



**MONOSODYUM GLUTAMAT KAYNAKLI
NÖROTOKSİSİTEYE KARŞI TANNİK ASİTİN
KORUYUCU POTANSİYELİNİN ANAHTAR
SİNAPTİK SİSTEM BİLEŞENLERİ AÇISINDAN
SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI**

Medine Sibel KARAĞAÇ

Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN

Yüksek Lisans Tezi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

2022

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

**MONOSODYUM GLUTAMAT KAYNAKLI NÖROTOKSİSİTEYE KARŞI TANNİK
ASİTİN KORUYUCU POTANSİYELİNİN ANAHTAR SİNAPTİK SİSTEM
BİLEŞENLERİ AÇISINDAN SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI**

(Investigation of the Protective Potential of Tannic Acid Against Monosodium
Glutamate-Induced Neurotoxicity in Rats in Terms of Key Synaptic System Components)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Medine Sibel KARAĞAÇ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN

Erzurum
Temmuz, 2022



FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Graduate School of Natural and
Applied Sciences

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü
TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

MONOSODYUM GLUTAMAT KAYNAKLI NÖROTOKSİSİTEYE KARŞI TANNİK
ASİTİN KORUYUCU POTANSİYELİNİN ANAHTAR SİNAPTİK SİSTEM
BİLEŞENLERİ AÇISINDAN SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI

Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN danışmanlığında, Medine Sibel KARAĞAÇ tarafından hazırlanan bu çalışma, 18/07/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Genetik Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı ıslak imzalıdır
Danışman:	Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı ıslak imzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Enver Fehim KOÇPINAR <i>Muş Alparslan Üniversitesi</i>	Aslı ıslak imzalıdır

Enstitü Yönetim
Kurulunun .../.../.... tarih
ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof.Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı ıslak imzalıdır

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü Lisansüstü Tez Projeleri (LÜTP) kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: FYL-2021-9271



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak *Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN* danışmanlığında sunulan “Monosodyum glutamat kanaklı nörotoksisiteye karşı tannik asitin koruyucu potansiyelinin anahtar sinaptik sistem bileşenleri açısından sıçanlarda araştırılması” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	0	30
Kuramsal Temeller	9	30
Materyal ve Metot	7	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	1	20
Sonuçlar ve Öneriler	0	20
Tezin Geneli	6	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Medine Sibel KARAĞAÇ	Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN
20.7.2022	20.7.2022
İmza: Aslı ıslak imzalıdır	İmza: Aslı ıslak imzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

Not: Bu form, Tezin son şekline uygun olarak bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tezin sonuna eklenmelidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Lisansüstü Tez Projeleri (LÜTP) kapsamında Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından "FYL-2021-9271" numaralı " Monosodyum glutamat kaynaklı nörotoksisiteye karşı tannik asitin koruyucu potansiyelinin anahtar sinaptik sistem bileşenleri açısından sıçanlarda araştırılması " başlıklı proje ile desteklenmiştir. Bu çalışmaya sağladığı finansal destekten dolayı öncelikli olarak Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Çalışmanın yürütülmesinden tez yazım sürecine kadar her türlü yardımı sağlayan, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen çok kıymetli danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN'a en içten saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü laboratuvarlarını, araç ve gereçlerini kullanmamız için her türlü imkanı sağlayan bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL'e,

Tez çalışmalarım süresince fikirleri ile beni yönlendiren, deney aşamalarında her türlü yardımı sağlayan hocalarım Sayın Doç. Dr. Yeliz DEMİR'e, Dr. Öğr. Üyesi Melike KARAMAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Özkan BALTACI'ya, Arş. Gör. Emine TORAMAN'a ve Kübra Nur BAYINDIRLI'ya,

Deney sürecinde beraber olduğumuz çalışma arkadaşlarım Esra Nur YEŞİLKENT'e ve Duygu KIZIR'e,

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca her anımı paylaştığım değerli dostlarım Ayşe Nurseli SULUMER, Büşra TURANOĞLU ve Neslihan ÖZTÜRK'e,

Eğitim hayatım boyunca maddi, manevi her türlü desteği sağlayan, her an varlıklarını hissettiren ve dualarını eksik etmeyen aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Medine Sibel KARAĞAÇ

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MONOSODYUM GLUTAMAT KAYNAKLI NÖROTOKSİSİTEYE KARŞI TANNİK ASİTİN KORUYUCU POTANSİYELİNİN ANAHTAR SİNAPTİK SİSTEM BİLEŞENLERİ AÇISINDAN SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI

Medine Sibel KARAĞAÇ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN

Amaç: Bu tez çalışması kapsamında gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan monosodyum glutamatın (MSG) sinaptik mekanizma bileşenleri üzerindeki etkisi sıçan korteks dokularında araştırılmıştır. Ayrıca, tannik asitin bu bileşenler üzerinden Alzheimer Hastalığı (AH) gelişimi karşısında sağlayabileceği nöroprotektif potansiyel de incelenmiştir.

Yöntem: Oral gavaj yoluyla MSG, tannik asit (TA) ve MSG+TA kombinasyonu uygulanan sıçanlarda kontrol ve diğer tüm gruplardaki canlıların beyin kortekslerindeki malondialdehit (MDA) miktarları ve asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi spektroskopik yöntemle belirlendi. Daha sonra tüm grupların korteks dokularında sinaps fizyolojisinin ve sinaptik aktivite-lerin sürdürülmesinde rol alan faktörlerin (sinaptozom-ilişkili protein 25 kDa; SNAP25, glutamat iyonotropik reseptör NMDA tipi alt birim 2A ve 2B; GRIN2A ve GRIN2B, ATPaz sarkoplazmik/endoplazmik retikulum Ca^{2+} taşıma 2; ATP2A2, sodyum voltaj kapılı kanal alfa alt birimi 2; SCN2A, büyük MAGUK iskele proteini 2 diskleri; DLG2) gen ekspresyon seviyeleri ve protein ekspresyon seviyeleri sırasıyla kantitatif Real Time PCR ve western blot yöntemleriyle incelendi. Ek olarak hücrel metabolizmanın düzenlenmesinde rol alan çatal başlı transkripsiyon faktörü 1 ve 3 (*FoxO1* ve *FoxO3*), asetilkolinesteraz (*Ache*), kaspaz 3 ve 9 (*Casp3* ve *Casp9*) genlerinin transkript miktarlarındaki değişim Real Time PCR yöntemi ile incelendi.

Bulgular: Sıçan korteks dokularında MSG'nin sinaptik bileşenlerin mRNA ve protein seviyeleri üzerinde önemli seviyede baskılayıcı bir etki gösterdiği, MSG ile birlikte TA uygulmasının ise söz konusu bileşenlerin hem transkript hem de protein ifade seviyelerini kontrol grubuna yakınlıktırıldığı gözlemlendi. Dahası, MSG maruziyeti sonucu önemli seviyede artan MDA seviyesinin, AChE enzim aktivitesinin ve mRNA seviyesinin TA ile birlikte olağan seviyelerine indirildiği gözlemlendi. Son olarak hücre canlılığı, oksidatif stres ve apoptozis ile ilişkili süreçlerde rol alan faktörlerin MSG maruziyeti ile bozulan regülasyonlarının yine TA ile birlikte yeniden kontrol grubu seviyelerine yaklaştığı gözlemlendi.

Sonuç: Bu çalışmanın bulguları, sinaptik makine bileşenlerini ve hücrenin normal işleyişinin korunmasına katkıda bulunan faktörleri stabilize eden nörotoksitenin, değiştirilmiş beslenme alışkanlıklarıyla modüle edilebileceğini göstermektedir. Ayrıca, sonuçlar TA'nın Alzheimer'ı önlemek ve/veya ilerlemesini geciktirmek için potansiyel bir nöroprotektif ajan olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Monosodyum glutamat, Sinaptik sistem, Alzheimer hastalığı, Tannik asit

Temmuz 2022, 91 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE POTENTIAL OF TANNIC ACID AGAINST MONOSODIUM GLUTAMATE-INDUCED NEUROTOXICITY IN RATS IN TERMS OF KEY SYNAPTIC SYSTEM COMPONENTS

Medine Sibel KARAĞAÇ

Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN

Purpose: In this thesis, the effect of monosodium glutamate (MSG), widely used in the food industry, on the synaptic mechanism components was investigated in detail at gene and protein levels in rat cortex tissues. Moreover, the neuroprotective potential of tannic acid (TA) against the development of Alzheimer's Disease (AD) through these components was also examined.

Method: The amounts of malondialdehyde (MDA) and acetylcholinesterase (AChE) enzyme activities in the cerebral cortices of the control and all other groups of rats administered MSG, tannic acid (TA) and MSG+TA combination by oral gavage were determined by spectroscopic method. Then, gene expression levels and protein expression levels of factors involved in the maintenance of synapse physiology and synaptic activities (synaptosome-associated protein 25 kDa; SNAP25, glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 2A and 2B; GRIN2A and GRIN2B, ATPase sarcoplasmic/endoplasmic reticulum 2; ATP2A2, sodium voltage-gated channel alpha subunit 2; SCN2A, large MAGUK scaffold protein 2 discs; DLG2) were examined by quantitative Real-Time PCR and western blot methods, respectively. In addition, the changes in the transcript levels of the forkhead box transcription factor 1 and 3 (*FoxO1* and *FoxO3*), acetylcholinesterase (*Ache*), caspase 3 and 9 (*Casp3* and *Casp9*) genes, which play a role in the regulation of cellular metabolism, were analyzed by Real-Time PCR method.

Findings: It was observed that MSG exerted a significant suppressive effect on the mRNA and protein levels of synaptic components in rat cortex tissues, and the TA treatment together with MSG brought both transcript and protein expression levels of these components closer to the control group. Moreover, it was observed that the MDA level, AChE enzyme activity, and mRNA level, which increased significantly as a result of MSG exposure, were reduced to their usual levels with TA. Finally, it was observed that the regulation of factors involved in cell maintenance, oxidative stress, and apoptosis-related processes, which were disrupted by MSG exposure, again approached the control group levels with TA.

Results: The findings of this study show that neurotoxicity, which destabilizes synaptic machinery components and factors that contribute to the maintenance of the normal functioning of the cell, can be modulated by modified dietary habits. Moreover, the results suggest that TA can be used as a potential neuroprotective agent to prevent Alzheimer's and/or delay its progression.

Keywords: Monosodium glutamate, Synaptic system, Alzheimer's Disease, Tannic acid

July 2022, 91 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	3
Alzheimer Hastalığı	3
Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi.....	3
Alzheimer Hastalığının Risk Faktörleri	4
Alzheimer Hastalığının Evreleri	4
Alzheimer Hastalığının Patolojisi	5
Alzheimer Hastalığının Genetiği	6
Alzheimer Hastalığının Belirtileri ve Tanısı	8
Alzheimer Hastalığının Tedavisi	10
Alzheimer Hastalığı ve Sinaptik Sistem	11
Monosodyum Glutamat.....	11
Monosodyum Glutamatın Yapısı, Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	13
Monosodyum Glutamat Kaynaklı Nörotoksisite	15
Tannik Asit.....	18
Tannik Asit'in Nöroprotektif Etkisi	22
MATERYAL VE YÖNTEM	24
Materyal	24
Kullanılan alet ve cihazlar.....	24
Kullanılan kimyasal malzemeler.....	25
Yöntem.....	27
Hayvan bakımı ve model oluşturma	27
Biyokimyasal analizler.....	28
Homojenat hazırlama	28
Bradford yöntemi ile protein tayini.....	29

AChE spesifik enzim aktivite tayini	29
Malondialdehit (MDA) tayini	29
Moleküler analizler	30
Total RNA izolasyonu	30
Nanodrop ile saflık kontrolü	30
RNA bütünlüğünün kontrolü	31
cDNA sentezi	31
Kantitatif Real Time PCR	33
Western blot ile protein ekspresyon analizi	34
Protein homojenatı hazırlama	34
Konsantrasyon ölçümü ve denatürasyon.....	34
Örneklerin jele yüklenmesi ve yürütme	34
Blotlama	36
Bloklama	36
Antikorlarla inkübasyon ve yıkama	36
İstatistiksel Analiz.....	37
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	38
İzole Edilen RNA'ların Kalitatif Tayini	38
İzole Edilen Rna'ların Kantitatif Tayini	38
Korteks Dokusunda Kantitatif Gen Ekspresyon Analiz Sonuçları	39
AChE Spesifik Enzim Aktivite Sonucu	44
Korteks Lipid Peroksidasyon Seviyeleri.....	45
Protein Ekspresyon Sonuçları	45
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR.....	56
EKLER	72
EK1. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	72
Ek2. Etik Kurul Onayı	75
ÖZGEÇMİŞ.....	77

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kullanılan Laboratuvar Cihazları	24
Tablo 2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	25
Tablo 3. Protein Tayini Küvet İçeriği	29
Tablo 4. AChE Spesifik Enzim Aktivitesi Ölçümü İçin Küvet İçeriği	29
Tablo 5. MDA Düzeyi Ölçümü İçin Kullanılacak Çözelti Miktarları	30
Tablo 6. qPCR’da Kullanılmak Üzere Dizayn Edilmiş Primer Setlerine Ait Bilgiler.....	32
Tablo 7. qPCR İşlemi İçin Hazırlanan Tüp İçeriği	33
Tablo 8. qPCR Protokolü.....	33
Tablo 9. Konsantrasyon Ölçüm Sonuçlarına Göre Western Blotta Kullanılacak Örnek-Boya Miktarları (µl)	34
Tablo 10. Çalışmada Kullanılan Tüm Grupların Korteks Dokularından İzole Edilen RNA'ların Konsantrasyon ve Saflık Değerleri	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. APP'nin sekretazlar aracılı proteolitik yolağı ve amiloid peptidlerinin oluşumu.....	6
Şekil 2. MSG kaynaklı toksisiteler ve etkilenebilen organlar	12
Şekil 3. Monosodyum glutamatın kimyasal yapısı (MSG)	13
Şekil 4. Monosodyum Glutamat kaynaklı hücre ölümünün moleküler mekanizması	14
Şekil 5. Polifenollerin sınıflandırılması (Hano <i>et al.</i> 2020)	19
Şekil 6. Tanik Asidin kimyasal yapısı (TA) (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).	23
Şekil 7. Çalışmada kullanılan canlılara yönelik deneysel uygulama protokolü.....	28
Şekil 8. Korteks dokularının binoküler mikroskop kullanılarak ayrılması	28
Şekil 9. Nanodropta RNA konsantrasyon ölçümü.	31
Şekil 10. qPCR rotorları	33
Şekil 11. SDS Jel Elektrophorezi İçin Kullanılacak Ayırma Jeli Değerleri (ml)	35
Şekil 12. SDS Jel Elektrophorezi İçin Kullanılacak Yükleme Jeli Değerleri.....	35
Şekil 13. 120 Volt elektriksel alanda protein örneklerinin yürütülmesi işlemi.....	35
Şekil 14. 1 Watt elektriksel alanda blotlama işlemi	36
Şekil 15. Korteks dokusundan izole edilen total RNA'ların jel elektrophorezi sonuçları	38
Şekil 16. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki <i>Snap25</i> geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi	39
Şekil 17. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki <i>Grin2a</i> geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi.....	39
Şekil 18. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki <i>Grin2B</i> geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi	40
Şekil 19. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki <i>Dlg2</i> geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi	40
Şekil 20. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki <i>Atp2b2</i> geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi.....	41
Şekil 21. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki <i>Scn2a</i> geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi	41
Şekil 22. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki <i>Ache</i> geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi	42
Şekil 23. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki <i>Foxo1</i> geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi.....	42
Şekil 24. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki <i>Foxo3</i> geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi	43

Şekil 25. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki <i>Casp3</i> geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi	43
Şekil 26. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki <i>Casp9</i> geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi	44
Şekil 27. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki Asetilkolinesteraz (AChE) spesifik enzimi aktivite ölçüm sonuçları	44
Şekil 28. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki Malondialdehit (MDA) tayini sonuçları	45
Şekil 29. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki GRIN2A protein ekspresyon seviyesi	45
Şekil 30. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki GRIN2B pritein ekspresyon seviyesi	46
Şekil 31. STRING veritabanı aracılığı ile oluşturulan ve çalışmada incelenen hedeflerin ilişkisini gösteren PPI ağı.	54

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Aβ	: β -Amiloid Polipeptid
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolin Esteraz
AChEIs	: Asetilkolin Esteraz İnhibitörleri
AChI	: Asetilkolin İyodid
AH	: Alzheimer Hastalığı
APOE	: Apolipoprotein E Geni
APP	: Amiloid Öncü Proteini
APS	: Amonyum Persülfat
ATP2B2	: ATPaz plazma membranı Ca ²⁺ taşıyıcı 2
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
BSA	: Sığır Serum Albumin
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CAT	: Katalaz
cDNA	: Tamamlayıcı DNA
CDNB	: 1-kloro-2,4-dinitrobenzene
CNS	: Merkezi Sinir Sistemi
CRS	: Hücre Düzenleme Sistemi
dH₂O	: Distile Su
DLG2	: Disks Large Homolog 2
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: DNA Nükleotid Bazları
DTNB	: 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit)
EEG	: Elektroensefalografi
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	: Gıda ve İlaç İdaresi
GRAS	: Generally Recognized As Safe
GRIN2A	: Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 2A
GRIN2B	: Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 2B
GSH	: Glutatyon
GST	: Glutatyon S-Transferaz

HBB	: Hafif Bilişsel Bozukluk
HCL	: Hidroklorik Asit
JECFA	: Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi
MDA	: Malondialdehit
miRNA	: MikroRNA
mRNA	: Mesajcı RNA
MSG	: Monosodyum Glutamat
NFT	: Nörofibriler Yumak
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PSEN 1	: Presenilin 1
PSEN 2	: Presenilin 2
PVDF	: Poliviniliden Florür
qPCR	: Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
rRNA	: Ribozomal RNA
SNAP25	: Sinaptozomal İlişkili Protein 25
SDS-PAGE	: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TA	: Tannik Asit
TAE	: Tris-Asetat-EDTA
TBS	: Tris-Tamponlu Tuzlu Su
TBST	: Tris Buffered Saline Tween 20
TEMED	: N,N,N',N'-Tetrametil etilendiamin
TNF-A	: Tümör Nekroz Faktör-A

GİRİŞ

Günümüzde en yaygın demans formlarından biri haline gelen Alzheimer hastalığı (AH), oldukça kompleks ve çoklu faktörleri içeren bir ağ üzerinden gerçekleştiği için etkin tedavisi henüz belirlenememiş nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın kesin etiyolojisi bilinmemekle birlikte nöron hasarı ve ölümüne yol açan amiloid plak oluşumu, hücre içi nörofibriler yumak birikimi ve serbest radikal kaynaklı oksidatif stres nörodejenerasyona neden olan ana fenomenler olarak tanımlanmaktadır. Öngörülebilir ancak tedavi edilemez bir konuma sahip olan hastalığın mevcut tedavi yaklaşımları çoğunlukla nörotransmitter trafiğinin daha etkin sürdürülmesi üzerine odaklanmaktadır. Ancak sinaptik fonksiyonun devamlılığının sağlıklı bir şekilde sürdürülmesinin ve geri kazanılması ile ilişkili altta yatan mekanizmaların ve önemli faktörlerin belirlenmesinin, demans tedavisinde sinaptik fonksiyon tabanlı terapötik stratejilerin geliştirilmesine önemli katkılar sağlayabileceği kabul edilmektedir.

Dünya genelinde özellikle yaşlı popülasyonun yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen bir sağlık problemi olan demans, her ne kadar yaşa bağlı bir olgu olsa da hastalık prevalansı farklı dış faktörler tarafından da etkilenebilmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalardan elde edilen veriler ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO; World Health Organization) raporları beslenme ve diyet alışkanlıkları gibi ömür boyu maruz kalınması kaçınılmaz olan ancak modifiye edilebilir risk faktörlerinin AH'nin seyri üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Paketlenmiş ve işlenmiş gıdalarda bulunan monosodyum glutamat (MSG), yaygın olarak kullanılan bir gıda katkı maddesi olup toksik etkileri çok sayıda *in vivo* çalışma ile kanıtlanmıştır. MSG, nörotoksisite sonucu oluşan nörodejenerasyona bağlı semptomları yoğunlaştırması nedeniyle Alzheimer hastalığı riskini arttırabilecek potansiyel sergilemektedir. Beta amiloid (A β) toksisitesinin yanı sıra özellikle merkezi sinir sisteminde yer alan glutamat reseptörlerinin MSG içerisinde bulunan ve esansiyel olmayan bir amino asit glutamat tarafından fazla uyarılması Alzheimer hastalarını dış uyaranlara karşı aşırı duyarlı hale getirerek kümülatif ve hastalık patolojisini negatif anlamda besleyen bir döngüye yol açabilecek bir potansiyele sahiptir.

Günümüz küresel beslenme ve yaşam alışkanlıkları/zorunlulukları nedeniyle diyabet, obezite ve astım gibi birçok farklı bulaşıcı olmayan hastalık riski ile ilişkilendirilen MSG tüketimi ne yazık ki günden güne artış göstermektedir. Bu nedenle MSG gibi dış uyaranlara karşı olağan sinaps fizyolojisini koruyabilmek adına AH gibi kompleks hastalıklarla mücadelede doğal ürünlerin kullanımına ve diyetle eklenmesine olan ilgi son zamanlarda artış göstermektedir.

Tannik asit (TA), çok sayıda bitkide bulunduğu için günlük diyetle alımı söz konusu olan bitki kaynaklı polifenollerin tanen kategorisinin bir üyesidir. Diğer polifenollere benzer şekilde, tanenler antioksidan, antiviral/bakteriyel, antikarsinojenik, antimutajenik ve antiinflamatuar özelliklere sahiptirler. Bu nedenle TA, MSG'nin neden olduğu nörodejenerasyon olgularını hafifletmek için umut verici doğal bir ajan potansiyeline sahiptir. TA'nın MSG aracılı nörotoksisite karşısında sergilediği koruyucu etkilerine literatürde yer verilmesine rağmen sinaptik mekanizmada rol alan faktörler üzerinden AH gelişimi karşısındaki proflaktik etkilerine yönelik çalışma bulunmaması bu tez çalışmasını özgün kılmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan MSG'nin sinaps fizyolojisi ve nöral hücre sağlığından sorumlu faktörler üzerindeki etkilerinin yanı sıra TA'nın söz konusu bileşenler üzerinden sağlayabileceği nöroprotektif potansiyeli gen ve protein seviyesinde araştırılmıştır.

KURAMSAL TEMELLER

Alzheimer Hastalığı

İnsan vücudundaki karmaşık biyolojik süreçler, doku ve organların biyokimyasal ve fizyolojik aktivitelerinde ilerleyici ve kademeli bir düşüşle ilişkilidir. Bu durum özellikle erişkin bireylerde kardiyovasküler hastalık, kanser ve demans gibi yaşa bağlı hastalıklara yol açabilmektedir (Pugh *et al.*, 2001; Zhang *et al.* 2012). Demans, bilişsel yetenekleri ve günlük yaşamsal aktiviteleri etkileyecek derecedeki şiddetli düşüşü ifade eden genel bir terimdir. Alzheimer Hastalığı (AH), günümüzde en yaygın demans formlarından biri haline gelen nörodejeneratif bir hastalıktır (Zhou *et al.* 2015). AH'nin patogenezi oldukça karmaşıktır ve birçok çevresel ve genetik faktörün hastalık oluşumuna ve ilerlemesine neden olduğu bilinmektedir (Ceylan vd. 2019).

İlk kez 1907'de Alois Alzheimer tarafından tanımlanan AH, dünyada 50 milyondan fazla insanı etkileyen, zihinsel ve fiziksel yeteneklerin kaybına kadar ilerleyen, ilk olarak hafıza bozukluğu ile başlayan ancak ilerleyen aşamalarda ölümcül olabilen, bulaşıcı olmayan bir sağlık problemidir (Hassaan *et al.* 2019). AH'de ortalama hayatta kalma süresi 8 yıldır. Semptomların başlamasını takiben hastalığın seyri birkaç yıldan 20 yıla kadar değişir. AH'nin bilişsel semptomları kısa süreli hafıza, yönetici ve görsel işlev bozukluğunu içerir. Bozukluğun ilerlemesiyle birlikte bilişsel yeteneklerde azalma (kongnitif), frontal ve temporal lobda, dil alanlarında (afazi), tanıma işlevlerinde bozulma ve beceri gerektiren hareketlerde işlev yitimi (apraksi) görülmeye başlar (L. G. 2016). Hasta beyinde en sık görülen ayırt edici lezyonlar nihayetinde nöral hücre ölümüne yol açabilen nörotik ihtiyarlıkta oluşan plaklar ve nörofibriller yuvarlaklar (NFT)'dir (Kumar *et al.* 2020). 65 yaş üstü bireylerin %10-15'ini, 80 yaş üstü bireylerin ise yaklaşık %47'sini etkileyen bu hastalık için etkili bir terapi yaklaşımı bulunmamakla birlikte majör semptomları hafifletebilecek tedaviler mevcuttur (Plassman *et al.* 2007).

Alzheimer hastalığının epidemiyolojisi

Alzheimer, dünyada en sık görülen nörodejeneratif bozukluk olmasının yanı sıra global ölüm nedenleri arasında altıncı sırada yer almaktadır. Alzheimer patolojisi orta yaş grubunun beyin dokusunda başlar ancak klinik semptomların çoğu 65 yaşından sonra ortaya çıkmaktadır (Villemagne *et al.* 2013). Küresel yaş ortalamasının yıldan yıla artış göstermesi 65 yaş üzeri insanların oranını yükseltmekte ve bu nedenle hastalığın prevalansı da hızla artmaktadır. Demansın küresel yaygınlığının 50 milyon kadar olduğu ve 2050 yılına kadar 4 kat artacağı tahmin edilmektedir (Jack *et al.* 2010).

Alzheimer hastalığının risk faktörleri

Alzheimer gelişiminde en büyük risk faktörü yaş olmasına karşın tek başına yaşlılık, Alzheimer oluşumu için yeterli değildir (Petersen 2018). Alzheimer oluşumu için diğer önemli risk faktörlerinden bazıları şunlardır;

- ✓ Ailede AH öyküsü, (riski %10-30 artırır)
- ✓ Kardiyovasküler ve serebrovasküler risk faktörleri,
- ✓ Orta veya ağır travmatik beyin yaralanmaları,
- ✓ Depresyon,
- ✓ Homosistein düzeylerinde artış,
- ✓ APOE e4 allel varlığı,
- ✓ Irksal eşitsizlikler,
- ✓ Genetik faktörler,
- ✓ Yüksek ebeveyn yaşı,
- ✓ Sigara kullanımı,
- ✓ Cinsiyet,
- ✓ Hormonal faktörler,
- ✓ Toplumsal faktörler,
- ✓ Düşük eğitim seviyesi ve mesleki başarı

Alzheimer hastalığının evreleri

Hastalığın temelde Hafif Bilişsel Bozukluk (HBB) ve Bunama olmak üzere iki önemli evresi bulunmaktadır.

Hafif bilişsel bozukluk evresinde hastalarda, ya bellekte ya da dil işlevi gibi bellek dışı alanlarda bozukluk görülmektedir. Bu bireyler bağımsız olarak çalışabilir, sosyalleşebilir ve normal hayatlarını iyi düzeyde devam ettirebilirler. Hafif bilişsel bozukluğu bulunan hastaların yılda %10'u demansa ilerlemektedir (Albert *et al.* 2011).

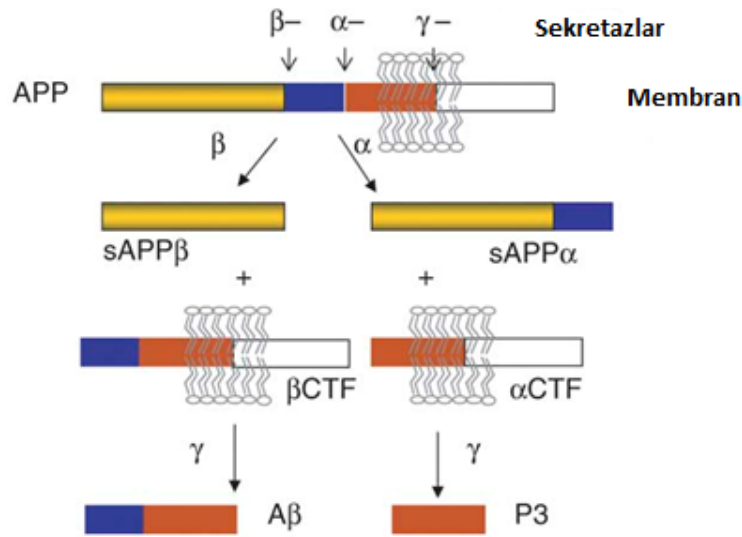
Bunama evresinde ise hastalar ileri düzeyde hafıza bozukluğuna sahiptirler. Bu gruptaki hastalarda dil kullanım zorlukları, anomi, parafizik hatalar, spontan konuşmada azalma ve unutulmuş kelimelerden kaçınmak için dolambaçlı konuşma eğilimi görülmektedir (Weintraub *et al.*

2018). Bunama, görsel-uzaysal yeteneklerde bozulma, yalnızca tanıdık çevrede dolaşma, yapısal apraksiye yol açmaktadır ve bu hastaların %20-40'ı sanrı görmektedir. Bu evrede görsel halüsinasyonlar daha yaygındır ancak bazı hastalarda işitme ve koku alma halüsinasyonları da görülebilir. Hastaların yaklaşık %50'sinde ileri derecede yıkıcı davranışlar görülür (Dilek vd 2017).

Alzheimer hastalığının patolojisi

Hastalığın patolojik özellikleri arasında nöronal ve dentritik kayıplar, nöropil iplikler, distrofik nöritler, granülovaküler dejenerasyon, hirano cisimleri, serebrovasküler amiloidin yanı sıra beyin genelleştirilmiş atrofi de yer almaktadır (Sery *et al.* 2013). Ancak AH, anormal şekilde toplanmış tau proteini demetlerinden oluşan hücre içi nörofibriler yumaklar (NFT'ler) ve büyük ölçüde amiloid- β ($A\beta$) proteininden oluşan hücre dışı yaşlılık plakları (SP'ler) ile karakterizedir (Verma *et al.* 2018). $A\beta$ peptid, transmembran proteini olan amiloid öncü proteini (APP)'nden üretilir ve alfa, beta ve gama-sekretaz adlı proteazların etkisiyle APP'den ayrılır (Villemagne *et al.* 2013).

APP'nin hatalı kesimi sonucu amiloid plaklar oluşmaktadır. Proteoliz, γ -sekretaz, β -sekretaz, ya da α -sekretaz enzim aktiviteleri tarafından gerçekleştirilir. APP, α -sekretaz enzimi tarafından transmembran bölgesinden 12 aminoasit uzaklıktan kesilir ve bunun sonucunda çözünebilir α -APP fragmanları oluşur, oluşan bu fragmanlar ekstraselüler aralığa salınır. α -sekretaz'a alternatif olarak β -sekretaz enzimi tarafından da proteinin amino terminaline 16 aminoasit yakından bir bölgeden kesim gerçekleşebilir (Wakabayashi *et al.* 2008) ve bu kesim sonucunda da β -APP'ler meydana gelir. α -sekretaz ya da β -sekretazla kesim sonrası γ -sekretaz tarafından APP'nin ikinci kesim işlemi gerçekleştirilir. α -sekretaz tarafından gerçekleşen kesim sonucu p3 fragmanı oluşurken, β -sekretaz kesimi sonucu $A\beta$ peptidi oluşur. γ -sekretaz kesimi meydana gelecek olan $A\beta$ peptidinin boyunu belirleyen unsurdur. Amiloid pozitif olan bilişsel olarak normal bireyler üzerindeki çalışmalar günümüzde de devam etmekte ve bu bireyler arasında demansın gelecekteki gelişimi için riskin tespit edilmesine odaklanılmaktadır.



Şekil 1. APP'nin sekretazlar aracılı proteolitik yolağı ve amiloid peptidlerinin oluşumu (Tian *et al.* 2010)

Hastalıkla ilişkili diğer önemli fenomen olan NFT'ler ise, nöronlarda bulunan tau proteinleri tarafından oluşturulan fibriler intrasitoplazmik yapılardır. Tau proteininin birincil işlevi, nöronal aksonlar boyunca uzanan ve hücre içi taşıma için gerekli olan aksonal mikrotübülleri stabilize etmektir (Wallace *et al.* 2018). Aβ agregasyonu sonucu oluşan tau hiperfosforilasyonu, tau agregatlarının meydana gelmesine yol açmaktadır (Vik-Mo *et al.* 2019; Sabbagh *et al.* 2010). Söz konusu proteinlerin yığılması AH dahil birçok nörodejeneratif hastalığın patolojik imzası olarak kabul edilmektedir.

Alzheimer hastalığının genetiği

Hastalığın otozomal dominant formu özellikle 21. kromozomdaki amiloid öncül protein (*APP*), 14. kromozomdaki presenilin 1 (*Psen1*) ve 1. kromozomdaki presenilin 2 (*Psen2*) olmak üzere üç gendeki mutasyonla ilişkilendirilmektedir. Bu üç gen için 200'den fazla patojenik mutasyon tanımlanmıştır ve bu mutasyonların Aβ seviyesini arttırarak tüm vakaların %5 ila %10'undan ve erken başlangıçlı AH'nin de çoğunluğundan sorumlu olduğu bilinmektedir. (Kumar and Goel 2020; Nicolas *et al.* 2018). Bu genler 1990'lı yıllarda tanımlanmış ve günümüze kadar kapsamlı bir şekilde çalışılmış olmasına rağmen, varyant sınıflandırması, popülasyonlar arasında mutasyonları harmanlama ihtiyacını vurgulayan bir zorluk olmaya devam etmektedir.

APP geni, beyin ve omurilik dahil olmak üzere bazı doku ve organlarda bulunan proteinleri oluşturmak için talimatlar sağlar. *APP*'nin hücre yüzeyindeki diğer proteinlere bağlandığı ya da hücrelerin birbirine bağlanmasına yardımcı olduğu tahmin edilmesine rağmen işlevi hakkında hala çok az şey bilinmektedir (Zheng and Koo, 2006). Bunun yanında bazı çalışmalar

beyinde erken gelişim sırasında nöronların göçünü yönlendirmeye yardımcı olduğunu göstermektedir (O'brien *et al.* 2011).

APP, bazı enzimler tarafından kesilir ve bu kesim sonucu oluşan peptitlerin bir kısmı hücre dışına salınır (Thinakaran and Koo, 2008). Bu peptitlerden en bilinenleri büyümeyi teşvik etmede ve nöronların oluşumunda rol oynadığı ve bunun yanında bazı proteinleri inhibe ederek onların işlevini kontrol edebildiği bilinen çözünür amiloid öncü protein (sAPP) ve nöronların zamanla değişme ve uyum sağlama yeteneğinde rol oynadığı bilinen amiloid beta ($A\beta$)'dır. *APP*'nin kritik bölgelerindeki mutasyonlar, AH'de ailesel duyarlılığa neden olur (Roberds *et al.* 2001).

Erken başlangıçlı Alzheimer vakalarının neredeyse yarısı *Psen1* geninde meydana gelen mutasyonlarla bağlantılıdır. *Psen1*, 14. kromozomda bulunur ve bu gende oluşan mutasyon sonucu kanda ve serebrospinal sıvıda $A\beta$ miktarı artar. Presenilin-1 (PS-1) ise *Psen1* geni tarafından kodlanan bir proteindir (Sproul *et al.* 2014). PS-1 gama sekretaz kompleksindeki dört çekirdek proteinden biridir ve Alzheimer hastalığının başlangıcı ile ilişkili olan APP'den $A\beta$ üretiminde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Armijo *et al.* 2017). Presenilin-1 eksikliğinin amiloidi aşağı regüle edebileceği ve inhibisyonunun ise AH'da anti-amiloidojenik tedavi için potansiyel bir yöntem olabileceği düşünülmektedir (Janssen *et al.* 2000).

Erken başlangıçlı Alzheimer vakaları için bir başka etken ise 1. kromozom üzerindeki *Psen2* geninde meydana gelen mutasyonlardır (Drouet *et al.* 2000). Presenilin-2, insanlarda *Psen2* geni tarafından kodlanan bir proteindir. Presenilinlerin, APP'yi parçalayan bir enzim olan gama sekretaz üzerindeki etkileri yoluyla APP işlemeyi düzenlediği varsayılmaktadır. Presenilin 1 ve 2 proteinleri temel olarak APP'leri proteolitik yıkıma uğratan gama (γ) sekretaz enziminin katalitik bileşenleridir. *Psen2* ve *Psen1* genlerindeki mutasyonlar sonucu sekretaz enzimi hatalı kesim yapar ve böylece Alzheimer'a sebep olan $A\beta$ peptidler meydana gelir (Wakabayashi *et al.* 2008).

AH riskini artıran başka bir belirteç ise $A\beta$ protein afinitesi olan ve lipid metabolizmasının düzenleyicisi olan Apolipoprotein E (*ApoE*)'dir (Leoni, 2011). *ApoE* geninin kromozom 19'da bulunan izoform $\epsilon 4$ 'ü, Alzheimer'in 65 yaşından sonra ortaya çıkan ailesel formlarıyla ilişkilendirilmiştir (Liu *et al.* 2013). Bir *ApoE4* allelinin varlığı her zaman Alzheimer hastalığına yol açmaz ancak Alzheimer olan kişilerde *ApoE4* görülür. Her *ApoE4* alleli hastalığın başlama yaşını düşürür (Nicolas *et al.* 2018). *ApoE4* gen varyantı AH için en köklü genetik risk faktörü olsa da, bu genetik varyantın bir kopyasının AH geliştirme olasılığını üç kat artırdığı, iki kopyasının ise bu olasılığı 15 kat artırdığı tahmin edildiği için *ApoE4* taraması rutin

olarak önerilmez. Yapılan bir çalışmada *ApoEε4* allelinin varlığının AH tanısının olumlu tahmin değerini yalnızca %4 artırdığı gösterilmiştir (Chouraki and Seshadri 2014).

Alzheimer hastalığının belirtileri ve tanısı

AH'nin belirtileri hastalığın evresine bağlı olarak değişmektedir. Erken evrelerde, yürütücü işlevlerdeki bozulma, hemen göze çarpmayan bozukluklardan önemli sorunlara kadar değişebilir (Tanzi, 2012). Bunu dil bozuklukları ve uzaysal becerilerdeki bozulmalar izler. Hastalığın orta evrelerinde apati, sosyal geri çekilme, disinhibisyon, ajitasyon, psikoz gibi nöropsikiyatrik semptomlar ortaya çıkabilir (Zilberzwige et al. 2018). Öğrenilmiş motor görevleri yerine getirmede zorlanma (dispraksi), koku alma disfonksiyonu, uyku bozuklukları, distoni, akatizi gibi ekstrapiramidal motor belirtiler ve Parkinson semptomları ise hastalığın geç dönemlerinde ortaya çıkar (Tang *et al.* 2019).

Hastalığın son evresinde ise hastalar daha fazla semptom gösterirler ve sonuçta konuşmama, idrar kaçırma, yatağa bağımlı kalma gibi risklerle karşı karşıya kalırlar. Bu aşamada bilinçsiz yutma, yetersiz beslenme, yatak yaralarına neden olan hareketsizlik, enfeksiyon riski gibi birden fazla yan etki ortaya çıkar ve genellikle bu komplikasyonlar AH'li hastaların ölümüne neden olur (Apostlova 2016).

AH'nin erken evrede teşhis edilmesi zordur. Ayrıca tanıyı doğrulayacak spesifik laboratuvar ya da görüntüleme testleri bulunmamaktadır (DeTure *et al.* 2019). Aile öyküsü AH için önemli bir risk faktörüdür ve AH tanısı alan birinci derece akrabası olan bireylerin hastalığı geliştirme olasılığı daha yüksektir. Mükemmel klinik öykü, fizik muayene ve geliştirilmiş testlere rağmen demans tipini kesin olarak teşhis etmek hala mümkün değildir (Atri, 2019). Bazı hastalar nesnel olarak doğrulanabilen ancak günlük yaşamsal aktiviteleri bozacak kadar şiddetli olmayan ve bu nedenle demans kriterlerini karşılamayan, genellikle HBB olarak sınıflandırılan bilişsel bozukluklardan şikayet etmektedir. Bu HBB sahibi kişilerin önemli bir kısmı 5 ila 7 yıl içinde bir tür demans geliştirecektir (Kumar *et al.* 2020).

Klinik öncesi evre tanısında düşük Aβ ve yüksek tau için beyin omurilik sıvısı (BOS) analizi kullanılır (Haapasalo and Hiltunen 2018). Elektroensefalografi (EEG), tanısal olarak yararlıdır ancak spesifik olmadığı için tercih edilmez. Erken hastalıkta HBB'yi saptamak için kullanılabilecek en iyi yöntem nöropsikolojik testlerdir (Kim 2018).

Biyobelirteçler, klinik tanıyı desteklemeye ek olarak demanslı hastaların çalışılmasında tarihsel anlamda önemli rol oynarlar (Knopman *et al.* 2001). Tedavi edilebilir bir lezyonun tanımlanmasının yanı sıra, Bilgisayarlı Tomografi (BT) veya Manyetik Rezonans Görüntüleme

(MRG) taraması, vasküler risk faktörlerini azaltmayı veya davranışsal değişikliklerin tanımlanmasını iyileştirebilir (Apostlova 2016). Bu yöntemlerden MRG, serebral yapıların daha iyi ölçülmesini ve AH'li hafif etkilenen hastalardan normalin BT ile mümkün olandan daha iyi ayırt edilmesini sağlar.

Hacimsel MRG, beyindeki hacimsel değişiklikleri ölçmek için kullanılır (Petersen 2018). PET, fMRI, SPECT gibi fonksiyonel beyin görüntüleme teknikleri, medial, temporal ve parietal lobun daha küçük bölgelerindeki işlev bozukluklarını haritalamak için kullanılır. Bu yöntemler erken teşhis sağlayabilir ancak Alzheimer tanısındaki rolleri henüz tam olarak belirlenmemiştir (Lassma *et al.* 2018).

Alzheimer'in nöropatolojisi amiloid pozitron emisyon tomografisi (PET) görüntüleme gibi biyobelirteç testleri ile tespit edilse de bilişsel düşüş semptomları, davranışsal semptomlar, fonksiyonel düşüş ve bilişsel test, AH'nin klinik tanısının ve evrelemesinin temel taşlarıdır (Apostlova 2016). Tüm bunların yanında günümüzde uygulanan bilişsel testler, klinik görüntüleme, amiloid görüntüleme ve genetikteki son gelişmeler, Alzheimer'in erken ve presemptomik tanısını kolaylaştırmak için umut vaat etmektedir.

Amiloid pozitron emisyon tomografisi (Amiloid PET) görüntüleme, beyinde orta şiddetli amiloid birikiminin tespit edilmesini sağlar (Landau *et al.* 2014). Negatif tarama (A) sadece spesifik olmayan bağlanmaları ve seyrek amiloid plak birikimlerini gösterir. Pozitif amiloid PET taraması (B) ise orta ve şiddetli amiloid patolojisinin varlığını gösterir. Amiloid PET taramalarının yalnızca tarama sonuçlarının klinik yönetimi değiştirmesi beklediği takdirde kullanılması önerilmiştir (Chetelat *et al.* 2020). Amiloid PET görüntülemenin başlıca üç özel klinik durumda kullanılması önerilmektedir; a) amnestik HBB olan hastalarda, b) atipik AH veya etiyolojik olarak karışık belirti şüphesi olan demans evrelerindeki hastalarda ve c) erken hastalık başlangıcı olanlarda (65 yaşından küçük) (Johnson *et al.* 2013).

CSF amiloid- β ($A\beta$) ve tau protein düzeyleri en önemli AH biyobelirteçleridir. CSF tau değişiklikleri hastalık seyrinde sonradan meydana gelen ve bilişsel düşüşle ilişkili olan faktörlerdir (Buerger *et al.* 2002). CSF $A\beta$ ve tau testi, tanısal olarak zorlayıcı vakalara ilaveten erken hastalık başlangıcı veya olağandışı klinik seyri olan hastalarda oldukça yararlı olabilir. Beyin dokusunda $A\beta$ birikimi hastalık seyrinin başlarında başlar (Blennow *et al.* 1995). CSF $A\beta$ düzeyi kortekste amiloid birikiminin varlığıyla oldukça ilişkilidir ve böylece CSF $A\beta$ seviyeleri, beyin amiloidoz varlığının güvenilir bir proxy ölçüsü olarak amiloid PET taraması yerine kullanılabilir (Buerger *et al.* 2002; Apostlova 2016).

Alzheimer hastalığının tedavisi

AH'nin tedavisinin olmadığı, yalnızca semptomatik tedavilerin mevcut olduğu bilinmektedir (Hussein *et al.* 2018). Bunun yanında Alzheimer tedavisi için asetilkolinesteraz inhibitörleri (AChEIs) ve N-metil D-aspartat (NMDA) antagonistlerini içeren iki ilaç kategorisi onaylanmıştır (Leblhuber *et al.* 2018; Adlimoghaddam *et al.* 2018).

Asetilkolin (ACh), sinir hücrelerinin birbirleri ile iletişim kurmalarını sağlayan, bu nedenle de hafıza ve bilişsel işlevler için oldukça önemli olan bir kimyasaldır ve eksikliğinin serebral korteksin sinaptik yarığında bozukluğa sebep olduğu bilinmektedir (Robert *et al.* 2010). Hastalığa bağlı olarak sinaps boşluğunda artan plaklar mevcut ACh'i asetilkolinesterazlar (AChE) tarafından daha ulaşılabilir hale getirmektedir. Bu nedenle mevcut ACh miktarının korunabilmesi amacıyla AChE'nin biyolojik aktivitesi sınırlandırılmaya çalışılmaktadır. Bu yaklaşımda kolinesteraz inhibitörleri ön plana çıkmakta ve semptomları hafifletmek amacıyla sıklıkla terapiye eklenmektedir (Niznik *et al.* 2020). Bu kategoriden üç ilaç Alzheimer'ın tedavisi için FDA (Gıda ve İlaç İdaresi) onaylıdır. Bunlardan Dopenzil AH'nin tüm evrelerinde kullanılabilirken Galantamin ve Rivastigmin HBB ve demans aşamasındaki tedaviler için kullanılır (Doody *et al.* 2001). Dopenzil ve Galantamin AChE'nin hızlı, geri dönüşümlü inhibitörleridir. Rivastigmin, AChE ve butirilkolinesterazın yavaş, geri dönüşümlü bir inhibitörüdür. Dopenzil günde tek doz uygulanması nedeniyle diğerlerinden daha çok tercih edilir. Kolinesteraz inhibitörlerinin en yaygın yan etkileri mide bulantısı, kusma ishal ve uyku bozukluklarıdır (Adlimoghaddam *et al.* 20018). Son meta-analizlere göre HBB'de kolinesteraz inhibitörlerinin bir etkisi görülmemiş olsa da hastalığın diğer aşamalarında faydası görülmüştür (Kelley 2015; Russ 2012).

NMDA reseptörlerini bloke eden ve hücre içi kalsiyum birikimini yavaşlatan memantin ise NMDA antagonisti grubuna dahil bir terapötik olup, orta şiddetli Alzheimer tedavisinde kullanılabilen FDA tarafından onaylanmış bir ilaçtır. Yaygın yan etkilerinden bazıları baş dönmesi, vücut ağrıları ve kabızlıktır. Kolinesteraz inhibitörleri ile birlikte alınabilen Memantin, AChEI tedavisine ek olarak kullanılabilir (Khoury *et al.* 2018). Bu konuda yakın tarihte yapılan bir çalışmanın analizi memantin biliş, davranış, günlük yaşam aktiviteleri ve küresel işlev üzerinde yararlı bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Matsunaga *et al.* 2015). Bunun yanında başka bir meta-analiz, hafif AH'li hastalarda memantin bir yararı olmadığını göstermektedir (Schneider *et al.* 2011).

Alzheimer hastalığı ve sinaptik sistem

Yapılan çalışmalar, AH ile birlikte yaşla ilişkili birçok nörolojik hastalıkta pre ve/veya postsinaptik mekanizmada anormalliklerin meydana geldiğini göstermektedir (Mhatre *et al.* 2014; Melland *et al.* 2021). AH'nin günümüzdeki tedavi yaklaşımlarının odağında çoğunlukla A β ve tau patolojilerine yönelik girişimler yer almakta ancak, elde edilen bilgiler sinaps fizyolojisinin ve sinaptik aktivitelerin de hastalık modifikasyonu için önemli olabileceği görüşünü desteklemektedir (Shankar and Walsh 2019). Sinapsın yapısı, fonksiyonu ve en nihayetinde sayısının zamanla değiştiği bilinmektedir (Chen and Chung 2000). Sinaptik teması etkileyen bu süreç sinaptik plastisite olarak adlandırılmakta ve bilişsel işlevler için gerekli olan sinirsel bağlantıları optimize etmektedir (Fu *et al.* 2017). Sinaps aktivitesinde meydana gelen anomaliler, sinaptik proteinlerin regülasyonunu bozarak nöronların hasar görmesine ve hatta nöron ölümü olarak adlandırılan ve hafıza kaybı ile doğrudan ilişkili olan eksitotoksitenin oluşmasına yol açmaktadır (Malenka and Bear 2004). Bu sebeple, sinaptik fonksiyonun devamlılığının sağlıklı bir şekilde sürdürülmesinin ve geri kazanılmasıyla bağlantılı mekanizmaların belirlenmesinin, demans tedavisinde sinaptik fonksiyon tabanlı terapötik stratejilerin geliştirilmesine önemli katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (Cao *et al.* 2020).

Monosodyum Glutamat

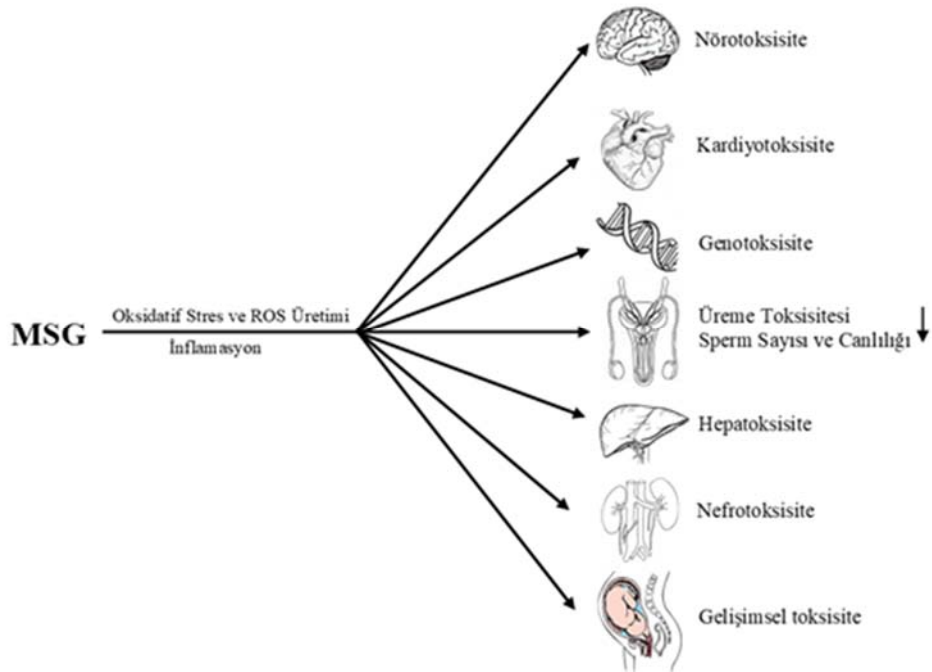
Gıda katkı maddeleri, gıdanın lezzetini, tadını, rengini, görünümünü ve dokusunu iyileştirmek için gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan maddelerdir ve bu maddeler yaklaşık 230 farklı bileşik içeren 25 sınıfa kategorize edilmiştir (Moldes *et al.* 2017; Martins *et al.* 2019). Bunlardan lezzet arttırıcılar, yiyeceklere güzel tat vermekten sorumludur.

İşlenmiş gıdaların çoğunda bulunan monosodyum glutamat (MSG), dünyanın en yaygın kullanılan gıda katkı maddesidir ve FAO (Gıda ve Tarım Örgütü), WHO, FDA, JECFA (Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi) ve EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Birliği) tarafından güvenli olarak kabul edilmektedir. (Obayashi and Nagamura 2016). 1957'den itibaren MSG, hücre duvarından glutamik asit salgılayan, genetiği değiştirilmiş bakteriler içeren bakteriyel fermentasyon ile üretilmektedir (Zehra *et al.* 2017). Özellikle son yıllarda kullanımı büyük ölçüde artan MSG, dondurulmuş mezelerde, konserve ton balığında, krakerlerde, işlenmiş etlerde, çorbalarda, kozmetiklerde, diyet takviyelerinde, bebek mamalarında, salata soslarında, aşılarında ve diğer birçok gıda ürününde kullanılabilmektedir (Thuy *et al.* 2020).

Glutamat, sinapsların oluşumu ve stabilizasyonu, hafıza, biliş, öğrenme ve hücresel metabolizma gibi temel beyin fonksiyonlarında önemli rol oynar ve MSG bakımından zengin gıda

maddelerinin vücuda alınması nörotoksisite, hepatotoksisite, obezite ve diyabet gibi çeşitli sağlık sorunlarının oluşmasına neden olabilir (Kazmi vd. 2017).

Glutamatın günlük tüketim miktarı bölgeye bağlı olarak değişmektedir. Gelişmiş ülkelerde günlük ortalama MSG alımının 0,3-1,0 g/gün olduğu bilinmektedir (Husarova and Ostannikova 2013). Günlük ortalama MSG alımının İngiltere’de 0,58 g/gün, Almanya’da 10,0 g/gün olduğu bilinirken diğer Avrupa ülkelerinde son zamanlarda günlük ortalama glutamat alımının yaklaşık 1,0 g/gün olduğu bildirilmiştir (Rhodes *et al.* 1991; Park *et al.* 2014). Asya’da ise Japonya’da 1,1-1,6 g/gün, Tayvan’da 1,5-3,0 g/gün ve Güney Kore’de 1,6-2,3 g/gün ile glutamat alımı daha yüksektir (Beyreuther *et al.* 2007; Tome 2018). FDA MSG’nin güvenli bir madde olduğunu belirtse de hayvanlarda yapılmış olan çeşitli çalışmalar MSG’nin sürekli tüketiminin timus, beyin, pankreas, testis, karaciğer ve böbrek gibi organlarda çeşitli olumsuz etkilere yol açtığına işaret etmiştir (Pavlovic *et al.* 2007; Çalış vd 2016). Bu yan etkilere örnek olarak obezite, hipertansiyon, baş ağrısı, astım ve nörotoksisite verilebilir (Niaz *et al.* 2018). MSG tüketimi yanında üretimi de ülkelere göre değişiklik göstermektedir. 2014’de yapılan bir araştırmada Asya’nın dünyanın yıllık MSG üretim kapasitesinin %94’ünü oluşturduğu, Çin (üretim %65, tüketim %55, ihracat %44), Endonezya, Tayland, Tayvan ve Vietnam’ın da başlıca üretim merkezleri olduğu raporlanmıştır (Stanford Research Institute 1950).

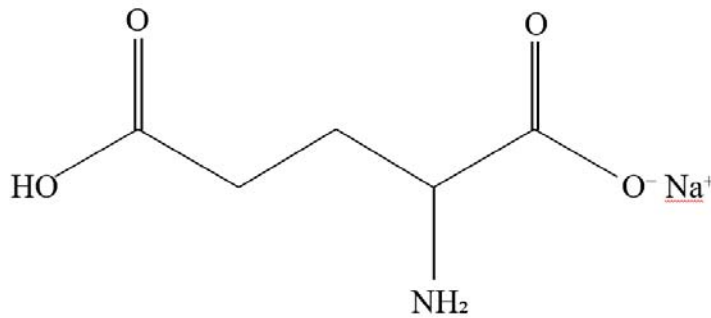


Şekil 2. MSG kaynaklı toksisiteler ve etkilenebilen organlar (Mohammad *et al.* 2020)

Monosodyum glutamatın yapısı, fiziksel ve kimyasal özellikleri

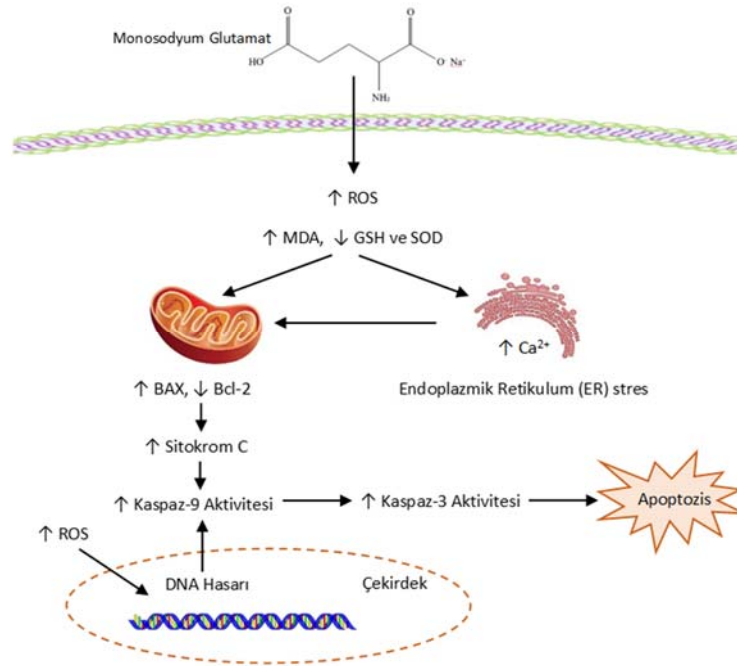
MSG, L-glutamik asit olarak bilinen nonesansiyel bir aminoasidin sodyum tuzudur ve hidrolize protein formunda gıda katkı maddesi (E621) olarak veya saflaştırılmış monosodyum tuzu olarak kullanılmaktadır (Silva *et al.* 2017). İlk olarak yosundan (*Laminaria japonica*) elde edilmiştir ve 1908’de Japon kimyager Kikunae Ikeda tarafından tanımlanmıştır (Kurihara 2009; Zealand 2003). Yapısal olarak, MSG'nin temel bileşeni, negatif yüklü, polar ve esansiyel olmayan bir amino asit olan glutamattır. Glutamat vücuttaki ana uyarıcı nörotransmitterdir ve insan vücudu tarafından sentezlenebildiği için dışarıdan alınması gerekli değildir (Bera *et al.* 2017). Proteinlerdeki diğer aminoasitlere bağlı glutamatın bir tat göstermediği, glutamatın yalnızca bağlanmamış veya serbest formda bulunduğu tat gösterdiği bilinmektedir (Lölinger 2000). Serbest ya da bağlanmamış formdaki glutamatın, tat tomurcuklarında bulunan ve umami olarak bilinen lezzet profilini indüklemekten sorumlu olan glutamat reseptörlerini (TAS1R1, TAS1R, mGluR4 ve mGluR1) uyardığı bilinmektedir (Çalış vd 2016). Bunun yanı sıra MSG'nin iki izomerden (L-glutamat ve D-glutamat enantiyomerlerinden) oluştuğu, ancak lezzetin artırılmasından sadece L-glutamat enantiyomerinin sorumlu olduğu da bilinmektedir (Okoye *et al.* 2016). İşlenmiş MSG, doğal olarak oluşan gıdaların serbest glutamat iyonlarında gözlenenenden daha büyük bir L-glutamat yüzdesine (% 99.6) sahiptir (Halpern 2000).

Kimyasal formülü $C_5H_8NO_4Na$ (Şekil 3) olan MSG'nin IUPAC-ID adı sodium 2-aminopentanedioate şeklinde olup diğer bazı adları ise Ajinomoto ve çin tuzudur (Hernandez *et al.* 2019). 169.11 g/mol kütle ve 232 °C erime noktasına sahip beyaz ve kokusuz bir toz olan MSG, umami olarak bilinen bir tada sahiptir ve doğal olarak peynir, domates, mantar ve üzümelerde bulunmaktadır (Wijayasekara and Wansapala, 2017). Alkolde kolayca çözünmeyip, yağ ve organik çözücülerde çözünür ancak sudaki çözünürlüğü 25°C’de 385.000 mg/L’dir (Rim 2017). MSG yapısal olarak %78 glutamik asit, %12 sodyum tuzu ve %10 su içermektedir (Samuels 1999; Kardesler vd 2017).



Şekil 3. Monosodyum glutamatın kimyasal yapısı (MSG) (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

Glutamatın çeşitli fizyolojik fonksiyonları bilinmektedir: enterositlerde enerji üretimi için önemli bir substrattır, protein metabolizmasında bir ara maddedir, glutatyon (GSH, oksidatif stres modülatörü) ve N-asetilglutamat (metabolik düzenleyici) gibi önemli metabolitlerin öncüsüdür ve ayrıca merkezi sinir sistemi (CNS) uyarıcı nörotransmitterdir (Meldrum 2000; Newsholme 2001).



Şekil 4. Monosodyum Glutamat kaynaklı hücre ölümünün moleküler mekanizması (Mohammad *et al.* 2020)

MSG, intrinsik apoptoz yolunu aktive ederek hücre ölümüne yol açabilir. MSG kaynaklı hasarın etki mekanizması beyin, testis, karaciğer gibi farklı organlarla ve oksidatif stresin indüksiyonu ile ilgilidir. Oksidatif stres hücre içi bir durumdur ve bu durumda reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyeleri artar, bu da karbonhidratlara, lipitlere, proteinlere ve nükleik asitlere zarar vererek hücresel metabolizmanın bozulmasına yol açar (Umukoro *et al.* 2015). Oksidatif stres, nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, diyabet, karsinogenez ve osteoporoz olmak üzere birçok hastalıkla ilişkilidir (Saeidnia *et al.* 2013). Pavlovic ve arkadaşları MSG'nin sıçanlarda Bcl-2 ekspresyonunu azalttığını ve ayrıca hayvanlara uzun süreli MSG uygulanmasının oksidatif stres yoluyla artan timosit apoptozisine yol açtığını göstermiştir (Pavlovic *et al.* 2006). MSG kaynaklı hücre ölümünün moleküler mekanizması Şekil 4'te gösterilmiştir (Rosa *et al.* 2018). Yapılan başka bir çalışmada yetişkin erkek farelerde 4 mg/g vücut ağırlığı (vw) üzerindeki dozlarda MSG uygulanmasının, lipid peroksidasyonunu (LPO) artırarak eritrositlerde oksidatif stresini teşvik ettiği gösterilmiştir (Elshafey *et al.* 2017). Benzer şekilde, MSG uygulamasının karaciğerde lipid peroksidasyonunun indüklenmesi, glutatyonun

(GSH) azaltılması ve glutatyon-s-transferaz (GST), süperoksit dismutaz (SOD), ve katalaz (CAT) aktivitelerinin artırılması yoluyla oksidatif stresi indüklediği de gösterilmiştir (Eweka *et al.* 2011).

MSG, vücutta CNS amino asitlerinden en yaygını olan glutamat ve sodyum iyonlarına ayrılır (Samuels 1999). Bağırsakta, glutamat aktif taşıma ile emilir ve emilen glutamat, EAAC-1 (uyarıcı amino asit taşıyıcı) ve NaDC-1 (sodyum karboksilat taşıyıcı) gibi taşıyıcıların yardımıyla bağırsaktan apikal membran boyunca lümeneye taşınır (Kanai and Hediger 2003). Bu taşıyıcılarla glutamat kan dolaşımına taşınır ve vücutta dolaşır (Çalış vd 2016). MSG'nin parçalanması için herhangi bir enzim aktivitesi gerekmez ve vücutta çok hızlı bir şekilde emilir, daha sonra emilen glutamat sodyum karboksilat taşıyıcı (NaDC-1), uyarıcı amino asit taşıyıcı (EAAT1) aracılığı ile bağırsak lümeninde taşınır ve kan dolaşımı yoluyla vücutta dolaşır (Shannon *et al.* 2019).

Monosodyum glutamat kaynaklı nörotoksisite

MSG nörotoksisitesi hücre ölümü ile sonuçlanan, gelişmiş hücre içi kalsiyuma neden olan bir dizi enzimatik aktiviteyi tetikleyen uyarıcı aminoasit reseptörlerinin aşırı aktivasyonu ile ilişkilidir (Perello *et al.* 2003). MSG'nin ayrıca anksiyojenik ve depresif benzeri davranışlara, metabolik işlev bozukluklarına, obeziteye, insülin direncine, analjezik yanıtlarda değişkenliklere, glikoz intoleransına ve kronik inflamasyona neden olan nöroendokrin anormalliklere ve ayrıca nöronal membranların bütünlüğünün ve işlevselliğinin bozulmasına neden olduğu belgelenmiştir (Gobel *et al.* 2017; Swammy *et al.* 2013). Hipokampus ve beyincikte nöronal hasara sebep olan ve beyin dokusunda SOD ve CAT'ın azalmasına, nitrik oksidin artmasına neden olan MSG'nin Alzheimer ve Parkinson gibi diğer nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olabileceği de bulunmuştur.

Preklinik çalışmalar, MSG uygulamasını kardiyotoksisite, oksidatif stres ve hepatotoksisite, nörotoksisite, düşük dereceli inflamasyon, metabolik düzensizlik ve premalign değişiklikler ve davranış değişiklikleri ile ilişkilendirmiştir, klinik çalışmalar ise MSG'nin gıda alımı ve enerji harcaması üzerindeki etkilerine odaklanmıştır (Zanfirescu *et al.* 2019).

MSG, artan lipid peroksidasyonu (LPO), oksidatif stres, apoptoz ve kolinerjik disfonksiyon yoluyla nörotoksisiteye neden olur ve glutamat, CNS'de önemli bir uyarıcı nörotransmitter olarak bilindiğinden, fazlalığı ciddi nöronal hasara ve başka komplikasyonlara neden olabilecek eksitotoksisiteye neden olur (Abdel *et al.* 2018). Sık görülen bozukluklardan bazıları iskemi ve travmatik beyin hasarı, amiyotrofik lateral skleroz, multipl skleroz ve Parkinson hastalığıdır (Lau and Tymianski 2010).

MSG'nin yeni doğan sıçanlarda beyin kan beyin bariyeri tarafından yeterince korunmayan bölgelerinde glutamat kaynaklı eksitotoksisteye neden olduğu tespit edilmiştir (Larsen et al. 1994; Matyskova et al. 2008). MSG tüketiminden sonraki ilk yan etki 1968'de bildirilmiş ve bu da Çin restoran Sendromu (CRS) olarak adlandırılmıştır ve semptomlar arasında boyun ve kollarda uyuşukluk, halsizlik, hızlı kalp atışı (çarpıntı) olduğu görülmüştür. (Geha et al. 2001).

Glutamatın sinaptik yarıktaki konsantrasyonunun artması nöronların dejenerasyonuna yol açar (Ishfaq et al. 2021). Oral yolla alınan MSG'nin serbest radikal oluşumunu artırdığı, DNA hasarına eşlik ettiği ve daha sonra kök hücrelerde onarım mekanizmasını başlatan ve nöronal hücre nekrozuna yol açan apoptotik sinyal kaskadını tetiklediği birçok kez raporlanmıştır (Mathew 2019). Bu nedenle MSG, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz ve multipl skleroz gibi nörodejeneratif hastalıkların bir destekçisidir (Henry-Unaeze 2017).

Uyarıcı nörotransmitterler tarafından glutamat reseptörlerinin uyarılması veya aşırı aktivasyonu ile nöronlar zarar görür ve bu da bir eksitotoksin eylemi ile nöronların ölümüne yol açabilir, bu sürece eksitotoksisteye denir (Ishfaq et al. 2021). Eksitotoksisteye, glutamat reseptörlerinin (NMDA ve AMPA) aşırı aktivasyonuna yol açarak hücre içi kalsiyum iyonu (Ca) seviyesinde artışa neden olur ve kalsiyum iyonlarının seviyesindeki bu artış, sitoskeleton, zarın, DNA'nın ve özellikle nöronların yapısının zarar görmesinden sorumlu olan endonükleazlar, fosfolipazlar ve proteazlar gibi enzimlerin aktivasyonuna neden olur. Ca'nın yüksekliği, aşırı oksidatif fosforilasyona ve nitrik oksit sentazı tetikleyerek ROS'ların üretimine neden olur ve hücre ölümü ile sonuçlanır (Mehta 2013).

Hipokampus, glutamat aracılı eksitotoksisteye karşı en savunmasız beyin bölgelerinden biri olarak, mekânsal öğrenme ve hafızada önemli bir role sahiptir. Son zamanlarda düşük doz MSG'ye maruz kalan sıçanların hipokampusta öğrenme yeteneklerinde azalma ve ön beyinde kısa hafıza gösterdiği bulunmuştur (Abdel et al. 2018). Ali ve arkadaşları, düşük dozda MSG'nin bilişsel işlevleri etkilediğini ve erken çocukluk döneminde kan-beyin bariyerinin büyük ve küçük moleküllere oldukça geçirgen olduğu toksik etkiye sahip olduğunu belgelemiştir (Olvera-Cortes et al. 2005; Ali et al. 2000). Başka bir çalışmada, MSG'ye maruz kalan sıçanların hipokampusunda Na, K-ATPase aktivitesinin inhibisyonu ile ilişkili hafıza bozukluğu tanımlandı (Ramalho et al. 2018). Yenidoğan MSG enjeksiyonunun A β birikimi, artan kolines-teraz aktivitesi, azalmış hipokampal hacim ve bilişsel işlev kaybı ile ilişkili olduğu, beyin kan beyin bariyeri tarafından yeterince korunmayan bölgelerinde glutamat kaynaklı eksitotoksisteye sebep olduğu tespit edilmiştir (Madhavadas et al. 2014; Maixnerova et al. 2008).

Memeli hipokampusundaki DG (Dentat Girus) alt bölgesi, belirli türlerdeki belleklerin oluşması, alışkanlıkların oluşumu ve çeşitli becerilerin öğrenilmesi ile ilişkili bir bölgedir ve DG'deki nörogenezin hipokampusu bağımlı öğrenme ve hafızada önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Li *et al.* 2008; Gao *et al.* 2007). Sowmya ve arkadaşlarının Sprague-Dawley ırkı sıçanlara 14 gün süresince intraperitoneal yolla MSG enjekte ederek yaptıkları bir çalışmada MSG'nin hipokampusun DG, CA1 ve CA3 alt alanlarının hücre hacminde anlamlı bir azalmaya sebep olduğu, glukoz, kolesterol konsantrasyonunda, MDA ve hipokampal homojenatlarda AChE aktivitesinde anlamlı bir artışa neden olduğu ve nöronal ölüme neden olduğu belirlenmiştir. MSG grubunda hipokampusun CA3 alt bölgesinde nöronal ölümün kesin belirtisi olan koyu renkli piktonik ve küçülmüş çekirdekler görüldüğü raporlanmıştır. Ayrıca yapılan Barnes labirent testi sonuçlarına göre diğer gruplardaki canlılar MSG grubundaki canlılara göre daha yüksek öğrenme oranlarına sahipti ve MSG grubundaki canlılarda bozulmuş ve kalıcı hafıza açığı görülmüştü (Madhavadas *et al.* 2015).

Yenidoğan döneminde MSG maruziyetinin, sıçanların hipokampusunda dentritik omurga yoğunluğunu ve sinaptik protein ekspresyonunu azalttığı, uzamsal öğrenme ve hafıza açıklarına neden olduğu raporlanmıştır. Nöronal sinaptik bozukluklar bilişsel kapasitenin azalmasıyla ilişkilidir ve sinaptik ilişkili proteinler öğrenme ve hafıza ile ilişkili olan nöronal sinaptik yapıların ve fonksiyonların moleküler temelini oluştururlar (Jin *et al.* 2018).

Yapılan çalışmalar sonucunda MSG'ye maruz kalan sıçanların kontrol sıçanlarına kıyasla hipokampal CA1 bölgesindeki nöronlarında dentritik omurga yoğunluğunun önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir. Dentritik omurga yoğunluğu ve morfolojik bütünlük, nöronal sinaptik fonksiyonun yapısal temeli olarak kabul edilir ve öğrenme ve hafıza için oldukça önemlidir (Morrison and Baxter 2012). Kontrolle kıyaslandığında MSG maruziyetinin postsinaptik yoğunluk-93 (PSD93), sinapsin I (SYNI), ve sinaptotagmin (SYT) ekspresyon seviyelerini azalttığı anlaşılmıştır (Neves *et al.* 2008; Lau and Zukin 2007).

Yapılan bir çalışmada MSG'nin yetişkin Wistar sıçanlarına 7 gün boyunca oral uygulanması CAT, GSH, GST aktivitelerinin azalmasına ve beyin dokularındaki MDA ve nitrit seviyelerinin artmasıyla kanıtlanan oksidatif ve nitratif stresin artmasına neden oldu. Daha önce beyin dokusunda apoptoz indüksiyonunun MSG tarafından oluşan nörotoksisite ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Hajihassani *et al.* 2020). Yaptıkları çalışmalar ile Antony ve meslektaşları, MSG'nin sıçanların beyinde hipotalamik nöronal nekroz ve beyin histolojisinin dejenerasyonu ile ilişkili oksidatif strese neden olduğunu doğruladı.

Yenidoğan sıçanlar üzerinde yapılan farklı bir çalışmada, MSG solüsyonlarının deri altı uygulamasıyla, beyindeki glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun indüklendiği ve çığlık,

baş sallama ve nöbet durumları dahil birçok davranışsal sorunun oluşabileceği sonucuna varılmıştır (Lau and Tymianski 2010).

Beas Zarate ve arkadaşları tarafından, Wistar sıçanlarının yeni doğan döneminde yapılan başka bir çalışmada ise L-glutamatın eksitotoksik etkisi araştırılmış ve hipokampusta hücrel dejenerasyon ve sito-arkitektoral değişiklikler onaylanmış ve hipokampal bütünlüğün değiştiği görülmüştür. Ayrıca 5 haftalık erkek Wistar sıçanlarında oral yolla MSG muamelesinin hipokampusta siklik-AMPK düzeyini %43 ila %31 oranında azalttığı, aynı bölgede apoptoza aracılık eden fas ligand olarak bilinen maddenin de artışı raporlanmıştır. Böylece MSG'nin, nörodejeneratif yolları aktive eden hipokampusun kimyasal bileşimini etkileyerek güçlü bir nörotoksin görevi gördüğü kabul edilmiştir (Dief *et al.* 2014).

Yukarıdakilerin tümü göz önüne alındığında diyetle eklenmiş MSG'nin yetişkin memelilerin beyincik ve hipokampus gibi yapılarında davranışsal, biyokimyasal ve morfolojik değişikliklere neden olabileceği düşünülmektedir.

Bilişsel eksikliklerle ilgili nörodejeneratif bozukluklarda, çeşitli nörotransmitter içeren hücre gövdelerinde bir düşüş olmasına rağmen, en çok kayıp bazal ön beynin kolinerjik nöronları da dahil olmak üzere uzun projeksiyon nöronlarında görülmüştür. Çekirdek bazalis ve septal diyagonal bant kompleksi içindeki kolinerjik nöronlar, sırasıyla serebral korteks ve hipokampusa kolinerjik innervasyonun ana kaynağını oluşturur ve hafıza ve dikkatte önemli bir rol oynar (Mufson *et al.* 2007).

Epidemiyolojik çalışmalar, beslenme alışkanlığı ve antioksidan alımının AH gibi nörodejeneratif hastalıkların insidansını etkileyebileceğini düşündürmektedir. Bazı doğal polifenollerin bilişsel bozuklukları ve Aβ yükünü önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (Choi *et al.* 2012). AH için birden fazla ilaç mevcut olmasına rağmen, hiçbir AD'deki nörodejenerasyonu tamamen durduramaz veya tedavi edemez. AH için farmakolojik tedavi ile ilgili olarak, doğal polifenollerin AH'nin önlenmesi veya tedavisi için potansiyel bir strateji olabileceği düşünülmektedir (Polidori *et al.* 2009).

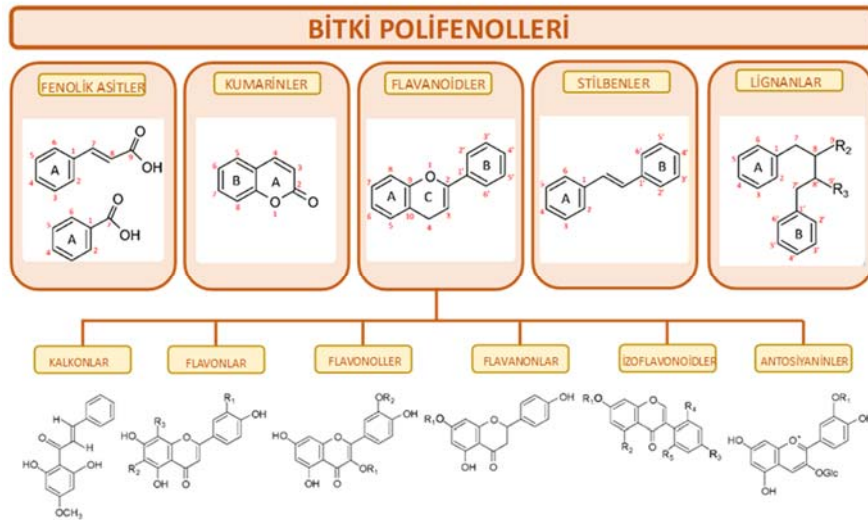
Tannik Asit

Günümüzde AH tedavisi için en çok kullanılan ilaç gurbu asetilkolinesteraz inhibitörleridir (AChEI'ler: tacrine, rivastigmin, donepezil, ve galantamin). Ancak bu ilaçların etkinliği sınırlıdır ve bunun yanında çeşitli yan etkileri de bulunmaktadır (Bezerra da Silva *et al.* 2016). Diğer yandan şifalı bitkilerin günümüzde özellikle psikiyatrik ve nörolojik bozuklukların tedavisinde önemli bir rol alabileceği düşünülmektedir (Singhal *et al.* 2012).

İlaçların önerilen dozdan fazla kullanımı, maliyeti, yan etkileri ve etkileşimlerinden dolayı kullanımları sınırlıdır. Bitkisel ilaçların ise düşük maliyetleri, kolay tedarik edilebilmeleri ve daha az ilaç etkileşimleri nedeniyle hastalıkları tedavi etmek için uygun bir alternatif olabileceği düşünülmektedir (Faydalıoğlu vd 2011). Bu bağlamda, nörodejenerasyonda beyin hasarlarının iyileşmesine katkı sağlayan ve yeni sinaps oluşumunu teşvik ederek öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını artırıcı potansiyele sahip olan nöroprotektif özellikteki tıbbi bitkilerle yapılan tamamlayıcı tıp uygulamaları günümüzde önemli bir yaklaşım haline gelmiştir. Tıbbi bitkiler; içerdikleri fitokimyasallar sayesinde, nörodejeneratif hastalık gelişimiyle ilişkili hücresel ve moleküler mekanizmalarda etkili olarak, hastalığın prognozunu yavaşlatmaya ciddi anlamda katkı sağlamaktadır (Grosso *et al.* 2013).

Nutrasötikler, tasarım farmasötiklerinden daha az yan etkiye sahip olan doğal olarak meydana gelen bileşiklerdir (Shoji and Nakashima 2004). Polifenoller bitkilerin ikincil metabolitleridir. Strese yanıt olarak bitkiler tarafından üretilirler ve sağlık üzerindeki önemli etkileri nedeniyle yaşam süresini etkileyen temel faktörler olarak kabul edilirler (Chandrasekara and Shahidi 2010; Li *et al.* 2014). Bu bileşikler yapısal olarak aromatik bir halkaya bağlı en az bir hidroksil fonksiyonel grubun (-OH) varlığı ile karakterizedir (Tsao 2010).

Diyet polifenollerini sebze ve meyvelerde, kuru baklagillerde, zeytinde, kakaoda, tahıllarda, çay, kahve ve şarap gibi bitki temelli gıdalarda bol miktarda bulunur (Cardona *et al.* 2013). Yeşil çay üzüm ve şarapta kateşinler; çay ve fındıkta tanenler; üzüm, çam kabuğu ve kakaoda pro-antosiyanidinler; soya fasulyesinde izoflavonlar; parlak renkli meyve ve sebzelerde antosiyaninler/antosiyanidinler; üzüm ve soğanda quercetin, narenciyede naringenin/hesperidin; şaraplarda resveratrol bulunur (Martin and Appel 2009).



Şekil 5. Polifenollerin sınıflandırılması (Hano *et al.* 2020)

Polifenollerin sağlık üzerindeki yararlı etkileri üzerine yapılan araştırmalar son yıllarda önemli ölçüde artmıştır ve yapılan bu çalışmalar sonucu polifenollerin antienflamatuvar, antioksidan, antimikrobiyal, antikarsinogenik ve nöropektif etkiler gösterdiği anlaşılmıştır (Quiñones *et al.* 2013).

Doğal Polifenollerin Biyoaktiviteleri

- ✓ Antioksidan Aktivite
- ✓ Kardiyo Koruyucu Aktivite
- ✓ Antikanser Aktivitesi
- ✓ Anti-İnflamasyon
- ✓ Anti-Enfektif Aktivite
- ✓ Antimikrobiyal Etki
- ✓ Yaşlanma Karşıtı Etki
- ✓ Serebrovasküler Koroyucu Etki
- ✓ Anti-Diyabetik Aktivite
- ✓ Nöroprotektif Aktivite
- ✓ Bağışıklık
- ✓ Metabolizma Koruyucu Aktivite
- ✓ Anti-Tümör Aktivite
- ✓ Anti-Obezogenik Aktivite

Diyet polifenolleri dentritik hücreleri etkileyebilir, inflamatuvar bağırsak hastalığında iltihabı azaltabilir, makrofajlar üzerinde immünomodulatör etkiye sahip olabilir, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) inhibisyonunu, apaoptoz indüksiyonunu ve DNA hasarını azaltabilir, B hücrelerinin, T hücrelerinin çoğalmasını artırabilir ve Tip 1 T yardımcı (Th1) hücrelerini baskılayabilirler (Mazzarella *et al.* 2000). Polifenoller ayrıca sinyal yollarını düzenleyerek ve iltihabı baskılayarak tip 1 diyabet, romatoid artrit ve multipl skleroz gibi otoimmün hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde de etkili olurlar (Swallah *et al.* 2020). Kimyasal yapılarına göre farklı sınıflara ayrılan 8000 kadar farklı polifenol vardır ve bu farklı sınıflandırmaya rağmen tüm polifenoller aromatik bir halkanın ve en az bir hidroksil grubunun temel yapısal özelliklerine sahiptirler (Shakoor *et al.* 2021).

Birçok çalışma, sebze ve meyveler gibi flavonoidler bakımından zengin gıdaların diyetle dahil edilmesinin, yaşlı insanlarda bilişsel performansı arttırmaya ve dolayısıyla demans riskini azaltmaya yardımcı olduğunu öne sürmüştür (Alex *et al.* 2022). Önemli olarak, demans olma-

yan yaşlı insanlarda daha iyi biliş, çikolata, şarap ve çay dahil olmak üzere flavonoid bakımından zengin gıdaların diyet alımıyla ilgilidir ve bu gıdaların alımıyla bilişsel performans arasında doza bağlı bir ilişki vardır.

Polifenolik bileşiklerin nöroprotektif yetenekleri, nöronal koruma, nöroinflamasyonu baskılama, hafıza, öğrenme ve bilişsel işlevleri teşvik etme potansiyeli ile sonuçlanmaktadır (Bakhtiari *et al.* 2017). Nörodejenerasyon çok faktörlü bir süreçtir ve polifenoller pleiotropik etkiler (antiinflamatuvar, antioksidan, immünomodülatör özellikler) göstererek birden fazla hedefin aktivitesini modüle etme yetenekleri nedeniyle bu hastalıkların ilerlemesini durdururlar (Kimura *et al.* 2010). Uzun zamandır polifenollerin, hücre bileşenlerini, serbest radikallerin doğrudan temizlenmesi yoluyla oksidatif hasara karşı koruduğu bilinmektedir ancak yakın zamanda polifenollerin ve metabolitlerinin, protein kinaz/ lipid kinaz sinyal yolları gibi sinyal iletiminde görev alan enzimler veya reseptörlerle doğrudan etkileşim yoluyla proteinlerde ve enzimlerde modülatör eylemler uyguladığına dair fikirler kabul görmüştür (Figueira *et al.* 2017). Bunun yanında bitki polifenollerinin koruyucu etkisinin altında yatan birkaç nörokimyasal mekanizma tarif edilmiştir bunlar: demir şelatlama özellikleri, nöronal hayatta kalma ve farklılaşma ile ilgili sinyal yollarının modülasyonu, nöropatolojik süreçlerin inhibisyonu, ve mitokondriyal fonksiyonun düzenlenmesidir (Spencer 2010). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada diyet polifenollerinin beyin sağlığı ve bilişle ilgili olumlu etkileri ele alınmış ve flavonoidlerin sinaptik plastisite süreçlerini ve bilişsel işlevi etkileyebileceği anlaşılmıştır (Rendeiro *et al.* 2015).

Tanenler, ekonomik ve ekolojik olarak değerli olan birçok bitkide ikincil metabolizma sonucu oluşan fenolik bileşiklerdir (Kuo *et al.* 1992). Tannik asit (TA), bitki kaynaklı polifenollerin tanen kategorisinin bir üyesidir. Günlük diyetle alınabilen üzüm, yeşil çay, kahve gibi çok sayıda otsu ve odunsu bitkilerde bulunmaktadır ve doğal kaynaklardan yüksek verimle ekstrakte edilebilir olması nedeniyle bilimsel alanda büyük ilgi görmektedir (Dabbaghi *et al.* 2009; Aydın vd 2007). Tanenler monomer yapısına göre kimyasal olarak dört gruba ayrılırlar:

- ✓ Hidrolize edilebilir tanenler
- ✓ Yoğunlaştırılmış tanenler (proantosyanidinler)
- ✓ Kompleks tanenler
- ✓ Florotanninler

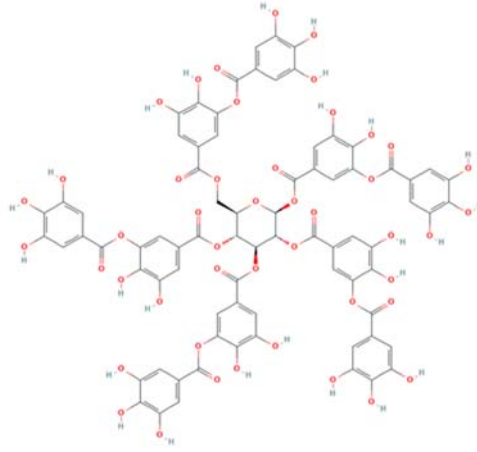
Bunların arasında hidrolize edilebilir tanenler bir çekirdek fenole esterleştirilmiş değişken sayıda gallat kısımlarıyla karakterize gallik asit (3,4,5-trihidroksil benzoik asit) türevleridir (Booth *et al.* 2013). Bir merkezi glikoz ünitesinden ve ona bağlı on gallik asit molekülünden oluşmaktadır, molekül ağırlığı 1701.2 g/mol olup zayıf asidik özelliklere sahiptir. TA'nın zayıf

asitliği (pK_a 6 civarında) yapısında bulunan çok sayıdaki fenol grubundan kaynaklanmaktadır. Ticari TA'nın formülü (dekagalloil glikoza karşılık gelir) C₇₆H₅₂O₄₆ olarak bilinir. TA genellikle güvenli olarak kabul edilen (GRAS, Generally Recognized as Safe) bir gıda katkı maddesi olarak sınıflandırılır (Aelenei *et al.* 2009).

Tannik asitin nöroprotektif etkisi

Diğer polifenollere benzer şekilde tanenler de antioksidan, antikarsinojenik, antitümör, antimutajenik, antiviral, antibakteriyel ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir (Lin *et al.* 2011; Andrade *et al.* 2005; Srivastava *et al.* 2000). Bir yandan antimikrobiyal ve antiviral aktivite gösterirken diğer yandan, umut verici biyolojik özellikler ortaya çıkarır, yani hücre çoğalmasını, doku yenilenmesini ve yara iyileşme süreçlerini geliştirir (Kaczmarek *et al.* 2020). Bunun yanında TA'nın Influenza A virüsüne, norovirslere, Herpes simpleks virüsü tip 1 ve 2'ye, Papilloma virüslerine ve insan immün yetmezlik virüsüne (HIV) karşı aktivitenin yanı sıra Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Yersinia enterocolitica*, *Streptococcus pyogenes*, *Listeria innocua*) karşı aktivite gösterdiği de bildirilmiştir (Kumar and Goel 2019). Ayrıca TA, alerji, diyabet, Parkinson, Alzheimer ve kardiyovasküler hastalıklar gibi farklı hastalıkların gelişimine neden olan serbest radikalleri nötralize edebilir (Kim *et al.* 2010).

Bu pleiotropik biyolojik aktiviteler göz önüne alındığında, TA'nın kanser, miyokardiyal enfarktüs ve böbrek yetmezliğine karşı umut verici klinik sonuçlar sağladığı gözlenmiştir (Zhang *et al.* 2009). Nörotoksisite ve nörodejenerasyon üzerine etkileri açısından da TA birçok çalışmanın odağında yer almıştır. Mori ve ark. (Mori *et al.* 2012) transjenik fare modelleri kullanarak TA'nın APP işleme ve nöroinflamasyon üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada altı aylık TA tüketiminin beta sekretaz inhibisyonu aracılığı ile davranışsal bozuklukları engellediği belirtmişlerdir. Ono ve ark. (Ono *et al.* 2004) ise TA'in in vitro ortamda amiloid ̢-peptid (1-40) oluşumu, uzaması ve stabilizasyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Gerzson ve ark. (Gerzson *et al.* 2019) streptozosin (STZ) ile muamele edilen sıçanlarda asetilkolinesteraz, ATPaz ve oksidatif stres parametrelerinin TA ile manipüle edilip öğrenme, davranış ve hafıza bozukluklarının restore edilebileceğini göstermişlerdir. STZ enjeksiyonu ile sporadik AH modeli oluşturulan farklı bir çalışmada ise TA'nın nöral sağkalım ve nöroinflamasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır ve TA'nın nöral ölüm ve nöroinflamasyona karşı koruma sağlayarak hafıza açıklarını önlediği tespit edilmiştir (Gerzson *et al.* 2020). LPS aracılığıyla nöroinflamasyon ve oksidatif stresin indüklendiği mikrogliya hücrelerinde ise TA uygulamasını takiben söz konusu etkilerin geri çevrildiği gözlenmiştir (Wu *et al.* 2019).



Şekil 6. Tanik Asidin kimyasal yapısı (TA) (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).

TA'nın AD'ye karşı nöroprotektif etkileri, AD'nin çeşitli *in vitro* ve *in vivo* modellerinde gösterilmiştir (Braidy *et al.* 2017). Güçlü antioksidan ve anti-enflamatuar rollerinin yanı sıra, kanıtlar TA'nın aynı zamanda A β peptidinin üretilmesinden ve birikmesinden sorumlu birincil enzim olan β -sekretaz (BACE1) aktivitesinin ve protein ekspresyonunun doğal bir inhibitörü olduğunu göstermektedir. TA'nın ayrıca nörotoksik A β fibrillerin *in vitro* olarak dengesini bozduğu bildirilmiştir. A β kaskadın üzerindeki etkilerinin yanı sıra TA, hücre içi NFT'lerin temel bir bileşeni olan tau peptidinin *in vitro* agregasyonunu da inhibe eder (Mori *et al.* 2010).

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Kullanılan alet ve cihazlar

Tablo 1. Kullanılan Laboratuvar Cihazları

Cihaz	Marka / Model
Saf Su Cihazı	Mp MINI pure DestUp
Otoklav	Hirayama Hiclave
PCR Cihazı	SensQuest Labcycler
Elektroforez Tankı	Thermo EC 135-90
Uv Görüntüleme Cihazı	Vilber Lourmat Quantum
Semi-Dry Blotlama Cihazı	BioRad Trans-Blot
Mikrodalga Fırın	Beko MD-1500
Soğutmalı Santrifüj	Hettich Mikro 220R
Otomatik Pipetler	Thermo Scientific
Isı Blokları	Lab-Line Multi-Block
Su Banyosu	Memmert
Magnetik Karıştırıcı	Heidolph MR Hei-Standart
Hassas Terazi	Ohaus Pioneer
Vorteks	Fisons WhirlMixer
Nanodrop	Thermo Scientific/Multiskan GO
PCR Cihazı (Real Time)	Qiagen R111416
Kar Makinesi	Angelantoni
Buz Dolabı (+4°C)	Bosch
Derin Dondurucu (-20°C)	Uğur
Derin Dondurucu (-86°C)	New Brunswick Scientific
pH Metre	Mettler Toledo
Binoküler Mikroskop	Leica
Homojenizatör	Bead Blaster
Güç Kaynağı	Thermo EC135-90
Fusion Fx Görüntüleme Cihazı	VILBER
SDS-PAGE Elektroforez Seti	Bio-Rad

Kullanılan kimyasal malzemeler

Tablo 2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Kimyasal	Marka
Tannic Acid	Carlo Erba
Monosodium Salt Monohydrate	Alfa Aesar
Etanol Absolute	Sigma
Sodium Chloride Powder	Sigma
Potassium Chloride Powder	Sigma
Sodium Phosphate Monobasic Powder	Sigma
Sodium Phosphate Dibasic Powder	Sigma
Potassium Phosphate Monobasic Powder	Sigma
Sodium Carbonate Powder	Sigma
Sodium Hidrokside Powder	Sigma
Sodium Dodecyl Sulfate Powder	Sigma
Hydrochloric Acid	Sigma
Etilendiaminetetraaceticacid Disodium Salt	Sigma
Ammonium Sulfate	Sigma
Potassium Hydroxide	Sigma
Trizma Base	Sigma
Acetic Acid	Sigma
DTT	Thermo
Ksantin	Sigma
2-Thiobarbituric Acid	Sigma
Nitrotetrazolium Blue	Sigma
L-Glutation Reduced	Thermo
Sodyum Sitrat	Sigma
Akrilamid	Sigma
Bisakrilamid	Sigma
Amonyum Persulfat (APS)	Sigma
β -Merkaptoetanol	Sigma
Bovine Serum Albumin (BSA)	Sigma
Bromfenol Mavisi	Sigma
Dithiothreitol (DTT)	Sigma

Tablo 2. devamı

Femto ve Pico Substratları (ECL Reagent)	Bio-Rad
Gliserol	Sigma
Glisin	Sigma
İzopropil Alkol	Sigma
Metanol	Sigma
TEMED	Sigma
NaCl	Sigma
NaOH	Sigma
HCL	Sigma
Sodyum Deoksikolat	Sigma
Protein Marker	Thermo
Proteaz İnhibitörü	Sigma
Tween-20	Sigma
Blotting Filter Paper	Thermo
Skim Milk Powder	Sigma
NaN3 (sodyum azit)	Sigma
GSH	Thermo
Triton X-100	Sigma
CDNB	Sigma
NADPH	Sigma
Glutathione Reductase	Sigma
DTNB	Sigma
dNTP	Sigma
EDTA	Sigma
Commasie Brilliant Blue G-250	Thermo
H ₂ O ₂	Sigma
TBA	Sigma
AChI	Sigma
RNA Isolation Kit	QIAGEN
Agaroz Powder	Sigma
50X TAE	Sigma
Etidyum bromid	Thermo

Tablo 2. devamı

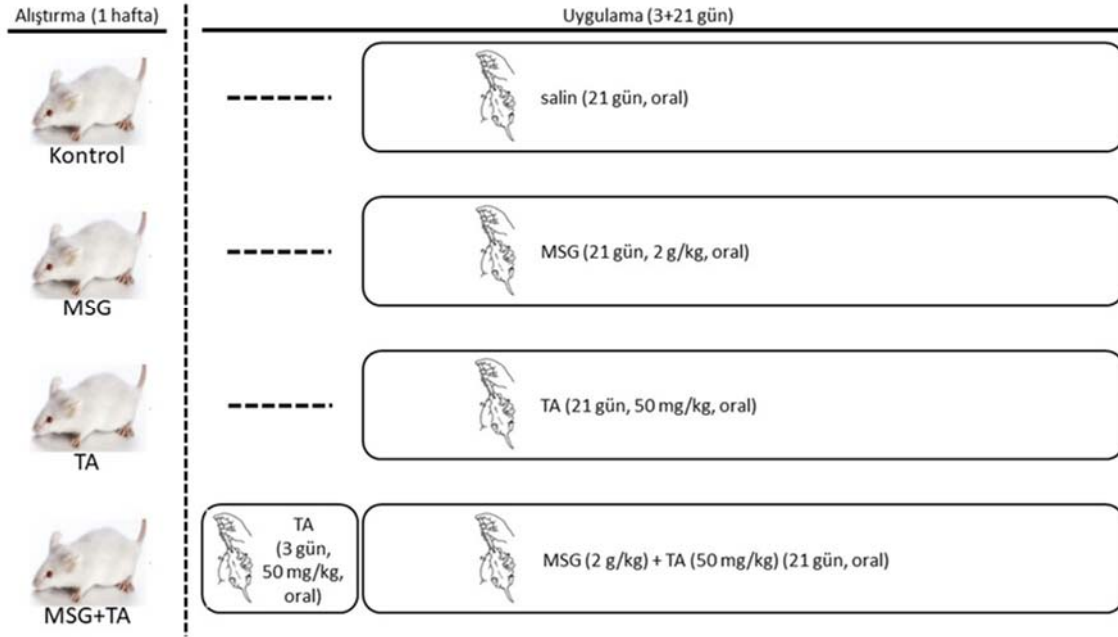
DNA Ladder	Fermentas
DNA Loading	Fermentas
SYBR Green Supermix	Bio-Rad
SNAP25 Polyclonal Antibody	Elabscience
PMCA2 Polyclonal Antibody	Invitrogen
SCN2A Polyclonal Antibody	Invitrogen
PSD93 Polyclonal Antibody	Bioss
GRIN2A Polyclonal Antibody	Elabscience
GRIN2B Polyclonal Antibody	Elabscience
beta actin Polyclonal Antibody	Elabscience
Secondary Antibody, HRP	Bioss
Immun-Blot PVDF Membran	Bio-Rad
iScript cDNA Synthesis Kit	Bio-Rad

Yöntem

Hayvan bakımı ve model oluşturma

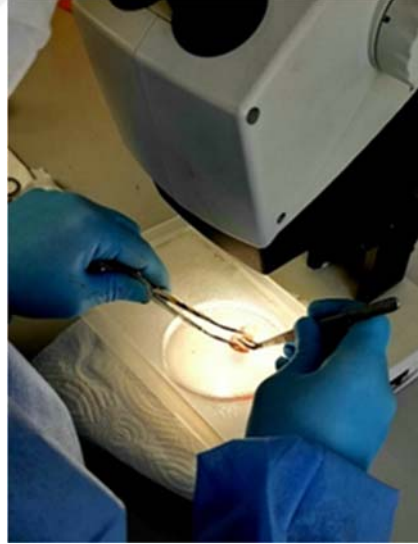
Çalışmada 24 adet Sprague Dawley ırkı sıçan (*Rattus norvegicus*, erkek, 9-10 haftalık, 180±20 g) kullanıldı. Canlıların tamamının bakımı ve deneysel uygulamalar Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AÜHADYEK) tarafından onaylanan Etik Kurul Onay Belgesi (2021-3/63) ile AÜ Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarında gerçekleştirildi. Canlılar deney süresince standart ışık (12 gece – 12 gündüz), nem (40 – 60%) ve oda ısısı şartlarında ızgaralı plastik kafeslerde muhafaza edildi. Canlılara çalışma süresince taze su ve yem erişim imkanı (*ad-libitum*) sağlandı.

MSG ve TA uygulamasında canlılara verilecek madde miktarları MSG konsensusu ve FDA verilerine (Beyreuther et al. 2007; Aministration 2012) ek olarak konu ile ilişkili öne çıkan nörotoksisite çalışmaları (Swammy et al. 2013; Çalış vd 2016; Dief et al. 204) referans alınarak belirlendi. Sıçanlar (n=24) tartıldıktan sonra rastgele Kontrol (n=6), MSG (n=6), TA (n=6) ve MSG+TA (n=6) olacak şekilde 4 farklı gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki canlılara 21 gün boyunca oral gavaj yoluyla salin ile muamele edildi. MSG grubundaki canlılara 21 gün süresince oral gavaj yoluyla günlük hazırlanan MSG (2 g/kg) verildi. TA grubuna 21 gün süresince oral gavaj yoluyla günlük hazırlanan TA 50 mg/kg (Tüzmen et al. 2015) verildi. MSG+TA grubuna ise koruma için öncelikle 3 gün boyunca oral gavaj yoluyla sadece TA (50 mg/kg) ve daha sonra 21 gün süresince oral gavaj yoluyla günlük hazırlanan MSG (2 g/kg) ve TA (50 mg/kg) kombinasyonu uygulandı. Çalışmada takip edilen deneysel protokol Şekil 7’de özetlenmiştir.



Şekil 7. Çalışmada kullanılan canlılara yönelik deneysel uygulama protokolü

Bu süreçler tamamlandıktan 24 saat sonra hayvanların servikal dislokasyon ile ötenazileri gerçekleştirildi. Beyin korteks kısımları binoküler mikroskop kullanılarak soğuk 1X PBS bulunan petri kapları içerisinde ayrıldı (Şekil 8). Canlılardan alınan dokular sıvı azotta taşıyıp, deneysel çalışmalarda kullanılıncaya kadar -86°C'lik soğutucuda muhafaza edildi.



Şekil 8. Korteks dokularının binoküler mikroskop kullanılarak ayrılması

Biyokimyasal analizler

Homojenat hazırlama

Tüm muamele gruplarının 3'er canlısından alınan korteks dokuları (30 mg), içerisinde 1,5 mm boyutunda zirconium beads adı verilen bilyeler ve pH'sı 7,4 olan homojenat tamponu bulunan tüplere alınarak homojenize edildi. Homojenatlar 10000 rpm +4°C'de 30 dk boyunca

santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar, Bradford protein tayini, MDA konsantrasyon ölçümü ve AChE spesifik enzim aktivite tayini için kullanıldı.

Bradford yöntemi ile protein tayini

Hazırlanan homojenatların protein miktarı Bradford (1976) metoduna göre belirlendi. Standart çözeltilerin optik dansiteleri 595 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Ölçülen değerler ile standart eğri grafiği ve denklemi oluşturuldu.

Tablo 3'deki küvet içeriği hazırlandıktan sonra karışım vortekslenerek, 10 dakika karanlıkta inkübe edildi. Her bir karışımın optik dansiteleri 595 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Standart eğri denklemi kullanılarak protein miktarı belirlendi.

Tablo 3. Protein Tayini Küvet İçeriği

Ölçüm	Kör (µl)	Numune (µl)
Numune	-	10
Saf Su	10	-
Bradford reaktifi	200	200

AChE spesifik enzim aktivite tayini

AChE aktivite ölçümü Tablo 4'te miktarları belirtilen çözeltilerle Ellman yöntemi kullanılarak yapıldı (Ellman, 1961). Yöntemin prensibi renk değişiminin 412 nm'de 5 dk ölçülmesine dayanmaktadır.

Tablo 4. AChE Spesifik Enzim Aktivitesi Ölçümü İçin Küvet İçeriği

Bileşenler	Kör (µl)	Numune (µl)
Saf Su	140	130
1M Tris-HCl	20	20
0,5 mM DTNB	10	10
Numune	30	30
10 mM AChI	-	10

Malondialdehit (MDA) tayini

MDA tayini Placer ve ark. (1966) tarafından önerilen yönteme göre yapıldı. Tablo 5'te gösterilen miktarlardaki çözeltiler kullanılarak oluşturulan küvet içeriği 100°C'de 20 dk inkübe edildi ve ardından soğutulup 3.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Üst fazın absorbansı 532 nm'de ölçüldü.

Tablo 5. MDA Düzeyi Ölçümü İçin Kullanılacak Çözelti Miktarları

Ölçüm	Kör (µl)	Numune (µl)
MDA Ölçüm reaktifi	190	190
Numune	-	10
Saf Su	10	-

Moleküler analizler

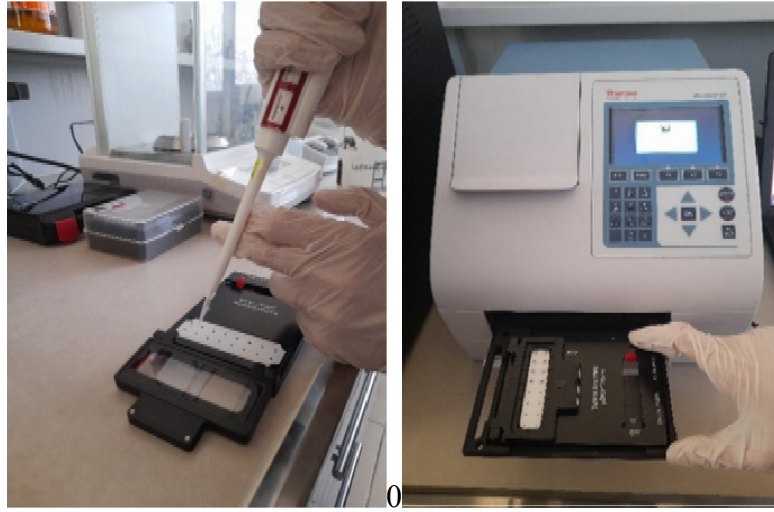
Total RNA izolasyonu

Sıçanların korteks dokularından total RNA izolasyonu için ticari bir kit (RNeasy Mini Kit, Qiagen, Germany) kullanıldı. Tüm aşamalarda üreticinin protokolü takip edildi. Kısaca;

- ✓ Öncelikle çalışılacak tüm dokulardan 30 mg tartılıp ependorflara alındı. Her tüpe 3 mm zirkonium beads ve 600 µl Buffer RLT (lysis) eklendi. Homojenizatörde 4000 rpm’de 45 sn, 3 tekrar homojenizasyon yapıldı.
- ✓ Elde edilen homojenatlar, max hızda (18000 rpm) 3 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden çıkan her bir tüpteki süpernatantların 400 µl’si steril tüplere alındı ve süpernatant miktarı kadar %70’lik etanol eklendi.
- ✓ Süpernatant ve etanol içeren bu tüplerin her birinden 700 µl alınarak kolonlu tüplere eklendi. 10000 rpm’de 15 sn santrifüj edildi. Kolonların altında kalan sıvı atıldı.
- ✓ Kolonların üzerine 700 µl Buffer RWI (wash buffer) eklendi ve 10000 rpm’de 15 sn santrifüj edildi. Kolonların altında kalan sıvı atıldı.
- ✓ Kolonların üzerine 500 µl Buffer RPE eklendi ve 10000 rpm’de 15 sn santrifüj edildi. Kolonların altında kalan sıvı atıldı.
- ✓ Kolonların üzerine 500 µl Buffer RPE eklendi ve 10000 rpm’de 2,5 dakika santrifüj edildi. Kolonlar yeni tüplere alındı.
- ✓ Kolonların üzerine 40 µl RNAase Free Water eklendikten sonra 1 dk süresince 8000 rpm’de santrifüj yapıldı.
- ✓ Kolon altına inen RNA’lardan 15 µl alınarak yürütmede ve konsantrasyon ölçümünde kullanılmak üzere ayrıldı. Kalan RNA’lar -86°C’de stoklandı.

Nanodrop ile saflık kontrolü

RNA’ların konsantrasyonları ve saflık dereceleri (260/280) kantitatif olarak Nanodrop cihazında (Multiskan GO, Thermo Scientific) ölçüldü (Şekil 9).



Şekil 9. Nanodropta RNA konsantrasyon ölçümü.

RNA bütünlüğünün kontrolü

Ayrıca örneklerin saflık dereceleri (28S ve 18S rRNA bant yoğunlukları) ve konsantrasyonları kalitatif olarak da agaroz jel elektroforezi ile belirlendi. RNA jeli hazırlandıktan sonra her RNA'dan 6 µl, yükleme boyasıyla karıştırılarak kuyulara yüklendi. 60 V'da 30 dakika yürütmenin ardından jel görüntüleme cihazına alınarak RNA'lar görüntülendi.

cDNA sentezi

cDNA sentezi, ticari cDNA sentez kiti (iScript cDNA synthesis kit, Bio-Rad) kullanılarak yapıldı. Tüm süreçlerde üretici firmanın önerdiği protokol takip edildi.

Kantitatif gen ekspresyon analizi

Kantitatif Real-Time PCR (qPCR) işleminde kullanılacak primerlerin dizaynı

PCR işlemlerinde kullanılacak primerlerin (Tablo 6) dizaynı ifade ölçümü yapılacak hedef genlere ait özgün primer dizilerinin dizayn işlemi tamamlandı. Bu işlem için hedef genlere ait sekans bilgileri <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> online veri tabanından elde edilmiştir. <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/> online yazılımı kullanılarak söz konusu sekanslara yönelik istenen özelliklere sahip primer dizileri belirlendi. Belirlenen primer dizilerinin bağlanma özgünlükleri <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> modülü kullanılarak doğrulandı.

Tablo 6. qPCR’da Kullanılmak Üzere Dizayn Edilmiş Primer Setlerine Ait Bilgiler

Gen Sembolü	Erişim Numarası	Sekans	Tm (°C)	Ürün boyu (bp)
Ache_F	NM_172009.1	5'-TCTATGGGGGTGGTTTCTACA-3'	59.30	149
Ache_R		5'-GGCTTCTCTGCTTCCTGGT-3'	59.55	
Actb_F	NM_031144.3	5'-TGTGGATTGGTGGCTCTATC-3'	59.78	149
Actb_R		5'-AGAAAGGGTGTAACACGCAG-3'	60.33	
Casp3_F	NM_012922.2	5'-AGGAGCAGTTTTGTGTGTGTG-3'	59.79	140
Casp3_R		5'-AGTTTCGGCTTTCCAGTCAG-3'	59.47	
Casp9_F	NM_031632.1	5'-TGTGGTGGTGAGCAGAAAGA-3'	60.36	104
Casp9_R		5'-TCCTGGTATGGGACAGCATC-3'	59.95	
Dlg2_F	NM_022282.2	5'-ACGAGAGCAGATGATGAACC-3'	59.94	79
Dlg2_R		5'-TGACATACAGGGAGCGTTTCT-3'	59.75	
Foxo1_F	NM_001191846.2	5'-ACCGTATCTGTGTGTGTGTG-3'	59.44	107
Foxo1_R		5'-ACAGCCAAGTCCATCAAGAC-3'	59.83	
Foxo3_F	NM_001106395.1	5'-ACTGAGGAAAGGGGAAATGG-3'	60.39	158
Foxo3_R		5'-TGCTGGGTAGGAAGATGGC-3'	59.69	
Grin2a_F	NM_012573.3	5'-CCAGTTTGTGTTGGTGATGGTG-3'	59.85	74
Grin2a_R		5'-TCTTCTCGTTGTGGCAGATG-3'	59.98	
Grin2b_F	NM_012574.1	5'-AATGGCGGATAAGGATGAGTC-3'	60.30	125
Grin2b_R		5'-AGGTGGTGACGATGGAAAAG-3'	59.97	
Scn2a_F	NM_012647.2	5'-TATCTCCAACCACACGACCA-3'	59.96	96
Scn2a_R		5'-TCTCCACACTGCTGCCTATG-3'	60.01	
Snap25_F	NM_001270575.1	5'-ACACCCAGAATCGCCAGAT-3'	60.49	133
Snap25_R		5'-GAGGAGAGCACAGCAGAAGG-3'	60.28	
Atp2b2_F	NM_012508.5	5'-GGCAGAAGATGAAGGTGAAG-3'	60.20	83
Atp2b2_R		5'-ACGAGGACCACACAGATGAC-3'	59.67	

Kantitatif Real Time PCR işlemi

Bu aşamada *Snap25*, *Grin2A*, *Grin2B*, *Dlg2*, *Atb2b2*, *Scn2a*, *Ache*, *Foxo1*, *Foxo3*, *Casp3*, *Casp9* ait ifade seviyeleri mRNA düzeyinde incelendi. qPCR işlemi Real-Time PCR cihazında (Rotor-Gene 3000, Qiagen, Australia) gerçekleştirildi. Öncelikle her cDNA için 3 tekrerrür olacak şekilde toplam 36 adet tüp isimlendirildi. Her tüpe Tablo 7’de verilen miktarlarda bileşenler eklendi. Amplifikasyon reaksiyonu için ticari qPCR karışımı (SsoAdvanced Uni SYBR Green Supermix, BioRad) kullanıldı.

Tablo 7. qPCR İşlemi İçin Hazırlanan Tüp İçeriği

Bileşen	Hacim µl
SYBR Green Super Mix	5
Primer F	1
Primer R	1
Su	1
cDNA (1/10)	2

Hazırlanan tüm tüpler cihaz rotoruna yerleştirildi ve tüm ayarlar (Tablo 8) yapıldıktan sonra cihaz çalıştırıldı (Şekil 10).



Şekil 10. qPCR rotorları

Tablo 8. qPCR Protokolü

Bileşenler	Sıcaklık(°C)	Süre	Döngü
İnkübasyon	12,5	2 dk	1
Ön Denatürasyon	95	30 sn	1
Denatürasyon	95-98	15 sn	
Yapışma	60	20 sn	35-40
Uzama	60	20 sn	

Normalizasyon için analiz aşamasında referans (housekeeping) olarak β -aktin (*Actn*) kullanıldı.

Western Blot ile protein ekspresyon analizi

Protein homojenatı hazırlama

Bu aşamada SNAP25, GRIN2A, GRIN2B, DLG2, ATB2B2 ve SCN2A'ya ait ifade seviyeleri protein düzeyinde incelendi. Bunun için doku örneklerinden 50'şer gr tartıldı. Tartılan dokuların üzerine zirkonium beads ve tartılan dokunun 5 katı kadar RIPA buffer eklendi ve homojen bir karışım elde edilene kadar homojenizatörde 4260 rpm, 4 dakika parçalama yapıldı. Elde edilen homojenat 10000 rpm 4 °C'de 30 dk santrifüjlendikten sonra süpernatantlar aliküatlara ayrılıp kullanılıncaya kadar -86 °C'de muhafaza edildi.

Konsantrasyon ölçümü ve denatürasyon

Jele yüklenecek olan proteinlerin konsantrasyonları Bradford yöntemi ile ölçüldü. Nanodrop cihazında konsantrasyonları ölçülen proteinler jele yüklenmeden önce Tablo 9'daki karışım denatüre edildi. Örnekler 1X SDS yükleme tamponu ile karıştırıldı ve 95 °C'ye ayarlanan ısı bloğunda 10 dk bekletildikten sonra 10 dk buz üzerinde bekletilerek denatüre olmaları sağlandı.

Tablo 9. Konsantrasyon Ölçüm Sonuçlarına Göre Western Blotta Kullanılacak Örnek-Boya Miktarları (μ l)

	Örnek	SDS Boyası
Kontrol	5,6	10,4
TA	3,6	12,4
MSG	2,7	13,3
TA+MSG	4	12

Örneklerin jele yüklenmesi ve yürütme

Bu aşamada ilk olarak Şekil 11'de verilen değerlere göre ayırma jeli hazırlandı. Hazırlanan jel iki cam plaka arasına döküldükten hemen sonra olası köpürmelerin engellenmesi için jel üzerine izopropanol döküldü ve jelin polimerize olması beklendi.

Jel Yüzdesi	%6	%8	%9	%10	%12
dH ₂ O	7,9	6,9	6,45	5,9	4,9
%30 Akrilamid	3	4	4,5	5	6
1,5M Tris pH 8,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8
%10 SDS	0,15	0,15	0,15	0,015	0,015
%10 APS	0,15	0,15	0,15	0,015	0,015
TEMED	0,012	0,009	0,075	0,006	0,006

Şekil 11. SDS Jel Elektroforezi İçin Kullanılacak Ayırma Jeli Değerleri (ml)

Ayırma jeli polimerize olduktan hemen sonra üzerindeki izopropanol uzaklaştırıldı ve Şekil 12'ye göre yığılma jeli hazırlandı. Yığılma jeli de iki cam plaka arasındaki ayırma jeli üzerine döküldü ve hiç beklemeden proteinlerin yükleneceği kuyuların oluşmasını sağlayacak olan jel tarağı takıldı.

Bileşen	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml
dH ₂ O	0,68	1,4	2,1	2,7	3,4
%30 Akrilamid	0,17	0,33	0,5	0,67	0,83
1,5M Tris pH 8,8	0,13	0,25	0,38	0,5	0,63
%10 SDS	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
%10 APS	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
TEMED	0,001	0,002	0,003	0,004	0,005

Şekil 12. SDS Jel Elektroforezi İçin Kullanılacak Yükleme Jeli Değerleri

Jel kaseti, elektroforez tankına yerleştirildi ve ardından tank yürütme tamponu ile dolduruldu. Ardından jele takılan tarak çıkarıldı ve oluşan kuyulara protein marker ve protein örnekleri yüklendi. Jel tankı güç kaynağına bağlandı ve önce 50 V'da 30 dk, ardından 120 V'da 90 dk yürütme yapıldı (Şekil 13).

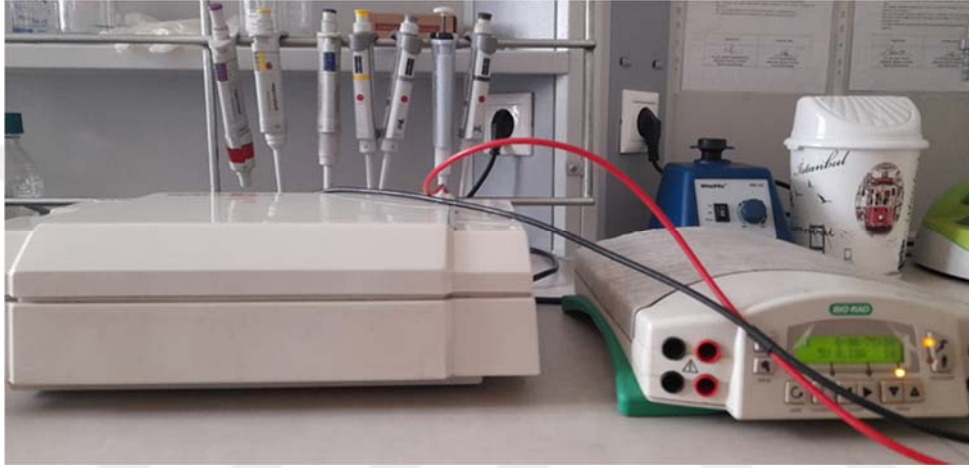


Şekil 13. 120 Volt elektriksel alanda protein örneklerinin yürütülmesi işlemi

Yürütme işlemi sonlandırıldıktan sonra yığma jeli kesildi ve geriye kalan ayırma jeli transfer tamponuna alınarak alınarak 20 dk bekletildi.

Blotlama

Jel boyutunda kesilen PVDF membran 5 dk metanolde ve ardından 10 dk 1X transfer çözeltisi içerisinde inkübe edildi. Blotlama cihazına sırasıyla transfer çözeltisi ile ıslatılan 2 adet blot kağıdı, PVDF membran, jel ve ardından yine transfer çözeltisi ile ıslatılan iki adet blot kağıdı bırakıldı. 75 dk süresince 1 Watt alanda blotlama yapıldı (Şekil 14) jel atıldı ve PVDF membran 10 dk TBST ile yıkandı.



Şekil 14. 1 Watt elektriksel alanda blotlama işlemi

Bloklama

Proteinlerin aktarıldığı PVDF membrana 1 saat oda sıcaklığında bloklama çözeltisi ile (BSA) muamele edildi. 6 defa 5 dk TBST ile yıkanan membran birincil antikorla inkübasyona bırakıldı.

Antikorlarla inkübasyon ve yıkama

Tanımlanacak olan proteinin membrandaki konumu, jele yüklenen protein marker sayesinde belirlendi ve bu kısım kesildi. Proteine özgü birincil antikor, bloklama çözeltisi ile 1/1000 oranında seyreltildi ve membran 4 °C’de 1 gece bu antikor ile inkübasyona bırakıldı.

1 gece birincil antikorla inkübasyonun ardından membran 6 kez 5 dk TBST solüsyonu ile yıkandı. Yıkanan membran 1 saat oda sıcaklığında 1/10000 seyreltilmiş HRP etiketli ikincil antikor ile inkübasyona bırakıldı ve ardından tekrar 6 kez 5 dk TBST solüsyonu ile yıkandı. Antikorum kimyasal ışımaya yapabilmesini sağlamak için Femto/Pico substratları ile muamele edildi. Tüm bu işlemlerin sonunda membranın görüntülenmesi yapıldı. Kemiluminesans ışımaya sinyali CCD (Yükeleşmiş dedektör) görüntüleme cihazı ile tespit edildi. Normalizasyon için analiz aşamasında referans (housekeeping) olarak β -aktin (ACTN) proteini kullanıldı.

İstatistiksel analiz

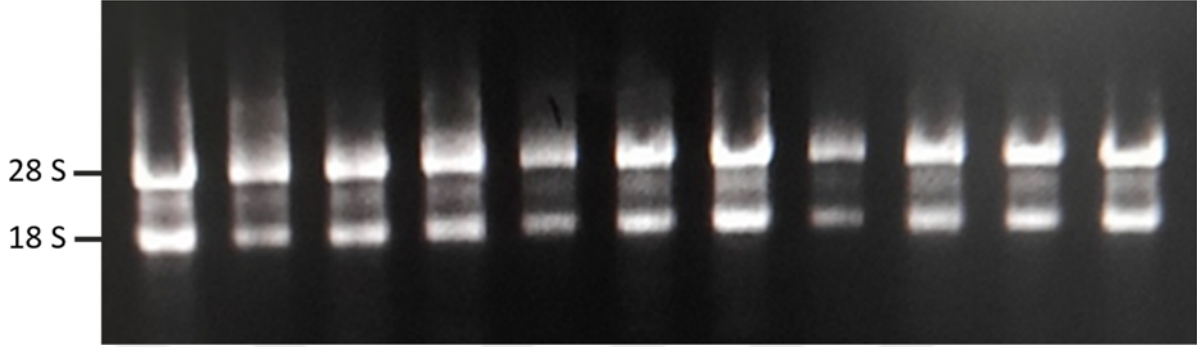
Tüm deneyler 3 tekerrür olacak şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen verilere tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulandı. Veri değerlendirmesi için GraphPad Prism version 5.00 paket programı (GraphPad Software, San Diego, USA) kullanıldı. İstatistiksel önemlilik seviyeleri $p > 0,05$ (ns; önemsiz), $p < 0,05$ (*; önemli), $p < 0,01$ (**; çok önemli), $p < 0,001$ ve $p < 0,001$ (***) ve ****; yüksek derecede önemli) olarak değerlendirildi.



ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

İzole Edilen RNA'ların Kalitatif Tayini

RNA izolasyonunu takiben elde edilen numunelerin agaroz jel elektroforezi ile yürütülmesi sonucu ayırım sonuçları Şekil 15'te gösterilmektedir. Elde edilen bulgular keskin 28S ve 18S rRNA bantlarının varlığını, dolayısı ile bozulmamış total RNA izole edildiğini gösterdi.



Şekil 15. Korteks dokusundan izole edilen total RNA'ların agaroz jel elektroforezi sonuçları

İzole Edilen Rna'ların Kantitatif Tayini

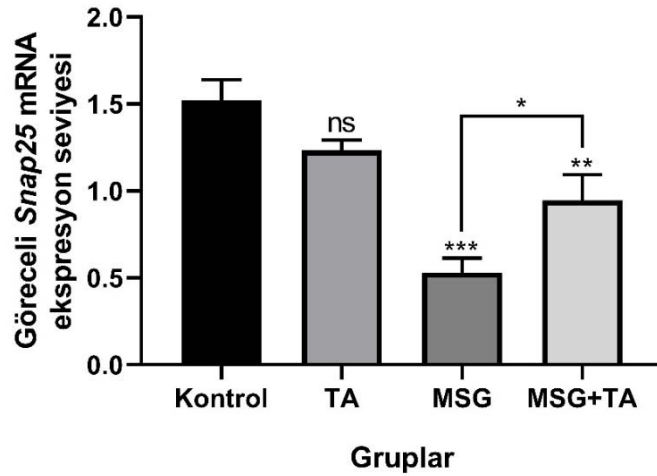
Kontrol ve uygulama gruplarındaki sıçanların korteks dokularından izole edilen RNA örneklerinin Nanodrop cihazı (Thermo Scientific Multiskan Go) ile yapılan konsantrasyon ve saflık derecelerini gösteren kantitatif analiz sonuçları Tablo10'da belirtilmiştir.

Tablo 10. Çalışmada Kullanılan Tüm Grupların Korteks Dokularından İzole Edilen RNA'ların Konsantrasyon ve Saflık Değerleri

Grup	Birey	Konsantrasyon (ng/ μ L)	Saflık (A260/280)
Kontrol	1	805	2,09
	2	417	1,98
	3	526	2,13
MSG	1	318	1,97
	2	394	2,01
	3	297	2,07
TA	1	407	1,95
	2	480	2,11
	3	264	2,02
MSG+TA	1	452	2,04
	2	346	2,10
	3	491	1,91

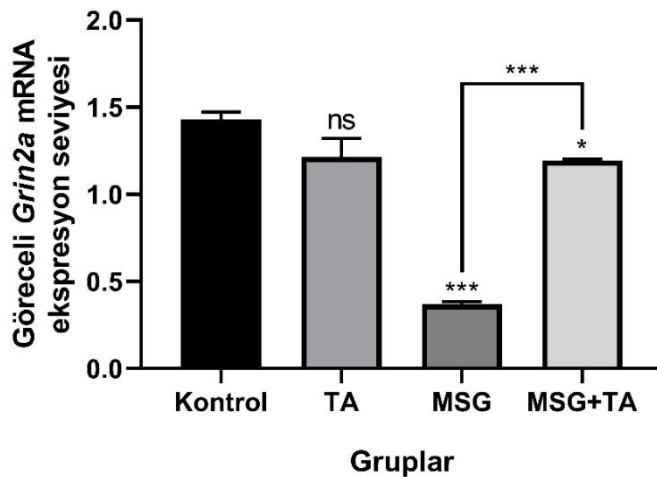
Korteks Dokusunda Kantitatif Gen Ekspresyon Analiz Sonuçları

Elde edilen sonuçlara göre (Şekil 16), kontrol grubuna kıyasla MSG uygulanan grupta *Snap25* geninin göreceli mRNA ekspresyon seviyesinde artış gözlenirken MSG ile kombine TA uygulanmasıyla bu etkinin daha aza indirildiği ve kontrole kıyasla daha önemsiz bir azalma olduğu belirlenmiştir. TA uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir.



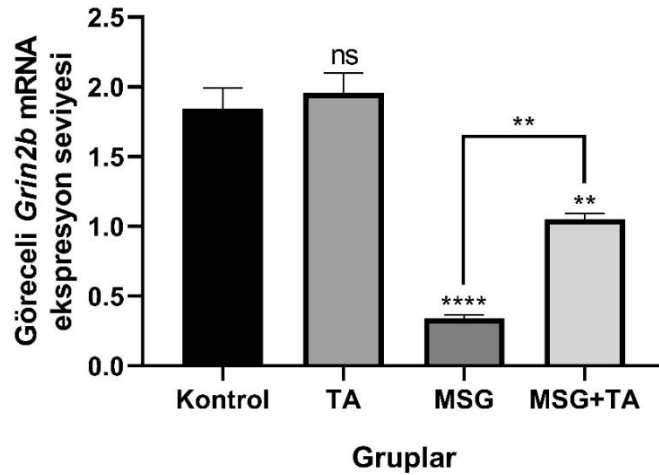
Şekil 16. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki *Snap25* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi

Grafikte anlaşıldığı üzere kontrol grubuna kıyasla MSG uygulanan grupta *Grin2a* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesinde anlamlı bir azalma görülmüştür (Şekil 17). MSG+TA uygulanan grupta ise yalnızca MSG uygulanan gruba kıyasla daha önemsiz bir azalma olduğu, TA'nın MSG'nin bu olumsuz etkisini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. TA uygulanan grupta ise kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik yoktur.



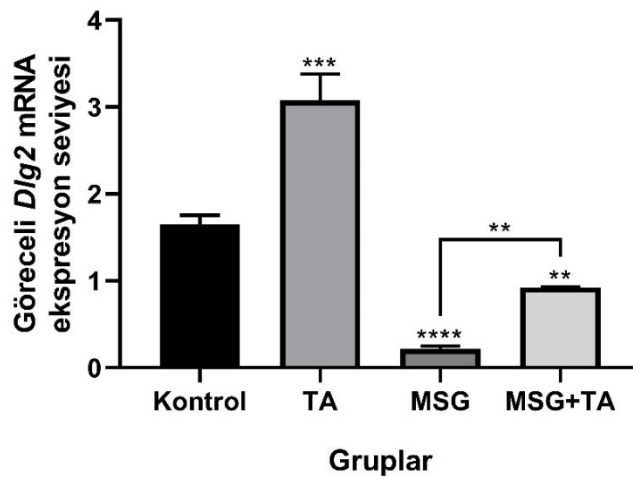
Şekil 17. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki *Grin2a* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi

MSG uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla *Grin2b* geni göreceli ekspresyon seviyesinde önemli ölçüde azalma görülmüş ancak MSG ile kombine TA uygulanan grupta bu etkinin anlamlı derecede tersine çevrildiği anlaşılmıştır (Şekil 18). Yalnızca TA uygulanan grupta *Grin2b* ifadesinde artış gözlenmiştir ancak bu artış anlamlı değildir.



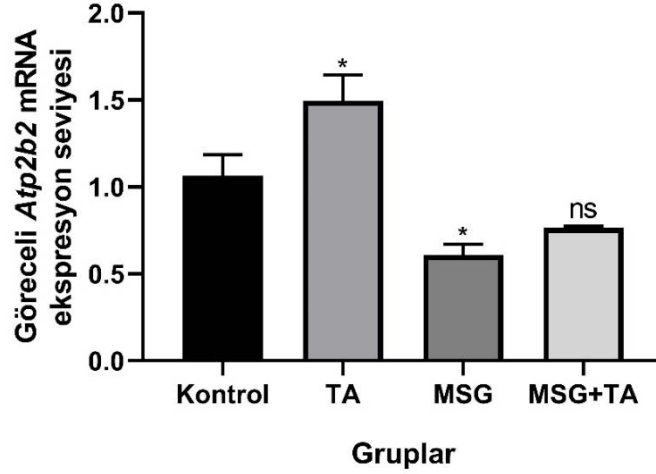
Şekil 18. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki *Grin2B* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi

Dlg2 gen ifadesi analizi sonuçlarına göre, yalnızca TA uygulamasının genin ifadesinde kontrol grubuna kıyasla önemli seviyede bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir. Tek başına MSG uygulanan gruptaki canlıların korteks dokularında *Dlg2* gen ifadesi kontrol grubuna kıyasla önemli bir artış göstermiştir ancak MSG ve TA uygulanan kombine grupta MSG'nin neden olduğu ifade artışı TA ile tolere edilmiş ve *Dlg2* mRNA seviyesi olağan düzeylere indirgenmiştir. (Şekil 19).



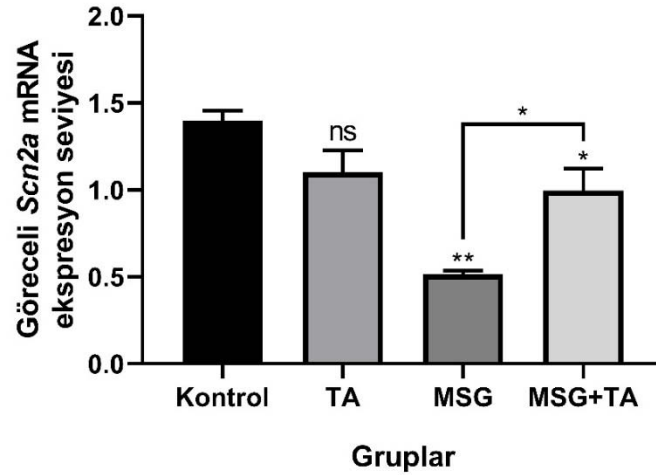
Şekil 19. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki *Dlg2* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi

Atp2b2 gen ifadesi analiz sonuçları tek başına MSG uygulamasının gen ifadesi üzerinde önemli seviyede bir baskılamaya neden olduğu gözlenmiştir (Şekil 20). Tek başına TA uygulamasının ise gen ifadesini arttırdığı görülmüştür. Tek başına MSG maruziyeti sonucu artan gen ifadesinin ise MSG ile kombine TA uygulaması sonucunda önemli derecede arttığı tespit edilmiştir.



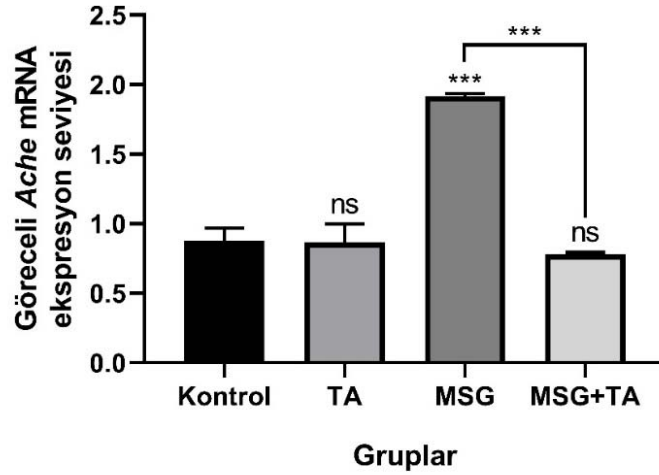
Şekil 20. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki *Atp2b2* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi

MSG'ye maruz bırakılan grupta kontrol grubuna kıyasla *Scn2a* geninin mRNA ekspresyon seviyesinde önemli düzeyde bir azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 21). MSG ile kombine TA uygulanmasının ise bu azalmayı tersine çevirerek gen ifadesini önemli düzeyde arttırmıştır. TA uygulanan grupta ise kontrol grubuna kıyasla transkript miktarında anlamlı bir değişiklik görülmemiştir.



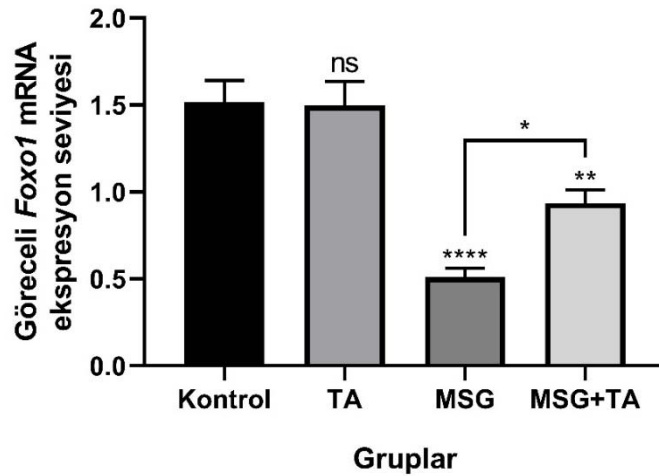
Şekil 21. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki *Scn2a* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi

Ache gen ifadesi analizi sonuçlarına göre (Şekil 22), tek başına TA uygulamasının genin ifadesinde kontrol grubuna kıyasla önemli seviyede bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir. Tek başına MSG uygulanan gruptaki canlıların korteks dokularında ise *Ache* gen ifadesi kontrol grubuna kıyasla dramatik bir şekilde artış göstermiştir. Fakat MSG ile birlikte TA uygulanan kombine grupta MSG'nin tek başına neden olduğu ifade artışı TA ile tolere edilmiş ve *Ache* mRNA seviyesi olağan düzeylere indirgenmiştir.



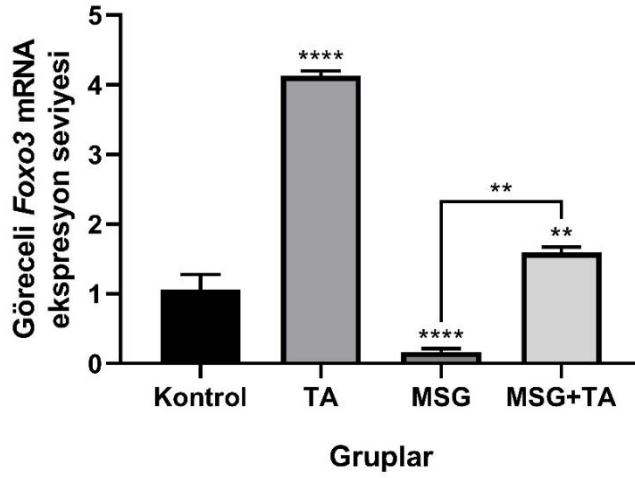
Şekil 22. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki *Ache* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi

MSG uygulaması ile azalan *Foxo1* ifadesi, MSG ile kombine olarak TA uygulanmasıyla tersine çevrilmiş ve kontrol seviyesine yaklaşmıştır (Şekil 23). Tek başına TA uygulamasının ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı gözlenmiştir.



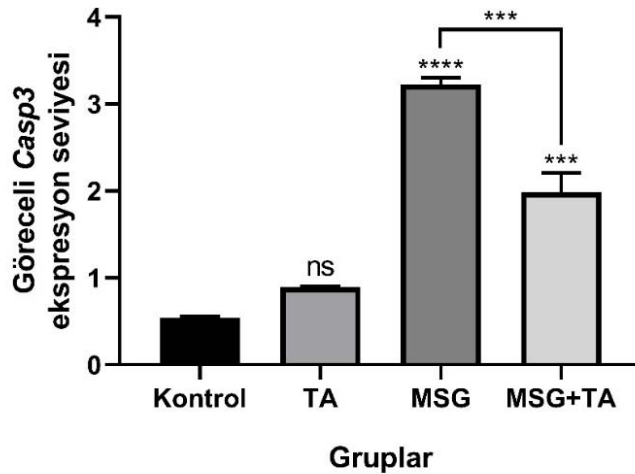
Şekil 23. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki *Foxo1* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi

Foxo3 ifadesi MSG uygulanması ile kontrole kıyasla anlamlı derecede artmıştır. MSG ile kombine olarak TA uygulanması ise bu farkı önemli ölçüde azaltmış ve kontrole yaklaştırmıştır (Şekil 24).



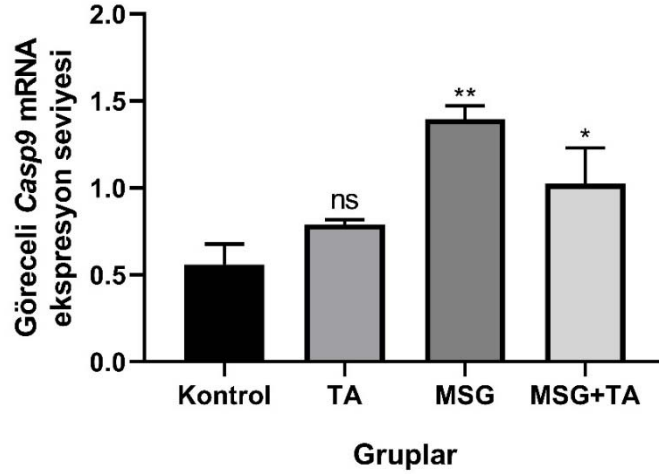
Şekil 24. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki *Foxo3* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi

Kontrol grubuna kıyasla MSG uygulanan grupta *Casp3* geninin göreceli mRNA ekspresyon seviyesinde anlamlı bir artış olduğu ancak MSG ile birlikte TA uygulanmasının bu artışın seviyesini önemli ölçüde azalttığı anlaşılmaktadır (Şekil 25). Yalnızca TA uygulanan grupta kontrole kıyasla *Casp3* geni mRNA seviyesinde artış görülmektedir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir.



Şekil 25. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki *Casp3* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi

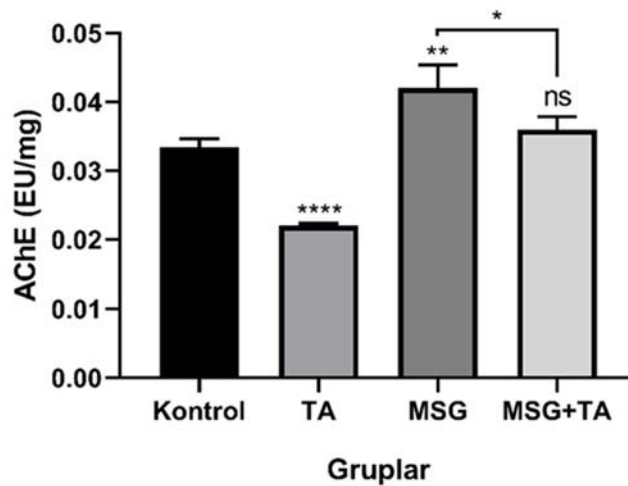
MSG uygulanan grup kontrol grubu ile kıyaslandığında *Casp9* geni mRNA ekspresyon seviyesinde artış olduğu görülmüştür. TA uygulanan grupta anlamlı bir artış görülmezken MSG ile kombine halde TA uygulanmasının yalnızca MSG uygulanan gruba göre *Casp9* geni mRNA seviyesini daha aza indirdiği görülmektedir (Şekil 26).



Şekil 26. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki *Casp9* geni göreceli mRNA ekspresyon seviyesi

AChE Spesifik Enzim Aktivite Sonucu

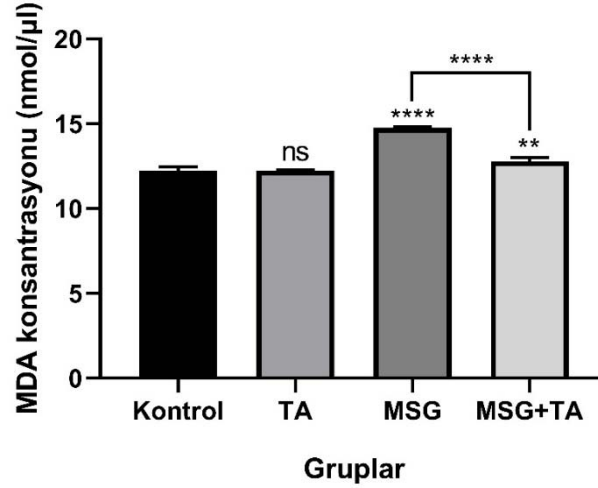
Gruplar arası AChE değerleri ortalamaları arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur. MSG grubu AChE değerleri ortalamalarında kontrol grubuna kıyasla önemli derecede artış görülmüştür. MSG+TA grubuna ait AChE değerleri ise MSG grubu ile kıyaslandığında MSG ile birlikte TA uygulanmasının AChE seviyesini kontrole yaklaştırdığı Şekil 27’de görülmektedir.



Şekil 27. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki Asetilkolinesteraz (AChE) spesifik enzimi aktivite ölçüm sonuçları

Korteks Lipid Peroksidasyon Seviyeleri

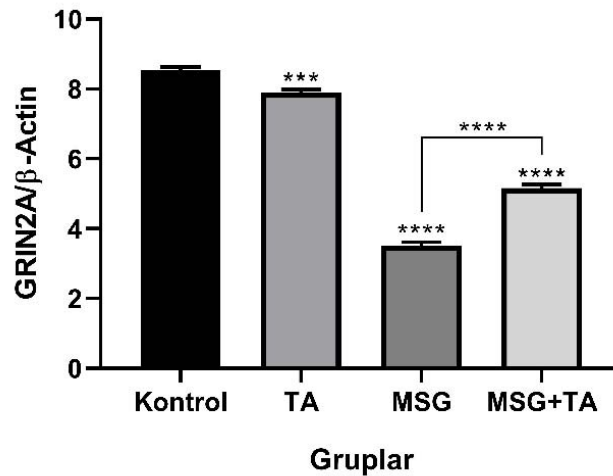
MSG grubunun MDA değerleri kontrol grubuna göre önemli derecede yüksektir. TA grubunun MDA değerleri ortalaması kontrole kıyasla anlamlı bir fark oluşturmazken MSG ile kombine halde TA uygulaması MDA değerini, yalnızca MSG grubuna kıyasla anlamlı derecede kontrole yaklaştırmıştır (şekil 28).



şekil 28. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki Malondialdehit (MDA) tayini sonuçları

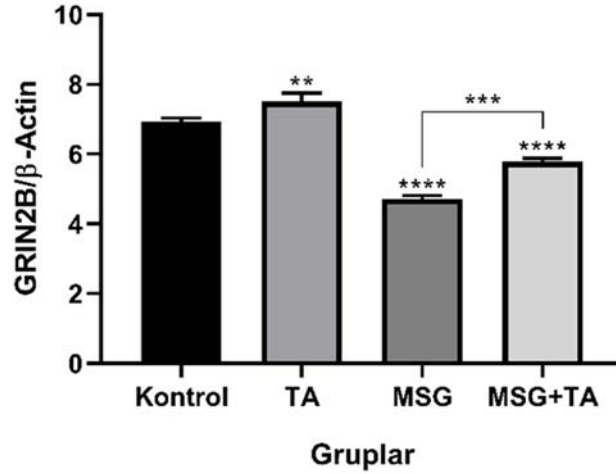
Protein Ekspresyon Sonuçları

MSG uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla GRIN2A seviyesinde önemli ölçüde azalma görülmüş ancak MSG ile kombine TA uygulanan grupta bu etkinin anlamlı derecede tersine çevrildiği anlaşılmıştır (şekil 29). Yalnızca TA uygulanan grupta GRIN2A ifadesinde artış gözlenmiştir ancak bu artış anlamlı değildir.



şekil 29. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki GRIN2A protein ekspresyon seviyesi

Grafikte anlaşıldığı üzere kontrol grubuna kıyasla MSG uygulanan grupta GRIN2B seviyesinde anlamlı bir azalma görülmüştür (Şekil 30). MSG+TA uygulanan grupta ise yalnızca MSG uygulanan gruba kıyasla daha önemsiz bir azalma olduğu, TA'nın MSG'nin bu olumsuz etkisini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. TA uygulanan grupta ise kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik yoktur.



Şekil 30. Kontrol, TA, MSG ve TA+MSG uygulanan gruplarda sıçan sağ korteks dokularındaki GRIN2B pritein ekspresyon seviyesi

Bu çalışmada, günümüzde yaygın olarak kullanılan bir gıda katkı maddesi olan monosodyum glutamatın (MSG) sinaptik makina bileşenlerinin yanı sıra hücresel fizyolojinin sağlıklı bir şekilde sürdürülmesine aracılık eden faktörlerin regülasyonlarındaki alterasyonlar sıçan modellerinden elde edilen beyin korteks dokularında moleküler düzeyde gen ve protein seviyesinde araştırılmıştır. Ek olarak, bitkisel bir polifenol olan tannik asitin (TA) söz konusu bileşenler üzerinden sağlayabileceği nöroprotektif potansiyeli de yine gen ve protein düzeyinde incelenmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, MSG tüketiminin oksidatif hasar belirteci olan MDA'nın miktarını, AChE transkript miktarı ile enzim aktivitesini ve programlanmış hücre ölümünde rol alan *Casp3* ve *Casp9* genlerinin mRNA ifade miktarlarını önemli seviyede arttırdığını göstermiştir. Ek olarak MSG maruziyetinin sinaps fizyolojisi ve sinaptik aktivitelerin sürdürülmesine katkı sağlayan faktörlerden SNAP25, GRIN2A, GRIN2B, DLG2, ATP2B2 ve SCN2A'nın mRNA ve protein ifadelerini baskıladığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, MSG ile kombine bir şekilde uygulanan TA'nın yukarıda özetlenen bulguları tamamiyle tersine çevirerek korteks dokusunda koruyucu bir fonksiyona sahip olduğunu göstermiştir.

Kronik ve ilerleyici bir doğaya sahip olan Alzheimer Hastalığı (AH) demansın en yaygın formu olup biyolojik yaşlanmanın da katkısıyla bilişsel yetenekleri ciddi bir şekilde etkilemektedir (DeTure and Dickson, 2019). Yaşlanmanın yanı sıra sigara kullanımı, yetersiz fiziksel aktivite, aşırı kilo ve alkol kullanımı gibi gündelik kişisel yaşam alışkanlıkları AH için önde gelen risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (Brinkley *et al.* 2022). 2019 yılının Mayıs ayında yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Demans ve Halk Sağlığı Küresel Eylem Planı klavuzunda özellikle beslenme faktörü üzerinden AH'nin yıkıcı etkilerinden korunulabileceği vurgulanmaktadır (Cahill, 2020).

Yaşam boyu maruz kalınan yegane çevresel faktör olduğu göz önünde bulundurulduğunda diyetin ve dolayısı beslenme alışkanlıklarının birçok sağlık sorununun kaynağı ve/veya çözümü olabileceği hipotezi güç kazanmaktadır. Yapılan farklı *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar da bu hipotezi doğrular niteliktedir. Akdeniz Diyeti gibi sağlıklı besin bileşenlerini içeren, ancak yağ, tuz ve alkol gibi bileşenlerin neredeyse hiç olmadığı diyet tiplerinin ise bilişsel gerileme ve AH için daha düşük risk oluşturduğunu göstermektedir (Van den Brink *et al.* 2019). Bunun tam aksine kemirgenler, primatlar ve insanlarla yapılan çalışmalar ise rafine ve/veya işlenmiş gıda tüketiminin öğrenme ve hafıza bozukluklarına yol açtığını göstermektedir (Shively *et al.* 2019; Gentreau *et al.* 2020). Dolayısı ile literatürde yer alan bilgiler ışığında AH başta olmak üzere farklı demans tiplerinde görülen ve bilişsel gerilemeyi tetikleyen nörodejenarasyona neden olan patolojilerin diyet gibi modifiye edilebilir bir risk faktörü ile yavaşlatılarak olabildiğince geciktirilebileceği görülmektedir.

Nörodejenarasyona ve nöronal hasara yol açabilen glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılması süreci eksitotoksiste olarak tanımlanmaktadır. Glutamat ise memeli merkezi sinir sisteminde hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerde önemli bir rol oynayan uyarıcı (eksitator) nörotransmitterdir (Dong *et al.* 2009). Bu yüzden eksitotoksisteyi önleyebilmek için hücre dışı sıvıdaki glutamat seviyelerinin hassas bir şekilde kontrol edilmesi gerekmektedir. Aksi durumda ise glutamat aracılı eksitotoksiste ve oksidatif hasar hem apoptotik hem de nekrotik mekanizmaların tetiklenmesine yol açabilmektedir (Onaolapo *et al.* 2016). Bu nedenlerle eksitotoksik hücre ölümüne katkıda bulunan anahtar sinyal olaylarının tanımlanması, sadece nöronal hücrelerin nasıl öldüğünün moleküler temeli hakkında bilgi sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda nörodejenaratif bozukluklarda eksitotoksik sinyal yollarını hedefleyen terapötik müdahaleler için potansiyel yaklaşımların geliştirilmesine de katkı sağlayacaktır. Özellikle paketlenmiş ve işlenmiş gıdalarda bulunan MSG, glutamik asidin sodyum tuzudur. Her ne kadar FDA tarafından güvenli bir madde olduğu belirtilse de yapılan çalışmalar MSG'nin farklı doku toksisitelerine yol açabildiğini göstermektedir. *In vivo* deneysel modeller ile yapılan çalışmalar

MSG'ye bağı hepatik ve renal fonksiyon bozukluğu (Onaolapo *et al.* 2016), metabolik sendrom (Insawang *et al.* 2012), testis dokusunda oksidatif strese bağı hasar (Hamza and Diab, 2020), kalp dokusunda fonksiyonel ve yapısal değişiklikler (Hazzaa *et al.* 2020) ve kardiyotoksosite (Singh and Pushpa, 2005) gibi komplikasyonlara neden olduğu kanıtlanmıştır.

Diğer organ ve dokuların yanı sıra MSG'nin sinir sistemi üzerinde olumsuz etkiye sahip olduğu, nörotoksisitenin ötesinde sinir sistemi bileşenlerinin MSG tarafından fazla uyarılması-
nın Alzheimer hastalarını dış uyarılara karşı aşırı duyarlı hale getirerek kümülatif ve hastalık patolojisini negatif anlamda besleyen bir döngüye neden olabileği de belirtilmektedir. Calis vd (Calis vd 2016) tarafından yapılan çalışmada kısa süreli MSG maruziyetinin beyin dokusundaki MDA seviyesini önemli oranda arttırdığı gözlenmiştir. Beas-Zárate vd (Beas-Zarate *et al.* 2002) tarafından sıçanlarla yapılan farklı bir çalışma ise MSG'nin nöron ölümünün yanı sıra hayatta kalan nöronlarda sito-yapısal değişikliklerin meydana geldiği bildirilmiştir. Sıçan modelleri ile yapılan farklı bir çalışmada ise MSG diyet uygulamasının serebral korteks nöronlarında ve astrositlerde dejeneratif değişikliklere yol açan nörotoksisiteye yol açtığı gösterilmiştir (Hashem *et al.* 2012). Son olarak MSG'nin davranışsal bozukluklar ile ilişkisi yine hayvan modelleri ile yapılan bir çalışma ile kanıtlanmıştır (Swamy *et al.* 2013). Elde edilen tüm bu bilgiler MSG'nin aslında düşünöldüğü kadar masum bir madde olmadığını, çoklu organ ve doku anomalilerine yol açabileceğini göstermektedir.

Her ne kadar amiloid plak toksisitesi üzerinden gerçekteşen patolojiler mevcut tedavi yaklaşımlarının odağında yer alsa da Alzheimer patogenezi etkileyebilecek mekanizmalar ve diğer temel moleküler sürücüler günümüzde hala belirsizliğini korumaktadır (Tuerxun *et al.* 2021). Polijenik bir doğaya sahip olduğu da düşünöldüğünde etkin tedavi yaklaşımlarına alternatif hedefler sunulması hastalıkla mücadele potansiyelini arttırabilecektir. AH patofizyolojisinde gözlemlenen karmaşıklık göz önüne alındığında, bütünleştirici biyoinformatiğe dayalı analizler kullanılarak AH'da ifadesi benzer şekilde aşırı alterasyona uğrayan miRNA'ların ve/veya mRNA'ların tanımlanması, terapötik müdahale için özel mekanizmaları ve moleküler sürücülerini ortaya çıkarmak adına oldukça kullanışlı ve kabul gören bir yaklaşım olarak kabul görmeye başlamıştır (Qin *et al.* 2021).

Bu şekilde *in silico* ve/veya hesaplamalı yaklaşımlarla tespit edilebilen odak genler ve bu genlerin dahil olduğu mekanizmaların tespiti insan beyninde meydana gelen olaylar örgüsünü daha iyi anlayarak nörodejeneratif hastalıklara ilişkin etkin öngörüler sağlayabilecektir. Bu kapsamda yapılan bir çalışma da AH tanısı alan hastalardan temin edilen dokularla yapılan mikroarray sonuçlar değerlendirilerek ifadesi önemli ölçüde değişkenlik gösteren miRNA'lar

tarafından regüle edilen merkezi (hub) mRNA'lar tanımlanmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgular SNAP25, GRIN2A, GRIN2B, DLG2, ATP2B2, ve SCN2A'nın postsinaptik mekanizma, nörotransmisyon ve nöronal yaşam gibi önemli süreçlerde rol alan faktörler olduğunu göstermiştir (Ceylan, 2022). Bu çalışmadan yola çıkarak, mevcut çalışmada sinaps fizyolojisinin ve sinaptik aktivitelerin de hastalık modifikasyonu için önemli bir son nokta olabileceği hipotezini desteklemek adına MSG uygulanan sıçanların beyin korteks dokularında söz konusu faktörlerin regülasyonları incelenmiştir. Nörotoksisite ve nörodejenerasyon üzerine olumlu etkileri açısından TA birçok çalışmanın odağında yer almaktadır. Bununla birlikte, bugüne kadar TA'nın MSG nörotoksisitesine karşı sinaptik mekanizma bileşenleri üzerinden sağlayabileceği nöroprotektif etkileri değerlendirilmemiştir. Yine mevcut çalışmada TA'nın bu parametreler özelinden sağlayacağı koruyucu potansiyeli de araştırılmıştır.

AD'de sinaptik kayba neden olan patolojik alterasyonların temelinde yer alan presinaptik terminaller kritik nöral hücre fonksiyonlarının yönetildiği önemli bölgelerdir (Overk and Masliah, 2014). Bu yüzden AH'da birden çok terminal proteinin etkilenecek farklı beyin bölgelerinde yaygın sinaptik patolojiye yol açtığı bildirilmiştir (Zhou and Liu, 2015). İnsanlarda *SNAP25* geni tarafından kodlanan sinaptozomla ilişkili protein 25 kDa, memeli sinir sisteminde farklı şekillerde ifade edilebilen membran-ilişkili bir protein olup sinaptik iletimde rol alan önemli faktörlerin arasında yer almaktadır (Irfan et al. 2019). Sinaptik veziküllerin ekzositozunda rol alan SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptors) kompleksinin bir bileşeni olan SNAP25 sinaps boyunca aksiyon potansiyellerinin sağlıklı bir şekilde yayılmasını ve nörotransmitterlerin verimli bir şekilde salınmasına aracılık etmektedir (Mohrmann et al. 2010). Ekzositoz mekanizmasını yöneten SNAP25, nöronal hayatta kalmayı sağlayarak SNARE kompleksi üzerinden öğrenme ve hafıza oluşumu gibi beynin bir bütün olarak normal işleyiş süreçlerinde yer alabilmektedir. Söz konusu faktör ile ilgili birçok farklı çalışmada AH tanısı konmuş hastaların oksipital, temporal ve frontal korteks gibi farklı beyin bölgelerinde ifadesinin önemli ölçüde azaldığını ve nörotransmisyonun etkin bir şekilde sağlanamadığı kaydedilmiştir (Pozzi *et al.* 2019; Guerini *et al.* 2014). Farklı çalışmalar ise nörotransmisyon etkinliği için SNAP25'in optimal seviyede ifade edilmesi gerektiğini, aksi durumlarda AH dahil olmak üzere bir dizi nörolojik bozukluğun meydana geldiğini veya anomalilere eşlik edebildiğini göstermektedir (Noor and Zahid, 2017). Bu bilgiler ışığında mevcut çalışmada yalnız MSG ile beslenen sıçanların korteks dokularında *Snap25* ekspresyonunun kontrol grubu canlılarına göre önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 14). Yalnız TA uygulanan canlılarda ise göreceli *Snap25* miktarı azalsa da bu azalma istatistiki olarak önemsiz seviyede kalmıştır. MSG ile birlikte TA uygulanan gruptaki canlılarda ise tek başına MSG uygulanan canlılara göre *Snap25* transkript miktarının önemli ölçüde artış gösterdiği gözlenmiştir.

Bu bulgular MSG maruziyeti ile *Snap25* seviyesi üzerinden bozulan sinaptik iletimin TA ile birlikte azaltılabileceğini kanıtlamaktadır.

AD semptomlarında rol oynayan ana reseptörlerden birisi olarak kabul edilen NMDA (N-methyl-D-aspartate) reseptör sinyalizasyonu yetersiz veya aşırı sinaptik uyarımı ile nöronal hücre sağkalımını tehlikeye atıp nörotoksisite kaskadını tetikleyebilmektedir. Bu nedenle söz konusu sinyalizasyonda rol alan faktörlerin sıkı bir şekilde düzenlenmesi gerekmektedir (Wang and Reddy, 2017). Fonksiyonel NMDA reseptörlerinin temel alt birimleri olan GRIN2A (glutamat iyonotropik reseptör NMDA tipi alt birim 2A) ve GRIN2B (glutamat iyonotropik reseptör NMDA tipi alt birim 2B) çoğunlukla AH'den etkilenen odak beyin bölgelerinde yer alan ana NMDA reseptörleridir (Luo *et al.* 2011). Yapılan çalışmalar neticesinde AH'li beyinlerde ifadeleri azalan *Grin2a* ve *Grin2b* genleri tarafından kodlanan bu proteinlerin öğrenme, hafıza bozukluğu ve sinaptik plastisite gibi süreçlere doğrudan dahil oldukları bilinmektedir (Clayton *et al.* 2002; Hu *et al.* 2009). İncelenen diğer bir faktör olan DLG2 (Discs Large MAGUK Scaffold Protein 2) ise NMDA reseptör kompleksi oluşumu için mutlak gerekli olan ve postsnaptik bölgede yer alan membran ilişkili proteindir (Frank *et al.* 2016). Yapılan araştırmalar GRIN2A ile etkileşen DLG2'nin sinaps disfonksiyonunda birlikte rol oynadıklarını ve AH transkriptom ve proteom ağında aşağı yönlü regüle edildiğini bildirmişlerdir (Hallock and Thomas, 2012). Yu vd. (Yu *et al.* 2017) tarafından fareler üzerinde yapılan çalışmada artan DLG2'nin hafıza anomalilerini ve A β seviyelerini azalttığı kanıtlanmıştır. Bu bulgular DLG2 seviyesinin AH açısından oldukça kritik olduğunu ve dolayısı ile DLG2 modülasyonunun AH için alternatif terapilerin önemli bir parçası olabilecek potansiyelde olduğunu göstermektedir. Yapılan tez çalışması kapsamında, tek başına TA uygulamasının sıçanların korteks dokularında hem *Grin2a* hem de *Grin2b* mRNA seviyelerini önemli oranda etkilemediği görülürken, sadece MSG'ye maruz bırakılan canlılarda hem *Grin2a* hem de *Grin2b*'nin mRNA düzeylerinin önemli oranda azaldığı gözlenmiştir. Kombine uygulamanın ise azalan transkript miktarlarını yeniden yükselttiği gözlenmiştir (Şekil 15 ve Şekil 16). Benzer durum söz konusu iki faktörün protein ifadesinde de ortaya çıkmıştır. Elde edilen western blot sonuçları GRIN2A ve GRIN2B protein ifadelerinin mRNA'ları ile korelasyon içerisinde olduğunu göstermiştir (Şekil 27 ve Şekil 28). İlişkili faktör olan DLG2'nin mRNA seviyesi de yine TA uygulaması sonucunda olumlu etkilendirken MSG maruziyeti ile önemli oranda azalış göstermiştir. MSG ile birlikte TA uygulanan grup üyelerinde ise bu azalışın tersine çevrilerek nispi *Dlg2* mRNA miktarının arttığı sonucu elde edilmiştir (Şekil 17). Elde edilen bu bulgular reseptör sinyalizasyonunun ve sinaptik plastisitenin MSG maruziyeti ile bozulabileceğini, diyetle TA eklendiği zamanda ise yeniden olumlu yönde regüle edilebileceğini kanıtlamaktadır.

Birçok çalışma, hücre içi Ca^{2+} seviyelerinin ve Ca^{2+} sinyal yollarındaki anomalilerin nöral sağkalım, sinaps oluşumu, stabilizasyonu ve iyileştirilmesinde önemli rol oynadığını göstermektedir (Stafford *et al.* 2017). ATP2B2 (plazma zarı kalsiyum taşıyan ATPaz 2), hücrelerden iki değerlikli iyonların uzaklaştırılmasına yardımcı olarak hücre içi kalsiyum homeostazının düzenlenmesinde ve sürdürülmesini sağlayan bir proteindir (Fakira and Elkabes, 2010). ATP2B2 ifadesi bastırılan deneysel modellerle yapılan çalışmalar yetersiz kalsiyum akışı nedeniyle nöral hücrelerin savunma kapasitesinin azaldığını ve hücre canlılığının önemli ölçüde azaldığını kanıtlanmıştır (Brendel *et al.* 2014). Dahası, merkezi sinir sisteminde kritik kısımlarda lokalize olan ATP2B2'nin çoğunlukla nöronlarda bulunduğu ve beyin sinaptik membranlarındaki fonksiyonunun biyolojik yaşlanmaya ek olarak AH'li beyin örneklerinde sağlıklı kontrollere kıyasla miktarının oldukça düşük olduğu gözlenmiştir (Kong *et al.* 2015). Geçmiş çalışmalardan elde edilen tüm bu bulgular ATP2B2 seviyesinin korunmasının sinaps sağlığının korunmasının yanı sıra AH riskinin azaltılması açısından oldukça kritik olduğunu göstermektedir. Mevcut çalışma bulguları nöron fizyolojisinin sağlıklı bir şekilde sürdürülmesinde bahsedilen fonksiyonlarda rol alan *Atp2b2*'nin korteks dokusundaki miktarının MSG maruziyeti sonrasında kontrol grubunda yer alan canlıların korteks dokularına kıyasla önemli ölçüde azaldığını göstermektedir. Fakat TA'nın söz konusu aşağı yönlü regülasyonu tersine çevirerek mRNA ifadesini olağan seviyelere yaklaştırdığı görülmüştür (Şekil 18). Farklı çalışmalar kalsiyumun sinaptik plastisite ve apoptoz dahil olmak üzere birçok farklı süreçleri de modüle ettiğini ve buna bağlı olarak AH'den etkilenen beyin bölgelerinde kalsiyum iyon dengesi ile ilişkili sinyalleşmenin düzensizleştiğini göstermiştir (LaFerla, 2002). Bozulan kalsiyum dengesinin sonuçlarını doğrulamak için mRNA seviyelerindeki alterasyonları qPCR ile ölçülen apoptotik genlerin (*Casp3* ve *Casp9*) ifadelerinin MSG grubunda önemli seviye artış gösterdiği gözlenmiştir. MSG ile birlikte uygulanan TA'nın ise söz konusu genlerin ifadesini baskılayabildiği sonucu elde edilmiştir (Şekil 23 ve Şekil 24). Bu sonuçlar MSG'nin kalsiyum metabolizmasını bozarak, sinaps işleyişini bozarak hatta hücre canlılığını sonlandıracak mekanizmaları tetikleyerek AH gelişimine neden olabileceğini ve TA'nın ilgili MSG ile bozulan hemostazın yeniden sağlanabileceğini düşündürmektedir.

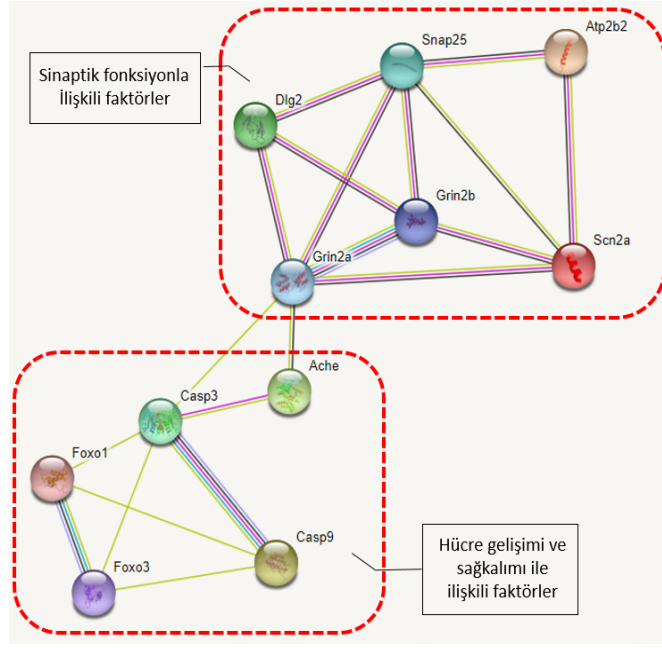
Sinaps oluşumunda rol alan en önemli bileşen şüphesiz elektriksel aktivitedir (Plannels-Cases *et al.* 2000). Sinaptik terminalden nöronal sinyallemeyi tetiklemek için nörotransmitterlerin salınmasını sağlayan aksiyon potansiyellerinin oluşmasında ve yayılmasında rol alan temel aktörlerin voltaj kapılı sodyum kanalları (NaChs) olduğu bilinmektedir (de Lera Ruiz and Kraus, 2015). SCN2A (sodyum voltaj kapılı kanal alfa alt birimi 2), merkezi sinir sistemi fonksiyonunun sürdürülmesinde ve fonksiyonel kanalların ekspresyonunun düzenlenmesinde görev alan ve doğum sonrası en bol bulunan NaCh α alt birimidir (Israel *et al.* 2017). Ek olarak

SCN2A'nın ideal sinaptik oluşum ve sinaptik gelişim için uyarılabilirliğe de katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Kruth *et al.* 2020). Bu amaçla nakavt fare modelleri ile yapılan alışmalar *Scn2a* kaybının nöronal uyarılabilirliği, sinaptik işlevi ve voltaj kapılı sodyum kanallarının aracılık ettiği akımları bozduğunu ve büyük oranda nöronal apoptoza yol açtığını göstermiştir (Pannels-Cases *et al.* 2000; Spratt *et al.* 2019). SCN2A hakkında elde edilen bu bulgular AH patogenezinde beta amiloid ve tau hipotezlerinin dışında kalan postsinaptik mekanizma, nörotransmisyon ve nöronal yaşam gibi önemli biyolojik süreçlerde yer alan faktörlerin *in vivo* modülasyonunun AD gelişimi riskini azaltmaya yardımcı olabileceği hipotezini desteklemektedir. Yukarıda değinilen literatür bilgileri MSG aracılı *Scn2a* ifadesinde meydana gelen azalmanın nörotransmitter trafiğini ve sinir hücrelerindeki elektriksel aktiviteyi olumsuz etkileyeceği öngörüsünü desteklemektedir (şekil 19). TA ile ilgili genin ifadesinde artış meydana gelmesi ise TA'nın bu sinyalizasyon modlatrleri üzerinde nöroprotektif etki gösterdiği fikrini güçlendirilmektedir.

Merkezi sinir sisteminde yer alan nöronlar arasındaki iletimin sürekli liği kolinerjik sistemin hafıza, öğrenme ve bilişsel sistem açısından kilit bir rol üstlendiği düşündürmektedir. Bu hipotez doğrultusunda mevcut AH terapi stratejilerinin çoğunluğunda Asetilkolin (ACh) aracılı nörotransmisyonun sağlıklı bir şekilde sürdürülmesine yönelik uygulamalar ön plana çıkmaktadır. Ani düşüşlerin lme neden olabileceği bulgusunun yanı sıra ACh seviyesindeki kademeli düşüşlerin ise AH'nın yanı sıra nöromusküler ve otonomik bozukluklara yol açabileceği belirtilmektedir (Soreq and Seidman, 2001). ACh seviyesinin optimum düzeyde tutulması için temelde iki yol izlenmektedir; diyetle kolin alımının arttırılması veya yüksek seviyede katalitik aktiviteye sahip olan ve ACh'leri hidroliz eden AChE enziminin aktivitesinin azaltılması şekilindedir (Carotenuto *et al.* 2022). Enzim inhibisyonu için kullanılan farklı terapötik ilaçlar (rivastigmine, donepezil ve galantamin) mevcuttur. Ancak, FAERS (Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System; Gıda ve İlaç İdaresi Olumsuz Olay Raporlama Sistemi) veritabanında söz konusu ilaçlar için 10.000'e yakın yan etki raporu yer almaktadır (Ali *et al.* 2015). Bu yüzden enzim inhibisyonuna katkı sunacak ancak toksik/yan etki oluşturmayacak doğal bileşenlerin keşfi ve etki mekanizmalarının aydınlatılması AH'na yönelik gelecek tedavi perspektifi açısından önemli görülmektedir. Mevcut araştırmada MSG'nin AChE enzim aktivitesini ve proteini kodlayan mRNA seviyesini önemli derecede arttırdığı sonucu gözlenmiştir. Bu bulgu MSG'nin kolinerjik sistemdeki bilgi akışını bozarak AH'na katkı sağladığını düşündürmektedir. TA'nın ise söz konusu aşırı biyolojik aktivite ve gen transkripsiyonunu yeniden düzenleyerek olağan seviyelere indirgeediği tespit edilmiştir (şekil 25 ve şekil 20). Elde edilen sonuçlar TA'nın MSG maruziyeti sonucunda oluşan hasarın giderilmesinin yanı sıra mevcut AChEIs'e alternatif güvenli bir bileşik olduğunu göstermektedir.

Son olarak hücre fizyolojisinin sürdürülmesi ve oksidatif stresin giderilmesi gibi kritik süreçlerin yürütülmesinde rol alan proteinlerin ifadesini regüle eden transkripsiyon faktörlerinin (TFs) MSG karşısında davranışları ile TA'nın bu davranışlar üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bilindiği üzere kompleks bir genomu sahip memeliler gibi yüksek yapıları organizmalarda gen ifadesi TF olarak adlandırılan özel proteinler aracılığı ile sağlanmaktadır (Stadhouders *et al.* 2019). Çatal başlı transkripsiyon faktörleri (FOXO; forkhead-box class O) ailesi üyesi olan FOXO1 ve FOXO3 kanser, yaşlanma ve oksidatif stres gibi hücre canlılığını doğrudan ilgilendiren proseslerde rol almaktadır (Akasakki *et al.* 2014). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar *Foxo1* ve *Foxo3* mRNA seviyesinin MSG maruziyeti sonucunda önemli ölçüde azaldığını ancak TA desteği ile bu azalışın önemli oranda engellendiği görülmüştür (Şekil 21 ve Şekil 22). Oksidatif stres sonucu artan serbest oksijen radikallerinin (ROS) eliminasyonunu sağlayan süperoksit dismutaz (Mn-SOD) ve katalaz (CAT) gibi önemli enzimlerin transkripsiyonu doğrudan FOXO3 ile düzenlenmektedir (Ghaffari *et al.* 2003). Dolayısı ile *Foxo3* seviyesindeki düşüş MSG maruziyeti sonucu oluşan ve bu çalışmada MDA seviyesi (Şekil 26) ile kanıtlanan oksidatif stres karşısında antioksidan sistemin yetersiz kaldığını kanıtlamaktadır. TA'nın ise söz konusu TF'leri yeniden yukarı yönlü düzenleyerek AH açısından son derece kritik olan oksidatif hasarın giderilebileceğini göstermektedir.

Bu tez çalışması kapsamında incelenen tüm hedeflerin birbirleri ile olan ilişkisi STRING online veritabanı (Jensen *et al.* 2009) kullanılarak oluşturulan protein-protein etkileşimi (PPI) ile gösterilmektedir (Şekil 30). Her bir faktör her ne kadar kendi özel görevlerini yürütseler de proteinlerin izole formlarının yanı sıra birbirleriyle ve hücredeki diğer moleküllerle interaksiyona girdikleri bilinmektedir (Barabasi and Oltvai, 2004). Daha önce de ifade edildiği üzere AH gibi kompleks ve polijenik patolojilerin moleküler mekanizmalarının tam olarak anlaşılabilmesi için hedef faktörlerin hem ayrı ayrı hem de bir arada değerlendirilmeleri gerekmektedir. Elde edilen PPI ağı sonuçları izole formlarında spesifik fonksiyonlarını sürdüren çalışma hedeflerinin AH açısından düşünüldüğünde bir arada değerlendirilmesi gerektiğini kanıtlamaktadır.



Şekil 31. STRING veritabanı aracılığı ile oluşturulan ve çalışmada incelenen hedeflerin ilişkisini gösteren PPI ağı.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sıçan beyin korteks dokularında monosodyum glutamat maruziyeti sonucunda sinaps fizyolojisini yakında ilgilendiren bileşenlerin gen ve protein seviyelerinde önemli ölçüde ve AH açısından olumsuz sonuçları beraberinde getirebilecek bir azalma meydana geldiği gözlenmiştir. Tannik asit uygulamasının ise söz konusu azalmayı tersine çevirerek yeniden olağan seviyelerine yakınlaşmasına yol açmıştır. Bu yeniden düzenleme bulguları diyet faktörünün AH açısından hem neden hem de çözüm olabileceğinin bir göstergesidir.

MSG kaynaklı *Casp3*, *Casp9*, *Foxo1* ve *Foxo3* deregülasyonunun TA ile yeniden düzenlenmesi MSG ile bozulan hücre canlılığı ve hücrenin olağan fizyolojik işleyişinin tekrar tesis edilerek AH açısından risk unsuru olan anomalilerin engellenebileceğinin bir göstergesidir.

AChE enzim aktivitesinin ve gen ifadesinin MSG ile anormal seviyede artması, MSG'nin kolinerjik sistem üzerinde nörotoksisite oluşturduğunu kanıtlamaktadır. TA'nın MSG'nin neden olduğu bu deregülasyonu bozarak gen ifadesini ve biyolojik aktiviteyi ideal düzeylere getirmiş olması ise AH tedavisinde çoğunlukla tercih edilen ancak yan etkileri nedeniyle etkinlikleri sınırlı kalan asetilkolin esteraz inhibitörlerine doğal ve etkili bir alternatif olabileceğinin göstergesidir.

Bu çalışmada bulguları her ne kadar *in vivo* hayvan modelleri kullanılarak elde edilmiş olsa da çalışılan hedeflerin tüm detaylarıyla çalışılması gerektiği düşünülmektedir.

- Youness, A., Kamel R., A. Elkasabgy, N., Shao, P., & A. Farag, M., 2021. Recent advances in tannic acid (gallotannin) anticancer activities and drug delivery systems for efficacy improvement; a comprehensive review. *Molecules*, 26(5), 1486.
- Mehta, A., Prabhakar, M., Kumar, P., Deshmukh, R., & Sharma, P. L., 2013. Excitotoxicity: bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. *European journal of pharmacology*, 698(1-3), 6-18.
- Samuels, A. 1999. The toxicity/safety of processed free glutamic acid (MSG): a study in suppression of information. *Accountability in Research*, 6(4), 259-310.
- Abdel Moneim, W. M., Yassa, H. A., Makboul, R. A., & Mohamed, N. A., 2018. Monosodium glutamate affects cognitive functions in male albino rats. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 8(1), 1-10.
- Adlimoghaddam, A., Neuendorff, M., Roy, B., & Albeni, B. C., 2018. A review of clinical treatment considerations of donepezil in severe Alzheimer's disease. *CNS neuroscience & therapeutics*, 24(10), 876-888.
- Administration, U. F., 2012. Questions and Answers on Monosodium glutamate (MSG). *US Department of Health and Human Services*.
- Aelenei, N., Popa, M., Novac, O., Lisa, G., & Balaita, L., 2009. Tannic acid incorporation in chitosan-based microparticles and in vitro controlled release. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 1095–1102.
- Akasaki, Y., Alvarez-Garcia, O., Saito, M., Caramés, B., Iwamoto, Y., & Lotz, M. K., 2014. FoxO transcription factors support oxidative stress resistance in human chondrocytes. *Arthritis & rheumatology*, 66(12), 3349-3358.
- Albert, M. S., DeKosky, S. T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H. H., Fox, N. C., ... & Phelps, C. H., 2011. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia*, 7(3), 270-279.
- Alex, A. M., Arehally Marappa, M., Joghee, S., & Chidambaram, S. B., 2022. Therapeutic benefits of flavonoids against neuroinflammation: a systematic review. *Inflammopharmacology*, 1-26.
- Ali, M. M., Bawari, M., Misra, U. K., & Babu, G. N., 2000. Locomotor and learning deficits in adult rats exposed to monosodium-L-glutamate during early life. *Neuroscience Letters*, 284(1-2), 57-60.
- Ali, T. B., Schleret, T. R., Reilly, B. M., Chen, W. Y., & Abagyan, R., 2015. Adverse effects of cholinesterase inhibitors in dementia, according to the pharmacovigilance databases of the United-States and Canada. *PLoS One*, 10(12), e0144337.
- Andrade Jr, R. G., Dalvi, L. T., Silva Jr, J. M. C., Lopes, G. K., Alonso, A., & Hermes-Lima, M., 2005. The antioxidant effect of tannic acid on the in vitro copper-mediated formation of free radicals. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 437(1), 1-9.
- Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M., & Li, H. B., 2014. Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6(12), 6020-6047.
- Apostolova, L. G., 2016. Alzheimer disease. *Continuum: Lifelong Learning in Neurology*, 22(2 Dementia), 419.

- Armijo, E., Gonzalez, C., Shah Nawaz, M., Flores, A., Davis, B., & Soto, C., 2017. Increased susceptibility to A β toxicity in neuronal cultures derived from familial Alzheimer's disease (PSEN1-A246E) induced pluripotent stem cells. *Neuroscience letters*, 639, 74-81.
- Ashafaq, M., Tabassum, H., & Parvez, S., 2017. Modulation of behavioral deficits and neurodegeneration by tannic acid in experimental stroke challenged Wistar rats. *Mol. Neurobiol.*, 5941–5951.
- Aydın, A., 2007. Tanenler Kimyasal Yapıları, Farmakolojik Etkileri, Analiz Yöntemleri. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*
- Atri, A., 2019. The Alzheimer's disease clinical spectrum: diagnosis and management. *Medical Clinics*, 103(2), 263-293.
- Babu, G. N., Bawari, M., & Ali, M. M., 1994. Lipid peroxidation potential and antioxidant status of circumventricular organs of rat brain following neonatal monosodium glutamate. *Neurotoxicology*, 15(3), 773-777
- Bakhtiari, M., Panahi, Y., Ameli, J., & Darvishi, B., 2017. Protective effects of flavonoids against Alzheimer's disease-related neural dysfunctions. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 93, 218-229.
- Barabási, A. L. 2004. Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nature reviews. Genetics*, 101–113.
- Barnes, J., Bartlett, J. W., Wolk, D. A., Van Der Flier, W. M., & Frost, C., 2018. Disease course varies according to age and symptom length in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease*, 64(2), 631-642.
- Beas-Zárate, C., Pérez-Vega, M. I., & González-Burgos, I., 2002. Neonatal exposure to monosodium L-glutamate induces loss of neurons and cytoarchitectural alterations in hippocampal CA1 pyramidal neurons of adult rats. *Brain Research*, 952(2), 275-281.
- Bera, T. K., Kar, S. K., Yadav, P. K., Mukherjee, P., Yadav, S., & Joshi, B., 2017. Effects of monosodium glutamate on human health: A systematic review. *World journal of pharmaceutical sciences*, 139-144.
- Beyreuther, K., Biesalski, H. K., Fernstrom, J. D., Grimm, P., Hammes, W. P., Heinemann, U., ... & Walker, R., 2007. Consensus meeting: monosodium glutamate—an update. *European journal of clinical nutrition*, 61(3), 304-313.
- Bezerra da Silva, C., Pott, A., Elifio-Esposito, S., Dalarmi, L., Fialho do Nascimento, K., Moura Burci, L., ... & Dallarmi Miguel, M., 2016. Effect of donepezil, tacrine, galantamine and rivastigmine on acetylcholinesterase inhibition in *Dugesia tigrina*. *Molecules*, 21(1), 53.
- Cooper, C., Li, R., Lyketsos, C., & Livingston, G., 2013. Treatment for mild cognitive impairment: systematic review. *The British Journal of Psychiatry*, 203(4), 255-264.
- Blennow, K., Davidsson, P., Wallin, A., & Ekman, R., 1995. Chromogranin A in cerebrospinal fluid: a biochemical marker for synaptic degeneration in Alzheimer's disease?. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 6(6), 306-311.
- Booth, B. W., Inskip, B. D., Shah, H., Park, J. P., Hay, E. J., & Burg, K. J., 2013. Tannic acid preferentially targets estrogen receptor-positive breast cancer. *International journal of breast cancer*, 2013.
- Braak H, Braak E, & J., B., 1993. Staging of Alzheimer-related cortical destruction. *Eur Neurol*, 403-408.
- Braidy, N., Jugder, B. E., Poljak, A., Jayasena, T., Mohammad Nabavi, S., Sachdev, P., & Grant, R., 2017. Molecular targets of tannic acid in Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*, 14(8), 861-869.

- Brendel, A., Renziehausen, J., Behl, C., & Hajieva, P., 2014. Downregulation of PMCA2 increases the vulnerability of midbrain neurons to mitochondrial complex I inhibition. *Neurotoxicology*, 40, 43-51.
- Brinkley, T. E., Leng, I., Register, T. C., Neth, B. J., Zetterberg, H., Blennow, K., & Craft, S., 2022. Changes in Adiposity and Cerebrospinal Fluid Biomarkers Following a Modified Mediterranean Ketogenic Diet in Older Adults at Risk for Alzheimer's Disease. *Frontiers in neuroscience*, 16.
- Buerger, K., Teipel, S. J., Zinkowski, R., Blennow, K., Arai, H., Engel, R., ... & Hampel, H., 2002. CSF tau protein phosphorylated at threonine 231 correlates with cognitive decline in MCI subjects. *Neurology*, 59(4), 627-629.
- Lau, C. G., & Zukin, R. S., 2007. NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(6), 413-426.
- Calis, I. C. 2016. The effects of monosodium glutamate and tannic acid on adult rats. *Iranian Red Crescent Medical Journal* 18 .
- Cao, Q., Wang, W., Williams, J. B., Yang, F., Wang, Z. J., & Yan, Z., 2020. Targeting histone K4 trimethylation for treatment of cognitive and synaptic deficits in mouse models of Alzheimer's disease. *Science advances*, 6(50), eabc8096.
- Cardona, F., Andrés-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F. J., & Queipo-Ortuño, M. I., 2013. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(8), 1415-1422.
- Carotenuto, A., Fasanaro, A. M., Manzo, V., Amenta, F., & Traini, E., Association Between the Cholinesterase Inhibitor Donepezil and the Cholinergic Precursor Choline Alphoscerate in the Treatment of Depression in Patients with Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease Reports*, (Preprint), 1-9.
- Kardesler, C., 2017. Investigation of the behavioral and neurochemical effects of monosodium glutamate on neonatal rats. *Turk J Med Sci*, 1002-1011.
- Ceylan, H., Budak, H., Kocpinar, E. F., Baltaci, N. G., & Erdogan, O., 2019. Examining the link between dose-dependent dietary iron intake and Alzheimer's disease through oxidative stress in the rat cortex. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 56, 198-206.
- Chandrasekara, A., & Shahidi, F., 2010. Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(11), 6706-6714.
- Chen, S. C., & Chung, K. T., 2000. Mutagenicity and antimutagenicity studies of tannic acid and its related compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 38(1), 1-5.
- Chételat, G., Arbizu, J., Barthel, H., Garibotto, V., Law, I., Morbelli, S., ... & Drzezga, A., 2020. Amyloid-PET and 18F-FDG-PET in the diagnostic investigation of Alzheimer's disease and other dementias. *The Lancet Neurology*, 19(11), 951-962.
- Choi, D. Y., 2012. Antioxidant properties of natural polyphenols and their therapeutic potentials for Alzheimer's disease. *Brain research bulletin*, 144-153.
- Chouraki V. S., 2014. Genetics of Alzheimer's disease. *Adv Genet*, 245-294.
- Clayton, D. A., Mesches, M. H., Alvarez, E., Bickford, P. C., & Browning, M. D., 2002. A hippocampal NR2B deficit can mimic age-related changes in long-term potentiation and spatial learning in the Fischer 344 rat. *Journal of Neuroscience*, 22(9), 3628-3637.
- Çiçek, T., 2015. Lokal ve sistemik ghrelin uygulamasının yanık yarası iyileşmesi üzerine etkisi.

- Tomé, D., 2018. The roles of dietary glutamate in the intestine. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 73(5), 15-20.
- Dabbaghi, A., Kabiri, K., Ramazani, A., Zohuriaan-Mehr, M., & A., J., 2009. Synthesis of bio-based internal and external cross-linkers based on tannic acid for preparation of antibacterial superabsorbents. *Polym. Adv. Technol.*, 2894–2905.
- de Lera Ruiz, M., & Kraus, R. L., 2015. Voltage-gated sodium channels: structure, function, pharmacology, and clinical indications. *Journal of medicinal chemistry*, 58(18), 7093-7118.
- DeTure, M. A., & Dickson, D. W., 2019. The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular neurodegeneration*, 14(1), 1-18.
- Dief, A., Kamha, E., Baraka, A., & Elshorbagy, A., 2014. Monosodium Glutamate Neurotoxicity Increases Beta Amyloid in the Rat Hippocampus: A Potential Role for Cyclic AMP Protein Kinase. *Neuro Toxicology*, 76-82.
- Dilek, F., Aysun, Ü. N. A. L., & Ünsar, S., 2017. İleri evre demans hastasında hemşirelik bakımı: olgu sunumu. *Sağlık Bilimleri ve Meslekleri Dergisi*, 4(2), 125-131.
- Dong, X. X., Wang, Y., & Qin, Z. H., 2009. Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(4), 379-387.
- Doody, R. S., Stevens, J. C., Beck, C., Dubinsky, R. M., Kaye, J. A., Gwyther, L. M. S. W., ... & Cummings, J. L., 2001. Practice parameter: Management of dementia (an evidence-based review)[RETIRED]: Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 56(9), 1154-1166.
- Masliah, E., Miller, A., & Terry, R. D., 1993. The synaptic organization of the neocortex in Alzheimer's disease. *Medical hypotheses*, 41(4), 334-340.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Elshafey, M., Eladl, M. A., El-Sherbiny, M., Atef, H., & El Morsi, D. A., 2017. Hepatotoxicity of monoglutamate sodium: Oxidative stress and histopathological study. *The FASEB Journal*, 31, 1b31-1b31.
- Eweka, A. O., & Om'Iniabo, F. A. E., 2011. Histological studies of the effects of monosodium glutamate on the ovaries of adult wistar rats. *Annals of medical and health sciences research*, 1(1), 37-44.
- Fakira, A. K., & Elkabes, S., 2010. Role of plasma membrane calcium ATPase 2 in spinal cord pathology. *World journal of biological chemistry*, 1(5), 103.
- Farrer, L. A., Cupples, L. A., Haines, J. L., Hyman, B., Kukull, W. A., Mayeux, R., ... & Van Duijn, C. M., 1997. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: a meta-analysis. *Jama*, 278(16), 1349-1356.
- Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, M. S., 2011. Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 11(1), 52-67.
- Featherstone, D. E., & Shippey, S. A., 2008. Regulation of synaptic transmission by ambient extracellular glutamate. *The Neuroscientist*, 14(2), 171-181.

- Figueira, I., Menezes, R., Macedo, D., Costa, I., & Nunes dos Santos, C., 2017. Polyphenols beyond barriers: a glimpse into the brain. *Current neuropharmacology*, 15(4), 562-594.
- Frank, R. A., Komiyama, N. H., Ryan, T. J., Zhu, F., O'Dell, T. J., & Grant, S. G., 2016. NMDA receptors are selectively partitioned into complexes and supercomplexes during synapse maturation. *Nature communications*, 7(1), 1-13.
- Fu, A. K., 2017. Regulation of postsynaptic signaling in structural synaptic plasticity. *Current opinion in neurobiology*, 148-155.
- Neves, G., Cooke, S. F., & Bliss, T. V., 2008. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(1), 65-75.
- Gao X, and Arlotta P, Macklis JD, & J, C., 2007. Conditional knock-out of β -catenin in postnatal born dentate gyrus granule neurons results in dendritic malformation. *J Neurosci*, 14317-14325.
- Geha, R., Beiser, A., Ren, C., Patterson, R., Grammar, L., Ditto, A., & Harris, K., 2001. Review of Allergic Reaction to Monosodium Glutamate and Outcome of a Multicenter Double Blind Placebo-Controlled Study. *Journal of Nutrition*.
- Gentreau, M., Chuy, V., Féart, C., Samieri, C., Ritchie, K., Raymond, M., ... & Artero, S., 2020. Refined carbohydrate-rich diet is associated with long-term risk of dementia and Alzheimer's disease in apolipoprotein E ϵ 4 allele carriers. *Alzheimer's & Dementia*, 16(7), 1043-1053.
- Gerzson, M. F., Pacheco, S. M., Soares, M. S., Bona, N. P., Oliveira, P. S., Azambuja, J. H., ... & Stefanello, F. M., 2022. Effects of tannic acid in streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease: insights into memory, redox status, Na^+ , K^+ -ATPase and acetylcholinesterase activity. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 128(1), 223-230.
- Gerzson, M. F., Bona, N. P., Soares, M. S., Teixeira, F. C., Rahmeier, F. L., Carvalho, F. B., ... & Stefanello, F. M., 2020. Tannic acid ameliorates STZ-induced Alzheimer's disease-like impairment of memory, neuroinflammation, neuronal death and modulates Akt expression. *Neurotoxicity Research*, 37(4), 1009-1017.
- Ghaffari, S., Jagani, Z., Kitidis, C., Lodish, H. F., & Khosravi-Far, R., 2003. Cytokines and BCR-ABL mediate suppression of TRAIL-induced apoptosis through inhibition of forkhead FOXO3a transcription factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(11), 6523-6528.
- Ginis, K. A. M., Heisz, J., Spence, J. C., Clark, I. B., Antflick, J., Ardern, C. I., ... & Rotondi, M. A., 2017. Formulation of evidence-based messages to promote the use of physical activity to prevent and manage Alzheimer's disease. *BMC Public Health*, 17(1), 1-17.
- Göbel, C. H., Tronnier, V. M., & Münte, T. F., 2017. Brain stimulation in obesity. *International journal of obesity*, 41(12), 1721-1727.
- Grosso, C., Valentão, P., Ferreres, F., & B Andrade, P., 2013. The use of flavonoids in central nervous system disorders. *Current medicinal chemistry*, 20(37), 4694-4719.
- Guerini, F. R., Agliardi, C., Sironi, M., Arosio, B., Calabrese, E., Zanzottera, M., ... & Clerici, M., 2014. Possible association between SNAP-25 single nucleotide polymorphisms and alterations of categorical fluency and functional MRI parameters in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 42(3), 1015-1028.
- Kim, H., 2018. Detection of severity in Alzheimer's disease (AD) using computational modeling. *Bioinformation*, 14(5), 259.

- Feinstein, A., DeLuca, J., Baune, B. T., Filippi, M., & Lassman, H., 2013. Cognitive and neuropsychiatric disease manifestations in MS. *Multiple Sclerosis and related disorders*, 2(1), 4-12.
- Ceylan, H., 2022. Integrated bioinformatics analysis to identify alternative therapeutic targets for alzheimer's disease: insights from a synaptic machinery perspective. *Journal of Molecular Neuroscience*, 72(2), 273-286.
- Haapasalo, A., & Hiltunen, M., 2018. A report from the 8th Kuopio Alzheimer Symposium.
- Hallock, P., & Thomas, M. A., 2012. Integrating the Alzheimer's disease proteome and transcriptome: a comprehensive network model of a complex disease. *Omics: a journal of integrative biology*, 16(1-2), 37-49.
- Halpern, B. P., 2000. Glutamate and the flavor of foods. *The Journal of nutrition*, 910-914.
- Hamza, R. Z., & Diab, A. E. A. A., 2020. Testicular protective and antioxidant effects of selenium nanoparticles on Monosodium glutamate-induced testicular structure alterations in male mice. *Toxicology Reports*, 7, 254-260.
- Hashem, H. E., Safwat, E. D., & Algaidi, S., 2012. The effect of monosodium glutamate on the cerebellar cortex of male albino rats and the protective role of vitamin C (histological and immunohistochemical study). *Journal of molecular histology*, 43(2), 179-186.
- Hassaan, P. S., Dief, A. E., Zeitoun, T. M., Baraka, A. M., Deacon, R. M., & Elshorbagy, A., 2019. Cortical tau burden and behavioural dysfunctions in mice exposed to monosodium glutamate in early life. *Plos one*, 14(8), e0220720.
- Hazzaa, S. M., El-Roghy, E. S., Abd Eldaim, M. A., & Elgarawany, G. E., 2020. Monosodium glutamate induces cardiac toxicity via oxidative stress, fibrosis, and P53 proapoptotic protein expression in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(16), 20014-20024.
- Hebert, L. E., Scherr, P. A., Bienias, J. L., Bennett, D. A., & Evans, D. A., 2003. Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 census. *Archives of neurology*, 60(8), 1119-1122.
- Henry-Unaeze, H. N., 2017. Update on food safety of monosodium l-glutamate (MSG). *Pathophysiology*, 243-249.
- Bautista, R. J. H., Mahmoud, A. M., Königsberg, M., & Guerrero, N. E. L. D., 2019. Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 503-516.
- Shakoor, H., Feehan, J., Apostolopoulos, V., Platat, C., Al Dhaheri, A. S., Ali, H. I., ... & Stojanovska, L., 2021. Immunomodulatory effects of dietary polyphenols. *Nutrients*, 13(3), 728.
- Hu, N. W., Klyubin, I., Anwyl, R., & Rowan, M. J., 2009. GluN2B subunit-containing NMDA receptor antagonists prevent A β -mediated synaptic plasticity disruption in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(48), 20504-20509.
- Husarova, V., & Ostatnikova, D., 2013. Monosodium glutamate toxic effects and their implications for human intake: a review. *Jmed Research*, 2013(2013), 1-12.
- Hussein, W., Sağlık, B. N., Levent, S., Korkut, B., Ilgın, S., Özkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A., 2018. Synthesis and biological evaluation of new cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Molecules*, 23(8), 2033.

- Insawang, T., Selmi, C., Cha'on, U., Pethlert, S., Yongvanit, P., Areejitranusorn, P., ... & Hammock, B. D., 2012. Monosodium glutamate (MSG) intake is associated with the prevalence of metabolic syndrome in a rural Thai population. *Nutrition & Metabolism*, 9(1), 1-6.
- Irfan, M., Gopaul, K. R., Miry, O., Hökfelt, T., Stanton, P. K., & Bark, C., 2019. SNAP-25 isoforms differentially regulate synaptic transmission and long-term synaptic plasticity at central synapses. *Scientific reports*, 9(1), 1-14.
- Ahanger, I. A., Bashir, S., Parray, Z. A., Alajmi, M. F., Hussain, A., Ahmad, F., ... & Sharma, A., 2021. Rationalizing the role of monosodium glutamate in the protein aggregation through biophysical approaches: Potential impact on neurodegeneration. *Frontiers in neuroscience*, 15, 636454.
- Israel, M. R., Tay, B., Deuis, J. R., & Vetter, I., 2017. Sodium channels and venom peptide pharmacology. *Advances in pharmacology*, 79, 67-116.
- Morrison, J. H., & Baxter, M. G., 2012. The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(4), 240-250.
- Spencer, J. P., 2010. Beyond antioxidants: the cellular and molecular interactions of flavonoids and how these underpin their actions on the brain. *Proceedings of the Nutrition Society*, 69(2), 244-260.
- Löliger, J., 2000. Function and importance of glutamate for savory foods. *The Journal of nutrition*, 130(4), 915S-920S.
- Jack Jr, C. R., Knopman, D. S., Jagust, W. J., Shaw, L. M., Aisen, P. S., Weiner, M. W., ... & Trojanowski, J. Q., 2010. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *The Lancet Neurology*, 9(1), 119-128.
- Jackson, M., Pelone, F., Reeves, S., Hassenkamp, A. M., Emery, C., Titmarsh, K., & Greenwood, N., 2016. Interprofessional education in the care of people diagnosed with dementia and their carers: a systematic review. *BMJ open*, 6(8), e010948.
- Janssen, J. C., Hall, M., Fox, N. C., Harvey, R. J., Beck, J., Dickinson, A., ... & Rossor, M. N., 2000. Alzheimer's disease due to an intronic presenilin-1 (PSEN1 intron 4) mutation: a clinicopathological study. *Brain*, 123(5), 894-907.
- Jensen, L. J., Kuhn, M., Stark, M., Chaffron, S., Creevey, C., Muller, J., ... & von Mering, C., 2009. STRING 8—a global view on proteins and their functional interactions in 630 organisms. *Nucleic acids research*, 37(suppl_1), D412-D416.
- Jin, L., Lin, L., Li, G. Y., Liu, S., Luo, D. J., Feng, Q., ... & Liu, G. P., 2018. Monosodium glutamate exposure during the neonatal period leads to cognitive deficits in adult Sprague-Dawley rats. *Neuroscience letters*, 682, 39-44.
- Johnson, K. A., Minoshima, S., Bohnen, N. I., Donohoe, K. J., Foster, N. L., Herscovitch, P., ... & Hartley, D. M., 2013. Update on appropriate use criteria for amyloid PET imaging: dementia experts, mild cognitive impairment, and education. *Alzheimer's & Dementia*, 9(4), e106-e109.
- Ninomiya, K., 2015. Science of umami taste: adaptation to gastronomic culture. *Flavour*, 4(1), 1-5.
- Kaczmarek, B., 2020. Tannic Acid with Antiviral and Antibacterial Activity as A Promising Component of Biomaterials—A Minireview. *Materials*.
- Kanai, Y., & Hediger, M. A., 2004. The glutamate/neutral amino acid transporter family SLC1: molecular, physiological and pharmacological aspects. *Pflügers Archiv*, 447(5), 469-479.

- Kazmi, Z., Fatima, I., Perveen, S., & Malik, S. S., 2017. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. *International Journal of food properties*, 20(sup2), 1807-1815.
- Khoury, R., Grysman, N., Gold, J., Patel, K., & Grossberg, G. T., 2018. The role of 5 HT6-receptor antagonists in Alzheimer's disease: an update. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 27(6), 523-533.
- Kim, T., Silva, J., Kim, M., & Jung, Y., 2010. Enhanced antioxidant capacity and antimicrobial activity of tannic acid by thermal processing. *Food Chem.* , 740-764.
- Kimura, Y., Ito, H., Ohnishi, R., & Hatano, T., 2010. Inhibitory effects of polyphenols on human cytochrome P450 3A4 and 2C9 activity. *Food and Ch*
- Knopman, D. S., DeKosky, S. T., Cummings, J. L., Chui, H., Corey-Bloom, J., Relkin, N., ... & Stevens, J. C., 2001. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 56(9), 1143-1153.
- Kong, W., Mou, X., Zhang, N., Zeng, W., Li, S., & Yang, Y., 2015. The construction of common and specific significance subnetworks of Alzheimer's Disease from multiple brain regions. *BioMed research international*, 2015.
- Kruth, K. A., Grisolano, T. M., Ahern, C. A., & Williams, A. J., 2020. SCN2A channelopathies in the autism spectrum of neuropsychiatric disorders: a role for pluripotent stem cells?. *Molecular autism*, 11(1), 1-11.
- Rim, K. T., 2017. Toxicological evaluation of MSG for the manufacturing workers' health: A literature review. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 9(1), 1-11.
- Kumar, N., & Goel, N., 2019. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnol. Rep.* .
- Kuo, M.-L., Lee, K.-C., & Lin, J.-K., 1992. Genotoxicities of nitropyrenes and their modulation by apigenin, tannic acid, ellagic acid and indole-3-carbinol in the Salmonella and CHO systems. *Mutat. Res. Fundam. Mol. Mech. Mutagenes*, 87-95.
- Lacor, P. N., 2007. Advances on the understanding of the origins of synaptic pathology in AD. *Current Genomics*, 486-508.
- Landau, S. M., Thomas, B. A., Thurfjell, L., Schmidt, M., Margolin, R., Mintun, M., ... & Jagust, W. J., 2014. Amyloid PET imaging in Alzheimer's disease: a comparison of three radiotracers. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 41(7), 1398-1407.
- Larsen PJ, Mikkelsen JD, Jessop D, Lightman SL, & HS., C., 1994. Neonatal monosodium glutamate treatment alters both the activity and the sensitivity of the rat hypothalamo-pituitary adrenocortical axis. *J Endocrinol*, 497-503.
- Lau, A., & Tymianski, M., 2010. Glutamate Receptors, Neurotoxicity and Neurodegeneration. *European Journal of Physiology*, 525-542.
- Lau, C. G., & Zukin, R. S., 2007. NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(6), 413-426.
- Leblhuber, F., Steiner, K., Schuetz, B., Fuchs, D., & Gostner, J. M., 2018. Probiotic supplementation in patients with Alzheimer's dementia-an explorative intervention study. *Current Alzheimer Research*, 15(12), 1106-1113.
- Leoni, V., 2011. The effect of apolipoprotein E (ApoE) genotype on biomarkers of amyloidogenesis, tau pathology and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 375-383.

- Li B, Yamamori H, a. T., Shafit-Zagardo B, & Tanimukai H, C. S., 2008. Failure of neuronal maturation in Alzheimer disease dentate gyrus. *J Failure of neuronal maturation in Alzheimer disease dentate gyrus*, 78-84.
- Lin, L. T., Chen, T. Y., Chung, C. Y., Noyce, R. S., Grindley, T. B., McCormick, C., ... & Richardson, C. D., 2011. Hydrolyzable tannins (chebulagic acid and punicalagin) target viral glycoprotein-glycosaminoglycan interactions to inhibit herpes simplex virus 1 entry and cell-to-cell spread. *Journal of virology*, 85(9), 4386-4398.
- Liu, C. C., Kanekiyo, T., Xu, H., & Bu, G., 2013. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nature Reviews Neurology*, 9(2), 106-118.
- Luo, T. W., 2011. NMDA receptor signaling: death or survival? *Frontiers in biology*, 468-476.
- LaFerla, F. M., 2002. Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(11), 862-872.
- Polidori, M. C., Praticó, D., Mangialasche, F., Mariani, E., Aust, O., Anlasik, T., ... & Nelles, G., 2009. High fruit and vegetable intake is positively correlated with antioxidant status and cognitive performance in healthy subjects. *Journal of Alzheimer's disease*, 17(4), 921-927.
- Madhavadas S, Kutty BM, & Subramanian S., 2014. Amyloid beta lowering and cognition enhancing effects of ghrelin receptor analog [D-Lys (3)] GHRP-6 in rat model of Obesity. *Hint J Biochem Biophys*, 257-262.
- Malenka, R. C., & Bear, M. F., 2004. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron*, 44(1), 5-21.
- Martin K. R., 2009. Polyphenols as dietary supplements: A double-edged sword. *Nutr. Diet. Suppl.* , 1-12.
- Martins, F. C., Sentanin, M. A., & De Souza, D., 2019. Analytical methods in food additives determination: Compounds with functional applications. *Food chemistry*, 272, 732-750.
- Matsunaga, S. K., 2015. Memantine monotherapy for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*.
- Matysková, R., Maletinska, L., Maixnerová, J., Pirnik, Z., Kiss, A., 2008. Comparison of the obesity phenotypes related to monosodium glutamate effect on arcuate nucleus and/or th
- Matysková, R., Maletinska, L., Maixnerová, J., Pirnik, Z., Kiss, A., 2008. Comparison of the obesity phenotypes related to monosodium glutamate effect on arcuate nucleus and/or the high fat diet feeding in C57BL/6 and NMRI mice. *Physiological research*, 57(5), 727.
- Mayeux, R., Saunders, A. M., Shea, S., Mirra, S., Evans, D., Roses, A. D., ... & Phelps, C. H., 1998. Utility of the apolipoprotein E genotype in the diagnosis of Alzheimer's disease. *New England Journal of Medicine*, 338(8), 506-511.
- Mazzarella, G., Bianco, A., Catena, E., De Palma, R., & Abbate, G. F., 2000. Th1/Th2 lymphocyte polarization in asthma. *Allergy*, 55, 6-9.
- Meldrum, B. S., 2000. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *The Journal of nutrition*, 1007S-1015S.
- Melland, H., Carr, E. M., & Gordon, S. L., 2021. Disorders of synaptic vesicle fusion machinery. *Journal of Neurochemistry*, 157(2), 130-164.
- Mhatre, S. D., Satyasi, V., Killen, M., Paddock, B. E., Moir, R. D., Saunders, A. J., & Marena, D. R., 2014. Synaptic abnormalities in a Drosophila model of Alzheimer's disease. *Disease models & mechanisms*, 7(3), 373-385.

- Hajjhasani, M. M., Soheili, V., Zirak, M. R., Sahebkar, A., & Shakeri, A., 2020. Natural products as safeguards against monosodium glutamate-induced toxicity. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 23(4), 416.
- Mohrmann, R., De Wit, H., Verhage, M., Neher, E., & Sørensen, J. B., 2010. Fast vesicle fusion in living cells requires at least three SNARE complexes. *Science*, 330(6003), 502-505.
- Moldes, A. B., Vecino, X., & Cruz, J. M., 2017. Nutraceuticals and food additives. In *Current developments in biotechnology and bioengineering* (pp. 143-164). Elsevier.
- Mori, T., Koyama, N., Rezai-Zadeh, K., Kakuda, N., Yamaguchi, H., Arendash, G. W., ... & Town, T., 2010. P3-274: The plant-derived polyphenol tannic acid mitigates Alzheimer-like pathology. *Alzheimer's & Dementia*, 6, S532-S532.
- Mori, T., Rezai-Zadeh, K., Koyama, N., Arendash, G. W., Yamaguchi, H., Kakuda, N., ... & Town, T., 2012. Tannic acid is a natural β -secretase inhibitor that prevents cognitive impairment and mitigates Alzheimer-like pathology in transgenic mice. *Journal of Biological chemistry*, 287(9), 6912-6927.
- Mufson, E.J., & Counts S., 2007. Cholinergic molecular substrates of mild cognitive impairment in the elderly. *Curr Alzheimer Res.*, 340-350.
- Myers, S. J., Yuan, H., Kang, J. Q., Tan, F. C. K., Traynelis, S. F., & Low, C. M., 2019. Distinct roles of GRIN2A and GRIN2B variants in neurological conditions. *F1000Research*, 8.
- Newsholme, P., 2001. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection?. *The Journal of nutrition*, 131(9), 2515S-2522S.
- Niaz, K., Zaplatić, E., & Spoor, J., 2018. Extensive use of monosodium glutamate: A threat to public health?. *EXCLI journal*, 17, 273.
- Nicolas, G., Acuña-Hidalgo, R., Keogh, M. J., Quenez, O., Stehouwer, M., Lelieveld, S., ... & Hoischen, A., 2018. Somatic variants in autosomal dominant genes are a rare cause of sporadic Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 14(12), 1632-1639.
- Niznik, J. D., Zhao, X., He, M., Aspinall, S. L., Hanlon, J. T., Nace, D., ... & Thorpe, C. T., 2020. Impact of deprescribing AChEIs on aggressive behaviors and antipsychotic prescribing. *Alzheimer's & Dementia*, 16(4), 630-640.
- Noor, A., & Zahid, S., 2017. A review of the role of synaptosomal-associated protein 25 (SNAP-25) in neurological disorders. *International Journal of Neuroscience*, 127(9), 805-811.
- O'Brien, R. J., 2011. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annual review of neuroscience*.
- Obayashi, Y., & Nagamura, Y., 2016. Does monosodium glutamate really cause headache?: a systematic review of human studies. *The Journal of Headache and Pain*, 17(1), 1-7.
- Okoye, C. N., Ochiogu, I. S., & Onah, C. E., 2016. The effects of monosodium L-glutamate administration on the reproduction and serum biochemistry of adult male rabbits. *Veterinarni Medicina*, 61(3).
- Olvera-Cortes, E., Lopez-Vazquez, M. A., Beas-Zarate, C., & Gonzalez-Burgos, I., 2005. Neonatal exposure to monosodium glutamate disrupts place learning ability in adult rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 82(2), 247-251.
- Onaolapo, O. J., Onaolapo, A. Y., Akanmu, M. A., & Gbola, O., 2016. Evidence of alterations in brain structure and antioxidant status following 'low-dose' monosodium glutamate ingestion. *Pathophysiology*, 23(3), 147-156.

- Ono, K., Hasegawa, K., Naiki, H., & Yamada, M., 2004. Anti-amyloidogenic activity of tannic acid and its activity to destabilize Alzheimer's β -amyloid fibrils in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-molecular basis of disease*, 1690(3), 193-202.
- Onyema, O. O., Farombi, E. O., Emerole, G. O., Ukoha, A. I., & Onyeze, G. O., 2006. Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats.
- Overk, C. R., & Masliah, E., 2014. Pathogenesis of synaptic degeneration in Alzheimer's disease and Lewy body disease. *Biochemical pharmacology*, 88(4), 508-516.
- Öztürk, G. B., & Karan, M. A., 2009. Alzheimer hastalığının fizyopatolojisi. *Klinik gelişim*, 22(3), 36-45.
- Park, E., Yu, K. H., Kim, D. K., Kim, S., Sapkota, K., Kim, S. J., ... & Chun, H. S., 2014. Protective effects of N-acetylcysteine against monosodium glutamate-induced astrocytic cell death. *Food and chemical toxicology*, 67, 1-9.
- Pavlovic V, C. S. 2006. Modulatory effect of monosodium glutamate on rat thymocyte proliferation and apoptosis. *Bratisl Lek Listy*, 185-191.
- Pavlovic, V., Pavlovic, D., Kocic, G., Sokolovic, D., Jevtovic-Stoimenov, T., Cekic, S., & Velickovic, D., 2007. Effect of monosodium glutamate on oxidative stress and apoptosis in rat thymus. *Molecular and cellular biochemistry*, 303(1), 161-166.
- Perelló, M., Gaillard, R. C., Chisari, A., & Spinedi, E., 2003. Adrenal enucleation in MSG-damaged hyperleptinemic male rats transiently restores adrenal sensitivity to leptin. *Neuroendocrinology*, 78(3), 176-184.
- Planells-Cases, R., Caprini, M., Zhang, J., Rockenstein, E. M., Rivera, R. R., Murre, C., ... & Montal, M., 2000. Neuronal death and perinatal lethality in voltage-gated sodium channel α II-deficient mice. *Biophysical journal*, 78(6), 2878-2891.
- Plassman, B. L., Langa, K., Fisher, G. G., Heeringa, S., Weir, D. R., Ofstedal, M. B., ... & Wallace, R. B., 2007. Prevalence of dementia in a community sample of adults age 70 and older. *Neuroepidemiology*, 29, 125-132.
- Pozzi, D., Corradini, I., & Matteoli, M., 2019. The control of neuronal calcium homeostasis by SNAP-25 and its impact on neurotransmitter release. *Neuroscience*, 420, 72-78.,
- Pugh, K. G., & Wei, J. Y., 2001. Clinical implications of physiological changes in the aging heart. *Drugs & aging*, 18(4), 263-276.
- Qin, H., Hu, C., Zhao, X., Tian, M., & Zhu, B., 2021. Usefulness of candidate mRNAs and miRNAs as biomarkers for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *International Journal of Neuroscience*, 1-14.
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A., 2013. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacological research*, 68(1), 125-131.
- R, M., L, M., Maixnerova J and Pirnik Z, K. A., & B., Z., 2008. Comparison of the obesity phenotypes related to monosodium glutamate effect on arcuate nucleus and/or the high fat diet feeding in C57BL/6 and NMRI mice. *Physiol Res*, 727-734.
- Tsao, R., 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.
- Ramalho, J. B., Izaguirry, A. P., Soares, M. B., Spiazzi, C. C., Pavin, N. F., Affeldt, R. F., ... & Prigol, M., 2018. Selenofuranoside improves long-term memory deficits in rats after exposure to monosodium glutamate: Involvement of Na⁺, K⁺-ATPase activity. *Physiology & behavior*, 184, 27-33.

- Petersen, R. C., 2018. How early can we diagnose Alzheimer disease (and is it sufficient)?: The 2017 Wartenberg lecture. *Neurology*, 91(9), 395-402.
- Reggiani, C., Coppens, S., Sekhara, T., Dimov, I., Pichon, B., Lufin, N., ... & Smits, G., 2017. Novel promoters and coding first exons in DLG2 linked to developmental disorders and intellectual disability. *Genome medicine*, 9(1), 1-20.
- Rendeiro, C., Rhodes, J. S., & Spencer, J. P., 2015. The mechanisms of action of flavonoids in the brain: Direct versus indirect effects. *Neurochemistry international*, 89, 126-139.
- Rhodes, J., Titherley, A. C., Norman, J. A., Wood, R., & Lord, D. W., 1991. A survey of the monosodium glutamate content of foods and an estimation of the dietary intake of monosodium glutamate. *Food Additives & Contaminants*, 8(3), 265-274.
- Roberds, S. L., Anderson, J., Basi, G., Bienkowski, M. J., Branstetter, D. G., Chen, K. S., ... & McConlogue, L., 2001. BACE knockout mice are healthy despite lacking the primary β -secretase activity in brain: implications for Alzheimer's disease therapeutics. *Human molecular genetics*, 10(12), 1317-1324.
- Roberts, J. S., Karlawish, J. H., Uhlmann, W. R., Petersen, R. C., & Green, R. C., 2010. Mild cognitive impairment in clinical care: a survey of American Academy of Neurology members. *Neurology*, 75(5), 425-431.
- Rosa, S. G., Chagas, P. M., Pesarico, A. P., & Nogueira, C. W., 2018. Monosodium glutamate induced nociception and oxidative stress dependent on time of administration, age of rats and susceptibility of spinal cord and brain regions. *Toxicology and applied pharmacology*, 351, 64-73.
- Russ, T. C., & Morling, J. R., 2012. Cholinesterase inhibitors for mild cognitive impairment. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (9).
- Cahill, S., 2020. WHO's global action plan on the public health response to dementia: some challenges and opportunities. *Aging & Mental Health*, 24(2), 197-199.
- Mathew, S., & Joy, K. P., 2019. Monosodium glutamate triggers neuroendocrine stress axis leading to apoptosis and neural progenitor cell activation. *The FASEB Journal*, 33(S1), 554-1.
- Sabbagh, M. N., Cooper, K., DeLange, J., Stoehr, J. D., Thind, K., Lahti, T., ... & Beach, T. G., 2010. Functional, global and cognitive decline correlates to accumulation of Alzheimer's pathology in MCI and AD. *Current Alzheimer Research*, 7(4), 280-286.
- Saeidnia, S., & Abdollahi, M., 2013. Toxicological and pharmacological concerns on oxidative stress and related diseases. *Toxicology and applied pharmacology*, 273(3), 442-455.
- Scheff, S. W., & Price, D. A., 2003. Synaptic pathology in Alzheimer's disease: a review of ultrastructural studies. *Neurobiology of aging*, 24(8), 1029-1046.
- Schneider, L. S., Dagerman, K. S., Higgins, J. P., & McShane, R., 2011. Lack of evidence for the efficacy of memantine in mild Alzheimer disease. *Archives of neurology*, 68(8), 991-998.
- Selak, S., Paternain, A. V., Aller, I. M., Pico, E., Rivera, R., & Lerma, J., 2009. A role for SNAP25 in internalization of kainate receptors and synaptic plasticity. *Neuron*, 63(3), 357-371.
- Šerý, O., Povová, J., Míšek, I., Pešák, L., & Janout, V., 2013. Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: a review. *Folia Neuropathologica*, 51(1), 1-9.

- Shankar, G. M., & Walsh, D. M., 2009. Alzheimer's disease: synaptic dysfunction and A β . *Molecular neurodegeneration*, 4(1), 1-13.
- Shannon, M., Wilson, J., Xie, Y., & Connolly, L., 2019. In vitro bioassay investigations of suspected obesogen monosodium glutamate at the level of nuclear receptor binding and steroidogenesis. *Toxicology letters*, 301, 11-16.
- Shively, C. A., Appt, S. E., Vitolins, M. Z., Uberseder, B., Michalson, K. T., Silverstein-Metzler, M. G., & Register, T. C., 2019. Mediterranean versus Western diet effects on caloric intake, obesity, metabolism, and hepatosteatosis in nonhuman primates. *Obesity*, 27(5), 777-784.
- Shoji, Y. &. 2004. Nutraceuticals and delivery systems. *Journal of drug targeting*, 385-391.
- Silva, H. L. A., Balthazar, C. F., Esmerino, E. A., Vieira, A. H., Cappato, L. P., Neto, R. P. C., ... & Cruz, A. G., 2017. Effect of sodium reduction and flavor enhancer addition on probiotic Prato cheese processing. *Food Research International*, 99, 247-255.
- Singh, K., & Pushpa, A., 2005. Alteration in some antioxidant enzymes in cardiac tissue upon monosodium glutamate [MSG] administration to adult male mice. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 20(1), 43-46.
- Singhal, A. K., Naithani, V., & Bangar, O. P., 2012. Medicinal plants with a potential to treat Alzheimer and associated symptoms. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 2(2), 84.
- Skurray, G. R., & Pucar, N., 1988. L-glutamic acid content of fresh and processed foods. *Food chemistry*, 27(3), 177-180.
- Smith, M. A., 1998. Alzheimer Disease. *International Review of Neurobiology* (s. 1-54). içinde Cleveland, Ohio.
- Smits, J. J., Oostrik, J., Beynon, A. J., Kant, S. G., de Koning Gans, P. A., Rotteveel, L. J., ... & Kremer, H., 2019. De novo and inherited loss-of-function variants of ATP2B2 are associated with rapidly progressive hearing impairment. *Human genetics*, 138(1), 61-72.
- Soreq, H., & Seidman, S., 2001. Acetylcholinesterase—new roles for an old actor. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(4), 294-302.
- Sowmya Madhavadas, Vijaya Kumar Kapgal, & Subramanian, B. M., 2015. *Journal of Dietary Supplements*, 449-460.
- Spratt, P. W., Ben-Shalom, R., Keeshen, C. M., Burke Jr, K. J., Clarkson, R. L., Sanders, S. J., & Bender, K. J., 2019. The autism-associated gene *Scn2a* contributes to dendritic excitability and synaptic function in the prefrontal cortex. *Neuron*, 103(4), 673-685.
- Sproul, A. A., Jacob, S., Pre, D., Kim, S. H., Nestor, M. W., Navarro-Sobrinho, M., ... & Noggle, S. A., 2014. Characterization and molecular profiling of PSEN1 familial Alzheimer's disease iPSC-derived neural progenitors. *PloS one*, 9(1), e84547.
- Srivastava, R. C., Husain, M. M., Hasan, S. K., & Athar, M., 2000. Green tea polyphenols and tannic acid act as potent inhibitors of phorbol ester-induced nitric oxide generation in rat hepatocytes independent of their antioxidant properties. *Cancer letters*, 153(1-2), 1-5.
- Stadhouders, R., Fillion, G. J., & Graf, T., 2019. Transcription factors and 3D genome conformation in cell-fate decisions. *Nature*, 569(7756), 345-354.

- Stafford, N., Wilson, C., O'Ceandly, D., Neyses, L., & Cartwright, E. J., 2017. The plasma membrane calcium ATPases and their role as major new players in human disease. *Physiological reviews*, 97(3), 1089-1125.
- Su, J. H., Cummings, B. J., & Cotman, C. W., 1996. Plaque biogenesis in brain aging and Alzheimer's disease: I. Progressive changes in phosphorylation states of paired helical filaments and neurofilaments. *Brain research*, 739(1-2), 79-87.
- Swallah, M. S., Sun, H., Affoh, R., Fu, H., & Yu, H., 2020. Antioxidant potential overviews of secondary metabolites (polyphenols) in fruits. *International journal of food science*, 2020.
- Swamy, A. V., Patel, N. L., Gadad, P. C., Koti, B. C., Patel, U. M., Thippeswamy, A. H. M., & Manjula, D. V., 2013. Neuroprotective activity of pongamia pinnata in monosodium glutamate-induced neurotoxicity in rats. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 75(6), 657.
- Tang, Y., Lutz, M. W., & Xing, Y., 2019. A systems-based model of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 15(1), 168-171.
- Tanzi, R. E. 2012. The genetics of Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*.
- Thinakaran, G., & Koo, E. H., 2008. Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function. *Journal of Biological Chemistry*, 283(44), 29615-29619.
- Thuy, L. N., Salanta, L., Tofana, M., Socaci, S. A., Fărcaș, A. C., & Pop, C., 2020. A mini review about monosodium glutamate. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 77(1), 1-12.
- Tian, Y., Bassit, B., Chau, D., & Li, Y. M., 2010. An APP inhibitory domain containing the Flemish mutation residue modulates γ -secretase activity for A β production. *Nature structural & molecular biology*, 17(2), 151-158.
- Tuerxun, M., Muhda, A., & Yin, L., 2021. The molecular mechanisms of signal pathway activating effect of E2F-1/NF- κ B/GSK-3 β on cognitive dysfunction of Alzheimer rats. *Biotechnology*, 12(2), 10000-10008.
- Tüzmen, M. N., Yücel, N. C., Kalburcu, T., & Demiryas, N., 2015. Effects of curcumin and tannic acid on the aluminum-and lead-induced oxidative neurotoxicity and alterations in NMDA receptors. *Toxicology mechanisms and methods*, 25(2), 120-127.
- Calis, I. U., Cosan, D. T., Saydam, F., Kolac, U. K., Soyocak, A., Kurt, H., ... & Degirmenci, I., 2016. The effects of monosodium glutamate and tannic acid on adult rats. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 18(10).
- Umukoro, S., Oluwole, G. O., Olamijowon, H. E., Omogbiya, A. I., & Eduviere, A. T., 2015. Effect of monosodium glutamate on behavioral phenotypes, biomarkers of oxidative stress in brain tissues and liver enzymes in mice. *World Journal of neuroscience*, 5(05), 339.
- van den Brink, A. C., Brouwer-Brolsma, E. M., Berendsen, A. A., & van de Rest, O., 2019. The Mediterranean, Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH), and Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) diets are associated with less cognitive decline and a lower risk of Alzheimer's disease—a review. *Advances in Nutrition*, 10(6), 1040-1065.
- Verma, M., Wills, Z., & Chu, C. T., 2018. Excitatory dendritic mitochondrial calcium toxicity: Implications for Parkinson's and other neurodegenerative diseases. *Frontiers in neuroscience*, 12, 523.

- Vik-Mo, A. O., Bencze, J., Ballard, C., Hortobágyi, T., & Aarsland, D., 2019. Advanced cerebral amyloid angiopathy and small vessel disease are associated with psychosis in Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 90(6), 728-730.
- Villemagne, V. L., Burnham, S., Bourgeat, P., Brown, B., Ellis, K. A., Salvado, O., ... & Masters, C. L., 2013. Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *The Lancet Neurology*, 12(4), 357-367.
- Wakabayashi, T., & De Strooper, B., 2008. Presenilins: members of the γ -secretase quartets, but part-time soloists too. *Physiology*, 23(4), 194-204.
- Wallace, L., Theou, O., Rockwood, K., & Andrew, M. K., 2018. Relationship between frailty and Alzheimer's disease biomarkers: a scoping review. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, 10, 394-401.
- Wang, R., & Reddy, P. H., 2017. Role of glutamate and NMDA receptors in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57(4), 1041-1048.
- Weintraub, S., Carrillo, M. C., Farias, S. T., Goldberg, T. E., Hendrix, J. A., Jaeger, J., ... & Randolph, C., 2018. Measuring cognition and function in the preclinical stage of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 4, 64-75.
- Wijayasekara, K., & Wansapala, J., 2017. Uses, effects and properties of monosodium glutamate (MSG) on food & nutrition. *Int J Food Sci Nutr*, 2(3), 132-143.
- Wu, Y., Zhong, L., Yu, Z., & Qi, J., 2019. Anti-neuroinflammatory effects of tannic acid against lipopolysaccharide-induced BV2 microglial cells via inhibition of NF- κ B activation. *Drug Development Research*, 80(2), 262-268.
- Yoo, T., Kim, S. G., Yang, S. H., Kim, H., Kim, E., & Kim, S. Y., 2020. A DLG2 deficiency in mice leads to reduced sociability and increased repetitive behavior accompanied by aberrant synaptic transmission in the dorsal striatum. *Molecular Autism*, 11(1), 1-14.
- Yu, L., Liu, Y. I., Yang, H., Zhu, X., Cao, X., Gao, J., ... & Xu, Y., 2017. PSD-93 attenuates amyloid- β -mediated cognitive dysfunction by promoting the catabolism of amyloid- β . *Journal of Alzheimer's Disease*, 59(3), 913-927.
- Zanfirescu, A., Ungurianu, A., Tsatsakis, A. M., Nițulescu, G. M., Kouretas, D., Veskoukis, A., ... & Margină, D., 2019. A review of the alleged health hazards of monosodium glutamate. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 18(4), 1111-1134.
- Zealand, F., 2003. Monosodium Glutamate, a Safety Assessment. Technical Report Series No. 20 . FSANZ.
- Zhang J.Z., Whang X., 2012. Neural acupuncture unit: a new concept for interpreting effects and mechanisms of acupuncture. *Evidence-based complementary and alternative medicine*.
- Zhang, H., Zhu, S. J., Wang, D., Wei, Y. J., & Hu, S. S., 2009. Intramyocardial injection of tannic acid attenuates postinfarction remodeling: a novel approach to stabilize the breaking extracellular matrix. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 137(1), 216-222.
- Zheng, H., & Koo, E. H., 2006. The amyloid precursor protein: beyond amyloid. *Molecular neurodegeneration*, 1(1), 1-12.
- Zhou, H., & Liu, G., 2015. Regulation of density of functional presynaptic terminals by local energy supply. *Molecular brain*, 8(1), 1-21.

Zilberzwige-Tal, S., & Gazit, E., 2018. Go with the flow—Microfluidics approaches for amyloid research. *Chemistry—An Asian Journal*, 13(22), 3437-3447.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Medine Sibel KARAĞAÇ
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Erzincan Ertuğrul Gazi Anadolu lisesi
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı (2022)
Doktora:	Atatürk Üniversitesi
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Tezden Üretilmiş Yayınlar	