



**STREPTOZOTOSİN (STZ) İLE İNDÜKLENEN DENEYSEL ALZHEİMER
MODELİNDE MORİN VE HESPERİDİNİN OKSİDATİF STRES VE
BİLİŞSEL FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

Umur Tuğcu YILMAZER

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2022

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Umur Tuğcu YILMAZER

14/12/2022

STREPTOZOTOSİN (STZ) İLE İNDÜKLENEN DENEYSEL ALZHEİMER
MODELİNDE MORİN VE HESPERİDİNİN OKSİDATİF STRES VE BİLİŞSEL
FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Umur Tuğcu YILMAZER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2022

ÖZET

Nörodejeneratif bir hastalık olan Alzheimer hastalığı demanslar arasında en yaygın görülen demans tipidir. Diğer birçok hastalıkta olduğu gibi Alzheimer hastalığında da oksidatif stres meydana gelmekte ve nöron hasarının ilerleyişini artırmaktadır. Öte yandan birer fenolik bileşik olan Morin ve Hesperidinin oksidatif stres üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada Morin ve Hesperidinin, streptozotosin (STZ) ile indüklenen deneysel Alzheimer modelinde oksidatif stres ve Bilişsel fonksiyonlar üzerine olan etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla 50 adet wistar albino erkek rat temin edilerek 5 grup oluşturulmuştur; Kontrol grubu (n=10), Alzheimer grubu (n=10), Morin uygulaması yapılan grup (n=10), Hesperidin uygulanan grup (n=10) ve Morin + Hesperidinin birlikte uygulandığı grup (n=10). 40 adet rata stereotaksik cerrahi yoluyla STZ verilerek deneysel Alzheimer modeli oluşturulmuştur. Ratların Alzheimer olduğunu ve bilişsel fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla Morris su tankı (MWM) testi uygulanmıştır. Yedi gün boyunca hesperidin ve morin uygulanmıştır. Bu 7 günlük uygulama sonunda ratlar kurban edilerek beyin dokuları ve kanları alınmış ve dokuda oksidatif stres belirteçleri olan Nitrik Oksit (NOx) ve Protein Karbonilleri (PC) seviyeleri, serumda ise İleri Protein Oksidasyon Ürünleri (AOPP) ve Doublecortin-like kinase-1 (DCLK-1) seviyeleri ölçülmüştür. Yapılan analizler sonucunda Alzheimer grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında NOx, PC ve AOPP seviyeleri sırasıyla 2,57, 2,34 ve 1,55 kat artmıştır. Hesperidin uygulaması yapılan grupta NOx seviyeleri 3,23 kat, PC seviyeleri 2 kat ve AOPP seviyeleri ise 1,37 kat düşmüştür. Morin uygulanan grupta NOx seviyeleri 2,79 kat, PC seviyeleri 1,88 kat ve AOPP seviyeleri 1,43 kat düşmüştür. Morin ve Hesperidinin kombine uygulandığı grupta ise NOx seviyeleri 4,92 kat, PC seviyeleri 1,91 kat ve AOPP seviyeleri 1,49 kat düşmüştür. Tüm gruplarda NOx, PC ve AOPP seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermektedir. DCLK-1 seviyeleri ölçüldüğünde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Elde ettiğimiz veriler doğrultusunda Morin ve Hesperidinin nitrosatif ve oksidatif stresi regüle ederek azalttığı gözlemlenmiştir.

Bilim Kodu : 20317

Anahtar Kelimeler : Alzheimer, Oksidatif stres, Nitrik Oksit, Morris Water Maze, Morin, Hesperidin

Sayfa Adedi : 65

Danışman : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

THE EFFECT OF MORINE AND HESPERIDINE ON OXIDATIVE STRESS AND
COGNITIVE FUNCTIONS IN THE EXPERIMENTAL MODEL OF ALZHEIMER
INDUCED BY STREPTOZOTOCIN (STZ)

(M. Sc. Thesis)

Umur Tuğcu YILMAZER

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

December 2022

ABSTRACT

Alzheimer's disease, a neurodegenerative disease, is the most common type of dementia among dementias. As in many other diseases, oxidative stress occurs in Alzheimer's disease and increases the progression of neuron damage. On the other hand, Morin and Hesperidin, which are phenolic compounds, are known to be effective on oxidative stress. In this study, it was aimed to examine the effects of Morin and Hesperidin on oxidative stress and cognitive functions in an experimental Alzheimer's model induced by streptozotocin (STZ). For this purpose, 50 wistar albino male rats were procured and 5 groups were formed; Control group (n=10), Alzheimer group (n=10), Morin treated group (n=10), Hesperidin administered group (n=10) and Morin + Hesperidin combined group (n=10). Experimental Alzheimer's model was created by giving STZ to 40 rats by stereotaxic surgery. Morris water tank (MWM) test was applied to evaluate Alzheimer's disease and cognitive functions of rats. Hesperidin and morin were administered for seven days. At the end of this 7-day application, the rats were sacrificed and their brain tissues and blood were taken and the levels of Nitric Oxide (NOx) and Protein Carbonyls (PC), which are oxidative stress markers in the tissue, and Advanced Protein Oxidation Products (AOPP) and Doublecortin-like kinase-1 (DCLK) in the serum. -1) levels were measured. As a result of the analysis, NOx, PC and AOPP levels increased 2.57, 2.34 and 1.55 times, respectively, in the Alzheimer group compared to the control group. NOx levels decreased by 3.23 times, PC levels by 2 times and AOPP levels by 1.37 times in the hesperidin treated group. NOx levels decreased 2.79 times, PC levels 1.88 times and AOPP levels 1.43 times in the morin treated group. In the group in which Morin and Hesperidin were combined, NOx levels decreased 4.92 times, PC levels 1.91 times and AOPP levels 1.49 times. NOx, PC and AOPP levels show a statistically significant difference in all groups. When DCLK-1 levels were measured, no statistically significant difference was found between the groups. In line with the data we obtained, it was observed that Morin and Hesperidin reduced nitrosative and oxidative stress by regulating.

Science Code : 20317

Key Words : Oxidative stress, Nitric Oxide, Morris Water Maze, morin, hesperidin, Alzheimer Disease

Page Number : 65

Supervisor : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

TEŞEKKÜR

Akademik hayatım ve çalışmalarım boyunca desteğini ve engin bilgilerini esirgemeyen, tecrübesiyle her zaman yol gösteren sayın hocam ve danışmanın Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER'e; Çalışmalarına ve eğitim hayatıma derin bilgisi ve tecrübeleriyle katkı sağlayan sayın hocalarım Prof. Dr. K. Barbaros BALABANLI'ya, Doç. Dr. A. Seda YAR SAĞLAM'a ve Doç. Dr. Şevin GÜNEY'e; laboratuvar ve tez çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım ve meslektaşlarım, Elif Naz ALVER, Sevim KÖMÜR, Bilge PEHLİVAN, Dr. Doğan Erhan ERSOY, Eren ÇAVUŞOĞLU, Dilara KORKMAZ, Pınar AYDIN'a ve çalışmalarım boyunca yardımları eksik etmeyen GÜDAM ekibine en içten saygı ve sevgilerimle teşekkür ederim.

Akademik hayatım boyunca bana maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve herdaim yanımda olan annem Nazife YILMAZER'e, babam Hacı Adnan YILMAZER'e , ablam Elif Begüm YILMAZ'a ve eniştem Hüseyin YILMAZ'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne projeme verdikleri destekten ötürü teşekkür ederim (BAP Proje Kodu: 05/2020-10).

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Beyin	5
2.1.1. Cerebrum (Serebrum)	5
2.1.2. Diencephalon	7
2.1.3. Beyin sapı	8
2.1.4. Cerebellum (Serebellum, beyincik)	8
2.2. Alzheimer.....	8
2.2.1. Epidemiyoloji	8
2.2.2. Risk faktörleri ve nöropatoloji.....	9
2.2.3. Tanı kriterleri.....	14
2.2.4. Klinik evreleri.....	14
2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	14
2.3.1. Nitrik oksit.....	16
2.3.2. Serbest radikallerin proteinler üzerindeki etkileri	17
2.3.3. Protein karbonil (PC) gruplarının oluşumu	18
2.3.4. İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) oluşumu.....	18

	Sayfa
2.3.5. Doublecortin-like kinase-1 (DCLK-1)	19
2.3.6. Serbest radikallerin lipidler üzerine etkileri	19
2.4. Morin.....	21
2.5. Hesperidin	22
3. MATERYAL & METOT	25
3.1. Yapay Beyin Omurilik Sıvısının (yBOS) Hazırlanması	25
3.2. Deneysel Alzheimer Modelinin Oluşturulması.....	25
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	27
3.4. Yöntem.....	29
3.4.1. Morris su labirenti testi (Morris Water Maze, MWM).....	29
3.4.2. Dokuda nitrik oksit (NOx) tayini	30
3.4.3. Dokuda protein karbonil tayini.....	31
3.4.4. Serumda ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) tayini	33
3.4.5. Serumda doublecortin like kinaz-1 (DCLK-1) tayini.....	33
4. BULGULAR.....	35
4.1. Moris Su Labirenti (Moris Water Maze, MWM) Test Bulguları	35
4.2. Biyokimyasal Parametrelerin Tayin Sonuçları	36
4.2.1. Beyin dokusunda nitrik oksit (NOx) düzeyleri	36
4.2.2. Beyin dokusunda protein karbonil (PC) düzeyleri	38
4.2.3. Serum AOPP düzeyleri.....	39
4.2.4. Serum DCLK-1 düzeyleri.....	41
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	65

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Reaktif oksijen (ROT) ve nitrojen türleri (RNT) ve oksidanlar	15
Çizelge 4.1. Moris su labirenti (moris water maze, MWM) test bulguları	35
Çizelge 4.2. Beyin dokularında nitrik oksit (NOx) düzeyleri analiz bulguları	37
Çizelge 4.3. Beyin dokularında protein karbonil (PC) düzeyleri analiz bulguları.....	38
Çizelge 4.4. Serumda AOPP düzeyleri analiz bulguları.	39
Çizelge 4.5. Serumda DCLK-1 düzeyleri analiz bulguları.	41

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. Moris water maze (MWM) testi platformu bulma süreleri.	36
Şekil 4.2. Beyin dokularında NOx düzeyleri	37
Şekil 4.3. Beyin dokularında NOx düzeyleri	39
Şekil 4.4. Serumda ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) düzeyleri	40
Şekil 4.5. Serumda doublecortin like kinase-1 (DCLK-1) düzeyleri.....	41

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Beynin iç yapısı	6
Resim 3.1. Ratın stereotaksi tablasına yerleştirilmesi	26
Resim 3.2. Ratın kafasına açılan insizyon sonrası bregma noktası ve koordinatın belirlenmesi	27
Resim 3.3. Deney zaman çizelgesi	29

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
β	Beta
α	Alfa
γ	Gamma
μ	Mikro
cm	Santimetre
nm	Nanometre
mg	Miligram
kg	Kilogram
ml	Mililitre
M	Molar
mM	Milimolar
nmol	Nanomol
RPM	Bir dakikadaki dönüş hızı
RCF	Göreceli santrifüj kuvveti
sn	Saniye
dk	Dakika
Kısaltmalar	Açıklamalar
AH	Alzheimer Hastalığı
NFY	Nörofibriler yumaklar
RNT	Reaktif nitrojen türleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
STZ	Streptozotosin
yBOS	Yapay beyin omurilik sıvısı
BOS	Beyin omurilik sıvısı

Kısaltmalar**Açıklamalar**

NO_x	Nitrik oksit
PC	Protein karbonilleri
AOPP	İleri oksidasyon protein ürünleri
DCLK-1	Doublecortin like kinase-1
İ.C.V	İntraserebroventriküler
İ.P.	İntra peritonel
APP	Amiloid prekürsör proteini
CDK5	Siklin bağımlı kinaz - 5
GSK-3β	Glikojen sentaz kinaz – 3 beta
TNF	Tümör nekroz faktörü
PS1	Presenilin -1
PS2	Presenelin -2
ApoE	Apolipo protein E2
IL-1	İnterlökin -1
IL-2	İnterlökin -2
NMDA	N-metil d aspartat
MPO	Miyelo peroksidaz
TACE	Tümör nekroz faktörü alfa dönüştürücü enzimi
FLA2	Fosfolipaz A2
HPETE	Hidroperoksi eikosatetraenoik asit
HETE	Hidroksi eikosatetraenoik asit
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
IAPP	Adacık amiloyid polipeptidi
BACE-1	Beta sekretaz enzim -1
Asp2	Aspartil proteaz-2
PGE-2	Prostoglandin E2
İNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

1. GİRİŞ

Alzheimer Hastalığı (AH) merkezi sinir sistemini etkileyen, sinsi başlangıçlı hafıza problemleri ile birlikte gelişim gösteren bilişsel işlevlerde bozulma, nöropsikiyatrik belirtiler ve işlev kaybı ile karakterize olan progresif nörodejeneratif bir hastalıktır (Hardiman ve diğ. 2016; Müller ve diğ. 2019). Nörodejenerasyon; Sinir hücrelerinin yapısal ve işlevsel olarak zarar görmesidir (Shamim, 2012). Bunun birçok sebebi olabilir örneğin: doğum sırasında meydana gelen bir hasarla, genetik etmenlerin etkisi ve yaşlanma ile ortaya çıkabilir (Avila ve diğ. 2011).

AH demansın görülen en sık nedenlerinden biridir (Akdağ ve diğ. 2019; Hardiman ve diğ. 2016; Hill ve diğ. 2009). AH, DSM ve NINCDS-ADRDA (Natioanal Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) tanı kriterleri olan bellek, lisan, uzamsal algı, dikkat, yürütücü işlevler, oryantasyon, problem çözme becerisi ve işlevsellik alanlarından en az ikisinde bozukluk olması sonucu “olası Alzheimer hastalığı” tanısı konulmaktadır (McKhan ve diğ. 2011).

Alzheimer hastaları, erken, orta ve ileri evre olmak üzere üç evreye ayrılmaktadır. Erken evrede, temel problem bellek bozukluğudur. Bu evrede hastalar günlük rutin işlerini yapabilmektedirler fakat bazı zorlayıcı işlerde başarısız olmaktadırlar. Orta evrede ise afazi, apraksi gibi bilişsel hasarlar artmaktadır. Hastalar ev işlerinde zorlanmaktayken, dışarıdaki aktivitelerini yapamamaktadır ve günlük yaşam olaylarında problemlerle karşılaşmaktadır. İleri evre Alzheimer hastalarında motor işlevlerde problemler, postür bozuklukları ve yürüşte sıkıntılar görülmekte bu da tam bağımlılığa sebep olmaktadır (Söylemez, 2013).

AH makroskopik olarak özellikle beynin korteks ve hipokampus bölgelerinde gelişen diffüz atrofi ile karakterizedir (Elmacı, 2012). Alzheimer hastalarının otopsi örneklerinden elde edilen sonuçlara göre hastalığın histopatolojisinde hücre içerisinde birikim gösteren nörofibriler yumaklar (NFY), hücreler arasında birikim gösteren amiloid plaklar, granülovakuolar dejenerasyon, sinaps kaybı ve Meynert'in bazal nükleusu, hipokampus, asosiasyon korteksinde kolinergic hücre kaybı ve Hirano cisimcikleri gözlenmektedir (Elmacı, 2012; Hardiman ve diğ. 2016; Perl, 2010; Hawkins and Duchon, 2019). Bazı

durumlarda bu parankimal lezyonlar ile birlikte serebral amiloid anjiyopati de AH'na eşlik etmektedir. Bir diğer bulgu ise ilerleyici nöron ve sinaps kaybıdır (Meraz-Rios ve diğ. 2010; Haass ve Selkoe, 2007). AH ile ilgili yapılan genetik çalışmalarda ailesel geçişli Alzheimer hastalığında AH ile ilişkili genlerin amiloid beta oluşumunda rol oynadığını göstermiştir (Saka, 2010).

A β 'nın lipid peroksidasyonunu artırması sonucu reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) ortaya çıkar. Mitokondrinin işlevi bozulduğu zaman ROT'lar artmaya başlar ve oksidatif stres iyice belirginleşir (Good ve diğ. 1996; Smith ve diğ. 1996). Yapılan tüm deney modellerinde meydana gelen oksidatif hasar sonucu patolojik değişikliklerin başlamasına neden olmuştur (Nunomura ve diğ. 2001). Mitokondri içerisinde bulunan hidrojen peroksit sitoplazmaya geçtiğinde var olan metal iyonlarının katalizi eşliğinde radikal türleri meydana getirir. Hücre içi ve hücre dışı birçok molekül artan ROT ve RNT'in potansiyel hedefleri haline gelir. Örneğin, lipidler, karbonhidratlar, proteinler, nükleis asitler gibi moleküller ROT ve RNT'den etkilenir. Hücre zarında meydana gelen lipid peroksidasyonu sonucu oluşan toksik aldehitler mitokondriyal enzimleri etkileyerek yapılarının bozulmasına yol açar. Bununla birlikte protein oksidasyonu arttığı için hücre zarında kalsiyum iyonlarına karşı geçirgenlik artar bu da hücre içi iyon dengesini ve glukoz taşınımını bozar sonuçta üretilen enerji yetmemeye başlar. Hücre içindeki konsantrasyonu artan metal iyonları ROT'larla etkileşerek nörodejenerasyonu artırır (Praticò, 2008). Beynin yapısı lipid bakımından zengin olduğu için ve çok yüksek oksijen tüküttiği için oksidatif stres ve onun oluşturduğu hasardan çok çabuk etkilenmektedir (Elmacı, 2012).

Polifenolik bileşiklerin en zengin sınıfı flavonoidlerdir. Bu doğal polifenolik bileşikler meyvelerde, tahıllarda, bitki yapraklarında, ağaç ve bitki köklerinde, ağaç kabuklarında, bitki saplarında, çiçeklerde, çayda ve şarapta yaygın olarak bulunmaktadır (Nijveldt ve diğ. 2001). Geleneksel tıpta flavonoid içeren birçok bitki türü sıklıkla kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan beslenme çalışmaları, bu flavonoidlerin, özellikle yaşlılarda ve bilişsel işlev bozukluğu olanlarda nörodejenerasyonu engellediğini ve geciktirdiğini öne sürmektedir (Schroeter ve diğ. 2002). Ayrıca, birçok çalışma, flavonoller, flavonlar ve doğal polifenolün A β agregasyonuna karşı koruyucu etkilerini bildirmiştir (Commenges ve diğ. 2000; Ko ve diğ. 2005).

Flavonoidler, antioksidan, antienflamatuar ve anti apoptotik etkileri nedeniyle nörodejeneratif bozukluklar için faydalı bileşikler olarak kabul edilir (Zhao, 2005; Jung ve diğ. 2017; Lan ve diğ. 2017).

Morin, flavonoller grubuna giren bir flavonoidtir (Lotito ve Frei 2006; Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn 2007; Caselli ve diğ. 2016). Yapılan çalışmalarda morin'in Antioksidan (Hanasaki ve diğ. 1994; Wang ve diğ. 2006; Subash ve Subramanian 2009), Antikarsinojenik (Denda ve diğ. 1989; Kawabata ve diğ. 1999; Brown ve diğ. 2003; Sivaramakrishnan ve diğ. 2008; Sreedharan ve diğ. 2009), Sitoprotektif (Zhang ve diğ. 2009; Zhang ve diğ. 2010), gibi birçok etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Hesperidin narenciye meyvelerinde bol miktarda bulunan bir fitoflavanondur ve kan-beyin bariyerini kolayca geçebilmektedir (Salem ve diğ. 2012; Gaur ve diğ. 2011). Hesperidin'in antioksidan, antienflamatuar ve antiapoptotik gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri bulunmaktadır (Kumar ve Kumar, 2010; Raza ve diğ. 2011; Ikemura ve diğ. 2012). Yapılan araştırmalarda Hesperidin'in Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı karşı nöroprotektif etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Tamilselvam ve diğ. 2013; Kumar ve Kumar, 2010). Jangra ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ratlarda $AlCl_3$ ile indüklenen deneysel Alzheimer hastalığı modelinde Hesperidin ve silibinin hipokampustaki oksido-nitrosatif stres ve inflamasyona karşı nöroprotektif etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir (Jangra ve diğ. 2015).

Bu bağlamda, yapılan bu çalışmada ratlara stereotaksik cerrahi yoluyla intracerebroventriküler (i.c.v.) olarak yapay beyin omurilik sıvısı (yBOS) içerisinde çözülerek hazırlanan streptozotosin (STZ) enjekte edilerek ratlarda deneysel Alzheimer hastalığı modeli oluşturulmuş ve Hesperidin ile Morin uygulanarak bu iki fenolik bileşiğin oksidatif stres üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Hesperidin ve Morin'in oksidatif stres üzerine olan etkilerini incelemek için beyin dokusunda nitrik oksit (NO_x) ve protein karbonilleri, serumda ise ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) ve Doublecortin Benzeri Kinaz 1 (DCLK-1) düzeylerinin ölçümü amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

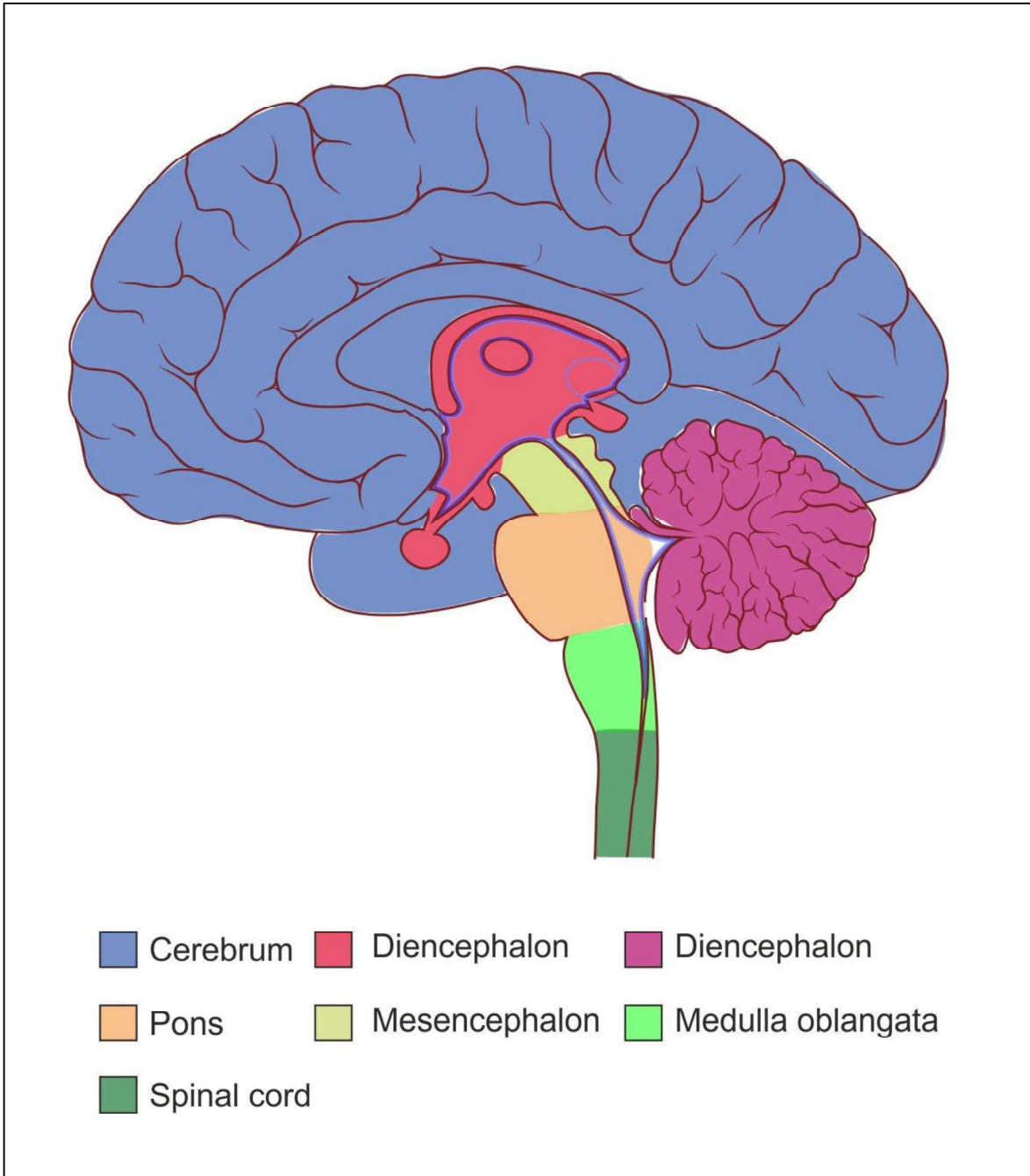
2.1. Beyin

Bir insanda ortalama olarak 100 trilyon hücre olduğu bilinmektedir ve bu 100 trilyon hücrenin yaklaşık olarak 100 milyarı insan için hayati öneme sahip olan beyni oluşturur. Latince *cavum cranii* olan kafatası boşluğunda yer alır ve başlıca dört bölgede incelenir (Aktümsek, 2017).

- 1- Cerebrum (Serebrum)
- 2- Diencephalon
 - a. Talamus
 - b. Hipotalamus
 - c. Epitalamus
 - d. Subtalamus
- 3- Beyin sapı
 - a. Mesencephalon (Orta beyin)
 - b. Pons (Köprü)
 - c. Medulla oblongata (Omurilik soğanı)
- 4- Cerebellum

2.1.1. Cerebrum (Serebrum)

Serebrum düşünme işlevini gerçekleştiren ve sinir sisteminin kontrol edildiği bir organdır. Bilinçle ilişkili olan algı, iletişim, anlama ve hafıza gibi işlevlerin gerçekleşmesini sağlar. Longitudinal fissur serebrumu boydan boya geçerek serebrumu sağ ve sol olmak üzere iki hemisfere ayırır. Hemisferler bir korteks, beyaz madde ve basal gangliadan meydana gelirler. 0.25 m^2 lik yüzey alanına sahip olan ve serebrumun tüm kıvrımlarını örten 2 ila 5 mm kalınlığında ince bir nöron tabakası olan serebral korteks işlevsel açıdan çok önemlidir. Merkezi sinir sistemiyle ilişkili olan hücrelerin büyük bir kısmı burada yer almaktadır. Serebral korteks altı lobdan oluşmaktadır; iskelet kaslarının kontrolünden sorumlu olan frontal lob, sıcaklık, temas, titreme, ağrı gibi duyuların algılanmasını sağlayan parietal lob, görme duyusunun algılanmasında görevli olan temporal lob, ses ve koku duyusunun algılanmasında rol oynayan oksipital lob, önemli işlevleri olan limbik lob ve insula (Aktümsek, 2017).



Resim 2.1. Beynin iç yapısı (Wikimedia, 2022)

Hemisferler girus ve sulkus denilen amacı yüzey alanını genişletmek olan bir takım girinti ve çıkıntılar ihtiva eder. Bu girinti ve çıkıntılar her ne kadar birbirine benziyor gibi görünse de insandan insana bazı farklılıklar bulunur (Aktümsek, 2017).

Hemisferlerin her biri vücudun zıt tarafını kontrol etmektedir. Sağ hemisfer sol elin kontrolü, görme işlevi ve hayal kurma, müzik ve sanat yetenekleri, Yüzün ve üç boyutlu objelerin tanınmasından ve algının tamamlanmasında sorumludur. Sol hemisfer ise sağ elin

kontrolü, yazım dili, konuşma, düşünce, çözümleme, mantık, bilimsel ve sayısal yetenekten sorumludur (Aktümsek, 2017).

Limbik sistem: Limbik lob, amygdala, hippokampus, orta beyin ve hipotalamustan oluşur. Fonksiyonları ise özetle: duygusal durumlar ve ona bağlı oluşan davranışların ifade edilmesi. Bilinçli-bilinçsiz davranışların ve beyin sapının otonomik işlevleri. Hafızaya edinilen bilgilerin alınması ve çağırılması işlevlerinin kolaylaştırılmasıdır (Aktümsek, 2017).

2.1.2. Diencephalon

Serebral hemisferler ile orta beyin arasında bulunan beynin iç kısmıdır ve yerleşim yeri üçüncü ventriküldür. Dört bölümden oluşmaktadır:

Talamus: yaklaşık 3 cm ebatında olan ve diencephalonun %80'ini kaplayan talamus koku duyusu hariç diğer tüm duyu iletilerinin serebral kortekse ulaşmadan evvel modifiye ve integre edildiği kısımdır. Çevresel uyaranların ve tehditlerin farkında olma, bu durumlara karşı hazırlıklı olma ve dikkat gibi birçok fonksiyonunda sağlanmasında ve düzenlenmesinde önemli bir rolü vardır. Talamusta işitme, basınç, titreme, sıcak-soğuk, dokunma, tatma, ağrı ve görme farklı görevlere sahip birçok çekirdek bulunmaktadır (Aktümsek, 2017).

Hipotalamus: Çok sayıda görevi bulunan çekirdekleri barındıran hipotalamus üçüncü ventrikülün lateral duvarlarının alt bölgelerini ve tabanını kaplar. Hipotalamus otonomik kontrol, sıvı alımının düzenlenmesi, endokrin kontrol, termoregülasyon, sirkadyen ritim, gıda alımının kontrolü, emosyonel davranışlar, seksüel davranışlar ve üreme gibi birçok önemli işlevlere sahiptir (Aktümsek, 2017; Taner, 2018: 186).

Epitalamus: Pineal cisim adı verilen ve melatonin hormonunu salgılayan endokrin bezin yer aldığı epitalamus, diencephalonun arka üst bölümüdür (Aktümsek, 2017; Taner, 2018: 200).

Subtalamus: Motor aktivitelerden sorumlu olan subtalamus, talamusun ventralinde yer almaktadır (Aktümsek, 2017; Taner, 2018: 203).

2.1.3. Beyin sapı

Yaşamın sürdürülmesinde önemli rolü olan beyin sapı omurilik ile serebrum arasında bir köprü oluşturur. Serebrumdan çıkan (birinci ve ikinci çift dışında) tüm kranial sinirlerin çıkış noktasıdır. Medulla oblongata (omurilik soğanı), pons (köprü) ve mesencephalon (orta beyin) oluşur. Medulla oblongata kardiyovasküler ve solunum olaylarından sorumlu olduğu için hayati öneme sahiptir. Ponsa yerleşim gösteren retiküler formasyonda yer alan nefes alınının ayarlandığı merkezler bulunmaktadır ve medulla oblongatada bulunan solunum merkezleri ile birlikte hareket eder. Mesencephalon görme ve işitme organlarından gelen bilgiler ve bunların tetiklediği reflekslerden sorumludur. Dopamin hormonunun salgılandığı mesencephalon zarar gördüğü zaman Parkinson hastalığı oluşmaktadır (Aktümsek, 2017).

2.1.4. Cerebellum (Serebellum, beyincik)

Beyin sapının arkasında yer alan ve vücudun duruşunu, dengesini ve kas hareketlerini ayarlamakla görevli olan serebellum bu önemli görevleri yerine getirirken gözlerden yardım almaktadır. Serebellumun zarar görmesi sonucunda mesafenin ayarlanamaması, hareketlerin koordinasyonunda bozukluk, karmaşık hareketler, konuşmanın bozulması ve aksiyon tremoru gibi birçok bozukluk ortaya çıkmaktadır (Aktümsek, 2017).

2.2. Alzheimer

2.2.1. Epidemiyoloji

Demans hastalıklarının en sık görülen nedenlerinden biri Alzheimer hastalığı (AH)'dır (Yüksel, 2000; Akdağ ve diğ. 2019). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) AH'nı öncelikli küresel halk sağlığı problemi olarak kabul etmektedir (Lane ve diğ. 2018). Yapılan bir çalışmada, günümüzde dünya çapında yaklaşık 44 milyon demanslı hastanın yaşadığı ve bunun en büyük sebebinde AH olduğu bildirilmektedir. Son yıllarda Amerika'da yaklaşık 5 milyonun üzerinde Alzheimer hastası yaşamaktadır. Sürekli olarak artan yaşlı nüfus ile birlikte 2050 yılında bu sayının 13,8 milyona yükseleceği tahmin edilmektedir (Marquez ve Yassa, 2019). İngiltere ve Galler'de yapılan çalışmalarda, 2015'de demans kaynaklı ölümlerin oranı % 11,6'dır. Demanslı hastaların yaklaşık %50 ila %75'ine AH tanısı

konmuştur ve bu durum 65 yaş ve üzerinde 5 yılda bir ikiye katlanmaktadır (Lane ve diğ. 2018). Ülkemizde ise TÜİK'in ölüm nedeni istatistiklerine göre, Alzheimer hastalığından hayatını kaybeden yaşlıların sayısı, 2013 yılında 8 bin 797 iken 2019 yılında 13 bin 740'a yükseldi (TÜİK, 2019; Sağlık Bakanlığı, 2020). Engelli ve Yaşlı Hizmetler Genel Müdürlüğü'nün ölüm nedeni istatistiklerine göre Alzheimer hastalığından ölen yaşlıların oranı 2015 yılında %4,3 olarak tespit edilen bu oran 2019 yılında da %4,3 olarak ölçüldü. Alzheimer hastalığından ölen yaşlıların oranı cinsiyete göre incelendiğinde, erkeklerde düşüş gözlenirken kadınlarda artış olduğu görüldü. Alzheimer hastalığından ölen yaşlıların oranı 2015 yılında erkeklerde %3,4, kadınlarda %5,2 iken bu oranlar 2019 yılında erkeklerde %3,2'ye düşerken, kadınlarda ise %5,4'e yükseldi (Engelli ve Yaşlı Hizmetler Genel Müdürlüğü, 2020).

Sağlık bakanlığının yayınladığı 2018 ve 2020 yılı sağlık istatistikleri yılına göre 2016'da 65 yaş ve üzerindeki kişilerin son 12 ay içerisinde geçirdiği sağlık sorunlarında Alzheimer hastalığının oranının cinsiyete göre dağılımı Erkeklerde %5,1 ve Kadınlarda %6,1 olmak üzere toplam nüfusta %5,6 olarak belirlenirken, 2019 yılında bu oranlar Erkeklerde %6'ya yükselirken, Kadınlarda %6'ya gerilemiş ve toplam nüfusta ise %6 ya yükselmiştir. (Sağlık Bakanlığı, 2018; Sağlık Bakanlığı, 2020).

2.2.2. Risk faktörleri ve nöropatoloji

AH makroskobik olarak özellikle beynin korteks ve hipokampus bölgelerinde gelişen diffüz atrofi ile karakterizedir (Elmacı, 2012). Alzheimer hastalarının otopsi örneklerinden elde edilen sonuçlara göre hastalığın histopatolojisinde hücre içerisinde birikim gösteren nörofibriler yumaklar (NFY), hücreler arasında birikim gösteren amiloid plaklar, granülovakuolar dejenerasyon, sinaps kaybı ve Meynert'in bazal nükleusu, hipokampus, asosiasyon korteksinde kolinerjik hücre kaybı ve Hirano cisimcikleri gözlenmektedir (Elmacı, 2012; Hardiman ve diğ. 2016; Perl, 2010; Hawkins and Duchen, 2019). Bazı durumlarda bu parankimal lezyonlar ile birlikte serebral amiloid anjiyopati de AH'na eşlik etmektedir. Bir diğer bulgu ise ilerleyici nöron ve sinaps kaybıdır (Meraz-Rios ve diğ. 2010; Haass ve Selkoe, 2007).

AH ile ilgili yapılan genetik çalışmalarda ailesel geçişli Alzheimer hastalığında AH ile ilişkili genlerin amiloid beta oluşumunda rol oynadığını göstermiştir (Saka, 2010).

Amiloid prekürsör proteini (APP) 19. Kromozomda kodlanan bir hücre zarı proteinidir. Proteolitik enzimler tarafından kesilerek oluşturulan β -amiloid peptidi APP'nin bir parçası ve amiloid plakların temel bileşenidir (Oddo ve diğ. 2003; Gotz ve diğ. 2001). APP'nin proteolitik kesim işlevi sinirsel aktivite ile düzenlenmektedir ve bu proteolitik enzimler şunlardır; γ -sekretaz, β -sekretaz (BACE1/asp2/memapsin2) veya α -sekretaz (TACE: TNF α -converting enzyme)'dir (Haass ve Selkoe, 2007; Cirrito ve diğ. 2005; Kim ve diğ. 2009; Oddo ve diğ. 2003; Gotz ve diğ. 2001). APP'nin üç kısmı bulunmaktadır bunlar; zarın hücre içine bakan kısmında karboksi ucu, 28 amino asitten oluşan ve hücre zarı boyunca olan kısım ve hücre zarının dışına bakan kısmında bulunan amino ucu'dur (Oddo ve diğ. 2003; Gotz ve diğ. 2001). Normal insanlarda, α -sekretaz, APP'nin hemen hemen orta kısmına tekabül eden transmembran kısmına 12 aminoasit uzaklıkta olan bir noktadan keser ve çözülebilir formda α -APP parçaları oluşur ve hücreler arası boşluğa bırakılır. Bir başka durumda ise β -sekretaz APP proteininin amino ucuna yakın kısımdan keserek β -APP oluşturur. γ -sekretaz, β -sekretaz ya da α -sekretaz'ın keserek oluşturduğu parçaları tekrar keser. Bu ikinci kesim işleminde APP'yi ilk kesen enzim β -sekretaz ise A β peptidi oluşur, α -sekretaz ise p3 fragmenti oluşur (Haass ve Selkoe, 2007; Kim ve diğ. 2009). A β peptidi 40-42 amino asit uzunluğundadır. Amiloidojenik potansiyel en fazla olan 42 amino asit uzunluğunda olan formudur. A β 40 monomerlerinin çökelme potansiyelleri yüksektir, bu monomerler 2-6 peptidlik sağlam yapıli oligomerlere dönüşerek hücreler arası boşlukta birikirler. Daha sonra nöritik plakların temel bileşeni olan amiloid β diffüz plaklar şeklinde çökeler (Oddo ve diğ. 2003; Gotz ve diğ. 2001). AH'da ise A β peptidi ya çok hızlı üretildiği ya da bu peptidin temizlenmesinde bir problem olduğu tahmin edilmektedir (Haass ve Selkoe, 2007; Kim ve diğ. 2009).

Mikrotübüllerin organizasyonu ve stabilizasyonunda görev alan temel protein Tau proteinidir. Mikrotübüller hücre şeklinin ve yapısının oluşturulmasından, akson ve dentritlerde gerçekleşen transport aktivitesinin devamlılığından sorumlu olan hücre iskeleti elemanlarıdır. Bu bilgilere göre Tau proteini dolaylı olarak hücre yapısının korunmasında ve aksonal iletimde görevlidir. Tau proteininin nükleolar yapının şekillenmesinde de rol aldığı iddia edilmektedir. Tau proteini 17. kromozomda kodlanmaktadır. Tau proteini sentezlendikten sonra fosforilasyon, nitrasyon gibi bir takım değişikliklere uğramaktadır. AH patogenezinde bu proteinin hiperfosforilasyonu da rol oynamaktadır. Hiperfosforile tau proteini mikrotübüllere bağlanamadığı için birbirlerine bağlanarak ikili helikal filamentler ve düz filamentler oluşturmaktadır. AH semptomları ile ilişkili olan entorhinal

korteks, hipokampus, parahipokampus, amigdala, kortikal asosiasyon alanları ve subkortikal çekirdeklerde tau agregatlarının oluşumu gözlenmektedir (Meraz-Rios ve diğ. 2010; Sjöberg ve diğ. 2006). Agregate haldeki tau proteinleri nöro fibriler yumakların (NFY) temel bileşenini oluşturmaktadır. NFY birikiminin fazlalığı AH'ın ne derece ileri olduğuna bağlıdır. A β birikimi gibi NFY'da aksonal transportu bozar (Santacruz ve diğ. 2005; Andorfer ve diğ. 2003). Beyin omurilik sıvısında (BOS) total tau ve fosforile tau düzeylerinin artması NFY oluşumunun bir göstergesidir. BOS'da total ve fosforile tau seviyelerinin artması günümüzde AH'da bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (Mattsson ve diğ. 2009).

Tau'nun hiperfosforilasyonuna sebep olan kinaz aktivitesi tam olarak aydınlatılamamıştır. CDK5 kinazı tau da dahil olmak üzere birçok hücre iskeleti proteinini fosforile etmektedir. CDK5'in aşırı aktivasyonunun tau hiperfosforilasyonunda ve nörodejeneratif süreçten sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ayrıca A β 'nın CDK5'in aşırı aktive olmasında rol oynadığı öne sürülmektedir. Tau'nun fosforilasyon sürecinde bir diğer önemli proteinde GSK-3 β 'dir. AH patogenezinin sebep olan bir diğer durum ise hiperfosforile tau proteinlerinin toksik işlev kazanmasıdır. Çünkü biriken tau agregatları programlı hücre ölümünü (apoptozis) tetiklemektedir (Crews ve Masliah, 2010; Wang ve Liu, 2008).

Otozomal dominant geçişli erken başlangıçlı AH'da başlıca üç adet gen tanımlanmıştır. Bunlar, amiloid prekürsör proteinini kodlayan APP (21. kromozomda), γ -sekretaz'ın katalitik alt birimi olan presenilini kodlayan Presenilin-1 (PS1) ve Presenilin-2 (PS2) (14. kromozomda) genleridir. APP geninde 20 den fazla, PS1 geninde 178 ve PS2 geninde 14 farklı mutasyon tanımlanmıştır (Oddo ve diğ. 2003; Gotz ve diğ. 2001; Bettens ve diğ. 2010).

Geç başlangıçlı AH çok daha sık görülmektedir ve multipl genetik risk faktörleri rol oynamaktadır. Apolipoprotein E (ApoE) geni kolesterolün taşınmasında, metabolize edilmesinde ve depolanmasında görevli olan bir serum proteinini kodlar. Bu protein A β peptidine bağlanabilmektedir bu özelliğinden dolayı amiloid plaklarda çok fazla miktarda bulunurlar. ApoE geninin en çok bilinen alelleri ϵ 2, ϵ 3 ve ϵ 4 dür. Yapılan diğer çalışmalarda ϵ 4 alelinin AH için bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir. ϵ 4 alelinin tek kopyasını taşıyan kişilerde AH riski yaklaşık 4 kat, çift ϵ 4 aleli taşıyan kişilerde ise AH riski yaklaşık 12 kat artmaktadır. ApoE geninin ϵ 4 aleli bulunan kişilerde hastalığın

görölme yaşı düşerken, $\epsilon 2$ aleli ise kişileri hastalığa karşı korumaktadır. ApoE'nin taunun hiperfosforile edilmesinden ve birikiminden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Strittmatter ve diğ. 1993; Corder ve diğ. 1993; Roses, 1996).

AH'da amiloid ve tau birikimlerinin sebep olduğu bir diğ er önemli fizyopatolojik sorun da sinaptik hasarlardır. Bu hasar hafif bilişsel bozuklukla beraber hipokampal sinapslarda düşüş gözlenmekte ve ileri evrelerde görülen ağır demans bulgularına zemin hazırlamaktadır (Selkoe, 2002; Scheff ve diğ. 2007).

Potansiyel bir mitokondrial zehir olan A β , beyinde ve mitokondrilerde bulunan sitokrom c oksidaz da dahil olmak üzere birçok enzimi inhibe etmektedir (Mungarro ve diğ. 2002; Hauptmann ve diğ. 2006; Reddy ve Beal, 2008). Bununla birlikte mitokondrinin önemli işlevlerinden olan elektron transport zinciri, ATP üretimi, oksijen tüketimi ve membran potansiyeli bozulur (Caspersen ve diğ. 2005). Bununla birlikte mitokondri içinde oluşan süperoksit radikalleri hidrojen peroksit e dönüşür ve oksidatif stres gelişir, sitokrom c serbestlenerek aktive olmuş protezlar ile kompleks oluşturur bu da kaspaz aktivasyonuna yol açarak fagositozu başlatır. Bu olayların sonunda nükleusun hasar görmesi sonucu apoptotik hücre ölümü gerçekleşir (Elmacı, 2012).

A β 'nın lipid peroksidasyonunu artırması sonucu reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) ortaya çıkar. Mitokondrinin işlevi bozulduğu zaman ROT'lar artmaya başlar ve oksidatif stres iyice belirginleşir (Good ve diğ. 1996; Smith ve diğ. 1996). Yapılan tüm deney modellerinde meydana gelen oksidatif hasar sonucu patolojik değişikliklerin başlamasına neden olmuştur (Nunomura ve diğ. 2001). Mitokondri içerisinde bulunan hidrojen peroksit sitoplazmaya geçtiğinde var olan metal iyonlarının katalizi eşliğinde radikal türleri meydana getirir. Hücre içi ve hücre dışı birçok molekül artan ROT ve RNT'in potansiyel hedefleri haline gelir. Örneğin, lipidler, karbonhidratlar, proteinler, nükleis asitler gibi moleküller ROT ve RNT'den etkilenir. Hücre zarında meydana gelen lipid peroksidasyonu sonucu oluşan toksik aldehitler mitokondriyal enzimleri etkileyerek yapılarının bozulmasına yol açar. Bununla birlikte protein oksidasyonu arttığı için hücre zarında kalsiyum iyonlarına karşı geçirgenlik artar bu da hücre içi iyon dengesini ve glukoz taşınımını bozar sonuçta üretilen enerji yetmemeye başlar. Hücre içindeki konsantrasyonu artan metal iyonları ROT'larla etkileşerek nörodejenerasyonu artırır (Praticò, 2008). Beynin yapısı lipid bakımından zengin olduğu

için ve çok yüksek oksijen tüküttiği için oksidatif stres ve onun oluşturduğu hasardan çok çabuk etkilenmektedir (Elmacı, 2012).

İnsülin sinyalizasyonunun, sinapsların korunmasında ve enerji dengesinin kurulmasında önemli bir yeri vardır. İleri evre AH olgularında insülin seviyeleri artarken, glikoz ve insülin reseptörleri ile birlikte glukoz taşıyıcı proteinlerde de düşüş gözlemlenmiştir. Tip-2 diyabet ve glukoz intoleransı AH için bir risk faktörüdür (Craft ve diğ. 1998; Arvanitakis ve diğ. 2004).

İnflamasyon, A β , NFY ve hasara uğrayan nöronlar tarafından tetiklenir. Beyinde aktive mikroglialar ve reaktif astrositler ile birlikte bunların biyobelirteçleride beyinde artış gösterir (Wyss-Coray ve Mucke, 2002). Mikroglialar tarafından bazı kemokinler (IL-1, IL-2 ve TNF α) salınır (Akiyama ve diğ. 2000). Kemokinler monositlerin periferik kandan beyne göç etmelerini sağlar. Klasik kompleman yolunu, fibriller, A β ve glial aktivasyon tetikler. Uyarılmış olan astroglialardan akut faz reaktanları olan prostoglandinler, C reaktif protein ve α -2 mikroglobülin salgılanarak inflamatuvar yanıtı, miyelin hasarını ve apoptozisi tetikleyerek hücrenin ölümüne yol açarlar. Aynı zamanda inflamatuvar yanıt ve oksidatif hasar kan beyin bariyerinin bozulmasında da rol oynar (Elmacı, 2012).

Birçok nörodejeneratif hastalıkta olduğu gibi AH'da da kalsiyumun düzenlenme mekanizması bozulur. Kalsiyumun hücre içi konsantrasyonundaki artış A β 'nın birikimine tetikler (Isaacs ve diğ. 2006; Pierrot ve diğ. 2004). Normalde presenilinler kalsiyum dengesini düzenlerler fakat presenilin genindeki mutasyonla birlikte ortaya çıkan erken başlangıçlı Alzheimer hastalığında, endoplazmik retikulumun kalsiyum dengesi bozularak A β 42 artmaya başlar daha sonra ise hücre içine büyük miktarlarda kalsiyum akışı gerçekleşir (LaFerla, 2002).

Glutamat beyinde temel uyarıcı bileşenlerden biridir. Glutamatın presinaptik ve postsinaptik reseptörleri Alzheimer fizyopatogenezinde rol oynamaktadır. Postsinaptik NMDA reseptörlerinin aktivasyonu sonucu artan glutamat, voltaj kapılı kalsiyum kanallarını açarak endoplazmik retikulum içerisinde deponlanmış kalsiyumu sitozole salar bununla beraber APP üretimi artar buda plak ve yumak oluşumunu tetikler (Elmacı, 2012).

2.2.3. Tanı kriterleri

Alzheimer Hastalığı (AH) merkezi sinir sistemini etkileyen, sinsi başlangıçlı hafıza problemleri ile birlikte gelişim gösteren bilişsel işlevlerde bozulma, nöropsikiyatrik belirtiler ve işlev kaybı ile karakterize olan progresif nörodejeneratif bir hastalıktır (Hardiman ve diğ. 2016; Müller ve diğ. 2019). AH demansın görülen en sık nedenlerinden biridir (Akdağ ve diğ. 2019; Hardiman ve diğ. 2016; Hill ve diğ. 2009). AH, DSM ve NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) tanı kriterleri olan bellek, lisan, uzamsal algı, dikkat, yürütücü işlevler, oryantasyon, problem çözme becerisi ve işlevsellik alanlarından en az ikisinde bozukluk olması sonucu “olası Alzheimer hastalığı” tanısı konulmaktadır (McKhan ve diğ. 2011).

2.2.4. Klinik evreleri

Alzheimer hastaları, erken, orta ve ileri evre olmak üzere üç evreye ayrılmaktadır. Erken evrede, temel problem bellek bozukluğudur. Bu evrede hastalar günlük rutin işlerini yapabilmektedirler fakat bazı zorlayıcı işlerde başarısız olmaktadır. Orta evrede ise afazi, apraksi gibi bilişsel hasarlar artmaktadır. Hastalar ev işlerinde zorlanmaktayken, dışarıdaki aktivitelerini yapamamaktadır ve günlük yaşam olaylarında problemlerle karşılaşmaktadır. İleri evre Alzheimer hastalarında motor işlevlerde problemler, postür bozuklukları ve yürüşte sıkıntılar görülmekte bu da tam bağımlılığa sebep olmaktadır (Söylemez, 2013).

2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Reaktif oksijen türlerinin hücrelerin içerisinde olduğu 1950'li yıllarda belirlenmiştir. Hücre içinde reaktif oksijen türlerinin varlığını ilk kez Commoner ve arkadaşları, elektron spin rezonans kullanılarak yaptıkları bir çalışmada göstermişlerdir (Commoner, Townsend ve Pake, 1954). Denham Harman tarafından oluşan reaktif oksijen türlerinin yaşlanma ve hücre ölümünde rol oynadığı 1956 yılında ileri sürülmüştür (Beckman ve diğ. 1998).

Serbest radikaller son yörüngesinde eşlenmemiş elektronu bulunan reaktif ve kısa ömürlü atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller normal bir metabolizma sonucu oluşan yan

ürünler veya hücrelerde enerji üretimi için ihtiyaç duyulan çeşitli reaksiyonlar sırasında oluşabilmektedir. Serbest radikaller hem endojen hem de ekzojen kaynaklar tarafından üretilmektedir. Başlıca endojen kaynaklar: mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar ve iltihaplı hücrelerdir (Valko ve diğ. 2007). Serbest radikaller fagositoz, araşidonik asit metabolizması, ovulasyon ve üreme sırasında da oluşmaktadır (Singh, Sharad ve Kapur, 2004). Başlıca ekzojen kaynaklar: UV ışınlar, X ışınları, gamma ışınları, mikrodalga ışınları, asbest, benzen, karbonmonoksit, formaldehit, ozon, toluen, alkol ve sigara kullanımı, sigara dumanı, egzoz dumanı, temizlik ürünleri, tutkal, boya, tiner, parfümler ve böcek ilaçlarıdır.

Serbest radikaller oksijen ve nitrojen kaynaklı oluşabilmektedir. Oksijen kaynaklı olanlara reaktif oksijen türleri (ROT), nitrojen kaynaklı olanlara ise reaktif nitrojen türleri (RNT) denilmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Valko ve diğ. 2007). Başlıca reaktif oksijen türleri süperoksit (O_2^-), hidroksil ($OH\cdot$), peroksil ($ROO\cdot$), lipit peroksil ($LOO\cdot$), ve alkoksil ($RO\cdot$), reaktif nitrojen türleri ise nitrik oksit ($NO\cdot$) ve nitrojen dioksit ($NO_2\cdot$)'dir. Öte yandan oksidanlar olarak adlandırılan ve patolojik ve fizyolojik durumlar altında canlılar tarafından üretilerek canlı organizmalarda kolaylıkla serbest radikal oluşumuna yol açabilen moleküllerde vardır. Başlıca oksidanlar hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), singlet oksijen (1O_2), hipokloröz asit ($HOCl$), nitrik asit (HNO_2), peroksinitrit ($ONOO^-$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve lipit peroksit ($LOOH$)'dir (Fang ve diğ. 2002; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Pham-Huy ve diğ. 2008; Valko ve diğ. 2007).

Çizelge 2.1. Reaktif oksijen (ROT) ve nitrojen türleri (RNT) ve oksidanlar

Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)	Oksidanlar
Süperoksit (O_2^-)	Nitrik oksit ($NO\cdot$)	Nitrik asit HNO_2
Hidroksil ($OH\cdot$)	Nitrojen dioksit ($NO_2\cdot$)	Nitrosil katyonu NO^+
Peroksil ($ROO\cdot$)		Nitroksil anyonu NO^-
Lipit peroksil ($LOO\cdot$)		Dinitrojen tetroksid N_2O_4
Alkoksil ($RO\cdot$)		Dinitrojen trioksit N_2O_3
Hidroperoksil ($HO_2\cdot$)		Peroksinitrit $ONOO^-$
Lipid peroksil ($LOO\cdot$)		Peroksinitrik asit $ONOOH$
		Nitronyum katyonu NO_2^+
		Nitril klorid NO_2Cl
		Alkil peroksinitrit $ROONO$

2.3.1. Nitrik oksit

İlk başta endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak adlandırılan daha sonra nitrik oksit sentaz (NOS)'ın keşfedilmesiyle EDRF'nin nitrik oksit (NO) olduğu kanıtlanmıştır (Ignarro, 1987; Palmer, 1988).

Nitrik oksit moleküler yapısında bulunan oksijen atomundaki bir adet çiftlenmemiş elektrona sahip olmasından dolayı reaktif oksijen türevi (ROT) olarak kabul edilmektedir (Nussler ve Billiar, 1993). Nitrit ve nitrat içeren bileşikler yapılarında NO bulunduran moleküllere örnektir. NO renksiz, küçük molekül, yağda çözünebilen, yarı ömrü çok kısa olan O_2 ve CO_2 gibi hücre zarını kolaylıkla geçebilen ve reaksiyon yeteneği oldukça yüksek bir moleküldür. Bunların yanı sıra memeli hücrelerinin fonksiyonlarının düzenlenmesinde, vazodilatasyonda ve hücre içi sinyalleşmede görev alan NO organizmalarda doğal olarak üretilmektedir. Bunların dışında NO immünolojik olaylarda rol alan nonspesifik sitotoksik bir mediatördür (Moncada, 1991; Lowenstein, 1994; Büyükavşar, 2005).

NO_x , nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından üretilmektedir. NOS enzimi iki farklı türü bulunmaktadır. Bunlar: Konstitütif nitrik oksit sentaz (cNOS) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) (Türköz ve Özerol, 1997).

cNOS'un lokalize olduğu dokular genellikle çevresel ve merkezi sinir sistemi, damar endoteli ve idrar yoludur. cNOS bu dokularda her zaman bulunmasına rağmen aktif değildir. Aktifleşmesi için hücre içi kalsiyum iyon dengesinin artması ve kalsiyum iyonlarının kalmodulinle birleşerek cNOS enzimini aktive etmesi gerekmektedir. Bu aktivasyon sonucunda L-argininden NO_x sentezi gerçekleşmektedir. Fakat bu reaksiyonda sentezlenen NO_x miktarı çok düşüktür. Bunun sebebi hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonunun azlamasıyla beraber cNOS'un deaktif olmasıdır (Türköz ve Özerol, 1997).

Bir diğer izoenzim olan iNOS, cNOS'un aksine hücre içinde bulunmamaktadır. Monosit ve nötrofil gibi makrofaj hücreleri ve damar endotel hücreleri tarafından sentezlenmektedir. iNOS, bu hücrelerin özel sitokinlerle uyarılması sonucu aktive edilir ve NO_x sentezi başlatılır. Bakteriye lipopolisakkarit ve interferon gama ile indüklenen makrofaj hücreleri

aşırı miktarda NO_x sentezleyerek bakteri, tümör ve parazit gibi yabancı hücrelere karşı sitostatik veya sitotoksik etkiler gösterir. NO_x sentezi indüksiyon sonrasında günlerce ve haftalarca devam edebilmektedir. Uzun süreli ve aşırı NO_x üretimi bir süre sonra makrofajlarda ve çevre dokularda çeşitli harabiyetlerede sebebiyet verir. Glukokortikoidler ve L-arginin analogları bu indüksiyonu sona erdirerek NO_x sentezini durdurmaktadır (Türköz ve Özerol, 1997).

2.3.2. Serbest radikallerin proteinler üzerindeki etkileri

Serbest radikaller olarak adlandırılan reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin proteinlerle reaksiyona girerek kovalent modifikasyonlar oluşturması durumu protein oksidasyonu olarak adlandırılmaktadır. ROT ve RNT türevlerinin proteinler üzerinde enzim aktivitesinde azalma, protein fonksiyon kaybı, proteaz inhibitör aktivitesinin kaybı, protein agregasyonu, gen transkripsiyonundaki değişimler gibi birçok zararlı etkisi bulunmaktadır (Shacter 2000a; Davies ve diğ. 1999). Serbest radikallerin bu zararlı etkileri Alzheimer, Parkinson, amiyotrofik lateral skleroz (ALS), diyabet, katarakt, böbrek yetmezliği ve kistik fibroz gibi birçok hastalığın oluşumunda rol oynamaktadır (Dalle-Donne ve diğ. 2003a).

Protein oksidasyon mekanizmaları başlıca metal katalizi eşliğinde protein karbonil oluşumu (PC) (Shacter 2000b; Dalle-Donne ve diğ. 2003b; Stadtman ve Levine 2000), Proteinlerde bulunan tiyol gruplarının (P-SH) uzaklaştırılması (Bindoli ve Rigobello 2002; Netto ve diğ. 2002), nitrozin (NT) (Dean, Fu, Stocker, ve Davies 1997; Stadtman ve Levine 2000) ve ileri protein oksidasyon ürünlerinin (AOPP) (Alderman ve diğ. 2002; Witko-Sarsat ve diğ. 1996; Witko-Sarsat ve diğ. 1998) meydana gelmesi şeklinde sıralanabilir.

Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin proteinler, karbonhidratlar ve lipitlerle gerçekleştirdiği ilk reaksiyon sonrası primer modifikasyona uğramış ürünler ortaya çıkar. Daha sonra primer modifikasyona uğramış bu ürünler proteinlerle tekrar reaksiyona girerek sekonder modifikasyonları meydana getirmektedir. ROT ve RNT'ler protein yapılarında ya peptit bağlarıyla ya da amino asit yan zincirleriyle reaksiyona girerek düşük molekül ağırlıklı ürünleri veya çapraz bağlı yüksek molekül ağırlıklı ürünleri meydana getirir (Stadtman ve Levine, 2003).

Protein oksidasyonu hidroksil radikali (OH.) ile başlar fakat oksidasyon olayında O₂ ile birlikte, süperoksit anyon radikali (O₂⁻) ve hidroperoksil (HO₂.)’de rol oynamaktadır. Bu reaktif türler amino asit yan zincirlerinin oksidasyonuna, proteinler arası çapraz bağlanmalara ve oksidasyon yolu ile protein omurgalarında meydana gelen kırıklarla protein fragmentasyonuna yol açmaktadır (Stadtman ve Levine, 2003; Berlett ve Stadtman, 1997).

2.3.3. Protein karbonil (PC) gruplarının oluşumu

Protein karbonil (PC) gruplarının meydana gelmesini sağlayan birincil modifikasyonlar, amino asit yapılarının α -karbon atomlarında ya da R yan zincirlerinde meydana gelen modifikasyonlar ve bu modifikasyonları takip eden reaktif oksijen türlerinin tetiklediği peptit ayrılması reaksiyonu sonucu oluşmaktadır (Stadtman ve Levine, 2003; Berlett ve Stadtman, 1997). Histidin, sistein, metionin, lizin ve glisin gibi birçok amino asit bakiyesinde veya proteinlerin peptit omurgalarında reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu modifikasyonlar sonucu çeşitli protein karbonil ürünleri oluşmaktadır. Protein oksidasyonunun belirlenmesinde protein karbonil seviyelerinin ölçümü genel olarak kabul gören bir yöntemdir (Shacter 2000a; Dalle-Donne 2003a; Stadtman ve Levine 2003; Dalle-Donne 2003b; Levine 2002; Requena, Levine ve Stadtman 2003).

2.3.4. İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) oluşumu

Ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olan İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) protein oksidasyonunu belirlemede kullanılan duyarlı ve güvenilir bir biyobelirteçtir (Alderman ve diğ. 2002; Witko-Sarsat ve diğ. 1996; Witko-Sarsat ve diğ. 1998). AOPP, Witko-Sarsat ve arkadaşları tarafından 1996 yılında ürenin, idrarla dışarıya atılamadığı üremi hastalarında tanımlanmıştır. Bakteri, virüs ve tümör hücrelerine karşı konakçı savunmasında önemli rol oynayan hipokloriz asit (HOCl), aktive fagositik hücrelerde bulunun miyeloperoksidaz (MPO) tarafından oluşturulur. Potansiyel radikal olan HOCl konakçı savunmasını sağlarken normal dokularda çeşitli hasarlara ve proteinlerin oksidasyonunda sebebiyet verir. Yapısında klor bulunan oksidanların proteinlerle etkileşime girmesi sonucu AOPP oluşmaktadır. HOCl sıklıkla proteinlerin amin gruplarıyla reaksiyona girerek reaktif bir oksidan olan kloronize ürünler oluşturur. HOCl stabil yapıdaki proteinlerin tirozin kökleriyle reaksiyona girerek 3- klorotirozin ve 3-5

diklorotirozin oluşturarak proteinlerde çapraz bağlanmalara ve parçalanmalara yol açar. Koloronize olmuş amino asitleri sistemden amonyak ve CO₂'ye yıkılarak uzaklaştırılır (Winterbourn ve Kettle, 2000).

2.3.5. Doublecortin-like kinase-1 (DCLK-1)

Nöronlar doğaları gereği sıklıkla nörotransmitter madde salınımı ve alınımı yapmaktadır. Bundan dolayıda nöronlar geniş ve gelişmiş bir mikrotübül ağına sahiptir. Mikrotübüllerle ilişkili birçok proteinden biri olan DCLK-1 nöronlarda son derece önemli ve kritik rollere sahiptir. Alzheimer hastalığında nöronlarda önemli görevleri olan mikrotübül yapılarında defektler olduğu bilinmektedir (Mohandas, Rajmohan ve Raghunath, 2009; Burgess ve Reiner, 2000).

Memeli sinir sisteminin gelişiminde ve nöronal migrasyon gibi görev alan DCLK-1 yeni keşfedilmiş bir proteindir. N-terminal bölgesi mikrotübül bağlanmasından sorumlu olan DCLK-1'in C-terminal bölgesi ise serin-treonin kinaz bölgesi içermektedir (Burgess ve Reiner, 2000; Burgess ve Reiner, 2001; Koizumi ve diğ. 2017).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda DCLK-1'in kognitif davranışlar, şizofreni, dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğuyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Le Hellard ve diğ. 2009; Havik ve diğ. 2012). DCLK-1 seviyelerinin Alzheimer hastalığı patofizyolojisiyle bir bağlantısının olup olmadığı hakkında yeterince veri yoktur. Ancak DCLK-1'in ve doublecortinin alzheimerla bağlantılı olabileceği hakkında ipuçları bulunmaktadır (Jeong ve diğ. 2011).

2.3.6. Serbest radikallerin lipidler üzerine etkileri

Serbest radikallerin canlı sistemler üzerindeki birincil etkileri lipidler üzerindedir ve bu olay lipid peroksidasyonu olarak adlandırılmaktadır. Hücrenin sınırlarını belirleyen ve önemli işlevleri olan hücre zar yapısında bulunan fosfolipidlerin yükseltgenerek peroksit türevlerine dönüşmesi olayı kısaca lipid peroksidasyonu olarak tanımlanmaktadır (Kulkarni and Byezkowski 1994; Wills 1987).

Lipid peroksidasyonu üç evreden meydana gelir. Birinci evrede çok zincirli doymamış yağ asidi moleküllerine RH veya oksijen gruplarının eklenmesi ya da çıkarılmasıyla merkezinde

karbon atomu bulunan (R.)Lipid molekülleri ortaya çıkar. İkinci evrede ise ilk evrede meydana gelen lipid molekülleri moleküler formda olan oksijen ile birleşerek peroksi (ROO.) grubunu oluşturur. Başlayan bu reaksiyon devam ederek oluşan peroksi grupları (ROO.) hidroperoksi (R-OO-H) gruplarını oluşturur. İkinci evre zincirleme bir reaksiyon başlatarak ortamda bulunan yağ asitleri ile etkileşerek merkezinde karbon atomu bulunan (R.) lipid moleküllerinin oluşumuna sebep olur ve oluşan bu lipid grupları da yeni peroksit gruplarının oluşumunu tetikler. Zincirleme şekilde devam eden bu ikinci evre tepkimeleri peroksit gruplarının birikmesi sonucu reaksiyona girerek etkisiz ürünler oluşturulmasına kadar devam eder. Bu evrede oluşan hidroperoksitler stabil bir yapıda olmadıkları için özellikle ortamda demir ve demir komplekslerinin bulunması zincirleme olan bu reaksiyonları tekrar başlatır. Üçüncü evre oluşan grupların yıkılmasını içerir. Bu iki şekilde gerçekleşir, meydana gelen radikal gruplar ya birbirleri ile reaksiyona girerek stabil olan ürünlere dönüşürler ya da antioksidan olarak adlandırılan çeşitli bileşiklerin müdahalesi sonucu başlayan zincirleme reaksiyonlar durdurulur (Kulkarni and Byezkowski 1994; Wills 1987).

Hücre zarlarında olduğu gibi mitokondriyal ve mikrozomal yapılarda bulunan zarlarında muhteviyatında fosfolipidler bulunmaktadır. Bu yapılarda bulunan fosfolipidler doymamış yağ asitleri bakımından zengin olması bu yapıları lipid peroksidasyonuna daha duyarlı hale getirmektedir. Lipid peroksidasyonu zarın yapı ve işlevlerinde bir takım bozukluklara yol açmaktadır. Örneğin Lizozomal zarlarda oluşturdukları hasar sonucu ortama hidrolitik enzimler salınır. Diğer yandan kaslarda da bir takım peroksidasyon reaksiyonları gerçekleşir. Kaslarda meydana gelen bu peroksidasyon hasarları sonucunda hücre içinde kalsiyum seviyelerinin artması ile ortama hücre zarı fosfolipidlerinden biri olan fosfolipaz A2 (FLA2) salınır. FLA2'nin salınmasıyla birlikte araşidonik asit miktarı artar. Araşidonik asidin artması lipoksijenaz yolu üzerinden hidroperoksi eikosatetraenoik asidin (HPETE) oluşmasına sebebiyet verir. Bu olaylar sonucunda peroksidasyon ve hücre ölümü gerçekleşir. Bu reaksiyonlar sırasında bir antioksidan olan e vitamini lipksijenaz yolu üzerinde koruyucu bir etki göstererek HPETE'nin oluşumunu sınırlandırır. Bir diğer antioksidan olan selenyum ise glutatyon peroksidazın (GSH-Px) yapısına katılarak oluşan HPETE'nin hidroksi eikosatetraenoik aside (HETE) çevrilmesine katkıda bulunur (Kulkarni and Byezkowski 1994; Wills 1987).

2.4. Morin

Bir diğ er adı 3,5,7,2',4'-pentahidroksiflavon olan morin, flavonoller grubuna giren bir flavonoidtir. Morin, Moraceae ailesine ait bitkilerde (Lotito ve Frei 2006; Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn 2007; Caselli ve diğ. 2016), meyvelerde, sebzelerde, yeş il ç ayda, kırmızı ş arapta ve birç ok doğ uya ö zğ ü ş ifalı bitkide bol miktarda bulunmaktadır (Gottlieb ve diğ. 2006).

Morin'in etkileri hakkında birç ok ç alışma yapılmıştır. Bunlar: Antioksidan (Hanasaki et. al.. 1994; Wang ve diğ. 2006; Subash ve Subramanian 2009), Antialerjik, Antienflamatuvar (Wang ve diğ. 2006), Antimutajenik (Francis ve diğ. 1989; Fang ve diğ. 2003), Antikarsinojenik (Denda ve diğ. 1989; Kawabata ve diğ. 1999; Brown ve diğ. 2003; Sivaramakrishnan ve diğ. 2008; Sreedharan ve diğ. 2009), Bakteriyostatik (Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn 2007), Hepatoprotektif (Lee ve diğ. 2008; Lee ve diğ. 2009), Sitoprotektif (Zhang ve diğ. 2009; Zhang ve diğ. 2010), Anti-aterosklerotik (Lian ve diğ. 2008), Anti-hiperürisemik (Wang ve diğ. 2010), Anti-neoplastik, kardiyoprotektif (Kok ve diğ. 2000; Middleton ve diğ. 2000; Al-Numair ve diğ. 2012) ve Anti-agregasyon (Lemkul ve Bevan, 2010) gibi etkilere sahiptir. Ayrıca yüksek dozlarının uzun süreli kullanımının deney hayvanlarında zararlı bir etkisine rastlanmamıştır (Yugarani ve diğ. 1992).

Noor ve arkadaşları bir hidroksiflavonoid olan morin hidratın, Tip-2 diyabet hastalığ ında pankreas adacık hücrelerinde birikerek beta hücrelerinin ö lümüne sebep olan adacık amiloyid polipeptidi (IAPP)'ni süpürücü etkisini araştırmışlardır. IAPP ve Morin hidrat karışımını 1:1, 1:2, 1:5 ve 1:10 oranlarında hazırlayarak inkübasyona bıraktıktan sonra geç irimli elektron mikroskobunda (Transmission Electrone Microscope; TEM) incelemişler, 1:5 ve 1:10 oranında hazırlanan karışımlarda IAPP fibrillerinin ç ö zülerek ağ sı yapısının ortadan kalktığ ını gözlemlemiştir (Noor ve diğ. 2012).

Morinin, sıç an kortikal nöron hücre kùltüründe, hücreleri akut eksitotoksisite hasarına karşı koruduğ u ve intraperitoneal olarak verilmesinin (10 mg/kg) sıç anlarda nörolojik hasarlar ve geç ici ön beyin iskemik hasarını azalttığ ı gösterilmiştir (Gottlieb ve diğ.2006). Morinin, sıç an kortikal nöron hücre kùltüründe glutamatın neden olduğ u eksitotoksik nöron ö lümüne karşı koruduğ u belirtilmiştir (Campos-Esparza ve diğ. 2009).

Morinin sitotoksik bir etkisinin olmadığı ve HT22 murin nöroblastom hücrelerini A β 25-35'in oksidatif hasarından başarılı bir şekilde koruduğu belirtilmiştir (Kim ve diğ. 2005). Morinin, özellikle A β agregasyonu inhibe ettiği ve var olan A β fibrillerinin destabilizasyonunda etkili olduğu gösterilmiştir (Lemkul ve Bevan, 2010; Ono ve diğ. 2003). Shimmyo ve arkadaşları "Hücre test düzeneği" kullanarak, morinin konsantrasyona bağlı olarak BACE1 enzim aktivitesini direkt inhibe edebildiğini göstermişlerdir (Shimmyo ve diğ. 2008). Morinin GSK3 β aktivitesini etkili bir şekilde inhibe ettiği ve in vitro olarak GSK3 β ile indüklenen tau fosforilasyonunu engellediği ve oligomerik A β 1-42 ile indüklenen tau fosforilasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Gong ve diğ. 2011).

2.5. Hesperidin

Flavanon hesperitin ve disakkarit rutinozdan meydana gelen bir flavonoid olan Hesperidin (3,5,7-trihidroksi flavanon-7-ramnoglukozit) narenciye meyvelerinde bol miktarda bulunan biyolojik ve farmakolojik olarak aktif bir fitoflavanondur. Hesperidin lipofilik doğası nedeniyle kan-beyin bariyerini kolayca geçmektedir (Salem ve diğ. 2012).

Hesperidin'in çeşitli biyolojik aktiviteleri bulunmaktadır. Hesperidin C vitaminiyle benzer aktiviteye sahiptir. Bununla birlikte antioksidan, antienflamatuar, antiapoptotik (Kumar ve Kumar, 2010; Raza ve diğ. 2011; Ikemura ve diğ. 2012; Garg ve diğ. 2001; Zhang ve diğ. 2007; Choi, 2007; Shimada ve diğ. 2008; Galatai ve diğ. 1994), anti-hipotansif, anti mikrobiyal, anti-kanserojen (Garg ve diğ. 2001; Choi, 2007; Shimada ve diğ. 2008; Galatai ve diğ. 1994) anti-alerjik (Choi, 2007; Shimada ve diğ. 2008), vazodilatör, hipolipidemik (Monforte ve diğ. 1995), antifungal, antiviral, analjezik (Galati ve diğ. 1994), antihipertansif, diüretik (Galati ve diğ. 1996), damar koruyucu, özellikler göstermektedir.

Hesperidin, antioksidan, antienflamatuar ve anti-apoptotik etkileri nedeniyle Parkinson hastalığı (Tamilselvam ve diğ. 2013), Huntington hastalığı (Kumar ve Kumar, 2010), serebral iskemi/reperfüzyon hasarı (Ikemura ve diğ. 2012) ve inme (Raza ve diğ. 2011) karşı nöroproteksiyon sağlar. Hesperidinin ilaç kötüye kullanımı, migren ve epilepsi hastalıklarında beyinin uyarılabilirliğini ve patofizyolojik bozukluklarını kontrol ettiği gösterilmiştir (Kumar ve Kumar, 2010; Raza ve diğ. 2011; Ikemura ve diğ. 2012). Yapılan

bir çalışmada ratlarda $AlCl_3$ ile indüklenen Alzheimer hastalığı modelinde Hesperidin ve silibinin hipokampustaki oksido-nitrosatif stres ve inflamasyona karşı nöroprotektif etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir (Jangra ve diğ. 2015).

Önceki yıllarda yapılan çalışmalarda, hesperidinin antioksidan aktivitesi ve serbest radikal süpürücü özellikleri in vitro (Agati ve diğ. 2012; Ramful ve diğ. 2010; Wilmsen ve diğ. 2005) ve in vivo (Arafa ve diğ. 2009; Choi, 2008) çalışmalarda gösterilmiştir. Son yıllarda hesperidin ve onun aglikanı hesperetininin, glikoz kullanımını geliştirdiği ve kortikal nöron hücre kültüründe $A\beta$ ile indüklenen nöronal hasara karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir (Huang ve diğ. 2012).

Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, hesperidin uygulanan APPswe/PS1dE9 transgenik fare Alzheimer modelinde, anormal keşif aktivitesinde azalma görülürken, öğrenme ve hafıza eylemlerinde gelişmiş bir aktivite göstermiştir. Hesperidinin antioksidan savunmayı artırdığını, mitokondriyal kompleks I-IV enzim aktivitelerini eski düzeyine getirdiğini ve GSK-3 β aktivitesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Wang ve diğ. 2014). Başka bir çalışmada hesperidin uygulaması, immobilizasyon-stresi kaynaklı hayvan modellerinde nitrit konsantrasyonlarını azalttığı bildirilmiştir (Viswanatha ve diğ. 2012). Hesperidinin (100 mg/kg) transgenik farelerde (APPswe/PS1dE9) $A\beta$ kaynaklı mitokondriyal disfonksiyon, biyokimyasal parametrelerde meydana gelen değişiklikler ve bilişsel bozulmayı hafiflettiği öne sürülmektedir (Wang ve diğ. 2014).

Hesperidinin alüminyum uygulaması yapılan ratlarda beyin hipokampusunda, korteksinde ve serebellumunda neden olduğu öğrenme ve hafıza bozukluklarını, oksidatif stresi ve apoptozu azalttığı bildirilmiştir (Thenmozhi ve diğ. 2017).

Santa ve arkadaşları, Hesperidinin kan-beyin bariyerini kolayca geçebildiğini ve Parkinson, Alzheimer ve Huntington hastalıklarına karşı koruma sağladığını bildirmişlerdir (Santa ve diğ. 2016).

3. MATERİYAL & METOT

Çalışma kapsamında yapılacak olan deneyler için Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan izin alınmıştır (G.Ü. ET-20.016). Dokuların alınması işlemine kadar çalışma boyunca yapılan tüm işlemler Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM) laboratuvarlarında yapıldı. Çalışmalarda GÜDAM tarafından sağlanan 300-350 gram ağırlıkta 50 adet Wistar albino erkek rat kullanıldı. Ratlar deney öncesinde ve deney boyunca sıcaklığı sabit tutulan, 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngü oluşturulan odalarda ad libitum beslenerek bakıldı. Deney sonrasında alınan doku örneklerinin biyokimyasal analizleri Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Fizyoloji-Biyokimya araştırma laboratuvarında yapıldı.

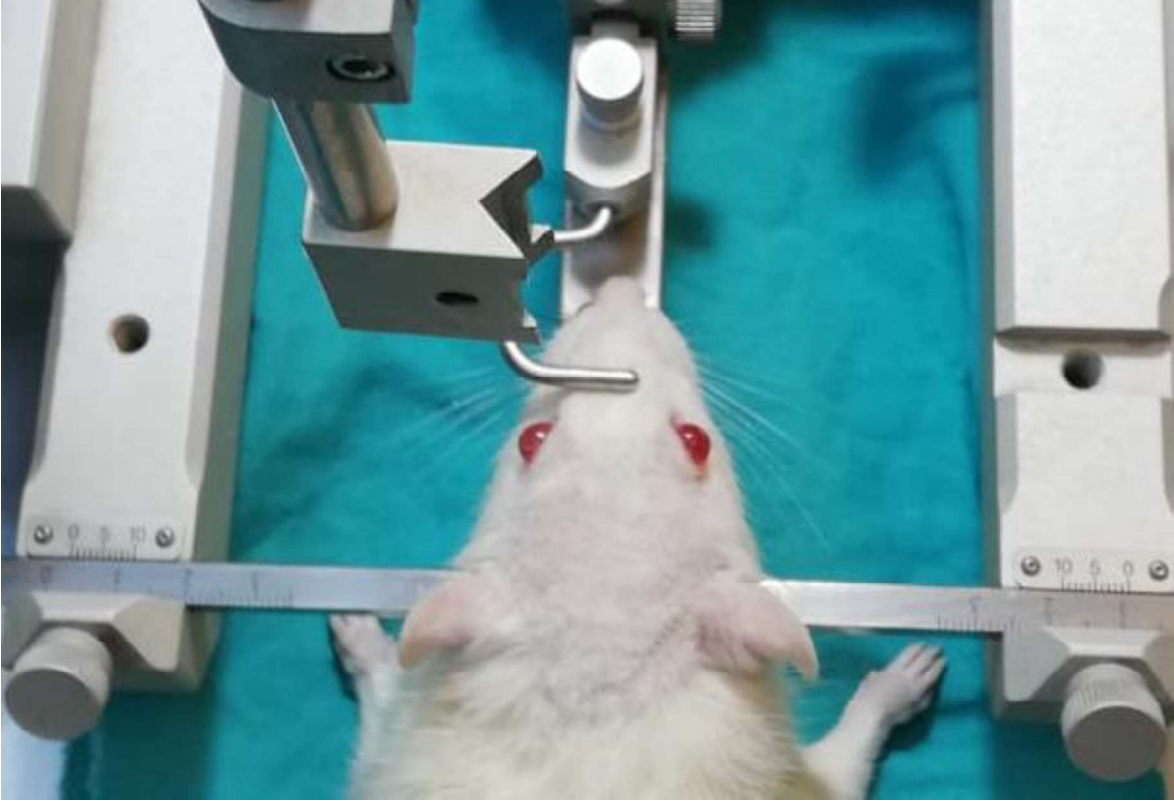
3.1. Yapay Beyin Omurilik Sıvısının (yBOS) Hazırlanması

Yapay beyin omurilik sıvısı iki ayrı çözeltinin 1:1 hacimde karıştırılması ile elde edildi. İlk çözelti için 8,66 g sodyum klorür, 0,244 g potasyum klorür, 0,163 g magnezyum klorür ve 0,204 g kalsiyum klorür tartılarak 500 ml steril distile suda çözdürüldü. İkinci çözelti için 0,214 g disodyum hidrojen fosfat ve 0,027 g sodyum dihidrojen fosfat tartılarak 500 ml steril distile su içinde çözdürüldü. Daha sonra bu iki çözelti birebir hacimde karıştırılarak yBOS elde edildi.

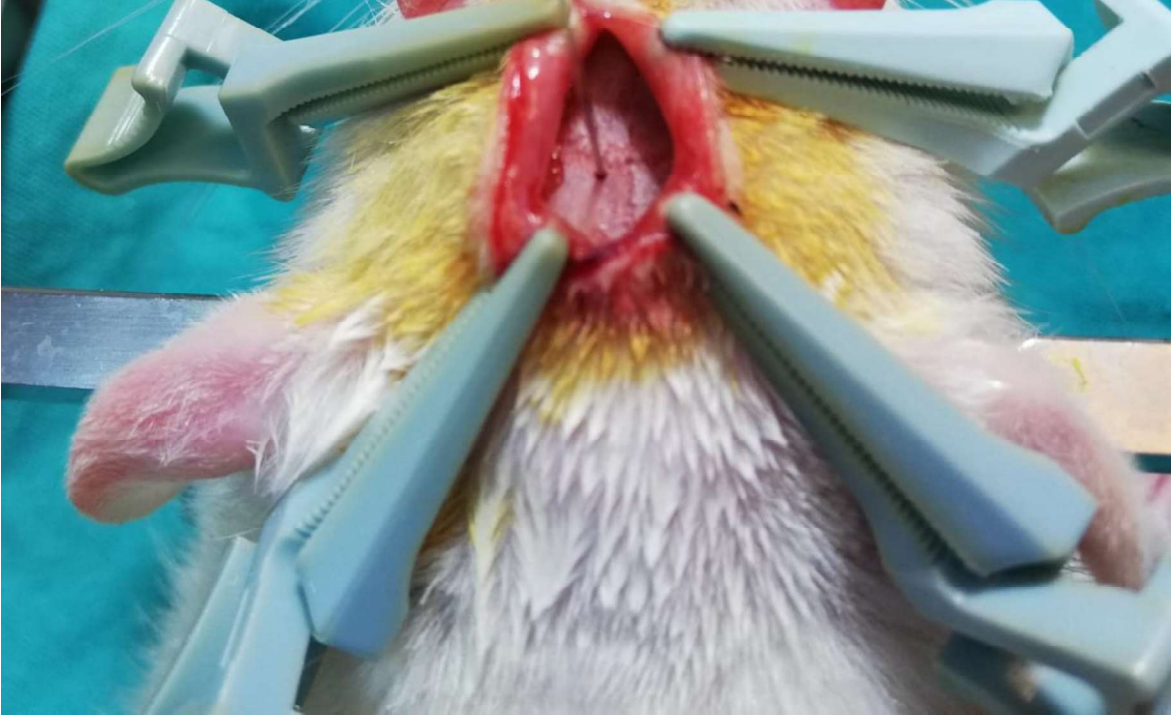
3.2. Deneysel Alzheimer Modelinin Oluşturulması

Lateral serebral ventrikülün belirlenmesi için gerekli koordinatlar (bregma noktası referans alınarak, antero-posterior: -0,6 mm, lateral: 1,5 mm ve dorsoventral: 3,8 mm) Paxinos'un rat beyin atlası kullanılarak elde edildi (Paxinos, G. ve Watson, C., 2004). Koordinat doğrulaması için bir adet rat ketamin (intraperitoneal 50 mg/kg) ve ksilazin (intraperitoneal 5 mg/kg) ile genel anestezi altına alındı. Anestezi altına alınan rat stereotaksi aletine yerleştirildi ve kafa derisinde gözler hizasından enseye kadar uzanan yaklaşık 3 cm'lik insizyon açılarak periost sıyrıldı daha sonra referans olarak kullanılacak olan bregma çizgisi belirlendi. lateral serebral ventrikül, Paxinos'un rat beyin atlasından elde edilen koordinatlar ile belirlendi. Koordinat belirlendikten sonra intraserebroventriküler (i.c.v) enjeksiyon ile 200 µl metilen mavisi rat'ın serebral ventrikülüne enjekte edildi. Bir süre metilen mavisinin difüze olması beklendikten sonra rat sakrifiye edilerek beyni çıkarıldı.

Beyin dokusundan elde edilen kesitlerde metilen mavisinin lateral ventrikülde difüze olduğunun görülmesi ile koordinatların doğruluğu onaylandı. Koordinat doğrulaması sonrasında 40 adet rat'a yukarıdaki işlemler takip edildi ve i.c.v olarak yBOS içinde çözdürülmüş olan STZ tek lateral ventriküle 3 mg/kg olmak üzere enjekte edilerek deneysel Alzheimer modeli oluşturuldu. Modelin doğruluğunu kanıtlamak için stereotaksik cerrahi sonrasında 14. Günde Morris su tankı testi (MWM) uygulandı.



Resim 3.1. Ratın stereotaksi tablasına yerleştirilmesi



Resim 3.2. Ratın kafasına açılan insizyon sonrası bregma noktası ve koordinatın belirlenmesi

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Her grupta 10 adet rat olmak üzere 5 adet deney grubu oluşturuldu ve oluşturulan gruplara aşağıdaki işlemler uygulandı.

Kontrol Grubu

Alzheimer hastalığının (AH) olağan etkilerini ve Morin ile Hesperidinin Alzheimer Hastalığı üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması amacıyla 10 adet wistar albino erkek rata herhangi bir uygulama yapılmadan deney başlangıcında ve deney sonunda bir davranış testi olan MWM uygulandıktan sonra ketamin (intraperitoneal 50 mg/kg) ve ksilazin (intraperitoneal 5 mg/kg) ile genel anestezi altına almak suretiyle sakrifiye edildi. Sakrifikasyon işlemi sonrasında uygun koşullarda elde edilen beyin dokuları ve serumları İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), Nitrik oksit (NOx), Doublecortin Like Kinaz-1 (DCLK-1) ve Protein karbonillerini (PC) tayin etmek üzere -80°C’de saklandı.

Alzheimer Grubu

10 adet wistar albino erkek rata stereotaksik cerrahi ile i.c.v olarak STZ verildi ve modelin oluşması için 14 gün beklendi. 14 günün sonunda Alzheimer olduklarını doğrulamak için MWM testi 4 gün boyunca uygulandı. Davranış testi sonrasında ketamin (intraperitoneal 50 mg/kg) ve ksilazin (intraperitoneal 5 mg/kg) ile genel anestezi altına alınarak kurban edildiler. Uygun yöntemlerle beyin dokusu ve serumları alınarak İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), Nitrik oksit (NOx), Doublecortin Like Kinaz-1 (DCLK-1) ve Protein karbonillerini (PC) tayin etmek üzere -80°C'de saklandı.

Alzheimer + Morin Uygulaması Yapılan Grup

I.c.v STZ enjekte edilmesiyle Alzheimer hastası yapılan 10 adet rata, fenolik bir bileşik olan morinin AH üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla 7 gün boyunca (19-26. Günler arasında) morin (10 mg/kg) serum fizyolojik (SF) içerisinde çözündürülerek intraperitoneal (i.p) olarak verildi. Alzheimer modelini doğrulamak ve morinin AH üzerindeki etkilerini araştırmak üzere AH modeli oluşturulmasını takip eden 4 gün boyunca (15, 16, 17, 18. Günler) ve Morin uygulaması sonrası takip eden 4 gün (27, 28, 29, 30. Günler) MWM testi yapıldı. Bu test sonunda ratlar ketamin (intraperitoneal 50 mg/kg) ve ksilazin (intraperitoneal 5 mg/kg) ile genel anestezi altına alınarak kurban edildiler. Uygun yöntemlerle beyin dokusu ve serumları alınarak İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), Nitrik oksit (NOx), Doublecortin Like Kinaz-1 (DCLK-1) ve Protein karbonillerini (PC) tayin etmek üzere -80°C'de saklandı.

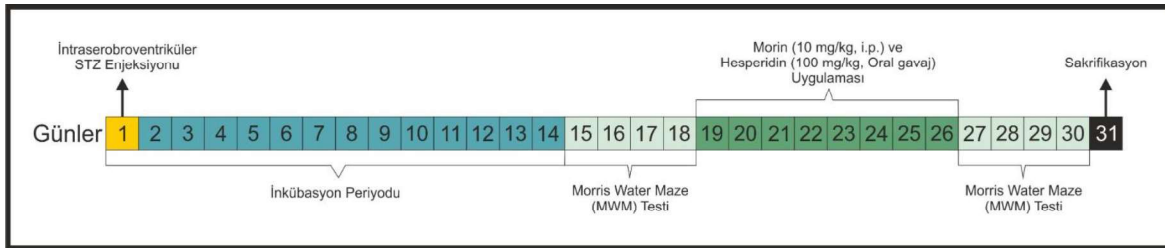
Alzheimer + Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup

I.c.v STZ enjekte edilmesiyle Alzheimer hastası yapılan 10 adet rata, fenolik bir bileşik olan hesperidin AH üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla 7 gün boyunca (19-26. Günler arasında) hesperidin (100 mg/kg) serum fizyolojik (SF) içerisinde çözündürülerek gavaj yardımıyla verildi. Alzheimer modelini doğrulamak ve hesperidin AH üzerindeki etkilerini araştırmak üzere AH modeli oluşturulmasını takip eden 4 gün boyunca (15, 16, 17, 18. Günler) ve Morin uygulaması sonrası takip eden 4 gün (27, 28, 29, 30. Günler) MWM testi yapıldı. Bu test sonunda ratlar ketamin (intraperitoneal 50 mg/kg) ve ksilazin (intraperitoneal 5 mg/kg) ile genel anestezi altına alınarak kurban edildiler. Uygun

yöntemlerle beyin dokusu ve serumları alınarak İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), Nitrik oksit (NOx), Doublecortin Like Kinaz-1 (DCLK-1) ve Protein karbonillerini (PC) tayin etmek üzere -80°C’de saklandı.

Alzheimer + Morin + Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup

I.c.v STZ enjekte edilmesiyle Alzheimer hastası yapılan 10 adet rata, fenolik bir bileşik olan morin ve hesperidinin birlikte kullanımının AH üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla 7 gün boyunca (19-26. Günler arasında) morin (10 mg/kg) serum fizyolojik (SF) içerisinde çözdürülerek intraperitoneal (i.p) olarak, hesperidin (100 mg/kg) ise serum fizyolojik (SF) içerisinde çözdürülerek gavaj yardımıyla verildi. Alzheimer modelini doğrulamak ve morin + hesperidinin birlikte kullanımının AH üzerindeki etkilerini araştırmak üzere AH modeli oluşturulmasını takip eden 4 gün boyunca (15, 16, 17, 18. Günler) ve Morin uygulaması sonrası takip eden 4 gün (27, 28, 29, 30. Günler) MWM testi yapıldı. Bu test sonunda ratlar ketamin (intraperitoneal 50 mg/kg) ve ksilazin (intraperitoneal 5 mg/kg) ile genel anestezi altına alınarak kurban edildiler. Uygun yöntemlerle beyin dokusu ve serumları alınarak İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), Nitrik oksit (NOx), Doublecortin Like Kinaz-1 (DCLK-1) ve Protein karbonillerini (PC) tayin etmek üzere -80°C’de saklandı.



Resim 3.3. Deney zaman çizelgesi

3.4. Yöntem

3.4.1. Morris su labirenti testi (Morris Water Maze, MWM)

Morris su labirenti testi araştırmanın 15-18. ve 27-30. günlerinde gerçekleştirildi. Morris testi ebatları belirli olan bir havuz içinde yapılır. Testin yapılacağı havuz, 60 cm yüksekliğinde, 150 cm çapındadır ve sıcaklığı $23 \pm 1^\circ\text{C}$ olan 25 cm derinliğinde su ile doludur. Havuz, havuzun merkezinden geçen birbirini dik kesen iki hayali çizgiyle (Kuzey,

Güney, Doğu, Batı yönlerinde) Kuzey-Doğu (KD), Kuzey-Batı (KB), Güney-Doğu (GD) ve Güney-Batı (GB) olmak üzere dört adet eşit kadrana ayrıldı. Havuzun içine hayvanların sudan kaçabilmesine olanak tanıyan 11 cm çapında, 24 cm yüksekliğin pleksiglas bir malzeme ile yapılmış olan platform KE kadrınının ortasına sabitlendi. Daha sonra hem hayvanlar ile su arasında bir kontrast oluşturmak hem de sabitlenen platformu gizlemek için toksik olmayan siyah bir toz boya ile su renklendirildi. Havuz tepesinden bir kamerayla kayıt altına alındı. Deney sırasında her hayvan sırayla, belirlenen kadrandan suya bırakılarak platformu bulma süresi ve platformda kalma süresi ölçülerek kamera yardımıyla kaydedildi. Deneylerde ratların platformu bulması için deneme süresi 90 saniye ve ratların bu süre içerisinde platformu bulamaması durumunda ise ilave olarak platformda kalma süresi 30 saniye olarak belirlendi. Her grup için MWM testi uygulama aralığı 30 dk olup ratlar günde 2 defa ve 4 gün olmak üzere eğitildi. Test gününde ise ratlar eğitimlerde olduğu gibi önceden belirlenen kadrandan suya bırakıldı ve platformu bulma süresi kamera ile kaydedildi. Testler sırasında platformu 90 saniye içerisinde bulamayan ratlar araştırmacılar tarafından manuel olarak platforma yerleştirildi ve platformda 30 saniye boyunca tutuldu. (Yıldırım, 2019).

3.4.2. Dokuda nitrik oksit (NOx) tayini

Doku nitrik oksit tayini griess metoduna göre çalışılmıştır.

Kullanılan reaktifler

- 0.1 M pH = 7 sodyum fosfat tamponu
- Griess-I: %2'lik N-(1-Naphthyl)ethylenediamine (NEDD)
- Griess-II: %5'lik H₃PO₄ içeren %2'lik Sülfanilamit
- 6.4 mM stok Sodyum Nitrit
- %8'lik Vanadyum Klorür (VCl₃)
- 0.3 M Sodyum hidroksit
- %5'lik Çinko sülfat (ZnSO₄)

Dokunun Hazırlanması

Beyin dokuları 9 kat sodyum fosfat tamponu ile homojenize edildikten sonra 3500 rpm de +4°C'de 15 dk boyunca santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant NOx düzeylerinin tespiti için kullanıldı.

Numunelerin Hazırlanması

Elde edilen süpernatandan 0.5 ml alındı ve üzerine 0.25 ml 0.3 M sodyum hidroksit eklenerek 5 dk inkübe edildi daha sonra üzerine 0.25 ml %5'lik çinko sülfat eklenerek 3000g de +4°C'de 20 dk boyunca santrifüj edildi. Daha sonra 0.2 ml süpernatana 0.2 ml vanadyum klorür eklenerek 37°C'de 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası süpernatana 0.6 ml sodyum fosfat tamponu ve 1 ml eşit hacimlerde karıştırılan griess I ve II reaktifleri eklenerek 37°C'de 10 dk inkübasyondan sonra elde edilen numunenin optik dansitesi köre karşı 540 nm'de okunmuştur.

3.4.3. Dokuda protein karbonil tayini

Dokuda protein karbonil (PC) düzeyleri, 2,4 dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile PC gruplarının birbiri ile verdiği tepkime sonucunda hidrazin oluşması prensibine dayanarak ölçülmüştür.

Kullanılan reaktifler

- 1.5 M Hidroklorik asit (HCl)
- 10 mM 2,4-Dinitrofenilhidrazin
- %20'lik trikloroasetik asit
- %10'luk trikloroasetik asit
- 6 M Guanidin-Hidroklorik asit
- 20 mM potasyum dihidrojen fosfat tamponu (pH=2.3)
- 1:1 (v/v) hacimde Etanol-Etil asetat

Protein standart eğrisi çizdirilmesi

Protein standart eğrisi için 2 mg/ml bovin serum albümin çözeltisi hazırlanarak 0,5 mg/ml ile 4 mg/ml aralığında 8 farklı konsantrasyonda hazırlananan dilüsyonlar ile lineer eğri çizdirilmiştir.

Dokunun hazırlanması

Beyin dokuları 9 kat %1.17 potasyum klorür (KCl) içeren 0.1 M fosfat tamponunda (pH=7.4) homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 10000 rpm de +4°C'de 30 dk santrifüj edilerek oluşan süpernatant spektrofotometrik yöntemle protein karbonillerini tayin etmek için kullanıldı.

Numunelerin Hazırlanması

Her bir numune için iki adet santrifüj tüpü alındı ve 0.5 ml homojenat eklendi. Tüplerden birine 2 ml DNPH, diğerine 2 ml HCl eklenerek ve her 15 dakikada bir vortekslenerek oda sıcaklığında 1 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonunda her iki tüpe de 2.5 ml %20'lik TCA eklenerek 12000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve elde edilen süpernatant atılarak çalışmaya pellet ile devam edildi. Her iki tüpte kalan pelletin üzerine 2 ml %10'luk TCA eklenerek 12000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve elde edilen süpernatant atılarak çalışmaya pellet ile devam edildi. Elde edilen pelletlerin üzerine 2 ml Etanol/Etil asetat eklenip 12000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek elde edilen süpernatant atıldı ve çalışmaya pellet ile devam edildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Santrifüj sonrası elde edilen pelletin üzerine 1 ml Guanidin-HCl eklendi ve 10 dakika boyunca vortekslendikten sonra örnekler çözünmeleri için bir süre bekletildi. Örnekler çözündükten sonra köre (Guanidin-HCl) karşı 370 nm ve 280 nm'de optik dansitesi okundu.

Protein karbonil düzeylerinin hesaplanması:

Protein karbonil düzeyleri Levine ve arkadaşlarına göre hesaplanmıştır.

$$A) CA370 = (DNPH'lı A370) - (DNPH'sız A370)$$

$$\text{Protein Karbonil} \left(\frac{\text{nmol}}{\text{ml}} \right) = CA370 \times 45.45.$$

B) Protein $\left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right) = \text{Standart Eğri Değeri} \times \text{Dilüsyon Oranı}$

280 nm’de okunan dinitrofenilhidrazinsiz HCl değerleri kullanıldı. Dilüsyon oranı 500 µl/1000 µl’dir.

C) Protein Karbonil $\left(\frac{\text{nmol}}{\text{mg protein}}\right) = \frac{A \left(\frac{\text{nmol}}{\text{ml}}\right)}{B \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right)}$

3.4.4. Serumda ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) tayini

ELISA çalışmasında, sakrifikasyon işleminin ardından alınan kan numuneleri 3000 rcf’de +4°C’de 5 dakika santrifüj edilerek elde edilen ve -80°C’de saklanan serum numuneleri kullanıldı. İleri oksidasyon protein ürünleri CEB223Ra katalog numaralı Cloud-Clone marka ticari ELISA kiti kullanılarak tayin edildi.

3.4.5. Serumda doublecortin like kinaz-1 (DCLK-1) tayini

ELISA çalışmasında, sakrifikasyon işleminin ardından alınan kan numuneleri 3000 rcf’de +4°C’de 5 dakika santrifüj edilerek elde edilen ve -80°C’de saklanan serum numuneleri kullanıldı. Doublecortin like kinase-1 201-11-5423 katalog numaralı SunRed marka ticari ELISA kiti kullanılarak tayin edildi.

4. BULGULAR

4.1. Moris Su Labirenti (Moris Water Maze, MWM) Test Bulguları

Deney gruplarına 4 gün boyunca günde 4 defa 30 dk aralıklar ile Moris su labirenti (MWM) testi uygulandı. Hepsi platforma başarılı bir şekilde çıktı. Platformda 10 sn boyunca kalmaları sağlandı. Platformdan alındıktan sonra havlu ile kurutuldu ve kafeslerine geri koyuldular. Her bir gruba ait test sonuçların ortalaması ve standart sapma değerleri (Çizelge 4.1.) verilmiştir.

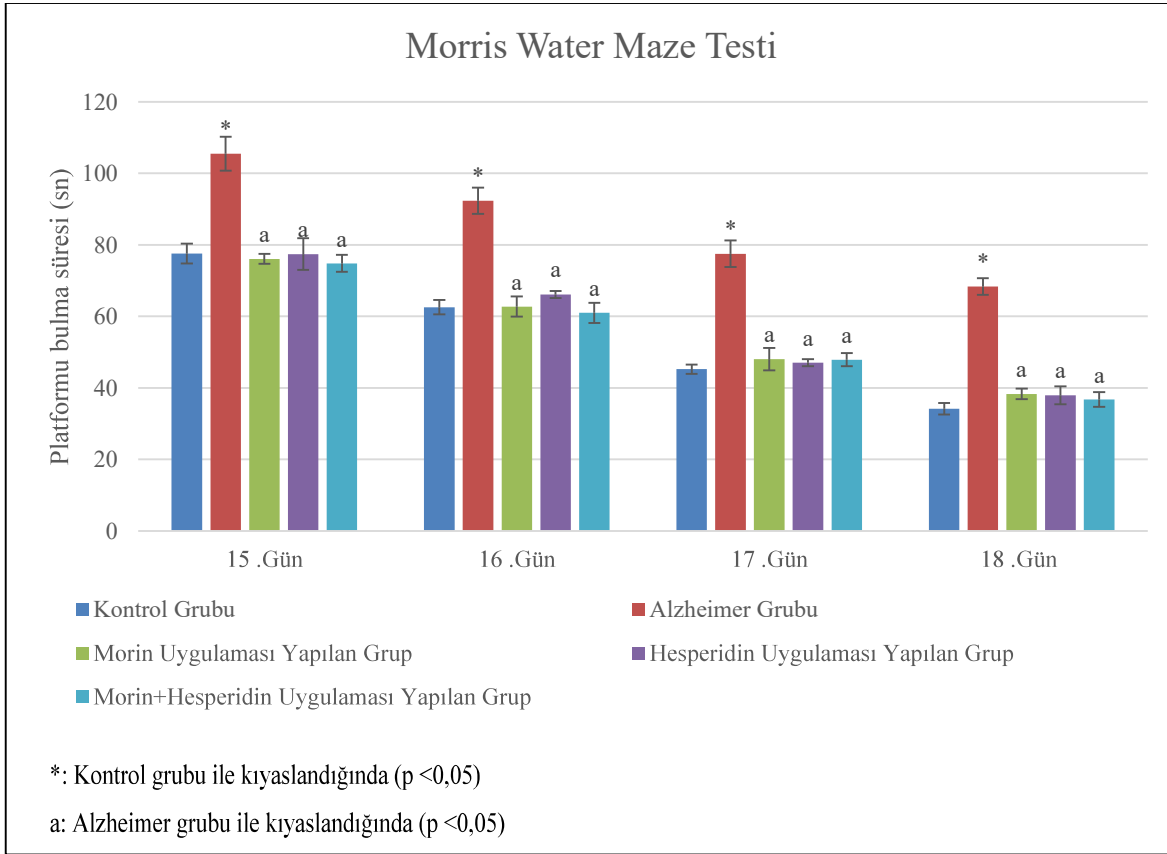
Çizelge 4.1. Moris su labirenti (moris water maze, MWM) test bulguları

Gruplar					
Günler	Kontrol	Alzheimer	Morin Uygulaması Yapılan Grup	Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup	Morin+Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup
15. Gün	77,58± 2,74	105,5± 4,74*	76,08± 1,39 ^a	77,41±4,44 ^a	74,83±2,35 ^a
16. Gün	62,58±1,98	92,33±3,69*	62,75±2,80 ^a	66,16±0,98 ^a	61±2,81 ^a
17. Gün	45,25±1,29	77,5±3,70*	48,08±3,13 ^a	47,08±0,97 ^a	47,91±1,80 ^a
18. Gün	34,16±1,63	68,33±2,31*	38,33±1,50 ^a	37,91±2,51 ^a	36,75±2,04 ^a

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

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

Testin 2. gününden itibaren tüm gruplarda ratların öğrenme performans eğrilerine göre platform alanına ulaşma süresinde azalma başlamış olup testin 4. gününde platformu bulma süresindeki azalma tüm gruplar için istatistiksel olarak anlamlıdır. (p<0.05) (Şekil 4.1.). Kontrol grubuna kıyasla Alzheimer grubunda platformu bulma süresi 2 kat artmıştır. Platformu bulma süresi Alzheimer grubuyla kıyaslandığında, morin (10 mg/kg) uygulanan grupta 1,78 kat, Hesperidin (100 mg/kg) uygulanan grupta 1,80 kat, Morin ve hesperidinin kombine uygulandığı grupta 1,86 kat azalmıştır (Çizelge 4.1.). Tüm uygulama gruplarında platformu bulma sürelerinde meydana gelen azalış istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0,05) (Şekil 4.1.). Alzheimer grubu platformu bulma süreleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir (P<0,05) (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Moris water maze (MWM) testi platformu bulma süreleri.

4.2. Biyokimyasal Parametrelerin Tayin Sonuçları

4.2.1. Beyin dokusunda nitrik oksit (NOx) düzeyleri

Sakrifikasyon sonrası hayvanlardan elde edilen beyin dokularında yapılan analizler sonucu belirlenen NOx düzeyleri Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Yapılan analizler sonucunda doku NOx seviyeleri alzheimer grubunda kontrol grubuna göre 2,57 kat artmıştır (Çizelge 4.2.). Alzheimer grubuna kıyasla NOx seviyelerinde, intraperitoneal morin (10 mg/kg) uygulanan grupta 2,79 kat, oral gavajla hesperidin (100 mg/kg) uygulanan grupta 3,23 kat, kombine morin ve hesperidin uygulanan grupta 4,92 kat düşüş meydana gelmiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Beyin dokularında nitrik oksit (NOx) düzeyleri analiz bulguları

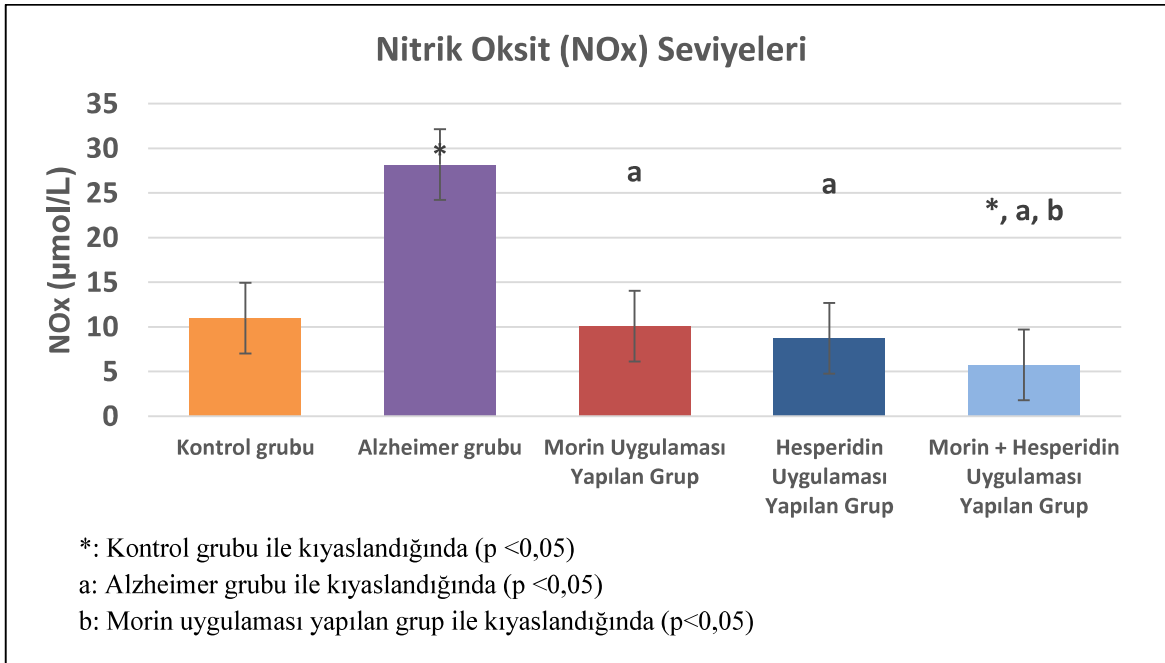
GRUPLAR	NOx (μmol/L)
Kontrol Grubu	10,97 ±1,15
Alzheimer Grubu	28,17 ±3,12*
Morin Uygulaması Yapılan Grup	10,08 ±1,61 ^a
Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup	8,73 ±1,68 ^a
Morin + Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup	5,73 ±1,28 ^{*, a, b}

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

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

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

Kontrol grubuna kıyasla uygulama gruplarında NOx seviyeleri morin grubunda kontrol grubuyla yaklaşık aynı seviyelerde ölçülürken, hesperidin grubunda 1,26 kat, morin ve hesperidin kombinasyon uygulandığı grupta 1,91 kat bir düşüş göstererek kontrol grubu NOx seviyelerinin altında ölçülmüştür (Çizelge 4.2.). Alzheimer grubuyla kıyaslandığında tüm uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (P <0,05) (Şekil 4.2.). Uygulama grupları birbirleri ile kıyaslandığında istatistiksel anlamda herhangi bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05) (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Beyin dokularında NOx düzeyleri

4.2.2. Beyin dokusunda protein karbonil (PC) düzeyleri

Sakrifikasyon sonrası hayvanlardan elde edilen beyin dokularında yapılan analizler sonucu belirlenen PC düzeyleri Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

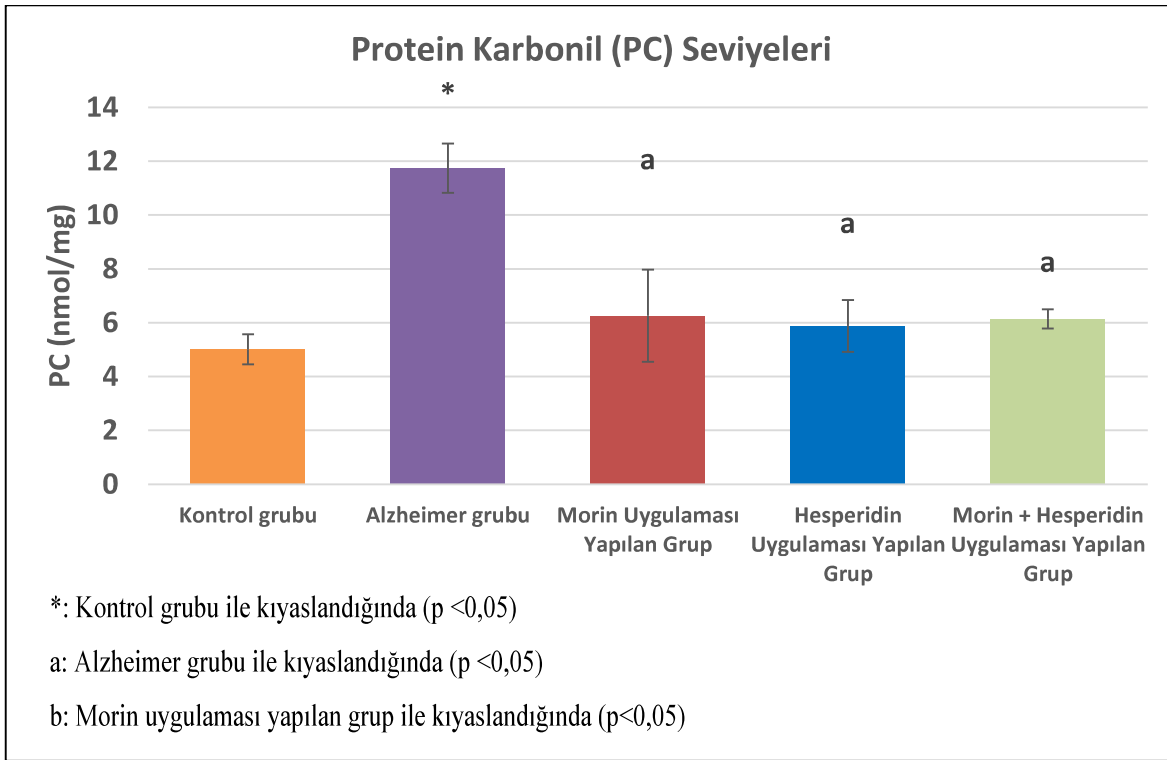
Çizelge 4.3. Beyin dokularında protein karbonil (PC) düzeyleri analiz bulguları

GRUPLAR	PC (nmol/mg)
Kontrol Grubu	5,01 ±0,56
Alzheimer Grubu	11,74 ± 0,92*
Morin Uygulaması Yapılan Grup	6,26 ±1,71 ^a
Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup	5,88 ±0,96 ^a
Morin + Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup	6,14 ±0,36 ^a

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

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

Yapılan ölçümlerde Alzheimer Grubu ile uygulama yapılan gruplar kıyaslandığında; uygulama yapılan grupların Protein karbonil düzeylerinde anlamlı düşüş gözlemlenmiştir (P <0,05) (Şekil 4.3.). Kontrol grubuna kıyasla PC seviyeleri Alzheimer grubunda 2.34 kat artmıştır. PC seviyeleri, morin (10 mg/kg) uygulaması yapılan grupta 1,88 kat, hesperidin (100 mg/kg) uygulaması yapılan grupta 2 kat ve kombine morin hesperidin uygulanan grupta 1.91 kat azlamıştır (Çizelge 4.3.). Uygulama yapılan gruplar birbiriyle kıyaslandığında anlamlı fark bulunmamaktadır (P>0,05) (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Beyin dokularında NOx düzeyleri

4.2.3. Serum AOPP düzeyleri

Toplanan kan örneklerinden elde edilen serumlarda yapılan analizler sonucunda tespit edilen AOPP düzeyleri Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Serumda AOPP düzeyleri analiz bulguları.

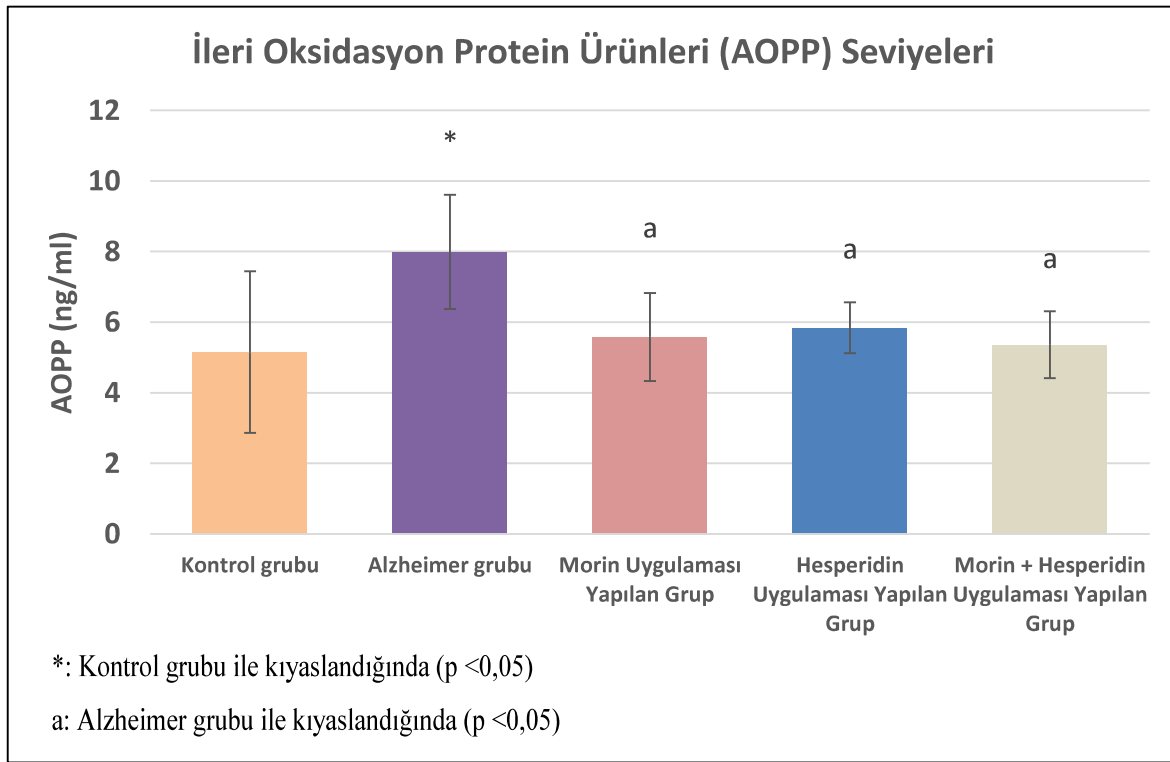
GRUPLAR	AOPP (ng/mL)
Kontrol Grubu	5,15 ± 2,29
Alzheimer Grubu	7,99 ± 1,62*
Morin Uygulaması Yapılan Grup	5,58 ± 1,25 ^a
Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup	5,84 ± 0,72 ^a
Morin + Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup	5,36 ± 0,95 ^a

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

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

Yapılan analizler sonucu Alzheimer grubu ve uygulama yapılan gruplar AOPP düzeyleri açısından kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($P < 0,05$) (Şekil 4.4.). Kontrol grubu ve Alzheimer grubu kıyaslandığında serum AOPP düzeylerinin

kontrol grubuna göre 1,55 kat artmıştır. Morin ve Hesperidinin hem birlikte hem de ayrı ayrı kullanımının Alzheimer oluşturulmuş ratlarda serum AOPP düzeylerini Alzheimer grubuna göre morin uygulamasında 1,43 kat, hesperidin (100 mg/kg) 1,37 kat, morin ve hesperidinin kombine uygulandığı grupta 1,49 kat azalttığı gözlemlenmiştir ($P < 0,05$) (Çizelge 4.4.). Morin ve hesperidin uygulaması yapılan gruplar birbirleri ile kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($P > 0,05$) (Şekil 4.4.). Aynı deney düzeneğinde kontrol grubu ve diğer uygulama grupları kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($P > 0,05$) (Çizelge 4.4.) (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. Serumda ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) düzeyleri

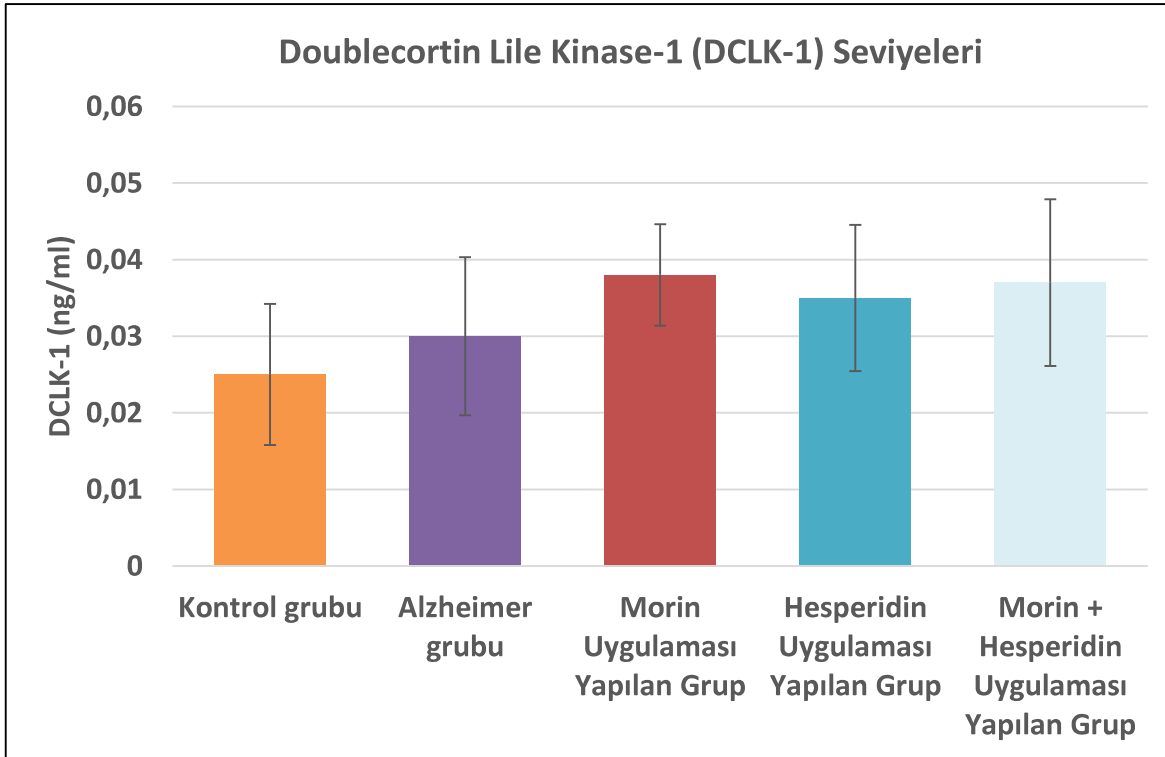
4.2.4. Serum DCLK-1 düzeyleri

Toplanan kan örneklerinden elde edilen serumlarda yapılan analizler sonucunda tespit edilen DCLK-1 düzeyleri Çizelge 4.5.'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Serumda DCLK-1 düzeyleri analiz bulguları.

GRUPLAR	DCLK-1 (ng/mL)
Kontrol Grubu	0,025 ± 0,009
Alzheimer Grubu	0,03 ± 0,010
Morin Uygulaması Yapılan Grup	0,038 ± 0,007
Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup	0,035 ± 0,010
Morin + Hesperidin Uygulaması Yapılan Grup	0,037 ± 0,011

Yapılan analizler sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde; Gruplar birbiri ile kıyaslandığında istatistiksel anlamda bir fark tespit edilememiştir ($P > 0,05$) (Çizelge 4.5.) (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Serumda doublecortin like kinase-1 (DCLK-1) düzeyleri

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada ratların sol lateral ventrikülüne yapay beyin omurilik sıvısında (yBOS) çözünmüş 3mg/kg tek doz streptozotosin (STZ) stereotaksik cerrahi yardımıyla uygulanarak 14 günlük inkübasyon süresinin ardından Morris Water Maze (MWM) testi uygulanarak Alzheimer hastalığı (AH) oluşumu izlenmiştir. AH oluşumunu takip eden 7 gün boyunca ratlara oral gavaj yardımıyla serum fizyolojik içerisinde çözülmuş hesperidin 100mg/kg dozunda uygulanmış, yine serum fizyolojik içerisinde çözülmuş olan morin 10mg/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyon yoluyla uygulanmıştır.

Tüm deney grupları ketamin (i.m. 45 mg/kg) ve ksilazin (i.m. 5 mg/kg) verilerek genel anestezi altına alınmış ve sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyon sonrasında uygun koşullarda alınan serum ve doku örnekleri biyokimyasal analiz işlemleri için -20°C’de muhafaza edildi. Alınan kan numunelerinden elde edilen serum örneklerinde ELISA yöntemi ile ticari kit kullanılarak AOPP ve DCLK-1 seviyeleri incelenmiştir.

Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, hesperidin uygulaması yapılan APPswe/PS1dE9 transgenik fare Alzheimer modelinde, anormal keşif aktivitesinde azalma görülürken, öğrenme ve hafıza eylemlerinde gelişmiş bir aktivite göstermiştir (Wang ve diğ. 2014). Thenmozhi ve arkadaşları AlCl₃ ile indükledikleri Alzheimer modelinde hesperidinin öğrenme ve hafıza kayıplarını önemli derecede düzelttiğini bildirmişlerdir (Thenmozhi ve diğ. 2017).

Çalışmamızda kontrol gurubu ve Alzheimer gruplar, stereotaksik cerrahi sonrası 15. günde başlanan MWM testi ile incelendiğinde STZ uygulanan gruplarda Alzheimer oluştuğu gözlemlenmiştir. Alzheimer oluşumu sonrasında 7 gün boyunca tek başına morin, tek başına hesperidin ve morin + hesperidinin birlikte uygulanması MWM test sonuçlarına göre hesperidin ve morinin hem ayrı ayrı hemde birlikte uygulanmasının Alzheimer’lı ratların bilişsel işlevlerinde iyileştirici etkilerinin olduğunu göstermiştir.

Son yıllarda tip-3 diyabet olarak nitelendirilen Alzheimer hastalığında plazma sıvısında artan şeker miktarı ile doğru orantılı olarak ortaya çıkan yeni oksidasyon ürünleri nöronlarda oksidatif strese sebep olmakta, hücre içi ve hücre dışı yapılarının bozulmasına yol açmaktadır. STZ enjeksiyonu yapılan deney hayvanlarının beyin omurilik sıvısı

içersine insülin enjekte edilmesi hayvanların bellek fonksiyonunu olumlu yönde etkilerken, Alzheimer hastalığına da pozitif katkı sağladığı bildirilmiştir (Derin ve diğ. 2001).

NO'nun düşük konsantrasyonları oksidatif hasar karşı koruyucu etki gösterirken yüksek konsantrasyonlara ulaştığında ortamdaki yapılara hasar vermeye başlamaktadır (Türköz ve Özerol, 1997). Yapılan bir çalışmada çözünür özellikte olan A β agregatlarının nöronal membrana ulaşarak lipid peroksidasyonuna, proteinlerin oksidasyonuna ve ROS-RNS ürünlerinin oluşumuna yol açarak NOx sentezini artırdığı, artan NOx'in mitokondrilerden sızarak ortamda bulunan süperoksit radikalleriyle reaksiyon vermesi sonucunda peroksinitrit oluşumuna sebep olduğu ve açığa çıkan peroksinitritin sinaptik terminalde oksidatif stres hasarına yol açtığı bildirilmiştir (Bulut, 2003).

Mohammadi ve arkadaşlarının A β 1-42 ile indüklenen Alzheimer ratlar üzerinde yaptığı bir çalışmada morinin antioksidan savunma sistemini güçlendirerek MDA ve NOx seviyelerini düşürdüğünü, oksidatif ve nitrosatif stresin başarılı bir şekilde üstesinden geldiğini bildirmiştir (Mohammadi ve diğ. 2021). Sharma ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları bir diğer çalışmada ise, STZ ile indüklenmiş Alzheimer modelinde ratlara intranasal olarak mikroemülsiyon formda olan morin hidrat uygulaması yapılmış ve morin hidratin lipid peroksidasyonunu, NOx konsantrasyonunu, asetilkolin esterase seviyelerini ve GSH bakiyelerini önemli ölçüde düşürdüğünü bildirmişleridir (Sharma ve diğ. 2017).

Ratlar üzerinde yaptığımız çalışmada oluşturduğumuz deneysel Alzheimer modelinde Alzheimer grubundaki hayvanların NOx düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit ettik. Yukarıda bahsedilen çalışma çalışmamızda elde ettiğimiz NOx sonuçlarını desteklemektedir.

Jangra ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada ratlarda AlCl₃ ile indüklenen Alzheimer modelinde Hesperidinin hipokampustaki oksido-nitrosatif stres ve inflamasyona karşı nöroprotektif etkilerinin olduğunu bildirmiştir (Jangra ve diğ. 2015). Hesperidinin yapılan diğer çalışmalarda antioksidan aktivitesi ve serbest radikal süpürücü özellikleri hem in vitro hemde in vivo çalışmalarla gösterilmiştir (Agati ve diğ. 2012; Ramful ve diğ. 2010; Wilmsen ve diğ. 2005; Arafa ve diğ. 2009; Choi, 2008). Bu bilgiler ışığında yaptığımız çalışmada hesperidin uygulanan Alzheimer'lı ratların doku NOx seviyelerinde Alzheimer grubuna göre anlamlı olarak bir düşüş olduğunu gözlemledik.

Mohammadi ve arkadaşlarının 2021 yılında yaptığı bir çalışmada $A\beta_{1-42}$ ile oluşturdukları Alzheimer modelinde morinin beyinde antioksidan sistemi destekleyerek güçlendirdiği ve $A\beta_{1-42}$ 'in yol açtığı oksidatif ve nitrosatif stresi azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca morinin hayvanlarda NO üretimini azalttığını ve katalaz aktivitesini ve GSH seviyelerini de artırdığını bildirmişlerdir (Mohammadi ve diğ. 2021).

Mahmoud ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada STZ ile indüklenmiş diyabet modelinde rat karaciğer dokusunda LPO ve NO seviyelerinin arttığını, fakat sonrasında belli bir süre uyguladıkları hesperidin ve naringin'in doku LPO ve NO seviyelerini önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir (Mahmoud ve diğ. 2012).

Morinin osteoartrit ve oksidatif strese etkisi üzerine yapılan bir çalışmada araştırmacılar morinin protoglandin E2 (PGE-2) ve NO seviyelerini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada morinin insan kondrositlerinde interlökin- 1β 'ya yanıt olarak indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz-2 ekspresyonunu mRNA ve protein seviyesinde inhibi ettiğini göstermiştir. Ayrıca morinin baskılayıcı etkisinin NF-KB aktivasyonunun inhibisyonu ile ilişkili olduğunu bunu ise I κ B- α bozulmasını ve NF-KB translokasyonunu inhibe ederek gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir (Chen ve diğ. 2012).

Heeba ve arkadaşları ise 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada karbon tetraklorür kaynaklı karaciğer fibrozunda morinin Malondialdehit (MDA) ve NO seviyelerini azaltıcı etkisinin olduğunu göstermişlerdir (Heeba ve diğ. 2014). Bu çalışmalarla paralel olarak yapmış olduğumuz çalışmada morinin Alzheimer'lı ratlarda doku NOx seviyelerini Alzheimer grubuna göre anlamlı derecede azalttığını gözlemledik.

Morin ve hesperidin birliktte uygulandığı grupta doku NOx seviyelerinin hem kontrol hemde Alzheimer grubu NOx seviyelerinin altına düştüğünü gözlemledik. Bunun yanı sıra morin ve hesperidin gruplarıyla karşılaştırıldığında morin ve hesperidin birliktte kullanımının doku NOx seviyelerini ayrı ayrı kullanıma göre önemli derecede azalttığını tespit ettik.

Amino asit yan zincir hidroksillerinin oksitlenmesi sonucu oluşan keton ve aldehit türevleri karbonil gruplarının proteinlere katılmasını sağlar (Gella ve Durany, 2009). Lizin, arginin, prolin, treonin kalıntılarının oksidasyonu, peptit bağlarının α -amidasyonu, glutamil

kalıntılarının oksidasyonu gibi yollarla karbonil grupları proteinlerin yapısına katılabilmektedir. Reaktif oksijen türleri aynı zamanda lipitler, karbonhidratlar ve DNA ile de reaksiyona girerek çeşitli oksidasyon ürünleri oluşturur. Oluşan bu ürünler, proteinlerle reaksiyona girebilen ve proteinlerin yapısına katılan karbonil grupları oluşturabilen reaktif karbonil türevleri ve aldehitlerin oluşumuna neden olmaktadır. Yaşlanmayla beraber gelişen fizyolojik bozukluklar, oksidatif stres koşulları ve Alzheimer ile ilişkili proteinlerde meydana gelen oksidatif hasarın ölçülmesi ve derecesinin belirlenebilmesi için protein karbonil gruplarının düzeylerinin tespit edilmesi iyi bir yöntemdir (Gella ve Durany, 2009; Korolainen, 2007).

Bizde yaptığımız bu çalışmada Alzheimer'ın beyinde oluşturduğu fizyopatolojik değişiklikler sonucu gelişen ve hastalığın ilerleyişini hızlandıran oksidatif stresin verdiği hasarı ve ayrıca hesperidin ve morinin oksidatif strese karşı koruyucu ve onarıcı etkisini belirleyebilmek adına beyin dokuda PC seviyelerinin ölçümünü gerçekleştirdik. Yaptığımız ölçümlerde Alzheimer grubunda PC seviyelerinin kontrol grubuna göre arttığını tespit ettik.

Bilindiği üzere bazı metallerin oksidatif stresle beraber reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin ortaya çıkmasında rol oynamaktadır. Khan ve Parvez'in 2015 yılında bir ağır metal olan kadmiyum ile toksisite modeli oluşturmuşlar. Daha sonra bu toksiste modeli üzerinde kadmiyumun oksidatif stresi indüklediğini çeşitli oksidatif stres parametreleriyle göstermişlerdir. Khan ve Parvez yaptıkları bu çalışmada oksidatif stresin proteinler üzerindeki etkilerini gösteren protein karbonil seviyelerinide incelemişler ve kadmiyum verdikleri gruplarda protein karbonil seviyelerinin yükseldiğini gözlemlemişlerdir. Hesperidin uygulanan kadmiyum grubunda protein karbonil seviyelerinin ise başarılı bir şekilde düştüğünü bildirmişlerdir (Khan ve Parvez, 2015).

Ratlar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada gama ışınına maruz bırakılan erkek ratların beyin dokularında çeşitli hormonlar, enzimler ve oksidatif hasar belirteçleri incelenmiş ve incelenen bu biyokimyasal parametrelerden hormonlar ve enzimlerin seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla düştüğünü öte yandan PC ve AOPP gibi oksidatif stres belirteçlerinin seviyelerinin arttığını gözlemlemişlerdir. Çalışmada maruziyet öncesi-sonrası (Hesperidin-Gama ışını-Hesperidin) ve maruziyet sonrası (Gama ışını-Hesperidin) olmak üzere iki ayrı grup oluşturularak hesperidin uygulaması yapmışlar. Gama ışını maruziyeti sonrası

hesperidin uygulaması yapılan ratlarda incelenen parametrelerde artış ya da azalış gözlemlenmezken, maruziyet öncesinde bir süre hesperidin uygulaması yaptıkları ve maruziyet sonrasında da hesperidin uygulamasına devam ettikleri ratlarda hormon seviyelerinde ve enzim aktivitelerinde artış gözlemlenmişler, oksidatif stres parametreleri olan PC ve AOPP seviyelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlenmişlerdir (Said ve diğ. 2012).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada ise uygulama gruplarına baktığımızda hesperidin ve morinin hem ayrı ayrı hemde birlikte kullanımının doku PC seviyelerini Alzheimer grubuyla kıyaslandığında önemli derecede düşürdüğünü gözlemledik. Hesperidin'in antioksidan süpürücü özellikleri üzerine yukarıda bahsi geçen çalışmalar kendi çalışmamızda elde ettiğimiz verileri destekler niteliktedir.

Ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olan AOPP protein oksidasyonunu belirlemede kullanılan duyarlı ve güvenilir bir biyobelirteçtir (Alderman ve diğ. 2002; Witko-Sarsat ve diğ. 1996; Witko-Sarsat ve diğ. 1998).

İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada oksidatif stress hasarının seviyesinin belirlenmesi amacıyla AOPP düzeyleri ölçülmüş ve AH'lı gruplarda kontrol gruplarına göre anlamlı olarak arttığını tespit etmişlerdir (Altunoglu, 2014). Yine insanlar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada AOPP seviyelerinin AH'lı bireylerde sağlıklı bireylere göre daha yüksek seviyelerde olduğunu tespit etmişlerdir (Atukeren, 2017).

Cervellati ve arkadaşları Alzheimer'lı ve vasküler demansı olan hastalar üzerinde yaptıkları bir araştırmada ileri evre AH ve vasküler demansı olan hastalarda yüksek AOPP seviyeleri bulmuşlardır (Cervellati ve diğ. 2014).

Yukarıda bahsedilen çalışmalarla paralel olarak çalışmamızda, kontrol grubuna kıyasla Alzheimer grubunda serum AOPP seviyelerinin arttığını gözlemledik. Güçlü birer antioksidan bileşik olduğu bilinen morin ve hesperidin'in oksidatif stres üzerine olan etkisini belirleyebilmek için bu iki bileşiği ratlara hem ayrı ayrı hemde birlikte uyguladık. Uygulama sonrası ratlardan elde edilen serum örneklerinde AOPP seviyelerini ölçtüğümüzde tüm uygulama gruplarında serum AOPP seviyelerinin Alzheimer grubuna kıyasla önemli derecede düştüğünü gözlemledik. Diğer yandan Morin ve hesperidin

uygulanan tüm uygulama gruplarında AOPP seviyelerini kontrol grubu seviyelerine çekilmesi bu iki bileşimin protein oksidasyonuna karşı olan koruyucu etkisini göstermektedir.

Yeni keşfedilmiş bir protein olan DCLK-1 mikrotübül bağlanmasından ve nöronal gelişimde rol oynar. Alzheimer hastalığında nöronların mikrotübül sistemlerinde defektler olduğu bilgisinden yola çıkılarak, hastalığın seyri konusunda ipucu veren bir biyobelirteçtir (Mohandas, Rajmohan ve Raghunath, 2009; Burgess ve Reiner, 2000; Burgess ve Reiner, 2001; Koizumi ve diğ. 2017).

2017 yılında yapılan bir çalışmada Alzheimer hastalığının ilerleyişi arttığında DCLK-1 seviyelerinin de hastalığın seyri ile paralel olarak arttığını fakat bu konuda yeterli çalışmaların olmadığını ve ileri çalışmaların yapılması gerektiği bildirilmiştir (Güzel ve diğ. 2017). Yapmış olduğumuz bu çalışmada tüm deney gruplarında serum DCLK-1 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Çalışmamızda morin ve hesperidinin uygulandığı tüm gruplarda, Alzheimer olgusunda ortaya çıkan ve hastalığın seyrini etkileyen oksidatif stresi azalttığını gözlemledik. Güçlü birer antioksidan olan bu iki bileşimin Alzheimer hastalığıyla beraber ortaya çıkan fizyopatolojik değişiklikleri azaltacağını ve hastalığın ilerleyişinin yavaşlatabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., and Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science*, 196, 67–76.
- Akdağ, M., Ergün, M., Özçelik, A., B., ve Uysal, M. (2019). Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçlar ve yeni yaklaşımlar. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(2), 1149-1159.
- Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., Bradt, B., Bauer, J., Cole, G. M., Cooper, N. R., Eikelenboom, P., Emmerling, M., Fiebich, B. L., Finch, C. E., Frautschy, S., Griffin, W. S., Hampel, H., Hull, M., Landreth, G., Lue, L., Mrak, R., Mackenzie, I. R., McGeer, P. L., O'Banion, M. K., Pachter, J., Pasinetti, G., Plata-Salaman, C., Rogers, J., Rydel, R., Shen, Y., Streit, W., Strohmeyer, R., Tooyoma, I., Van Muiswinkel, F. L., Veerhuis, R., Walker, D., Webster, S., Wegrzyniak, B., Wenk, G., and Wyss-Coray, T. (2000). Inflammation and alzheimer's disease. *Neurobiology Aging*, 21(3), 383-421.
- Aktümsek, A. (2017). “Sinir Sistemi (Systema Nervosum)”, *Anatomi ve Fizyoloji: İnsan Biyolojisi*, Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık, 71-110.
- Akyüz, C. (2018). *Sıçanlarda Etanol İle Oluşturulan Karaciğer Fibrozisi Üzerine Hesperidin Antifibrotik, Antiinflamatuvar Etkisi Ve Doz Duyarlılığı*. Tıpta Uzmanlık Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul, 18-19.
- Alderman, C. J. J., Shah, S., Foreman, J. C., Chain, B. M., and Katz, D. R. (2002). The role of advanced oxidation protein products in regulation of dendritic cell function. *Free Radica Biolgy and Medicine*, 32(5), 377-385.
- Al-Numair, K. S., Chandramohan, G., and Alsaif, M. A. (2012). Pretreatment with morin, a flavonoid, ameliorates adenosine triphosphatases and glycoproteins in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Journal of Natural Medicines*, 66(1), 95-101.
- Altunoglu, E., Guntas, G., Erdenen, F., Akkaya, E., Topac, I., Irmak, H., Derici, H., Yavuzer, H., Gelisgen, R., ve Uzun, H. (2014). Ischemia-modified albumin and advanced oxidation protein in Alzheimer's disease. *Geriatrics Gerontology International*, 15(7), 872-880.
- Andorfer, C., Kress, Y., Espinoza, M., de Silva, R., Tucker, K. L., Barde, Y. A., Duff, K., and Davies, P. (2003). Hyperphosphorylation and aggregation of tau in mice expressing normal human tau isoforms. *Journal of Neurochemistry*, 86(3), 582-90.
- Arafa, H. M., Aly, H. A., Abd-Ellah, M. F., and El-Refaey, H. M. (2009). Hesperidin attenuates benzo[alpha] pyrene-induced testicular toxicity in rats via regulation of oxidant/antioxidant balance. *Toxicology and Industrial Health*, 25(6), 417–427.

- Arvanitakis, Z., Wilson, R. S., Bienias, J. L., Evans, D. A., and Bennett, D. A. (2004). Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and decline in cognitive function. *Archives of Neurology*, 61(5), 661-666.
- Atukeren, P., Cengiz, M., Yavuzer, H., Gelisgen, R., Altunoglu, E., Oner, S., Erdenen, F., Yucaakın, D., Derici, H., Cakatay, U., ve Uzun, H. (2017). The efficacy of donepezil administration on acetylcholinesterase activity and altered redox homeostasis in Alzheimer's disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 90, 786-795.
- Avila, J., Lucas, J., and Hernandez, F. (2011). Animal models for neurodegenerative disease. Cambridge: *The Royal Society of Chemistry*, 284-290.
- Aykac, G., Uysal, M., Yalcın, A. S., Kocak-Toker, N., Sivas, A., ve Oz, H. (1985). The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*, 36(1), 71-76.
- Beckman, K. B., and Ames, B. N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews*, 78(2), 547-579.
- Berlett, B. S., and Stadtman, E. R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biology and Chemistry*, 272(33), 20313-20316.
- Bettens, K., Sleegers, K., and Van Broeckhoven, C. (2010). Current status on alzheimer's disease molecular genetics: from past, to present, to future. *Human Molecular Genetics*, 19, R4-R11.
- Bindoli, A., and Rigobello, M. P. (2002). Mitochondrial thioredoxin reductase and thiol status. *Methods in Enzymology*, 347, 307-316.
- Brown, J., O'Prey, J., and Harrison, P. R. (2003). Enhanced sensitivity of human oral tumours to the flavonol, morin, during cancer progression: involvement of the Akt and stress kinase pathways. *Carcinogenesis*, 24(2), 171-177.
- Bulut, S. (2003). Alzheimer hastalığı'nda oksidatif stres. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi*, 1(1), 54-61.
- Burgess, H. A., and Reiner, O. (2001). Cleavage of doublecortin-like kinase by calpain releases an active kinase fragment from a microtubule anchorage domain. *Journal of Biology and Chemistry*, 276(39), 36397-36403.
- Burgess, H. A., and Reiner, O. (2000). Doublecortin-like kinase is associated with microtubules in neuronal growth cones. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 16(5), 529-541.
- Büyükavşar, K., (2005, 27 Mayıs). *Nitrik oksidin farmakolojisi, nitrik oksidin fizyolojik ve patofizyolojik olaylardaki rolü*. Farmakoloji Eğitim Sempozyumları Programları, Mersin, 2-20.

- Campos-Esparza, M. R., Sanchez-Gomez, M. V., and Matute, C. (2009). Molecular mechanisms of neuroprotection by two natural antioxidant polyphenols. *Cell Calcium*, 45(4), 358-368.
- Caselli, A., Cirri, P., Santi, A., and Paoli, P. (2016). Morin: A promising natural drug. *Current Medicinal Chemistr*, 23(8), 774–791.
- Casini, A., Ferrali, M., and Pompella, A. (1986). Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissue of bromobenzene intoxicated mice. *The American Journal of Pathology*, 123(3), 520-531.
- Caspersen, C., Wang, N., Yao, J., Sosunov, A., Chen, X., Lustbader, J.W., Xu, H. W., Stern, D., McKhann, G., and Yan, S. D. (2005). Mitochondrial Abeta: a potential focal point for neuronal metabolic dysfunction in alzheimer's disease. *FASEB Journal*, 19(14), 2040-2041.
- Cervellati, C., Romani, A., Seripa, D., Cremonini, E., Bosi, C., Magon, S., Passaro, A., Bergamini, C. M., Pilotto, A., and Zuliani, G. (2014). Oxidative balance, homocysteine and uric acid levels in older patients with late onset alzheimer's disease or vascular dementia. *Journal of the Neurological Sciences*, 337(1-2), 156–161.
- Chen, W. P., Wang, Y. L., Tang, J. L., Hu, P. F., Bao, J. P., and Wu, L. D. (2012). Morin inhibits interleukin-1 β induced nitric oxide and prostoglandin E₂ production in human chondrocytes. *International Immunopharmacology*, 12(2), 447-452.
- Choi, E. J. (2008). Antioxidative effects of hesperetin against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced oxidative stress in mice. *Life Science*, 82(21-22), 1059-1064.
- Choi, E. J. (2007). Hesperetin induced G1-phase cell cycle arrest in human breast cancer MCF-7 cells: involvement of CDK4 and p21. *Nutrition and Cancer*, 59(1), 115-119.
- Cirrito, C. R., Yamata K. A., Finn M. B., Sloviter R. S., Bales K. R., May P. C., Schoepp D. D., Paul S. M., Mennerick S., and Holtzman D. M. (2005). Synaptic activity regulates interstitial fluid amyloid- β levels in vivo. *Neuron*, 48(6), 913-922.
- Commenges, D., Scotet, V., Renaud, S., Jacqmin-Gadda, H., Barberger-Gateau, P., and Dartigues, J. F. (2000). Intake of flavonoids and risk of dementia, *European Journal of Epidemiology*, 16(4), 357–363.
- Commoner, B., Townsend, J., and Pake, G. E. (1954). Free radicals in biological materials. *Nature*, 174, 689–691.
- Comporti, M. (1993). Lipid peroxidation. Biopathological significance. *Molecular Aspects of Medicine*, 14(3), 199-207.

- Corder, E. H., Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D. E., Gaskell, P. C., Small, G. W., Roses, A. D., Haines, J. L., and Pericak-Vance, M. A. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*, 261(5123), 921-923.
- Craft, S., Peskind, E., Schwartz, M. W., Schellenberg, G. D., Raskind, M., and Porte, D. Jr. (1998). Cerebrospinal fluid and plasma insulin levels in Alzheimer's disease: relationship to severity of dementia and apolipoprotein E genotype. *Neurology*, 50(1), 164-168.
- Crews, L., and Masliah, E. (2010). Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Human Molecular Genetics*, 19, R12-R20.
- Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., Rossi, R., and Milzani, A. (2003a). Protein carbonylation in human diseases. *Trends in Molecular Medicine*, 9(4), 169-176.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., and Colombo, R. (2003b). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, 329(1-2), 23-38.
- Davies, M. J., Fu, S., Wang, H., and Dean, R. T. (1999). Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11-12), 1151-1163.
- Dean, R. T., Fu, S., Stocker, R., and Davies, M. J. (1997). Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal*, 324(1), 1-18.
- Denda, A., Ura, H., Tsujiuchi, T., Tsutsumi, M., Eimoto, H., Takashima, Y., Kitazawa, S., Kinugasa, T., and Konishi, Y. (1989). Possible involvement of arachidonic acid metabolism in phenobarbital promotion of hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis*, 10(10), 1929-1935.
- Derin, D., Yazıcı, A., ve Erkoç, Ş. (2001). Şizofrenik bozukluğu olan hastalarda serbest radikal metabolizması ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemi elemanlarının incelenmesi. *Bulletion Of Clinical Psychopharmacology*, 11, 174-182.
- Draper, H. H. (1990). Nutritional modulation of oxygen radical pathology. In Draper, H. H., (Editor), *Advances in Nutritional Research*. New York: Plenum Press, 119-145.
- Erlund, I., Meririnne, E., Alfthan, G., and Aro, A. (2001). Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. *The Journal of Nutrition*, 131(2), 235-241.
- Ersöz, A. (2018). *Sisplatinle İndüklenen İn Vitro Böbrek Hücre Hasarına Hesperidin'in Koruyucu Etkisinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 16-21.

- Fang, S. H., Hou, Y. C., Chang, W. C., Hsiu, S. L., Chao, P. D., and Chiang, B. L. (2003). Morin sulfates/glucuronides exert anti-inflammatory activity on activated macrophages and decreased the incidence of septic shock. *Life Sciences*, 74(6), 743-756.
- Fang, Y. Z., Yang, S., and Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
- Francis, A. R., Shetty, T. K., and Bhattacharya, R. K. (1989). Modifying role of dietary factors on the mutagenicity of aflatoxin B1: in vitro effect of plant flavonoids. *Mutation Research*, 222(4), 303-401.
- Galati, E. M., Monforte, M. T., Kirjavainen, S. A., Forestieri, M., Trovato, A., and Tripodo, M. M. (1994). Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco*, 40(11), 709-712.
- Galati, E. M., Trovato, A., Kirjavainen, S., Forestieri, A. M., Rossitto, A., and Monforte, M. T. (1996). Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note III): antihypertensive and diuretic activity in rat. *Farmaco*, 51(3), 219-221.
- Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L. J., and Singla, A. K. (2001). Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytotherapy Research*, 15(8), 655-669.
- Gella, A., and Durany, N. (2009). Oxidative stress in alzheimer disease. *Cell Adhesion and Migration*, 3(1), 88-93.
- Gong, E. J., Park, H. R., Kim, M. E., Piao, S., Lee, E., Jo, D., Chung, H. Y., Ha, N., Mattson, M. P., and Lee, J. (2011). Morin attenuates tau hyperphosphorylation by inhibiting GSK3 β . *Neurobiology of Disease*, 44(2), 223-230.
- Good, P. F., Werner, P., Hsu, A., Olanow, C. W., and Perl, D. P. (1996). Evidence of neuronal oxidative damage in Alzheimer's disease. *The American Journal of Pathology*, 149(1), 21-28.
- Gottlieb, M., Leal-Campanario, R., Campos-Esparza, M. R., Sanchez-Gomez, M. V., Alberdi, E., Arranz, A., Delgado-García, J. M., Gruart, A., and Matute, C. (2006). Neuroprotection by two polyphenols following excitotoxicity and experimental ischemia. *Neurobiology of Disease*, 23(2), 374-386.
- Gotz, J., Chen, F., van Dorpe, J., and Nitsch, R. M. (2001). Formation of neurofibrillary tangles in P301 τ transgenic mice induced by A β 42 fibrils. *Science*, 293(5534), 1491-1495.
- Guardia, T., Rotelli, A. E., Juarez, A. O., and Pelzer, L. E. (2001). Anti-inflammatory Properties of Plant Flavonoids. Effects of Rutin, Quercetin and Hesperidin on Adjuvant Arthritis in Rat, *Il Farmaco*, 56(9), 683-687.

- Güzel, S., Yıldız, Ö., Ünal, A., Kızıler, A., Gülyavaş, T., Güzel, E., ve Fidan, Ç. (2017). Alzheimer hastalığında doublecortin-like kinaz-1 düzeyleri ve oksidan durumu. *Çukurova Medical Journal*, 42(4), 687-693.
- Haass, C., and Selkoe, D. J. (2007). Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid β -peptide. *Nature Reviews*, 8, 101-12.
- Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. C. (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd edition. New York: *Oxford University Press*, 10-121.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S., and Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 16(6), 845-850.
- Hardiman, O., Doherty, C. P., Elamin, M., and Bede, P. (2016). *Neurodegenerative Disorders*. Switzerland: Springer International Publishing, 289-303.
- Hauptmann, S., Keil, U., Scherping, I., Bonert, A., Eckert, A., and Muller, W. E. (2006). Mitochondrial dysfunction in sporadic and genetic Alzheimer's disease. *Experimental Gerontology*, 41(7), 668-673.
- Havik, B., Degenhardt, F. A., Johansson, S., Fernandes, C. P., Hinney, A., Scherag, A. et al. (2012). DCLK1 variants are associated across schizophrenia and attention deficit/hyperactivity disorder. *PLoS One*, 7, e35424.
- Hawkins, K. E., and Duchen, M. (2019). Modelling mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease using human induced pluripotent stem cells. *World Journal of Stem Cells*, 11(5), 236-253.
- Heeba, G. H., and Mahmoud, M. E., (2014). Therapeutic potential of morin against liver fibrosis in rats: modulation of oxidative stress, cytokine production and nuclear factor kappa B. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(2), 662-671.
- Hill, K. D., LoGiudice, D., Lautenschlager, N. T., Said, C. M., Doddand, K. J., and Suttanon, P. (2009). Effectiveness of balance training exercise in people with mild to moderate severity alzheimer's disease: protocol for a randomised trial. *BMC Geriatrics*, 16, 9-29.
- Huang, S. M., Tsai, S. Y., Lin, J. A., Wu, C. H., and Yen, G. C. (2012). Cytoprotective effects of hesperetin and hesperidin against amyloid betainduced impairment of glucose transport through downregulation of neuronal autophagy. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56(4), 601-609.
- Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E., and Chaudhuri, G. (1987). Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(24), 9265-9269.

- Ikemura, M., Sasaki, Y., Giddings, J. C., and Yamamoto, J. (2012). Preventive effects of hesperidin, glucosyl hesperidin and naringin on hypertension and cerebral thrombosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Phytotherapy Research*, 26(9), 1272-1277.
- Isaacs, A. M., Senn, D. B., Yuan, M., Shine, J. P., and Yankner, B. A. (2006). Acceleration of amyloid beta-peptide aggregation by physiological concentrations of calcium. *Journal of Biological Chemistry*, 281(38), 27916-27923.
- Internet: Wikimedia commons, File:Encephalon human sagittal section multilingual.svg (March, 2018). Web: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Encephalon_human_sagittal_section_multilingual.svg, Son Erişim Tarihi: 06.11.2022
- Jangra, A., Kasbe, P., Pandey, S. N., Dwivedi, S., Gurjar, S. S., Kwatra, M., et al. (2015). Hesperidin and silibinin ameliorate aluminum-induced neurotoxicity: modulation of antioxidants and inflammatory cytokines level in mice hippocampus. *Biological Trace Element Research*, 168(2), 462-471.
- Jeong, Y. H., Kim, J. M., Yoo, J., Lee, S. H., Kim, H. S., and Suh, Y. H. (2011). Environmental enrichment compensates for the effects of stress on disease progression in Tg2576 mice, an Alzheimer's disease model. *Journal of Neurochemistry*, 119(6), 1282-1293.
- Jung, K. Y., Park, J., Han, Y. S., Lee, Y. H., Shin, S. Y., and Lim, Y. (2017). Synthesis and biological evaluation of hesperetin derivatives as agents inducing apoptosis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 25(1), 397-407.
- Kawabata, K., Tanaka, T., Honjo, S., Kakumoto, M., Hara, A., Makita, H., Tatematsu, N., Ushida, J., Tsuda, H., and Mori, H. (1999). Chemopreventive effect of dietary flavonoid morin on chemically induced rat tongue carcinogenesis. *International Journal of Cancer*, 83(3), 381-386.
- Khan, M. H. A., and Parvez, S. (2015). Hesperidin ameliorates heavy metal induced toxicity mediated by oxidative stress in brain of Wistar rats. *Journal Of Trace Elements in Medicine and Biology*, 31, 53-60.
- Kim, H., Park, B. S., Lee, K. G., Choi, C. Y., Jang, S. S., Kim, Y. H., and Lee, S. E. (2005). Effects of naturally occurring compounds on fibril formation and oxidative stress of beta-amyloid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8537-8541.
- Kim, H. K., Jeong, T. S., Lee, M. K., Park, Y. B., and Choi, M. S. (2003). Lipid-lowering efficacy of hesperetin metabolites in high-cholesterol fed rats. *Clinica Chimica Acta*, 327(1-2), 129-137.

- Kim, J., Basak, J. M., and Holtman, D. M. (2009). The role of apolipoprotein E in alzheimer's Disease. *Neuron*, 63(3), 287-303.
- Ko, P. C., Kilduff, P. T., Higgins, J. A., Milberg, W., and McGlinchey, R. (2005). Evidence for intact selective attention in alzheimer's disease patients using a location priming task. *Neuropsychology*, 19(3), 381–389.
- Koizumi, H., Fujioka, H., Togashi, K., Thompson, J., Yates, J. R., Gleeson, J. G. et al. (2017). DCLK1 phosphorylates the microtubule-associated protein MAP7D1 to promote axon elongation in cortical neurons. *Developmental Neurobiology*, 77(4), 493-510.
- Kok, L. D., Wong, Y. P., Wu, T. W., Chan, H. C., Kwok, T. T., and Fung, K. P. (2000). Morin hydrate: a potential antioxidant in minimizing the free-radicalsmediated damage to cardiovascular cells by anti-tumor drugs. *Life Sciences*, 67(1), 91-99.
- Korolainen, M. A., Nyman, T. A., Nyysönen, P., Hartikainen, E. S., and Pirttula, T. (2007). Multiplexed proteomic analysis of oxidation and concertrations of cerebrospinal fluid proteins in alzheimer disease. *Clinical Chemistry*, 53(4), 657- 665.
- Kulkarni, A. P., and Byezkowski, J. Z. (1994). Hepatotoxicity. In E. Hodgson and P.E. Levi (Eds.), *Introduction to Biochemical Toxicology*. Second Edition. Norwalk, Connecticut, Appleton and Lange, 263-272.
- Kumar, P., and Kumar, A. (2010). Protective effect of hesperidin and naringin against 3-nitropropionic acid induced Huntington's like symptoms in rats: possible role of nitric oxide. *Behavioural Brain Research*, 206(1), 38-46.
- LaFerla, F. M. (2002). Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(11), 862-872.
- Lan, X., Han, X., Li, Q., and Wang, J. (2017). Epicatechin, a natural flavonoid compound, protects astrocytes against hemoglobin toxicity via Nrf2 and AP-1 signaling pathways. *Molecular Neurobiology*, 54(10), 7898–7907.
- Lane, C. A., Hardy, J., and Schott, J. M. (2018). Alzheimer's disease, *European Journal of Neurology*, 25(1), 59-70.
- Le Hellard, S., Havik B, Espeseth T, Breilid H, Lovlie R, Luciano M et al. (2009). Variants in doublecortin- and calmodulin kinase like 1, a gene up-regulated by BDNF, are associated with memory and general cognitive abilities. *PLoS One*, 4, e7534.
- Lee H.S., Jung, K. H., Hong, S. W., Park, I. S., Lee, C., Han, H. K., Lee, D. H., and Hong, S. S. (2008). Morin protects acute liver damage by carbon tetrachloride (CCl4) in rat. *Archives of Pharmacology Research*, 31(9), 1160-1155.

- Lee, H. S., Jung, K. H., Park, I. S., Kwon, S. W., Lee, D. H., and Hong, S. S. (2009). Protective effect of morin on dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *Digestive Diseases Sciences*, 54(4), 782-788.
- Lemkul, J. A., and Bevan, D. R. (2010). Destabilizing Alzheimer's A beta (42) protofibrils with morin: mechanistic insights from molecular dynamics simulations. *Biochemistry*, 49(18), 3935-3946.
- Lemkul, J. A., and Bevan, D. R. (2012). Morin inhibits the early stages of amyloid b-peptide aggregation by altering tertiary and quaternary interactions to produce "offpathway" structures. *Biochemistry*, 51, 5990-6009.
- Levine, R. L. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(9), 790-796.
- Lian, T. W., Wang, L., Lo, Y. H., Huang, I. J., and Wu, M. J. (2008). Fisetin, morin and myricetin attenuate CD36 expression and oxLDL uptake in U937-derived macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1781(10), 601-609.
- Lotito, S. B., and Frei, B. (2006). Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radical Biology and Medicine*, 41(12), 1727-1746.
- Lowenstein, C. J., Dinerman, J. L., and Snyder, S. H. (1994). Nitric oxide: A physiologic messenger. *Annals of Internal Medicine*, 120(3), 227-237.
- Mahmoud, A. M., Ashour, M. B., Abdel-Moneim, A., and Ahmed, O. M. (2012). Hesperidin and naringin attenuate hyperglycemia-mediated oxidative stress and proinflammatory cytokine production in high fat fed/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 26(6), 483-490.
- Manach, C., Morand, C., Gil-Izquierdo, A., Bouteloup-Demange, C., and Remesy, C. (2003). Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses of orange juice. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57(2), 235-242.
- Manthey, J. A., and Grohmann, K. (1998). Flavonoids of the orange subfamily Aurantioideae. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 439, 85-101.
- Mattsson, N., Zetterberg, H., Hansson, O., Andreasen, N., Parnetti, L., Jonsson, M., et al. (2009). CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA*, 302(4), 385-393.
- Mauludin, R., and Müller, R. H. (2013). Physicochemical properties of hesperidin nanocrystal. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(3), 954-960.

- McKhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, H., Hyman, B. T., Kawas, C. H., Klunk, W. E., et al. (2011). The diagnosis of dementia due to alzheimer's disease: recommendations from the national institute on aging-alzheimer's association workgroups on diagnostic guidelines for alzheimer's disease. *Alzheimers Dementia*, 7(3), 263-269.
- Meraz-Rios, M. A., Lira-De Leon, K. I., Campos-Pena, V., De Anda-Hernandez, M. A., and Mena-Lopez, R. (2010). Tau oligomers and aggregation in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 112(6), 1353-1367.
- Middleton, J. R. E., Kandaswami, C., and Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673-751.
- Miranda, K. M., Espey, M. G., and Win, D. A. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Academic Press*, 62-71.
- Mohammadi, N., Asle-Rousta, M., Rahnema, M., and Amini, R. (2021). Morin attenuates memory deficits in a rat model of Alzheimer's disease by ameliorating oxidative stress and neuroinflammation. *European Journal of Pharmacology*, 910, 174506.
- Mohandas, E., Rajmohan, V., and Raghunath, B. (2009). Neurobiology of Alzheimer's disease. *Indian Journal of Psychiatry*, 51(1), 55-61.
- Moncada, S., Palmer, R., and Higgs, E. A. (1991). Nitric oxide: physiology pathophysiology and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 43(2), 109-142.
- Monforte, M. T., Trovato, A., Kirjavainen, S., Forestieri, A. M., Galati, E. M., and Lo Curto, R. B. (1995). Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (note II): hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat. *Farmaco*, 50(9), 595-599.
- Mungarro-Menchaca, X., Ferrera, P., Moran, J., and Arias, C. (2002). beta-Amyloid peptide induces ultrastructural changes in synaptosomes and potentiates mitochondrial dysfunction in the presence of ryanodine. *Journal of Neuroscience Research*, 68(1), 89-96.
- Müller, P., Fendt, M., and Müller, N. G. (2019). Drug treatment of alzheimer's dementia: statusquo and perspectives. *Internist (Berl)*, 60(7), 761-768.
- Netto, L. E. S., Kowaltowski, A. J., Castilho, R. F., and Vercesi, A. E. (2002). Thiol enzymes protecting mitochondria against oxidative damage. *Methods in Enzymology*, 348, 260-270.
- Nijveldt, R. J., van Nood, E., van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., van Norren, K., and van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74(4), 418-425.

- Nonaka, S., and Nakanishi, H., (2019). Microglial clearance of focal apoptotic synapses. *Neuroscience Letters*, 5, 134317.
- Noor, H., Cao, P., and Raleigh, D. P. (2012). Morin hydrate inhibits amyloid formation by islet amyloid polypeptide and disaggregates amyloid fibers. *Protein Science*, 21(3), 373-382.
- Nunomura, A., Perry, G., Aliev, G., Hirai, K., Takeda, A., Balraj, E. K., et al. (2001). Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 60(8), 759-767.
- Nussler, A. K., and Billiar, T. R. (1993). Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. *Journal of Leukocyte Biology*, 54(2), 171-178.
- Oddo, S., Caccamo A., Shepherd, J. D., Murphy, M. P., Golde, T. E., Kaye, R., et al. (2003). Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular A β and synaptic dysfunction. *Neuron*, 39(3), 409-421.
- Okuda, S., Roozendaal, B., and McGaugh, J. L. (2004). Glucocorticoid effects on object recognition memory require training-associated emotional arousal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(3), 853-858.
- Ono, K., Hamaguchi, T., Naiki, H., and Yamada, M. (2006). Anti-amyloidogenic effects of antioxidants: implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1762(6), 575-586.
- Ono, K., Yoshiike, Y., Takashima, A., Hasegawa, K., Naiki, H., and Yamada, M. (2003). Potent anti-amyloidogenic and fibril-destabilizing effects of polyphenols in vitro: implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 87(1), 172-181.
- Palmer, R. M. J., Ashton, D. S., et al. (1988). Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from l-arginine. *Nature*, 333(6174), 664-666.
- Paxinos, G., and Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. (5th edition). San Diego: Elsevier Academic Press, 13-97.
- Perl, D. P. (2010). Neuropathology of Alzheimer's disease. *Mount Sinai Journal of Medicine*, 77(1), 32-42.
- Pham-Huy, L. A., He, H., and Pham-Huyc, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89-96.
- Pierrot, N., Ghisdal, P., Caumont, A. S., and Octave, J. N. (2004). Intraneuronal amyloid-beta1-42 production triggered by sustained increase of cytosolic calcium concentration induces neuronal death. *Journal of Neurochemistry*, 88(5), 1140-1150.

- Praticò, D. (2008). Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. *Trends in Pharmacological Sciences*, 29(12), 609-615.
- Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., and Aruoma, O. I. (2010). Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278(1), 75–87.
- Rattanachaikunsopon, P., and Phumkhachorn, P. (2007). Bacteriostatic effect of flavonoids isolated from leaves of *Psidium guajava* on fish pathogens. *Fitoterapia*, 78(6), 434-436.
- Raza, S. S., Khan, M. M., Ahmad, A., Ashafaq, M., Khuwaja, G., Tabassum, R., et al. (2011). Hesperidin ameliorates functional and histological outcome and reduces neuroinflammation in experimental stroke. *Brain Research*, 1420, 93–105.
- Reddy, P. H., and Beal, M. F. (2008). Amyloid beta, mitochondrial dysfunction and synaptic damage: implications for cognitive decline in aging and Alzheimer's disease. *Trends in Molecular Medicine*, 14(2), 45-53.
- Requena, J. R., Levine, R. L., and Stadtman, E. R. (2003). Recent advances in the analysis of oxidized proteins. *Amino Acids*, 25(3-4), 221-226.
- Reznick, A. Z., and Packer, L. (1994). Oxidative damage to protein: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods in Enzymology*, 233, 357-363.
- Roses, A. D. (1996). Apolipoprotein E alleles as risk factors in Alzheimer's disease. *Annual Review of Medicine*, 47, 387-400.
- Said, U. Z., Saada, H. N., Abd-Alla, M. S., Elsayed, M. E., and Amin, A. M. (2012). Hesperidin attenuates brain biochemical changes of irradiated rats. *International Journal of Radiation Biology*, 88(8), 613-618.
- Saito, S., Yamamoto, Y., and Ihara, M. (2019). Development of a multicomponent intervention to prevent alzheimer's disease. *Frontiers in Neurology*, 10, 490.
- Saka, E. (2010). Alzheimer hastalığı patofizyolojisi: deneysel ve genetik bulgular. *Türk Geriatri Dergisi özel sayı 3*, 13, 21-26.
- Salem, H. R. A., El-Raouf, A. A., Saleh, E. M., and Shalaby, K. A. F. (2012). Influence of hesperidin combined with Sinemet on genetical and biochemical abnormalities in rats suffering from Parkinson's disease. *Life Science Journal*, 9, 930–945.
- Santa, C., Nadia, F., Giovanni, E. L., Elvira, V., Sebastiano G., Gioacchino, C., and Michele, N. (2016). Neurodegenerative diseases: might citrus flavonoids play a protective role? *Molecules*, 21(10), 1312.

- Santacruz, K., Lewis, J., Spires, T., Paulson, J., Kotilinek, L., Ingelsson, M., et al. (2005). Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science*, 309(5733), 476-481.
- Scheff, S. W., Price, D. A., Schmitt, F. A., DeKosky, S. T., and Mufson, E. J. (2007). Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology*, 68(18), 1501-1508.
- Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P., Williams, R. J., Cadenas, E., and Rice-Evans, C. (2002). MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of Aging*, 23(5), 861–880.
- Selkoe, D. J. (2002). Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science*, 298(5594), 789-791.
- Shacter, E. (2000b). Protein oxidative damage. *Methods in Enzymology*, 319, 428-436.
- Shacter, E. (2000a). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism Reviews*, 32(3-4), 307-326.
- Shamim, I. A. (2012). *Neurodegenerative diseases*. New York: Springer, 724, 205-221.
- Sharma, D., Singh, M., Kumar, P., Vikram, V., and Mishra N. (2017). Development and characterization of morin hydrate loaded microemulsion for the management of Alzheimer's disease. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 45(8), 1620-1630.
- Shimmyo, Y., Kihara, T., Akaike, A., Niidome, T., and Sugimoto, H. (2008). Flavonols and flavones as BACE-1 inhibitors: Structure–activity relationship in cell-free, cell-based and in silico studies reveal novel pharmacophore features. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1780(5), 819-825.
- Shimoda, K., Hamada, H., and Hamada, H. (2008). Glycosylation of hesperetin by plant cell cultures. *Phytochemistry*, 69(5), 1135–1140.
- Singh, R. P., Sharad, S., and Kapur, S. (2004). Free radicals and oxidative stress neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *Journal Indian Academy of Clinical Medicine*, 5(3), 218-225.
- Sivaramakrishnan, V., Shilpa, P. N. M., Kumar, V. R. P., and Devaraj, S. N. (2008). Increased LDL and especially oxidized LDL are recognized as risk factors in coronary artery disease (CAD). *Chemico Biological Interaction*, 171, 79-88.
- Sjöberg, M. K., Shestakova, E., Mansuroğlu, Z., Maccioni, R. B., and Bonnefoy, E. (2006). Tau protein binds to pericentromeric DNA: a putative role for nuclear tau in nucleolar organisation. *Journal of Cell Science*, 119(10), 2025-2034.

- Smith, M. A., Perry, G., Richey, P. L., Sayre, L. M., Anderson, V. E., Beal, M. F., et al. (1996). Oxidative damage in Alzheimer's. *Nature*, 382(6587), 120-121.
- Söylemez, B. A. (2013). *Kademeli olarak azalmış stres eşiği modeline göre yapılan girişimlerin demanslı birey ve ailesinin bakım sonuçlarına etkisinin incelenmesi*. Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir.
- Sreedharan, V., Venkatachalam, K. K., and Namasivayam, N. (2009). Effect of morin on tissue lipid peroxidation and antioxidant status in 1, 2-dimethylhydrazine induced experimental colon carcinogenesis. *Investigational New Drugs*, 27(1), 21-30.
- Stadtman, E. R., and Levine, R. L. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, 25(3-4), 207-218.
- Stadtman, E. R., and Levine, R. L. (2000). Protein oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899, 191- 208.
- Strittmatter, W. J., Saunders, A. M., Schmechel, D., et al. (1993). Apolipoprotein E:high avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial AD. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(5), 1977-1981.
- Subash, S., and Subramanian, P. (2009). Morin a flavonoid exerts antioxidant potential in chronic hyperammonemic rats: a biochemical and histopathological study. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 327(1-2), 153-161.
- T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık Bilgi Sistemleri Genel Müdürlüğü. (2018). Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2018. Web: <https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/36134,siy2018trpdf.pdf?0>, Son Erişim Tarihi: 31.12.2022.
- T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık Bilgi Sistemleri Genel Müdürlüğü. (2020). Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2020. Web: <https://sbsgm.saglik.gov.tr/Eklenti/44341/0/siy2020-trpdf.pdf>, Son Erişim Tarihi: 31.12.2022
- Tamilselvam, K., Braid, N., Manivasagam, T., Essa, M.M., Prasad, N.R., Karthikeyan, S., et al. (2013). Neuroprotective effects of hesperidin, a plant flavanone, on rotenone-induced oxidative stress and apoptosis in a cellular model for Parkinson's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-11.
- Taner, D. (Editör). (2018). *Fonksiyonel Nöroanatomi*, Ankara: ODTÜ Yayıncılık, 179-205.
- Thenmozhi, A. J., Raja, T. R. W., Manivasagam, T., Janakiraman, U., and Essa, M. M. (2017). Hesperidin ameliorates cognitive dysfunction, oxidative stress and apoptosis against aluminium chloride induced rat model of Alzheimer's disease. *Nutritional Neuroscience*, 20(6), 360-368.

- Tirkey, N., Pilkhwai, S., Kuhad, A., and Chopra, K. (2005). Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney, *BMC Pharmacology*, 5, 1-8.
- Tuncer, Elmacı N. (2012). Alzheimer hastalığının patofizyolojisi. *Türkiye Klinikleri Dergisi Neurol-Special Topics*, 5(3), 7-10.
- Türkiye İstatistik Kurumu (2019). İstatistiklerle Yaşlılar 2018 Haber Bülteni (Sayı: 30699). Web: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kronik-hastaliklar-engellidb/hastaliklar/Yasli_Sagligi/raporlar_istatistikler/TUIK_Yasli_Istatistik_2018.pdf, Son Erişim Tarihi: 31.12.2022
- Türköz, Y., ve Özerol, E. (1997.). Nitrik oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. *Journal of Turgut Özal Medical Center*, 4(4), 453-461.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Viswanatha, G. L., Shylaja, H., Sandeep Rao, K. S., Santhosh Kumar, V. R., and Jagadeesh, M. (2012). Hesperidin ameliorates immobilization stress-induced behavioral and biochemical alterations and mitochondrial dysfunction in mice by modulating nitrergic pathway. *ISRN Pharmacol*, 479-570.
- Wang, C., Wang, X., Zhang, X., Shi, Y., Liu, L., and Kong, L. (2010). Morin improves urate excretion and kidney function through regulation of renal organic ion transporters in hyperuricemic mice. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 13(3), 411-427.
- Wang, D., Liu, L., Zhu, X., Wu, W., and Wang, Y. (2014). Hesperidin alleviates cognitive impairment, mitochondrial dysfunction and oxidative stress in a mouse model of alzheimer's disease. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 34(8), 1209-1221.
- Wang, J. Z., and Liu, F. (2008). Microtubule associated protein tau in development, degeneration and protection of neurons. *Progress in Neurobiology*, 85(2), 148-175.
- Wang, L., Tu, Y. C., Lian, T. W., Hung, J. T., Yen, J. H., and Wu, M. J. (2006). Distinctive antioxidant and antiinflammatory effects of flavonols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 9798–9804.
- Wills, E. D. (1987). Evaluation of lipid peroxidation in lipids and biological membranes. In Snell K. And Mullock B. (Eds.), *Biochemical Toxicology*. Oxford England, IRL Press Limited, 127-152.
- Wilmsen, P. K., Spada, D. S., and Salvador, M. (2005). Antioxidant activity of the flavonoid hesperidin in chemical and biological systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), 4757–4761.

- Winterbourn, C. C., and Kettle, A. J. (2000). Biomarkers of myeloperoxidase derived hypochlorous acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(5), 403-409.
- Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillere-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A. T., Zingraff, J., Jungers, P., and Descamps-Latscha, B. (1996). Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney International*, 49(5), 1304-1313.
- Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Nguyen Khoa, T., Capeillere-Blandin, C., Nguyen, A. T., Canteloup, S., Dayer, J. M., Jungers, P., Drüeke, T., and Descamps-Latscha, B. (1998). Advanced oxidation protein products as a novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *Journal of Immunology*, 161(5), 2524-2532.
- Wyss-Coray, T., and Mucke, L. (2002). Inflammation in neurodegenerative disease-a double-edged sword. *Neuron*, 35(3), 419-432.
- Yıldırım, Ç. (2019). *Deneyisel Alzheimer Modelinde Bor ve Taurin Uygulamasının Protein Karbonil ve İleri Oksidasyon Protein Ürünleri Düzeylerine Etkisinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 35-39.
- Yüce, B. (2006). *Hesperidin, Rutin Ve 7,8-Dihidroksi-3-(4-Metilfenil) Kumarin Bileşiklerinin Lipit Düşürücü Ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 23-25.
- Yüksel, N. (2000). Alzheimer hastalığının ilaçla tedavisi, *Klinik Psikiyatri*, 3(2), 137-141.
- Zhang, J., Stanley, R. A., Melton, L. D., and Skinner, M. A. (2007). Inhibition of lipid oxidation by phenolic antioxidants in relation to their physicochemical properties. *Pharmacologyonline*, 1, 180-189.
- Zhang, R., Kang, K. A., Kang, S. S., Park, J. W., and Hyun, J. W. (2010). Morin (2',3,4',5,7- pentahydroxyflavone) protected cells against γ -radiation-induced oxidative stress. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 108(1), 63-72.
- Zhang, R., Kang, K. A., Piao, M. J., Maeng, Y. H., Lee, K. H., Chang, W. Y., You, H. J., Kim, J. S., Kang, S. S., and Hyun, J. W. (2009). Cellular protection of morin against the oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *Chemico-Biological Interactions*, 177(1), 21-27.
- Zhao, B. (2005). Natural antioxidants for neurodegenerative diseases. *Molecular Neurobiology*, 31(1-3), 283-293.



Gazili olmak ayrıcalıktır