzerine eklenen standart ve örnekler var olan IL-1 immobilize antikor tarafından bağlanır. Bağlanmamış örneklerin yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra, kuyucuklara HRP-Konjugat IL-1 saptama antikoru ilave edilir. Bağlanmamış HRP reaktifi yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra kuyucuklara Kromojen solüsyonu ilave edilir ve ilk aşamada bağlanan IL-1 miktarıyla orantılı olarak renk oluşur. Renk oluşumu durdurulur ve hem örneklerin hem de standart çözeltilerin absorbansı 450 nm'de okunur.

3.3.5.2. Hesaplama

Standart (11,25 ng/L ile 360 ng/L) çözeltilerin ve örneklerin absorbanslarından görün absorbansı çıkarılmıştır. Hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyonları x eksenine, elde edilen absorbanslar y eksenine yerleştirilerek bir standart eğri oluşturulmuştur. Ölçülen örneklerin absorbansları IL-1 standart grafiği kullanılarak ng/L cinsinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.5: IL-1 Standart Grafiği

3.3.6. Serum ve beyin örneklerinde glikojen sentaz kinaz 3 betanın (GSK3-β) konsantrasyonunun ölçümü

Çalışmada Abbkine GSK3β ELISA Kiti (Katalog No: KTE101131) kullanılmıştır. (Rat Glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3-β) ELISA Kit, China, Abbkine, Katalog Numarası: KTE101131; Intra-Assay: CV (%) < %9 ve Inter-Assay: CV(%)< %11).

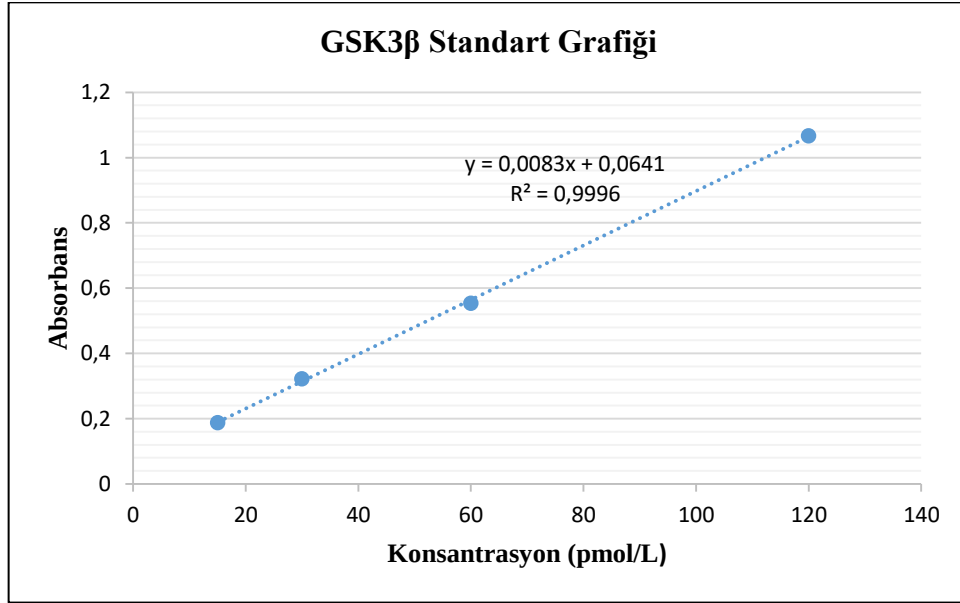
3.3.6.1. Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandviç ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu önceden GSK3-β için spesifik antikorlar ile kaplanan mikroparka üzerine eklenen standart ve örnekler var olan GSK3-β immobilize antikor tarafından bağlanır. Standart ve örnekler kuyucuklara pipetlenir ve var olan GSK3β immobilize antikor tarafından bağlanır. Bağlanmamış örneklerin yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra, kuyucuklara HRP-Konjugat GSK3β saptama antikoruna ilave edilir. Bağlanmamış HRP reaktifi yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra kuyucuklara Kromojen solüsyonu ilave edilir ve ilk aşamada bağlanan GSK3β miktarıyla orantılı olarak renk oluşur. Renk oluşumu durdurulur hem örneklerin hem de standart çözeltilerin absorbansı 450 nm’de okunur.

3.3.6.2. Hesaplama

Standart (15 pmol/L ile 480 pmol/L) çözeltilerin ve örneklerin absorbanslarından görün absorbansı çıkarılmıştır. Hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyonları x eksenine, elde edilen absorbanslar y eksenine yerleştirilerek bir standart eğri oluşturulmuştur. Ölçülen

örneklerin absorbansları GSK3 β standart grafiği kullanılarak pmol/L cinsinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.6: GSK3- β Standart Grafiği

3.3.7. Serum ve beyin örneklerinde glutatyon (GSH) konsantrasyonun ölçümü

Çalışmada Abbkine GSH ELISA Kiti (Katalog No: KTE100838) kullanılmıştır. (Rat Glutathione (GSH) ELISA Kit, China, Abbkine, Katalog Numarası: KTE100838; Intra-Assay: CV (%) < %9 ve Inter-Assay: CV(< %11).

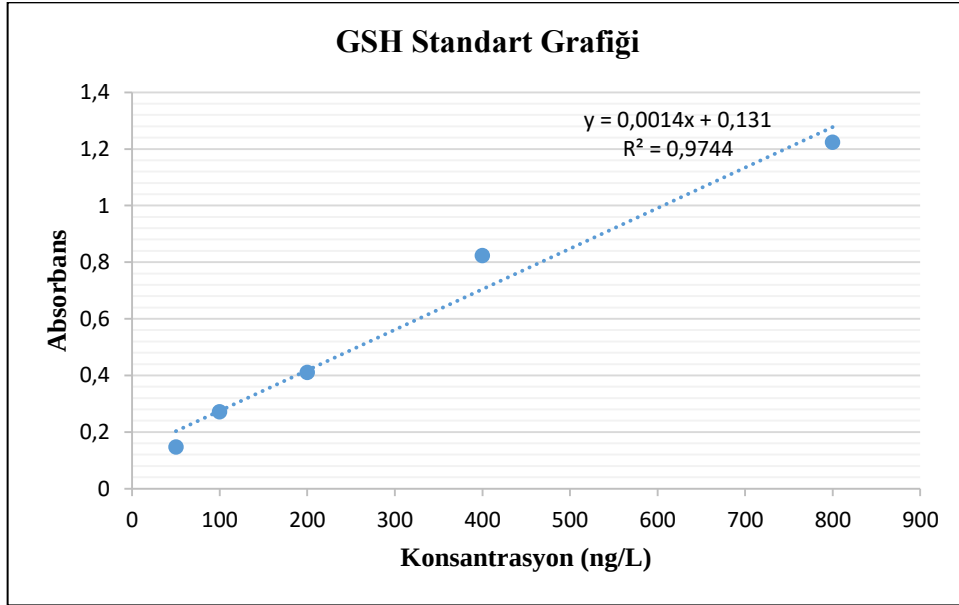
3.3.7.1. Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandviç ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu önceden GSH için spesifik antikorlar ile kaplanan mikropłaka üzerine eklenen standart ve örnekler var olan GSH immobilize antikor tarafından bağlanır. Bağlanmamış örneklerin yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra, kuyucuklara HRP-Konjugat GSH saptama antikoru ilave edilir. Bağlanmamış HRP reaktifi yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra kuyucuklara Kromojen solüsyonu ilave edilir ve ilk aşamada bağlanan GSH miktarıyla orantılı olarak renk oluşur. Renk oluşumu durdurulur ve hem örneklerin hem de standart çözeltilerin absorbansı 450 nm'de okunur.

3.3.7.2. Hesaplama

Standart (50 ng/L ile 1600 ng/L) çözeltilerin ve örneklerin absorbanslarından görün absorbansı çıkarılmıştır. Hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyonları x eksenine, elde

edilen absorbanslar y eksenine yerleştirilerek bir standart eğri oluşturulmuştur. Ölçülen örneklerin absorbansları GSH standart grafiği kullanılarak ng/L cinsinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.7: GSH Standart Grafiği

3.3.8. Serum ve beyin örneklerinde asetilkolin esterase (AChE) konsantrasyonunun ölçümü

Çalışmada Abbkine AChE ELISA Kiti (Katalog No: KTE100324) kullanılmıştır. (Rat Acetylcholinesterase (AChE) ELISA Kit, China, Abbkine, Katalog Numarası: KTE100324; Intra-Assay: CV (%) < %9 ve Inter-Assay: CV(%)< %11).

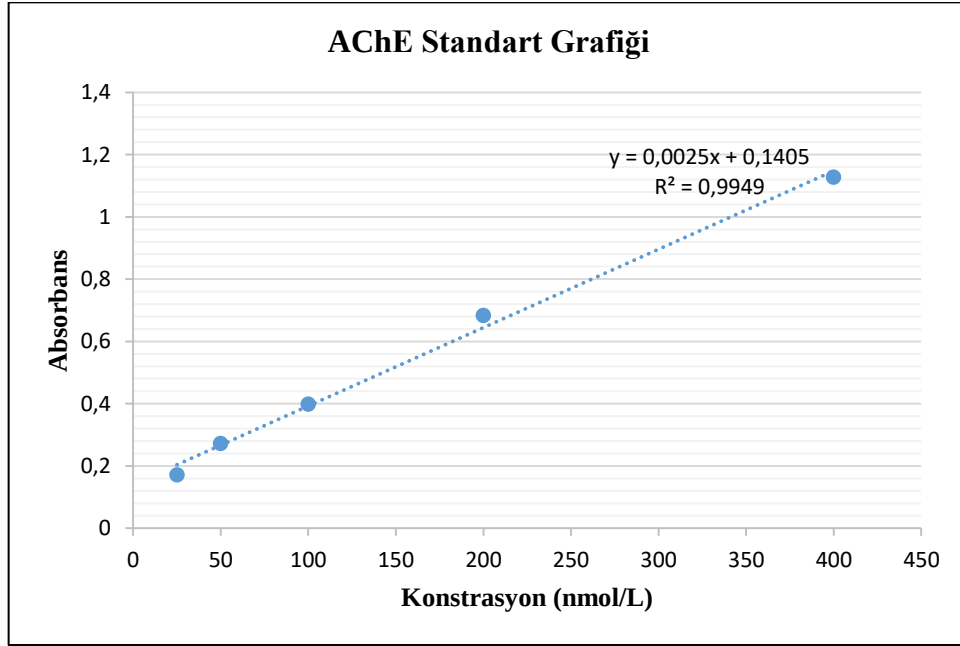
3.3.8.1. Yöntemin prensibi

Yöntemin prensibi, sandviç ELISA yöntemine dayanmaktadır. 96 kuyucuklu önceden AChE için spesifik antikorlar ile kaplanan mikroparka üzerine eklenen standart ve örnekler var olan AChE immobilize antikor tarafından bağlanır. Bağlanmamış örneklerin yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra, kuyucuklara HRP-Konjugat AChE saptama antikoruna ilave edilir. Bağlanmamış HRP reaktifi yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra kuyucuklara Kromojen solüsyonu ilave edilir ve ilk aşamada bağlanan AChE miktarıyla orantılı olarak renk oluşur. Renk oluşumu durdurulur ve hem örneklerin hem de standart çözeltilerin absorbanı 450 nm'de okunur.

3.3.8.2. Hesaplama

Standart (25 nmo/L ile 800 nmol/L) çözeltilerin ve örneklerin absorbanslarından görün absorbanı çıkarılmıştır. Hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyonları x eksenine, elde

edilen absorbanslar y eksenine yerleştirilerek bir standart eğri oluşturulmuştur. Ölçülen örneklerin absorbansları AChE standart grafiği kullanılarak nmol/L cinsinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.8: AChE Standart Grafiği

3.3.9. Beyin örneklerinde total protein tayini

3.3.9.1. Yöntemin prensibi

Sıçanlardan alınan doku örneklerindeki protein miktarının belirlenmesi için Bicinchoninic asit (BCA) yönteminden yararlanılmıştır.

Bu yöntemde birinci reaksiyonda iki değerlikli bakır (Cu^{2+}) iyonları alkali ortamda proteinlerdeki azotlara bağlanarak kompleks oluşturur ve bir değerlikli bakır (Cu^{1+}) iyonuna indirgenirler. İkinci reaksiyonda ise bu indirgenmiş Cu^{1+} iyonları BCA'nin sodyum tuzu ile mor-menekşe bir kompleks oluşturur ve bu rengin şiddeti protein yoğunluğu ile orantılıdır. Oluşan bu renkli kompleks, 562 nm'de maksimum absorbans gösterir.

3.3.9.2. Kullanılan çözeltiler

%1'lik Bovine Serum Albumini (BSA)

%4'lük Bakır (II) Sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

Bicinchoninic Asit

3.3.9.3. Yöntem

%1'lik BSA çözeltisi sulandırılarak 5 mg/mL; 2,5 mg/mL; 1,25 mg/mL; 0,675 mg/mL standartları hazırlanmıştır. Sıçanlardan alınan beyin örnekleri 3 kat seyreltilerek çalışılmıştır. Mikroplakanın kuyucuklarına 10 µL standart ve 10 µL seyreltilmiş beyin örnekleri konulmuştur. Üzerlerine BCA ve %4'lük $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 'nin 50:1 oranında karıştırılması ile elde edilen çözeltiden 200 µL eklenmiştir. Mikroplaka dikkatli bir şekilde çalkalayıcıda karıştırıldıktan sonra 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Standart ve örneklerin köre karşı absorbans değerleri 562 nm'de spektrofotometrik olarak okunmuştur. Protein miktarları standart grafiğinden hesaplanmıştır ve mg/mL olarak ifade edilmiştir.

3.3.9.4. Hesaplama

Standart ve örneklerin absorbanslarından körün absorbansı çıkarılmıştır. Sırasıyla x eksenini ve y eksenini olarak standart çözeltilerin konsantrasyonları ve buna karşılık gelen absorbans değerleri kullanarak standart eğri çizilmiştir. Numunenin konsantrasyonu, numunenin absorbans değerine göre aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

Standart eğri: $y = ax + b$

y: Standardın absorbans (A) değeri ($A_{\text{Standard}} - A_{\text{Kör}}$);

x: Standart konsantrasyonu;

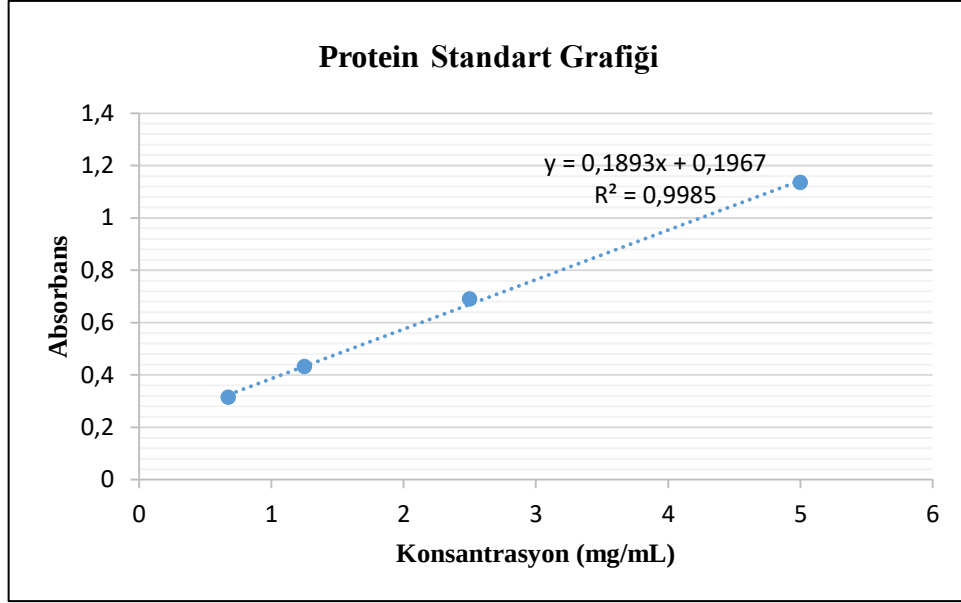
a: Standart eğrinin eğimi;

b: Standart eğrinin kesişimi

$$\text{Protein konsantrasyonu (mg/mL)} = (\Delta A_{562} - b) \div a \times f$$

ΔA_{562} : Absorbans ($A_{\text{Örnek}} - A_{\text{Kör}}$)

f: Örnek için dilüsyon faktörü



Şekil 3.9: Protein Standart Grafiği

3.4. İSTATİKSEL ANALİZ

Verilerin değerlendirilmesi ve analizleri için IBM SPSS (The Statistical Package for the Social Sciences) version 21.0 paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenlerin normal dağılımı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım koşullarını sağlayan veriler $\text{ort} \pm \text{std}$; sağlamayan veriler ise medyan (minimum-maksimum) ile ifade edildi. İkiiden fazla bağımsız grubun normal dağılan sürekli değişkenlerinin karşılaştırılmasında One-way ANOVA testi kullanıldı. One-way ANOVA testi ile gruplar arasında fark bulunduğunda farkın kaynaklandığı grupları belirlemek için post-hoc Tukey yöntemi kullanıldı. İkiiden fazla bağımsız grubun normal dağılmayan sürekli değişkenlerinin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi ile gruplar arasında fark bulunduğunda farkın kaynaklandığı grupları belirlemek için Bonferroni düzeltmesiyle ikili karşılaştırmalar yapıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. SERUM GLUKOZ DEĞERLERİ

Tablo 4.1: Grupların serum glukoz (mg/dL) düzeylerindeki değişiklikler

	Kontrol (n:5)	Kontrol+ KY (n:5)	T2DM (n:8)	T2DM+KY (n:8)	T2DM+OA (n:7)	ALZ (n:9)	ALZ+KY (n:8)	P değeri*
0.gün	123,6±1,82	111,6±11,93	111,75±8,51	111,38±9,1	110,57±4,58	114,67±9,58	121,5±10,94	0,05
Diyabet Günü	117±2,74 ^{c,d,e}	112,2±8,93 ^{c,d,e}	447,63±53,12 ^{a,b,f,g}	447,25±36,6 ^{a,b,f,g}	470,57±47,54 ^{a,b,f,g}	111,22±12,05 ^{c,d,e}	120,38±7,98 ^{c,d,e}	<0,001
7. gün	117,6±11,44 ^{c,d,e}	104±9,3 ^{c,d,e}	455,63±63,34 ^{a,b,d,e,f,g}	367,5±44,13 ^{a,b,c,e,f,g}	246,86±55,78 ^{a,b,c,d,f,g}	111,22±10,8 ^{c,d,e}	126,5±8,4 ^{c,d,e}	<0,001
14. gün	109,2±7,4 ^{c,d,e}	100,6±2,3 ^{c,d,e}	581±40,82 ^{a,b,d,e,f,g}	272,5±33,21 ^{a,b,c,e,f,g}	197,29±66,52 ^{a,b,c,d,f,g}	115,56±6,39 ^{c,d,e}	123,25±6,96 ^{c,d,e}	<0,001
21. gün	114,2±3,35 ^{c,d,e}	107,8±5,26 ^{c,d,e}	581,88±23,19 ^{a,b,d,e,f,g}	217,63±32,64 ^{a,b,c,e,f,g}	148,71±18,71 ^{a,b,c,d,f,g}	110,56±3,81 ^{c,d,e}	118,5±3,42 ^{c,d,e}	<0,001

*One-way ANOVA testi kullanıldı. Post-hoc Tukey testi uygulandı.

a: Kontrol grubuna; b: Kontrol+KY grubuna; c: T2DM grubuna; d: T2DM+KY grubuna; e: T2DM+OA grubuna; f: Alzheimer grubuna; g: Alzheimer+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

0. gün glukoz değerleri için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık saptanmadı.

Diyabet günü glukoz değerleri için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA grubunun diyabet günü glukoz ortalaması kontrol, Kontrol+KY, Alzheimer ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

7. gün glukoz değerleri için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA grubunun 7. gün glukoz ortalaması kontrol, Kontrol+KY, Alzheimer ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM grubunun 7. gün glukoz ortalaması T2DM+KY, T2DM+OA gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. T2DM+KY grubunun 7. gün glukoz ortalaması T2DM+OA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

14. gün glukoz değerleri için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA grubunun 14. gün glukoz ortalaması kontrol, Kontrol+KY, ALZ ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM grubunun 14. gün glukoz ortalaması T2DM+KY, T2DM+OA gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM+KY grubunun 14. gün glukoz ortalaması T2DM+OA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

21. gün glukoz değerleri için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA grubunun 21. gün glukoz ortalaması kontrol, Kontrol+KY, ALZ ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM grubunun 21. gün glukoz ortalaması T2DM+KY, T2DM+OA gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM+KY grubunun 21. gün glukoz ortalaması T2DM+OA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

4.2. VÜCUT AĞIRLIK DEĞERLERİ

Tablo 4.2: Sıçanların deney boyunca vücut ağırlıklarındaki (g) değişiklikler

	Kontrol (n:5)	Kontrol+ KY (n:5)	T2DM (n:8)	T2DM+KY (n:8)	T2DM+OA (n:7)	ALZ (n:9)	ALZ+KY (n:8)	P değeri*
0.gün	259,6±27,46 c,d,e,f,g	294,2±20,1 ^c	378±47,16 a,b,f	353,25±30,64 ^a	354,57±26,69 ^a	322,67±31,5 a,c	348±47,98 ^a	<0,001
Diabet Günü	244±28,18 ^{c,d,e,g}	305,2±16,54	345±47,9 ^a	316,25±33,97 ^a	317±27,45 ^a	291±39,66	319,63±49,87 ^a	0,002
7. gün	259±31,84	307,2±20,72	322±51,77	289,38±38,6	289±22,73	310,44±29,93	325,88±54,25	0,061
14. gün	282,4±28,18	308,2±38,64	305,63±49,1	275,63±45,58	275±21,21	320,89±28,7	326,75±52,62	0,065
21. gün	282,4±28,18	316,2±28,87	281,75±46,89	275,25±55,04	271±26,97	322,11±29,76	331,63±50,9	0,021

*One-way ANOVA testi kullanıldı. Post-hoc Tukey testi uygulandı.

a: Kontrol grubuna; b: Kontrol+KY grubuna; c: T2DM grubuna; d: T2DM+KY grubuna; e: T2DM+OA grubuna; f: Alzheimer grubuna; g: Alzheimer+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

0. gün ağırlık için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; kontrol grubunun 0. gün ağırlık ortalaması T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA, ALZ ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu. T2DM grubunun 0. gün ağırlık ortalaması kontrol, Kontrol+KY ve ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

Diyabet günü ağırlık için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; kontrol grubunun diyabet günü ağırlık ortalaması T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı.

7. gün ağırlık için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık saptanmadı.

14. gün ağırlık için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık saptanmadı.

21. gün ağırlık için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu; ancak yapılan post-hoc Tukey analizi ile farkın kaynaklandığı gruplar belirlenemedi.

4.3. BEYİN PARAMETRELERİ

Tablo 4.3: Grupların beyin doku GSK3- β , GSH, IL-1, GLUT4, β -Amiloid, GLP-1 ve AChE düzeyleri

	Kontrol (n:5)	Kontrol+ KY (n:5)	T2DM (n:8)	T2DM+KY (n:8)	T2DM+OA (n:7)	ALZ (n:9)	ALZ+KY (n:8)	P değeri*
GSK3-β (pmol/L)	37,27 $\pm$ 8,03 ^c	25,13 $\pm$ 4,81	63,88 $\pm$ 15,75 ^{a,f,g}	48,13 $\pm$ 19,81	43,45 $\pm$ 21,34	33,82 $\pm$ 21,9 ^c	23,54 $\pm$ 10,67 ^c	<0,001
GSH (ng/L)	68,48 $\pm$ 26,14 ^{c,d,g}	115,25 $\pm$ 27,29 ^g	157,1 $\pm$ 26,14 ^{a,f}	145,59 $\pm$ 35,64 ^{a,f}	121,09 $\pm$ 40,09 ^g	89,21 $\pm$ 25,32 ^{c,d,g}	168,76 $\pm$ 17,91 ^{a,b,e,f}	<0,001
IL-1(ng/L)	27,37 $\pm$ 9,32 ^c	15,49 $\pm$ 2,49 ^{c,d,e}	41,54 $\pm$ 5,45 ^{a,b,f,g}	33,79 $\pm$ 12,04 ^b	31 $\pm$ 6,55 ^b	25,35 $\pm$ 4,05 ^c	25,48 $\pm$ 1,75 ^c	<0,001
GLUT4 (μg/L)	3,59 $\pm$ 0,54 ^{d,g}	6,14 $\pm$ 1,43 ^g	8,61 $\pm$ 3,03 ^g	9,94 $\pm$ 5,02 ^{a,g}	8,31 $\pm$ 2,41 ^g	6,84 $\pm$ 2,19 ^g	14,73 $\pm$ 2,13 ^{a,b,c,d,e,f}	<0,001
Aβ(μg/L)	4,04 $\pm$ 0,57 ^{b,c,d,e,f,g}	4,4 $\pm$ 0,86 ^a	10,05 $\pm$ 1,95 ^{a,f}	8,15 $\pm$ 2,02 ^a	8,18 $\pm$ 2,33 ^a	7,36 $\pm$ 1,5 ^{a,c}	8,2 $\pm$ 1,41 ^a	<0,001
GLP-1 (pmol/L)	0,4 $\pm$ 0,06 ^{b,c,d,e,g}	0,83 $\pm$ 0,16 ^a	1,13 $\pm$ 0,18 ^{a,e,f}	0,92 $\pm$ 0,25 ^{a,f}	0,82 $\pm$ 0,2 ^{a,c}	0,65 $\pm$ 0,15 ^{c,d,g}	0,91 $\pm$ 0,13 ^{a,f}	<0,001
AChE (nmol/L)	89,19 $\pm$ 19,77 ^{b,c}	48,86 $\pm$ 10,15 ^{a,c,d,e,f,g}	127,63 $\pm$ 10,68 ^{a,b,f,g}	115,27 $\pm$ 30,84 ^{b,f,g}	100,67 $\pm$ 13,06 ^b	98,59 $\pm$ 11,79 ^{b,c,d}	86,05 $\pm$ 14,51 ^{b,c,g}	<0,001

GSK3- β : Glikojen sentaz kinaz 3- beta; **GSH:** Glutasyon; **IL-1:** İnterlökkin-1; **GLUT4:** Glukoz taşıyıcı 4; **GLP-1:** Glukagon-benzeri peptid-1; **AChE:** Asetilkolinesteraz; **KY:** Karayemiş; **T2DM:** Tip 2 Diabetes Mellitus; **OA:** Oral antidiyabetik; **ALZ:** Alzheimer

*One-way ANOVA testi kullanıldı. Post-hoc Tukey testi uygulandı.

a: Kontrol grubuna; b: Kontrol+KY grubuna; c: T2DM grubuna; d: T2DM+KY grubuna; e: T2DM+OA grubuna; f: Alzheimer grubuna; g: Alzheimer+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

GSK3- β için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; T2DM grubunun GSK3- β ortalaması kontrol, ALZ, ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

GSH için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; ALZ+KY grubunun GSH ortalaması kontrol, Kontrol+KY, T2DM+OA, ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM grubunun GSH ortalaması kontrol ve ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM+KY grubunun GSH ortalaması kontrol ve ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

IL-1 için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; T2DM grubunun IL-1 ortalaması kontrol, Kontrol+KY, ALZ, ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM+KY grubunun IL-1 ortalaması Kontrol+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM+OA grubunun IL-1 ortalaması Kontrol+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

GLUT4 için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; ALZ+KY grubunun GLUT4 ortalaması kontrol, Kontrol+KY, T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA ve ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. T2DM+KY grubunun GLUT4 ortalaması kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

Amiloid β için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; kontrol grubunun amiloid β ortalaması Kontrol+KY, T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA, ALZ, ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı. T2DM grubunun amiloid β ortalaması ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

GLP-1 için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; kontrol grubunun GLP-1 ortalaması Kontrol+KY, T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA, ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu. T2DM grubunun GLP-1 ortalaması T2DM+OA ve ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. T2DM+KY grubunun GLP-1 ortalaması ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. ALZ+KY grubunun GLP-1 ortalaması ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

AChE için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; Kontrol+KY grubunun AChE ortalaması kontrol, T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA, ALZ, ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı. T2DM grubunun AChE ortalaması kontrol, Kontrol+KY, ALZ, ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM+KY grubunun AChE ortalaması ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

4.4. SERUM PARAMETRELERİ

Tablo 4.4: Grupların serum GSK3- β , GSH, IL-1, GLUT4, β -Amiloid, GLP-1 ve AChE düzeyleri

	Kontrol (n:5)	Kontrol+ KY (n:5)	T2DM (n:8)	T2DM+KY (n:8)	T2DM+OA (n:7)	ALZ (n:9)	ALZ+KY (n:8)	P değeri*
GSK3-β (pmol/L)	51,97 $\pm$ 9,89	58,45 $\pm$ 12,17	56,54 $\pm$ 7,49	63,58 $\pm$ 7,49	57,74 $\pm$ 15,21	55,43 $\pm$ 13,53	55,12 $\pm$ 12,35	0,668
GSH (ng/L)	114,92 $\pm$ 28,47	148 $\pm$ 56,53	97,08 $\pm$ 49,61 ^{f,g}	143,55 $\pm$ 27,2	120,37 $\pm$ 44,54	154,06 $\pm$ 11,58 ^c	161,95 $\pm$ 24,29 ^c	0,009
IL-1 (ng/L)	36,3 $\pm$ 4,68	34,62 $\pm$ 5,42 ^f	40,91 $\pm$ 2,44	37,24 $\pm$ 5,25	38,48 $\pm$ 5,52	42,3 $\pm$ 3,9 ^b	42,01 $\pm$ 2,04	0,01
GLUT4 (μg/L)	4,44 $\pm$ 1,1	4,8 $\pm$ 1,58	5,12 $\pm$ 1,02	3,45 $\pm$ 0,97 ^g	5,16 $\pm$ 1,56	4,05 $\pm$ 1,32 ^g	6,52 $\pm$ 1,35 ^{d,f}	0,001
Aβ (μg/L)	13,1 $\pm$ 3,74 ^f	17,29 $\pm$ 6,61	16,6 $\pm$ 3,58 ^f	17,45 $\pm$ 3,34	17,95 $\pm$ 1,22	22,06 $\pm$ 2,31 ^{a,c}	18,16 $\pm$ 3,63	0,004
GLP-1 (pmol/L)	0,93 $\pm$ 0,09 ^{e,g}	1 $\pm$ 0,13 ^g	0,86 $\pm$ 0,06 ^{e,f,g}	0,93 $\pm$ 0,16 ^{e,g}	1,16 $\pm$ 0,16 ^{a,c,d}	1,08 $\pm$ 0,06 ^c	1,23 $\pm$ 0,12 ^{a,b,c,d}	<0,001
AChE (nmol/L)	98,2 $\pm$ 16,3 ^{f,g}	79,4 $\pm$ 19,43 ^{e,f,g}	125,44 $\pm$ 18,59 ^{d,f,g}	98,65 $\pm$ 12,43 ^{c,e,f,g}	121,46 $\pm$ 10,8 ^{b,d,f,g}	164,36 $\pm$ 19,27 ^{a,b,c,d,e}	155,12 $\pm$ 16,92 ^{a,b,c,d,e}	<0,001

GSK3- β : Glikojen sentaz kinaz 3- beta; **GSH:** Glutasyon; **IL-1:** İnterlökin-1; **GLUT4:** Glukoz taşıyıcı 4; **GLP-1:** Glukagon-benzeri peptid-1; **AChE:** Asetilkolinesteraz;

KY: Karayemiş; **T2DM:** Tip 2 Diabetes Mellitus; **OA:** Oral antidiyabetik; **ALZ:** Alzheimer

*One-way ANOVA testi kullanıldı. Post-hoc Tukey testi uygulandı.

a: Kontrol grubuna; b: Kontrol+KY grubuna; c: T2DM grubuna; d: T2DM+KY grubuna; e: T2DM+OA grubuna; f: Alzheimer grubuna; g: Alzheimer+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

Serum GSK3- β için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık saptanmadı.

Serum GSH için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Ancak post-hoc analizlerde farkın hangi gruplardan kaynaklandığı ayırt edilemedi.

Serum IL-1 için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; ALZ grubunun serum IL-1 ortalaması Kontrol+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

Serum GLUT4 için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; ALZ+KY grubunun serum GLUT4 ortalaması ALZ ve T2DM+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

Serum amiloid β için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; ALZ grubunun serum amiloid β ortalaması kontrol ve T2DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

Serum GLP-1 için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; Alzheimer+KY grubunun serum GLP-1 ortalaması kontrol, Kontrol+KY, T2DM ve T2DM+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. T2DM+OA grubunun serum GLP-1 ortalaması kontrol, T2DM ve T2DM+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. ALZ grubunun serum GLP-1 ortalaması kontrol, T2DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

Serum AChE için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; ALZ ve ALZ+KY grubunun serum AChE ortalaması kontrol, Kontrol+KY, T2DM, T2DM+KY ve T2DM+OA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. T2DM+KY grubunun serum AChE ortalaması T2DM ve

T2DM+OA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu. T2DM+OA grubunun serum AChE ortalaması Kontrol+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.



4.5. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER

Tablo 4.5: Grupların serum biyokimyasal parametrelerinin düzeyleri

	Kontrol (n:5)	Kontrol+ KY (n:5)	T2DM (n:8)	T2DM+KY (n:8)	T2DM+OA (n:7)	ALZ (n:9)	ALZ+KY (n:8)	P değeri*
Üre (mg/dL)	34,4±3,05 _{c,d,e}	44,6±2,51 _{c,d,e,g}	63,5±9,53 _{a,b,f,g}	70,88±5,03 _{a,b,e,f,g}	60,57±2,37 _{a,b,d,f,g}	39,11±4,26 _{c,d,e}	32,75±4,43 _{b,c,d,e}	<0,001
Kreatinin (mg/dL)	0,33±0,01	0,45±0,03	0,39±0,04	0,35±0,02	0,28±0,04	4,28±11,89	0,31±0,03	0,631
ALT (U/L)	54,4±3,36 _{c,d,e,g}	53±3,16 _{c,d,e,g}	39,88±4,91 _{a,b,f}	41,38±4,07 _{a,b,f}	40,29±5,65 _{a,b,f}	49±6,2 _{c,d,e,g}	38,75±3,49 _{a,b,f}	<0,001
AST (U/L)	40,8±3,42	42,6±2,3	45,88±2,64 ^d	38,63±4,47 ^{c,e}	42,14±7,2 ^d	45,89±5,82	43,75±2,92	0,029
Kolesterol (mg/dL)	63,6±3,36 ^{d,f}	59,6±2,07 ^f	67,63±3,2 ^{d,f,g}	57,88±4,22 ^{a,c,e,f}	64,29±2,93 ^{d,f,g}	83,25±3,37 _{a,b,c,d,e,g}	61±3,67 ^{c,e,f}	<0,001
TG (mg/dL)	72,6±18,72 _{b,c,d,g}	42,2±2,77 _{a,e,f,g}	61,88±3,94 _{a,d,g}	52±3,21 _{a,c,e,f}	63,14±3,48 _{b,d,g}	74,63±3,25 _{b,d,g}	55,89±4,26 _{a,b,c,e,f}	<0,001
HDL (mg/dL)	38±1,58 ^{e,g}	42,8±2,59 ^{c,g}	35,5±2,62 _{b,d,e,f,g}	40,75±4,27 ^{c,g}	44,86±3,44 ^{a,c,g}	41,78±3,15 ^{c,g}	60,5±2,45 _{a,b,c,d,e,f}	<0,001
LDL (mg/dL)	11,2±1,92 ^b	7±2 ^{a,c,d,e,f,g}	14,25±2,25 ^b	11,63±1,77 ^b	13,43±2,51 ^b	14,75±2,66 ^b	13,11±2,03 ^b	<0,001

KY: Karayemiş; **T2DM:** Tip 2 Diabetes Mellitus; **OA:** Oral antidiyabetik; **ALZ:** Alzheimer

*One-way ANOVA testi kullanıldı. Post-hoc Tukey testi uygulandı.

a: Kontrol grubuna; b: Kontrol+KY grubuna; c: T2DM grubuna; d: T2DM+KY grubuna; e: T2DM+OA grubuna; f: Alzheimer grubuna; g: Alzheimer+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

Üre için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; T2DM+KY grubunun üre ortalaması kontrol, Kontrol+KY, T2DM+OA, ALZ ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM grubunun üre ortalaması kontrol, Kontrol+KY, ALZ ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. T2DM+OA grubunun üre ortalaması kontrol, Kontrol+KY, ALZ ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. Kontrol+KY grubunun üre ortalaması ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

Kreatinin için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık saptanmadı.

ALT için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; kontrol, Kontrol+KY ve ALZ grubunun ALT ortalaması T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

AST için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; T2DM ve T2DM+OA grubunun AST ortalaması T2DM+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

Kolesterol için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; ALZ grubunun kolesterol ortalaması kontrol, Kontrol+KY, T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA, ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. ALZ+KY grubunun kolesterol ortalaması T2DM, T2DM+OA, ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı. T2DM+KY grubunun kolesterol ortalaması kontrol, T2DM ve T2DM+OA, grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu.

Trigliserid için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; ALZ+KY grubunun trigliserid ortalaması kontrol, Kontrol+KY,

T2DM, T2DM+OA, ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu. Kontrol grubunun trigliserid ortalaması Kontrol+KY, T2DM, T2DM+KY, ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. T2DM+OA grubunun trigliserid ortalaması Kontrol+KY ve T2DM+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM+KY grubunun trigliserid ortalaması kontrol, T2DM, T2DM+OA, ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. ALZ grubunun trigliserid ortalaması Kontrol+KY, T2DM+KY ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı.

HDL için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; ALZ+KY grubunun HDL ortalaması kontrol, Kontrol+KY, T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA, ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM grubunun HDL ortalaması T2DM+KY, T2DM+OA ve ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu. T2DM+OA grubunun HDL ortalaması kontrol ve T2DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Kontrol+KY grubunun HDL ortalaması T2DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

LDL için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla post-hoc Tukey analizi yapıldı. Buna göre; kontrol+KY grubunun LDL ortalaması kontrol, T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA, ALZ ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu.

4.6. HAYVANLARIN YÜZME SÜRELERİ

Tablo 4.6: Hayvanların MWM ile değişiklik gösteren yüzme süreleri (sn)

	Kontrol (n:5)	Kontrol+ KY (n:5)	T2DM (n:8)	T2DM+KY (n:8)	T2DM+OA (n:7)	ALZ (n:9)	ALZ+KY (n:8)	P değeri
1.gün	46,01 (40,88-59,91)	37,96 (9,93-59,83)	44,36 (36,35-54,05)	45,855 (34,81-58,68)	51,87 (35,05-58,17) ^g	44,35 (29,62-59,12)	31,985 (15,92-44,41) ^e	0,023
2.gün	57,46 (22,32-58,63)	9,2 (4,47-60)	43,65 (31,7-54,54)	36,915 (8,32-58,17)	43,45 (27,09-53,38)	22,77 (11,93-60)	18,275 (5,5-34,96)	0,013
3.gün	29,85 (12,73-36,46)	13,12 (4,64-59,84)	36,185 (6,76-58,98)	45,02 (22,65-55,21) ^g	28,86 (20,84-51,55)	17,87 (2,7-46,32)	11,465 (5,2-31,26) ^d	0,007
4.gün	10,32 (9,7-24,67)	7,13 (4,23-50,78)	32,03 (16,89-54,16) ^g	23,155 (2,9-48,7)	27,79 (12,97-34,88)	20,9 (7,65-31,52)	6,345 (1,41-17,32) ^c	0,005
5.gün	4,1 (1,57-11,91)	9,11 (3,48-18,59)	17,49 (8,9-38)	12,095 (5,78-50,72)	14,6 (7,57-31,11)	20,55 (0,64-40,35)	13,43 (2,46-47,17)	0,133

MWM: Morris Su Labirenti

≠: Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Post-hoc Bonferroni düzeltmesi uygulandı.

a: Kontrol grubuna; b: Kontrol+KY grubuna; c: T2DM grubuna; d: T2DM+KY grubuna; e: T2DM+OA grubuna; f: Alzheimer grubuna; g: Alzheimer+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

1. gün yüzme süreleri için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla Bonferroni düzeltmesiyle ikili karşılaştırmalar yapıldı. Buna göre; T2DM+OA grubunun 1. gün yüzme süre ortalaması ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

2. gün yüzme süreleri için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Ancak farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla Bonferroni düzeltmesiyle ikili karşılaştırmalar yapıldığında farkın hangi gruplardan kaynaklandığı belirlenemedi.

3. gün yüzme süreleri için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla Bonferroni düzeltmesiyle ikili karşılaştırmalar yapıldı. Buna göre; T2DM+KY grubunun 3. gün yüzme süre ortalaması ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

4. gün yüzme süreleri için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu. Farkın kaynaklandığı grupları belirlemek amacıyla Bonferroni düzeltmesiyle ikili karşılaştırmalar yapıldı. Buna göre; T2DM grubunun 4. gün yüzme süre ortalaması ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

5. gün yüzme süreleri için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık görülmedi.

5. TARTIŞMA

Diyabet, dünya nüfusunun %3'ünü etkiler ve prevalansı giderek artmaktadır. Hastalık, glukoz homeostazındaki bir bozukluktan kaynaklanır. Glukoz seviyelerinin kontrolüne yardımcı olan etkili ilaçlar bu komplikasyonların önlenmesinde ve T2DM semptomlarının hafifletilmesinde çok önemlidir. AH ile T2DM arasındaki bağlantı hala tartışılmaktadır. Bununla birlikte, kötü kontrol edilen kan şekeri, Alzheimer geliştirme riskini artırabilir. Bu ilişki o kadar güçlüdür ki bazı araştırmacılar Alzheimer'ı "beynin diyabeti" veya "tip 3 diyabet (T3DM)" olarak adlandırmıştır. Yeni yapılan çalışmalar göz önüne alındığında T3DM'i AH ile ilişkilendiren kanıtları göstermeye devam etmektedir (189).

Metformin, T2DM'lu hastalar için en uygun başlangıç tedavisi olarak kabul edilen en popüler oral glukoz düşürücü ilaçlardan biridir. İlginç bir şekilde, ilacın, hepatik glukoz üretimini düşürdüğü düşünülen etki mekanizması hakkında hala tartışmalar vardır. Aksine yeni kanıtlar bulunana kadar, metformin muhtemelen T2DM'da "temel tedavi" olarak kalacaktır (190).

Kırsal bitkisel ilaçlar, uzun süredir yeni kemoterapötik ajanlar ve ilaç çalışmalarında mükemmel başlangıç noktaları sunmaktadır. Bu alandaki başarılar tamamlayıcı tıbbı artan ilgiyi teşvik etmiştir.

Bu tez çalışmasında, i.p ve i.c.v. şekilde verilen STZ ile T2DM ve uzamış diyabet sonucu oluşan nontransgenik Alzheimer modelindeki sıçanlarda karayemiş meyvesinin ve metforminin öğrenme/bellek fonksiyonlarına, anti-diyabetik aktiviteye ve antioksidan parametreler üzerindeki etkileri araştırıldı. Bu amaçla beyin dokusunda ve serumda GSK3- β , β -Amiloid, GSH, IL-1, GLUT4, GLP-1, AChE düzeyleri saptanarak karayemiş meyvesinin ve metforminin bu parametreler üzerine etkisi T2DM ve Alzheimer grupları ile karşılaştırılarak incelenmiştir.

Bu tez çalışmasında, yaygın olarak kullanılan antidiyabetik ilaç olan metformin ile antidiyabetik etkinliği olan karayemiş karşılaştırılarak araştırılmıştır. T2DM grubunun 7., 14. ve 21. gün glukoz ortalaması T2DM+KY, T2DM+OA gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM+KY grubunun 7., 14. ve 21. gün glukoz ortalaması T2DM+OA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

T2DM, T2DM+KY ve T2DM+OA grubuna göre 7., 14. ve 21. gün glukoz ortalaması kontrol, Kontrol+KY, ALZ ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. ALZ grubunda kan glukoz düzeyinde deney boyunca değişiklik gözlenmedi. Karayemiş kan glukoz düzeylerini düşürmekle birlikte, kan glukoz seviyelerinin metformin tarafından karayemiştenden daha iyi korunduğu bulundu. Metformin bu aktiviteyi muhtemelen insülin salgılanmasını teşvik ederek gösterdi. Şenaylı ve ark. (185) karayemişin antidiyabetik etkinliği, yaygın olarak kullanılan antidiyabetik ilaç olan glibenklamid ile karşılaştırdılar. Kan glukoz düzeylerinin karayemiş ekstraktı tarafından glibenklamidden daha iyi korunduğu bulundu. Ayrıca deney sonunda ölçülen insülin konsantrasyonlarının ekstrakt grubunda diğer gruplara göre daha yüksek olduğu bulundu. Anestezi sırasında glukoz stabilitesi de ekstraktın düzenleyici etkinliğini doğruladı. Ayrıca karayemişin bu aktiviteyi insülin salgılanmasını teşvik ederek verdiğini bildirdiler. Bu nedenle karayemişin diyabet için etkinliğinin bu çalışma ile kolayca öngörülebileceğini ve ekstraktın bir diyabet önleyici ilaç olarak geliştirilmesine yönelik daha fazla ilgiyi hak ettiğini önerdiler.

Karayemiş, Anadolu bölgesinde sadece kırsal alanlarda diyabete karşı kullanılan bir bitkidir. Yaprakları ayrıca Anadolu'da yöre halkı tarafından bazı nörolojik rahatsızlıklara karşı çay şeklinde kullanılmaktadır. Hipoglisemi senkopun en sık nedenidir ve oral antidiyabetikler veya insülin tedavisinin bir komplikasyonudur (191). Aktan ve ark. (192) Rize'de Üniversite Hastanesindeki 75 yaşında erkek hastaya hipoglisemik atak ve bayılma şikayeti ile acil müdahale yapılmıştır. Hasta 2 yıl önce prediyabet tanısı almasına rağmen herhangi bir antidiyabetik ilaç kullanmadığını ve diyet tavsiyelerine uymadığını bildirmiştir. Hasta cinsel gücü artırdığına inanarak her gün *Vaccinium corymbosum* (VC) suyu içtiğini bildirmiştir. Hipoglisemi gelişmeden önce 200-300 gram karayemiş meyvesi yemenin yanı sıra yaklaşık 500 ml VC suyu tüketmiştir. Bilinç kaybı sırasında ölçülen plazma glukoz düzeyi 30 mg/dL'dir. Derin hipoglisemi, güçlü bir glukoz düşürücü etkiye sahip olabilen karayemiş meyve alımının bir sonucu veya aşırı VC suyu alımı ile ilgili olarak meydana gelen iki bitkinin kimyasal bileşimleri arasındaki bir etkileşimin beklenmedik bir yan etkisi olabileceğini düşündürmüştür. Her iki bitki de diyabetin alternatif tedavisinde düşünülebilir. Hipoglisemi için risk faktörü olmamasına rağmen, bu bitkilerin yüksek dozlarda kullanımı ile hipoglisemi gelişmesi, iki bitkinin birlikte kullanılmasından kaynaklandığını düşündürmektedir. Ayrıca tıbbi tedavi, diyet ve yaşam tarzı değişikliklerine uymayan prediyabetli hastaların büyük çoğunluğunda diyabet geliştiği de bilinmektedir. Her iki bitki de

oksidatif stresi ve insülin direncini azaltarak glukoz düzeylerini düşürebilir ve diyabet için alternatif tedaviler olabilir (192).

Turan ve ark. (193) 2013 yılında karayemiş meyve özütlerinin (500 ve 1000 mg/kg doz seviyeleri) antidiyabetik etkilerini alloxan ile indüklenen diyabetik sıçanlarda araştırdılar ve gliklazid ile karşılaştırdılar. Ayrıca karayemiş ekstraktının tokluk kan seviyeleri ve gliklazidin neden olduğu hipoglisemi üzerindeki etkisini araştırdılar. Ekstraktın kan şekerini bu dozda önemli ölçüde düşürdüğünü bildirdiler. Öte yandan karayemiş özütü, gliklazid kaynaklı hipoglisemiden sonra kan seviyelerini normale getirdiğini ve karayemiş ekstraktının, agonist-antagonist özelliklere sahip bir ajan olduğunu bildirdiler. Bu çalışmanın sonuçları karayemiş ekstraktının hem hipoglisemili hem de hiperglisemili hastalarda kullanılabileceğini göstermiş oldu.

Orhan ve ark. (186) karayemişin in-vivo olarak hipoglisemik ve antidiyabetik aktivitelerini değerlendirdiler. Tohum özütü, deneysel diyabetik hayvanlarda kan şekeri seviyelerinde %20 inhibisyon gösterdi. Biyoaktif tohum ekstraktının kimyasal bileşimi GC-MS ile analiz edildi. Bu ekstraktın ana bileşenleri olarak oleik, linoleik ve palmitik asitler tespit edildi. Bu nedenle tohumların hipoglisemik aktivitesi doymamış yağ asitlerinden kaynaklanabileceğini açıkladılar.

Son çalışmalar, obezite ve diyabetin, AH için risk faktörleri olması nedeniyle AH insidansının önemli ölçüde artacağını düşündürmektedir. Diyabet ve ALZ arasında güçlü bir korelasyon ilk olarak geniş bir popülasyona dayalı Rotterdam çalışmasında rapor edilmiştir (194). Daha sonraki epidemiyolojik çalışmalarda T2DM'nin ALZ için bir risk faktörü olduğunu kuvvetle ileri sürmüştür. Diyabetin, demansın ortaya çıkması için gereken A β yükünün eşikini artırdığı bildirilmiştir. Bir meta-analiz çalışmasında, obezite ve diyabetin yaşlı bireylerde AH riskini önemli ölçüde ve bağımsız olarak artırdığı gösterilmiştir (195).

Bu tez çalışmasında, kontrol grubunun diyabet günü ağırlık ortalaması T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA ve ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu. 7. ve 21. gün ağırlık için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık saptanmadı. 21. gün ağırlık için yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında istatistiksel öneme sahip farklılık bulundu ancak yapılan post-hoc Tukey analizi ile farkın kaynaklandığı gruplar belirlenememiştir.

Obezite ve diyabetle ilişkili kronik nörodejeneratif yolları inceleyen çalışmalardan elde edilen bilgiler, bilişsel gerilemeyi geciktiren ve yaşam kalitesini iyileştiren terapötik ajanların geliştirilmesine yol açabilir. Diyabet yönetiminde birincil hedef glisemik kontrol olmasına

rağmen bilinen nöroprotektif etkileri olan mevcut antidiyabetik ilaçlara ve karayemiş gibi nöroprotektif etkili ve antioksidan aktivitesine sahip ekstratlara ciddi önem verilmesi gerekmektedir (92).

AH, T2DM ile yakından ilişkilidir ve AH ayrıca T3DM olarak da kabul edilir. Bununla birlikte, AH ve T2DM arasındaki kesin bağlantı hala belirsizdir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda GSK3- β , T2DM ve AH arasındaki potansiyel bağlantı olabileceğini gösteren bir kanıt olabilmektedir. T2DM'de GSK3- β , kan şekerini düzenlemede anahtar rol oynayan glikojen sentezinin önemli bir enzimidir. Daha da önemlisi GSK3- β , insülin eksikliğine ve insülin direncine yol açan kilit faktörlerden biridir ve insülin direnci, DM'nin ortaya çıkması ve gelişmesinin önemli bir özelliğidir (196). Çalışmamızda GSK3- β düzeyleri T2DM ve ALZ'deki ilişkisi sorgulanmıştır. T2DM grubunun beyin doku GSK3- β ortalaması kontrol, ALZ, ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Hem diyabet grubunda hem de Alzheimer grubunda karayemiş etkili bir şekilde beyin doku GSK3- β düzeylerini düşürdü. Ancak serum GSK3- β düzeylerinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. Bu sonuçlar bize dokuda GSK3- β düzeylerinin etkili olduğunu ancak sistemik dolaşıma yansımadığını göstermektedir. Yapılan literatür taraması sonucunda karayemişin GSK3- β düzeyleri üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızın sonuçları literatürde ilk olarak karayemişin T2DM ve Alzheimer grubunda GSK3- β düzeylerini azaltarak nöroprotektif etkilerini göstermiştir. Metforminin ALZ'deki faydalı etkileri, çoğunlukla hastalığın ailesel formunu temsil eden hayvan modellerinde rapor edilmiştir (197). Bu ALZ formu, tüm ALZ vakalarının yalnızca %1-5'ini oluşturur ve artan amiloidojenik işleme ve tau hiperfosforilasyonuna yol açan genetik değişiklikler nedeniyle hızlı bir başlangıç gösterir. Tüm ALZ vakalarının %95-99'unu oluşturan STZ indüklü ALZ'de, ciddi bilişsel bozukluklar ortaya çıkmadan önce demans öncesi evrelerde erken patolojik değişiklikler tespit edilebilmekte ve böylece hastalığı modifiye edici yaklaşımlar için terapötik bir yol açılmaktadır (197). Pilipenko ve ark. (198) SAH modeli sıçanlarda oral metformin tedavisinin (ardışık 21 gün boyunca 75 ve 100 mg/kg) davranışsal ve biyokimyasal parametreler üzerindeki etkilerini incelediler. Sonuçlarımıza benzer şekilde STZ'nin uygulanması, incelenen tüm beyin bölgelerinde GSK3- β 'nin ekspresyonunun artmasıyla sonuçlandı. Metformin tedavisinin SAH model sıçanlarında incelendiğinde tüm beyin bölgelerinde GSK3- β ekspresyonunu düşürdüğünü rapor ettiler. Metforminin GSK3- β üzerindeki etkileri ALZ model sıçanlarında çalışılmamıştır; ancak metformin, beyni muhtemelen CREB/BDNF veya Akt/GSK3 sinyal yollarının aracılığı ile metamfetamin

kaynaklı nörodejenerasyona karşı koruyabileceği bildirilmiştir. Metforminin 75 mg/kg dozunun değil, 100 ve 150 mg/kg'lık dozlarının metamfetamin ile tedavi edilen sıçanlarda toplam ve fosforile GSK-3'ü inhibe ettiği saptanmıştır (199). GSK3- β 'nın inhibisyonunun, geliştirilmiş glukoz taşınması ve alımı ile uyumlu olarak metforminin nöroprotektif etkilerine dahil olabileceği gösterilmiştir (198). Plaschke ve ark. (200) STZ uygulamasının, GSK-3'ün artmasına ve fosfo-GSK içeriğinin azalmasına yol açtığını göstermişlerdir. Ayrıca GSK-3 aktivitesinin dolaylı bir ölçüsü olarak fosfo/toplam GSK-3 oranı, STZ'den sonra önemli ölçüde azalmıştır. Sonuçlar, STZ ile tedavi edilen sıçanların beyinde fosforile edilmemiş, aktif GSK-3'teki bir artışın artan tau hiperfosforilasyonuna yol açabileceğine dair önceki in vivo verileri desteklemektedir. Bu nedenle, GSK-3'ün inhibisyonunun, geliştirilmiş glukoz taşınması ve alımı ile uyumlu olarak metforminin nöroprotektif etkilerine dahil olabileceğini düşündürmektedir (197).

GSH, glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen güçlü bir antioksidandır. Diyabetik hastalarda hem sistein hem de glisin eksikliği gösterilmiştir. Böyle bir eksikliğin, bozulmuş protein döngüsü ve diyet eksikliğinin bir kombinasyonundan kaynaklandığı ileri sürülmektedir (201). AH, Parkinson hastalığı (PH) ve amiotrofik latera skleroz (ALS) gibi yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıklarda beyin GSH seviyeleri azalmış gibi görünmektedir. Bu nörodejeneratif hastalıkları olan hastalarda beyin GSH ölçümlerini araştırmak için birkaç çalışmada proton manyetik rezonans spektroskopisi (1H-MRS) kullanılmıştır (202). 1H-MRS, GSH dahil olmak üzere çeşitli nörokimyasalların tespiti için invazif olmayan bir tekniktir (203). Bu tez çalışmasında da beyin dokusunda ve serumda GSH düzeyleri ölçüldü. ALZ+KY grubunun beyin doku GSH düzeylerinin ortalaması kontrol, kontrol+KY, T2DM+OA, ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM grubunun serum GSH düzeylerinin ortalaması kontrol ve ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı. ALZ grubunda karayemiş alımından sonra hem beyin doku GSH düzeyleri hem de serum GSH düzeyleri anlamlı şekilde yüksek bulundu. T2DM grubunda da karayemiş alımından sonra serum GSH düzeyinde anlamlı şekilde yükseldi. Karayemiş oldukça iyi düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu söylenebilse de yöntemlerde standardizasyon olmaması nedeniyle sonuçlarımızı literatür verileriyle karşılaştırmak mümkün değildir. Yegin ve ark. (204) karayemişin in vivo antidiyabetik aktivitesini STZ indüklü sıçan modelinde Giresun Üniversitesinde araştırdılar. Çünkü bu meyve Türkiye'de Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nde doğal antidiyabetik ürünlerden biri olarak kullanılmaktadır. GSH düzeyleri karayemiş uygulanan sıçanlarda uygulanmayanlara göre

anlamli yüksek bulundu. Aynı zamanda diyabetik sıçanlarda (DG) ve kilo kaybı görülen sıçanlardaki (DLO) kilo kaybı, karayemiş verilen gruptan oldukça fazladır (yaklaşık 2 kat). Kan glukoz düzeylerinde ise DG ve DLO'da sırasıyla %9,17 ve %54,2 oranında azalma saptadılar. Diyabetin klinik belirti ve semptomları arasında kilo kaybı her iki grupta da görülse de DLO'da gözlenen oran DG'ye göre nispeten orta düzeydedir. Ayrıca kan şekeri düzeyleri dikkate alındığında bu gruptan elde edilen değerler DLO'da (-%54,2) belirgin bir iyileşme gösterdi. Hem kilo kaybı hem de kan şekeri düzeyi sonuçlarına göre, karayemiş ekstraktı diyabet tedavisi için olumlu bir etkiye sahiptir (204). Karayemiş, biyoaktif bileşenlerinin doğal farmasötikler adayı olduğunu düşündüren terapötik antidiyabetik etkiye sahip olabilir.

Uslu ve ark. (205) tip 1 diyabetli sıçanlarda karayemiş tohumu, meyve ve yaprak ekstraktlarının insülin duyarlılığı ve oksidatif stres mekanizmalarında etkili olduğu bilinen hiperglisemi, adiponektin ve irisin düzeyleri üzerine etkilerini araştırdılar. Karayemiş tohum, meyve ve yaprak ekstraktları GSH düzeylerini önemli ölçüde artırmıştır. Karayemişin özellikle tohum ve meyve ekstraktlarının açlık kan glukoz düzeylerini düşürmede, kilo değişimi dengesizliğini düzenlemede, diyabete bağlı oksidatif stres ve inflamasyonu önlemede ve insülin duyarlılığını artırma potansiyelinde oldukça etkili olduğunu bildirdiler.

IL-1, periferde inflamatuvar ve konak savunma yanıtlarını düzenleyen pluripotent, proinflamatuvar bir sitokindir. IL-1, T hücrelerini (ve dolaylı olarak B hücrelerini) aktive eder, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu up-regüle eder, bir dizi diğer proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu indükler ve inflamatuvar yanıtın kuvvetlendirici bir kaskadı oluşturan diğer inflamasyonla ilişkili proteinlerin ekspresyonunu indükler. T2DM ve AH'nın patogeneğinde inflamatuvar yanıtların rolüne ilişkin kanıtlar son yıllarda giderek artmaktadır. İnflamatuvar bir sitokin olan IL-1 β , pankreasın Langerhans adacıklarının beta hücre harabiyetine neden olduğu bilinmektedir. Beta hücrelerinin kendileri, glukoz uyarımı üzerine IL-1 β salgılar (18,206–208). Bu tez çalışmasında T2DM grubunun beyin dokusu IL-1 düzeylerinin ortalaması kontrol, kontrol+KY, ALZ, ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM+OA grubunun beyin doku IL-1 düzeylerinin ortalaması kontrol+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. STZ ile aktive olan hücrelerde IL-1 üretiminin inhibitörleri olarak görev yapan karayemiş, inflamasyonun yarattığı koşulları normalleştirebilecek iyi anti-inflamatuvar ajan olarak önerilebilir. Çalışmada Alzheimer grubunda serum IL-1 düzeylerinin artması, IL-1'in bu etkileri, Alzheimer hastalığında sitokin döngüsü olarak tanımladığımız bir dizi IL-1 tarafından

başlatılan kaskadları düşündürür (208). IL-1'in aşırı ekspresyonu ve bunun sonucunda ortaya çıkan 'nöroinflamatuvar' yanıt, Alzheimer hastalığında patojenik öneme sahiptir. Metabolik değişiklikler, beyin nöroinflamasyonunu, T2DM ve ALZ patogenezi desteklediği bilinen sitokinlerin üretimini geniş ölçüde tetikleyebilir ve şiddetlendirebilir (209,210). Bu çalışma, inflamasyonla ilgili durumların tedavisinde karayemiş meyvesinin geleneksel kullanımını desteklemiştir. Deneysel veriler, karayemiş yapraklarının dikkate değer bir anti-inflamatuvar ve antinosiseptif aktiviteye sahip olduğunu doğrulamıştır (211). Alzheimer patogenezi bu tür 'nöroinflamatuvar' süreçlerin rolü, anti-inflamatuvar ilaçların Alzheimer hastalığının oluşumu üzerinde koruyucu bir etkisi olduğunu gösteren epidemiyolojik çalışmalardan (212) ve karayemiş uygulamasının muhtemelen plak patolojisini ve IL-1 ekspresyonunu baskılayabileceğini düşündürmektedir.

GLUT4, T2DM'nin patofizyolojisinde önemli bir rol oynar. Beyinde birkaç glukoz taşıyıcısı tanımlanmıştır. İnsan ve diğer türlerdeki GLUT1 protein seviyelerine kıyasla daha düşük GLUT3, GLUT4, SGLT1 ve SGLT2 seviyelerine sahip kan-beyin bariyeri (BBB) endotel hücrelerinde ek glukoz taşıyıcıları da tanımlanmıştır. İnsüline duyarlı GLUT4 ekspresyonunun ayrıca ventromedial hipotalamusun BBB'sinde olduğu gösterilmiştir, bu da kan şekeri konsantrasyonunun beyin tarafından algılanmasındaki rolünü düşündürür (213,214). ALZ+KY grubunun beyin dokusu GLUT4 ortalaması kontrol, kontrol+KY, T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA ve ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM grubunun GLUT4 ortalaması kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. GLUT4'ün hücre membranına bağlanmasıyla glukozun hücre içine alımı gerçekleşir. GLUT4'ün insüline bağımlı ve AMPK yoluyla ile insülinle bağımsız olarak translokasyonu gerçekleşir. Çalışmamızda karayemiş uygulanan Alzheimer grubunda hem beyin dokusunda hem de serum GLUT4 düzeylerinde artış bulundu. Bu bilgiler ışığında GLUT4 düzeylerindeki artış karayemişin AMPK'nın fosforilasyonunu aktive ederek GLUT4'ün translokasyonunu teşvik ettiğini düşündürmektedir. Bu şekilde hücre içine glukozun alımını artırabilir. Bizim sonuçlarımızın aksine GLUT4 düzeylerinin db/db sıçanların serebellumda arttığı ve STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda azaldığı gösterilmiştir. Bu da iki farklı diyabet modelinde insüline duyarlı GLUT4 ekspresyonunu düşündürür (215). Nöral insülin reseptörlerinin duyarsızlaştırma mekanizmaları henüz net olmasa da bunun insüline duyarlı GLUT4 üzerindeki etkilerini ve bunun AH patogenezi üzerindeki rolünü test etmek faydalı olacaktır (216). GLUT4 yolu, T2DM ve AH'ye karşı farmakolojik

müdahale için ortaya çıkan bir hedeftir. Karayemiş bu mekanizmanın iyileştirilmesinde rol oynayabilir.

Bu tez çalışmasında, ALZ grubunun serum A β ortalaması kontrol ve T2DM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. T2DM grubunun beyin dokusu β -Amiloid ortalaması ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. ALZ+KY ve T2DM+KY uygulanan gruplar kontrol+KY grubuna göre kıyaslandığında şaşırtıcı bir şekilde beyin dokusu A β düzeylerinin yaklaşık 2 katı kadar arttığı bulundu. Yapılan literatür taramasına göre karayemiş meyvesinin T2DM ve ALZ'de A β inhibisyonu üzerine yapılan ilk çalışmadır. AH ve diyabet, yüksek kolesterol, dejenerasyon, A β birikimi gibi çeşitli risk faktörlerini paylaşır. T2DM ile birlikte gelen hiperinsülinemi, beyindeki A β birikimi ile ilişkili olarak AH ve diyabeti birbirine bağlayan bir faktördür. İnsülini parçalayan enzim için rekabet ederek, beyin A β klirensini bozar (217). Aynı zamanda yaşlanmada artan oksidatif stresin etkisi altında beyin lipoproteinleri için koruyucu bir antioksidan olarak yüksek A β üretiminin AH'nın gelişiminde önemli bir olayı temsil ettiği varsayılmaktadır. Pro-oksidatif özelliklerin aksine, A β peptitlerinin antioksidatif aktivitesi çalışmaları sınırlıdır. Güçlü metal şelatörlerinin tipik olarak güçlü antioksidanlar olduğu ve A β 'nın metal bağlama özelliklerinin uzun süredir bilindiği gerçeği göz önüne alındığında bu biraz şaşırtıcıdır. A β , geçiş metalleri tarafından fibrillere toplanmalıdır. Fibrillenmiş A β , nöronlar ve diğer hücreler için oldukça toksiktir (218). Yani A β 'nın toksik olabilmesi için fibrile olması gerekir. Buna karşılık, düşük nanomolar konsantrasyonlarda (BOS ve plazmada dolaşan), A β monomeriktir ve bir antioksidan olarak işlev görür (20,21). Daha yüksek A β konsantrasyonlarında antioksidan etkisi ortadan kalkar. Bu düşük konsantrasyonlarda A β toksik değildir ve hatta nöronun hayatta kalması, aksonal uzunluk ve nöron büyümesi üzerinde faydalı etkilere sahiptir. En önemlisi mitokondri tarafından artan ROS üretimi gibi yaşlanmada geliştiği bilinen patolojik mekanizmaları (AH için en önemli risk faktörüdür) kapsarlar ve A β oluşumuna göre upstream yerleşimlidir (150). Bizim çalışmamızın sonuçları, A β 'nın geçiş metal iyonlarını şelatlayarak işlev gören BOS ve plazma lipoproteinlerinde fizyolojik bir antioksidan görevi görebileceğini, karayemiş A β 'nın antioksidan etkisini indükleyebileceğini düşündürmektedir (21).

GLP-1, proglukagon geninden türetilen ve besinler duodenuma girdiğinde ince bağırsaktan salgılanan 30 amino asit uzunluğunda bir peptid hormonudur. GLP-1 ayrıca MSS, ağırlıklı olarak beyin sapında üretilir ve daha sonra MSS'de çok sayıda bölgeye taşınır (24). T2DM'de inkretinlerin etkisinin bozulduğuna dair kanıtlar vardır. Azalmış GLP-1 seviyeleri

ve hem inkretinlere (GLP-1) hem de GIP karşı azalmış yanıtın bir kombinasyonu ile ilişkili bir durumdur (219). Bu tez çalışmasında, kontrol grubunun beyin dokusu GLP-1 düzeylerinin ortalaması kontrol+KY, T2DM, T2DM+KY, T2DM+OA, ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu. T2DM grubunun beyin dokusu GLP-1 ortalaması T2DM+OA ve ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM+KY grubunun GLP-1 ortalaması ALZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Stanchev ve ark.'nın çalışmasında T1DM'li hastalar ile karbonhidrat bozukluğu olmayan bireyler karşılaştırıldığında, serum GLP-1 düzeyleri benzer bulundu. Bu sonuçlar T1DM'de intakt inkretin etkisi hipotezini desteklediğini göstermektedir (220). Benzer şekilde açlık inkretin peptidlerinin önemi T2DM'li hastalarda araştırılmıştır ve kötüleşen açlık glukozu varlığında azalan açlık inkretin seviyelerinin artan α -hücre aktivitesi ile bağlantılı zayıflamış açlık β -hücre fonksiyonuna ikincil olduğu öne sürülmüştür. Bu çalışmanın yazarları, bazal inkretin seviyesinin erken değerlendirilmesinin T2DM tanısında faydalı olacağını öne sürmüşlerdir (221). Bu peptidlerin düzenlenmesinde T2DM'li hastaları tedavi etmek için yeni bir olasılık olarak önerildiği T2DM'deki glukoz homeostazında yer alan bir eksiklik de önerilmiştir (222). Başka bir çalışmada GDM ve T2DM ile ilişkili olarak daha düşük açlık GLP-1 seviyesi bildirilmiştir (223,224). Bu tez çalışmasında T2DM+OA grubunun serum GLP-1 ortalaması kontrol, T2DM ve T2DM+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Çalışmanın sonuçlarına göre metformin kullanımının karayemiş uygulamasına göre GLP-1 düzeyleri üzerine daha etkili olmuştur. Beyindeki GLP-1 kaynağından birisi de periferik kandır. Sirkülasyondaki GLP-1'in basit difüzyonla periferden beyne geçebileceği gösterilmiştir. ALZ hastalarında, GLP-1 analogu, glukoz için serebral metabolik hızı önemli ölçüde artırmıştır (225). Kan beyin bariyerinde yeniden glukoz taşınmasını sağladı ve böylece AH'de bilişsel bozulmaya karşı koruma sağladı. Kappe ve ark. (226) obez-insüline dirençli sıçan modelinde GLP-1 sekresyonunun azaldığını ve bu sıçanlarda bilişsel gerilemede rol oynayabileceğini bildirdiler. Bununla birlikte dolaşımdaki azalmış GLP-1'in diyabetli hastalarda bilişsel bozulmaya ne ölçüde katkıda bulunabileceği tam olarak ele alınmamıştır. Diyabetik hastalarda GLP-1 düzeyinin düşüp düşmediği bile tartışmalıdır (227). Günümüzde T2DM'li hastalarda düşük eğitim düzeyi, hipertansiyon öyküsü, ailede DM öyküsü, düşük serum GLP-1 düzeyi, düşük HDL-K düzeyi ve yüksek AKŞ (açlık kan şekeri) düzeyinin bilişsel fonksiyon bozukluğu için risk faktörleri olduğu saptandı. Dolaşımdaki düşük GLP-1, bilişsel fonksiyon bozukluğunun patogenezinde rol

oynayabilir, bu da T2DM'li hastalarda bilişsel fonksiyon bozukluğunun önlenmesi veya tedavisi için GLP-1'in veya analoglarının kullanılması olasılığını artırır (228).

Asetilkolinesteraz (AChE), beyindeki sinir fonksiyonlarında ve sinyal iletiminde rol oynayan kritik bir enzimdir. Bununla birlikte yaşlanma sırasında, aşırı AChE aktivitesi sıklıkla temel nörotransmitter olan asetilkolinin (ACh) hızlı ve ilerleyici tükenmesine yol açar. ACh eksikliği, nörotransmisyonun azalmasına demans ve AH gibi patolojik durumların gelişmesine yol açar. Bu nedenle AH'nın klinik yönetimine yönelik kanıtlanmış yaklaşımlardan biri, gelişmiş beyin ACh seviyeleri üretmek ve beyinde düzenli sinir fonksiyonlarını eski haline getirmek için AChE aktivitesini inhibe eden bileşiklerin kullanılmasıdır (229). Tez çalışmasında karayemiş meyvesi kontrol ve ALZ grubunda beyin doku AChE düzeylerini arttırırken T2DM grubunda metformin karayemiş meyvesine göre daha ılımlı bir şekilde düşürdüğü saptandı. Karayemiş meyvesi serum AChE düzeylerini ise kontrol ve T2DM grubunda ılımlı arttırırken, ALZ grubunda azalttığı bulundu. Güçlü serbest radikal süpürme aktivitesine ek olarak, karayemiş meyvesi, beyindeki AChE aktivitesini modüle etme kabiliyeti nedeniyle nöroprotektif bir terapötik ajan olarak da kullanılabilir. Orhan ve ark. (31) yaygın olarak tüketilen bir besin bitkisi olan Türk kökenli karayemiş meyvesi, antioksidan parametrelerinin yanı sıra kolinesteraz enzim ailesinin inhibisyonu ile karşılaştırmalı olarak test etmiştir. Sonuçlar, karayemiş ekstraktlarının, özellikle yaprak metanol ekstraktının, hem kolinesteraz inhibisyonunun hem de antioksidan aktivitenin radikal oluşum ve demir ile ilgili yöntemlerle belirlenmesi için uygulanan test sistemlerinde üstün etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, yaprak metanol özütünün bu mekanizmalar yoluyla bir dereceye kadar nöroprotektif etki gösterdiği tahmin edilebilir. Hem ALZ hem de T2DM, sistemik ve nöro-inflamasyonun varlığını, β -amiloid peptidin artan üretimini ve birikimini, AChE ve butirilkolinesteraz (BuChE) enzimlerinin anormal seviyelerini paylaşır (31). Yamamoto ve ark. (230) vasküler demans ve Alzheimer tip demans arasında serum AChE düzeylerini farklı buldular. Bu nedenle plazma veya serum G4 AChE aktivitesinin ölçümü demansın ayırıcı tanısında yardımcı olabilir. Plazma G4 AChE aktivitesi demansın ayırıcı tanısına katkıda bulunabilir ve asetilkolinesteraz inhibitörü ile tedaviye ilişkin rehberlik sağlayabilir. Ayrıca demansın klinik seyrini plazma veya serum G4 AChE seviyelerindeki değişikliklerle ilişkilendirmek mümkün olmalıdır. Ancak azalmış G4 AChE aktivitesi bulgusu Alzheimer tip demans için tanısal değildir ve demanslı hastaların tanı ve takibinde klinik ve radyolojik yöntemler önemini korumaya devam edecektir (230). Bu tez çalışmasının ardından vasküler demans ve Alzheimer tip demans üzerine karayemişin

antioksidan, anti-inflamatuvar ve AChE aktivitesinin inhibisyonu üzerine etkisini araştıran klinik bir çalışma planlamayı düşünüyoruz.

Morris Su Labirenti (MWM) ilk olarak uzamsal hafıza ve uzun süreli uzamsal hafıza edinimi dahil olmak üzere hipokampal bağımlı öğrenmeyi test etmek için kurulmuştur (231). MWM, tipik olarak altı günlük denemelerden oluşan nispeten basit bir prosedürdür; ana avantajı, mekansal (gizli platform) ve mekansal olmayan (görünür platform) koşullar arasındaki ayırmadır (232). Bu tez çalışmasında her grupta bulunan sıçanlara 14. günden itibaren MWM testi 5 gün süresince uygulanmıştır. T2DM+OA grubunun 1.gün yüzme süre ortalaması ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. T2DM+KY grubunun 3.gün yüzme süre ortalaması ALZ+KY grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunurken son gün gruplar arasında farklılık saptanmadı. Çalışmanın sonucu karayemiş meyvesinin özellikle ALZ grubunda yüzme sürelerini azalttığını göstermektedir. ALZ+KY grubu MWM testinde yüksek ve iyi performans gösterdiği anlaşıyor. Sonuç olarak, MWM testi karayemişin ALZ model sıçanların semptomlarını hafifletebileceğini düşündürmektedir.

Yaş, cinsiyet, tür ve soy farklılıkları MWM performansını etkiler (233). Araştırmalar, yaşlı farelerin MWM'de düşük performans gösterdiğini, erkek kemirgenlerin ise dişilerden daha iyi performans gösterdiğini gösteriyor; ek olarak, sıçanlarda, farelere göre yüzme daha belirgindir (234). Bu nedenle, bu unsurlar tüm testlerde eşitlenmelidir. Kanıtlar ayrıca stresli hayvanların MWM'de daha kötü performans gösterdiğini, bu nedenle sıcaklık, ışık ve gürültü gibi strese neden olabilecek çevresel faktörlerin izlenmesi ve görev boyunca sabit tutulması gerektiğini göstermektedir (235,236). Tian ve ark.'nın manuel akupunktur ALZ modeli farelerin MWM testlerinin sonuçları, uzamsal öğrenme ve hafıza yeteneklerini etkili bir şekilde geliştirebileceğini göstermektedir. Titiz deneysel işlemler, sonuçların güvenilirliğini sağladığını bildirdiler (237). MWM, bilişsel işlevi değerlendirmek için güçlü bir tekniktir ve şu anda çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, havuz ve platformun boyutları da dahil olmak üzere MWM testini gerçekleştirmek için tanımlanmış, standart, tutarlı bir ekipman yoktur. Farklı laboratuvarların MWM için farklı özellikleri vardır. Bu nedenle araştırmacılar arasında kafa karışıklığına neden olabilecek bireysel deneysel gereksinimlerine göre uygun deney cihazını seçerler. Ön deneyler de gereklidir. MWM gibi temel deneyler üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Şu anda deneysel bir araç olarak MWM'nin esnekliği, yalnızca çalışmanın amacına göre temel protokolleri seçme yeteneğinde yatmaktadır. Bu nedenle bu test bilişsel işlevi daha derinlemesine değerlendirmek için

uygulanabilir (237). Çalışmamızda kullanılan MWM protokolünün, ALZ model hayvanların uzamsal öğrenmesini ve hafızasını değerlendirmeleri için basit ve görünür bir yöntem sağlamaktadır. Hafıza ve öğrenme yeteneklerini, günlük işleyişi ve yaşam kalitesini etkileyen bilişsel yetersizlikler ve davranış değişiklikleri ile karakterize olan ALZ deneysel modelindeki sıçanlara uygulanan karayemişin MWM testinde yüksek ve iyi performans gösterdiği anlaşıyor. Bu nedenle ALZ modelinde MWM testi arama stratejilerinin analiz edilmesi, klinik öncesi ilaç testi ve erken terapötik başarıların belirlenmesi için güçlü bir araç olabilir.

Sonuç olarak oksidatif stres, AH ve T2DM için ortak faktördür. Oksidatif stres, hasarın kapsamını ve ilerlemesini belirleyen önemli bir faktördür. T2DM ve AH mutlaka aynı patolojiler olmayabilir; ancak insülin direnciyle ilgili bazı mekanizmaları paylaşırlar. Aynı organda, aynı patojenik arka plan altında birbiriyle örtüşen iki patolojidir. Karayemiş meyvesi kan glukoz düzeylerini, kilo değişimi dengesizliğini düzenlemede, diyabete bağlı oksidatif stres ve inflamasyonu önleme potansiyelinde oldukça etkili olduğunu belirledik. A β 'nın metal bağlama özelliklerinin uzun süredir bilindiği gerçeği göz önüne alındığında fizyolojik bir antioksidan görevi görebileceğini, karayemişin A β 'nın antioksidan etkisini indükleyebileceğini düşündürmektedir. Güçlü serbest radikal süpürme aktivitesine ek olarak karayemiş meyvesi, beyindeki AChE aktivitesini modüle etme kabiliyeti nedeniyle nöroprotektif bir terapötik ajan olarak da kullanılabilir. Çalışmanın sonuçları, karayemişin T2DM ve AH'de antioksidan, anti-inflamatuvar ve glukoz düşürücü bir ajan olarak kullanılıp kullanılmayacağının belirlenmesi için ileri klinik ve deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİ

Karayemişin T2DM ve AH’de antioksidan, anti-inflamatuvar ve kan glukoz düşürücü bir ajan olarak hastalara kullandıkları ilaçlara ilaveten tıbbi destek tedavisi şeklinde verilebilir. Bu tez çalışmasının ardından T1DM, T2DM, vasküler demans ve Alzheimer tipi demans üzerine karayemişin antioksidan, anti-inflamatuvar ve AChE aktivitesinin inhibisyonu üzerine etkisini araştıran klinik bir çalışma planlamayı düşünüyoruz.



KAYNAKLAR

1. Richard J. O'Brien and Philip C. Wong. Amyloid Precursor Protein Processing and Alzheimer's Disease. 2011;34:185–204.
2. Da Silva RMFL, Miranda CM, Liu T, Tse G, Roeveer L. Atrial Fibrillation and Risk of Dementia: Epidemiology, Mechanisms, and Effect of Anticoagulation. *Front Neurosci.* 2019 ;13.
3. Akinola OB, Biliaminu SA, Adediran RA, Adeniyi KA, Abdulquadir FC. Characterization of prefrontal cortex microstructure and antioxidant status in a rat model of neurodegeneration induced by aluminium chloride and multiple low-dose streptozotocin. *Metab Brain Dis.* 2015;30(6):1531–6.
4. Deshmukh R, Kaundal M, Bansal V, Samardeep. Caffeic acid attenuates oxidative stress, learning and memory deficit in intra-cerebroventricular streptozotocin induced experimental dementia in rats. *Biomed Pharmacother.* 2016;81:56–62. A
5. Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease. *Eur J Neurol.* 2018;25(1):59–70.
6. Briggs R, Kennelly SP, O'Neill D. Drug Treatments in Alzheimer's Disease. *Clin Med (Northfield Il).* 2016;16(3):247–53.
7. Nguyen TT, Giau V Van, Vo TK. Current advances in transdermal delivery of drugs for Alzheimer's disease. *Indian J Pharmacol.* 2017;49(2):145–54.
8. Bedse G, Di Domenico F, Serviddio G, Cassano T. Aberrant insulin signaling in Alzheimer's disease: current knowledge. *Front Neurosci.* 2015;9
9. Reddy VP, Zhu X, Perry G, Smith MA. Oxidative stress in diabetes and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2009;16(4):763–74.
10. Woodgett JR. Molecular cloning and expression of glycogen synthase kinase-3/Factor A. *EMBO J.* 1990;9(8):2431–8.
11. Lee SJ, Chung YH, Joo KM, Lim HC, Jeon GS, Kim D, et al. Age-related changes in glycogen synthase kinase 3beta (GSK3beta) immunoreactivity in the central nervous system of rats. *Neurosci Lett.* 2006;409(2):134–9.
12. Leroy K, Yilmaz Z, Brion JP. Increased level of active GSK-3beta in Alzheimer's disease and accumulation in argyrophilic grains and in neurones at different stages of neurofibrillary degeneration. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2007;33(1):43–55.
13. Llorens-Martín M, Jurado J, Hernández F, Ávila J. GSK-3β, a pivotal kinase in Alzheimer disease. *Front Mol Neurosci.* 2014;7.
14. Casado Á, Encarnación López-Fernández M, Concepción Casado M, De La Torre R. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in vascular and Alzheimer dementias. *Neurochem Res.* 2008;33(3):450–8.
15. Hoyos CM, Stephen Colagiuri, Turner A, Ireland C, Naismith SL, Duffy SL. Brain

- oxidative stress and cognitive function in older adults with diabetes and pre-diabetes who are at risk for dementia. *Diabetes Res Clin Pract.* 2022;184.
16. Ng A, Tam WW, Zhang MW, Ho CS, Husain SF, McIntyre RS, et al. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep.* 2018;8(1).
 17. Zuliani G, Ranzini M, Guerra G, Rossi L, Munari MR, Zurlo A, et al. Plasma cytokines profile in older subjects with late onset Alzheimer's disease or vascular dementia. *J Psychiatr Res.* 2007;41(8):686–93.
 18. Zhao G, Dharmadhikari G, Maedler K, Meyer-Hermann M. Possible role of interleukin-1 β in type 2 diabetes onset and implications for anti-inflammatory therapy strategies. *PLoS Comput Biol.* 2014;10(8).
 19. Alam F, Asiful Islam M, Ibrahim Khalil M, Hua Gan S. Metabolic Control of Type 2 Diabetes by Targeting the GLUT4 Glucose Transporter: Intervention Approaches. *Curr Pharm Des.* 2016;22(20):3034–49.
 20. Sayre LM, Perry G, Harris PLR, Liu Y, Schubert KA, Smith MA. In situ oxidative catalysis by neurofibrillary tangles and senile plaques in Alzheimer's disease: a central role for bound transition metals. *J Neurochem.* 2000;74(1):270–9.
 21. Kontush A. Amyloid-beta: an antioxidant that becomes a pro-oxidant and critically contributes to Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med.* 2001;31(9):1120–31.
 22. Bae CS, Song J. The Role of Glucagon-Like Peptide 1 (GLP1) in Type 3 Diabetes: GLP-1 Controls Insulin Resistance, Neuroinflammation and Neurogenesis in the Brain. *Int J Mol Sci.* 2017;18(11).
 23. Yildirim Simsir I, Soyaltin UE, Cetinkalp S. Glucagon like peptide-1 (GLP-1) likes Alzheimer's disease. *Diabetes Metab Syndr.* 2018;12(3):469–75.
 24. Calsolaro V, Edison P. Novel GLP-1 (Glucagon-Like Peptide-1) Analogues and Insulin in the Treatment for Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Diseases. *CNS Drugs [Internet].* 2015;29(12):1023–39.
 25. Mcclean PL, Parthasarathy V, Faivre E, Holscher C. The diabetes drug liraglutide prevents degenerative processes in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2011;31(17):6587–94.
 26. Hunter K, Hölscher C. Drugs developed to treat diabetes, liraglutide and lixisenatide, cross the blood brain barrier and enhance neurogenesis. *BMC Neurosci.* 2012;13(1).
 27. Kaplay SS. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase of developing human brain. *Biol Neonate.* 1976;28(1–2):65–73.
 28. Jope RS, Walter-Ryan WG, Alarcon RD, Lally KM. Cholinergic processes in blood samples from patients with major psychiatric disorders. *Biol Psychiatry.* 1985;20(12):1258–66.
 29. Reyes AE, Chacón MA, Dinamarca MC, Cerpa W, Morgan C, Inestrosa NC. Acetylcholinesterase-A β complexes are more toxic than A β fibrils in rat hippocampus: effect on rat beta-amyloid aggregation, laminin expression, reactive astrocytosis, and neuronal cell loss. *Am J Pathol.* 2004;164(6):2163–74.

30. Rees T, Hammond PI, Soreq H, Younkin S, Brimijoin S. Acetylcholinesterase promotes beta-amyloid plaques in cerebral cortex. *Neurobiol Aging*. 2003;24(6):777–87.
31. Orhan IE, Akkol EK. Estimation of neuroprotective effects of *Laurocerasus officinalis* Roem. (cherry laurel) by in vitro methods. *Food Res Int*. 2011;44(3):818–22.
32. Kolaylı S., Küçük M., Duran C., Candan F. DB. Cemical and Antioxidant Properties of *Laurocerasus officinalis* Roem. (Cherry Laurel) Fruit Grown in the Blac Sea Region. *J Agric food chemisrty*. 2003;51:7489–94.
33. Alasalvar, C. A-FM and SF. Compositional Characteristics and Antioxidant Components of Cherry Laurel Varieties and Pekmez. *J Food Sci*. 2005;70(1):S47–52.
34. Ayla S, Okur ME, Günel MY, Özdemir EM, Çiçek Polat D, Yoltaş A, et al. Wound healing effects of methanol extract of *Laurocerasus officinalis* roem. *Biotech Histochem*. 2019;94(3):180–8.
35. Bhadbhade A, Cheng DW. Amyloid Precursor Protein Processing and Alzheimer's Disease. *Iran J Child Neurol*. 2012;6(1):1–4.
36. Da Silva RMFL, Miranda CM, Liu T, Tse G, Roeveer L. Atrial fibrillation and risk of dementia: Epidemiology, mechanisms, and effect of anticoagulation. *Front Neurosci*. 2019;13.
37. Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*. 2018;25(1):59–70.
38. 2020 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement*. 2020;16(3):391–460.
39. Silva MVF, Loures CDMG, Alves LCV, De Souza LC, Borges KBG, Carvalho MDG. Alzheimer's disease: Risk factors and potentially protective measures. *J Biomed Sci*. 2019;26(1):1–11.
40. Mantzavinos V, Alexiou A. Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis. *Curr Alzheimer Res*. 2017;14(11):1149–54.
41. Stéphan A, Phillips AG. A case for a non-transgenic animal model of Alzheimer's disease. *Genes, Brain Behav*. 2005;4(3):157–72.
42. Du LL, Chai DM, Zhao LN, Li XH, Zhang FC, Zhang HB, et al. AMPK activation ameliorates Alzheimer's disease-like pathology and spatial memory impairment in a streptozotocin-induced Alzheimer's disease model in rats. *J Alzheimer's Dis*. 2015;43(3):775–84.
43. Xu W, Liu J, Ma D, Yuan G, Lu Y, Yang Y. Capsaicin reduces Alzheimer-associated tau changes in the hippocampus of type 2 diabetes rats. *PLoS One*. 2017;12(2):1–14.
44. Adelina C. The costs of dementia: advocacy, media and stigma. *Alzheimer's Dis Int World Alzheimer Rep*. 2019;100–1.
45. Dayal A. İstatistiklerle Yaşlılar, 2019. 2020.
46. Vos T, Abajobir AA, Abbafati C, Abbas KM, Abate KH, Abd-Allah F, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2017;390(10100):1211–59.

47. Moschetti K, Cummings PL, Sorvillo F, Kuo T. Burden of Alzheimer's disease-related mortality in the United States, 1999-2008. *J Am Geriatr Soc.* 2012;60(8):1509–14.
48. Ferri C, Cruz O, Dr B, Mazzotti DR, Padilla I, Luchsinger JA. World Alzheimer Report 2014 Dementia and Risk Reduction An Analysis of Protective And modifiable Factors Executive Summary dr Maëlen Guerchet dr Matthew prina. 2014.
49. Hooper C, Killick R, Lovestone S. The GSK3 hypothesis of Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2008;104(6):1433–9.
50. Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, de Strooper B, Frisoni GB, Salloway S, et al. Alzheimer's disease. *Lancet.* 2016;388(10043):505–17.
51. Kumar Thakur A, Kamboj P, Goswami K, Ahuja K. Pathophysiology and management of alzheimer's disease: an overview. *J Anal Pharm Res.* 2018;7(2):226–35.
52. Mucke L. Neuroscience: Alzheimer's disease. *Nature.* 2009;461(7266):895–7.
53. Kumar A, Singh A, Ekavali. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: An update. *Pharmacol Reports.* 2015;67(2):195–203.
54. Crews L, Masliah E. Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 2010;19(R1):12–20.
55. Prasad AS V. The Essentials of Biochemistry of the Proteins as Related to Alzheimer's Disease: A Review. *Int J Biochem Res Rev.* 2020;29(1):34–49.
56. Allsop D, Mayes J. Amyloid β -peptide and Alzheimer's disease. *Essays Biochem.* 2014;56(1):99–110.
57. Hardy J. The amyloid hypothesis for Alzheimer's disease: A critical reappraisal. *J Neurochem.* 2009;110(4):1129–34.
58. Haass C, Kaether C, Thinakaran G, Sisodia S. Trafficking and proteolytic processing of APP. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(5):1–25.
59. Yndart A. Alzheimer's disease : pathogenesis, diagnostics and therapeutics. 2019;5541–54.
60. Zhang H, Ma Q, Zhang Y, Xu H. Proteolytic processing of Alzheimer's β -amyloid precursor protein. *J Neurochem.* 2012;120(Suppl 1):9–21.
61. Tu S, Okamoto S ichi, Lipton SA, Xu H. Oligomeric A β -induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener.* 2014;9:48.
62. Blennow K, Hampel H. Review CSF markers for incipient Alzheimer ' s disease CSF markers for incipient AD. *Lancet.* 2003;2(October):605–13.
63. Gupta A, Goyal R. Amyloid beta plaque: a culprit for neurodegeneration. *Acta Neurol Belg.* 2016;116(4):445–50.
64. Cheignon C, Tomas M, Bonnefont-Rousselot D, Faller P, Hureau C, Collin F. Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. Vol. 14, *Redox Biology.* 2018.
65. Kocahan S, Do Z. Mechanisms of Alzheimer's Disease Pathogenesis and Prevention: The Brain, Neural Pathology, N-methyl-D-aspartate Receptors, Tau Protein and Other

- Risk Factors. 2017;15(1):1–8.
66. Perl DP. Neuropathology of Alzheimer's disease. *Mt Sinai J Med*. 2010;77(1):32–42.
 67. Šerý O, Povová J, Mišek I, Pešák L, Janout V. Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: A review. *Folia Neuropathol*. 2013;51(1):1–9.
 68. Meraz-Ríos MA, Lira-De León KI, Campos-Peña V, De Anda-Hernández MA, Mena-López R. Tau oligomers and aggregation in Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2010;112(6):1353–67.
 69. Noble W., Pooler A. M. HD. Advances in tau-based drug discovery. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2011;6(8):797–810.
 70. Congdon EE, Sigurdsson EM. Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. Vol. 14, *Nature Reviews Neurology*. Springer US; 2018. p. 399–415.
 71. De Strooper B, Woodgett J. Alzheimer's disease: Mental plaque removal. *Nature*. 2003;423(6938):392–3.
 72. Chong FP, Ng KY, Koh RY, Chye SM. Tau Proteins and Tauopathies in Alzheimer's Disease. *Cell Mol Neurobiol*. 2018;38(5):965–80.
 73. Liu Z, Zhang A, Sun H, Han Y, Kong L, Wang X. Two decades of new drug discovery and development for Alzheimer's disease. *RSC Adv*. 2017;7(10):6046–58.
 74. Mohsenzadegan M, Mirshafiey A. The immunopathogenic role of reactive oxygen species in Alzheimer disease. *Iran J Allergy, Asthma Immunol*. 2012;11(3):203–16.
 75. Faller P, Hureau C. A bioinorganic view of Alzheimer's disease: When misplaced metal ions (Re)direct the electrons to the wrong target. *Chem - A Eur J*. 2012;18(50):15910–20.
 76. Kepp KP. *Bioinorganic Chemistry of Alzheimer's Disease*. 2012;
 77. Weekley CM, He C. Developing drugs targeting transition metal homeostasis. *Curr Opin Chem Biol*. 2017;37:26–32.
 78. Talita H, Ferreira-Vieira, Isabella M, Guimaraes FRS and FMR. Alzheimer's Disease: Targeting the Cholinergic System. *Exp Gerontol*. 2016;14:101–15.
 79. Scarpini E, Scheltens P, Feldman H. Treatment of Alzheimer's disease: Current status and new perspectives. *Lancet Neurol*. 2003;2(9):539–47.
 80. Bartus RT, 3rd DR, B B, AS. L. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. Vol. 217, *Science*. 1982. p. 408–17.
 81. Anand P, Singh B. A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Arch Pharm Res*. 2013;36(4):375–99.
 82. Small DH. Acetylcholinesterase inhibitors for the treatment of dementia in Alzheimer's disease: Do we need new inhibitors? *Expert Opin Emerg Drugs*. 2005;10(4):817–25.
 83. Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grubu. *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği*. 2020.

84. IDF Diabetes Atlas | Tenth Edition.
85. Dünya Diyabet Günü 2020.
86. Chawla R. Chapter-2 Classification of Diabetes. Essentials Blood Bank. 2013;36–40.
87. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabetic Medicine*, 15(7), 539–553 |
88. who. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia. *New Compr Biochem*. 2006;1(C):161–214.
89. Hoogwerf BJ. Type of diabetes mellitus: Does it matter to the clinician? Vol. 87, *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. Cleveland Clinic Educational Foundation; 2020. p. 100–8.
90. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 2014;37:581–90.
91. Care D, Suppl SS, Lebovitz HE, Banerji MA. Ketosis-Prone Diabetes (Flatbush Diabetes): an Emerging Worldwide Clinically Important Entity. *Diabetes Care*. 2018;18(11):S90–102.
92. Pugazhenth S, Qin L, Reddy PH. Common neurodegenerative pathways in obesity, diabetes, and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2017;1863(5).
93. Kandimalla R, Reddy PH. Multiple faces of dynamin-related protein 1 and its role in Alzheimer's disease pathogenesis. Vol. 1862, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. Elsevier B.V.; 2016. p. 814–28.
94. Strachan MW, Ianj Deary M, Ewing FM, Brian Frier MM. Is Type II Diabetes Associated With an Increased Risk of Cognitive Dysfunction? *Diabetes Care*. 1997;20(3):438–45.
95. Matsuzaki T, Sasaki K, Tanizaki Y, Hata J, Fujimi K, Matsui Y, et al. Insulin resistance is associated with the pathology of Alzheimer disease. *Neurology*. 2010;75(9):764–70.
96. Arnold SE, Arvanitakis Z, Macauley-Rambach SL, Koenig AM, Wang HY, Ahima RS, et al. Brain insulin resistance in type 2 diabetes and Alzheimer disease: Concepts and conundrums. Vol. 14, *Nature Reviews Neurology*. Nature Publishing Group; 2018. p. 168–81.
97. Hooper C, Markevich V, Plattner F, Killick R, Schofield E, Engel T, et al. Glycogen synthase kinase-3 inhibition is integral to long-term potentiation. *Eur J Neurosci*. 2007;25(1):81–6.
98. Soutar MPM, Kim WY, Williamson R, Pegg M, Hastie CJ, McLauchlan H, et al. Evidence that glycogen synthase kinase-3 isoforms have distinct substrate preference in the brain. *J Neurochem*. 2010;115(4):974–83.
99. Kaidanovich-Beilin O, Lipina T V., Takao K, Van Eede M, Hattori S, Laliberté C, et al. Abnormalities in brain structure and behavior in GSK-3 α mutant mice. *Mol Brain*. 2009;2(1):1–23.

100. FRAME S, COHEN P. GSK3 takes centre stage more than 20 years after its discovery. *Biochem J*. 2001;359(1):1–16.
101. Amaral AC, Perez-Nievas BG, Siao M, Chong T, Frosch MP, Wegmann S, et al. Isoform-selective decrease of glycogen synthase kinase-3-beta (GSK-3beta;) reduces synaptic tau phosphorylation, transcellular spreading, and aggregation. *ISCIENCE*. 2021;24:102058.
102. Uemura K, Kuzuya A, Shimozone Y, Aoyagi N, Ando K, Shimohama S, et al. GSK3 β activity modifies the localization and function of presenilin 1. *J Biol Chem*. 2007 May 25;282(21):15823–32.
103. Cai Z, Zhao Y, Zhao B. Roles of Glycogen Synthase Kinase 3 in Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res*. 2012 Aug 20;9(7):864–79.
104. Hong M, Lee VMY. Insulin and Insulin-like Growth Factor-1 Regulate Tau Phosphorylation in Cultured Human Neurons. *J Biol Chem*. 1997;272(31):19547–53.
105. Ly PTT, Wu Y, Zou H, Wang R, Zhou W, Kinoshita A, et al. Inhibition of GSK3 β -mediated BACE1 expression reduces Alzheimer-associated phenotypes. *J Clin Invest*. 2013;123(1):224–35.
106. Jackson GR, Wiedau-Pazos M, Sang TK, Wagle N, Brown CA, Massachi S, et al. Human Wild-Type Tau Interacts with wiggless Pathway Components and Produces Neurofibrillary Pathology in *Drosophila*. *Neuron*. 2002;34(4):509–19.
107. Lauretti E, Dincer O, Praticò D. Glycogen synthase kinase-3 signaling in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*. 2020;1867(5):118664.
108. Pérez M, Hernández F, Gómez-Ramos A, Smith M, Perry G, Avila J. Formation of aberrant phosphotau fibrillar polymers in neural cultured cells. *Eur J Biochem*. 2002;269(5):1484–9.
109. Avila J, Hernández F. GSK-3 inhibitors for Alzheimer's disease. 2014;7(11):1527–33.
110. Ryves WJ, Harwood AJ. Lithium Inhibits Glycogen Synthase Kinase-3 by Competition for Magnesium. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;280(3):720–5.
111. Yun S, Wu Y, Niu R, Feng C, Wang J. Effects of lead exposure on brain glucose metabolism and insulin signaling pathway in the hippocampus of rats. *Toxicol Lett*. 2019;310:23–30.
112. McNay EC, Gold PE. Food for thought: fluctuations in brain extracellular glucose provide insight into the mechanisms of memory modulation. *Behav Cogn Neurosci Rev*. 2002;1(4):264–80.
113. Liu G-P, Liu X, Xuan A, Z-h Z, K-j D, J-y W, et al. Maternal Lead Exposure Impairs Offspring Learning and Memory via Decreased GLUT4 Membrane Translocation. 2021.
114. Szablewski L. Glucose transporters in healthy heart and in cardiac disease. *Int J Cardiol*. 2017;230:70–5.
115. Koepsell H, De H. Glucose transporters in brain in health and disease. *Pflügers Arch J Physiol*. 2020;472:1299–343.

116. Huang S, Czech MP. The GLUT4 Glucose Transporter. *Cell Metab.* 2007;5(4):237–52.
117. Zisman A, Peroni OD, Abel ED, Michael MD, Mauvais-Jarvis F, Lowell BB, et al. Targeted disruption of the glucose transporter 4 selectively in muscle causes insulin resistance and glucose intolerance. *Nat Med.* 2000;6(8):924–8.
118. Rangaraju V, Calloway N, Ryan TA. Activity-driven local ATP synthesis is required for synaptic function. *Cell.* 2014;156(4):825–35.
119. Ashrafi G, Wu Z, Farrell RJ, Ryan TA. GLUT4 Mobilization Supports Energetic Demands of Active Synapses. *Neuron.* 2017;93(3):606–15.
120. Grillo CA, Piroli GG, Hendry RM, Reagan LP. Insulin-stimulated translocation of GLUT4 to the plasma membrane in rat hippocampus is PI3-kinase dependent. *Brain Res.* 2009;1296:35–45.
121. Piroli GG, Grillo CA, Reznikov LR, Adams S, McEwen BS, Charron MJ, et al. Corticosterone impairs insulin-stimulated translocation of GLUT4 in the rat hippocampus. *Neuroendocrinology.* 2007;85(2):71–80.
122. Csajbók ÉA, Tamás G. Cerebral cortex: a target and source of insulin? *Diabetologia.* 2016;59(8):1609–15.
123. Julien C, Tremblay C, Phivilay A, Berthiaume L, Émond V, Julien P, et al. High-fat diet aggravates amyloid-beta and tau pathologies in the 3xTg-AD mouse model. *Neurobiol Aging.* 2010;31(9):1516–31.
124. Reagan LP, Rosell DR, Alves SE, Hoskin EK, McCall AL, Charron MJ, et al. GLUT8 glucose transporter is localized to excitatory and inhibitory neurons in the rat hippocampus. *Brain Res.* 2002;932(1–2):129–34.
125. Khoo J, Rayner CK, Jones KL, Horowitz M. Incretin-based therapies: New treatments for type 2 diabetes in the new millennium. *Ther Clin Risk Manag.* 2009;5(1):683–98.
126. Balks HJ, Holst JJ, von zur Mühlen A, Brabant G. Rapid oscillations in plasma glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in humans: cholinergic control of GLP-1 secretion via muscarinic receptors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(3):786–90.
127. Brubaker PL, Gil-Lozano M. Glucagon-like peptide-1: The missing link in the metabolic clock? *J Diabetes Investig.* 2016;7:70–5.
128. Katsurada K, Yada T. Neural effects of gut- and brain-derived glucagon-like peptide-1 and its receptor agonist. *J Diabetes Investig.* 2016;7:64–9.
129. Dijk G Van, Thiele TE. Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide: a central regulator of satiety and interoceptive stress. *Neuropeptides.* 1999;33(5):406–14.
130. Meier JJ, Gallwitz B, Schmidt WE, Nauck MA. Glucagon-like peptide 1 as a regulator of food intake and body weight: therapeutic perspectives. *Eur J Pharmacol.* 2002;440(2–3):269–79.
131. Kinzig KP, D'Alessio DA, Herman JP, Sakai RR, Vahl TP, Figueredo HF, et al. CNS glucagon-like peptide-1 receptors mediate endocrine and anxiety responses to interoceptive and psychogenic stressors. *J Neurosci.* 2003;23(15):6163–70.
132. Rüttimann EB, Arnold M, Hillebrand JJ, Geary N, Langhans W. Intrameal hepatic

- portal and intraperitoneal infusions of glucagon-like peptide-1 reduce spontaneous meal size in the rat via different mechanisms. *Endocrinology*. 2009;150(3):1174–81.
133. Décarie-Spain L, Fisette A, Zhu Z, Yang B, DiMarchi RD, Tschöp MH, et al. GLP-1/dexamethasone inhibits food reward without inducing mood and memory deficits in mice. *Neuropharmacology*. 2019;151:55–63.
 134. Nauck MA, Vardarli I, Deacon CF, Holst JJ, Meier JJ. Secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in type 2 diabetes: what is up, what is down? *Diabetologia*. 2011;54(1):10–8.
 135. Muscogiuri G, DeFronzo RA, Gastaldelli A, Holst JJ. Glucagon-like Peptide-1 and the Central/Peripheral Nervous System: Crosstalk in Diabetes. *Trends Endocrinol Metab*. 2017;28(2):88–103.
 136. Gault VA, Hölscher C. GLP-1 agonists facilitate hippocampal LTP and reverse the impairment of LTP induced by beta-amyloid. *Eur J Pharmacol*. 2008;587(1–3):112–7.
 137. Fang Y, Jiang D, Wang Y, Wang Q, Lv D, Liu J, et al. Neuroprotection of rhGLP-1 in diabetic rats with cerebral ischemia/reperfusion injury via regulation of oxidative stress, EAAT2, and apoptosis. *Drug Dev Res*. 2018;79(6):249–59.
 138. Cai HY, Hölscher C, Yue XH, Zhang SX, Wang XH, Qiao F, et al. Lixisenatide rescues spatial memory and synaptic plasticity from amyloid β protein-induced impairments in rats. *Neuroscience*. 2014;277:6–13.
 139. Palleria C, Leo A, Andreozzi F, Citraro R, Iannone M, Spiga R, et al. Liraglutide prevents cognitive decline in a rat model of streptozotocin-induced diabetes independently from its peripheral metabolic effects. *Behav Brain Res*. 2017;321:157–69.
 140. Egefjord L, Gejl M, Møller A, Brændgaard H, Gottrup H, Antropova O, et al. Effects of liraglutide on neurodegeneration, blood flow and cognition in Alzheimer's disease - Protocol for a controlled, randomized double-blinded trial. *Dan Med J*. 2012;59(10).
 141. Gejl M, Gjedde A, Egefjord L, Møller A, Hansen SB, Vang K, et al. In Alzheimer's Disease, 6-Month Treatment with GLP-1 Analog Prevents Decline of Brain Glucose Metabolism: Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Clinical Trial. *Front Aging Neurosci*. 2016;8.
 142. Selkoe DJ. The cell biology of beta-amyloid precursor protein and presenilin in Alzheimer's disease. *Trends Cell Biol*. 1998;8(11):447–53.
 143. Hardy J. Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci*. 1997;20(4):154–9.
 144. Macleod R, Hillert EK, Cameron RT, Baillie GS. The role and therapeutic targeting of α -, β - and γ -secretase in Alzheimer's disease. *Futur Sci OA*. 2015;1(3).
 145. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*. 1992;256(5054):184–5.
 146. Andrews SJ, Fulton-Howard B, Goate A. Interpretation of risk loci from genome-wide association studies of Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. 2020;19(4):326–35.
 147. Roda AR, Montoliu-Gaya L, Serra-Mir G, Villegas S. Both Amyloid- β Peptide and

- Tau Protein Are Affected by an Anti-Amyloid- β Antibody Fragment in Elderly 3xTg-AD Mice. *Int J Mol Sci*. 2020;21(18):1–22.
148. Haass C, Schlossmacher MG, Hung AY, Vigo-Pelfrey C, Mellon A, Ostaszewski BL, et al. Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature*. 1992;359(6393):322–5.
 149. Jeong S. Molecular and Cellular Basis of Neurodegeneration in Alzheimer's Disease. *Mol Cells*. 2017;40(9):613–20.
 150. Atwood CS, Scarpa RC, Huang X, Moir RD, Jones WD, Fairlie DP, et al. Characterization of copper interactions with alzheimer amyloid beta peptides: identification of an attomolar-affinity copper binding site on amyloid beta1-42. *J Neurochem*. 2000;75(3):1219–33.
 151. Huang X, Atwood CS, Hartshorn MA, Multhaup G, Goldstein LE, Scarpa RC, et al. The A beta peptide of Alzheimer's disease directly produces hydrogen peroxide through metal ion reduction. *Biochemistry*. 1999;38(24):7609–16.
 152. Thireau J, Poisson D, Zhang BL, Gillet L, Le Pécheur M, Andres C, et al. Increased heart rate variability in mice overexpressing the Cu/Zn superoxide dismutase. *Free Radic Biol Med*. 2008;45(4):396–403.
 153. Kontush A, Berndt C, Weber W, Akopyan V, Arlt S, Schippling S, et al. Amyloid-beta is an antioxidant for lipoproteins in cerebrospinal fluid and plasma. *Free Radic Biol Med*. 2001;30(1):119–28.
 154. Schnitzer E, Pinchuk I, Bor A, Fainaru M, Lichtenberg D. The effect of albumin on copper-induced LDL oxidation. *Biochim Biophys Acta*. 1997;1344(3):300–11.
 155. R. S. Lipoprotein oxidation: mechanistic aspects, methodological approaches and clinical relevance. *Curr Opin Lipidol*. 1994;5(6):422–33.
 156. Kontush A, Meyer S, Finckhl B, Kohlschütter A, Beisiegel U. Alpha-tocopherol as a reductant for Cu(II) in human lipoproteins. Triggering role in the initiation of lipoprotein oxidation. *J Biol Chem*. 1996;271(19):11106–12.
 157. Kontush A, Finckh B, Karten B, Kohlschütter A, Beisiegel U. Antioxidant and prooxidant activity of α -tocopherol in human plasma and low density lipoprotein. *J Lipid Res*. 1996;37(7):1436–48.
 158. Walter MF, Mason PE, Mason RP. Alzheimer's disease amyloid beta peptide 25-35 inhibits lipid peroxidation as a result of its membrane interactions. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997;233(3):760–4.
 159. Nunomura A, Ph D, Perry G, Ph D, Zhang J, Montine TJ, et al. RNA Oxidation in Alzheimer and Parkinson Disease. *J Anti Aging Med*. 1999;2(3):227–30.
 160. Smith MA, Rottkamp CA, Nunomura A, Raina AK, Perry G. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1502(1):139–44.
 161. Dinarello CA, Goldin NP, Wolff SM. Demonstration and characterization of two distinct human leukocytic pyrogens. *J Exp Med*. 1974;139(6):1369–81.
 162. Supino D, Minute L, Mariancini A, Riva F, Magrini E, Garlanda C. Negative Regulation of the IL-1 System by IL-1R2 and IL-1R8: Relevance in Pathophysiology

- and Disease. *Front Immunol.* 2022;13.
163. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev.* 2018;281(1):8–27.
 164. Boraschi D, Italiani P, Weil S, Martin MU. The family of the interleukin-1 receptors. *Immunol Rev.* 2018;281(1):197–232.
 165. Ter Horst R, Jaeger M, Smeekens SP, Oosting M, Swertz MA, Li Y, et al. Host and Environmental Factors Influencing Individual Human Cytokine Responses. *Cell.* 2016;167(4):1111–1124.e13.
 166. Cavalli G, Dinarello CA. Treating rheumatological diseases and co-morbidities with interleukin-1 blocking therapies. *Rheumatology (Oxford).* 2015;54(12):2134–44.
 167. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med* [Internet]. 2017 Sep 21 [cited 2022 Jun 12];377(12):1119–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28845751/>
 168. Holden RJ, Mooney PA. Interleukin-1 beta: a common cause of Alzheimer's disease and diabetes mellitus. *Med Hypotheses.* 1995;45(6):559–71.
 169. Italiani P, Puxeddu I, Napoletano S, Scala E, Melillo D, Manocchio S, et al. Circulating levels of IL-1 family cytokines and receptors in Alzheimer's disease: new markers of disease progression? *J Neuroinflammation.* 2018;15(1).
 170. Plaschke K, Hoyer S. Action of the diabetogenic drug streptozotocin on glycolytic and glycogenolytic metabolism in adult rat brain cortex and hippocampus. *Int J Dev Neurosci.* 1993;11(4):477–83.
 171. Lorenzo A, Razzaboni B, Weir GC, Yankner BA. Pancreatic islet cell toxicity of amylin associated with type-2 diabetes mellitus. *Nature.* 1994;368(6473):756–60.
 172. Dror E, Dalmas E, Meier DT, Wueest S, Thévenet J, Thienel C, et al. Postprandial macrophage-derived IL-1 β stimulates insulin, and both synergistically promote glucose disposal and inflammation. *Nat Immunol.* 2017;18(3):283–92.
 173. Banerjee M, Saxena M. Interleukin-1 (IL-1) family of cytokines: role in type 2 diabetes. *Clin Chim Acta.* 2012;413(15–16):1163–70.
 174. Timper K, Seelig E, Tsakiris DA, Donath MY. Safety, pharmacokinetics, and preliminary efficacy of a specific anti-IL-1 α therapeutic antibody (MABp1) in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2015;29(7):955–60.
 175. Lagathu C, Yvan-Charvet L, Bastard JP, Maachi M, Quignard-Boulangé A, Capeau J, et al. Long-term treatment with interleukin-1 β induces insulin resistance in murine and human adipocytes. *Diabetologia.* 2006;49(9):2162–73.
 176. Kaczmarczyk MM, Machaj AS, Chiu GS, Lawson MA, Gainey SJ, York JM, et al. Methylphenidate prevents high-fat diet (HFD)-induced learning/memory impairment in juvenile mice. *Psychoneuroendocrinology.* 2013;38(9):1553–64.
 177. Dutheil S, Ota KT, Wohleb ES, Rasmussen K, Duman RS. High-Fat Diet Induced Anxiety and Anhedonia: Impact on Brain Homeostasis and Inflammation. *Neuropsychopharmacology.* 2016;41(7):1874–87.

178. Griffin WST, Mrak RE. Interleukin-1 in the genesis and progression of and risk for development of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *J Leukoc Biol.* 2002;72(2):233–8.
179. Strandell E, Kaas A, Hartoft-Nielsen ML, Bock T, Buschard K, Bendtzen K. Cytokine production in NOD mice on prophylactic insulin therapy. *APMIS.* 1999;107(4):413–9.
180. Michalko J, Medo J, Ferus P, Konôpková J, Košútová D, Hot'ka P, et al. Changes of Endophytic Bacterial Community in Mature Leaves of *Prunus laurocerasus* L. during the Seasonal Transition from Winter Dormancy to Vegetative Growth. *Plants.* 2022;11(3):7–14.
181. İslam A. Kiraz' cherry laurel (*Prunus laurocerasus*). *New Zeal J Crop Hortic Sci.* 2002;30(4):301–2.
182. Sulusoglu M. The cherry laurel (*prunus laurocerasus* L.) tree selection. *African J Agric Res.* 2011;6(15):3574–82.
183. Vahapoğlu B, Altan EN, Gülseren İ, Sabahattin İ, Üniversitesi Z, Bölümü GM, et al. KARAYEMİŞ MEYVESİNİN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ VE FONKSİYONEL GIDALARDA KULLANIM POTANSİYELİ. *Gıda.* 2018;43(5):751–64.
184. İslam A, Deligöz H, Üniversitesi O, Fakültesi Z, Bitkileri B. Ordu ilinde karayemiş (*Laurocerasus officinalis* L.) seleksiyonu *. 2012;1(1):37–44.
185. Senaylı A. Evaluation the Anti-Diabetic Activity of Cherry Laurel (*Laurocerasus officinalis*). *Open Conf Proc J.* 2012;3(1):8–12.
186. Orhan N, Damlaci T, Baykal T, Özek T, Aslan M. Hypoglycaemic effect of seed and fruit extracts of laurel cherry in different experimental models and chemical characterization of the seed extract. *Rec Nat Prod.* 2015;9(3):379–85.
187. Liyana-Pathirana CM, Shahidi F, Alasalvar C. Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. *Food Chem.* 2006;99(1):121–8.
188. Ayaz FA, Kadioğlu A, Reunanen M, Var M. Phenolic Acid and Fatty Acid Composition in the Fruits of *Laurocerasus officinalis* Roem. and Its Cultivars. *J Food Compos Anal.* 1997;10(1):350–7.
189. Nguyen TT, Ta QTH, Nguyen TKO, Nguyen TTD, Giau V Van. Type 3 Diabetes and Its Role Implications in Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(9).
190. Sanchez-Rangel E, Inzucchi SE. Metformin: clinical use in type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2017;60(9):1586–93.
191. Baldemir A, Karaman Ü, Yusufbeyoclu S, Eken A, Ildiz N, Ilgün S, et al. [A new strategy for enhancing acanthamoebicidal activity with synthesis of nanoflower of *Laurocerasus officinalis* Roemer (cherry laurel) fruit extracts]. *Mikrobiyol Bul.* 2018;52(1):56–71.
192. Aktan A, Ozcelik A, Cure E, Cure M, Yuce S. Profound hypoglycemia-induced by *vaccinium corymbosum* juice and *laurocerasus* fruit. *Indian J Pharmacol.* 2014;46(4):446–7.
193. Turan MI, Turkoglu M, Dundar C, Celik N, Suleyman H. Investigating the effect of

- Prunus laurocerasus* fruit extract in type II diabetes induced rats. Vol. 9, International Journal of Pharmacology. 2013. p. 373–8.
194. Ott A, Stolk RP, Van Harskamp F, Pols HAP, Hofman A, Breteler MMB. Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study. *Neurology*. 1999;53(9):1937–42.
 195. Profenno LA, Porsteinsson AP, Faraone S V. Meta-analysis of Alzheimer's disease risk with obesity, diabetes, and related disorders. *Biol Psychiatry*. 2010;67(6):505–12.
 196. Zhang Y, Huang N qu, Yan F, Jin H, Zhou S yu, Shi J shan, et al. Diabetes mellitus and Alzheimer's disease: GSK-3 β as a potential link. *Behav Brain Res*. 2018;339:57–65.
 197. Rotermund C, Machetanz G, Fitzgerald JC. The Therapeutic Potential of Metformin in Neurodegenerative Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9.
 198. Pilipenko V, Narbutė K, Pupure J, Langrate IK, Muceniece R, Kluša V. Neuroprotective potential of antihyperglycemic drug metformin in streptozocin-induced rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol*. 2020;881.
 199. Keshavarzi S, Kermanshahi S, Karami L, Motaghinejad M, Motevalian M, Sadr S. Protective role of metformin against methamphetamine induced anxiety, depression, cognition impairment and neurodegeneration in rat: The role of CREB/BDNF and Akt/GSK3 signaling pathways. *Neurotoxicology*. 2019;72:74–84.
 200. Plaschke K, Kopitz J. In vitro streptozotocin model for modeling Alzheimer-like changes: effect on amyloid precursor protein secretases and glycogen synthase kinase-3. *J Neural Transm*. 2015;122(4):551–7.
 201. De Luca G, Calpona PR, Caponetti A, Macaione V, Di Benedetto A, Cucinotta D, et al. Preliminary report: Amino acid profile in platelets of diabetic patients. *Metabolism*. 2001;50(7):739–41.
 202. Aoyama K. Glutathione in the Brain. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9).
 203. Shukla D, Mandal PK, Ersland L, Grüner ER, Tripathi M, Raghunathan P, et al. A Multi-Center Study on Human Brain Glutathione Conformation using Magnetic Resonance Spectroscopy. *J Alzheimers Dis*. 2018;66(2):517–35.
 204. Yegin SÇ, Güder A. *Laurocerasus officinalis* Roem: Biochemical Parameters and Antioxidant Components in Diabetic Rat Model. *Indian J Anim Res*. 2022.
 205. Uslu H, Uslu GA. Evaluating the effects of *Prunus laurocerasus* seed, fruit and leaf extracts on hyperglycaemia, insulin sensitivity and anti-oxidative activities in experimental diabetes in rat. *Thai J Vet Med*. 2021;51(4):667–73.
 206. Lencioni C, Lupi R, Del Prato S. Beta-cell failure in type 2 diabetes mellitus. *Curr Diab Rep*. 2008;8(3):179–84.
 207. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):98–107.
 208. Mrak RE, Griffin WST. Interleukin-1, neuroinflammation, and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2001;22(6):903–8.
 209. Waisman A, Hauptmann J, Regen T. The role of IL-17 in CNS diseases. *Acta*

- Neuropathol. 2015;129(5):625–37.
210. Abdel-Moneim A, Bakery HH, Allam G. The potential pathogenic role of IL-17/Th17 cells in both type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother.* 2018;101:287–92.
 211. Küpeli Akkol E, Kirmizibekmez H, Kükükbayaci N, Gören AC, Yesilada E. Isolation of active constituents from cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) leaves through bioassay-guided procedures. *J Ethnopharmacol.* 2012;139(2):527–32.
 212. Lim GP, Yang F, Chu T, Chen P, Beech W, Teter B, et al. Ibuprofen suppresses plaque pathology and inflammation in a mouse model for Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2000;20(15):5709–14.
 213. Frölich L, Blum-Degen D, Bernstein HG, Engelsberger S, Humrich J, Laufer S, et al. Brain insulin and insulin receptors in aging and sporadic Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 1998;105(4–5):423–38.
 214. Shah K, DeSilva S, Abbruscato T. The role of glucose transporters in brain disease: diabetes and Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 2012;13(10):12629–55.
 215. Vannucci SJ, Koehler-Stec EM, Li K, Reynolds TH, Clark R, Simpson IA. GLUT4 glucose transporter expression in rodent brain: effect of diabetes. *Brain Res.* 1998;797(1):1–11.
 216. Hoyer S. Is sporadic Alzheimer disease the brain type of non-insulin dependent diabetes mellitus? A challenging hypothesis. *J Neural Transm.* 1998;105(4–5):415–22.
 217. Mayeux R, Stern Y. Epidemiology of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(8).
 218. Moir RD, Atwood CS, Romano DM, Laurans MH, Huang X, Bush AI, et al. Differential effects of apolipoprotein E isoforms on metal-induced aggregation of A beta using physiological concentrations. *Biochemistry.* 1999;38(14):4595–603.
 219. Li Y, Li L, Hölscher C. Incretin-based therapy for type 2 diabetes mellitus is promising for treating neurodegenerative diseases. *Rev Neurosci.* 2016;27(7):689–711.
 220. Stanchev PE, Orbetzova MM, Terzieva DD, Davcheva D, Iliev DA, Petrov S V., et al. Serum Levels of Incretin Hormones - GLP-1 and GIP in Patients with Type 1 Diabetes Mellitus. *Folia Med (Plovdiv).* 2019;61(1):76–83.
 221. Amato MC, Pizzolanti G, Torregrossa V, Pantò F, Giordano C. Phenotyping of type 2 diabetes mellitus at onset on the basis of fasting incretin tone: Results of a two-step cluster analysis. *J Diabetes Investig.* 2016;7(2):219–25.
 222. Ahrén B. Gut peptides and type 2 diabetes mellitus treatment. *Curr Diab Rep.* 2003;3(5):365–72.
 223. Demirpençe M, Demirpençe N, Tütüncüoğlu P, Öruk G, Atalay N, Görgel A, et al. Does glucagon-like peptide-1 have a role in the etiopathogenesis of gestational diabetes? *Turkish J Endocrinol Metab.* 2016;20(2):26–30.
 224. Bonde L, Vilsbøll T, Nielsen T, Bagger JJ, Svare JA, Holst JJ, et al. Reduced postprandial GLP-1 responses in women with gestational diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab.* 2013;15(8):713–20.

225. Gejl M, Brock B, Egefjord L, Vang K, Rungby J, Gjedde A. Blood-Brain Glucose Transfer in Alzheimer's disease: Effect of GLP-1 Analog Treatment. *Sci Rep*. 2017;7(1).
226. Kappe C, Tracy LM, Patrone C, Iverfeldt K, Sjöholm Å. GLP-1 secretion by microglial cells and decreased CNS expression in obesity. *J Neuroinflammation*. 2012;9.
227. Andersen A, Lund A, Knop FK, Vilsbøll T. Glucagon-like peptide 1 in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(7):390–403.
228. Wu P, Zhao Y, Zhuang X, Sun A, Zhang Y, Ni Y. Low glucagon-like peptide-1 (GLP-1) concentration in serum is indicative of mild cognitive impairment in type 2 diabetes patients. *Clin Neurol Neurosurg*. 2018;174:203–6.
229. Aluko RE. Food-derived Acetylcholinesterase Inhibitors as Potential Agents against Alzheimer's Disease. *eFood*. 2021;2(2):49–58.
230. Yamamoto Y, Nakano S, Kawashima S, Nakamura S, Urakami K, Kato T, et al. Plasma and serum G4 isoenzyme of acetylcholinesterase in patients with Alzheimer-type dementia and vascular dementia. *Ann Clin Biochem*. 1990;27(4):321–6.
231. Morris RGM. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn Motiv*. 1981;12(2):239–60.
232. Bromley-Brits K, Deng Y, Song W. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. *J Vis Exp*. 2011;(53).
233. D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Brain Res Rev*. 2001;36(1):60–90.
234. Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S. The use of the Morris Water Maze in the study of memory and learning. *Int J Neurosci*. 1989;48(1–2):29–69.
235. Lipp HP, Wolfer DP. Genetically modified mice and cognition. *Curr Opin Neurobiol*. 1998;8(2):272–80.
236. Sandi C. The role and mechanisms of action of glucocorticoid involvement in memory storage. *Neural Plast*. 1998;6(3):41–52.
237. Tian H, Ding N, Guo M, Wang S, Wang Z, Liu H, et al. Analysis of Learning and Memory Ability in an Alzheimer's Disease Mouse Model using the Morris Water Maze. *J Vis Exp*. 2019;152.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

STREPTOZOTOSİN ile OLUŞTURULAN NONTRANSGENİK DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE KARAYEMİŞ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ORIGINALITY REPORT

12%

SIMILARITY INDEX

9%

INTERNET SOURCES

4%

PUBLICATIONS

5%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Student Paper	2%
2	acikbilim.yok.gov.tr Internet Source	2%
3	www.selcukmedj.org Internet Source	1%
4	nek.istanbul.edu.tr:4444 Internet Source	1%
5	Submitted to Istanbul University Student Paper	<1%
6	www.jove.com Internet Source	<1%
7	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Student Paper	<1%
8	academicrepository.khas.edu.tr Internet Source	<1%

ETİK KURUL İZİN YAZISI

Uyarı: Canlı denekler üzerinde yapılan tüm araştırmalar için Etik Kurul Belgesi alınması zorunludur.

- ☒ Etik Kurul izni gerekmektedir.
- ☐ Etik Kurul izni gerekmemektedir.

FULYA ÖZSOY
(İmza)



KURUM İZNİ YAZILARI

Uyarı: Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

- ☐ Kurum izni gerekmektedir.
- ☒ Kurum izni gerekmemektedir.

Fulya ÖZSOY
(İmza)

