



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**SIÇANLARDA İNTRASEREBROVENTRİKÜLER AMİLOİD
BETA 1-42 UYGULAMASININ BİLİŞSEL FONKSİYONLAR
ÜZERİNE ETKİSİ: TAURİNİN VE PEROKSİZOMLARIN ROLÜ**

NİDA ASLAN KARAKELLE

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

AĞUSTOS 2019



**SIÇANLARDA İNTRASEREBROVENTRİKÜLER AMİLOİD BETA 1-42
UYGULAMASININ BİLİŞSEL FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİSİ:
TAURİNİN VE PEROKSİZOMLARIN ROLÜ**

Nida ASLAN KARAKELLE

**DOKTORA TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

AĞUSTOS 2019

Nida ASLAN KARAKELLE tarafından hazırlanan “SIÇANLARDA İNTRASEREBROVENTRİKÜLER AMİLOİD BETA 1-42 UYGULAMASININ BİLİŞSEL FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİSİ: TAURİNİN VE PEROKSİZOMLARIN ROLÜ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Sibel DİNÇER

Fizyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Başkan : Prof. Dr. Metin BAŞTUĞ

Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

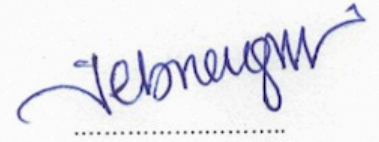
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Şebnem GÜLEN

Fizyoloji Anabilim Dalı, Ufuk Üniversitesi

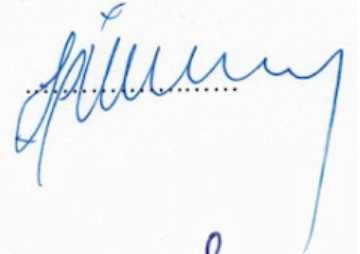
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Doç. Dr. Şevin GÜNEY

Fizyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Doç. Dr. Latife Arzu ARAL

İmmünoloji Anabilim Dalı, İzmir Demokrasi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 23 / 08 / 2019

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

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

Nida ASLAN KARAKELLE

23 / 08 / 2019

SIÇANLARDA İNTRASEREBROVENTRİKÜLER AMİLOİD BETA 1-42 UYGULAMASININ
BİLİŞSEL FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİSİ: TAURİNİN VE PEROKSİZOMLARIN ROLÜ
(Doktora Tezi)

Nida ASLAN KARAKELLE

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ağustos 2019

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda intraserebroventriküler amiloid beta 1-42 nörotoksitesi ile indüklenen nörodejeneratif ve oksidatif süreçte peroksizomların rolünü araştırmak ve taurinin bu süreçteki olası olumlu etkilerini göstermektir. Çalışmamızda, yaşlı sıçanlarda taurin uygulamasının (1000 mg/kg/gün) ve intraserebroventriküler amiloid beta 1-42 enjeksiyonunun (her bir lateral ventriküle 5 µl, intraserebroventriküler); uzaysal öğrenme ve bellek performansları, beyin MDA ve GSH seviyeleri ile katalaz (CAT) enzimi, PEX14 ve PMP70 peroksizomal membran proteinlerinin ekspresyonları üzerine etkileri araştırıldı. Deneylerimizde 30 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar; kontrol, sham, amiloid beta 1-42, taurin, amiloid beta 1-42+taurin şeklinde 5 gruba ayrıldı. Taurin uygulaması 6 hafta (42 gün) boyunca devam etti. Bütün gruplara stereotaksik cerrahi işlem (PBS veya amiloid beta 1-42 enjeksiyonu) ve davranış testleri (Morris su tankı ve yükseltilmiş artı labirent) uygulandı. Beyinden serebral korteks ve hipokampus dokuları izole edildi. CAT, PEX14, PMP70 ekspresyonları Western blot analizi ile gösterildi. MDA ve GSH seviyeleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. İstatistiksel analiz için; Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testi, Friedman ve Wilcoxon testi, Paired-sample t testi ve Pearson r'si kullanıldı ve Bonferroni düzeltmesi uygulandı. $p < 0,01$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Bulgularımız amiloid beta 1-42 enjeksiyonunun uzaysal öğrenme ve bellek performansını bozduğunu, kortekste CAT, hipokampüste PEX14 ve PMP70 ekspresyonlarını ve GSH seviyelerini azalttığını, korteks ve hipokampus MDA seviyelerini ise arttırdığını gösterdi. Taurin uygulaması, amiloid beta 1-42 enjeksiyonuna bağlı olumsuz etkileri kısmen düzeltilmiş olsa da anlamlı farklılık sadece hipokampus GSH seviyesinde saptandı. Ayrıca taurin bu dozda anksiyeteye sebep oldu. Sonuç olarak intraserebroventriküler amiloid beta 1-42 enjeksiyonu ile indüklenen nörodejeneratif ve oksidatif süreçte peroksizomal proteinlerin ve antioksidan kapasitenin azalmış olması peroksizomların bu süreçte rol oynayabileceğini, taurin desteğinin ise özellikle antioksidan kapasitenin artışı yönünde olumlu etkiler yapabileceğini gösterdi.

Bilim Kodu : 1023
Anahtar Kelimeler : Alzheimer hastalığı, oksidatif stres, peroksizom, bilişsel fonksiyon, taurin
Sayfa Adedi : 116
Danışman : Prof. Dr. Sibel DİNÇER

THE EFFECT OF INTRACEREBROVENTRICULAR AMYLOID BETA 1-42 APPLICATION
ON COGNITIVE FUNCTIONS IN RATS: THE ROLE OF TAURINE AND PEROXISOMES

(Ph. D. Thesis)

Nida ASLAN KARAKELLE

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

August 2019

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the role of peroxisomes in the neurodegenerative and oxidative process induced by intracerebroventricular amyloid beta 1-42 neurotoxicity in rats and to demonstrate the possible positive effects of taurine in this process. In our study, taurine administration (1000 mg/kg/day) and intracerebroventricular injection of amyloid beta 1-42 (5 µl, intracerebroventricular per lateral ventricle) in old rats; spatial learning and memory performances, brain MDA and GSH levels, catalase (CAT), PEX14 and PMP70 effects on peroxisomal membrane proteins were investigated. In our experiments, 30 Wistar albino rats were used. Rats were divided into 5 groups as control, sham, amyloid beta 1-42, taurine, amyloid beta 1-42+taurine. Taurine administration continued for 6 weeks (42 days). All groups received intracerebroventricular injection (PBS or amyloid beta 1-42) and behavioral tests (morris water maze and elevated plus maze). Cerebral cortex and hippocampus tissues were isolated from the brain. Expressions of CAT, PEX14, PMP70 were indicated by Western blot analysis. MDA and GSH levels were measured spectrophotometrically. For statistical analysis; Kruskal Wallis and Mann Whitney U test, Friedman and Wilcoxon test, Paired-sample t test and Pearson r were used and bonferroni correction applied. $p < 0.01$ was considered statistically significant. Our results showed that injection of amyloid beta 1-42 decreased the spatial learning and memory performance, cortex CAT and hippocampus PEX14, PMP70 and GSH levels and increased cortex and hippocampus MDA levels. Although the administration of taurine partially corrected the adverse effects of amyloid beta 1-42 injection, a significant difference was found only at the hippocampus GSH level. Also taurine caused anxiety at this dose. In conclusion, decreased peroxisomal proteins and antioxidant capacity in neurodegenerative and oxidative processes induced by intracerebroventricular amyloid beta 1-42 injection showed that peroxisomes may play a role in this process and taurine supplementation may have positive effects especially in increasing antioxidant capacity.

Science Code : 1023

Key Words : Alzheimer's disease, oxidative stress, peroxisome, cognitive function, taurine

Page Number : 116

Supervisor : Prof. Dr. Sibel DİNCER

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince değerli bilimsel katkılarıyla emek veren, öğrencisi olduğum için her zaman şanslı ve özel hissettiğim, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek almaya çalıştığım, ilgisi, tüm içtenliği ve manevi desteği ile bana yol gösteren, akademik danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Sibel DİNÇER’e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam süresince yeni deneysel teknikler öğrenmem için emek veren, tüm samimiyeti ve sabrıyla sorularımı yanıtlayarak değerli bilimsel bilgilerini benimle paylaşan, doktora eğitimim süresince yol gösterici olan, tez izleme komitesi üye hocalarımdan Doç. Dr. Şevin GÜNEY’e, doktora eğitimim süresince engin akademik bilgilerini bizlere sevgi ve hoşgörü ile aktaran Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri; Prof. Dr. K. Gonca AKBULUT, Prof. Dr. Çiğdem ÖZER ve emekli olan hocalarımız Prof. Dr. Deniz ERBAŞ ve Prof. Dr. Lamia PINAR’a emekleri için teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca doktora eğitimim süresince beni cesaretlendiren ve yol gösterici olan Lokman Hekim Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Tayfun GÖKTAŞ’a, doktora tez çalışmamın şekillenmesinde yol gösterici olan tez izleme komitesi üye hocalarımdan İmmünoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. L. Arzu ARAL’a, tez çalışmamda kullandığım western blot tekniğini öğrenmem için deneyimlerini benimle paylaşan ve cihaz donanımlarıyla bana destek veren Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Atiye Seda YAR SAĞLAM’a, ve tez çalışmalarım sırasında bana destek olan Dr. Öğr. Üyesi Arzu KESKİN AKTAN’a ve doktora öğrencisi Burcu SIRMATEL’e ve tüm Fizyoloji Anabilim Dalı ailesine teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan annem, babam ve canım ablalarım, yeğenlerim Ece, Ege ve Zeynep İnci’ye, doktora eğitimim boyunca her zaman beni cesaretlendiren ve her koşulda yanımda olan sevgili eşim Samed’e ve biricik oğlum Poyraz’a teşekkürü borç bilirim.

Bu tez çalışması Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2017-30 kodlu proje ile desteklenmiştir. Çalışmamızı gerçekleştirebilmemiz için olanak sağlayan Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Alzheimer hastalığı.....	3
2.1.1. Genetik faktörler	4
2.1.2. Alzheimer hastalığını etkileyen faktörler	5
2.1.3. Histopatolojik özellikler	6
2.1.4. Alzheimer hastalığında deneysel modeller	9
2.2. Peroksizomlar.....	10
2.2.1. Yapısı.....	10
2.2.2. Peroksizomlar ve sinir sistemi	12
2.2.3. Peroksizomlar ve yaşlanma.....	14
2.2.4. Peroksizomlar ve Alzheimer hastalığı arasındaki ilişkisi	17
2.2.5. Peroksizom biyogenez ve fonksiyonunda peroksizom proliferatör aktivatör reseptörlerin rolü	20

Sayfa

2.2.6. Peroksizomlar, Mitokondri, Alzheimer hastalığı ve BACE1, PGC1 α , PPAR sinyal yolağı arasındaki ilişkide oksidatif stresin rolü	23
2.3. Taurin	31
2.3.1. Taurin ve oksidatif stres	35
2.3.2. Taurinin Alzheimer hastalığı üzerine etkisi.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Gereç.....	39
3.1.1. Deney hayvanları	39
3.1.2. Kullanılan laboratuvar aletleri ve cihazlar	39
3.1.3. Kullanılan kimyasallar ve antikorlar.....	39
3.1.4. Çalışmada kullanılan çözeltiler.....	42
3.2. Yöntem.....	46
3.2.1. Araştırma planı ve deney grupları	46
3.2.2. Taurin uygulaması	47
3.2.3. Stereotaksik uygulama	48
3.2.4. Davranış testleri	50
3.2.5. Western blot yöntemi / SDS-PAGE.....	54
3.2.6. Dokuda MDA ve GSH tayini	60
3.2.7. İstatistiksel yöntem	61
4. BULGULAR	63
4.1. Beden ağırlık ölçümleri.....	63
4.2. Davranış testlerinden elde edilen veriler.....	64
4.2.1. Morris su tankı uzaysal öğrenme ve bellek performansı	64

	Sayfa
4.4.2. Yükseltilmiş artı labirent testi bulguları.....	69
4.3. Western blot analiz bulguları.....	72
4.3.1. Katalaz ekspresyonlarındaki değişimler	72
4.3.2. PEX14 ekspresyonlarındaki değişimler	73
4.3.3. PMP70 ekspresyonlarındaki değişimler.....	74
4.4. MDA ve GSH seviyelerindeki değişimler.....	75
5. TARTIŞMA	79
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	89
6.1. Sonuç.....	89
6.2. Öneriler	90
KAYNAKLAR	91
EKLER.....	112
EK-1. Etik Kurul Onayı	113
ÖZGEÇMİŞ	114

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Laboratuvar donanımları	40
Çizelge 3.2. Kimyasal malzemeler	41
Çizelge 3.3. Antikorlar	41
Çizelge 4.1. Ağırlık ölçümlerinin farklı deney dönemlerindeki ortalama değerleri	64
Çizelge 4.2. Grupların günlere ait ortalama platformu bulma ve prob test süreleri	65
Çizelge 4.3. Morris su tankında farklı kadranslardan platformu bulma süreleri	67
Çizelge 4.4. Morris su tankında hedef kadranda geçirilen zaman yüzdeleri	69
Çizelge 4.5. Yükseltilmiş artı labirent test verileri	71
Çizelge 4.6. Grupların korteks dokularına ait bulgular	77
Çizelge 4.7. Grupların hipokampus dokularına ait bulgular	77

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Amiloid beta protein üretimi ve oligomerizasyonunu hedef alan terapötik yaklaşımlar	7
Şekil 2.2. Amiloid kaskad hipotezi	8
Şekil 2.3. Genç ve yaşlı hücrelerde peroksizomlar tarafından metabolize edilen reaktif oksijen türlerinin nedenleri ve sonuçları	15
Şekil 2.4. Yaşa bağlı hastalıklarda peroksizomal fonksiyon bozukluğu	16
Şekil 2.5. Nörodejenerasyona katılan fizyopatolojik olaylarda peroksizomal fonksiyon bozukluğu	20
Şekil 2.6. PPAR transkripsiyon faktörlerinin genel yapısı	21
Şekil 2.7. Peroksizomlar ve PPAR γ arasındaki ilişki	23
Şekil 2.8. PGC1 α düzenleyici kaskadı	27
Şekil 2.9. PPAR γ 'nın metabolizma üzerindeki etkileri	28
Şekil 2.10. SIRT1, PPAR, PGC1 α ve Wnt sinyal yolağı arasındaki ilişki	30
Şekil 2.11. Patolojilere ve hastalıklara karşı taurin aracılı koruma	33
Şekil 3.1. Yapılan hayvan deneyleri için zaman çizelgesi	47
Şekil 3.2. Stereotaksik koordinatlar ve 290 g wistar rata ait kafatası diyagramı.....	50
Şekil 4.1. Sıçanların beden ağırlığı ortalamaları.....	64
Şekil 4.2. Morris su tankında uzaysal öğrenmede grupların ayrı ayrı günlük platformu bulma süreleri	66
Şekil 4.3. Morris su tankında tüm grupların kaçış latansı ortalama süreleri.....	67
Şekil 4.4. Morris su tankında grupların prob test sonuçları.....	68
Şekil 4.5. Yükseltilmiş artı labirente açık ve kapalı kolda geçirilen süre.....	69
Şekil 4.6. Yükseltilmiş artı labirente açık ve kapalı kola giriş sayısı	70
Şekil 4.7. Yükseltilmiş artı labirente iki ayak üzerine kalkma sayısı	71

Şekil	Sayfa
Şekil 4.8. Katalaz ekspresyonlardaki değişimler	72
Şekil 4.9. PEX14 ekspresyonlardaki değişimler.....	73
Şekil 4.10. PMP70 ekspresyonlardaki değişimler	74
Şekil 4.11. MDA seviyelerindeki değişimler	75
Şekil 4.12. GSH seviyelerindeki değişimler	76



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Alzheimer hastalığının öyküsü	3
Resim 3.1. Stereotaksik cerrahi girişim ve icv A β 1-42 enjeksiyonu	49
Resim 3.2. Morris su tankında kaçış latansı ve prob testi uygulamaları.....	52
Resim 3.3. Yükseltilmiş artı labirent testi.....	53
Resim 3.4. Örnek bir hayvanın izole edilen beyin dokusunun görüntüsü	54
Resim 3.5. Western blot transfer işlemi, membranın ponceu ile boyanması ve görüntüleme işlemi	59

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
-----------------	--------------------

α	Alfa
β	Beta
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
dk	Dakika
ϵ	Epsilon
γ	Gama
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
M	Molar
mA	Miliamper
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimol
mm	Milimetre
nm	Nanometre
sn	Saniye
V	Volt
μ g	Mikrogram
μ l	Mikrolitre

Kısaltmalar	Açıklamalar
--------------------	--------------------

APP	Amiloid prokürsör protein
APOE	Apolipoprotein E
APS	Amonyum Per Sülfat

Aβ	Amiloid Beta
BACE1	Beta Sekretaz 1
BHT	Butil Hidroksi Toluen
BSA	Bovine Serum Albumin
CAT	Katalaz
DHA	Dekosahekzanoik Asit
DTNB	5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)
ECL	Enhanced Chemilluminescence
GSH	Glutasyon
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HCL	Hydrochloric Acid
HRP	Horse Radish Peroxidase
İcv	İntraserebroventriküler
KCI	Potasyum Klorür
MDA	Malondialdehit
MST	Morris Su Tankı
Na₂HPO₄	Sodium Phosphate Dibasic
NaCl	Sodyum Klorür
O₂	Oksijen
PBS	Phosphat Buffered Saline
PPAR	Peroksizom Proliferatör Aktivatör Reseptör
PEX14	Peroxisomal Membran Proteini 14
PMP70	Peroxisomal Membran Proteini 70
RNS	Reaktif Azot Türleri
ROS	Rektif Oksijen Türleri
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SSS	Santral Sinir Sistemi
TBA	Thiobarbitürik Asit
TBS	Tris-Buffered Saline
TCA	Trikloroasetik Asit
TEMED	Tetrametil-etilendiamin
YAL	Yükseltilmiş Artı Labirent

1. GİRİŞ

Nörodejeneratif hastalıkların en önemlisi olan Alzheimer hastalığı (AH), özellikle orta yaş popülasyonunda ve yaşlılarda görülen, zihinsel işlev bozukluğu ve davranış değişikliği yakınmaları ile ortaya çıkan, ilerleyici demans tablosu ile karakterizedir. Beyin dokusunun mikroskopik incelemesinde görülen nörofibriler yumaklar ve senil plaklar hastalığın kesin tanı koydurucu patolojik belirleyicileri olarak kabul edilmektedir (Lopes, Oliveira ve Agostinho, 2009). İlk kez, yaklaşık 113 yıl önce, ünlü bir nöro-anatomist olan Alois Alzheimer tarafından bulunan hastalığın teşhisi bugün hala ancak otopsik incelemelerle tam olarak ortaya konulmaktadır (Alzheimer, 1907). Bunun için AH ile ilgili deneysel çalışmalar oldukça önemlidir.

Son 15 yıl boyunca, deneysel AH modeli oluşturmak için, kemirgenlerin beyнинin farklı kısımlarına sentetik amiloid beta (A β) türleri enjekte edilmektedir (Cetin ve Dincer, 2007; Shomali ve Taherianfard, 2019). A β türlerinin deneysel modellerde, hafıza yeteneklerini bozduğu gözlemlenmiştir. Uygulanan A β 1-42'nin A β 1-40'a oranının önemli olduğu düşünülmektedir. Her iki form da toksik olmasına rağmen A β 1-42 çözünmez ve amiloid plaklarda birikir, erken dendritik ve sinaptik hasara dolayısıyla da nöronal sitotoksosite nedeniyle beyinde nörodejenerasyona yol açar. A β , nörotoksositeyi direkt olarak uyarmakta ve bazal ön beyinde kolinerjik yıkıma neden olmaktadır. A β birikimine bağlı olarak, hücreler arası iletişim bozulmakta, hücre ölümü artmakta ve sonuçta doku işlev göremez hale gelmektedir (Hardy ve Selkoe, 2002; Sadigh-Eteghad ve diğerleri, 2015).

Hayati öneme sahip işlevleri olmasına rağmen peroksizomların keşfi ancak 1966 yılında yapılmıştır (Duve ve Baudhuin, 1966). 50'den fazla enzime sahip olan peroksizomların (Wanders ve Waterham, 2006a, 2006b) uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu, safra asitlerinin biyosentezi, toksik etkili maddelerin katalaz (CAT) enzimi ile yok edilmesi, H₂O₂'yi (hidrojen peroksiti) H₂O ve O₂'ye dönüştürme (Wanders, Ferdinandusse, Brites ve Kemp, 2010), beyin normal fonksiyonu için plazmalojenlerin biyosentezi, serbest oksijen radikallerinin etkisiz hale getirilmesi gibi pek çok önemli rolü vardır. Peroksizomlar, mitokondriler için ön işleme merkezi gibi çalışır. Aynı zamanda, peroksizomlar oksidatif ve nitrozatif stresi önleyen enzimatik bileşenlere de sahiptir (Deori, Kale, Maurya ve Nagotu, 2018). Mitokondri ile yakın ilişkisi ve oksidatif stres üzerindeki etkinliği

nedeniyle peroksizomlar, nörodejeneratif hastalıklar üzerinde oldukça etkilidir ancak AH patogenezindeki rolü henüz tam olarak bilinmemektedir.

Geniş spektrumlu bir sitoprotektif ajan olan taurin (2-aminoetansülfonik asit), gelişmekte olan beynin yanı sıra yetişkin hipokampusünde, serebellumda (Shivaraj ve diğerleri, 2012) ve hipotalamusta yüksek seviyede bulunan antioksidan özelliklere sahip, kükürt içeren bir amino asittir (Huxtable, 1992). Taurin, nöral progenitör hücrelerin çoğalmasını sağlar ayrıca uzun süreli hafıza için gerekli beyin bölgelerinde sinaps oluşumunu destekler (Shivaraj ve diğerleri, 2012). Beyindeki taurin seviyeleri yaşla birlikte önemli ölçüde azalır. Bu durum taurinin potansiyel nöroprotektif etkilerini araştıran çalışmalar yapılmasına yol açmıştır (Ananchaipatana-Auitragoon P., Ananchaipatana-Auitragoon Y., Siripornpanich ve Kotchabhakdi, 2015; Taranukhin ve diğerleri, 2012). Taurinin oksidatif stres ve nörodejeneratif hastalıklar üzerine yararlı etkilerini gösteren birçok çalışma vardır (Cetin, Dincer, Ay ve Güney, 2012; Gebara, Udry, Sultan ve Toni, 2015; Jia, Sun, Su, Dang ve Chen, 2016). Bununla birlikte doza ve veriliş şekline göre zararlı ve toksik etkilerinin olduğu da bilinmektedir (Chen ve diğerleri, 2019; Curran ve Marczynski, 2017; El Idrissi ve diğerleri, 2009; Neuwirth, Volpe ve El Idrissi, 2013). Bu nedenle taurinin uygun veriliş şekli ve uygun doz aralığını belirlemek için çalışmalara ihtiyaç vardır (Dinçer ve Aslan Karakelle, 2019). Ayrıca taurinin peroksizomal fonksiyonlar üzerindeki etkisi ile ilgili çalışma literatürde çok kısıtlıdır.

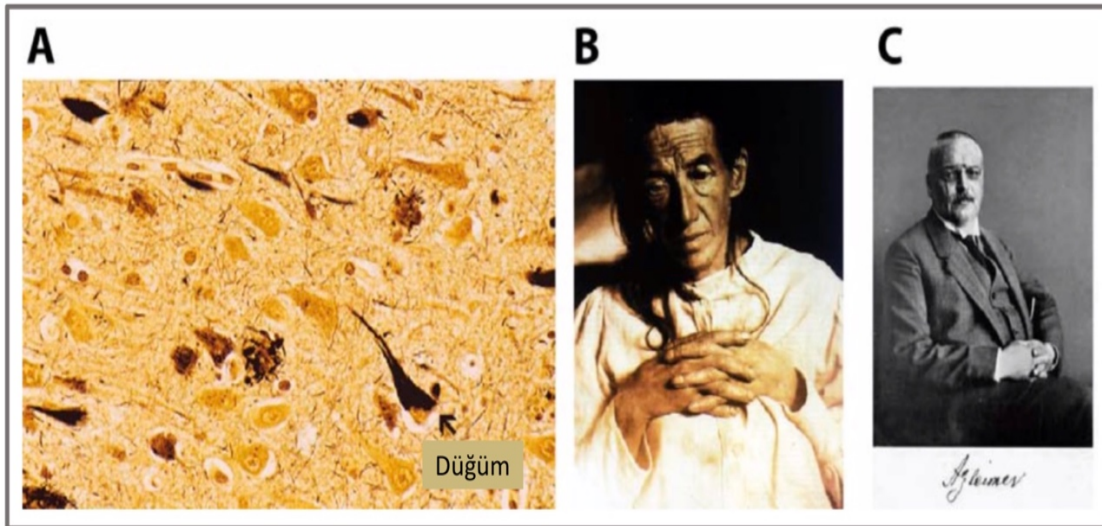
Bu bilgiler ışığında çalışmamızın amacı;

Yaşlı sıçanlarda A β 1-42 nörotoksisitesi ile indüklenen nörodejeneratif ve oksidatif süreçte; sayısal, yapısal ve fonksiyonel bozuklukları pek çok hastalığa sebep olan, lipid metabolizmasındaki rollerinin yanı sıra oksidatif stres homeostazının kontrolünde de önemli fonksiyonları olan peroksizomların rolünü incelemek ve bu süreçte nöroprotektif, nöromodülatör ve antioksidan etkileri bilinen taurinin olası olumlu etkilerini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alzheimer hastalığı

AH; santral sinir sisteminde (SSS) nöron ve sinaps kayıpları ile ortaya çıkar. Özellikle bilişsel fonksiyonlarda azalma, öz bakım yetersizlikleri, çeşitli nöropsikiyatrik ve davranışsal bozukluklar ile karakterize, ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır (Gilman, 1997; Lleo ve Greenberg, 2006). AH; ilk kez 3 Kasım 1906'da bir klinik psikiyatrist ve nöro-anatomist olan Alois Alzheimer tarafından, Tübingendeki 37. Güney Batı Alman Psikiyatristleri Toplantısında “serebral korteksin kendine özgü ciddi bir hastalık süreci” olarak tanımlanmıştır. Alois Alzheimer Frankfurt'ta çalışırken karşılaştığı, garip davranışları ve kısa süreli hafıza defekti olan 51 yaşındaki Auguste Deter ölünce hastanın dosyasını ve otopsi için beynini Münih'e, halen çalıştığı Kraepelin'in laboratuvarına getirtir. Burada yeni boyama teknikleri ile hastanın beyininde amiloid plakları ve nörofibriller yumakları gözlemler. Alois raporunda beyin histolojisinde; kendine özgü plaklar ve nörofibrillerde karışıklıklar olduğunu belirtmiştir (Alzheimer, 1907, 1911). Alois Alzheimer, hastalığı “presenil demans” vakası olarak yayınlamış ve daha sonra bu hastalık ünlü psikiyatrist Emil Kraepelin tarafından “Alzheimer hastalığı” olarak tanımlanmıştır.



Resim 2.1. Alzheimer hastalığının öyküsü (Kuhn, 2012)

(A) Bir Alzheimer hastasının beyin örneğindeki Bielschowsky gümüş rengi düğüm lekesi. (B) İlk kez AH'nin teşhisinin yapıldığı Auguste Deter'in fotoğrafı. (C) Auguste Deter'in davranış değişikliklerini tanımlayan ve onun ölümünden sonra patolojik değişiklikleri gösteren bilim insanı psikolog Alois Alzheimer.

Ancak 1906'dan beri bilinen AH fizyopatogenezi ortaya konulamamıştır. Demansın en yaygın biçimidir. Demans tablosunun yaklaşık olarak %60-80 kadarını AH oluşturur. Kardiyovasküler hastalıklar ve kanserden sonra üçüncü ölüm nedenidir. Dünya çapında her yıl 4,6 milyon yeni AH olgusu geliştiği yapılan araştırmalar sonucunda ortaya konulmuştur (Ferri ve diğerleri, 2005). Hastalık riski yaşa bağlı olarak logaritmik biçimde artar. 60-65 yaş popülasyonda hastalığın görülme sıklığı yaklaşık olarak %0,1 iken 85 yaşın üzerinde bu oran %47'ye kadar çıkar (Evans ve diğerleri, 1989). Bu rakamlar artan yaşlı nüfus ile birlikte logaritmik oranda artan AH'nin gelecekte en önemli sağlık sorunlarından biri olacağı izlenimini vermektedir. 1999 yılında yapılan bir çalışmada Türkiye'deki AH hastası sayısının 200.000'in üzerinde olduğu rapor edilmiştir (Taneli ve Sivrioğlu, 1999). 2008 yılında İstanbul'un Kadıköy ilçesinde gerçekleştirilen Türkiye Alzheimer Hastalığı Prevalans Çalışması; 70 yaş üzeri bireyler arasında AH prevalansının %11 olduğunu göstermektedir. Bu prevalans değeri Türkiye'de 250-300 bin AH'li hasta olduğu bilgisini vermektedir (Gürvit ve diğerleri, 2008).

2.1.1. Genetik faktörler

Hastalığın erken yaşta ortaya çıkan formları; otozomal dominant genetik geçiş özelliğine sahip olup olguların ancak %3-5'ini oluşturur. Presenilin 1 (kromozom 14), presenilin 2 (kromozom 1) ve amiloid prekürsor protein (APP) genlerindeki (kromozom 21) mutasyonlar hastalığın dominant geçişinden sorumludur. Bu transmembran proteinlerin görevi tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak bu proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonların Aβ metabolizmasını bozduğu bilinmektedir. AH olgularında saptanan bir diğer genetik özellik apolipoprotein E (APOE) gen (kromozom 19) mutasyonudur. APOE kolesterol metabolizmasında rolü olan bir serum proteinidir. APOE geninin 3 alleli bulunur. Bu alleller; ε2, ε3 ve ε4'tür. Normal bireylerde alel dağılımı; ε3 %70, ε4 %20 şeklindedir. AH'li bireylerde ise ε4 iki kat fazla (%40) bulunmaktadır. APOE gen mutasyonu, risk faktörüdür. Presenilin 1, presenilin 2 ve APP genlerindeki gibi hastalığın ortaya çıkışına yol açmaz (Wang ve Ding, 2008).

İnsan genomunu kodlayan yeni genetik teknikler ile çeşitli hastalıklar için risk genleri ortaya konulmuştur. Bunlara dayanarak, tanı, tahmin ve hastalıkların anlaşılmasında birçok gelişme olmuştur. AH'nin genetik patogenezi de son on yılda açıklanmıştır. Patogenez deoksiribonükleik asit (DNA) çipleri ile ortaya konulmuştur. DNA çipleri bir kerede yüz

binlerce mutasyonu tespit edebilen bir teknolojiye dayanmaktadır. DNA çipleri önceden belirlenmiş bölge mutasyonlarını tespit edebilir. 74.046 insanın sonuçları incelenerek 20 gen tanımlanmıştır (Uluslararası Alzheimer Projesi Genomiği). Bu genler; ABCA7, BIN1, CASS4, CD33, CD2AP, CELF1, CLU, CR1, DSG2, EPHA1, FERMT2, HLA-DRB5-HLA-DRB1, INPP5D, MEF2C, MS4A6A/MS4B4, SLC24A4, SORL1 ve ZCWPW1 şeklindedir (Lambert ve diğerleri, 2013). ABCA7 ve SORL1 mutasyon tiplerine bağlı olarak otozomal dominant AH'ye neden olabilir (Kim, 2018). Ayrıca TREM2, AH risk geni olarak açıklanmıştır (Jonsson ve diğerleri, 2013). Bununla birlikte; otozomal dominant geçişli ailevi AH geni olarak bilinen APP, A673V mutasyonu, AH'den koruyucu bir mutasyon olarak gösterilmiştir. Bu mutasyona sahip kişiler, düşük miktarda A β 1-42 üretimine sahiptir ve APOE ϵ 4 homozigotu olan kişiler, APP'de A673V mutasyonu varsa, demans olmadan yaşayabilirler. Sonuç olarak yapılan bu çalışmalar ışığında, anti-amiloid tedavisinin umut verici olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Jonsson ve diğerleri, 2012).

2.1.2. Alzheimer hastalığını etkileyen faktörler

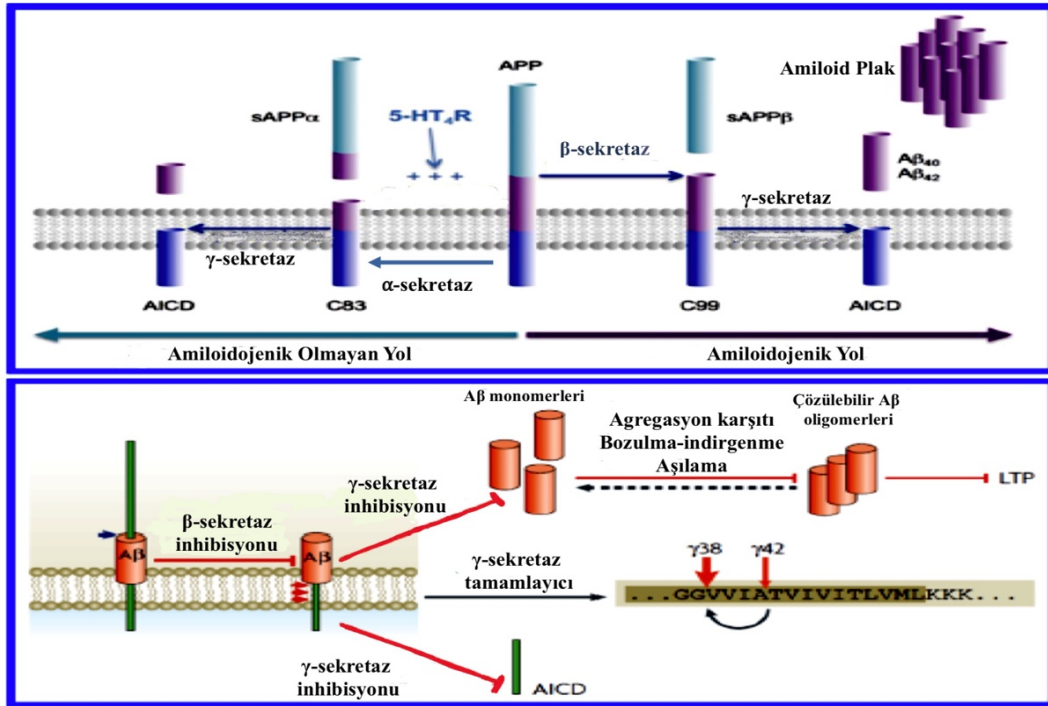
AH; çevresel, genetik, vasküler ve patofizyolojik faktörlerin etkileştiği multifaktöryel kompleks bir hastalıktır. AH ileri yaşlara özgü bir hastalık değildir. Yaşam boyu ilerleyen bir patofizyolojik sürecin son durağı olarak tanımlanabilir. Hastalığın seyrinde pek çok etkenin olduğunun anlaşılması ile birlikte risk faktörleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu risk faktörleri modifiye edilerek yapılan çalışmalar, hastalığın önlenmesinde önem kazanmıştır. Birçok risk faktörü ve koruyucu faktör belirlenmiştir (Baysal ve Yeşilbudak, 2003). Bu faktörlerin bir kısmı aşağıda sıralanmıştır:

- Kardiyovasküler risk faktörleri;
- Hipertansiyon
- Kolesterol
- Vücut Kitle İndeksi
- Diyabet
- Hipoksi
- Yaşam tarzı ile ilişkili risk faktörleri
- Eğitim
- Fiziksel aktivite

- Alkol ve sigara tüketimi
- Diyet
- Genetik risk faktörleri

2.1.3. Histopatolojik özellikler

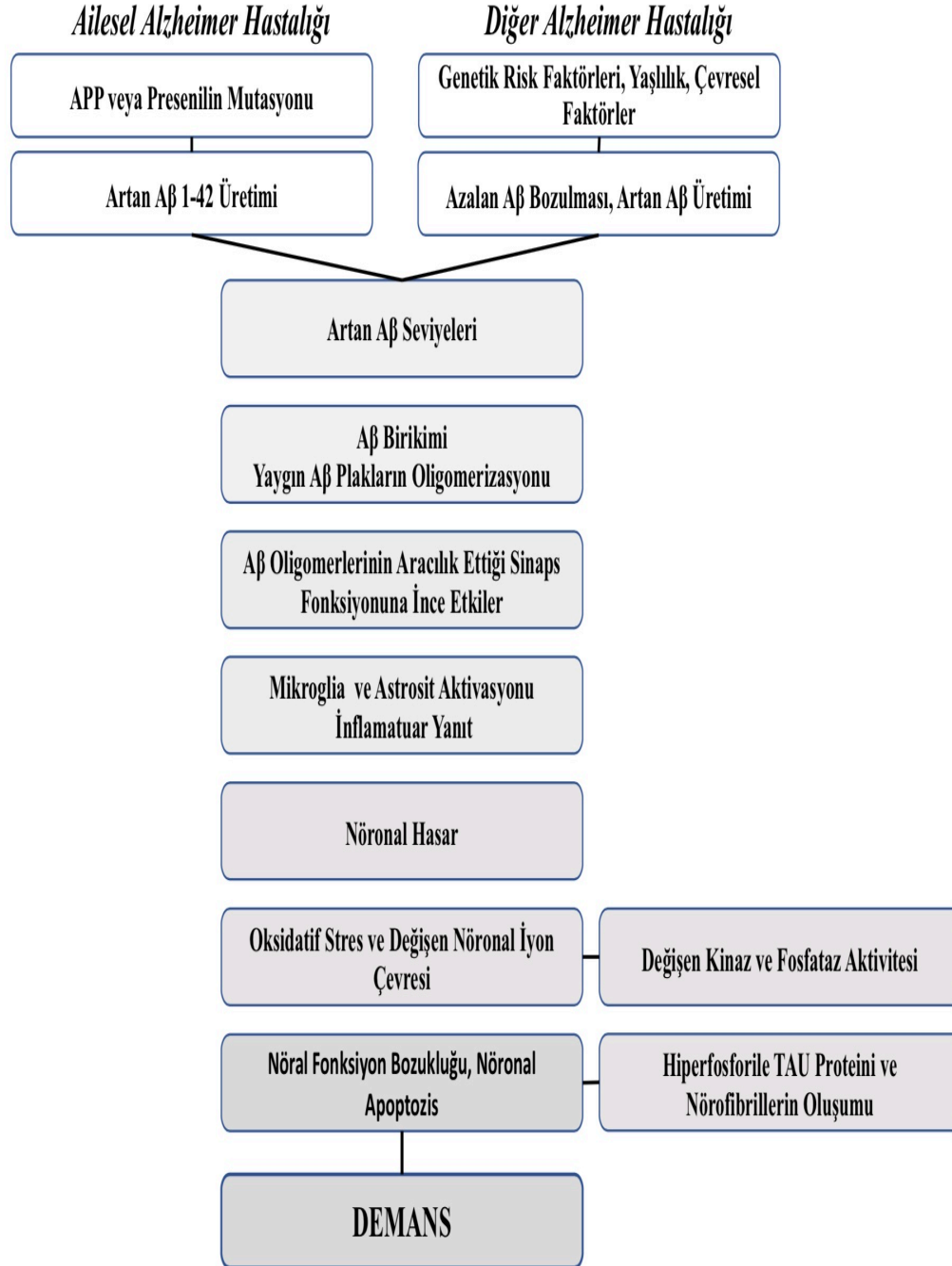
Başta unutkanlık olmak üzere bellek ve kognitif fonksiyonlarda bozukluklar ile karakterize ilerleyici bir hastalık olan AH; kortikal ve hipokampal beyin bölgelerini etkiler. Beyinde atrofi, giruslarda daralma, sulkuslarda ve ventriküllerde genişleme hastalığın makroskopik patolojik bulgularıdır (Baysal ve Yeşilbudak, 2003). Temel mikroskopik değişiklikler ise nöron kayıpları, ekstraselüler amiloid plak birikimi ve nörofibriler yumakların nöron içinde birikmesidir (Lopes ve diğerleri, 2009). AH'nin histopatolojik özellikleri; hiperfosforilize tau proteini tarafından oluşturulan, APP; presenilin 1 ve presenilin 2'nin işlenmesiyle sinir hücresi tarafından üretilen A β peptid polimerleri ve hücre içi nörofibriler düğümlerden oluşan senil plaklardır. Hiperfosforile tau proteini nörofibriler yumakların temel bileşenidir. Tau; mikrotübül asosiye proteinler (MAP) ailesinden bir proteindir. 17. kromozom tarafından kodlanır. Mikrotübüllerin stabilizasyonu, hücre iskeletinin bütünlüğü ve aksonal transportta önemli rol alır. AH patogeneğinde hiperaktif kinazlar ve/veya hipoaktif fosfatazlar tau proteininin hiperfosforilizasyonuna yol açarak mikrotübüllere bağlanma yeteneğini bozarlar. Bağlanmamış fosforilize tau çözölemeyen çift sarmallı filamanlara polimerize olur ve zaman içinde intranöronal nörofibriler yumaklar haline gelir. Hücre iskeletinin bütünlüğünün ve aksonal transportun bozulması hücre ölümüne neden olur. Hücre ölümü sonucunda ortaya çıkan ekstraselüler nörofibriler yumaklar “hayalet yumak” adını alır (Bennett, Schneider, Wilson, Bienias ve Arnold, 2004; Braak H. ve Braak E., 1991).



Şekil 2.1. Amiloid beta protein üretimi ve oligomerizasyonunu hedef alan terapötik yaklaşımlar (Kaushik, Jayant, Tiwari, Vashist ve Nair, 2016)

Aβ ise 40-42 amino asitten oluşan bir protein olup daha büyük bir transmembran protein olan, 19. kromozomda kodlanan ve işlevi tam olarak anlaşılamamış bir transmembran protein olan APP'den proteolitik yolla oluşur (Glenner ve Wong, 1984; Masters ve diğerleri, 1985). Aβ, APP'nin metabolizma ürünlerindendir. Aβ, membran içinde APP'nin 28 amino asitlik bölgesini de içeren bir parçasıdır. APP bir dizi proteolitik enzimle kesilerek metabolize edilir. Bu proteolitik enzimler; α, β ve γ sekretaz olarak adlandırılır. α-sekretaz APP'yi Aβ'nin orta kısmından keser. α-sekretazın bu etkinliğinin sonucunda çözülebilir Aβ yerine APP ya da sAPP adı verilen yeni bir ekstraselüler protein oluşur. Fakat; diğer iki enzim (β ve γ-sekretazlar), APP'yi amino ucundan (β-sekretaz) veya karboksi ucundan (γ-sekretaz) böler ve ürün olarak Aβ oluşur. Oluşan Aβ'lar 40 veya 42 amino asit uzunluğundadır. Aβ 1-42 daha fazla amiloidojenik olan formdur. Bu nedenle ilk çöken Aβ 1-42 olur (Iwatsubo ve diğerleri, 1994). Daha sonra Aβ diffüz plaklar halinde agreste olur ve yoğun nöritik plaklara dönüşür (Cummings, 2004). AH'de α-sekretaz yolu baskılanırken, dengenin β ve γ-sekretaz yollarına saptığı ileri sürülmektedir. β- sekretazın son yıllarda geni de bulunarak karakterize edilmiş ve BACE1 adı verilmiştir. γ-sekretazın ise presenilin ile ilişkisi, henüz tam olarak bilinmemektedir (Sweeney ve Juhyun, 2016). Amiloid kaskad hipotezi Aβ'yı, nörodejenerasyona neden olan toksik ajan olarak tanımlar ve Aβ'daki değişikliklere, mikrotübüle bağlama proteini taudaki farklılaşmanın neden

olabileceğini kabul eder. Sonuçta bu hipotez nöronal hücre ölümüne neden olan toksik A β oligomerlerinin demansa yol açtığını gösterir. (Hardy ve Selkoe, 2002).



Şekil 2.2. Amiloid kaskad hipotezi (Hardy ve Selkoe, 2002)

2.1.4. Alzheimer hastalığında deneysel modeller

Sıçanlar fizyolojik, genetik ve morfolojik özellikleri bakımından insanlara oldukça fazla benzemektedirler. Dokularının ve özellikle beyin boyutlarının daha iri olması, ilaç uygulamalarını kolaylaştırmaktadır. AH modeli için sıçanların uygun olmasının en önemli sebeplerinden biri insanlarda olduğu gibi sıçanların da taunun 6 isoformunu içermesidir. Fakat sıçanlarda tau izoformlarının 4R/3R oranı 9:1 iken, insanlarda 1:1'dir. Sıçanlar ve insanların APOE amino asit dizilişleri arasında da benzerlik vardır (Tran ve diğerleri, 2013). AH'de kullanılan sıçan modelleri, karmaşık davranışsal özelliklerin belirlenmesini sağlamaktadır. Bu da patolojinin kognitif sonuçlar üzerinde etkisinin daha hassas olarak değerlendirilmesine olanak sağlar. Sıçanlarla yapılan AH araştırmalarında farklı deney modelleri oluşturulmaktadır. Yapılan çalışmalarda kullanılan bazı modeller aşağıda sıralanmıştır:

- Transgenik hayvan modelleri
- Virüs aracılı sıçan modelleri
- Tau patolojisi olan sıçan modelleri
- İnsülin direnci ve AH arasındaki ilişkiyi kapsayan hayvan modelleri
- A β 'ya bağımlı sıçan modelleri
- Streptozotosin ile uyarılan AH modeli

Deneysel AH modellerinde, nörodejeneratif ve bilişsel bozukluklar intrahipokampal A β uygulamaları ile oluşturulabilir (Salari ve Bagheri, 2016). Sıçanlarda deneysel olarak AH'nin uyarılması için sentetik veya doğal olarak salgılanan A β peptidlerinin farklı dozları, en çok icv veya intrahipokampal enjeksiyon yoluyla beyine verilmektedir (Bagheri ve diğerleri, 2013; Cetin ve Dincer, 2007). Bu modellerde, sıçanlarda bazal ön beyinde kolinerjik yıkıma neden olunmaktadır. Ayrıca, deneysel modellerde, hafıza yeteneklerinin bozulduğu gözlemlenmiştir (Kazsa ve diğerleri 2017). Yapılan bir çalışmada, kısa uzunlukta bir peptid olan A β 25-35 enjeksiyonunun hayvanların nöron ve mikroglialarında, astroglıyozis ve IL-1B immunreaksiyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Sadigh-Eteghad ve diğerleri, 2015). Hastalığın kompleks yapısı nedeniyle, karakteristik özelliklerinin tümünü birden taşıyan bir model oluşturmak oldukça güçtür. Bu nedenle çoğu model, AH'nin tüm özelliklerini değil, en belirgin patolojik özelliklerini hedeflemiştir. Hayvan modellerinde

peptid enjeksiyonu kullanmanın doğruluğunu yansıtan çok sayıda kriter belirlenmiştir. Bu kriterlerin ilkinde göre, A β düşük miktarlarda enjekte edilmelidir. Bu durum, A β 'nin çeşidi ile de ilişkilidir. Çünkü in vivo ortamda çözünebilen peptid türleri, agregat olmuş peptidler ile karşılaştırıldığında daha az etkili olabilir. İkinci olarak, peptid enjeksiyonu nöronun yaşayabilmesi için analiz bölgesinden ayrı, beynin iyi tanımlanmış bir bölgesinde yapılmalıdır. Bu prosedür, enjekte edilen peptidin etkisiyle oluşabilecek nöron hasarını en aza indirmek için gereklidir (Elçioğlu, Yılmaz, İlhan ve Karan, 2018; Mc Larnon, 2014).

2.2. Peroksizomlar

0,1-1,5 mikron çapında, tek katlı zarla çevrili, küresel ya da oval vakuol benzeri organellerdir (Schrader ve Fahimi, 2008). Hayati öneme sahip işlevleri olmasına rağmen peroksizomların varlığı ancak 1966 yılında ortaya konulmuştur. Lizozomları keşfeden Christian de Duve; peroksizomların da ayrı bir organel olduğunu bulmuştur (Duve ve Baudhuin, 1966). 1974 yılında Nobel Komitesi; Christian de Duve, Albert Claude ve George Emil Palade'ı hücrenin yapısal ve işlevsel organizasyonu konusunda yaptıkları çalışmalarından dolayı Tıp veya Fizyoloji Nobel Ödülüne layık bulmuştur.

2.2.1. Yapısı

Peroksizomlar, diğer adıyla mikrocisimcikler; eritrositler hariç bütün ökaryotik hücrelerde bulunan DNA içermeyen organellerdir (Schrader ve Fahimi, 2004, 2008). Peroksizomlar DNA'sız olduğu için spesifik protein hedef yolları gerektirir. Peroksinler adı verilen peroksizom biyogenezi faktörlerini şifreleyen PEX olarak adlandırılan 30'dan fazla gen tanımlanmış ve izole edilmiştir. Bunlar, sırasıyla peroksizomal proteinler için iki sınıf matriks hedefleme sinyali, yani peroksizomal hedefleme sinyali 1 ve 2 (PTS1 ve PTS2) ile bunların sırasıyla peroksin 5 ve 7'deki kendi sitosolik reseptörlerini (PEX5 ve PEX7) içerir (Lanyon-Hogg, Warriner ve Baker, 2010). PEX1, PEX2, PEX5, PEX6, PEX7, PEX10, PEX12, PEX13, PEX14 ve PEX26 dahil olmak üzere on peroksin, peroksisomal matrikste protein taşınmasında rol oynamaktadır (Fujiki, 2016). PEX3, PEX16 ve PEX19, peroksizomal membran proteinlerinin hedeflenmesi ve yerleştirilmesi için gereklidir (Ma ve Subramani, 2009). PEX13 ve PEX14 membran proteinlerinin yerleştirilmesi için gerekli kompleksin bileşenleridir. Bununla birlikte, protein ileten bir kanal özelliğine sahip geçici

bir peroksizomal gözeneğin varlığı yakın zamanda tespit edilmiştir (Meinecke ve diğerleri, 2010). Özellikle, zara gömülmüş PEX5 ve PEX14, translokasyon gözeneğinin ana bileşenleridir (Lanyon-Hogg ve diğerleri, 2010). Peroksizomlar mikrotübüller boyunca hareket eder. PEX14 mikrotübüller için bir membran çapası olarak görev alır. Bu nedenle PEX14 peroksizom hareketliliği için gereklidir (Bharti ve diğerleri, 2011). PEX11 ve DL1 dahil olmak üzere diğer peroksinler, peroksizom fisyonu, proliferasyonu ve kalıtımında rol oynamaktadır (Thoms ve Erdmann, 2005). Ayrıca peroksizomlarda peroksizom membran proteinleri yani PMP'ler vardır. Peroksizomal membran proteini 70 (PMP70), memeli peroksizomal membranlarının ana bileşenlerinden biridir ve ATP bağlayıcı protein süper ailesine aittir (Kashiwayama ve diğerleri, 2005). ABCD3 olarak da bilinen PMP70 (Baes ve Veldhoven, 2016), yağ asidi oksidasyonu için uzun zincirli yağ asitlerini ve dallı zincirli asil CoA'ları peroksizomlara alabilir (Imanaka ve diğerleri, 1999). Bu özelliği PMP70'i uzun zincirli yağ asitleri üzerindeki rolü nedeniyle oldukça önemli kılar.

Peroksizom, moleküler oksijeni kullanarak bazı organik bileşiklerden hidrojen alır ve H_2O_2 sentezler. Organelin ismi de buradan gelir. Peroksizom bu bileşiği kullanarak dışardan gelen zararlı bileşikleri etkisiz hale getirir. Peroksizom H_2O_2 'yi sentezleyen enzimleri içerdiği gibi yıkan enzimleri de içerir (Delille, Alves ve Schrader, 2009; Hettima ve Motley, 2009). İş yüklerine göre; peroksizomların şekli, büyüklüğü ve hücrel içeriği, fisyon, füzyon ve çoğalma mekanizmalarına cevap olarak önemli farklılıklar göstermektedir. Farklı organlar incelendiğinde, peroksizomlar karaciğerde (hepatositler) çok fazla miktarda bulunur. Beynin farklı alanlarında özellikle serebellum, hipokampus ve glial hücreler (oligodendositler, astrositler) başta olmak üzere tüm sinir hücrelerinde peroksizomal proteinlerin ekspresyonu saptanmıştır (Troffer-Charlier ve diğerleri, 1998). Günümüzde, memeli peroksizomlarında çeşitli metabolik yollarda görev alan 50'den fazla enzim tanımlanmıştır (Wanders ve Waterham, 2006a, 2006b). Uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyon sürecinde önemli rol oynarlar. Fitnik asidin oksidasyonuna, safra asitlerinin biyosentezine ve eikosanoidlerin parçalanmasına katılırlar. En önemlisi, peroksizomlar; hücrelerinde herhangi bir nedenle var olan toksik etkili maddeleri inaktive edip yok eden CAT enzimi taşır. Bu enzim, H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ye dönüştürür (Wanders ve diğerleri, 2010). Bölünerek çoğalabilirler veya endoplazmik retikulum adlı organelin zarından oluşabilirler (Girzalsky, Saffian ve Erdmann, 2010; Lazarow ve Fujiki 1985).

İşlevsel olarak mitokondriye benzerler. Fakat yapısal olarak oldukça farklıdır. Mitokondriden farklı olarak tek zarla çevrilidirler. Kendi genetik materyalini ve proteinini

sentezleyen üniteleri yoktur. Yapısal proteinleri için gerekli tüm bilgi hücrenin çekirdeğinde saklıdır. Peroksizom zarında madde alış-verişi ile ilgili çok sayıda protein vardır. Yağ asitlerinin katabolizmasında ve beynin normal fonksiyonu için plazmalojenlerin biyosentezinde, serbest oksijen radikallerinin etkisiz hale getirilmesinde, lipidlerin biyosentezinde, D-amino asitler ve poliaminler gibi bazı özel bileşiklerin metabolizmasında, bitkilerde yağlardan şeker sentezinde, safra asitlerinin sentezinde, kolesterol sentezinde ve daha pek çok biyokimyasal olayda peroksizomların önemli rolü vardır. Ayrıca, yağ asitlerinin temel yıkım yeri mitokondrilerdir fakat peroksizomlar yağ asitlerinin farklı özellikteki kuyruk kısmını adeta yeniden şekillendirir ve onları kısaltarak mitokondrilerin kabul edeceği bir şekle sokar. Peroksizomlar, mitokondriler için ön işleme merkezi gibi çalışır.

Lipid metabolizmasındaki rollerinin yanı sıra, peroksizomal fonksiyonlar oksidatif stres homeostazının kontrolünde de rol oynar (Fransen, Nordgren, Wang ve Apanasets, 2012). Açıl-CoA oksidazlar (ACOX) gibi peroksizomal enzimlerin veya indüklenebilir nitrik oksit (NO) sentazın (iNOS) reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) ile oksidatif stres oluşturduğu bilinmektedir (Loughran ve diğerleri, 2013). ROS molekülleri, özellikle süperoksit anyonları (O_2^-) ve H_2O_2 ve NO ile RNS molekülleri kısmen peroksizomlarda üretilirler (Del Rio, 2011). Aynı zamanda, peroksizomlar oksidatif ve nitrosatif stresi önleyen enzimatik bileşenlere de sahiptir. Bu enzimatik bileşenler; CAT, süperoksit dismutaz 1 veya glutation S-transferaz içerir (Del Rio, 2011).

2.2.2. Peroksizomlar ve sinir sistemi

Aksonların işlevlerini yerine getirebilmesi için etraflarının düzgün bir şekilde yalıtılmış olması gerekir. Aksi takdirde taşıdıkları sinyallerde kayıplar olur ve sinyal iletim hızı düşer. Sinir hücrelerinin akson adı verilen ince uzun kısmı özellikle sinyal iletiminde önemli işlevlere sahiptir. Günümüzde peroksizomların; nöral hücre büyümesi, beyin gelişimi ve retina fonksiyonunda çok önemli bir rol oynadığı kanıtlanmıştır (Brites, Waterham ve Wanders, 2004). Peroksizomlarla ilgili bazı hastalıklarda miyelin yapıdaki bozukluktan dolayı çok ciddi nörolojik bozukluklar görülür. Bunun nedeni miyelin tabakanın yapısında bulunan plazmalojen olarak bilinen lipittir. Plazmalojen peroksizomlarda sentezlenir (Delille ve diğerleri, 2009; Hettema ve Motley, 2009). Plazmalojenler (1-O-alk-1'-enil-2-asil gliserofosfolipitler), sn-1 pozisyonunda bir vinil eter

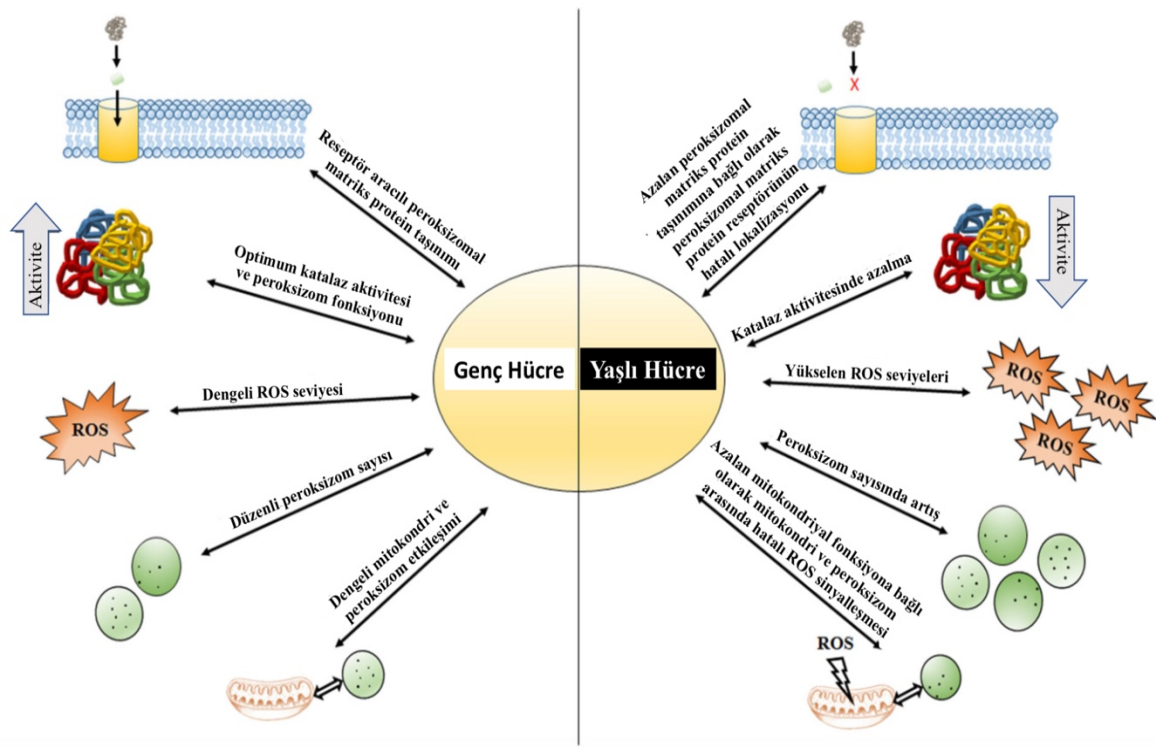
bağı varlığı ile karakterize edilen özel bir fosfolipid sınıfı oluşturur (Brites ve diğerleri, 2004). Fosfolin veya fosfoetanolamine bağlanan bir karbon ile bir gliserol omurgasından oluşan plazmalojenlerin: iki türü vardır, sırasıyla kolin-plazmalojen ve etanolamin-plazmalojen. Beyinde gri maddedeki, etanolamin-plazmalojen (%22.4) miktarı; kolin-plazmalojen (% 0.9) ile karşılaştırıldığında daha fazladır (Panganamala, Horrocks, Geer ve Cornwell, 1971). Kolin-plazmalojen ve etanolamin-plazmalojenin her birinin sırasıyla yaklaşık 30 ve 180 dakikalık kısa bir ömrü vardır (Rintala ve diğerleri, 1999). Plazmalojenler yapısal membran bileşenleri ve ikinci haberciler için bir rezervuar olmasına rağmen, membran füzyonu, iyon taşınması ve kolesterol akışına da dahil olabilirler. Ayrıca, onlar antioksidanlar gibi de hareket edebilirler, böylece hücreleri oksidatif strese karşı korurlar (Farooqu ve Horrocks, 2001). Plazmalojen eksikliği olan hücreler, kolesterol taşınımı, veziküler füzyon ve transmembran protein fonksiyonu düzeyinde değişmiş lipid metabolizması sergiler (Munn, Arnio, Liu, Zoeller ve Liscum, 2003).

İnsan sağlığı üzerinde peroksizomların önemli rollerinin olduğu, ciddi nörodejeneratif ve demiyelinizasyon olan beyin hastalıklarında bazı peroksizomal anormallikler tespit edildiğinde belirginleşmiştir (Depreter, Espeel ve Roels 2003). Peroksizomlar; özellikle miyelogeneziste önemli görevler üstlenen hücre içi organellerdir. Bu nedenle peroksizomal bozukluklarda nörolojik bulgular ön plandadır. Peroksizomlarda yağ asitleri, fitanik asit, glutarik asit, pikekolik asitlerin oksidasyonu gerçekleşir (Moser H. ve Moser A., 1996; Theron ve Van Papendorp, 1996). Peroksizomların sayısal, fonksiyonel ve yapısal bozuklukları pek çok hastalığa sebep olmaktadır. Bu hastalıklar üç alt grupta incelenir.

- Birinci grup: Peroksizomların yokluğu veya azlığı ile giden multipl enzim bozukluklarının olduğu; Zellweger Sendromu, Neonatal Adrenolökodistrofi ve İnfanıl Refsum Hastalığı (Steinberg ve diğerleri, 2006).
- İkinci grup: Peroksizomların normal olduğu, tek enzim bozukluğuyla giden; X'e bağlı geçen Adrenolökodistrofi, Akatalazemi, Hiperokzalüri Tip 1, Pseudo Zellweger Sendromu (3-okzoaçil-CoA tiolaz eksikliği), Açıl-CoA oksidaz eksikliği ve bifonksiyonel enzim eksikliği (Baes ve Aubourg, 2009; Ferrer, Aubourg ve Pujol, 2010).
- Üçüncü grup: Peroksizomlarda yapısal bozukluk ve multipl enzim eksikliği olan; Rizomelik Kondrodizplazi Punktata ve Zellweger-benzeri sendrom (Fishman, 1989: 755, 775; Menkes, 1995: 152, 212).

2.2.3. Peroksizomlar ve yaşlanma

Peroksizomların hücre yaşlanmasında ve yaşa baēlı spesifik dejeneratif hastalıkların gelişmesinde önemli rolü vardır. Peroksizom ve yaşlanma arasındaki ilişki; bu organelde meydana gelen ROS ve RNS üretiminin düzenlenmesi ile ilişkilendirilir (Giordano ve Terlecky, 2012). Peroksizomların en önemli enzimlerinden biri olan CAT da yaşlanma patolojileri ile ilişkilidir. Hipokatalazemik hastalardan (CAT'ın kalıtsal eksikliēi) elde edilen insan fibroblast hücreleri, H₂O₂'yi biriktirir. Bu hücreler DNA ve protein hasarı, düşük hücre proliferasyonu ve mitokondriyal fonksiyon bozukluēu gibi hücresel yaşlanma belirtileri ile karakterize edilmekte olan yaşa baēlı patolojileri gösterirler (Wood ve diēerleri, 2006). Hipokatalazemik koşullarda, peroksizomların protein alma, büyüme ve bölünmesini düzenleme ve ROS'u işleme kabiliyeti deēiřir (Koepke, Wood, Terlecky, Walton ve Terlecky, 2008). Metabolik olarak aktif hücreler çoēalma kabiliyetini kaybettiēinde yani hücreler yaşlanma sürecine girdiēinde, CAT peroksizomlardan sitozole geçer (Giordano ve Terlecky, 2012). Deēiřime uğrayan bazı hücrelerin ise hiç peroksizomal CAT içermediēi görölmüştür. Biyokimyasal analizler, immüno Floresan çalışmalar ile doērulanıřtır ve CAT'ın yaşlanan hücrelerin sitozolünde biriktiēi açıkça gösterilmiştir. Spesifik olarak, peroksizomal CAT aktivitesinin inhibisyonu, fare mitokondrisinde ve insan fibroblastında oksidatif stresi negatif yönde modüle eder (Hwang ve diēerleri, 2012; Walton ve Pizzitelli 2012). Ayrıca, peroksizomlarda meydana gelen oksidatif hasar, mitokondriyal parçalanma ve hücre ölümine yol açar (Ivashchenko ve diēerleri, 2011; Wang ve diēerleri, 2013). Sonuç olarak, peroksizomal fonksiyonun yaşlanma sırasında sürekli olarak azaldıēını destekleyen çeşitli raporlar bulunmaktadır.



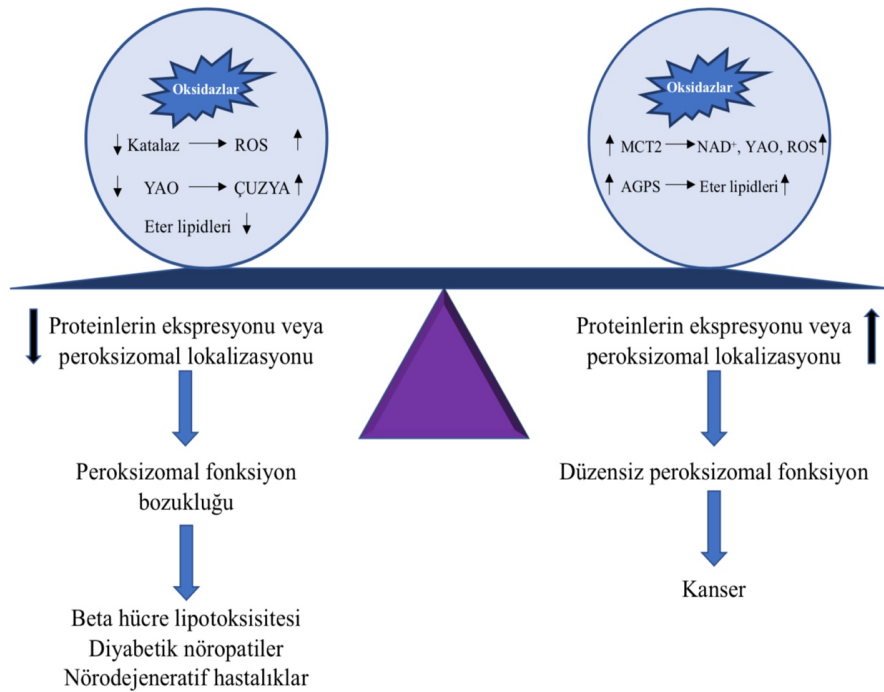
Şekil 2.3. Genç ve yaşlı hücrelerde peroksisomlar tarafından metabolize edilen reaktif oksijen türlerinin nedenleri ve sonuçları (Deori ve diğerleri, 2018)

Yaşlı hücrelerde önemli bir peroksisomal antioksidan enzim olan CAT aktivitesinde azalma belirgindir. Bu azalma, hücrede oksidatif strese yol açan ROS birikimi ile sonuçlanır. Peroksisom sayısının düzenlenmesi de yaşılan hücrelerde tehlikeye girer. Peroksisomlar ve mitokondri karmaşık bir fizyolojik ilişkiyi paylaşır. Hücrenin redoks dengesini korumaktan sorumlulardır. Bu organellerde ortaya çıkan fonksiyonel bozukluklar doğrudan oksidatif streste artışla bağlantılıdır.

Yaşılan hücreler azalan bir peroksisomal enzim konsantrasyonunu (veya metabolize edilmemiş substratların birikimini) algılayormuş gibi, peroksisom sayısını artırarak yanıt verir yani organel çoğalır (Legakis ve diğerleri, 2002). Benzer şekilde, peroksisomlar, yaşlı bireylerin veya maküler dejenerasyondan muzdarip olan hastaların retinal epitelinde de çoğalırlar (Feher ve diğerleri, 2005). Peroksisom yaşam döngüsü hücresel yaşlanma ile ilişkilendirilebilir. Peroksisom bölünmesinden sonra, hücrelerde heterojen peroksisom popülasyonu gözlenir. Bu süreçte genç, gelişmekte olan ve metabolizma ürünlerinin yol açtığı zararlı bileşenlerin biriktiği yaşlı olgun peroksisomlar da mevcuttur (Beach ve diğerleri, 2012). Bu yaşlı peroksisomlar organel homeostazını korumak ve hasarlı peroksisomal bileşiklerin birikmesini önlemek için otofaji ile elimine edilir. Peroksisomların sayısı, aktivitesi ve kalitesi hücrede dinamik olarak uyarlanır ve kontrol edilir (Erdmann, 2016). İşlevsel olmayan veya gereksiz peroksisomları ortadan kaldırmak için önemli bir mekanizma olan peksofaji spesifik bir otofaji şeklidir (Oku ve Sakai, 2010).

Peksofaji peroksizomal artıkların spesifik peroksizomların içine girmesini ve sonradan vakuoller (mantarlar) veya lizozomlarda (memeliler) bozulmalarını sağlayan mekanizmaları içerir (Oku ve Sakai, 2016). Peksofaji yani programlı hücre ölümü için gerekli olan ATG1 proteininin silinmesi, bir mantar türü olan *Hansenula polymorpha* hücrelerinde canlılığının azalmasına ve peroksizom sayısında belirgin bir artışa yol açar (Aksam ve diğerleri, 2007).

Ayrıca, yaşlı hücrelerde, PTS1 proteinlerinin peroksizomal ifadesi azalır (Legakis ve diğerleri, 2002). Yağ asitlerinin peroksizomal β -oksidasyonundaki kusurlar, endoplazmik retikulumda; yağ asitlerinin birikmesi ile hücre üzerinde birçok zararlı etkiye neden olur. Endoplazmik retikulumda diaçilgliserol konsantrasyonundaki artış, hücrede stres yanıtına ve hızlanan bir yaşlanma sürecine yol açar ve hücreyi nekrotik ölüme karşı uyarabilir (Feng, Ren, Chen ve Rubin, 2007). Birçok veri, peroksizomların hücresel yaşlanmayı düzenleyen bir sisteme entegre edildiğini ve peroksizomal işlev bozukluklarının yaşa bağlı hastalıkların ortaya çıkmasını destekleyebileceğini ortaya koymaktadır (Trompier ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.4. Yaşa bağlı hastalıklarda peroksizomal fonksiyon bozukluğu (Cipolla ve Lodhi, 2017)

AGPS: alkilgliseron fosfat sentaz, YAO: yağ asidi oksidasyonu, MCT2, monokarboksilat taşıyıcı 2, ROS: reaktif oksijen türleri; ÇUZYA: çok uzun zincirli yağ asidi.

2.2.4. Peroksizomlar ve Alzheimer hastalığı arasındaki ilişkisi

Beyin, oksidatif strese karşı en hassas olan organlardandır. Peroksizom miktarı beyin gelişimi sırasında değişir. Ayrıca beyin farklı bölgelerinde peroksizomların sayısı değişkenlik göstermektedir. Bu durum yaşlanmada ROS seviyelerinde dengesizliğe katkıda bulunabilir. Nörodejeneratif hastalıkların çoğunda ortak bir özellik, farklı patolojik ve klinik özelliklerden bağımsız olarak oksidatif stres ile ilişkilendirilmeleridir. Yapılan çalışmalar AH'da oksidatif strese karşı koruyucu olacak ilk savunma hattının peroksizom ve mitokondriyi içerdiğini ortaya koymaktadır (Delille ve diğerleri, 2009; Fransen, Lismont ve Walton, 2017).

Yaşlanmayla peroksizomal aktivitelerin azalmasına bağlı olarak (Titorenko ve Terlecky, 2011), azalan CAT aktivitesi (Marcus, 1998), düşük plazmalojen sentezi (Goodenowe ve diğerleri, 2007) ve hücre ölümüne karşı duyarlılığın artması, özellikle nekrozu (Lopez-Erauskin, Ferrer, Galea ve Pujol, 2013; Manivannan, Scheckhuber, Veenhuis ve Van der Klei, 2012) içeren yaşlanma ve demansla ilişkili peroksizomal fonksiyon bozukluklarını tetikleyebilir ve AH gibi nörodejeneratif hastalıkları destekleyebilir (Lizard, Rouaud, Demarquoy, Cherkaoui-Malki ve Iuliano, 2012; Terlecky, Koepke ve Walton, 2006).

AH ve alzheimer tipi demansta, peroksizomların oynadığı rol iyi bilinmemektedir. Ancak, peroksizomlar, beyin ve retina için gerekli olan ve nöral hücrelerde çok önemli rol oynayan ve miyelinin temel bileşenleri olan plazmalojenler ve dekosahexanoik asit (DHA) gibi spesifik yağ asitlerinin sentezinde rol oynarlar (Lizard ve diğerleri, 2012). Demans hastalarında; DHA ve plazmalojen seviyesinin anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir. İlginç bir şekilde, AH olan hastalardan alınan postmortem beyin örneklerinde, fosfatidiletanolamine göre anlamlı ve seçici bir etanolamin-plazmalojen eksikliği tespit edilmiştir. Bu lipit defekti, AH olan beyindeki nörodejenerasyon bölgesinde, hastalıkla göreceli olarak korunan bir bölgeye kıyasla (serebelluma karşı orta temporal korteks) daha belirgin bir anatomik özellik göstermiştir (Ginsberg, Rafique, Xuereb, Rapoport ve Gershfeld, 1995). AH'li hastalarda, elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi ile ölçülen plazmalojen seviyelerinin korteks ve hipokampüste tükendiği bildirilmiştir (Farooqui, Rapoport ve Horrocks, 1997; Han, Holtzman ve McKeel, 2001). AH olan hastaların prefrontal korteksinde bozulmuş kolin plazmalojen ve fosfolipid yağ asidi konsantrasyonları da gözlenmiştir (Igarashi ve diğerleri, 2011). Ayrıca demansın tüm

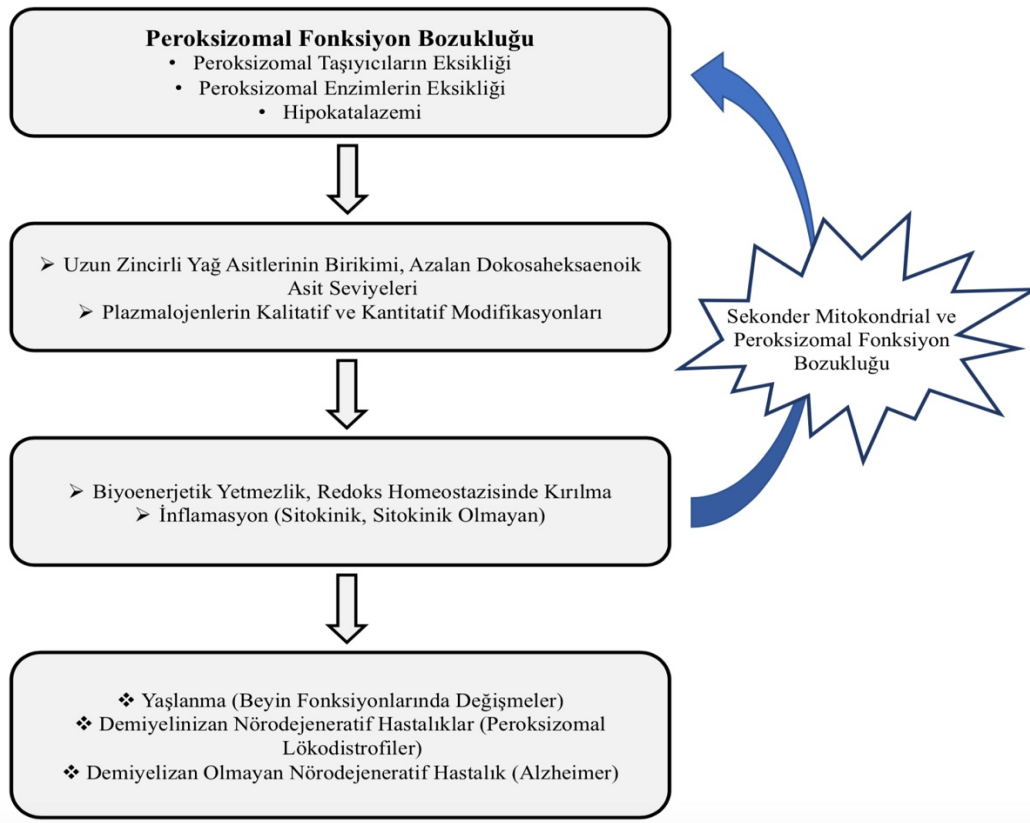
evrelerinde, klinik ve patolojik olarak tanı konan hastalar incelendiğinde, dolaşımdaki plazmalojen seviyelerinin serumda, önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur. Bu azalmanın ciddiyeti demansın ciddiyeti ile koreledir (Goodenowe ve diğerleri, 2007; Wood ve diğerleri, 2010).

Ayrıca, AH'de peroksizomda bulunan (ama aynı zamanda mitokondri, endoplazmik retikulum ve çekirdekte de saptanan) bir enzim olan karnitin asetiltransferaz aktivitesinde azalma olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. Bilişsel gerilemeyi ve yaşa bağlı diğer nörolojik hastalıkları önlemek için peroksizomal metabolizmayı hedef alan yeni tedavilerin yapılması yapılan son çalışmalarla gündeme getirilmiştir. Plazmalojenler, DHA ve çok uzun zincirli yağ asitleri dahil olmak üzere bazı lipidlerin seviyeleri, Alzheimer hastalarının beyinde değişir. Bu bileşiklerin metabolizması peroksizomal metabolizmaya dayandığından, yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıklarda peroksizomun potansiyel bir rolünden şüphelenilebilir.

Yaşlanma ile birlikte peroksizomal fonksiyon kapasitesi azalmaktadır (Mandel ve diğerleri, 1998; Munn ve diğerleri, 2003; Titorenko ve Terlecky, 2011). Bu durum AH gibi nörodejeneratif hastalıkların oluşumunu destekleyebilir (Goodenowe ve diğerleri, 2007; Lukiw ve Bazan, 2006; Santos ve diğerleri, 2005). AH gelişiminde peroksizomların potansiyel rolünün ilk kanıtı, primer sıçan hipokampal nöron kültürleri üzerinde yapılan bir çalışmada in vitro olarak saptanmıştır. Bu hücrelerde, güçlü bir peroksizom proliferatör aktivatör reseptör (PPAR) alfa (PPAR α) agonisti olan Wy-14.463 tarafından indüklenen peroksizomal proliferasyonun, hücreleri A β peptid tarafından indüklenen hücre ölümüne karşı koruduğu gösterilmiştir (Santos ve diğerleri, 2005). 3 aylık AH modeli transgenik farelerle (Tg2576) yapılan başka bir çalışmada, hastalığın hiçbir belirgin nöroanatomik veya sitolojik belirtisi olmasa bile, peroksizomal değişiklikler gözlenmiştir (Cimini ve diğerleri, 2009). Sıçanlarda, tioridazin tarafından tetiklenen bozulmuş peroksizom aktivitesi kısmen uzun zincirli yağ asiti konsantrasyonunu artırarak, APP ve β -sekretaz 1 (BACE1) ekspresyonunu ve A β oluşumunu desteklemektedir (Shi ve diğerleri, 2012). Ayrıca AH olan hastaların postmortem beyin dokularında AH patolojisinin ilerlemesine katkıda bulunabilecek önemli peroksizomal değişiklikler rapor edilmiştir (Kou ve diğerleri, 2011). Çeşitli çalışmalarda, beyin bölgelerinde ve AH hastalarının eritrositinde etanolamin plazmalojen ve kolin plazmalojen seviyelerinde azalma tanımlanmıştır. Bu azalma, hastalık şiddeti ile pozitif olarak korele bulunmuştur (Igarashi ve diğerleri, 2011; Wood ve

diğerleri, 2010). Ayrıca, AH hastalarının beyinde ve karaciğerinde DHA seviyelerinde azalma gözlenmiştir (Astarita ve diğerleri, 2010).

AH'nin diğer bir özelliği mitokondriyal fonksiyon bozukluğudur (Schon ve Przedborski 2011). A β 'nın AH hastalarından alınan beyin dokularının mitokondrilerinde aşamalı olarak biriktiği gösterilmiştir. Bu A β birikiminin hatalı bir mitokondriyal enerji metabolizmasına yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca bu durum mitokondriyal ROS üretimini artırabilir ve hücrel oksidatif strese neden olabilir. Yapılan başka bir çalışmada; peroksizom proliferasyonunun hipokampal nöronları A β kaynaklı oksidatif stres, nörotoksisite ve hücre ölümünden koruduğu bildirilmiştir (Santos ve diğerleri, 2005). Ayrıca, peroksizomların A β için hücrel bir hedefi temsil ettiğini gösteren kanıtlar da vardır. Bu, A β kaynaklı ROS üretiminin, plazmalojen sentezi için gerekli olan bir peroksizomal enzim olan alkilgliseron fosfat sentazın aktivite seviyelerini düşürdüğü gözlemiyle açıklanmaktadır (Grimm ve diğerleri, 2011). İyi tanımlanmış otopsi materyallerindeki peroksizomlara odaklanan uzun süredir devam eden toplum temelli bir kohort çalışması, Alzheimer hastalarının beyinlerinde peroksizom ile ilgili önemli değişiklikleri de ortaya çıkarmıştır (Kou ve diğerleri, 2011). Spesifik olarak, bu çalışmada; hastaların beyinlerinde plazmalojen içeriğinde belirgin bir azalma ve peroksizomlarda uzun zincirli yağ asidi seviyelerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Ancak bu çalışmada; uzun zincirli yağ asitlerinde gözlenen artışın, azalmış peroksizomal β -oksidasyonundan mı yoksa artmış yağ asidi zinciri uzamasından mı kaynaklandığı araştırılmaya devam etmektedir (Fransen, Nordgren, Wang, Apanasets ve Van Veldhoven, 2013).



Şekil 2.5. Nörodejenerasyona katılan fizyopatolojik olaylarda peroksizomal fonksiyon bozukluğu (Trompier ve diğerleri, 2014)

Nörodejenerasyon için peroksizomların hedef gösterilmesinin bir nedeni de doksorubisin ile tedavi edilen kanser hastaları ile ilgili çalışmalardan gelmektedir. Bu hastalar klinik tablolarında, peroksizomal ROS seviyelerinde artış, artan peroksizom sayısı ve peksofajinin regülasyonunda azalma gibi nöronlarda birkaç peroksizom bağlantılı kusur sergilerler. Bu nedenle peroksizomlar, doksorubisin bazlı kemoterapi için nöroprotektif tedavide potansiyel bir hedef olarak önerilmektedir (Moruno-Manchon ve diğerleri, 2018).

2.2.5. Peroksizom biyogenez ve fonksiyonunda peroksizom proliferatör aktivatör reseptörlerin rolü

Nükleer reseptörlerin PPAR ailesi, Isseman ve Green tarafından 1990'ların başlarında keşfedilmiştir. Keşiflerinden itibaren, dislipidemiye karşı terapötik hedef olarak tanımlanmışlardır (Beaven ve Tontonoz, 2006). PPAR ailesi, peroksizomal lipid oksidasyonu ve sentezi ile ilişkilidir. Ayrıca bu süreçlerin sebep olduğu hastalıkların patogenezi üzerinde etkin rol oynarlar. PPAR'ler, yağ asidi ve karbohidrat metabolizmasını düzenleyen güçlü transkripsiyon faktörleri ve diyetel lipid sensörleridir. PPAR'ler aktive

olduklarında bir diğer nükleer reseptör olan retinoid X (RXR) ile zorunlu heterodimer oluşturur ve hedef genlerinde promotor bölgelerdeki spesifik PPAR yanıt elemanlarına (PPRE'lere) bağlanarak, gen ekspresyonunu baskılayarak veya aktive ederek gen fonksiyonunu düzenlerler (Kota, Huang ve Roufogalis, 2005). Uyarılmadıklarında bu heterodimerler, gen transkripsiyonunu baskılayan N-CoR ve SMRT gibi koruyucularla ilişkilidirler (Desvergne ve Wahli, 1999). PPAR'ler protein kinaz C (PKC) gibi diğer sinyal yollarının araya girmesiyle DNA-bağlamadan bağımsız bir tarzda da gen ekspresyonunu baskılayabilirler (Kota, Huang ve Roufogalis, 2005; Lee ve diğerleri, 2003). PPAR'ler beş işlevsel bölgeden oluşan modüler bir yapıya sahiptirler (Yumuk, 2006; Glass ve Ogawa, 2006).

1. MAPK (Mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz) ile fosforilasyon yoluyla liganttan bağımsız olarak etkileşen, N ucunda bulunan AF1 bölgesi
2. PPAR ile etkinleştirilen hedef genlerin promotor bölgesinde bulunan PPRE (peroxisome proliferator-activated receptor response element) ile etkileşen bölge
3. DNA ile bağlanma için önemli esnek eklem bölgesi
4. Özelleşmiş PPAR agonistlerinin bağlandığı, ligant bağlayan bölge
5. Ligant bağlanmasına karşılık olarak transkripsiyonel etkinleşme için gerekli olan yapısal değişikliğe uğrayan C ucunda bulunan, AF2 bölgesi

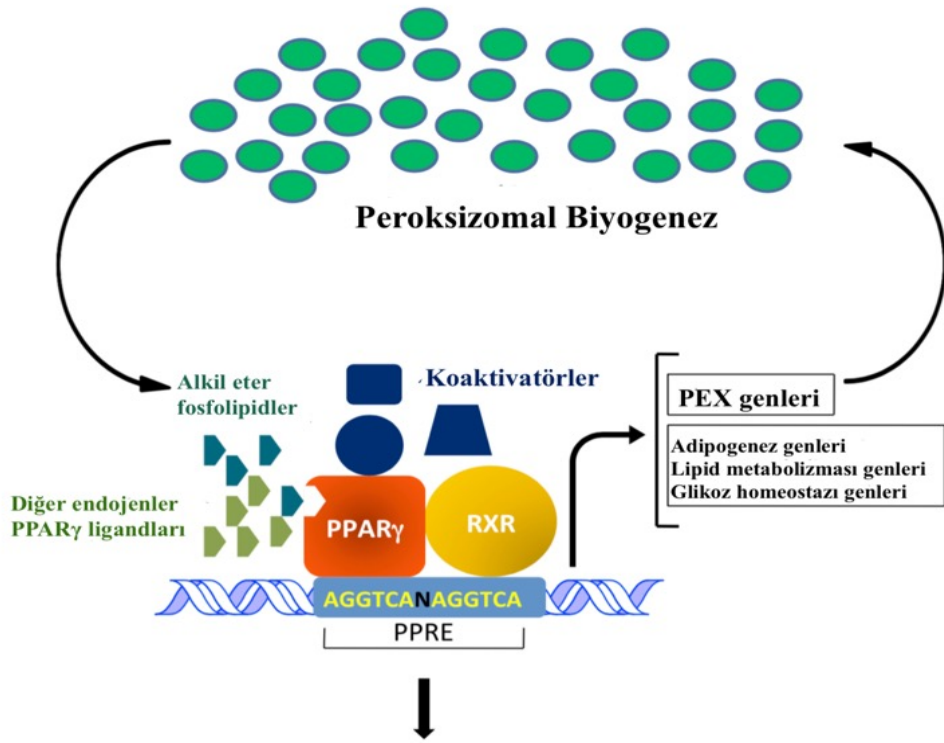


Şekil 2.6. PPAR transkripsiyon faktörlerinin genel yapısı (Şenol ve Tunçtan, 2015)

AF, aktivasyon fonksiyonu; DNA, deoksiribonükleik asit.

PPAR'lerin 3 alt tipi tanımlanmıştır. Üç alt tipi (α , β/δ , γ) ayrı genler tarafından kodlanır ve farklı dokular tarafından eksprese edilir (Touyz ve Schiffrin, 2006). PPAR α başlıca karaciğer, kahverengi adipoz doku, böbrek, kalp ve iskelet kasında eksprese edilir. PPAR α

lipid metabolizması, monosit toplanması/adezyonu ve köpük hücre oluşumunda yer alan genlerin ekspresyonunu düzenlemektedir. PPAR α , DHA ve eikozapentaenoik asit (EPA) gibi çoklu doymamış yağ asitleri, okside fosfolipidler ve lipoprotein lipolitik ürünlerinin yer aldığı doğal ligandlar tarafından aktive edilir (Desvergne ve Wahli, 1999). PPAR δ ; iskelet kası, insan embriyonik böbrek, barsak, kalp, adipoz dokusu, gelişen beyin ve keratinositlerde eksprese edilir. PPAR β/δ izoformunun obez ve diyabetik hayvan modellerinde HDL-kolesterolü arttırdığı, beyaz adipoz doku yağ depolarını, trigliseridleri, açlık insülinini ve LDL'yi azalttığı bulunmasıyla, PPAR β/δ hiperlipidemi tedavisinde uygun bir hedef olarak önerilmiştir. Ayrıca, PPAR β/δ 'nın kalp ve iskelet kasında yağ asitlerinin kullanımında yer alan genlerin ekspresyonunu arttırarak, iskelet kası fibril tipini glikolitikten oksidatifte değiştirdiği ve yağ asidi oksidasyonunu aktive ettiği keşfedilmiştir. PPAR γ ise bağırsak ve adipoz dokuda eksprese edilir (Kota, Huang ve Roufogalis, 2005). PPAR γ adiposit farklılaşması, lipid metabolizması ve glukoz homeostazında görevli genlerin ekspresyonunu düzenler. PPAR γ aynı zamanda anti-aterosklerotik etki ile immun supressif fonksiyona da sahiptir. PPAR'lerin beyin dokusundaki ekspresyonları da ayrıntılı olarak incelenmiştir. PPAR β/δ beynin pek çok bölgesindeki nöronlarda lokalize olurken, PPAR α ve γ daha kısıtlı beyin bölgelerinde lokalize olur (Moreno, Farioli-Vecchioli ve Ceru, 2004; Woods ve diğerleri, 2003). Yetişkin farelerin farklı beyin bölgelerinde yapılan PPAR ekspresyonunun analizi, PPAR β/δ mRNA'larının serebellumda, beyin sapında ve kortekste daha yoğun bulunduğunu ve PPAR γ mRNA'larının ise kortekste ve olfaktör bulbusta zenginleştiğini ortaya koymuştur. PPAR'lerin ayrıntılı analizinde, hipokampüste üç izotipin ekspresyonun da düşük seviyelerde bulunduğu görülmüştür. Bu analize göre; PPAR α , hipokampüste her yerde eksprese edilirken PPAR β/δ dentat girus/CA1 bölgesinde ve PPAR γ CA3 bölgesinde ekeprese edilir (Gofflot ve diğerleri, 2007).



Adiposit farklılaşması ve fonksiyonunun düzenlenmesi

Şekil 2.7. Peroksizomlar ve PPAR γ arasındaki ilişki (Lodhi ve Semenkovich, 2014)

PPAR γ , adiposit farklılaşmasının anahtar bir düzenleyicisidir. Peroksizomlarda sentezlenen alkil eter fosfolipidleri ve birçok endojen ligand tarafından aktive edilir. PPAR γ , RXR ile birlikte bir heterodimer olarak bulunur. Adipogenez, lipid metabolizması ve glukoz homeostazında yer alan genler dahil olmak üzere, PPRE barındıran çok sayıda genin ve peroksizomal biyogenezde yer alan genlerin ekspresyonunu düzenler. PPAR γ : Peroksizom Proliferatör aktivatör reseptör γ , PPRE: PPAR yanıt elemanı, RXR: retinoid X nükleer reseptörü.

2.2.6. Peroksizomlar, Mitokondri, Alzheimer hastalığı ve BACE1, PGC1 α , PPAR sinyâl yolağı arasındaki ilişkide oksidatif stresin rolü

ROS üretimindeki artışın endojen nedeni, öncelikle, memeli hücrelerinde mitokondri elektron taşıma zincirinde inflamasyon, yüksek O₂ konsantrasyonu ve hatalı elektron transferidir. Çevre kirliliği, sigara içme, kronik inflamasyon, fizyolojik ve duygusal stres gibi dışsal faktörler de ROS üretiminin artmasına katkıda bulunur (Poljsak 2011; Poljsak ve Milisav 2012). Oksidatif stresin neden olduğu biyomoleküllerin tamirindeki bir kusur, yaşlanma sürecini hızlandırabilir (Maynard, Schurman, Harboe, De Souza-Pinto ve Bohr, 2008). Memeli hücrelerinde bulunan peroksizomlar, süperoksit radikalleri, hidroksi radikalleri ve H₂O₂ gibi farklı ROS türlerini üreten birkaç oksidaz barındırır (Demarquoy ve Le Borgne, 2015). Memeli peroksizomları, peroksizomal oksidazlar tarafından üretilen

aşırı ROS'ların uzaklaştırılmasından sorumlu olan, CAT, MnSOD, Cu/Zn SOD, peroksidoksin I, epoksit hidrolaz, PMP20 ve glutatyon peroksidaz gibi çeşitli antioksidan enzimleri barındırır (Fransen ve diğerleri, 2012; Lismont, Nordgren, Van Veldhoven ve Fransen, 2015). Peroksizomal antioksidan enzim CAT, H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 dönüştürerek temizleyen bir enzimdir (Glorieux ve Calderon Pedro, 2017). Peroksiredoksin 5; H_2O_2 miktarını azaltabilir ayrıca alkil hidroperoksitleri kendi alkollerine dönüştürür (Knoops, Goemaere, Van der Eecken ve Declercq, 2011). Ayrıca peroksizomal peroksiredoksin 5; H_2O_2 ve lipid hidroperoksit tarafından üretilen oksidatif strese karşı sitoprotektif bir işlev gösterir (Walbreccq ve diğerleri, 2015). GSH ve C vitamini gibi antioksidanların, peroksizomal redoks durumunun düzenlenmesinde önemli rolü vardır (Lismont ve diğerleri, 2015). Antioksidan enzim PMP20 eksikliği oksidatif stresin artmasına neden olur. PMP20 bulunmayan hücrelerde peroksizomal proteinlerin sitoplazmaya sızdığı ve lipid bileşiminde değişiklik olduğu gözlenmiştir. Ayrıca PMP20 hücrelerinin nekrotik hücre ölümüne daha yatkın olduğu bildirilmiştir (Aksam ve diğerleri, 2008). CAT'ın kimyasal inhibitörü olan 3-AT kullanılan çalışmalar, CAT'ın inhibe edilmesinin yaşlanmada rolü olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca bu çalışmalarda, mitokondriyal membran potansiyelinde azalma ve artan mitokondriyal ROS seviyeleri rapor edilmiştir (Koepke ve diğerleri, 2007). Genetik olarak kodlanmış redoks duyarlı sensörler ve modülatörler, peroksizom ve mitokondri arasındaki redoks ilişkisini anlamak için kullanılmıştır (Wang ve diğerleri, 2013). Peroksizomların içinde üretilen ROS, mitokondrinin oksidatif durumunu değiştirir ve mitokondriyal parçalanmaya ve hücre ölümüne sebep olur (Ivashchenko ve diğerleri, 2011; Wang ve diğerleri, 2013).

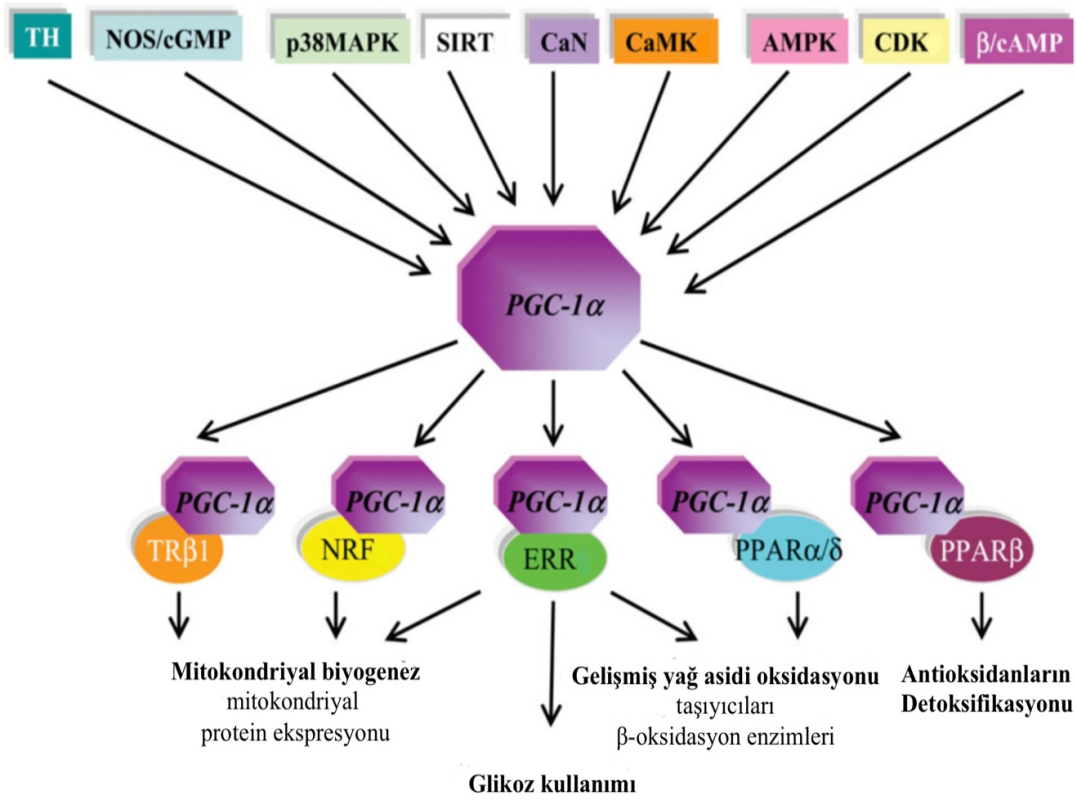
Oksidatif stres, yaşlanma ve yaşlanma ile ortaya çıkan hastalıklarla yakından ilişkilidir (Dai, Chiao, Marcinek, Szeto ve Rabinovitch, 2014). Nöron kültürü çalışmaları, artan H_2O_2 seviyelerinin hücre içi $A\beta$ 'yı arttırdığını göstermektedir. Artan $A\beta$, moleküler O_2 üretimine ve hücresel demir (Fe^{+2}) ve bakır (Cu^{+2}) kullanarak O_2 'in H_2O_2 'ye dönüşümüne neden olmaktadır. $A\beta$ birikimi hücrede kalsiyum (Ca^{+2}) artışına sebep olmakta ve hücre zarında Ca^{+2} 'a duyarlı porlar açarak membran yapısını bozmaktadır. $A\beta$ 'nın beyin dokularındaki aşırı birikimi oksidatif strese neden olarak hücre içi organellere zarar vermektedir. Alzheimer hastalarının beyinlerinde etkilenen bölgelerin çekirdek ve mitokondri DNA'ları oksidatif hasara uğramaktadır (Wang ve diğerleri, 2014).

Mitokondri ve peroksizomlar ROS üretiminde önemli iki organeldir (Cipolla ve Lodhi, 2017; Schrader, Costello, Godinho ve Islinger, 2015). Aynı zamanda, her iki organel de kendi ROS süpürücü enzimlerine sahiptir. Mitokondri ve peroksizomlar metabolik olarak bağlanır, çünkü yağ asidi β -oksidasyonu gibi ortak yolları paylaşırlar. İki organel de ROS homeostazına ve işlevsel olmayan organellerin klirensine göre düzenlenir. Peroksizomlar ROS'un hem kaynağı hem de işleme merkezidir ve karaciğer ve beyin gibi metabolik olarak aktif olan dokularda oksijen tüketiminin ve ROS üretiminin (%35'e kadar) büyük bir kısmını oluşturur (Boveris, Oshino ve Chance, 1972; Duve ve Baudhuin, 1966). İnsan hücrelerinde, mitokondri ve peroksizomlar farklı yağ asidi oksidasyon yollarında iş birliği yaparlar. Kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunun, ilk adımı mitokondriyal elektron taşıyıcısına bağlanmış, açıl-CoA dehidrojenazlar tarafından katalize edildiği için peroksizomlarda değil mitokondride β -oksidasyonla oksitlenerek gerçekleştirilir. Bununla birlikte, daha uzun zincir uzunluklarına (>C20) veya dikarboksilik yağ asitlerine sahip yağ asitleri, peroksizomal β -oksidasyon yolu ile bozunmalıdır (Reddy ve Hashimoto, 2001).

Peroksizomların sağlıklı bir redoks dengesinin korunmasındaki önemi, normal bir peroksizomal fonksiyon ve biyogenez ile etkileşime girme durumlarına bağlıdır. Peroksizomal proliferatörlerin uzun süreli aktivasyonu sonucunda peroksizomal biyogenezin yapay olarak uyarılması; ROS üreten peroksizomal enzimlerin kompanse edilememesi nedeniyle oksidatif karaciğer hasarına ve genel olarak ROS dengesizliklerine neden olur (Kasai, Okada, Nishimura, Rao ve Reddy, 1989; OBrien, Twaroski, Cunningham, Glauert ve Spear, 2001; Reddy ve diğerleri, 1986). Bununla birlikte, uyarılmış peroksizomal proliferasyonun murin nöronlardaki ROS seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (Diano ve diğerleri, 2011). Ayrıca, peroksizomların kaybı serebellum ve nörodejenerasyondaki apoptotik hasarı arttırmaktadır (Hulshagen ve diğerleri, 2008; Krysko ve diğerleri, 2007). İnsan CAT aktivitesindeki eksiklik diyabet, kanser veya ateroskleroz gibi yaşlanma ile ilişkili hastalıklara yatkınlığı arttırmaktadır (Gothand ve Eaton, 2000). CAT seviyelerinin azalması veya fonksiyonunun kaybolması, peroksizomların metabolik aktivitesine bağlı olarak yaşlanmayı hızlandırır ve yaşam süresini değiştirir (Kawalek, Lefevre, Veenhuis ve Klei, 2013; Petriv ve Rachubinski, 2004). Bu nedenle, hücrel oksidatif stres ve peroksizomal (mitokondriyal ile birlikte) aktivite, hücre sağ kalımı ve sağlığı için önemlidir (Bonekamp, Volkl, Fahimi ve Schrader, 2009; Schrader ve Fahimi, 2006).

APP'nin β - ve γ -sekretaz tarafından bölünmesi, $A\beta$ ve APP hücre içi alan (AICD) peptidlerini üretir. Presenilin 1 veya 2 γ -sekretaz kompleksinin katalitik bileşenidir. Mitokondriyal fonksiyon bozuklukları, AH için belirgin bir olgudur. Ancak bu sürecin başlamasında rolü olduğu düşünülen ve mitokondri için uzun zincirli yağ asitlerini düzenleyerek hazır hale getiren görevi olan peroksizomların katkısı ve presenilin 1, APP ve APP'nin bölünme ürünlerinin nedenleri ve rolü tam olarak bilinmemektedir. Metabolizma (ATP seviyeleri ve O_2 tüketimi) ve mitokondriyal proteinlerin ekspresyonu, mitokondriyal esas transkripsiyonel koaktivatör olan PGC1 α 'nın ve hedef genlerin ekspresyonuyla ilişkilendirilmektedir (Robinson ve diğerleri, 2014).

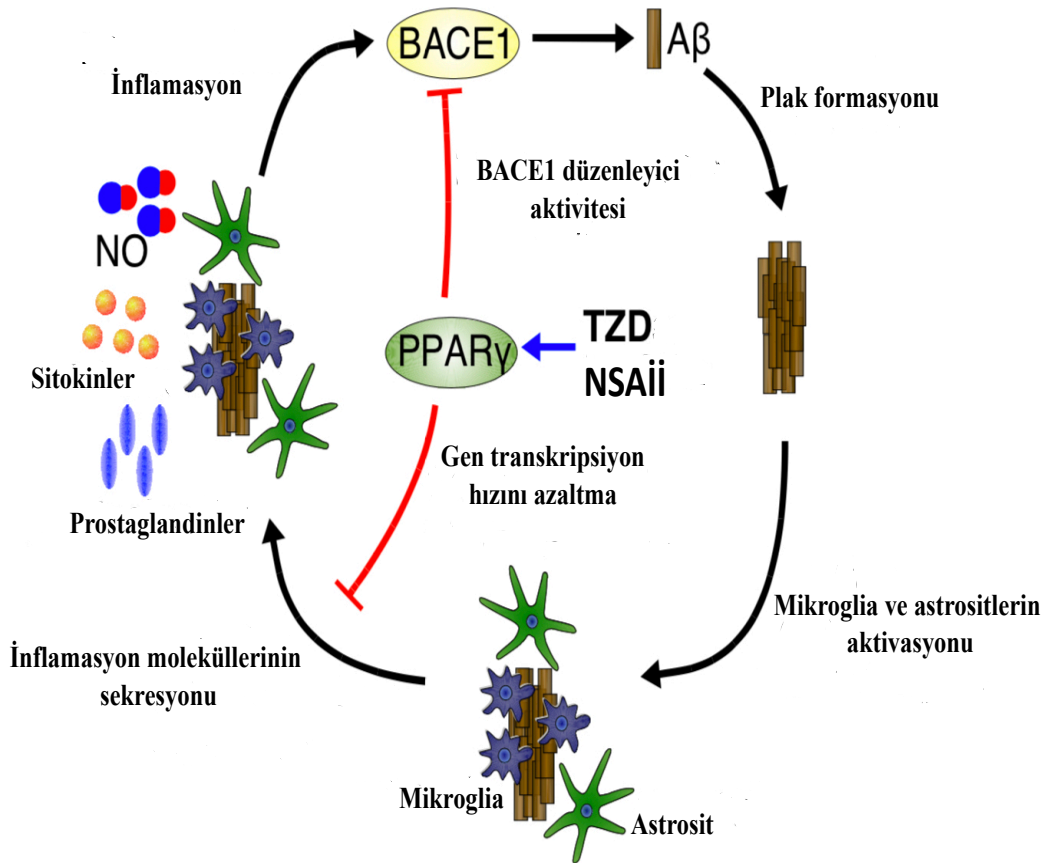
$A\beta$ birikimi ile tetiklenen patogenetik mekanizmalar; enerji ve metabolik homeostazın deregülasyonunu ve ilgili mitokondri ve peroksizomdan türetilen oksidatif stresi içerir. ROS ve lipid metabolizmasındaki bozulmalar; mitokondri ve peroksizomları içeren enerji homeostazının deregülasyonundan kaynaklanmaktadır. Üç izoform (β , α ve γ) içeren PPAR'ler hem mitokondriyal hem de peroksizomal biyogenezi ve fonksiyonu düzenler. PPAR koaktivatörleri arasında olan PGC1 α ; glukoz metabolizması, yağ asidi oksidasyonu, ROS süpürücü ve mitokondriyal/peroksizomal biyogenezi ve işleyişi de dahil olmak üzere fonksiyonların geniş bir dizisi için, kapsamlı olarak çalışılmaktadır. Defektif antioksidan savunma ve PGC1 α ekspresyonunun azalmasıyla eşlik eden nükleik asit oksidatif hasarı AH ile ilişkilendirilmektedir. Stres ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu oksidatif stres hipotezini desteklemektedir. ROS erken salınımının amiloidojenik APP işlenmesini teşvik ettiği yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur. PGC1 α AH'de; oksidatif strese karşı koruma sağlayarak nöronal hücre hasarını önleyebilir, mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu iyileştirebilir, insülin direncini azaltabilir ve bilişsel bozulmayı hafifletebilir (Sweeney ve Song, 2016).



Şekil 2.8. PGC1 α düzenleyici kaskadı (Ventura-Clapier, Garnier ve Veksler, 2008)

TH, NOS/cGMP, p38MAPK, SIRT, CaN, CaMK, AMPK, CDKs ve β /cAMP; PGC1 α 'nın ekspresyonunu ve/veya aktivitesini düzenler. PGC1 α ise mitokondriyal biyogenez, yağ asidi oksidasyonu ve antioksidan mekanizmalar dahil olmak üzere enerji metabolizmasının farklı yönlerini düzenlediği bilinen TR β 1, NRF, ERR ve PPAR'ler gibi transkripsiyon faktörlerini birlikte aktive eder. TH: Tiroid hormonu, NOS: Nitrik oksit sentaz, p38MAPK: p38 mitojenle aktive olan protein kinaz, SIRT: Sirtuin, CaN: Kalsinörin, CaMK: Kalsiyum-kalmodulin ile aktive olan kinaz, AMPK: Adenosin-monofosfatla aktive olan kinaz, CDK: Sikline bağımlı kinaz, β /cAMP: β -adrenerjik stimülasyon, TR β 1: Tiroid hormon reseptör beta 1, NRF: Nükleer solunum faktörü, ERR: Östrojenle ilgili reseptörler, PPAR: Peroksizom proliferatör aktivatör reseptör.

PGC1 α , TFAM (mitokondriyal transkripsiyon faktörü A) gibi mitokondriyal proteinleri kodlayan genlerin ekspresyonuna katkıda bulunan bir nükleer transkripsiyon faktörü olan NRF-1'in (nükleer solunum faktörü 1) aktivatörüdür. Ayrıca, PGC1 α , CAT, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidazı içeren ROS detoksifiye edici enzimleri indükleyerek ROS metabolizmasında rol oynar. AH gibi yaşlanma ve yaşa bağlı hastalıkların, nöronal hücrelerde mitokondriyal biyogenez kapasitesini azalttığı gösterilmiştir. A β 'nin intrahipokampal enjeksiyonunun PGC1 α , NRF-1 ve TFAM protein seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (Arsalandeh ve diğerleri, 2015; Shaerzadeh, Motamedi, Minai-Tehrani ve Khodaghali, 2014).



Şekil 2.9. PPAR γ 'nın metabolizma üzerindeki etkileri (Heneka, Reyes-Irisarri, Hüll ve Kummer, 2011)

A β 'nin aşırı üretimi veya yetersiz klirensi, birikmesine ve sonuç olarak da amiloid plakların oluşumuna yol açar. Bu süreç, AH'nin enflamatuar fenotipini geliştiren NO, sitokinler ve prostaglandinler gibi proinflatuar moleküllerin sekresyonuna cevap olarak astrositlerin yanı sıra mikroglia aktivasyonunu da tetikler. Ayrıca, sitokinler BACE1 aktivitesini artırabilir ve böylece A β üretimini uyarırlar. PPAR γ agonistleri, proinflatuar moleküllerin üretimini baskılayarak veya BACE1 gen promotöründe PPAR'nin bir PPRE'ye bağlanmasına doğrudan müdahale ederek her iki etkiyi de azaltabilir. TZD: Tiazolidindion, NSAİİ: Nonsteroid antiinflatuvar ilaç.

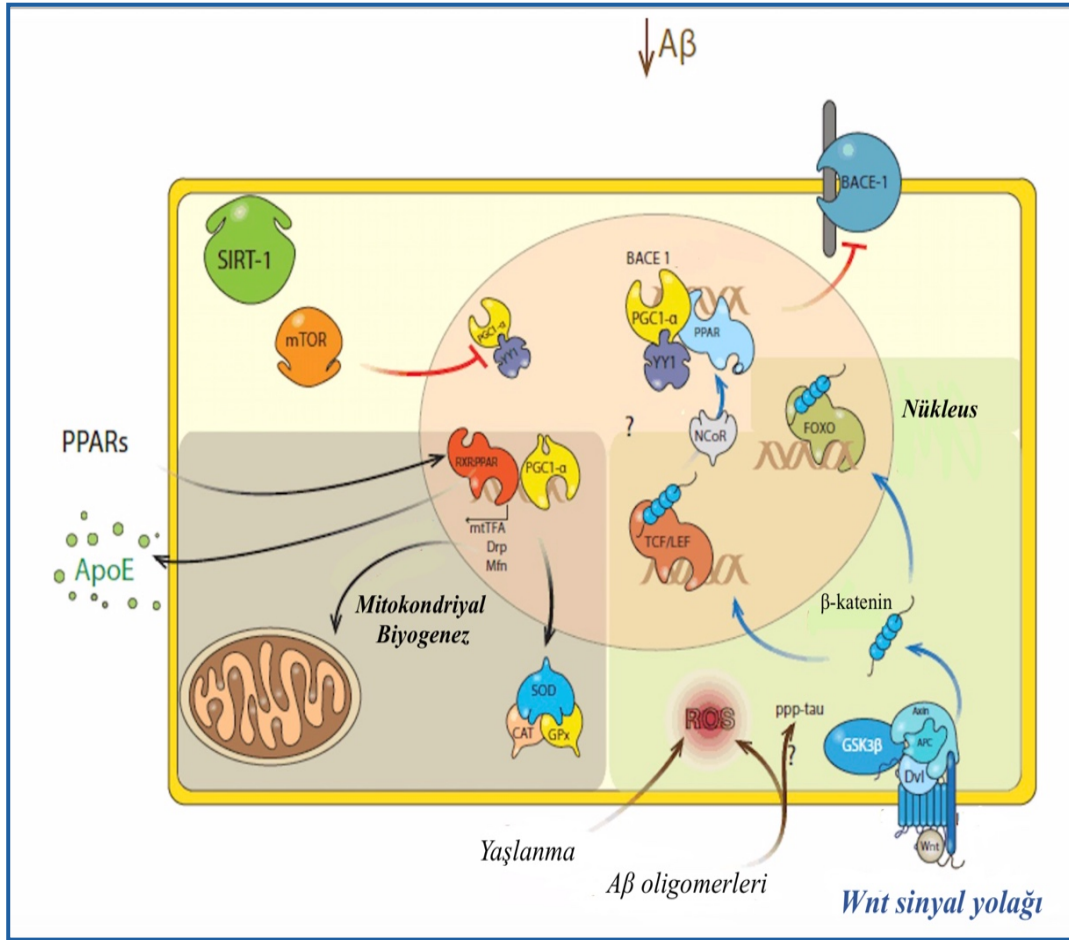
ROS metabolizmasında peroksizomların merkezi rolü son dönemlerde keşfedilmiştir. Aslında, peroksizomlar hem fizyolojik hem de patolojik koşullar altında ROS üretimine ve uzaklaştırılmasına katılırlar. Dahası peroksizomlar; çok uzun zincirli yağ asitlerinin β oksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitleri ve plazmalojenlerinin biyosentezi ve kalsiyum homeostazı gibi çeşitli katabolik ve anabolik fonksiyonlarla ilgilidir. Yakın zamanlı çalışmalar, peroksizomların hücre içi sinyal bölmeleri olarak işlev gördüğünü ve hücreden önemli gelişimsel kararları düzenleyen platformlar oluşturduğunu ortaya koymuştur. Bu dinamik ve çok yönlü organeller, hücresel ortamdaki fizyolojik ve patolojik değişikliklere

morfolojilerini adapte ederek, sayı ve enzim içeriğini buna göre belirler. Peroksizomal fonksiyon bozukluğunun yaşa bağlı dejeneratif hastalıklarda olduğu gibi hücresel yaşlanmaya bağlı olduğu gösterilmiştir. Peroksizomların insan AH'deki potansiyel rolü, son zamanlarda lipid metabolizması ile ilişkili olarak ileri sürülmüştür.

Peroksizomlar özellikle AH'nin ilk evrelerinde görev alırlar. Özellikle, peroksizom popülasyonunun büyüklüğü ve fonksiyonları, ligandla aktive edilen transkripsiyon faktörleri sınıfı (PPAR'ler) tarafından düzenlenir. Bunların arasında, doğrudan peroksizom indüksiyonunda yer alan, yaşa bağlı inflamasyonda nöroprotektif bir rol oynayan ve bellek konsolidasyonunu (birleştirmeyi) arttıran PPAR α ; AH üzerinde oldukça etkin rol oynamaktadır. Bu bağlamda şuna değinmek gerekir ki: PPAR α spesifik agonistleri in vitro A β -aracılı toksisiteye karşı nöroprotektif bir etki sergiler. Ayrıca PPAR α ile sinerjizmi ve peroksizomal yeniden modelleme ve biyogenezinde rol oynayan PPAR γ koaktivatörünün (PGC1 α) ekspresyonu da oldukça önemlidir. PPAR beyinde fizyolojik koşullar altında düşük seviyelerde ifade edilir. Son zamanlarda yapılan, ayrıntılı gen ekspresyon analizi, AH hastalarında PPAR mRNA seviyelerinin yükseldiğini göstermiştir (De la Monte ve Wands, 2006). Epidemiyolojik çalışmalar, NSAİİ (Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç) tedavisinin AH riskini %80'e kadar azalttığını göstermiştir ve bu ilaçların etkisini PPAR'leri uyararak ve beyindeki inflamatuvar yanıtları inhibe ederek ortaya koyduğu öne sürülmüştür (Heneka, Landreth ve Feinstein, 2001; Lehmann, Lenhard, Oliver, Ringold ve Kliewer, 1997). Ayrıca mikrogial hücrelerde PPAR aktivasyonu; inflamatuvar sitokin ekspresyonunu, İNOS ekspresyonu ve NO üretimini baskıladığı gibi, COX-2'yi ve dolayısıyla prostanooidlerin oluşumunu da inhibe eder (Combs, Johnson, Karlo, Cannady ve Landreth, 2000).

Memeli peroksizom zarlarının önemli bir bileşenini oluşturan PMP70, aynı zamanda peroksizom popülasyonunun genel boyutu için iyi bir belirteç olarak düşünülür. Yapılan bir çalışmada; 18 aylık transgenik fare AH modelinde hipokampustaki PMP70 ve PEX14 oranında artış gözlenmiş ve bu hipokampal dokuda peroksizom sayısında global bir artış olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Yapılan bu çalışmada önemli bir peroksizomal enzim olan CAT seviyesinde artma veya azalma gözlenmemiştir (Fanelli ve diğerleri, 2013). PEX14, membran bağlantılı peroksin olup, matriks proteinlerinin peroksizomal taşınımına katılır ve bu nedenle peroksizom sayısı için güvenilir bir belirteç olarak düşünülür.

Peroksizomal yetmezlik durumunda; defektli enzimler nedeniyle çok uzun zincirli yağ asitleri oluşur ve asidoza bağlı metabolik rahatsızlıklar meydana gelir ya da etkilenen hücrelerde anormal yağ birikimi oluşumu görülür. Yağ asitlerinin β -oksidasyonunun bozulması ile beyin, medulla spinalis ve sürrenal bezde anormal lipid birikimi olur; bunun sonucunda demans (bunama) gelişimi gözlenir. Ayrıca ciddi kas zayıflaması ve santral ve periferik sinir sisteminin organizasyon bozukluğu da ortaya çıkabilir.



Şekil 2.10. SIRT1, PPAR, PGC1 α ve Wnt sinyal yolağı arasındaki ilişki (Godoy, Allard, Arrazola, Zolezzi ve Inestrosa, 2013)

SIRT1: Sirtuin 1, FOXO: Forkhead box subgroup o, mTOR: Mammalian target of rapamycin.

SIRT1/PPAR/PGC1 α eksenini ile Wnt yolağı gibi ana hücrel sinyalleşme yolları arasında önemli etkileşimler vardır. Hem yaşlanma hem de A β ; hücrel oksidan/antioksidan dengesizliğe yol açarak AH patogeneğinde kritik bir rol oynar. Çünkü artan ROS üretimi normal hücre fizyolojisini etkiler. SIRT1, yaşlanma ve nörodejenerasyona karşı, özellikle A β tarafından indüklenen hasara karşı olağanüstü bir

aktiviteye sahiptir. Elde edilen bilgilere göre, SIRT1 en az iki yakın ilişkili mekanizmayı izleyerek hareket etmelidir. İlk mekanizmada; SIRT1, RXR-PPAR heterodimerinin transkripsiyonel bir yardımcı koaktivatörü olarak PGC1 α faktörünün alınmasına izin veren YY1/PGC1 α kompleksinden PGC1 α 'nın salınmasını indükleyerek mTOR üzerinde inhibitör bir etki gösterir. Öte yandan, SIRT1, kritik bir amiloidojenik enzim olan BACE1 ekspresyonunu, YY1 ve NCoR gibi transkripsiyonel koreseptörlerin toplanmasına izin vererek ve A β seviyelerinin azalmasını sağlayarak engeller. SIRT1, BACE1 geninin promotor bölgesindeki PPAR, PGC1 α kompleksinin PPRE'ye bağlanmasını içeren bir mekanizma ile BACE1 ekspresyonunu down regüle edilir. Bu etkiler, SIRT1 yollarının tamamlayıcılığını ve belki de eşzamanlılığını kanıtlar. Ayrıca, artan antioksidan aktivite (SOD/CAT/GPx), mitokondriyal koruma (DRP1/Mfn /mtTFA) ve artan A β -temizleme anahtar proteini olan APOE ekspresyonunu içeren RXR:PPAR transkripsiyonel aktivitesinin sonucunda SIRT1 yolları tamamlanmış olabilir. Bunlara ek olarak, ROS'un Wnt sinyalleşme yolağını bozabileceği, Wnt yolunun efektör molekülü β -katenini yöneten, Tcf/Lef'den FOXO'ya, hücre proliferasyonunu (Wnt) durdurabileceği ve hücre yaşlanmasını (FOXO) teşvik edebildiği ileri sürülmüştür. Bu noktada, antioksidan aktivite artışı ve SIRT1 aktivitesinin neden olduğu mitokondriyal sağlık, ROS seviyelerinin düşmesine neden olarak Wnt sinyal yolağının bozulmasını önler. NCoR; Wnt, hedef gen transkripsiyonel ortak baskılayıcısı olarak tanımlanmıştır. YY1/NCoR ifadesinde SIRT1'in NCoR'u yeniden yönlendirmesi ile Wnt hedef genleri ifadesinde bir artışa neden olabilir (Godoy, Allard, Arrazola, Zolezzi ve Inestrosa, 2013).

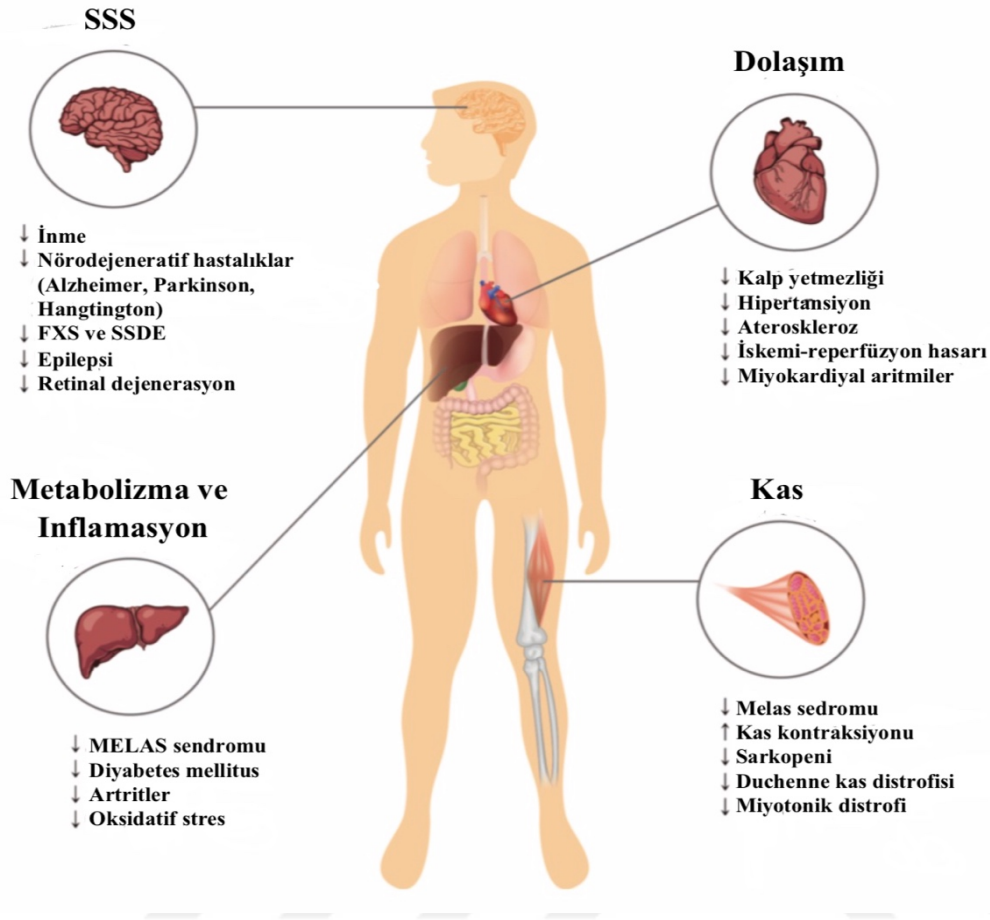
2.3. Taurin

Geniş spektrumlu bir hücre koruyucu ajan olan taurin (2-aminoetansülfonik asit), protein sentezinde kullanılmayan, ancak serbest veya basit peptitlerde bulunan, şartlı esansiyel bir amino asittir. Taurin ilk olarak 1827 yılında Avusturyalı bilim insanları Friedrich Tiedemann ve Leopold Gmelon tarafından boğa safrasından elde edilmiştir (Demarcay, 1838; Tiedemann ve Gmelon, 1827). Ancak 1975 yılına kadar taurinin insan beslenmesindeki önemi tanımlanamamıştır. 1975 yılında bebek mamaları ile beslenen yeni doğan bebeklerin, normal plazma veya idrar taurin seviyelerini koruyamadıkları tespit edilmiştir (Raiha, Rassin, Heinonen ve Gaull, 1975). Taurin, amino asit olarak adlandırılmaktadır. Ancak taurin molekülü, diğer amino asitlerde bulunan karboksilik asit kısmı yerine bir sülfonik asit grubu içermektedir. Hücre hacminin düzenlenmesinde rol

oynayan organik bir osmolit olan taurin, safra tuzlarının oluşumu için bir substrat sağlar ve hücre içi serbest kalsiyum konsantrasyonunun modülasyonunda rol oynar (Lombardini, 1983; Voss, Pedersen, Christensen ve Lambert, 2004). Beyin ve omurilik, lökositler, kalp ve kas hücreleri, retina gibi birçok dokuda en bol miktarda bulunan serbest amino asitlerden biridir (Huxtable, 1992). Beyin ayrıntılı incelendiğinde test edilen beynin her bölgesinin taurin içerdiği gösterilmiştir; buna pineal bez (Omura, Hach, Furukawa, Ueck ve Lake, 1997), pons, medulla (Agrawal, Davison ve Kaczmarek, 1971), hipokampus (Junyent ve diğerleri, 2011), striatum (Fordahl ve diğerleri, 2010), ve serebellum (Chan-Palay, Lin, Palay, Yamamoto ve Wu, 1982) dahildir.

Vücutta taurin, esansiyel bir amino asit olan metiyoninden ve ilgili esansiyel olmayan amino asit sisteinden sentezlenir. Taurinin sisteinden sentezi için bilinen üç yol vardır. Üç yolun tamamı kofaktör olarak B6 vitamininin aktif koenzim formu olan piridoksal-5-fosfat gerektirir. B6 vitamininin eksikliği taurin sentezini bozar (Bridsall, 1998; Shin ve Linkswiler, 1974).

Solunum zinciri aktivitesini düzenlemek, katyon transportunu modüle etmek, inflamasyonu kontrol etmek, protein fosforilasyonunu değiştirmek ve ömrünü uzatmak gibi temel fizyolojik fonksiyonlara dahil olması nedeniyle taurin eksikliği ciddi patolojilere ve hücre ölümüne yol açabilir. Taurin, hücredeki temel olayları düzenlediğinden ve yaşam ve ölüm arasındaki dengeyi değiştirdiğinden taurinin fizyolojik işlevlerine ilgi artmıştır. Bu bulgular taurinin bebek mamalarında, besin takviyelerinde ve enerji içeceklerinde kullanılmasına ivme kazandırmıştır. Aynı zamanda potansiyel terapötik kullanımlarına yönelik araştırmaları teşvik etmiştir (Schaffer ve Kim, 2018). Taurin kas metabolizmasını ve gen ekspresyonunu henüz belirsiz mekanizmalar yoluyla kontrol edebilir. Çeşitli patolojik durumlarda iskelet kası işlevini ve performansını geri kazandırma potansiyeline sahiptir (De Luca, Pierno ve Camerino, 2015). Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar, diyabet komplikasyonlarının hem önlenmesi hem de tedavisi için taurinin yararlı olacağını göstermektedir (De la Puerta ve diğerleri, 2010).



Şekil 2.11. Patolojilere ve hastalıklara karşı taurin aracılı koruma (Schaffer ve Kim, 2018)

Hücrelerde yüksek taurin konsantrasyonları, uyarılabilir dokuların ve mitokondrinin fizyolojik işlevini düzenler. Taurin, endoplazmik retikulum stresini azaltarak ve GABA_A, glisin ve NMDA'nın nörotransmitter reseptörlerini antagonize ederek SSS'yi korur. Kardiyovasküler sistemin taurin tarafından korunması; Ca⁺² transportu, ROS üretimi ve protein fosforilasyonu gibi fonksiyonlarla hücre sinyalleşmesinin düzenlenmesi yoluyla gerçekleşir. Taurin, kademeli olarak kas kaybını en aza indirir ve yaşlılarda sarkopeniyi önler. SSS: santral sinir sistemi, FXS: Frajil X sendromu, SSDE: Süksinik semialdehit dehidrojenaz eksikliği, MELAS: Mitokondriyal ensefalomiyopati, laktik asidoz ve inme benzeri epizodlar.

Koruyucu ve terapötik etkilerine ek olarak, taurin normal bir gelişim süreci için gereklidir. Genetik olarak TauT nakavt farelerde yapılan çalışmalarda; uygun taurin alımı olmadan, hücre dejenerasyonunda, mitokondrilerde, miyokard ve iskelet kası gelişiminde fonksiyonel bozukluklar görülmüştür. Ayrıca ventriküler duvar kalınlığında artış ve kardiyak atrofi gibi doğum kusurları yaşandığı ortaya konulmuştur (Ito ve diğerleri, 2008).

Taurin ayrıca beyin gelişiminde kritik bir rol oynar. Taurin eksikliğinin, kedilerde ve maymunlarda; serebellum, piramidal hücreler ve görsel kortekste hücre farklılaşması ve göçünde gecikmeye yol açtığı ortaya konulmuştur (Maar, Moran, Schousboe ve Pasantes-Morales, 1995; Sturman, Moretz, French ve Wisniewski, 1985). Ayrıca, taurinin sadece

embriyonik beyinde değil, yetişkin beyin bölgelerinde de nöral gelişimi desteklediği gösterilmiştir. Yetişkin olfaktör bulbusundaki yüksek taurin içeriği göz önüne alındığında, taurinin nörogenez için önemli bir faktör olması muhtemeldir (Hernández-Benítez, Pasantes-Morales, Saldaña ve Ramos-Mandujano, 2010; Hernández-Benítez, Ramos-Mandujano ve Pasantes-Morales, 2012). Taurin miktarındaki azalma, birçok dokudaki yaşlanma sürecine eşlik eder. Beyin taurin seviyelerinin azalması bilişsel eksikliklerle, kronik taurin uygulanması hafıza kazanımı ile ilişkilendirilmektedir. Yapılan bir çalışmada genç, yetişkin ve yaşlı sıçanlar kullanılarak, taurinin yaşlanma sırasında değişip değişmediğine bakılmıştır. Yapılan bu çalışmada hem beyin bölgeleri (serebellum, korteks ve hipokampus) hem de beyin dışı dokular (kalp, böbrek, karaciğer ve plazma) incelenmiştir. Taurin, yetişkin ve yaşlı sıçanların serebellumunda azalmış, ancak hipokampus, korteks, kalp ve karaciğerde değişmeden kalmıştır. Bu sonuçlar, taurin takviyesinin yararlı etkilerinin, taurin depolarının yenilenmesinden bağımsız olabileceğini göstermektedir (Suarez, Munoz, Rio ve Solis, 2016). Yapılan başka bir çalışmada ise 16 hafta boyunca oral gavaj yoluyla günde bir kez uygulanan taurinin, antioksidan enzimlerin ve asetilkolinesterazın aktivitesindeki bozulmaları hafiflettiği, oksidatif stres ve beyin lipoperoksidasyonunu, nöronal dejenerasyonu önlediği ve nöroprotektif olduğu gösterilmiştir (Akande, Aliu, Ambali ve Ayo, 2014).

Taurin ile ilgili belki de en gizemli soru, bir nörotransmitter olup olmadığıdır. Taurin, SSS nöronlarına uygulandığında, ateşlenme hızlarına azaltıcı bir etki gösterir (Curtis ve Watkins, 1965). Buna ek olarak, sıçanlarda beyin kortikal dilimleri elektriksel olarak uyarıldığında, kalsiyuma bağımlı hızlı bir taurin akışının olduğu gösterilmiştir (Davison ve Kaczmarek, 1971a, 1971b, 1972). Ayrıca, taurin antagonisti TAG (6-amino-metil-3-metil-4H, 1,2,4-benzotiadiazin-1,1-dioksit), glisine benzer bir şekilde omurilik depolarizasyonunu bloke eder (Yarbrough, Singh ve Taylor, 1981). Üstelik, eşdeğer miktarda taurin ve GABA'nın, beyin sapı nöronlarının ateşlenme hızını neredeyse eşit şekilde düşürdüğü gösterilmiştir (Haas ve Hosli, 1973). Bu bulgular taurinin aslında bir nörotransmitter olduğu görüşüne katkıda bulunur. Taurin ile ilgili önemli bir bilgi eksikliği vardır. Taurinin nörotransmitter olabilmesi için gerekli olan bir kriteri daha sağlaması gereklidir ki o da postsinaptik hücrelerde taurine özgü bir reseptörün varlığı gösterilmelidir (Ripps ve Shen, 2012). Reseptörü henüz tam olarak gösterilememiş olsa da literatürde taurinin, NMDA reseptörü ile çoklu mekanizmalarla doğrudan etkileşime girdiğini gösteren (Chan ve diğerleri, 2014) ve Mlp24'ün en yakın homoloğu olan Mlp37nin, serin,

arginin ve diğer amino asitlerin yanı sıra taurin için bir kemoreseptör olarak hizmet ettiğini gösteren (Nishiyama ve diğerleri, 2016) kısıtlı sayıda çalışma vardır.

Taurinin insanlarda ve deney hayvanlarında kullanımının olumlu etkileri olduğu çok sayıda çalışma ile doğrulanmıştır. Bununla birlikte taurinin olumlu etkileri için optimal doz aralığı; yaşa (ve belki cinsiyete), uygulama yoluna, kullanılan süreye, deney hayvanının türüne, çalışmanın koşullarına göre değişiklik gösterebilir (Dinçer ve Aslan Karakelle, 2019). Yapılan bir çalışmada farelere ömürlerinin farklı dönemlerinde içme suyu ile taurin (400 mg/kg/gün) verilmiş ve hayat boyu taurin alan grupta görsel ayrımcılığı öğrenme süresi artmıştır. Bu çalışma perinatal ile erken postnatal dönemde taurin takviyesinin ileri yaşlarda öğrenmenin gecikmesine neden olabilecek “hassas bir dönem” olduğunu göstermektedir. Taurin takviyesinin zamanlaması öğrenmeyi etkilemektedir (Suge ve diğerleri, 2007). Ayrıca taurinin öğrenme ve anksiyete ile ilişkisini inceleyen çalışmalar taurinin uygulama şekli ile etkisinin değiştiğini ortaya koymaktadır. Akut taurin uygulaması anksiyeteyi azaltırken kronik taurin uygulaması anksiyeteyi arttırmıştır (El Idrissi ve diğerleri, 2009). Yapılan bir çalışmada akut ve kronik taurin uygulamasının korku üzerine etkileri incelenmiş ve kronik taurin uygulaması yapılan farelerde korkunun arttığı gözlenmiştir (Neuwirth ve diğerleri, 2013). Ayrıca fazla miktarda alınan taurinin kan basıncını ve kalp atış hızını artırdığı ve çarpıntıya neden olabileceği yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Baum ve Weiss, 2001)

2.3.1. Taurin ve oksidatif stres

Oksidatif stresin birçok hastalık üzerinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. ROS'ların aşırı üretimi ve vücutta yüksek oranda reaktif serbest radikallerin birikmesine yol açması; kardiyovasküler hastalıklar (Chen ve diğerleri, 2012), diyabete bağlı böbrek hasarı (Das ve Sil, 2012), inflamatuvar hastalıklar (Marcinkiewicz ve Kontny, 2014), fotoreseptörlerde ışıkla indüklenen lipid peroksidasyonu (Pasant-Morales ve Cruz, 1985), reperfüzyon hasarı (Aruoma, Halliwell, Hoey ve Butler, 1988) ve SSS'de ortaya çıkan birçok patoloji ve hastalığı (Crompton ve Andreeva, 1993; Di Monte, Chan ve Sandy, 1992) tetikler. Bu patoloji ve hastalıkların birçoğunda taurinin, antioksidan aktivitesi sayesinde, apoptozun zayıflatılmasında çok önemli bir rol oynadığı ve sitoprotektan olduğu gösterilmiştir. Görünüşte alakasız hastalık gruplarındaki, bu patofizyoloji çeşitliliğine rağmen, oksidatif stresin mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olduğu konusunda artan bir fikir

birliği vardır (Crompton ve Andreeva, 1993; Cunha-Oliveira ve Cristina Rego, 2012; Das ve Sil, 2012; Di Monte, Chan ve Sandy, 1992; Perfeito, Menzie, Pan, Prentice ve Wu, 2014). Taurin kuvvetli antioksidan özelliklere sahiptir (Aruoma ve diğerleri, 1988; Chen ve diğerleri, 2012; Marcinkiewicz ve Kontny, 2014). Ayrıca taurin; elektron taşıma zincirini stabilize ederek ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyerek, mitokondriyal fonksiyonu iyileştirme kabiliyetine sahiptir (Jong, Azuma ve Schaffer, 2012; Schaffer, Azuma ve Mozaffari, 2009). Diyabet vakalarında, endojen taurin seviyelerinde bir düşüş meydana geldiği bulunmuştur. Taurin eksikliği mitokondriyal olarak kodlanmış proteinlerin normal translasyonu için gereken solunum zinciri bileşenlerinin ekspresyonunu azaltır. Fonksiyonel olmayan solunum zinciri elektron donörlerini (vericilerini) biriktirir ve böylece elektronları solunum zincirinden oksijene yönlendirir ve bu süreçte süperoksit anyonu oluşturur. Taurin seviyesinin artması solunum zincirini geri kazandırır (Jong ve diğerleri, 2012). Yapılan bir çalışmada hücre kültüründe 72 saat boyunca farklı taurin konsantrasyonları (100, 200 ve 300 mg/l) ile taurin takviyesinin, hasarlı beyin hücrelerinde oksidatif stres, apoptoz ve inflamasyona karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Niu, Zheng, Liu ve Li, 2018).

2.3.2. Taurinin Alzheimer hastalığı ile ilişkisi

Endoplazmik retikulum stresi SSS’de taurinin hücre koruyucu etkilerinde önemli bir rol üstlense de bir başka önemli mekanizma, taurinin nöromodölatör etkinliğidir. SSS’deki toksisite yaygın olarak, uyarıcı ve inhibe edici nörotransmitterler arasında bir dengesizlik ortaya çıktığında görülür. Taurin, GABA_A, glisin ve NMDA reseptörlerinin zayıf bir agonisti olarak görev yapar. Akut taurin uygulaması GABA_A reseptörünü aktive ederken, kronik taurin takviyesi GABA_A reseptörünü inhibe eder. Taurinin akut ya da kronik uygulanması SSS üzerinde farklı etkiler gösterebilir (Chan ve diğerleri, 2013; El Idrissi ve LAmoreaux, 2008).

Genç beyinde bol miktarda bulunan taurin konsantrasyonunun yaşla birlikte azalması, nöroenezin azalmasına neden olabilir. Erişkin farelerde hipokampal nöroenez üzerine taurinin etkisi incelenmiş ve dentat girustaki hücre proliferasyonunu arttırdığı, yani erişkinlerde hipokampal nöroenez üzerinde faydalı olabileceği gösterilmiştir (Gebara ve diğerleri, 2015). Taurinin beyindeki kök ve progenitör hücre proliferasyonunda rol

oynadığı ve sinaps gelişimiyle ilişkili protein seviyelerini etkilediği de yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Shivaraj ve diğerleri, 2012).

Taurin beyinde nöromodülatör ve/veya antioksidandır. Taurinin in vitro ve in vivo olarak nöronal göçü direkt olarak etkilediği gösterilmiştir. Olgunlaşmamış SSS'deki çeşitli nöronal popülasyonlar için depolarize edici bir sinyal sağlar, böylece doğrudan nöronal aktiviteyi etkiler. Neokortekste, taurin nöronal aktiviteyi arttırırken olgunlaşmamış hipokampusta, aktiviteyi azaltmak için tonik bir taurinerjik ton gerekebilir. Taurin nöro-gelişimsel olayların temel bir modülatörü olarak düşünülmelidir (Kilb ve Fukuda, 2017). Hücre kültürü nöronlarında, glutamatın neden olduğu nöronal hasarı etkili bir şekilde önleyebildiği gösterilmiştir (Chen ve diğerleri, 2001; El Idrissi ve Trenkner, 1999; Tang, Deupree, Sun ve Wu, 1996). Ayrıca, taurinin, H_2O_2 'nin neden olduğu endoplazmik retikulum stresini azaltarak PC12 hücre kültürlerinde, H_2O_2 kaynaklı hücre hasarına karşı koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir (Pan, Giraldo, Prentice ve Wu, 2010). Taurin nöroprotektif fonksiyonlarını, hücre içi serbest Ca^{2+} konsantrasyonunu ve oksidatif stresi azaltarak gösterir (Chen ve diğerleri, 2001; Schaffer, Azuma, Takahashi ve Mozaffari, 2003). Taurin, anti-apoptotik protein Bcl-2 ve pro-apoptotik protein Bax oranını hücre sağ kalımı lehine değiştirebilir (Leon ve diğerleri, 2009).

Taurinin nöroprotektif işlevi aşağıdaki gibi özetlenebilir:

1. Taurin; L-, N- ve P/Q-tipi voltaj kapılı kalsiyum kanallarını ve glutamatın NMDA reseptörlerini, Na^+/Ca^{2+} değişimi dahil olmak üzere çeşitli kalsiyum kanallarından kalsiyum akışını inhibe ederek, glutamatın neden olduğu hücre içi Ca^{2+} artışını azaltır.
2. Taurin, voltaj kapılı kalsiyum kanallarının fosforilasyonunu inhibe ederek kalsiyum akışının azalmasına neden olur, ayrıca fosfolipaz C'nin inhibisyonu yoluyla mevcut depolama havuzlarından kalsiyum salınımını azaltır.
3. Taurin, glutamatın neden olduğu kalpain aktivasyonunu ve daha sonra Bcl-2 ve Bax proteininin heterodimerizasyonunu inhibe ederek sitokrom C salınımını ve apoptoz kaskadını inhibe eder. (Leon ve diğerleri, 2009; Wu ve Prentice, 2010).

Taurinin gelişmekte olan beyin üzerindeki etkileri hala incelenmektedir. Hayvan çalışmalarından elde edilen temel verilere göre, taurinin hem akut hemde kronik uygulamasının bildirilen olumsuz etkileri literatürde yer almaktadır (Curran ve Marczinski,

2017). Taurin homeostazındaki bozulmalar, Alzheimer, epilepsi ve otizm dahil olmak üzere birçok nörolojik hastalık çalışmasında bildirilmiştir (Fukuyama ve Ochiai, 1982; Junyent ve diğerleri, 2009; Kuwabara ve diğerleri, 2013). Taurin seviyeleri stres sonrasında beyinde artar (Huxtable, 1992). Taurin hücre volümünü düzenler, şişmiş hücrelerden salınarak hücrenin normal volümüne dönmesini sağlar. Bu değişiklik, travmatik beyin hasarı olan hastalarda gösterilmiştir. Hastaların beyin omurilik sıvısındaki taurin seviyeleri, neredeyse iki katına çıkmış ve yaklaşık 3 gün içinde kontrol değerlerine geri dönmüştür (Seki ve diğerleri, 2005). Taurinin potansiyel nöroprotektif etkilerini araştıran birçok çalışmada beyindeki taurin seviyelerinin yaşla birlikte önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (Ananchaipatana-Auitragoon ve diğerleri, 2015; Taranukhin ve diğerleri, 2012; Zhang ve diğerleri, 2017). AH'yi taklit etmek için icv streptozotosin uygulanan wistar ratlarda, 60 veya 120 mg/kg/gün taurin tedavisi sonucunda MST'de ve pasif kaçınma testinde daha az bilişsel bozulma gözlenmiştir (Reeta, Singh ve Gupta, 2017).

Asetilkolin nörotransmitterinin seviyesi, AH olan hastalarda aşırı derecede düşüktür. Bu yetersiz asetilkolin seviyelerinin hafıza kaybı ile ilgili olduğu tahmin edilmektedir (Alder, Chessell ve Bowen, 1995). Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, taurin uygulamasının beyindeki asetilkolin seviyesini arttırdığı bulunmuştur (Tomaszewski, Kleinrok, Zackiewicz, Gorny ve Billewicz-Stankiewicz, 1982). Araştırmacılar, Alzheimer hastalarının beyin omurilik sıvısında taurin konsantrasyonlarının azaldığını göstermiştir (Csernansky, Bardgett, Sheline, Morris ve Olney, 1996).

Taurin takviyesi, in vivo sinirsel çoğalma ve sinaptogeneze fayda sağlamaktadır (Shivaraj ve diğerleri, 2012). Taurin uygulamasının, mekansal öğrenme ve hafıza üzerinde iyileştirici etkileri vardır ve nöronları glutamata bağlı sitotoksiteye karşı korumakla kalmaz (Leon ve diğerleri, 2009), mitokondriyal zar potansiyelini de korur ve mitokondriyal ROS'daki artışı azaltır. Taurin eksikliği, yaşlanan farelerde endoplazmik retikulum stresi için patolojik bir rol oynar. Bu nedenle, taurin, normal mitokondriyal ve endoplazmik retikulum işlevi için gereklidir (Jong, Ito, Prentice, Wu ve Schaffer, 2017). Peroksizom proliferatör aktivatör reseptör- γ koaktivatör-1 α 'nın (PGC1 α) mRNA ve protein seviyelerini artırır. Ayrıca Akt-CREB-PGC1 α yolağını aktive ederek bilişsel işlevleri de önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir (Cao, Jin, Li, Zhou ve Yang, 2016; Jia ve diğerleri, 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deney hayvanları

Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay (16/08/2017 tarih ve 66332047-604.01.02-E.116581 sayılı karar) alındıktan sonra hayvan deneyleri Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (GÜDAM) başlatıldı. Çalışmada 30 adet yaşlı Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanların deney sürecinde bakımları GÜDAM tarafından sağlandı. Hayvanlar tek tek kafeslerde tutuldu. *Ad-libitum* pelet yem ve musluk suyu ile beslendi. Standart olarak yeme ve suya erişim sağlandı. 12:12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü uygulandı. Sıçanların bakımı standart laboratuvar koşulları altında yapıldı. Stereotaksik uygulama ve davranış testi uygulamaları GÜDAM'da gerçekleştirildi.

3.1.2. Kullanılan laboratuvar aletleri ve cihazlar

Çalışmada kullanılan Gazi Üniversitesi, Fizyoloji ve Tıbbi Biyoloji Araştırma Laboratuvarları'na ait donanımlar Çizelge 3.1'de marka/model özellikleri ile beraber listelenmiştir. Bu çizelgede Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'na ait cihazlar TB şeklinde gösterilmiştir.

3.1.3. Kullanılan kimyasallar ve antikorlar

Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler Çizelge 3.2'de ve Western blot yöntemi için kullanılan antikorlar Çizelge 3.3'de imalatçı firma, katalog numaraları gibi özellikleri ile listelenmiştir.

Çizelge 3.1. Laboratuvar donanımları

Alet/Cihaz Adı	Marka/Model
Stereotaksi Cihazı	Stoelting, USA
Hamilton Enjektör (700 series, 5 µl)	Hamilton
Cerrahi Malzemeler	-
Morris Su Tankı	- (TB)
Yükseltilmiş Artı Labirent	-
Kamera ve bilgisayar yazılım sistemi	- (TB)
Derin Dondurucu (-80 °C)	WiseCyro, Simplified Freezing System
Buzdolabı	Arçelik
Soğutmalı Santrifüj	MPW-350R
Hassas Tartı	SHIMADZU, AX200
Saf su/DI cihazı	MES, mpMINIpure
pH metre	Eutech Instruments, Singapur
Vorteks	VELP, Scientifica, Mixer
Doku Homojenizatörü	Sonics vibracell, VCX130FSJ
Spektrofotometre-Printer	EPSON, LX-300+
Elektroforez ve blotting cihazı	Mini protean system, BIO-RAD, Hercules, CA, USA
Güç kaynağı	Consort, E835, Electrophoresis Power Supply
Görüntüleme Sistemi	Kodak Gel Logic, 2200 Pro (TB)
Isıtıcı	Eppendorf, Thermomixer Compact
Isıtıcılı manyetik karıştırıcı	Assistent, TMA 2071
Çalkalayıcı (shaker)	Mini Rocker MR-1, BOECO
Etüv	Sanyo (TB)
Steril enjektör (1-5 ml)	Hayat, Türkiye
Otomatik mikropipetler (10,100,1000 µl)	GILSON, France ve Nichipet EX, Japan
Otomatik pipet uçları (10,100,1000 µl)	BioSorfa
ExactaCruzTM Yükleme pipet ucu (200 µl)	Santa Cruz
Falcon tüp (15, 50 ml)	BioSorfa
Eppendorf tüpleri (0,2-1,5 ve 2 ml)	BioSorfa

Çizelge 3.2. Kimyasal malzemeler

Kimyasal/malzeme adı	Katalog No	İmalatçı Firma
Sıvı gıda boyası (Koyu kahverengi)	SGB-1008	Suana Gıda, Türkiye
Amiloid beta protein fragmenti 1-42	A9810	Sigma-Aldrich, USA
Taurin	TAU303.1	BioShop Canada Inc.
Lizis Tamponu (RIPA Lysis Buffer System)	sc-24948	Santa Cruz Biotechnology, TX, USA
Sığır Serum Albumini (BSA)	ALB001.25	BioShop Canada Inc.
Pierce™ ECL Western Blotting Substrate	PI32106	Thermo Fisher Scientific, MA, USA
TRIS (Base)	TRS001.1	BioShop Canada Inc.
TRIS (HCL)	TRS002.1	BioShop Canada Inc.
Glisin	GLN001.1	BioShop Canada Inc.
Sodyum dodesil sülfat (SDS)	SDS001.100	BioShop Canada Inc.
Gliserol	GLY001.1	BioShop Canada Inc.
Acrylamide-Bis Solüsyon 40%, 29:1	BA005	IntronBio
Amonyum per sülfat (APS)	AMP001.100	BioShop Canada Inc.
Fosfat buffer salin (PBS) pH:7.4	PBS408.500	BioShop Canada Inc.
BLUeye prestained protein standard	PM007-0500	GeneDireX, Germany
β-mercaptoetanol	M6250	Sigma-Aldrich, Germany
Nitrosellüloz membran (0,45µm)	10600002	GE Healthcare Life Sciences, Germany
TEMED (Tetrametil-etilendiamin)	T9281	Sigma-Aldrich, Germany
Metanol	M106007	MERCK, Germany
Tween 20	P1379	Sigma-Aldrich, Germany
Coomassie brilliant mavisi-G	B1131	Sigma-Aldrich, Germany
Bromofenol mavisi	BRO222.5	BioShop Canada Inc.
Ponceau S.	PON001.10	BioShop Canada Inc.
Potasyum klorür (KCl)	4935	MERCK, Germany
Sodyum klorür (NaCl)	13423	Riedel-de Haen, Seelze, Germany

Çizelge 3.3. Antikorlar

Antikor	MA	Dilüsyon	Katalog No	İmalatçı Firma
PEX14 (anti-rabbit polyclonal)	41 kDa	1:1000	E-AB-36521	Elabscience Biotechnology Inc, USA
PMP70 (anti-rabbit polyclonal)	70 kDa	1:1000	SAP0497	Sigma-Aldrich Co. LLC, USA
CAT (anti-rabbit polyclonal)	58 kDa	1:750	SAB2105074	Sigma-Aldrich Co. LLC, USA
β-Actin (anti-rabbit monoclonal)	45 kDa	1:1000	CST4970S	Cell Signaling Technology Inc, The Netherlands
Goat anti-rabbit IgG-HRP	-	1:7500	R-05072-500	Advansta Inc, USA

3.1.4. Çalışmada kullanılan çözeltiler

Western blot yöntemi sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) için gerekli olan çözeltiler

Bradford metodu için hazırlanan çözeltiler

Bradford çözeltisi

- 100 mg coomassie brillant mavisi-G tartılır.
- 50 ml, %95'lik etanolde çözdürülür.
- 100 ml, %85'lik fosforik asit eklenir.
- Son hacim distile su ile 1 L'ye tamamlanır.

Jel dökümü için hazırlanan çözeltiler

SDS %10

- 1,5 g SDS tartılır.
- 15 ml'ye distile su ile tamamlanır.

APS %10

- 0,1 g APS tartılır.
- 1 ml'ye distile su ile tamamlanır.
- Günlük hazırlanması tercih edilir.

1M Tris HCl (pH:6,8)

- MA:121,14 g/mol
- 12,114 g tris base tartılır.
- 60 ml distile su ile çözülür.
- HCl ile pH ayarı yapılır.
- Son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

1,5 M Tris HCl (pH:8,8)

- MA: 121,14 g/mol
- 36,342 g tris base tartılır. 150 ml distile su ile çözülür.
- HCl ile pH ayarı yapılır.
- Son hacim 200 ml'ye tamamlanır.

Ayırma jeli (resolving gel) %10'luk (2 jel için 10 ml)

- 4 ml distile su
- 3,3 ml %40'luk Acrylamide/Bis solüsyonu
- 2,5 ml 1,5 M tris (pH 8.8)
- 100 µl %10'luk SDS
- 100 µl %10'luk APS
- 6 µl TEMED

Yığınlama jeli (stacking gel) %4'lük (2 jel için 5 ml)

- 3,075 ml distile su
- 0,67 ml %40'luk Acrylamide/Bis solüsyonu
- 1,25 ml 1,5 M tris (pH 8.8)
- 50 µl %10'luk SDS
- 25 µl %10'luk APS
- 5 µl TEMED

Yükleme, yürütme, transfer ve bloklama aşamaları için hazırlanan çözeltiler

%0,5 Bromofenol mavisi

- 0,05 gr bromofenol mavisi 10 ml distile su ile çözülür.
- Steril filtreden geçirilir.

Örnek tamponu (sample buffer) (2X, stok)

- 1,25 ml tris-HCl (0,5 M pH 6,8)
- 2,5 ml gliserol
- 2 ml %10'luk SDS

- 0,2 ml %0,5'lik bromofenol mavisi
- Toplam hacim distile su ile 9,5 ml'ye tamamlanır.
- Hazırlanan bu stok çözeltiden kullanımından hemen önce 950 µl alınır ve 50 µl β-mercaptoetanol ile 1 ml'ye tamamlanır.

Yürütme tamponu (running buffer) (10X, stok) (pH:8,3)

- 30,3 g tris base, 150,14 g glisin ve 10 g SDS tartılır.
- 600 ml distile su ile çözülür.
- pH ayarı yapılır.
- Son hacim 1 L'ye tamamlanır.
- 100 ml stok yürütme tamponu distile su ile 1 L'ye tamamlanır (1X).

Transfer tamponu (transfer buffer) (10X, stok) (pH:8,3)

- 30,3 g tris baz, 150,14 g glisin tartılır.
- 600 ml distile su ile çözündürülür.
- Son hacim 1 L'ye tamamlanır.
- 100 ml stok transfer tamponu ve 200 ml metanol, distile su ile 1 L'ye tamamlanır (1X).

Yıkama Tamponu (TBS-T; Tris Buffered Saline with Tween 20) (10X, stok) (pH:7,4)

- Tris Base mA: 121,14 g
- NaCl MA: 58,44 g
- 30 g tris base ve 80 g NaCl tartılır.
- 10 ml tween 20 eklenir.
- 800 ml distile su ile çözündürülür.
- pH ayarı yapılır.
- Son hacim 1 L'ye tamamlanır.
- 100 ml stok yıkama tamponu distile su ile 1 L'ye tamamlanır (1X).

Ponceau staining solüsyon %0,1

- 1 g Ponceau red tartılır.
- Distile su ile çözdürülür.
- 50 ml asetik asit eklenir.
- Son hacim 1L'ye distile su ile tamamlanır.
- Steril filtreden geçirilir.

%3 BSA

- 0,3 g BSA tartılır.
- 10 ml TBS-T ile çözülür.

%5 Süt Tozu

- 0,5 g süt tozu tartılır.
- 10 ml TBS-T ile çözülür.

Membran bloklama ve antikorlar için tampon çözelti

Transfer işlemi bitiminde tampon çözelti içinde membranların tamamı BSA veya süt tozu ile bloklanır. Membran bloklama, primer ve sekonder antikorlar için farklı yöntemler kullanılmıştır. İnkübasyon için antikorların dilüsyonu ve özelliğine göre süt tozu veya BSA ile denemeler yapılmıştır. Bu ön çalışmalar sonucunda PMP70 ve PEX14 primer antikoru için BSA, CAT primer antikoru için BSA ve süt tozu birlikte tercih edilmiştir.

Malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) tayini için gerekli olan çözeltiler

MDA tayini için hazırlanan çözeltiler

%10'luk TCA

- 10 g TCA tartılır.
- Distile su ile çözdürülür.

- 100 ml'ye tamamlanır.
- TCA çözeltisi hem MDA hemde GSH tayini için kullanılır.

%1'lik BHT (Butil hidroksi tolue)

- 1 g BHT tartılır.
- %95'lik etanol ile çözündürülür.
- 100 ml'ye tamamlanır.

TBA (Thiobarbitürik asit)

- 0,67 g TBA tartılır.
- Distile su ile çözündürülür.
- 100 ml'ye tamamlanır.

GSH tayini için hazırlanan çözeltiler

0,3 M Na_2HPO_4

- 8,5176 g Na_2HPO_4 tartılır.
- Distile su ile çözündürülür.
- 200 ml'ye tamamlanır.

DTNB

- Na sitrattan 1,3837 g tartılır.
- Distile su ile çözündürülür.
- 100 ml'ye tamamlanır.
- Üzerine 0,04 g DTNB eklenir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Araştırma planı ve deney grupları

Bu çalışmada ortalama 28 ± 4 aylık yaşlı 30 adet Wistar albino cinsi, erkek sıçan kullanıldı.

Hayvanlar beş gruba ayrıldı:

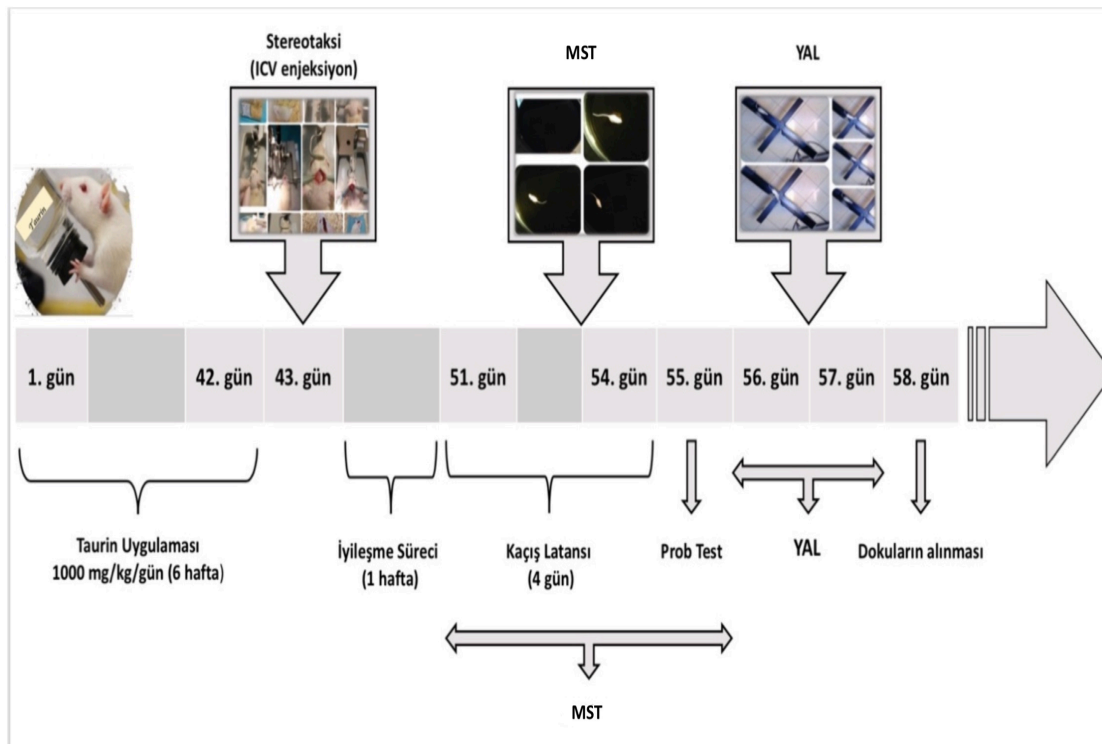
Grup 1: Kontrol grubu (6 adet)

Grup 2: icv fosfat buffer salin (PBS) enjeksiyonu yapılan sham grubu (6 adet)

Grup 3: icv A β 1-42 enjekte edilen grup (6 adet)

Grup 4: Taurin verilen ve icv PBS enjeksiyonu yapılan grup (6 adet)

Grup 5: Taurin verilen ve icv A β 1-42 enjekte edilen grup (6 adet)



Şekil 3.1. Yapılan hayvan deneyleri için zaman çizelgesi

ICV: İntraserebroventriküler, MST: Morris su tankı testi, YAL: Yükseltilmiş artı labirent testi

Taurin uygulaması 4. ve 5. gruba, stereotaksi uygulaması ve davranış analizleri bütün gruplara uygulanmıştır.

3.2.2. Taurin uygulaması

Taurin (2-aminoetansülfonik asit) (BioShop Canada Inc., TAU303.1) hayvanların içme suyuna 1000 mg/kg/gün dozunda eklenerek 6 hafta verildi (Grup 4 ve 5) (Kim ve diğerleri, 2014). Hayvanların içme suyuna (Sıçanların günlük içme suyu miktarı 10-12 ml/100 g/gündür.) eklenen günlük taurin dozunu (1000 mg/kg/gün taurin içeren 10-12 ml/100g/gün su) bitirip bitirmedikleri her gün kontrol edildi.

3.2.3. Stereotaksik uygulama

Amiloid beta 1-42

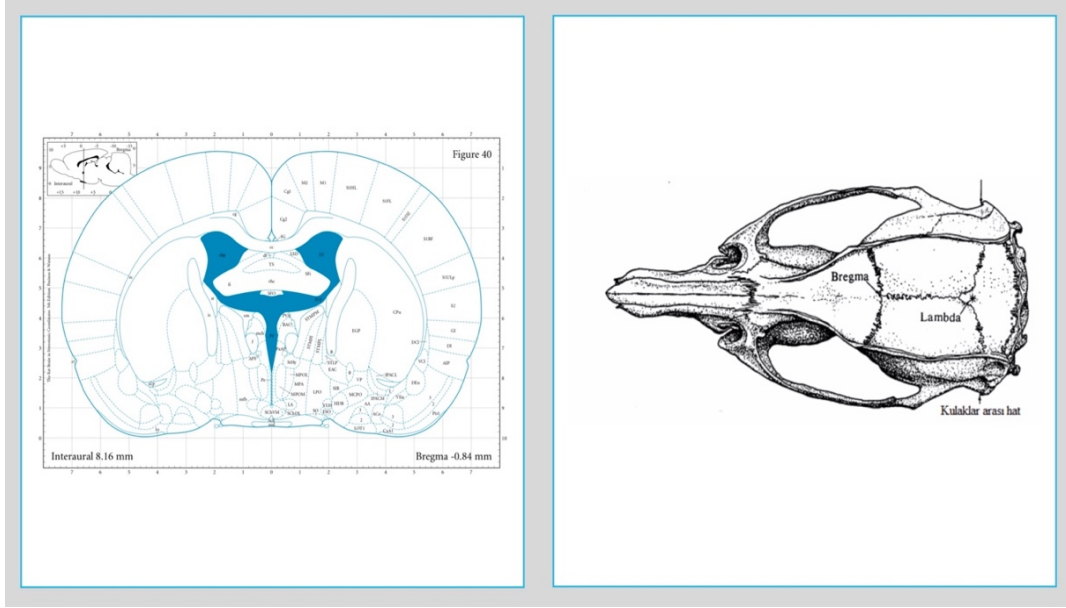
A β 1-42 (Sigma-Aldrich USA, A9810); 10 mM steril PBS (pH:7,4) (BioShop Canada Inc., PBS408.500) içinde seyreltildi ve bir hafta boyunca 37 °C’de inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra aliquotlanarak saklandı.

Taurin uygulamasının ardından sıçanlar intraperitoneal (ip) 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazin kombinasyonu ile anestezi edildikten sonra stereotaksik uygulamalar yapıldı. Grup 3 ve 5’e 10 μ l dozda (her bir lateral ventriküle 5 μ l olacak şekilde) icv A β 1-42 enjeksiyonu, Grup 2 ve 4’e aynı miktarda PBS enjeksiyonu yapıldı. Beyin içine A β ’nın akut enjeksiyonun nörodejenerasyon ve öğrenme/bellek bozukluğu ile karakterize bilişsel fonksiyon bozukluklarına neden olması beklenmektedir (Tran, Yamada ve Nabeshima, 2002). Stereotaksik cerrahi uygulamalarda sıçanlar ip 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazin kombinasyonu ile anestezi edildikten sonra zarar vermeden, dikkatli bir şekilde stereotaksi cihazında orta hat üzerine yerleştirildi. Kıl temizliği önceden yapıldı. Hayvanlar; kulak çubukları dış kulak yoluna oturacak, diş aparatı üst kesicileri kavrayacak ve kafa tavanı horizontal düzlemde olacak şekilde yerleştirildi. Hareketli elemanlar kulak ve çeneye zarar vermeyecek kadar sıkıştırıldı. Tespitten sonra kafanın hareket edip etmediği kontrol edildi. Böylece stereotaksik kafese hayvan sabitlenmiş oldu. Kafa derisi bistüri yardımıyla açıldı. İşlem yapılacak alanın periostu iyi temizlendi. Referans noktaları olan lambda ve bregma belirlendi (Resim 3.1).



Resim 3.1. Stereotaksik cerrahi girişim ve icv A β 1-42 enjeksiyonu

Stereotaksik koordinat atlası (Paxinos ve Watson, 2007: 456) kullanılarak belirlenen koordinatlara (Bregmadan 0,8 mm posterior, sagital suturdan 1,5 mm lateral, derinlik 3,8 mm) göre kafatası ince uçlu dril yardımı ile açıldı (Stereotaksik cerrahi girişim ile icv A β 1-42 uygulamasının gerçekleştirilmesi için ön çalışma yapılmıştır (n=3). Stereotaksik koordinatların uygunluğu, uygulama bölgesine metilen mavisi enjekte edildikten hemen sonra feda edilen hayvanlarda boyanın yayıldığı alanlar gözlenerek saptandı). İcv A β 1-42 enjeksiyonu Hamilton mikro enjektörü ile yapıldı. A β 1-42 enjeksiyonu 6 dakika boyunca infüze edildi ve infüzyon sonrasında şırınga kimyasalın absorpsiyonu için 5 dakika daha enjeksiyon yerinde bekletildi (Grup 3 ve 5) (Giovannini ve diğerleri, 2002). Grup 2 ve 4'teki sıçanlara ise aynı uygulama PBS verilerek yapıldı (Resim 3.1 ve Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Stereotaksik koordinatlar ve 290 g wistar rata ait kafatası diyagramı

Stereotaksik cerrahi girişimde icv enjeksiyon için kullandığımız koordinatlar ve referans olarak kullandığımız bregma ve lambda şeklinde görülmektedir (Paxinos ve Watson, 2007).

3.2.4. Davranış testleri

Cerrahiden sonra kafatası derisinin iyileşme süreci her gün kontrol edildi. Bu süreç çalışmamızda 7 gün sürdü. İyileşme sürecinden sonra hayvanlara davranış testi uygulamaları başladı. Bilişsel ve davranışsal işlev testleri her gün aynı saatte (10:00-12:30), aynı oda sıcaklığı (22 ± 4 °C) ve nem oranında (%50-70) gerçekleştirildi.

Morris su tankı (MST) testi

7-14 günlük iyileşme sürecinden sonra sıçanlar, öğrenme yeteneği ve uzamsal bellek fonksiyonlarının değerlendirilmesi için MST'de (Resim 3.2) deney protokolüne alındı. MST; su ile dolu pleksiglas havuz ve su seviyesinin altında kalan çıkarılabilir kaçış platformu labirentinden oluşur. Kaçış platformu bütün testler boyunca aynı kadranda sabit tutuldu. Siyah renkte pleksiglas materyalden yapılmış, 150 cm çapında ve 65 cm derinlikteki su tankı yaklaşık 45-50 cm'ye kadar kahverengi gıda boyası (toksik olmayan) karıştırılmış su ile dolduruldu. Suyun sıcaklığı 20 ± 2 °C olarak korundu. Su tankı deney süresince geniş bir odaya yerleştirildi. Tankın etrafı siyah perdelerle kapatıldı. Ve böylece hayvanın farklı renklerle dikkatinin dağılması engellendi. Havuz ortasından geçen iki hayali çizgi ile dört parçaya bölündü (kuzeydoğu, kuzeybatı, güneydoğu ve güneybatı).

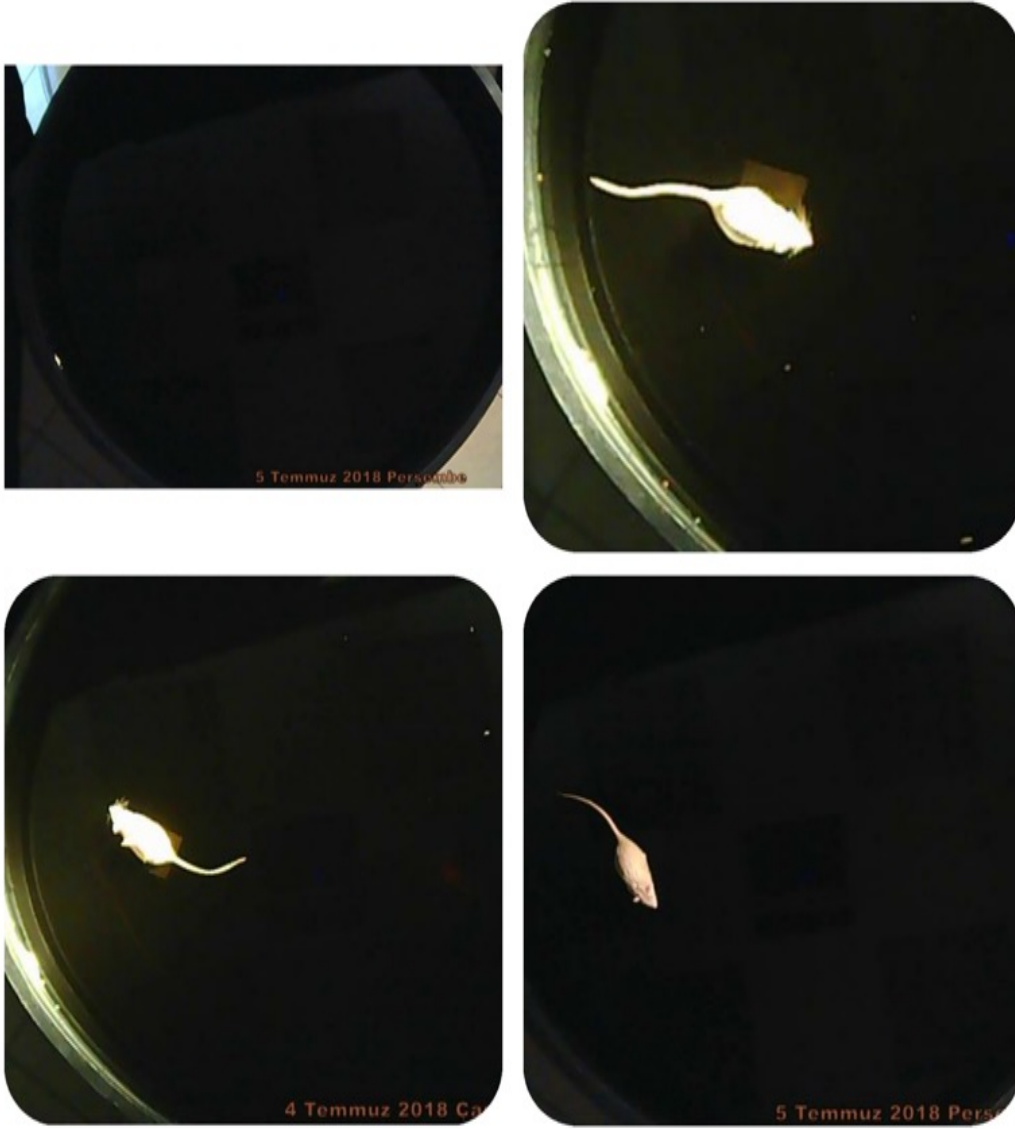
Tankın etrafındaki siyah perdeye kuzeydoğu, kuzeybatı, güneydoğu ve güneybatı yönlerinde her bir kadrana beyaz renkte farklı görsel ipucu simgeleri (yuvarlak, yıldız, kare ve üçgen) asıldı. Deney süresince görsel ipuçları sabit tutuldu. Araştırmacı odaya her deney gününde standart koşulları (aynı önlük, parfüm, kıyafet tarzı, gibi...) sağlayarak geldi. Sıçanların kafesleri tankın olduğu odaya deneyden önce (en az yarım saat) getirilerek hayvanların ortama adapte olmaları sağlandı.

Kaçış latansı

Sıçanlar 4 gün boyunca gizli platformu bulma süresinin değerlendirildiği kaçış latansı testine tabii tutuldu. Deney hayvanı suya bakacak şekilde su tankının içine dikkatlice konuldu. Başlama pozisyonları dört farklı kutup noktası içerdi ve rasgele seçilen farklı bir başlangıç noktası alınarak test uygulandı. 4 farklı kutuptan suya bırakılan sıçanların platforma ulaşma süreleri kaydedildi. Harcanan zaman hayvanların öğrenme kapasitesini belirlemek için değerlendirildi (McDonald, Hong ve Devan, 2004; Morris, 1984). Suyu bırakılmalarından platformu bulmalarına kadar geçen süre 90 sn olacak şekilde belirlendi. Bu süre içinde platformu bulamayan sıçanlar araştırmacı tarafından platformun üzerine yerleştirilerek 30 sn boyunca platform üzerinde kalmalarına ve çevredeki ipuçlarını tanıyabilmelerine izin verildi. Bir eğitim testinin tamamlanmasından sonra diğer teste kadar sıçanlar kafeslerinde bekletildi. Her bir eğitim testi arasındaki süre yaklaşık 30 dakika olarak sabit tutuldu. Uygulanan testler 4 gün boyunca devam etti.

Prob testi

Son gün olan 5. günde referans bellek test edilmek üzere platform sudan alındı. Deney hayvanı suya bakacak şekilde, normalde kaçış platformunun olduğu kadrandan su tankının içine dikkatlice konuldu. Sıçanların platformun yerini aramaları için 90 sn'lik bir süre verildi. Deneklerin daha önceden platformun bulunduğu bölümde aramayı tercih etmeleri (hedef kadranda geçirilen süre) ve diğer kadrana göre daha uzun süre (22,5 sn'den fazla) kalmaları referans bellek işlevinin kazanılması olarak kabul edildi.



Resim 3.2. Morris su tankında kaçış latansı ve prob testi uygulamaları

Yükseltilmiş artı labirent (YAL) testi

Anksiyete deneylerinde yaygın olarak kullanılan YAL testi; pozisyon ayırma yeteneği ile ilgili davranış için öğrenme ve hafıza deney modeli olarak da kullanılmaktadır (Carobrez ve Bertoglio, 2005). Deneyimizde kullandığımız YAL'ın 50 cm × 10 cm ölçülerinde 2 açık kolu, 50 cm × 50 cm × 10 cm ölçülerinde 2 kapalı kolu vardır. Yerden yüksekliği 50 cm'dir. Siyah pleksiglastan yapılmış deney düzeneği toplam dört koldan oluşur. Kollar zemine ve birbirlerine dik açıda yerleştirilmiştir.



Resim 3.3. Yükseltilmiş artı labirent testi

YAL testi uygulaması toplamda 2 gün sürdürüldü. İlk gün hayvanların 5 dakika boyunca sistemi keşfetmeleri sağlandı. İkinci gün deney günü idi. Deney 5 dakika süreyle bir kez yapıldı. Tüm testler gün içinde aynı saatler (10:00-12:30) içerisinde gerçekleştirildi. Her deney sonrası ortam %65'lik etanol ile silindi ve kurutuldu. Her deney bitiminde ortamın kuruması ve havalandırılması için 15 dakika ara verildi. Deneklerin davranışları deney aşamasında kaydedildi ve daha sonra analizleri yapıldı. Deneyde açık kolda geçen süre ve yüzdesi, kapalı kolda geçen süre ve yüzdesi ayrıca açık ve kapalı kollar arasındaki geçiş sayısı incelendi.

Davranış testi uygulamalarından sonra ketamin-ksilazin anestezisi altındaki sıçanların kanları intrakardiyak yöntem ile alınarak sıçanlar feda edildi. Feda edilen sıçanların beyin dokuları çıkartılıp buz paketleri üzerinde serebral korteks ve hipokampus dokuları izole

edildi. İzole edilen dokular hızlı bir şekilde sıvı nitrojende dondurularak, ilgili parametreler çalışılncaya kadar -80 °C’de muhafaza edildi.



Resim 3.4. Örnek bir hayvanın izole edilen beyin dokusunun görüntüsü

İzole edilen hipokampus ve serebral korteks dokularında PEX14, PMP70, CAT ekspresyonları Western blot yöntemi ile gösterildi. Ayrıca bu dokularda oksidan-antioksidan parametreler; MDA (Casini, Ferrali, Pompella, Maellaro ve Comporti, 1986) ve GSH (Aykaç ve diğerleri, 1985) seviyelerine bakıldı. Western blot ve MDA, GSH analizleri, Gazi üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ve Tıbbi Biyoloji A.D. laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.2.5. Western blot yöntemi / SDS-PAGE

Western blot; dokudaki spesifik bir proteini analiz etmemizi sağlayan bir tekniktir. Bu moleküler biyoloji tekniği sayesinde dokuda bulunan bir proteinin varlığı, büyüklüğü, konsantrasyonu araştırılabilir (Towbin, Staehelin ve Gordon, 1979). Hedef proteinin özelliklerine bağlı olarak bu yöntemin aşamaları farklılık gösterebilir. Çalışmamızda PEX14, PMP70, CAT ve yükleme kontrolü olarak β -aktin proteinlerinin ekspresyonları Western blot yöntemi ile gösterilmiştir.

Örneklerin hazırlanması

SDS-PAGE için hipokampus ve serebral korteks örnekleri aynı işlem sırası takip edilerek hazırlandı:

- Hipokampus ve serebral korteks dokularından 20 mg tartıldı.
- Kuru buz üzerinde tartımı yapılan örnekler üzerine 300 µl lizis tamponu (pH 7,4) eklendi.
- Kullanılan lizis tamponu (RIPA Lysis Buffer System, Santa Cruz Biotechnology, TX, USA); 1 ml'de 10 µl 200 mM phenylmethanesulfonyl floride (PMSF), 10 µl 100 mM sodium orthovanadate ve 10 µl proteaz inhibitör kokteyli içerir.
- Doku homojenizatörü (Sonics vibracell, %50 amplitüd, 15-20 sn) ile homojenatlar hazırlandı.
- Homojenatlar kuru buz üzerinde 15-20 dk kadar inkübe edildi.
- İnkübasyon işleminden sonra homojenatlar +4 °C'de 10 dk santrifüj edildi.
- Temiz ependorflara alınan süpernatantlar ikinci kez santrifüj edildi.
- Süpernatantlar aliquotlandı ve -80 °C'de saklandı.

Bradford metodu (Total protein düzeylerinin ölçümü)

Total protein düzeylerinin ölçümü için Bradford metodu kullanıldı (Bradford, 1976). Bu yöntem oldukça fazla kullanılan, güvenilir, hassas ve hızlı bir yöntemdir. Bradford tarafından geliştirilen yöntem; organik boyaların, proteinlerin asidik ve bazik gruplarıyla etkileşerek renk oluşturması esasına dayanır. Coomassie brilliant mavisi G-250 boyasının kullanıldığı bu yöntemde, boya kuvvetli bir asitte çözündüğü zaman, protonlanmadan dolayı kırmızı-kahverengi arası bir renge dönüşür. Artı yüklü bir proteine bağlandığında ise renk maviye dönüşür. Yöntem bu boyanın farklı konsantrasyondaki protein çözeltilerinde farklı şiddette mavi renk oluşturmasından yararlanılarak geliştirilmiştir. 595 nm'de maksimum absorbands ölçülür. 0-2 mg/ml protein içeren örneklerin konsantrasyon ölçümü bu yöntem ile yapılabilir. Kullanılan en yaygın protein standardı sığır serum albuminidir (BSA). BSA ile elde edilen konsantrasyon absorbands eğrisi, örneklerdeki protein miktarını belirlememizi sağlar.

Bradford metodu ile protein tayini:

- 7,45 mg BSA (BioShop Canada Inc. ALB001.25) tartıldı ve 5 ml PBS (BioShop Canada Inc. PBS408.500) (pH:7,4) içinde çözüldü. 1,49 mg/ml’lik stok BSA elde edildi.
- Stok BSA’nın uygun dilüsyonları yapılarak; 0,745 mg/ml, 0,479 mg/ml, 0,298 mg/ml, 0,149 mg/ml, 0,075 mg/ml ve 0,050 mg/ml’lik 6 adet protein standardı hazırlandı.
- Mikroplakanın kuyucuklarına üçer tekrarlı olmak üzere blank (PBS), standartlar ve örneklerden (PBS ile 10 kat dilüe edildiler) 10 µl yükleme yapıldı.
- Blank, standartlar ve örnekler üzerine 200 µl bradford çözeltisi (1:5 dilüe edilmiş) eklendi.
- 15 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 595 nm’de absorbans değerleri okutuldu.
- Mikrosoft Office Excel programı kullanılarak, hazırlanan standartların konsantrasyon-absorbans eğrisi oluşturuldu.
- Elde edilen lineer eğrinin denklemi ($y_{\text{cons}}=ax_{\text{abs}}+b$) örneklerdeki protein miktarının (mg/ml) hesaplanmasında kullanıldı.
- Elde edilen sonuçlar, örnekler 10 kat dilüe edildiği için 10 (dilüsyon katsayısı) ile çarpıldı.

SDS-PAGE için jel dökümü

- SDS-PAGE için 10 ml %10’luk ayırma jeli (resolving gel) ve 5 ml %4’lük yığınlama jeli (stacking gel) döküldü.
- Jel döküm işlemi için BIO-RAD, Mini protean system (Hercules, CA, USA), jel dökme standartları, camları, tarakları ve diğer aparatları kullanıldı.
- %10 ve %4’lük jeller, çalışmamızda kullandığımız proteinlerin moleküler ağırlıkları (Çizelge 3.3) göz önüne alınarak tercih edildi.
- Jel dökümünde ilk olarak ayırma jeli çözeltisi (içerik Kullanılan çözeltiler kısmında verilmiştir) hazırlandı. Bu jele APS ve TEMED eklendikten sonra hızlıca temiz cam plakaların arasına döküldü (5 ml kadar) ve üzeri distile su ile kaplandı.
- Ayırma jelinin polimerize olması beklendikten sonra (yaklaşık 30 dk) jelin yüzeyindeki su dökülüp ayırma jelinin üzerine yığınlama jeli için hazırlanan çözelti (2,5 ml kadar) döküldü.

- Yükleme kuyucuklarının oluşması için tarak (10 kuyulu) yerleştirildi.
- Jelin polimerizasyonu için 30 dk beklendi.

Yükleme çözeltisinin hazırlanması ve jele yüklenmesi

- 10 µl hazırlanan stok örnek tamponu (sample buffer 2X), 4,2 µl örnek, 5,8 µl distile su (örnek hacmi distile su ile 10 µl'ye tamamlandı) olacak şekilde son hacmi 20 µl yükleme çözeltisi hazırlandı.
- Her bir örnek için 20 µg protein yüklemesi yapabilmek için yükleme çözeltisinin içeriği; $\text{hacim} = 20 / \text{protein konsantrasyonu}$ formülü ile hesaplandı (örneğin; $4,2 = 20 / 4,76$).
- Bu hesaplama tekniği ile her bir örnek için yükleme çözeltisi (0,2'lik eppendorflarda) hazırlandı.
- Yükleme çözeltileri protein denatürasyonu için 95 °C'de 5 dk kaynatıldı (Eppendorf, Thermomixer Compact).
- Soğuyan yükleme çözeltileri (20 µl) jel kuyularına yüklendi.
- Her jelin ilk kuyusuna moleküler ağırlıkların belirlenmesinde referans olan protein standardından (BLUeye prestained protein standard, GeneDireX, Germany) 4 µl yükleme yapıldı.

Jel elektroforezi

- Jellere yükleme işlemi tamamlandıktan sonra elektorforez tankı (BIO-RAD, Mini protean system, Hercules, CA, USA) yeterli miktarda yürütme tamponu (pH:8,3) (içerik Kullanılan çözeltiler kısmında verilmiştir) ile dolduruldu.
- Güç kaynağı (Consort E835, Electrophoresis Power Supply) sabit 100 V ve 2 saat süreye ayarlandı.
- Elektroforez işlemi ile proteinler jelde moleküler ağırlıklarına göre ayrıştı.

Proteinlerin membrana transferi

- Jelde moleküler ağırlıklarına göre ayrıışan proteinlerin nitrosellüloz membrana transferi için ıslak transfer modülü (BIO-RAD, Mini protean system, Hercules, CA, USA) kullanıldı.
- Transfer modülüne yerleştirilecek kasetin aparatları, süngerler ve filtre kağıtları transfer tamponu (içerik kullanılan çözeltiler kısmında verilmiştir) içinde ıslatıldı.
- Nitrosellüloz membran (10600002, GE Healthcare Lifesciences, Germany) 5 dk kadar distile su içinde bekletildi.
- Elektroforez işlemi tamamlanınca cam plakalar distile sudan geçirildi.
- Cam plakalar ayırıcı aparat ile açıldı ve jel dikkatlice çıkarılıp transfer tamponu içine alındı.
- Transfer kasedi, artı kutuptan eksi kutuba doğru sırasıyla; sünger, filtre kağıdı, membran, jel, filtre kağıdı, sünger olacak şekilde hazırlandı.
- Kasetler transfer modülüne yerleştirildi.
- Tank uygun miktarda transfer tamponu ile dolduruldu.
- Güç kaynağı sabit 250 mA ve 2 saat süreye ayarlandı.
- Transfer işlemi ile jelden membrana proteinlerin transferi sağlandı (Resim 3.5).

Membranın Boyanması

- Bu işlem transfer işleminin düzgün gerçekleşip gerçekleşmediğinin kontrol edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.
- Membran boyanmasında total protein özütünde mevcut olan tüm proteinlerin işaretlenmesi için kullanılan anyonik boyalardan biri Ponceau red'dir.
- Bu işlem, proteinlerin geri dönüşümlü olarak boyanmasını sağlar.
- Membran, %0,1'lik Ponceau staining solüsyonu (içerik Kullanılan çözeltiler kısmında verilmiştir) ile 5 dk çalkalandı.
- Membranın yüzeyinde pembe-kırmızı renkte protein bantları gözlemlendi.
- Membran aranan proteinlerin molekül ağırlıklarına bağlı olarak uygun boyutlarda kesildi.
- Boyanın membrandan uzaklaşması için yıkama tamponu (içerik Kullanılan çözeltiler kısmında verilmiştir) kullanıldı.

- Membran yıkama tamponu ile 3 kez, 5'er dk yıkandı ve boya uzaklaştırıldı.



Resim 3.5. Western blot transfer işlemi, membranın ponceu ile boyanması ve görüntüleme işlemi

Bloklama ve antikor yükleme

- Membranlar %5'lik süt tozu veya %3'lük BSA ile hazırlanan bloklama tamponu içine alındı ve +4°C'de çalkalayıcı (Mini Rocker MR-1, BOECO) üzerinde gece boyunca veya 2 saat (antikorların özelliğine göre) inkübe edildi.
- Bu işlem ile hedef protein için membranlar üzerindeki non-spesifik bağlanma bölgeleri engellenmiş oldu.
- Bloklama işleminden sonra membranlar yıkama tamponu ile 3 kez, 5'er dk yıkandı.

- Hedef proteinler için seçilen primer antikorların (PMP70, PEX14, CAT, β -aktin) uygun dilüsyonları (Çizelge 3.3) %5'lik süt tozu veya %3'lük BSA ile hazırlanan antikor tamponuyla yapıldı.
- Membranlar primer antikorlar ile +4 °C'de çalkalayıcı üzerinde gece boyunca veya 2 saat (antikorların özelliğine göre) inkübe edildi.
- Primer antikorlarla inkübasyon işleminden sonra membranlar yıkama tamponu ile 3 kez, 5'er dk yıkandı.
- Sekonder antikor HRP (horseradish peroxidase)-konjuge, %3'lük BSA ile hazırlanan antikor tamponuyla uygun oranda dilüe edildi (Çizelge 3.3) ve membranlar oda sıcaklığında, 2 saat boyunca sekonder antikor ile inkübe edildi.
- Sekonder antikorlarla inkübasyon işleminden sonra membranlar yıkama tamponu ile 3 kez, 5'er dk yıkandı.

Görüntüleme ve analiz

- Hedef protein bantlarının görünür hale getirilmesi için kemilüminesans kit (Pierce™ ECL Western Blotting Substrate, Thermo Fisher Scientific, MA, USA) kullanıldı.
- Kit içinde bulunan iki tampon çözelti 1:1 oranında karıştırılarak hazırlandı.
- Membran yüzeyi bu tampon karışımıyla kaplandı ve kısa süreli inkübe edildi.
- Karanlık odada hızlıca görüntüleme sistemi (Kodak Gel Logic, 2200 Pro) kullanılarak hedef protein bantları görüntülendi ve TIFF ve JPEG formatında kaydedildi.
- Bant yoğunluklarının hesaplanmasında Image J (Windows version of NIH image) programı kullanıldı.
- Hedef proteinlerin bant yoğunlukları yükleme kontrolü olarak seçilen β -aktine oranlanarak hesaplandı.

3.2.6. Dokuda MDA ve GSH tayini

Doku homojenizasyonu

- Hipokampus ve serebral korteks dokularından her bir örnek için 0,20 gr tartıldı ve ependorflara alındı.
- Doku ağırlığının 9 katı kadar %10'luk trikloroasetik asit (TCA) eklendi.

- Doku, sonikatör (Sonics vibracell, VCX130FSJ) ile homojenize edildi.
- 3000 g, 20°C’de 15 dk. santrifüj edildi.
- Süpernatant plastik tüplere alındı.
- 3000 g, 20°C’de 8 dk. santrifüj edildi.
- Elde edilen örnekler, MDA ve GSH ölçümleri için kullanıldı.

MDA tayini

- Etiketlenen cam tüplere alınan 375 µl örnek üzerine 5 µl %1’lik BHT eklendi.
- Üzerine yaklaşık 375 µl TBA konur ve 20 sn vortekslendi.
- Tüplerin ağzı cam masket ile kapatılarak 120 °C’de 15 dk kaynatıldı.
- 3000 g, 20 °C’de 8 dk santrifüj edildi.
- Spektrofotometrede 535 nm’de okundu.
- Mikrosoft Office Excel programı kullanılarak, hazırlanan standartların konsantrasyon-absorbans eğrisi oluşturuldu.
- Örneklerin MDA düzeyi nmol/g doku şeklinde kaydedildi.

GSH tayini

- Etiketlenen tüplere 125 µl örnek alındı.
- 500 µl 0,3 M Na₂HPO₄ eklendi.
- Tüplerin üzerine DTNB eklendi ve vortekslendi.
- Oda ısısında 5-10 dk beklendi.
- Spektrofotometrede 412 nm’de okundu.
- Sonuç $(4,23 \times \text{absorbans}) / \text{doku ağırlığı} = \mu\text{mol/g doku}$ şeklinde hesaplanır.

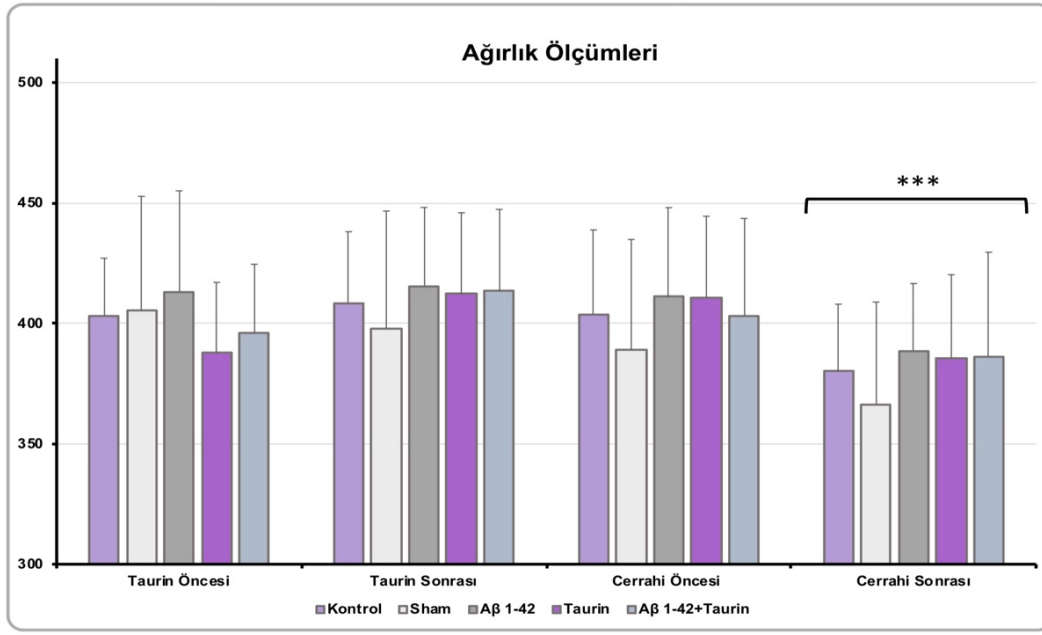
3.2.7. İstatistiksel yöntem

Çalışmamızdaki verilerin değerlendirilmesinde SPSS 23 for Mac programı kullanıldı. Gruplar arası ağırlık analizleri, davranış testlerinin prob ve kaçış latansı analizleri, uzaysal öğrenme ve bellek test süreleri ile korteks ve hipokampus dokularında CAT, PEX14, PMP70 western blot analizlerinde ve MDA, GSH düzeylerinin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Farkın hangi gruplar arasında olduğunu saptanmasında Mann Whitney U testi kullanıldı ve bonferroni düzeltmesi uygulandı. Ağırlıkların dönemsel değişimlerinin analizinde, tüm günlerin kaçış latansı uzaysal öğrenme ve bellek test sürelerinin karşılaştırılmasında Friedman testi, dönemlerin ve günlerin ikili karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı. Korteks ve hipokampus dokuları arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için Paired-sample t testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde Pearson r'si hesaplandı. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,01$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Beden ağırlık ölçümleri

Çalışmamızda 6 haftalık taurin uygulamasına başlamadan önce sıçanların beden ağırlığı ölçümü yapıldı. Yapılan bu ölçümlere göre grupların beden ağırlığı ortalamaları sırasıyla; kontrol grubunda $403,17 \pm 23,89$ g, sham grubunda $405,33 \pm 47,40$ g, A β 1-42 grubunda $413,17 \pm 41,88$ g, taurin grubunda $387,67 \pm 29,35$ g ve A β 1-42+taurin grubunda $395,83 \pm 28,72$ g olarak bulundu. Taurin uygulamasından sonra yapılan beden ağırlığı ölçümlerinde ise grupların kilo ortalamaları; sırasıyla kontrol grubunda $408,50 \pm 29,56$ g, sham grubunda $397,83 \pm 48,81$ g, A β 1-42 grubunda $415,50 \pm 32,64$ g, taurin grubunda $412,17 \pm 33,74$ g ve A β 1-42+taurin grubunda $413,47 \pm 33,87$ g olarak bulundu. 6 haftalık taurin uygulaması bittikten sonra tüm grupların beden ağırlığı ölçümleri stereotaksik cerrahi işlemi öncesinde tekrarlandı. Bu ölçümlere göre grupların beden ağırlığı ortalamaları; sırasıyla kontrol grubunda $403,83 \pm 35$ g, sham grubunda $388,83 \pm 46,01$ g, A β 1-42 grubunda $411 \pm 37,06$ g, taurin grubunda $410,67 \pm 33,82$ g ve A β 1-42+taurin grubunda $403,17 \pm 40,39$ g olarak bulundu. Cerrahi işlem sonrasında tüm gruplarda kilo kaybı gözlemlendi. Cerrahi işlemden 7 gün sonra (iyileşme süreci sonunda) yapılan ölçümlerde grupların kilo ortalamaları; sırasıyla kontrol grubunda $380 \pm 27,98$ g, sham grubunda $366,50 \pm 42,36$ g, A β 1-42 grubunda $388,67 \pm 27,88$ g, taurin grubunda $385,67 \pm 34,54$ g ve A β 1-42+taurin grubunda $386,33 \pm 43,23$ g olarak bulundu. Sıçanların kafa derisinin iyileşmesi ve kilo almaya başlamaları iyileşme sürecinin tamamlanması olarak kabul edildi. Taurin uygulaması öncesinde ve sonrasında, ayrıca sterotaksik cerrahi işlem öncesinde ve sonrasında gerçekleştirilen hayvanların ağırlık ölçümlerinden elde edilen verilere göre gruplar arasında dönem içi değerlendirmelerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0,01$). Ancak dönemler arasında; cerrahi işlem sonrası elde edilen ağırlık sonuçları; taurin öncesi, taurin sonrası ve cerrahi öncesi elde edilen ağırlık bulgularına göre anlamlı olarak farklı bulundu ($p < 0,01$) (Şekil 4.1) (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1. Sıçanların beden ağırlığı ortalamaları

Taurin öncesi, taurin sonrası, cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası ağırlık ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,01$). ***; cerrahi sonrası ortalamaların, taurin öncesi, taurin sonrası ve cerrahi öncesi ağırlık ortalamalarına kıyasla $p<0,01$ düzeyinde anlamlı olarak farklı olduğunu gösterir.

Çizelge 4.1. Ağırlık ölçümlerinin farklı deney dönemlerindeki ortalama değerleri

Ağırlık Ölçümleri (g)				
	Taurin Öncesi	Taurin Sonrası	Cerrahi Öncesi	Cerrahi Sonrası
Kontrol	403,17±23,89	408,50±29,56	403,83±35	***380±27,98
Sham	405,33±47,40	397,83±48,81	388,83±46,01	***366,50±42,36
Aβ 1-42	413,17±41,88	415,50±32,64	411±37,06	***388,67±27,88
Taurin	387,67±29,35	412,17±33,74	410,67±33,82	***385,67±34,54
Aβ 1-42+Taurin	395,83±28,72	413,47±33,87	403,17±40,39	***386,33±43,23

Ağırlık ölçümleri; taurin uygulaması ve stereotaksik cerrahi girişim öncesi ve sonrası için ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. ***; cerrahi sonrası ortalamaların, taurin öncesi, taurin sonrası ve cerrahi öncesi ağırlık ölçümlerine kıyasla $p<0,01$ düzeyinde anlamlı olarak farklı olduğunu gösterir.

4.2. Davranış testlerinden elde edilen veriler

4.2.1. Morris su tankı uzaysal öğrenme ve bellek performansı

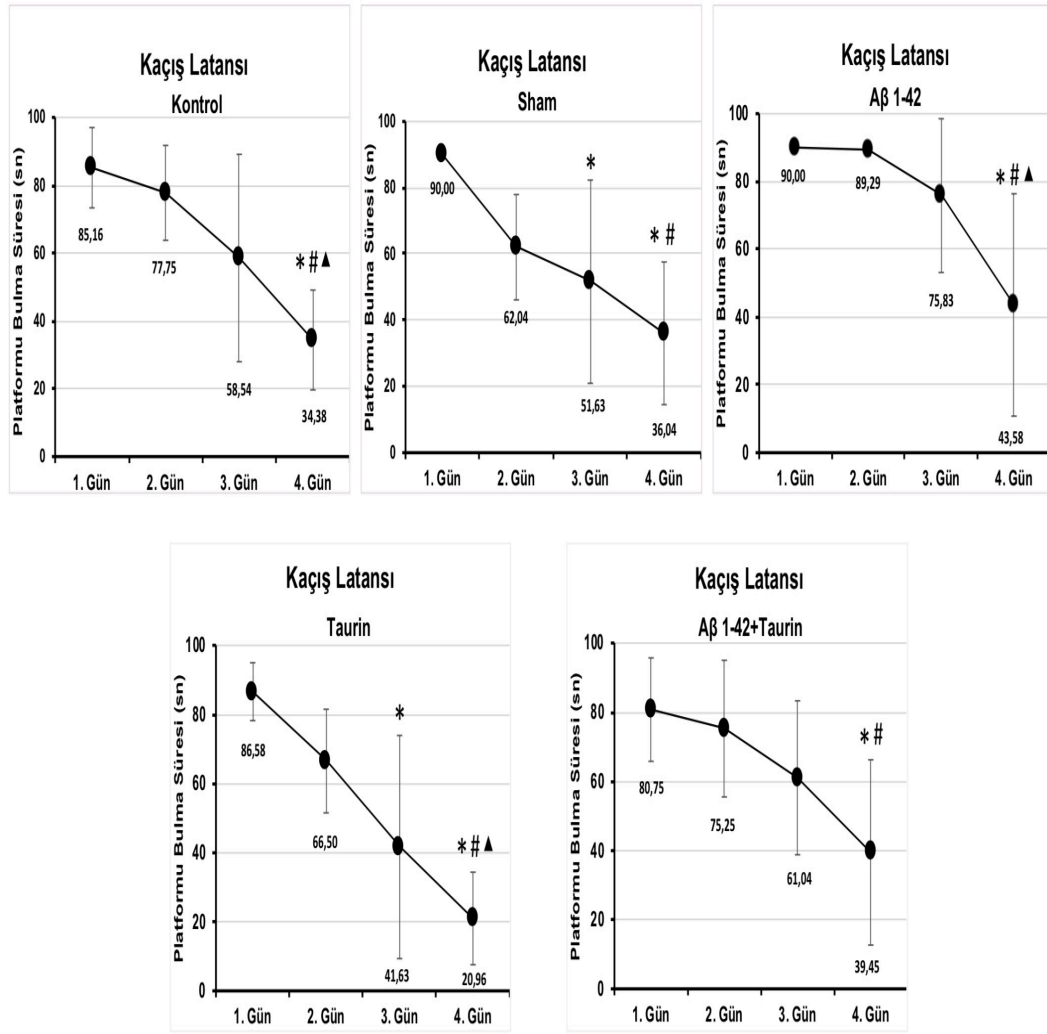
MST'de 4 gün boyunca uygulanan kaçış latansı performansında platformu bulma süreleri, her gün için dört ayrı kutuptan yapılan uygulamanın ortalaması alınarak hesaplandı. 4 gün

boyunca yapılan eğitim yüzmelerinden (trial) elde edilen sonuçlarla sıçanların öğrenme performans eğrileri elde edildi. Bütün gruplarda platform alanına ulaşma süresinde, ikinci günden itibaren bir azalma başladı. 3. ve 4. günlerde bu azalmanın daha belirgin olduğu görüldü. Sıçanların platformun yerini daha kısa süre ve mesafede bulmaları platformun yerini öğrendiklerini gösterdi ve gruplar arasında değerlendirme yapmamızı sağladı. Platformu bulma sürelerindeki azalma 4. günde; kontrol, sham, taurin, A β 1-42 ve A β 1-42+taurin için istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,01$) (Şekil 4.2). Tüm grupların, kaçış latansı performansları 4 günlük süreçte incelendiğinde; en uzun platformu bulma süresi A β 1-42 grubunda gözlenmiştir. Taurin grubu ise platformu bulma süresi açısından en iyi performansı göstermiştir. Günlere göre platformu bulma süreleri tüm gruplar için ayrı ayrı Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Tüm grupların ortalama platformu bulma süreleri Şekil 4.3 ve Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Grupların günlere ait ortalama platformu bulma ve prob test süreleri

Morris Su Tankı					
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	Prob test
	(sn)	(sn)	(sn)	(sn)	(sn)
Kontrol	85,16 $\pm$ 11,83	77,75 $\pm$ 13,98	58,54 $\pm$ 30,57	34,38 $\pm$ 14,71	37,60 $\pm$ 6,04
Sham	90 $\pm$ 0	62,04 $\pm$ 15,90	51,63 $\pm$ 30,67	36,04 $\pm$ 21,54	28,88 $\pm$ 1,56
Aβ 1-42	90 $\pm$ 0	# 89,29 $\pm$ 1,73	75,83 $\pm$ 22,67	43,58 $\pm$ 32,79	* 22,14 $\pm$ 3,71
Taurin	86,58 $\pm$ 8,36	66,50 $\pm$ 14,99	41,63 $\pm$ 32,29	20,96 $\pm$ 13,39	32,37 $\pm$ 6,21
Aβ 1-42+taurin	80,75 $\pm$ 14,95	75,25 $\pm$ 19,75	61,04 $\pm$ 22,25	39,45 $\pm$ 26,78	28,06 $\pm$ 4,21

Tüm grupların 1-4. günler arasında platformu bulma ve 5. gün prob test süreleri (sn), ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir. *; kontrol grubuna kıyasla, #; sham grubuna kıyasla $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.



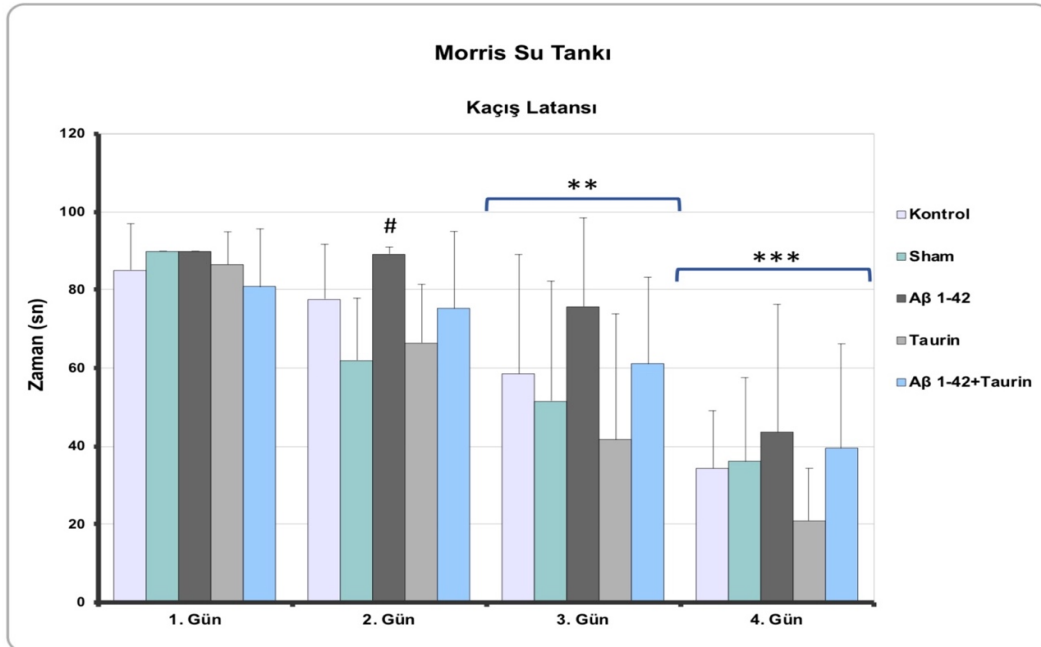
Şekil 4.2. Morris su tankında uzaysal öğrenmede grupların ayrı ayrı günlük platformu bulma süreleri

*; 1.güne, #; 2.güne, ▲; 3. güne kıyasla $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.

Çizelge 4.3. Morris su tankında farklı kadrarlardan platformu bulma süreleri

Morris Su Tankı Kaçış Latansı Farklı Kadrarlardan Platformu Bulma Süreleri (sn)						
	Deneme	Kontrol	Sham	Aß 1-42	Taurin	Aß 1-42+Taurin
1. Gün	1	90±0	90±0	90±0	90±0	90±0
	2	82±19,60	90±0	90±0	90±0	90±0
	3	78,67±27,76	90±0	90±0	90±0	78,67±22,02
	4	90±0	90±0	90±0	76,33±33,48	64,33±39,94
2. Gün	1	88,50±2,81	90±0	90±0	89,67±0,82	90±0
	2	89±2,45	74,17±32,65	90±0	76,33±25,56	76,17±33,88
	3	58,83±34,99	39±30,44	# 90±0	63,67±22,44	# 84,17±14,29
	4	▲ 74,33±26,55	45±30,44	▲ # 87,17±6,94	36,33±30,15	63,33±41,36
3. Gün	1	63,67±40,87	66,50±33,75	90±0	53,17±30,87	87,50±6,12
	2	56,17±37,53	53±40,71	83,33±16,33	47,67±35,61	64,17±37,24
	3	65,17±33,27	33,50±29,21	▲ # 67,83±35,89	31,67±29,49	55,67±37,65
	4	39,67±39,81	53,50±36,29	62,17±43,12	34±41,52	36,83±32,18
4. Gün	1	▲ 58,50±38,89	▲ 42,17±39,47	▲ 52,83±40,97	15,33±13,35	▲ 46,33±27,75
	2	39,50±32,04	45,17±36,21	45±37,18	39,17±31,90	44,50±34,29
	3	15±6,26	14,83±9,02	* # ▲ 48,17±40,43	16,50±20,55	* # ▲ 41,33±36,46
	4	24,50±32,51	42±30,99	28,33±31,45	Δ # 12,83±9,24	25,67±24,30

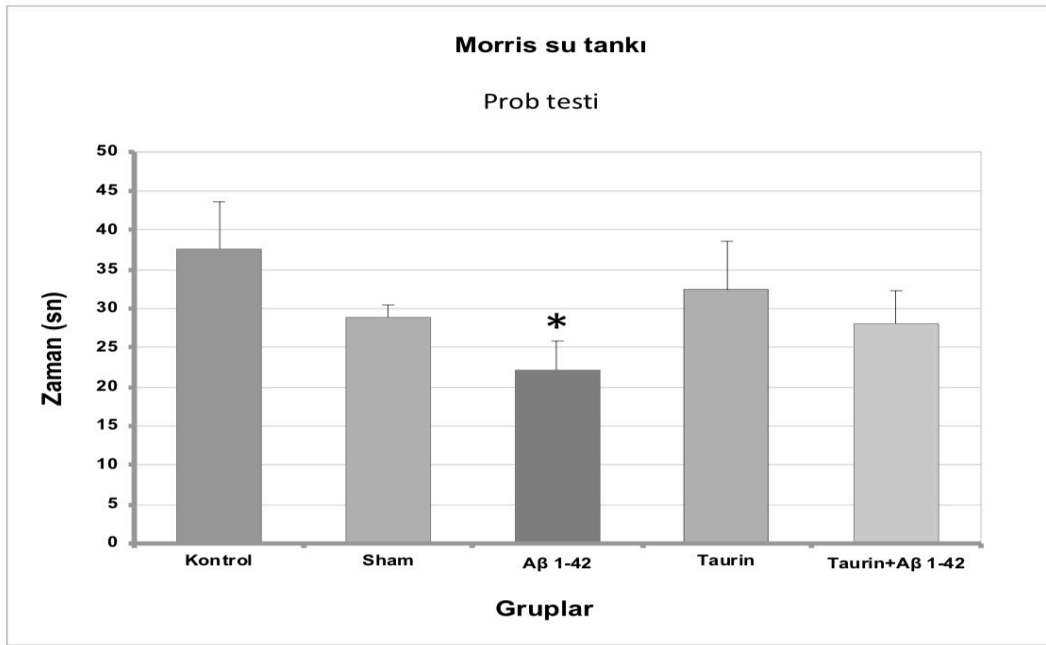
MST latansı deneylerinde farklı kadrarlardan (kuzeydoğu, kuzeybatı, güneydoğu ve güneybatı) suya bırakılan hayvanların platformu bulma süreleri ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. 1, 2, 3, 4 denemeleri farklı kadrarları temsil eder. *, kontrol grubuna, #; sham grubuna, Δ; Aß 1-42 grubuna, ▲; taurin grubuna kıyasla p <0,01 düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.



Şekil 4.3. Morris su tankında tüm grupların kaçış latansı ortalama süreleri

, 1. gün performansına, *; 1.,2.,3. gün performanslarına kıyasla p<0,01 düzeyinde anlamlı fark olduğunu gösterir. Grupların 2. gün performanslarında, #; sham grubuna kıyasla p <0,01 düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.

4 günlük eğitimin ardından, 5. günde platform havuzdan çıkarılarak hayvanlar daha önce hiç bırakılmadıkları bir yönden havuza bırakıldı ve 90 saniye yüzdürüldü (probe test, retention). Bu testte elde edilen veriler, sıçanların uzun süreli uzaysal bellek oluşumları hakkında bilgi vermektedir. 5. günde platform alındıktan sonra hedef kadranda (daha önce platformun olduğu kadranda) geçirilen süreyi ölçmek için uygulanan prob testte süreler sırasıyla kontrol grubunda $37,6 \pm 6$ sn, sham grubunda $28,8 \pm 1,5$ sn, A β 1-42 grubunda $22,1 \pm 3,7$ sn, taurin grubunda $32,37 \pm 6,2$ sn ve A β 1-42+taurin grubunda $28,1 \pm 4,2$ sn olarak bulundu. 5. Gün uygulanan prob testi sonuçlarına göre süre açısından kontrol grubuna kıyasla A β 1-42 grubunda anlamlı bir düşüş görüldü ($p < 0,01$). Fakat diğer gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0,01$). Bu teste ait veriler Şekil 4.4 ve Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Morris su tankında grupların prob test sonuçları

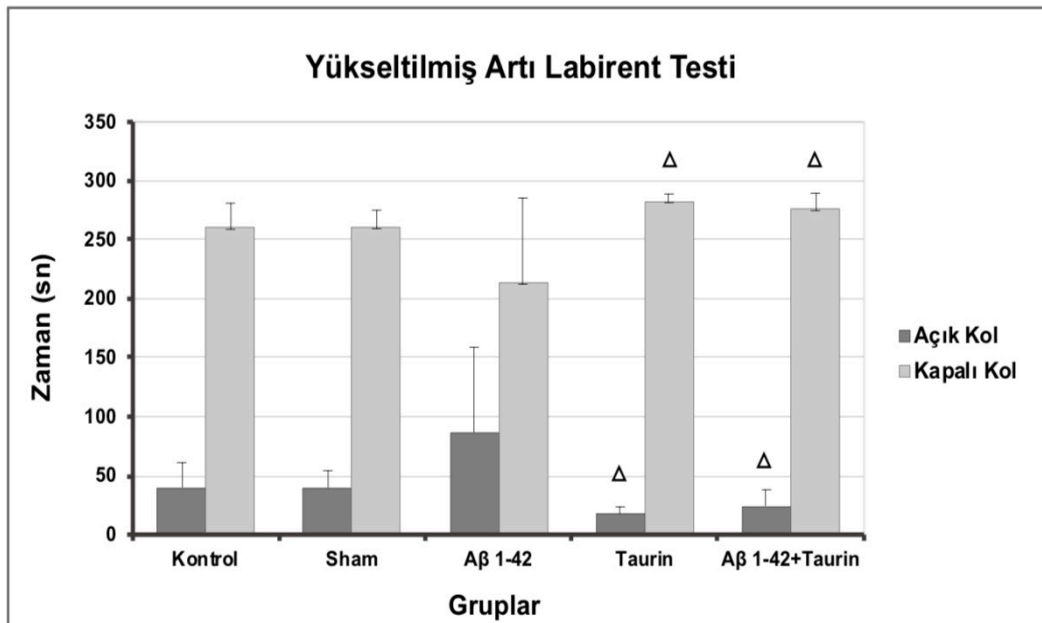
*; kontrol grubuna kıyasla $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu gösterir.

Çizelge 4.4. Morris su tankında hedef kadranda geçirilen zaman yüzdeleri

Morris Su Tankı Prob Test Yüzdeleri					
	Kontrol	Sham	Aβ 1-42	Taurin	Aβ 1-42+Taurin
Prob Test Zaman (%)	41,77±6,71	32,09±1,73	*24,60±4,12	35,97±6,90	31,18±4,68

Grupların platform alındıktan sonra hedef kadranda geçirdikleri sürenin, toplam prob test deney süresine oranlarının % olarak ifadelerinin ortalaması. Veriler; ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. *; kontrol grubuna kıyasla $p<0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu gösterir.

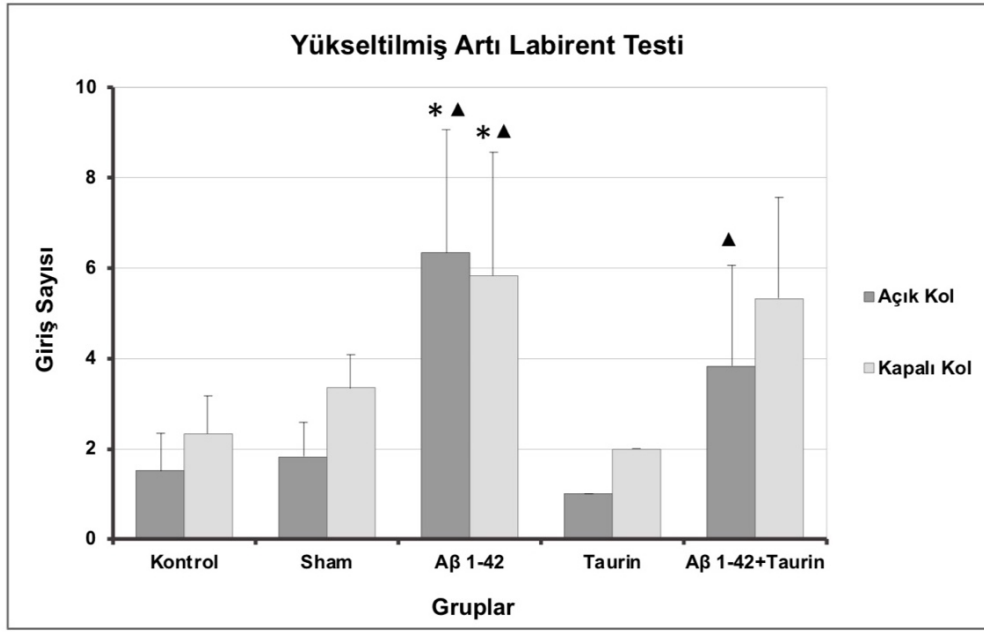
4.4.2. Yükseltilmiş artı labirent testi bulguları



Şekil 4.5. Yükseltilmiş artı labirentte açık ve kapalı kolda geçirilen süre

Δ; Aβ 1-42 grubuna kıyasla $p<0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.

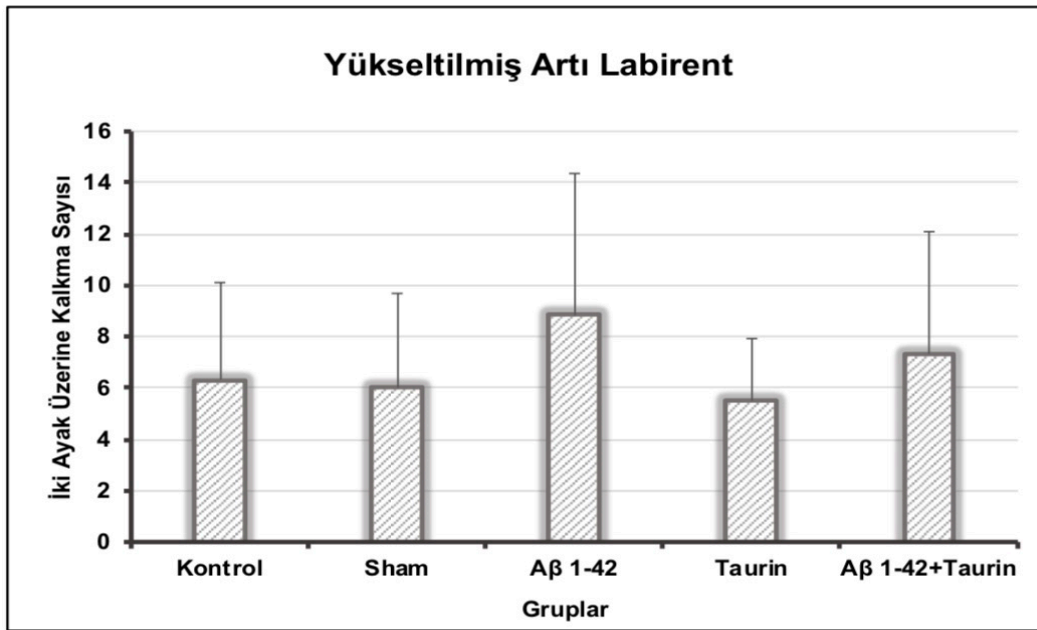
YAL'da açık kolda geçirilen süre; kontrol grubunda $40\pm21,09$ sn, sham grubunda $39,5\pm14,72$ sn, Aβ 1-42 grubunda $86,67\pm72,23$ sn, taurin grubunda $17,33\pm6,28$ sn, Aβ 1-42+taurin grubunda $24,29\pm13,88$ sn olarak bulundu. Açık kolda geçirilen süre taurin ve Aβ 1-42+taurin grubunda Aβ 1-42 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı ($p<0,01$). Kapalı kolda geçirilen süreler ise kontrol grubunda $260\pm21,09$ sn, sham grubunda $260,5\pm14,72$ sn, Aβ 1-42 grubunda $213,33\pm72,23$ sn, taurin grubunda $282,67\pm6,28$ sn, Aβ 1-42+taurin grubunda $275,72\pm13,88$ sn olarak bulundu. Kapalı kolda geçirilen süre taurin ve Aβ 1-42+taurin grubunda Aβ 1-42 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttı ($p<0,01$) (Şekil 4.5) (Çizelge 4.5).



Şekil 4.6. Yükseltilmiş artı labirentte açık ve kapalı kola giriş sayısı

*; kontrol grubuna, ▲; taurin grubuna kıyasla $p<0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.

YAL'da açık kola giriş sayısı kontrol grubunda $1,5\pm0,84$; sham grubunda $1,83\pm0,75$; Aβ 1-42 grubunda $6,33\pm2,73$; taurin grubunda 1 ± 0 ; Aβ 1-42+taurin grubunda $3,83\pm2,23$ olarak bulundu. Açık kola giriş sayısı; Aβ 1-42 grubunda kontrole ve Aβ 1-42+taurin grubuna kıyasla, Aβ 1-42+taurin grubunda ise taurin grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttı ($p<0,01$). Kapalı kola giriş sayısı ise kontrol grubunda $2,33\pm2,80$; sham grubunda $3,33\pm1,51$; Aβ 1-42 grubunda $5,83\pm2,48$; taurin grubunda 2 ± 0 ; Aβ 1-42+taurin grubunda $5,33\pm3,01$ olarak bulundu. Kapalı kola giriş sayısı Aβ 1-42 grubunda kontrol ve taurin grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttı ($p<0,01$) (Şekil 4.6) (Çizelge 4.5).



Şekil 4.7. Yükseltilmiş artı labirentte iki ayak üzerine kalkma sayısı

YAL'da iki ayak üzerine kalkma sayısı; kontrol grubunda $6,33 \pm 3,78$; sham grubunda $6 \pm 3,69$; Aβ 1-42 grubunda $8,83 \pm 5,53$; taurin grubunda $5,50 \pm 2,43$; Aβ 1-42+taurin grubunda $7,33 \pm 4,76$ olarak bulundu. Gruplar arasında iki ayak üzerine kalkma sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0,01$) (Şekil 4.7) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Yükseltilmiş artı labirent test verileri

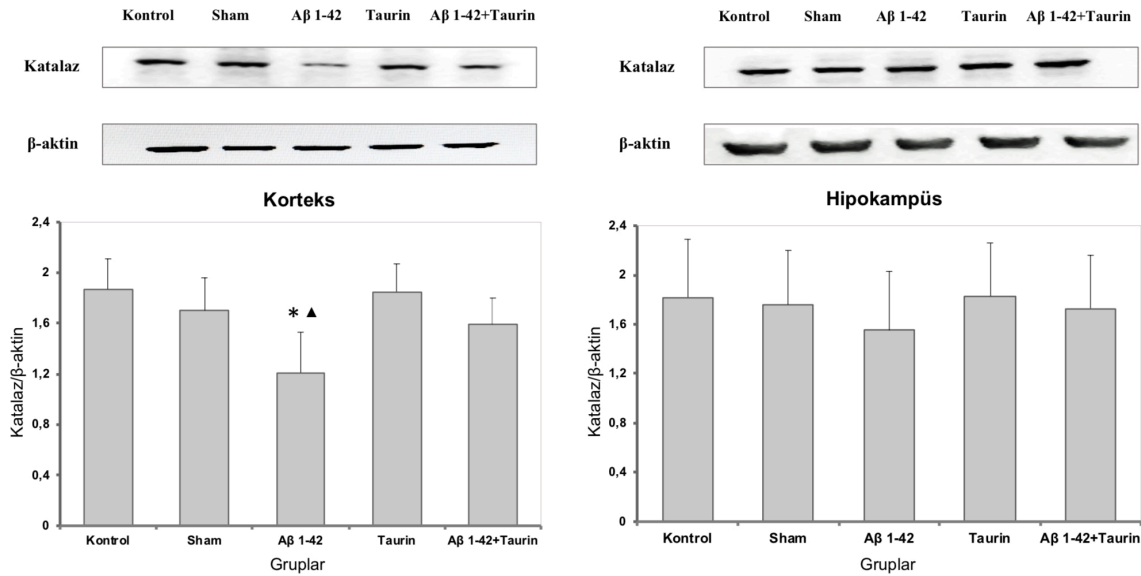
Yükseltilmiş Artı Labirent Test Verileri					
	Geçirilen Süre (sn)		Giriş Sayısı		
	Açık Kol	Kapalı Kol	Açık Kol	Kapalı Kol	İki Ayak Üzerine Kalkma Sayısı
Kontrol	40±21,09	260±21,09	1,50±0,84	2,33±2,80	6,33±3,78
Sham	39,50±14,72	260,50±14,72	1,83±0,75	3,33±1,51	6±3,69
Aβ 1-42	86,67±72,23	213,33±72,23	*▲6,33±2,73	*▲5,83±2,48	8,83±5,53
Taurin	▲17,33±6,28	▲282,67±6,28	1±0	2±0	5,50±2,43
Aβ 1-42+Taurin	▲24,29±13,88	▲275,72±13,88	▲3,83±2,23	5,33±3,01	7,33±4,76

Yükseltilmiş artı labirentte tüm gruplar için açık ve kapalı kolda geçirilen süre, açık ve kapalı kola giriş sayısı ve iki ayak üzerine kalkma sayısı ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir. *; kontrol grubuna, ▲; taurin grubuna, ▲; Aβ 1-42 grubuna kıyasla $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.

4.3. Western blot analiz bulguları

4.3.1. Katalaz ekspresyonlarındaki değişimler

Western blot analizi ile elde edilen sonuçlara göre korteks dokusunda CAT ekspresyonu kontrol ve taurin grubuna kıyasla A β 1-42 grubunda anlamlı olarak azaldı ($p < 0,01$). Taurin uygulamasının; A β 1-42 uygulaması ile görülen CAT ekspresyonundaki düşüşü azalttığı görüldü. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,01$) (Şekil 4.8) (Çizelge 4.6). Hipokampus dokusunda ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p > 0,01$) (Şekil 4.8) (Çizelge 4.7). Ayrıca western blot analiz sonuçlarına göre korteks ve hipokampus CAT düzeyleri arasında korelasyon olmadığı görüldü ($r = 0,217$; $p = 0,249$).

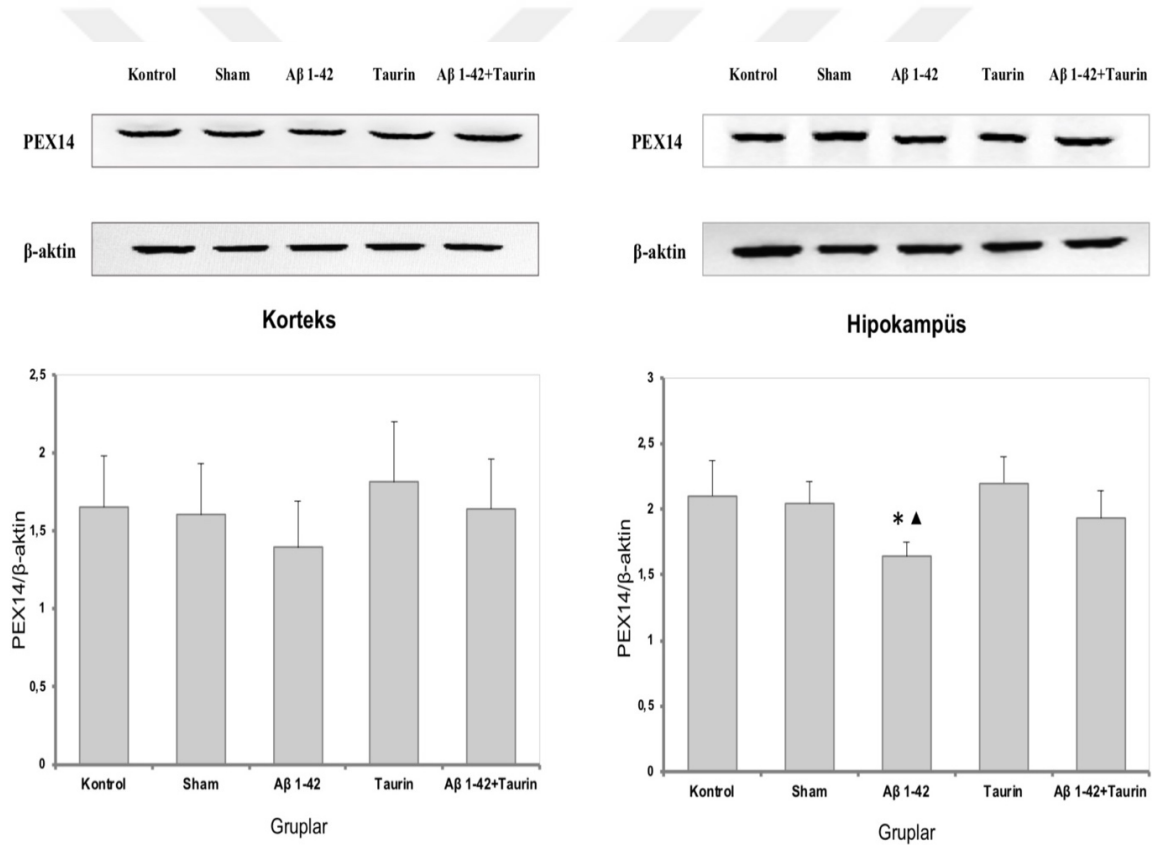


Şekil 4.8. Katalaz ekspresyonlardaki değişimler

Western blot yöntemi ile elde edilen korteks ve hipokampus dokularına ait bant yoğunlukları yükleme kontrolü olarak seçilen β -aktine oranlanarak (Katalaz/ β -aktin) standardize edilmiştir ($n=6$). Korteks ve hipokampus dokularındaki gruplar arasında katalaz/ β -aktin oranındaki değişimler grafiklerde gösterilmiştir. *; kontrol grubuna, ▲; taurin grubuna kıyasla $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.

4.3.2. PEX14 ekspresyonlarındaki değişimler

Western blot analizi ile elde edilen sonuçlara göre korteks dokusunda PEX14 ekspresyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,01$). Hipokampus dokusunda ise PEX14 ekspresyonu kontrol ve taurin grubuna kıyasla A β 1-42 grubunda anlamlı olarak azaldı ($p<0,01$). Taurin uygulamasının; A β 1-42 uygulaması ile görülen PEX14 ekspresyonundaki düşüşü azalttığı görüldü. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,01$) (Şekil 4.9) (Çizelge 4.7). Ayrıca western blot analiz sonuçlarına göre korteks ve hipokampus PEX14 düzeyleri arasında pozitif yönde korelasyon olduğu görüldü ($r = 0,463$; $p = 0,01$).

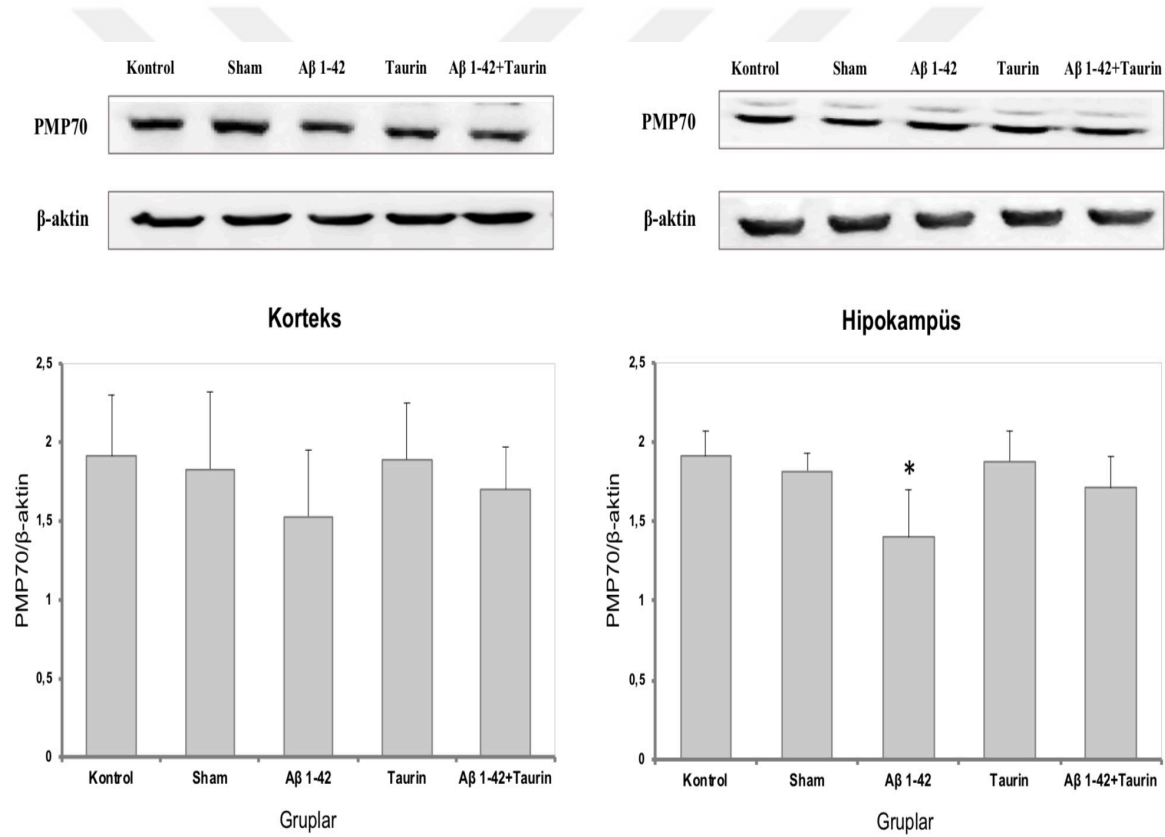


Şekil 4.9. PEX14 ekspresyonlardaki değişimler

Western blot yöntemi ile elde edilen korteks ve hipokampus dokularına ait bant yoğunlukları yükleme kontrolü olarak seçilen β -aktine oranlanarak (PEX14/ β -aktin) standardize edilmiştir ($n=6$). Korteks ve hipokampus dokularındaki gruplar arasında PEX14/ β -aktin oranındaki değişimler grafiklerde gösterilmiştir. *; kontrol grubuna, ▲; taurin grubuna kıyasla $p<0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.

4.3.3. PMP70 ekspresyonlarındaki değişimler

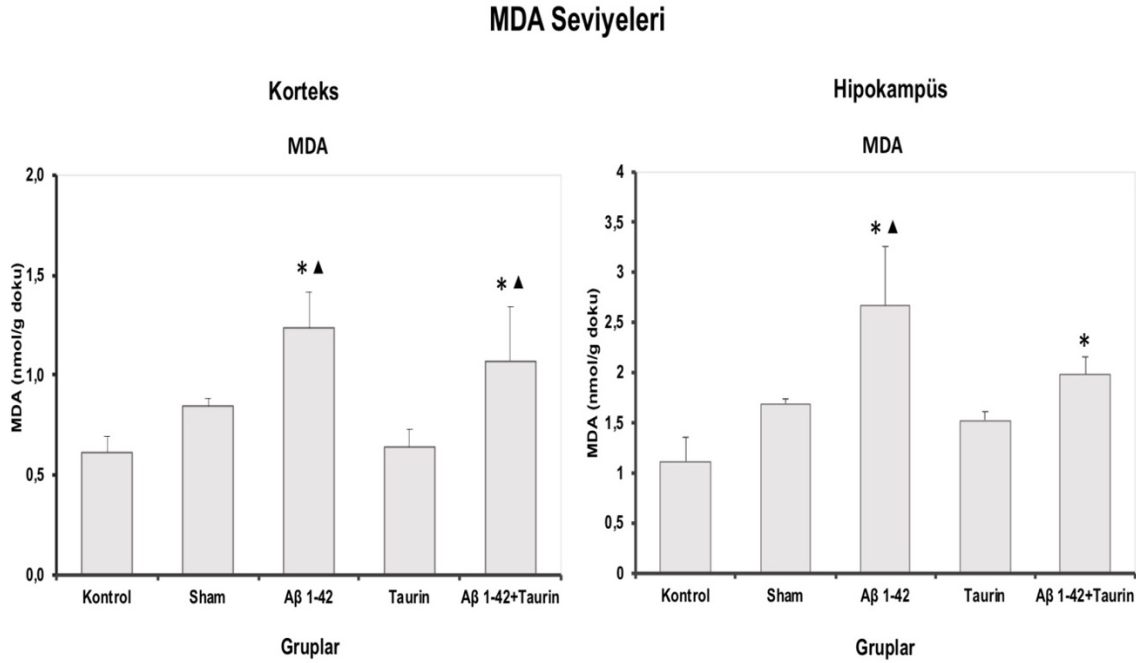
Western blot analizi ile elde edilen sonuçlara göre korteks dokusunda PMP70 ekspresyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,01$). Hipokampus dokusunda ise PMP70 ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla A β 1-42 grubunda anlamlı olarak azaldı ($p<0,01$). Taurin uygulamasının; A β 1-42 uygulaması ile görülen PMP70 ekspresyonundaki düşüşü azalttığı görüldü. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,01$) (Şekil 4.10) (Çizelge 4.7). Ayrıca western blot analiz sonuçlarına göre korteks ve hipokampus PMP70 düzeyleri arasında pozitif yönde korelasyon olduğu görüldü ($r = 0,5$; $p = 0,005$).



Şekil 4.10. PMP70 ekspresyonlardaki değişimler

Western blot yöntemi ile elde edilen korteks ve hipokampus dokularına ait bant yoğunlukları yükleme kontrolü olarak seçilen β -aktine oranlanarak (PMP70/ β -aktin) standardize edilmiştir ($n=6$). Korteks ve hipokampus dokularındaki gruplar arasında PMP70/ β -aktin oranındaki değişimler grafiklerde gösterilmiştir. *; kontrol grubuna kıyasla $p<0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.

4.4. MDA ve GSH seviyelerindeki değişimler

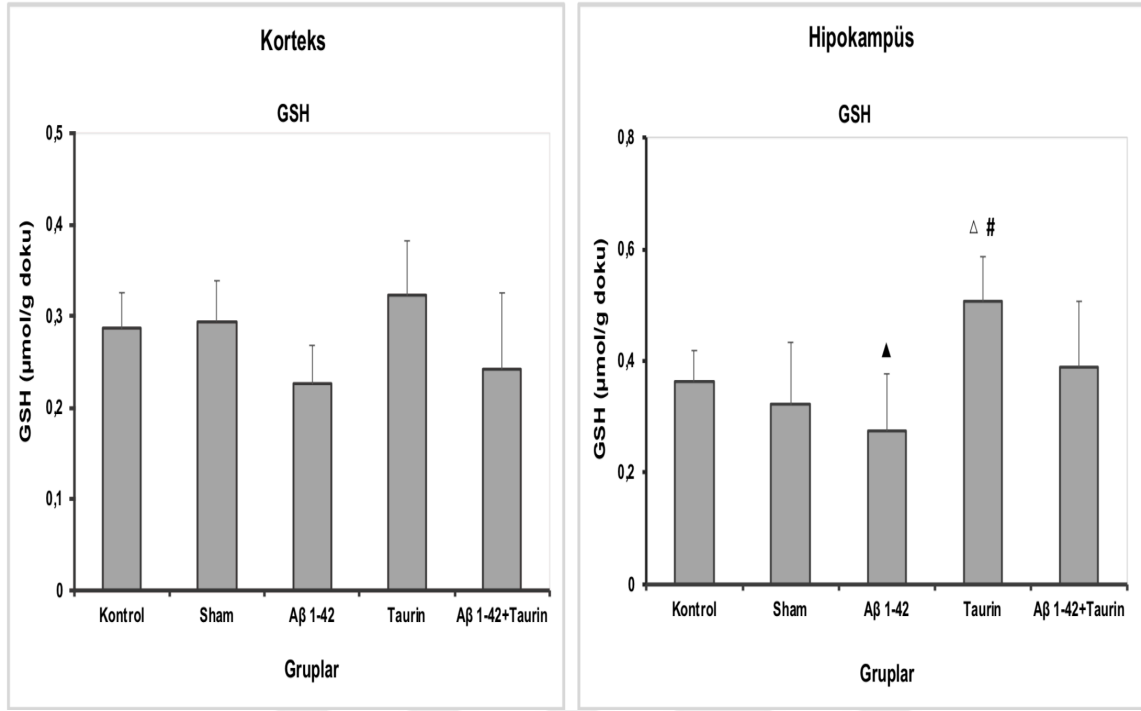


Şekil 4.11. MDA seviyelerindeki değişimler

Korteks ve hipokampus dokularında ölçülen MDA seviyeleri nmol/g doku olarak verilmiştir. *; kontrol grubuna, ▲; taurin grubuna kıyasla $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.

Aβ 1-42 uygulaması ile korteks ve hipokampüste MDA düzeylerinin anlamlı olarak arttığı bulundu ($p < 0,01$). Taurin, MDA düzeylerini azalttı fakat bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p > 0,01$) (Şekil 4.11) (Çizelge 4.6 ve 4.7). MDA düzeyleri açısından her iki beyin bölgesi arasında pozitif yönde korelasyon saptandı ($r = 0,707$; $p = 0,01$).

GSH Seviyeleri



Şekil 4.12. GSH seviyelerindeki değişimler

Korteks ve hipokampus dokularında ölçülen GSH seviyeleri $\mu\text{mol/g doku}$ olarak verilmiştir. ▲; taurin grubuna, △; Aβ 1-42 grubuna, #; sham grubuna kıyasla $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.

GSH seviyelerinin; kortekste, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediği saptandı ($p > 0,01$). Fakat hipokampüste Aβ 1-42 uygulamasının GSH seviyelerini; taurin grubuna kıyasla düşürdüğü, taurin uygulamasının ise sham ve Aβ 1-42 grubuna kıyasla anlamlı olarak arttırdığı görüldü ($p < 0,01$) (Şekil 4.12) (Çizelge 4.2). GSH düzeyleri açısından her iki beyin bölgesi arasında korelasyon saptanmadı ($r = 0,173$; $p = 0,361$).

Çizelge 4.6. Grupların korteks dokularına ait bulgular

Korteks					
	Kontrol	Sham	Aβ 1-42	Taurin	Aβ 1-42+Taurin
Katalaz/β-aktin	1,87± 0,24	1,70± 0,26	*▲1,21± 0,32	1,85± 0,22	1,59± 0,21
PEX14/β-aktin	1,65± 0,34	1,60± 0,33	1,39± 0,30	1,81± 0,39	1,64± 0,33
PMP70/β-aktin	1,91± 0,40	1,83± 0,49	1,53± 0,42	1,89± 0,36	1,70± 0,28
MDA nmol/g doku	0,61± 0,08	0,84± 0,04	*▲1,23± 0,18	0,64± 0,09	*▲1,07± 0,27
GSH μmol/g doku	0,29± 0,06	0,29± 0,05	0,23± 0,10	0,32± 0,07	0,24± 0,06

Veriler; ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. *; kontrol grubuna, ▲; taurin grubuna kıyasla p<0,01 düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.

Çizelge 4.7. Grupların hipokampus dokularına ait bulgular

Hipokampus					
	Kontrol	Sham	Aβ 1-42	Taurin	Aβ 1-42+Taurin
Katalaz/β-aktin	1,82± 0,48	1,76± 0,44	1,55± 0,48	1,83± 0,43	1,73± 0,44
PEX14/β-aktin	2,10± 0,27	2,04± 0,18	*▲1,64± 0,12	2,20± 0,20	1,93± 0,22
PMP70/β-aktin	1,91± 0,16	1,82± 0,12	*1,40± 0,31	1,88± 0,19	1,71± 0,21
MDA nmol/g doku	1,12± 0,24	1,69± 0,04	*▲2,67± 0,59	1,53± 0,08	*1,98± 0,17
GSH μmol/g doku	0,36± 0,09	0,32± 0,02	▲0,27± 0,09	▲# 0,51± 0,08	0,39± 0,05

Veriler; ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. *; kontrol grubuna, ▲; taurin grubuna, △; Aβ 1-42 grubuna, #; sham grubuna kıyasla p <0,01 düzeyinde anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir.



5. TARTIŞMA

Çalışmamızda icv A β 1-42 enjeksiyonu ile yaşlı sıçanlarda deneysel AH modeli oluşturduk. Hayvanların uzaysal öğrenme ve bellek performanlarını ve anksiyete benzeri davranışlarını MST ve YAL testi ile değerlendirdik. İçme suyu ile verilen 1000 mg/kg/gün dozda kronik taurin takviyesinin bilişsel fonksiyonlar üzerindeki etkisini ve peroksizomların bu süreçteki rolünü araştırdık.

Yaşlanan toplumlarda nörodejeneratif bozukluklar oldukça ön plana çıkmaktadır. AH yaşlılarda görülen demans tablolarının yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır. Bu nedenle hastalığın erken ve doğru tanısı zorunlu hale gelmiştir (Ferri ve diğerleri, 2005). AH'nin başlamasında ve ilerlemesinde en olası faktör A β olarak bilinmektedir. Amiloid kaskad hipotezine göre; A β 1-42 seviyesinin artması, AH başlangıcı ile daha fazla paralellik gösterir (Hardy ve Selkoe, 2002).

Sıçanlarda deneysel olarak AH'nin oluşturulması için sentetik veya doğal olarak salgılanan A β 1-40, A β 1-42 ve A β 25-35 peptidlerinin farklı dozları araştırmacılar tarafından in vivo çalışmalarda yaygın olarak kullanılan fragmanlardır. Birçok araştırmacı, kemirgenlerde başta icv veya intrahipokampal olmak üzere beynin spesifik bölgelerine çeşitli tiplerde A β fragmanının akut veya kronik infüzyonunun, beynin bazı kısımlarında nörodejenerasyona, ayrıca öğrenme ve bellek bozukluklarına neden olabileceğini bildirmiştir (Bagheri ve diğerleri, 2013; Ghofrani ve diğerleri, 2015; Kasza ve diğerleri, 2017; Sipos ve diğerleri, 2007). A β türleri çok dikkatli uygulandığında, ucuz ve tekrar edilebilir olması nedeniyle son dönemde AH modeli oluşturmak için sıklıkla kullanılmaktadır (Salari ve Bagheri, 2016).

Erkek wistar sıçanların medial septumuna sentetik A β fragmanlarının farklı türlerinin enjekte edildiği bir çalışmada, hipokampal asetilkolin salınımı transversal mikrodializ ile değerlendirilmiş ve asetilkolin salınımında belirgin bir azalma gözlenmiştir. Farklı fragmanların enjeksiyonundan elde edilen sonuçlara göre hipokampal asetilkolin salınımı; A β 12-28 ve A β 25-35'te 5 nmol ve A β 1-40'ta 3 nmol olarak bulunmuştur. Bu veriler, A β peptidlerin septal enjeksiyonunun, septo-hipokampal kolinerjik sistemin

hipofonksiyonuna neden olduğunu göstermektedir (Abe, Casamenti, Giovannelli, Scali ve Pepeu, 1994).

Farelerin entorinal korteksine bilateral olarak A β 1-42 fragmanının enjekte edildiği bir çalışmada; davranış performansı enjeksiyondan 10 ila 17 gün sonra değerlendirilmiş ve yapılan bu çalışmada A β 1-42 enjeksiyonunun nesne tanıma belleğinde bozulmaya neden olduğu ortaya konulmuştur. Davranış testlerinden sonra yapılan immünohistokimyasal analizde entorinal kortekste plak benzeri tortular gözlenmiştir. Bu sonuçlar, entorinal kortekste deneysel olarak indüklenen amiloid patolojisinin, AH'nin erken evrelerinde gözlenenlere benzeyen, seçici bilişsel bozuklukları indüklediğini göstermektedir (Sipos ve diğerleri, 2007).

Günümüzde intrahipokampal (Shaerzadeh, Motamedi, Minai-Tehrani ve Khodaghali, 2014) ve icv (Eskandari-Roozbahani, Shomali ve Taherianfard, 2019; Kasza ve diğerleri, 2017) enjeksiyon ile A β 1-42 verilen sıçanlarda uzaysal öğrenme ve bellek performanslarının bozulduğu, yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur.

İcv enjeksiyon ile erkek erişkin sıçanlara; 5 μ g/ μ L dozda A β 1-42'nin lateral ventriküllere verildiği bir çalışmada öğrenme ve bellek performansının bozulduğu bizim çalışmamıza benzer şekilde MST ile gösterilmiştir (Eskandari-Roozbahani ve diğerleri, 2019).

MST, kemirgenlerin dairesel bir havuz içinde uzaysal ipuçlarından faydalanarak sudan kaçıp, gizlenmiş veya görünür bir platforma ulaşmaya çalıştıkları düzenektir. Sıçan ve farelerde hipokampüse bağlı uzaysal öğrenme ve bellek performanslarını değerlendirmek için kullanılmaktadır (Reeta ve diğerleri, 2017). MST davranışsal nörobilim alanında en çok tercih edilen modellerden biridir (Puzzo, Lee, Palmeri, Calabrese ve Arancio, 2014). Biz de bu nedenle çalışmamızda deneysel Alzheimer modeli oluşturulan sıçanlarda uzaysal öğrenme ve bellek performanslarını değerlendirmek için MST düzeneğini kullandık. Sıçanlarda icv enjeksiyon ile lateral ventriküllere 5 μ l dozda bilateral A β 1-42 uygulaması yaptığımız çalışmamızda, iyileşme sürecini takip eden 7-14. günler arasında davranış testlerinden elde ettiğimiz bulgulara göre A β 1-42 uygulamasının literatür ile uyumlu bir şekilde uzaysal öğrenme ve bellek fonksiyonlarını etkilediğini gözlemledik (Eskandari-Roozbahani ve diğerleri, 2019; Sipos ve diğerleri, 2007). 4 günlük platformlu havuzda gerçekleştirilen ve kaçış latansı performanslarının incelendiği süreçte bütün gruplarda 4.

günde platforma ulaşma süreleri ilk güne göre anlamlı derecede düşüktür. Ancak 4. günde platforma ulaşma süresi en az olan grup sadece taurin uygulaması yapılan gruptur. 4. günde platforma en geç ulaşan grup ise Aß 1-42 grubudur. Hayvanların 5. günde gerçekleştirilen prob testinde hedef kadranda geçirdikleri sürenin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olması, Aß 1-42 uygulamasının hayvanların bilişsel fonksiyonları üzerinde olumsuz etki yaptığını göstermektedir. Prob test sonuçlarına göre taurin takviyesi yapılan hayvanların, bilişsel fonksiyonları düzeltici yönde bir eğilim olsa da fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

İlk olarak Pellow ve arkadaşları tarafından geliştirilen YAL testi (Pellow ve File, 1986) başta anksiyete benzeri davranışlar olmak üzere öğrenme ve bellek fonksiyonlarını değerlendirmek için kemirgenlerde basit ve güvenilir bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Anksiyete, korku ve endişe gibi emosyonları içeren bir durumdur. Endişeli hayvanlar, daha az hareket etme ve YAL'ın kapalı kollarında kalma eğilimindedir. Ayrıca anksiyeteye işaret eden diğer davranış değerlendirmeleri; kapalı kol üzerinde geçen zamanın uzaması, donup kalma süresindeki artış, açık kola giriş sayısındaki azalma, merkezi alanda gezinme süresindeki azalmadır. Bu test özellikle aksiyetenin değerlendirilmesinde kullanılır, ancak hafızayı etkileyen ve öğrenmeyi ilgilendiren süreçleri değerlendirmek için de kullanılmaktadır. Bu testte pasif sakınma deneğin cezadan kaçınmak için hareketsiz kalmayı öğrenmesini ifade eder (Gargiulo, Viana, Graeff, Silva ve Tomaz, 1996). Günümüzde YAL testi kemirgenlerde oluşturulan birçok hastalık modelinin ve ilaç etkinliğinin anksiyete üzerine etkisini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Jung ve Kim, 2019; Kim ve diğerleri, 2014; Vuralli, Wattiez, Russo ve Bolay, 2019).

Biz de çalışmamızda hem Aß 1-42 nörotoksitesinin hem de taurinin başta anksiyete olmak üzere öğrenme ve bellek fonksiyonları üzerine etkisini incelemek için YAL testini kullandık. Açık ve kapalı kollara giriş sayısı, açık ve kapalı kollarda kalış süresi ve iki ayağı üzerine kalkma sayısı değerlendirdiğimiz parametreler oldu. Normalde kemirgenler yükseklik korkusuyla birlikte açık kollarda kendilerini güvende hissetmezler. Labirenti keşfetmek için açık ve kapalı kollarda geçişler yaparlar ve iki ayakları üzerine kalkarlar. Elde ettiğimiz veriler sonucunda gruplar arasında iki ayağı üzerine kalkma sayısı arasında anlamlı farklılık bulunmadı. Bütün hayvanlar labirenti keşfetmeye çalıştı. Ancak Aß 1-42 grubunun lokomotor aktivitesi oldukça artmıştı, açık ve kapalı kollar arasındaki geçiş sayısı bütün gruplardan anlamlı olarak yüksekti ve gruplar arasında en çok labirentten

düşen grup oldu. Bu grup için açık ve kapalı kolların ayrımı yoktu. Taurin ise hayvanların kapalı kolda kalış süresini anlamlı derecede arttırdı. Ve bu gruptaki (taurin ve taurin+A β 1-42 grubu) hayvanlar kapalı kolda farklı sürelerde donup kaldı. Bu sonuçlar taurinin anksiyeteye ve anksiyeteye eşlik eden emosyonel öğrenmeye sebep olduğunu göstermektedir. Taurin kronik olarak 6 hafta uygulandığında 1000 mg/kg/gün dozda anksiyeteye sebep oldu. Elde ettiğimiz bu sonuç literatürde az sayıda çalışma ile benzerlik göstermektedir (El Idrissi ve diğerleri, 2009).

SSS'de en bol bulunan endojen amino asitlerden biri olan taurin son zamanlarda, nörolojik rahatsızlıklar için bilişsel bir güçlendirici terapötik ajan olarak önerilmektedir (Akande ve diğerleri, 2014; Gebara ve diğerleri, 2015; Jia ve diğerleri, 2016). Ancak literatürde SSS üzerinde taurinin bu yararlı etkilerinin yanı sıra zararlı etkilerini (El Idrissi ve diğerleri, 2009; Neuwirth ve diğerleri, 2013) hatta toksik etkilerini (Chen ve diğerleri, 2019) gösteren çalışmalar da mevcuttur. Taurinin bu farklı etkileri muhtemelen uygulamanın yapılış şekline (içme suyu, gavaj yöntemi, intraperitoneal, icv veya intrevenöz yolla), veya süresine (akut veya kronik oluşuna) göre değişebilir. Ayrıca deneyde kullanılan hayvanın türüne (fare, sıçan veya kobay gibi) göre taurinin dozu ve verililiş şekli farklı etkiler yaratabilir.

7 aylık transgenik Alzheimer modeli fare kullanılan bir çalışmada, hayvanlara 6 hafta boyunca içme suyu ile taurin verilmiştir. Farelere 1000 mg/kg/gün taurin uygulamasının Y labirent sonuçlarına göre uzaysal bellek kapasitesini arttırdığı gösterilmiştir (Kim ve diğerleri, 2014).

Yapılan bir diğer çalışmada 6 haftalık farelere icv olarak 5 μ l A β enjeksiyonu yapılarak Alzheimer modeli oluşturulmuştur. Taurinin A β enjeksiyonunu takiben 3. günden 7. güne kadar 250 mg/kg/gün olarak oral yoldan uygulandığı bu çalışmada, taurinin uzamsal hafızayı önemli ölçüde arttırdığı bulunmuştur (Jang ve diğerleri, 2017).

Deneysel AH modeli oluşturmak için icv streptozotosin uygulanan sıçanlarda, uzaysal öğrenme ve bellek performansının düştüğü ve oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir. Hayvanlara 28 gün boyunca 60 veya 120 mg/kg/gün dozda kronik taurin takviyesi yapılmış ve MST ve pasif kaçınma testi sonuçlarına göre bellek performansında artış olduğu bulunmuştur (Reeta ve diğerleri, 2017).

Bizim çalışmamızda sıçanlara 6 hafta boyunca, oral yoldan içme suyu ile 1000 mg/kg/gün dozda taurin uygulaması hayvanlarda uzaysal öğrenme ve bellek performansı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yaratmadı. Literatürdeki çalışmalar göz önüne alındığında, taurinin bizim çalışmamızda uzaysal öğrenme ve bellek performansı üzerinde anlamlı iyileştirici etkiler göstermemesi, bununla birlikte anksiyete neden olması deneyde kullandığımız sıçanların diğer çalışmalarda kullanılanlardan çok daha yaşlı olmaları sebebiyle olabilir. Ayrıca taurinin hayvanlara veriliş şekli ve dozu farklı etkilere sebep olabilmektedir.

Yapılan bir çalışmada kronik ve akut taurin tedavisinin anksiyete ve lokomotor davranışlar üzerindeki etkileri, önemli iki davranış testi olan YAL ve açık alan testi uygulamalarıyla incelenmiştir. Bu iki test koşulu farklı endişe seviyeleri yaratmış ve taurinin hem anksiyolitik hem de anksiyojenik etkileri gözlenmiştir. Taurin tedavisi için kullanılan iki uygulama şekli, yani akut enjeksiyon ve kronik takviye hayvanlarda farklı etkiler yaratmıştır. Açık alan testinde, lokomotor aktiviteyi, kronik taurin takviyesi artırırken, akut taurin enjeksiyonu lokomotor aktiviteyi baskılamıştır. Ayrıca kronik taurin takviyesinin, kat edilen toplam mesafede, toplam hareket hızında, hayvanların mobil harcadığı zamanda, hat geçişlerinin sayısında ve hayvanların merkez bölgeye girdiği zamanda bir artışa neden olduğu bulunmuştur. YAL'da ise, akut taurin enjeksiyonu kaygıyı baskılarken kronik taurin takviyesi anksiyojenik etki yapmıştır. Bu bulgular ışığında iki sonuca varılabilir. İlk olarak, bu sonuçlar taurinin öğrenme ve bellek gibi bilişsel fonksiyonlar yanı sıra, kaygı ve lokomotor aktivite modülasyonunda rol oynayabileceğini göstermektedir. İkincisi, akut taurin enjeksiyonu ve kronik taurin takviyesi zıt etkilere sahiptir (El Idrissi ve diğerleri, 2009).

Taurinin, 6-7 aylık farelere testten 15 dakika önce 43 mg/kg/doz şeklinde akut olarak enjekte edildiği veya hayvanların ağırlığının %0,05 oranında kronik olarak 4 hafta boyunca içme suyu ile takviye edildiği bir çalışmada ağrı eşiği duyarlılığı ağrı şoku yöntemi ile; ayrıca şartlı korku, işitsel şartlandırmayla ölçülmüştür. Bu çalışmada kronik taurin maruziyetinin daha fazla korkuya neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bir kez olumsuz öğrenme uyandırıldığında farelerin yeni ortamlara aşırı duyarlı hale geldiği ortaya konulmuştur (Neuwirth ve diğerleri, 2013).

Beyindeki taurin seviyelerinin, hipereksitabiliteyi önlemek için nöroprotektif bir mekanizmayla stresörlere yanıt olarak arttığı iddia edilmektedir (Riback ve arkadaşları, 1993; Suge ve diğerleri, 2007). Bununla birlikte, kronik taurin takviyesinin sistemin birikimini arttırarak somatostatin ekspresyonunu azalttığını, bunun sonucunda amigdala ve periakvaduktal gri cevherde GABAerjik projeksiyon nöronları yoluyla korku inhibisyonunun ayrışmasına neden olduğunu ve böylece abartılı donma tepkisinin gözlemlendiğini ortaya koyan çalışmalar literatürde mevcuttur. Bu etkiler akut taurine maruz kalma ile görülmez (Neuwirth ve diğerleri, 2013; Suge ve diğerleri, 2007).

Oksidatif stres yaşlanma sürecini hızlandıran önemli bir etkidir (Maynard ve diğerleri, 2008). Ayrıca yaşlanma ile ortaya çıkan hastalıklarla yakından ilişkilidir (Dai ve diğerleri, 2014). Mitokondri ve peroksizomlar ROS üretiminde önemli iki organeldir (Cipolla ve Lodhi, 2017; Schrader ve diğerleri, 2015). Aynı zamanda, her iki organel de kendi ROS süpürücü enzimlerine sahiptir. Mitokondri ve peroksizomlar metabolik olarak bağlanır çünkü yağ asidi β -oksidasyonu gibi ortak yolları paylaşırlar. Hücresel oksidatif stres ve peroksizomal (mitokondri ile birlikte) aktivite, hücre sağ kalımı ve sağlığı için önemlidir (Bonekamp ve diğerleri, 2009; Schrader ve Fahimi, 2006). Mitokondri ve peroksizomların ilişkisi oksidatif stres üzerinde oldukça önemli role sahiptir. Literatürde multifaktöriyel Alzheimer hastalığının en önemli sebeplerinden biri olan oksidatif stresin mitokondri ile ilişkisini inceleyen çalışmalar son dönemde çoğalmaktadır (De la Monte ve Wands, 2006; Wang ve diğerleri, 2014). Ancak bu süreçte peroksizomların rolü mitokondri yanında hep göz ardı edilmiştir.

Memelilerde peroksizomlar eter-fosfolipid biyosentezi, yağ asidi α - ve β -oksidasyonu, safra asidi ve dokosaheksaenoik asit sentezi, glikoksilat metabolizması, amino asit katabolizması, poliamin oksidasyonu ve reaktif oksijen ve azot türlerinin metabolizması (sırasıyla ROS ve RNS) dahil olmak üzere farklı biyokimyasal yollarda vazgeçilmez bir rol oynar. Ayrıca son on yıl boyunca, memeli peroksizomlarının yalnızca metabolik organeller olmadığı, enflamasyon, doğuştan gelen bağışıklık ve hücre kaderi dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçleri modüle eden sinyal platformları olarak da hizmet edebileceği anlaşılmıştır. Bu metabolik süreçlerde veya sinyalleme fonksiyonlarının herhangi birinde ortaya çıkan anormallik, genetik bozukluklara veya yaşla ortaya çıkan hastalıklara (nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi) doğrudan veya dolaylı olarak neden olabilir (Fransen ve diğerleri, 2017).

Yaşla peroksizomal aktivitelerin azalmasına bağlı olarak, azalan CAT aktivitesi (Marcus ve diğerleri, 1998), düşük plazmalojen sentezi (Goodenowe ve diğerleri, 2007) ve hücre ölümüne karşı duyarlılığın artması, özellikle nekrozu (Manivannan, Scheckhuber, Veenhuis ve Van der Klei, 2012) içeren yaşlanma ve demansla ilişkili peroksizomal fonksiyon bozuklukları, AH gibi nörodejeneratif hastalıkları tetikleyebilir (Terlecky ve diğerleri, 2006). AH gelişiminde peroksizomların potansiyel rolünün ilk kanıtı, sıçan hipokampal nöron kültürleri üzerinde gösterilmiştir. Bu hücrelerde, güçlü bir peroksizom proliferatör-aktif edici reseptör agonisti olan Wy-14.463 tarafından indüklenen peroksizomal proliferasyonun, A β peptidinin indüklediği hücre ölümüne karşı koruduğu gösterilmiştir (Santos ve diğerleri, 2005). Ayrıca transgenik bir fare modelinde, ABCD3 (PMP70) ve ACOX-1 ifadesinin indüklenmiş olması, muhtemelen mitokondriyal disfonksiyonlara karşı telafi edici bir cevap olarak ortaya çıkmaktadır (Fanelli ve diğerleri, 2013). Ayrıca insanlarda AH patolojisinin ilerlemesine katkıda bulunabilecek önemli peroksizomal değişiklikler bildirilmiştir. Çeşitli çalışmalarda, beyin bölgelerinde ve AH hastalarının eritrositinde etanolamin plazmalojen ve kolin plazmalojen seviyelerinde azalma tanımlanmıştır. Bu azalma, hastalık şiddeti ile pozitif olarak korele bulunmuştur (Igarashi ve diğerleri, 2011; Wood ve diğerleri, 2010). Ayrıca, bu hastaların beynindeki nöritlerde peroksizom sayısının azaldığı bildirilmiştir (Kou ve diğerleri, 2011). AH hastalarının beyinde ve karaciğerinde DHA seviyesinde azalma gözlenmiştir (Astarita ve diğerleri, 2010).

PPAR'ler hem mitokondriyal hem de peroksizomal biyogenezi ve fonksiyonu düzenler. PPAR koaktivatörleri arasında olan PGC1 α ; yağ asidi oksidasyonu, antioksidan kapasite ve mitokondriyal/peroksizomal biyogenez ve işleyiş gibi birçok fonksiyon için kapsamlı olarak çalışılmaktadır. Oksidatif stres ve PGC1 α ekspresyonunun azalmasıyla ortaya çıkan nükleik asit oksidatif hasarı AH ile ilişkilendirilmektedir. Stres ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu oksidatif stres hipotezini desteklemektedir. ROS erken salınımının amiloidojenik APP işlenmesini teşvik ettiği yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur. PGC1 α AH'de oksidatif strese karşı koruyabilir ve böylece nöronal hücre hasarını önleyebilir, mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu iyileştirebilir ve bilişsel bozulmayı hafifletebilir (Sweeney ve Song, 2016).

Yapılan bir çalışmada hipokatalazemik hastalardan elde edilen insan fibroblast hücrelerinin, H₂O₂'yi biriktirdiği gösterilmiştir. CAT eksikliği, yapılan bu çalışmada DNA

ve protein hasarı, düşük hücre proliferasyonu ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu gibi hücresel yaşlanma belirtileri ile karakterize edilmiştir (Wood ve diğerleri, 2006).

3, 6, 9, 12, 18 aylık transgenik fare modelinde gerçekleştirilen bir çalışmada AH'nin başlangıcında ve ilerlemesinde peroksizomların olası rolü araştırılmıştır. Transgenik ve vahşi tip hayvanların hipokampüsünde peroksizomlar; PMP70, PEX14 ve CAT ekspresyonu analiz edilerek incelenmiştir. 18 aylık hayvanların hipokampüsünde PMP70 ve PEX14 ekspresyonu, peroksizom sayısındaki artışa bağlı olarak artmıştır. Ancak peroksizomal matriks enzimi CAT'ın ekspresyonu, değişmemiştir (Fanelli ve diğerleri, 2013).

2016 yılında yapılan bir çalışmada, prenatal stres kaynaklı öğrenme ve bellek bozukluğunda taurinin rolünü araştırmak için, doğum öncesi annede kısıtlama stresi oluşturulmuş bir aylık sıçan yavrularında bilişsel işlevi test etmek için MST testi kullanılmıştır. Doğum sonrası erken dönemde taurin uygulaması Akt-CREB-PGC1 α yolunun aktivasyonu ile bilişsel işlevi önemli ölçüde iyileştirmiştir. Taurin uygulaması ayrıca mitokondriyal ROS seviyesini de azaltmıştır (Jia ve diğerleri, 2016).

Biz de deneysel Alzheimer modeli oluşturduğumuz 28 $\pm$ 4 aylık yaşlı sıçanlar üzerinde gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda hayvanların korteks ve hipokampüsünde peroksizomal proteinler olan; PMP70, PEX14 ve CAT ekspresyonunu western blot analizi ile inceledik. Önemli bir peroksizomal enzim olan ve son dönemde yapılan çalışmalarda yaşlanma ile ilişkilendirilen CAT, yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklarda azalır (Fanelli ve diğerleri, 2013). Elde ettiğimiz sonuçlar literatürde yer alan çalışmalarla uyumludur. A β 1-42 grubunun hem korteks hem de hipokampus dokusunda CAT ekspresyonunun azaldığını gözlemledik. Ancak hipokampüsteki azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kronik taurin takviyesi yapılan gruplarda CAT ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Peroksizomların yapısal proteinleri olan ve peroksizomların miktarı ve fonksiyonu için önemli biyolojik belirteçler olarak kabul edilen PMP70 ve PEX14 ekspresyonlarından elde ettiğimiz sonuçlar literatürdeki sınırlı sayıdaki çalışmayla çelişmektedir. Literatürdeki çalışmalar yaşlanmada ve nörodejeneratif hastalıklarda fonksiyonel olarak duruma adapte olmak için peroksizomların sayısını arttırdığını ve bu nedenle PMP70 ve PEX14 ekspresyonunun arttığını göstermektedir (Fanelli ve diğerleri, 2013). Ancak biz çalışmamızda A β 1-42 grubunda hem PMP70 hem de PEX14

ekspresyonunun, hipokampüste anlamlı olmak üzere korteks ve hipokampüste azaldığını bulduk. Muhtemelen çalışmamızda kullandığımız çok daha yaşlı hayvanların duruma adaptasyon sağlamak için peroksizom sayısını ve fonksiyonunu arttıramadığını düşünmekteyiz. Kronik taurin takviyesi de PMP70 ve PEX14 ekspresyonları üzerinde anlamlı bir farka neden olmamıştır. Literatürde taurinin peroksizomlarla ilişkisini inceleyen az sayıdaki çalışmada sadece PPAR'ler üzerinden değerlendirmeler yapılmıştır. Ve bu çalışmalar ilişkiyi oksidatif stres parametreleri üzerinden kurmuştur. Oksidatif stres PPAR'leri azaltırken, taurin uygulamasının PPAR seviyesini arttırdığı ortaya konulmuştur (Bai ve diğerleri, 2016). Bu bağlamda taurin uygulamasının PMP70 ve PEX14 ekspresyonlarını anlamlı olarak değiştirmese de PPAR üzerinde artırıcı bir etki yapmış olması mümkündür.

Yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıkların en önemli nedenlerinden birinin oksidatif stres olduğu bilinir. Oksidatif stres serbest radikallerin arttığı ve antioksidan sistemin yetersiz kalması sonucunda hücresel düzeyde hasarla sonuçlanan önemli bir patofizyolojik olaydır. Serbest radikallerin açığa çıkması; lipid peroksidasyonuna ve hücre zarı ve proteinlerin oksidatif hasarına yol açar (Repetto ve diğerleri, 1999; Smith ve diğerleri, 2005). Çalışmamızda Aβ 1-42 uygulaması yaptığımız gruplarda MDA seviyeleri hem korteks hem de hipokampüste anlamlı olarak artmıştır. Elde ettiğimiz bu sonuçlar yani serbest radikal hasar ürünlerinin artışı diğer araştırmacıların sonuçları ile uyumlu bulunmuştur (Reeta ve diğerleri, 2017; Repetto ve diğerleri, 1999). Taurin takviyesi ise Aβ 1-42 uygulaması ile artan MDA seviyelerini azaltıcı etki göstermiştir. Ayrıca antioksidan kapasiteyi gösteren GSH düzeyleri Aβ 1-42 uygulaması yaptığımız grupta hipokampüste düşük olarak bulunmuştur ve taurin takviyesi hipokampüste GSH seviyelerini de anlamlı derecede yükseltmiştir. Elde ettiğimiz bu veriler taurinin özellikle oksidatif stresi azaltıcı yönde etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuç

AH multifaktöriyel bir süreç sonucunda ortaya çıkar. Bu hastalığın teşhisi ve tedavisi için yeterli bilgiye hala sahip değiliz. Bu yönüyle AH ile ilgili çalışmalar oldukça önem kazanmaktadır. A β 1-42 uygulaması ile deneysel Alzheimer modeli oluşturduğumuz ve kronik taurin takviyesinin etkisini incelediğimiz çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar şunlardır;

- i. Yaşlı sıçanlarda icv olarak lateral ventriküllere 5 μ l dozda A β 1-42 enjeksiyonu, deneysel Alzheimer modeli oluşturmamızı sağlamıştır. MST deneyi prob test sonucuna göre A β 1-42 grubundaki sıçanların hedef kadranda geçirdikleri sürenin azalması, hayvanların uzaysal öğrenme ve bellek performansındaki azalmanın göstergesidir.
- ii. YAL testinde A β 1-42 uygulanan gruptaki sıçanlarda açık ve kapalı kol ayrımının olmaması, bu hayvanların emosyonel öğrenme performansının da düştüğünü gösterir.
- iii. Kronik taurin takviyesi MST testi sonuçlarına göre yaşlı sıçanlarda uzaysal öğrenme ve bellek performanslarını anlamlı olarak arttıramamıştır. Bununla birlikte YAL testinde kapalı kolda geçirdikleri sürenin artmış olması, anksiyeteye eşlik eden emosyonel öğrenmenin gerçekleştiğini düşündürmektedir.
- iv. A β 1-42 enjeksiyonu yaşlı sıçanlarda peroksizomal proteinlerin ekspresyonlarını özellikle hipokampüste anlamlı olarak azaltmıştır. Bu azalma taurin uyguladığımız gruplarda artış eğilimi gösterse de fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Daha fazla hayvan sayısı kullanılması durumunda farkın anlamlı çıkması olasıdır.
- v. A β 1-42 enjeksiyonu hem korteks hem de hipokampüste MDA düzeylerinin anlamlı derecede artışına; kortekste CAT'ın, hipokampüste ise GSH düzeylerinin azalmasına sebep olmuştur. Bu oluşturduğumuz AH modelinin oksidan hasarı tetiklediğini gösterir. Kronik taurin takviyesi korteksde A β 1-42 enjeksiyonu ile azalan CAT

seviyelerini, hipokampüste ise GSH düzeylerini arttırmıştır. Bu da taurinin antioksidan kapasiteyi arttırdığını gösterir.

6.2. Öneriler

- i. Farklı deneysel Alzheimer modeli çalışmaları AH teşhis ve tedavisi için devam etmelidir.
- ii. Oksidatif stres, yaşlanma ve yaşlanma ile ortaya çıkan nörodejeneratif hastalıklarda oldukça önemli role sahip olan peroksizomal fonksiyonların ayrıntılı olarak incelenmesi, Alzheimer hastalığının tanı ve tedavisi için yeni ve etkili bir stratejik yaklaşım olabilir.
- iii. Bu süreçte taurinin etkinliğini gösteren çalışmalar literatürde oldukça azdır. Farklı türlerde, farklı yaşlarda ve farklı doz denemeleri ile taurinin akut ve kronik etkilerinin ve de peroksizomal fonksiyonlarla ilişkisinin daha ileri çalışmalarla araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Abe, E., Casamenti, F., Giovannelli, L., Scali, C. and Pepeu, G. (1994). Administration of amyloid beta-peptides into the medial septum of rats decreases acetylcholine release from hippocampus in vivo. *Brain Research*, 636(1), 162-166.
- Agrawal, H. C., Davison, A. N. and Kaczmarek, L. K. (1971). Subcellular distribution of taurine and cysteinsulphinate decarboxylase in developing rat brain. *Biochemical Journal*, 122, 759-763.
- Akande, M. G., Aliu, Y. O., Ambali, S. F. and Ayo J. O. (2014). Taurine mitigates cognitive impairment induced by chronic co-exposure of male Wistar rats to chlorpyrifos and lead acetate. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37, 315-325.
- Aksam, E. B., Jungwirth, H., Kohlwein, S. D., Ring, J., Madeo, F., Veenhuis, M. and Van der Klei, I. J. (2008). Absence of the peroxiredoxin Pmp20 causes peroxisomal protein leakage and necrotic cell death. *Free Radical Biology and Medicine*, 45, 1115-1124.
- Aksam, E. B., Koek, A., Kiel, J. A., Jourdan, S., Veenhuis, M. and Van der Klei, I. J. (2007). A peroxisomal lon protease and peroxisome degradation by autophagy play key roles in vitality of *Hansenula polymorpha* cells. *Autophagy*, 3, 96-105.
- Alder, J. T., Chessell, I. P. and Bowen, D. M. (1995). A neurochemical approach for studying response to acetylcholine in Alzheimers disease. *Neurochemical Research*, 20, 769-771.
- Alzheimer, A. (1907). Über Eine Eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-gerichtliche Medizin*, 64, 146-8.
- Alzheimer, A. (1911). Über Eigenartige Krankheitsfälle des Späteren Alters. *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie*, 4, 356–385.
- Ananchaipatana-Auitragoon, P., Ananchaipatana-Auitragoon, Y., Siripornpanich, V. and Kotchabhakdi N. (2015). Protective role of taurine in developing offspring affected by maternal alcohol consumption. *Excli Journal*, 14, 660-671.
- Arsalandeh, F., Ahmadian, S., Foolad, F., Khodagholi, F., Farimani, M. M., and Shaerzadeh, F. (2015). Beneficial Effect of Flavone Derivatives on A β -Induced Memory Deficit Is Mediated by Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Coactivator 1 α : A Comparative Study. *International Journal of Toxicology*, 34(3), 274-283.
- Aruoma, O. I., Halliwell, B., Hoey, B. M. and Butler, J. (1988). The antioxidant action of taurine, hypotaurine and their metabolic precursors. *Biochemical Journal*, 256, 251-256.
- Astarita, G., Jung, K. M., Berchtold, N. C., Nguyen, V. Q., Gillen, D. L., Head, E., Cotman, C. W. and Piomelli D. (2010). Deficient liver biosynthesis of docosahexaenoic acid correlates with cognitive impairment in Alzheimers disease. *PLoS One*, 5(9), e12538.

- Aykaç, G., Uysal, M., Yalçın, A. S., Koçak-Toker, N., Sivas, A. and Oz, H. (1985). The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*, 36(1), 71-6.
- Baes M. and Aubourg P. (2009). Peroxisomes, myelination, and axonal integrity in the CNS. *The Neuroscientist*, 15, 367-379.
- Baes, M. and Veldhoven, P. P. V. (2016). Hepatic dysfunction in peroxisomal disorders. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1863, 956-970.
- Bagheri, M., Rezakhani, A., Nystrom, S., Turkina, M. V., Roghani, M., Hammarstrom, P. and Mohseni, S. (2013). Amyloid beta (1-40)-induced astrogliosis and the effect of genistein treatment in rat: A three-dimensional confocal morphometric and proteomic study. *PLoS One*, 8(10), e76526.
- Bai, J., Yao, X., Jiang, L., Zhang, Q., Guan, H., Liu, S., Wu, W., Qiu, T., Gao, N., Yang, L., Yang, G. and Sun, X. (2016). Taurine protects against As₂O₃- induced autophagy in livers of rat off springs through PPAR γ pathway. *Scientific reports*, 13(6), 27733.
- Baum, M. and Weiss, M. (2001). The influence of a taurine containing drink on cardiac parameters before and after exercise measured by echocardiography. *Amino Acids*, 20(1), 75–82.
- Baysal, A. İ. ve Yeşilbudak, Z. (2003). Alzheimer Hastalığının Klinik Bulguları. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi*, 1(1), 1-5.
- Beach, A., Burstein, M. T., Richard, V. R., Leonov, A., Levy, S. and Titorenko, V. I. (2012). Integration of peroxisomes into an endomembrane system that governs cellular aging. *Frontiers in Physiology*. 3, 283.
- Beaven, S. W., Tontonoz, P. Nuclear Receptors In Lipid Metabolism: Targeting the Heart of Dyslipidemia. (2006). *Annual Review of Medicine*, 57, 313-342.
- Bennett, D. A., Schneider, J. A., Wilson, R. S., Bienias, J. L. and Arnold, S. E. (2004). Neurofibrillary tangles mediate the association of amyloid load with clinical Alzheimer disease and level of cognitive function. *Archives of Neurology*, 61(3), 378-384.
- Bharti, P., Schliebs, W., Schievelbusch, T., Neuhaus, A., David, C., Kock, K., Herrmann, C., Meyer, H.E., Wiese, S., Warscheid, B., Theiss, C. and Erdmann, R. (2011). PEX14 is required for microtubule-based peroxisome motility in human cells. *Journal of Cell Science*, 124, 1759-1768.
- Bonekamp, N. A., Volkl, A., Fahimi, H. D. and Schrader, M. (2009). Reactive oxygen species and peroxisomes: struggling for balance. *BioFactors*, 35, 346-355.
- Boveris, A., Oshino, N., and Chance, B. (1972). The cellular production of hydrogen peroxide. *The Biochemical Journal*, 128, 617-630.
- Braak, H. and Braak, E. (1991). Neuropathological Stageing of Alzheimer-related Changes. *Acta Neuropathologica*, 82, 239-259.

- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Bridsall, T. C. (1998). Therapeutic Applications Of Taurine. *Alternative Medicine Review*, 3(2), 128-36.
- Brites, P., Waterham, H. R. and Wanders R. J. (2004). Functions and biosynthesis of plasmalogens in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1636, 219-231.
- Cao, P. J., Jin, Y. J., Li, M. E., Zhou, R. and Yang, M. Z. (2016). PGC-1alpha may associated with the anti-obesity effect of taurine on rats induced by accurate nucleus lesion. *Nutritional Neuroscience*, 19(2), 86-93.
- Carobrez, A. P. and Bertoglio, L. J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience Biobehavioral Review*, 29, 1193-1205.
- Casini, A. F., Ferrali, M., Pompella, A., Maellaro, E. and Comporti, M. (1986). Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. *The American Journal of Pathology*, 123(3), 520-531.
- Cetin, F. and Dincer, S. (2007). The effect of intrahippocampal beta amyloid (1-42) peptide injection on oxidant and antioxidant status in rat brain. *Annals of the New York Academy Sciences*, 1100, 510-517.
- Cetin, F., Dincer, S., Ay, R. and Guney, S. (2012). Systemic taurine prevents brain from lipopolysaccharide-induced lipid peroxidation in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(15), 1099-1105.
- Chan-Palay, V., Lin, C. T., Palay, S., Yamamoto, M. and Wu, J. Y. (1982). Taurine in the mammalian cerebellum: demonstration by autoradiography with [³H]taurine and immunocytochemistry with antibodies against the taurine- synthesizing enzyme, cysteine-sulfinic acid decarboxylase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79, 2695-2704.
- Chan, C. Y., Sun, H. S., Shah, S. M., Agovic, M. S., Friedman, E. and Banerjee, S. P. (2014). Modes of direct modulation by taurine of the glutamate NMDA receptor in rat cortex. *European Journal of Pharmacology*, 728, 167-175.
- Chan, C. Y., Sun, H. S., Shah, S. M., Agovic, M. S., Ho, I., Friedman, E. and Banerjee, S. P. (2013). Direct interaction of taurine with the NMDA glutamate receptor subtype via multiple mechanisms. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 775, 45-52.
- Chen, C., Xia, S., He, J., Lu, G., Xie, Z. and Han, H. (2019). Roles of taurine in cognitive function of physiology, pathologies and toxication. *Life Sciences*, 17, 116584.
- Chen, G., Nan, C., Tian, J., Jean-Charles, P., Li, Y., Weissbach, H. and Huang, X. P. (2012). Protective effects of taurine against oxidative stress in the heart of MsrA knockout mice. *Journal of Cellular Biochemistry*, 113, 3559-3566.

- Chen, W. Q., Nguyen, M., Carr, J., Lee, Y. J., Jin, H., Foos, T., Hsu, C. C., Davis, K. M., Schloss, J. V. and Wu, J. Y. (2001). Role of taurine in regulation of intracellular calcium level and neuroprotective function in cultured neurons. *Journal of Neuroscience Research*, 66, 612-619.
- Cimini, A., Moreno, S., DAmelio, M., Cristiano, L., DAngelo, B., Falone, S., Benedetti, E., Carrara, P., Benedetti, E., Carrara, P., Fanelli, F., Cecconi, F., Amicarelli, F., Ceru, M. P. (2009). Early biochemical and morphological modifications in the brain of a transgenic mouse model of Alzheimers disease: a role for peroxisomes. *Journal of Alzheimers Disease*, 18(4), 935-52.
- Cipolla, C. M. and Lodhi, I. J. (2017). Peroxisomal dysfunction in age-related diseases. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 28, 297-308.
- Combs, C. K., Johnson, D. E., Karlo, J. C., Cannady, S. B. and Landreth, G. E. (2000). Inflammatory mechanisms in Alzheimers disease: inhibition of beta-amyloid-stimulated proinflammatory responses and neurotoxicity by PPAR gamma agonists. *Journal of Neuroscience*, 20, 558-567.
- Crompton, M. and Andreeva, L. (1993). On the involvement of mitochondrial pore in reperfusion injury. *Basic Research in Cardiology*, 88, 513-523.
- Csernansky, J. G., Bardgett, M. E., Sheline, Y. I., Morris J. C. and Olney J. W. (1996). CSF excitatory amino acids and severity of illness in Alzheimers disease. *Neurology*, 46, 1715-1720.
- Cummings, J. L. (2004). Alzheimers Disease. *The New England Journal of Medicine*, 351(1), 56-67.
- Curran, C. P. and Marczynski, C. A. (2017). Taurine, Caffeine, and Energy Drinks: Reviewing the Risks to the Adolescent Brain. *Birth Defects Research*, 109(20), 1640-1648.
- Curtis, D. R. and Watkins, J. C. (1965). The pharmacology of amino acids related to gamma-aminobutyric acid. *Pharmacological Reviews*, 17, 347-391.
- Dai, D. F., Chiao, Y. A., Marcinek D. J., Szeto H. H. and Rabinovitch P. S. (2014). Mitochondrial oxidative stress in aging and healthspan. *Longevity & Healthspan*, 3, 6.
- Das, J. and Sil, P. C. (2012). Taurine ameliorates alloxan-induced diabetic renal injury, oxidative stress-related signaling pathways and apoptosis in rats. *Amino Acids*, 43(4), 1509-1523.
- Davison, A. N. and Kaczmarek, L. K. (1971a). Taurine – A possible transmitter? *Nature*, 234, 107-115.
- De la Monte, S. M. and Wands, J. R. (2006). Molecular indices of oxidative stress and mitochondrial dysfunction occur early and often progress with severity of Alzheimers disease. *Journal Alzheimers Disease*, 9, 167-181.

- De la Puerta, C., Arrieta, F. J., Balsa, J. A., Botella-Carretero, J. I., Zamarron, I. and Vazquez, C. (2010). Taurine and glucose metabolism: a review. *Nutricion Hospitalaria*, 5(6), 910-919.
- De Luca, A., Pierno, S. and Camerino, D. C. (2015). Taurine: the appeal of a safe amino acid for skeletal muscle disorders. *Journal of Translational Medicine*, 13, 243-261.
- Del Rio, L. A. (2011). Peroxisomes as a cellular source of reactive nitrogen species signal molecules. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 506, 1-11.
- Delille, H. K., Alves, R. and Schrader, M. (2009). Biogenesis of peroxisomes and mitochondria: linked by division, *Histochemistry and Cell Biology*, 131, 441-446.
- Demarcay, H. (1838). Über die Natur der Galle. *Annalen Pharmazie*, 27, 270-291.
- Demarquoy, J. and Le Borgne, F. (2015). Crosstalk between mitochondria and peroxisomes. *World Journal of Biological Chemistry*, 6, 301-309.
- Deori, N. M., Kale, A. Maurya, P. K. and Nagotu S. (2018). Peroxisomes: role in cellular ageing and age related disorders. *Biogerontology*, 19, 303-324.
- Depreter, M., Espeel, M. and Roels, F. (2003). Human peroxisomal disorders. *Microscopy Research and Technique*, 61, 203-223.
- Desvergne, B. and Wahli, W. (1999). Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocrine Reviews*, 20, 649-688.
- Di Monte, D. A., Chan, P. and Sandy, M. S. (1992). Glutathione in Parkinsons disease: a link between oxidative stress and mitochondrial damage? *Annals of Neurology*, 32, 111-115.
- Diano, S., Liu, Z. W., Jeong, J. K., Dietrich, M. O., Ruan, H. B., Kim, E., Suyama, S., Kelly, K., Gyengesi, E., Arbiser, J. L., Belsham, D. D., Sarruf, D. A., Schwartz, M. W., Bennett, A. M., Shanabrough, M., Mobbs, C. V., Yang, X., Gao, X. B. and Horvath, T. L. (2011). Peroxisome proliferation-associated control of reactive oxygen species sets melanocortin tone and feeding in diet-induced obesity. *Nature Medicine*, 17, 1121-1127.
- Dinçer, S. ve Aslan Karakelle, N. (2019). Santral Sinir Sisteminde Taurinin Rolü ve Dozun Önemi. *Gazi Medical Journal*, 30, 227-230.
- Duve, C. D. and Baudhuin, P. (1966). Peroxisomes (microbodies and related particles). *Physiological Reviews*, 46, 323-357.
- El Idrissi, A. and LAmoreaux, W. J. (2008). Selective resistance of taurine-fed mice to isoniazide-potentiated seizures: in vivo functional test for the activity of glutamic acid decarboxylase. *Neuroscience*, 156, 693-699.
- El Idrissi, A. and Trenkner, E. (1999). Growth factors and taurine protect against excitotoxicity by stabilizing calcium homeostasis and energy metabolism. *Journal of Neuroscience*, 19, 9459-9468.

- El Idrissi, A., Boukarrou, L., Heany, W., Malliaros, G., Sangdee, C. and Neuwirth, L. (2009). Effects of taurine on anxiety-like and locomotor behavior of mice. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 643, 207-222.
- Elçioğlu, H. K., Yılmaz, G., İlhan, B. and Karan, M. A. (2018). Alzheimer Hastalığında Deneyisel Hayvan Modelleri. *Nobel Medicus*, 14(1), 5-13.
- Erdmann, R. (2016). Assembly, maintenance and dynamics of peroxisomes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1863, 787-789.
- Eskandari-Roozbahani, N., Shomali, T. and Taherianfard, M. (2019). Neuroprotective Effect of Zataria Multiflora Essential Oil on Rats With Alzheimer Disease: A Mechanistic Study. *Basic and Clinical Neuroscience*, 10(1), 85-97.
- Evans, D. A., Funkenstein, H., Albert, M. S., Scherr, P. A., Cook, N. R., Chown, M. J., Hebert, L. E., Hennekens, C. H. and Taylor, J. O. (1989). Prevalence of Alzheimers Disease in a Community Population of Older Persons. *The journal of the American Medical Association*, 262: 2551-2556.
- Fanelli, F., Sepe, S., DAmelio, M., Bernardi, C., Cristiano, L., Cimini, A. M., Cecconi, F., Paola Ceru, M. and Moreno, S. (2013). Age-dependent roles of peroxisomes in the hippocampus of a transgenic mouse model of Alzheimers disease. *Molecular Neurodegeneration*, 8, 8.
- Farooqu, A. A. and Horrocks, L. A. (2001). Plasmalogens, phospholipase A2, and docosahexaenoic acid turnover in brain tissue. *Journal of Molecular Neuroscience*, 16, 263–272.
- Farooqui, A. A., Rapoport, S. I. and Horrocks, L. A. (1997). Membrane phospholipid alterations in Alzheimers disease: Deficiency of ethanolamine plasmalogens. *Neurochemical Research*, 22, 523-527.
- Feher, J., Kovacs, I., Artrico, M., Cavallotti, C., Papale, A. and Balacco-Gabriel, C. (2005). Mitochondrial alterations of retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Neurobiology of Aging*, 27, 983-993.
- Feng, H., Ren, M., Chen, L. and Rubin, C. S. (2007). Properties, regulation, and in vivo functions of a novel protein kinase D: caenorhabditis elegans DKF-2 links diacylglycerol second messenger to the regulation of stress responses and life span. *Journal of Biological Chemistry*, 282, 31273-31288.
- Ferrer, I., Aubourg, P. and Pujol, A. (2010). General aspects and neuropathology of X-linked adrenoleukodystrophy. *Brain Pathology*, 20, 817-830.
- Ferri, C. P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., Hasegawa, K., Hendrie, H., Huang, Y., Jorm, A., Mathers, C., Menezes, P. R., Rimmer, E. and Scazufca, M. (2005). Alzheimers Disease International. Global Prevalence of Dementia: a Delphi Consensus Study. *Lancet*, 366, 2112-2119.
- Fishman, M. A. (1989). Disorders primarily of white matter. *Pediatric Neurology Principles and Practice*, 755-775.

- Fordahl, S. C., Anderson, J. G., Cooney, P. T., Weaver, T. L., Colyer, C. L. and Erikson, K. M. (2010). Manganese exposure inhibits the clearance of extracellular GABA and influences taurine homeostasis in the striatum of developing rats. *Neurotoxicology*, 31, 639-646.
- Fransen, M., Lismont, C. and Walton, P. (2017). The Peroxisome-Mitochondria Connection: How and Why? *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1126.
- Fransen, M., Nordgren, M., Wang, B. and Apanasets, O. (2012). Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: implications for human disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1822, 1363-1373.
- Fransen, M., Nordgren, M., Wang, B., Apanasets, O. and Van Veldhoven, P. P. (2013). Aging, age-related diseases and peroxisomes. *Subcellular Biochemistry*, 69, 45-65.
- Fujiki, Y. (2016). Peroxisome biogenesis and human peroxisome-deficiency disorders. *Proceedings of the Japan Academy, Series B, Physical and Biological Sciences*, 92, 463-477.
- Fukuyama, Y. and Ochiai, Y. (1982). Therapeutic trial by taurine for intractable childhood epilepsies. *Brain and Development*, 4, 63-69.
- Gargiulo, P. A., Viana, M. B., Graeff, F. G., Silva, M. A., Tomaz, C. (1996). Effects of anxiety and memory of systemic and intra-amygdala injection of 5-HT₃ receptor antagonist BRL 46470A. *Neuropsychobiology*, 33(4), 189-195.
- Gebara, E., Udry, F., Sultan, S. and Toni, N. (2015). Taurine increases hippocampal neurogenesis in aging mice. *Stem Cell Research*, 14, 369-379.
- Ghofrani, S., Joghataei, M. T., Mohseni, S., Baluchnejadmojarad, T., Bagheri, M., Khamse, S. and Roghani, M. (2015). Naringenin improves learning and memory in an alzhimers disease rat model: Insights into the underlying mechanisms. *European Journal of Pharmacology*, 764, 195-201.
- Gilman, S. (1997). Alzheimer Disease. *Perspectives in Biology and Medicine*, 40(2), 230-245.
- Ginsberg, L., Rafique, S., Xuereb, J. H., Rapoport, S. I. and Gershfeld, N. L. (1995). Disease and anatomic specificity of ethanolamine plasmalogen deficiency in Alzhimers disease brain. *Brain Research*, 698, 223-226.
- Giordano, C. R. and Terlecky, S. R. (2012). Peroxisomes, cell senescence, and rates of aging. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1822, 1358-1362.
- Giovannini, M. G., Scali, C., Prosperi, C., Bellucci, A., Vannucchi, M. G., Rosi, S., Pepeu, G. and Casamenti, F. (2002). Beta-amyloid-induced inflammation and cholinergic hypofunction in the rat brain in vivo: involvement of the p38MAPK pathway. *Neurobiology of Disease*, 11(2), 257-274.
- Girzalsky, W., Saffian, D. and Erdmann, R. (2010). Peroxisomal protein translocation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1803, 724-731.

- Glass, C. K. and Ogawa S. (2006). Combinatorial roles of nuclear receptors in inflammation and immunity. *Nature Reviews Immunology*, 6: 44-55.
- Glenner, G. G. and Wong, C. W. (1984). Alzheimers Disease and Downs Syndrome: Sharing of A Unique Cerebrovascular Amyloid Fibril Protein. *Biochemical Biophysical Research Communication*, 122, 1131-1136.
- Glorieux, C. and Calderon Pedro, B. (2017). Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *The Journal of Biological Chemistry*, 398, 1095.
- Godoy, J. A., Allard, C., Arrázola, M. S., Zolezzi, J. M. and Inestrosa, N. C. (2013). SIRT1 Protects Dendrites, Mitochondria and Synapses from A β Oligomers in Hippocampal Neurons. *Journal of Alzheimers Disease & Parkinsonism*, 3(4), 1-9.
- Gofflot, F., Chartoire, N., Vasseur, L., Heikkinen, S., Dembele, D., Le Merrer, J. and Auwerx, J. (2007). Systematic gene expression mapping clusters nuclear receptors according to their function in the brain. *Cell*, 131, 405-418.
- Goodenowe, D. B., Cook, L. L., Liu, J., Lu, Y., Jayasinghe, D. A., Ahiahonu, P. W., Heath, D., Yamazaki, Y., Flax, J., Krenitsky, K. F., Sparks, D. L., Lerner, A., Friedland, R. P., Kudo, T., Kamino, K., Morihara, T., Takeda, M. and Wood, P. L. (2007). Peripheral ethanolamine plasmalogen deficiency: A logical causative factor in Alzheimers disease and dementia. *The Journal Lipid Research*, 48, 2485-2498.
- Gothand, L. and Eaton, J. W. (2000). Hereditary catalase deficiencies and increased risk of diabetes. *Lancet*, 356, 1820-1821.
- Grimm, M. O., Kuchenbecker, W. J., Rothhaar, T. L., Grosgen, S., Hundsorfer, B., Burg, V. K., Friess, P., Muller, U., Grimm, H. S., Riemenschneider, M. and Hartmann, T. (2011). Plasmalogen synthesis is regulated via alkyl-dihydroxyacetonephosphate-synthase by amyloid precursor protein processing and is affected in Alzheimers disease. *Journal of Neurochemistry*, 116, 916-925.
- Gürvit, H., Emre, M., Tinaz, S., Bilgiç, B., Hanagasi, H., Şahin, H., Gürol, E., Kvaloy, J. T. and Harmancı, H. (2008). The prevalence of Dementia in an Urban Turkish Population. *American Journal of Alzheimers Disease & Other Dementias*, 23(1), 67-76.
- Haas, H. L. and Hosli, L. (1973). The depression of brain stem neurons by taurine and its interaction with strychnine and bicuculline. *Brain Research*, 52, 399-402.
- Hardy, J. and Selkoe, D. J. (2002). The Amyloid Hypothesis of Alzheimers Disease: Progress and Problems on The Road to Therapeutics. *Science*, 297, 353-356.
- Heneka, M. T., Landreth, G. E. and Feinstein, D. L. (2001). Role for peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in Alzheimers disease. *Annals Neurology*, 49, 276.
- Heneka, M. T., Reyes-Irisarri, E., Hüll, M. and Kummer, M. P. (2011). Impact and Therapeutic Potential of PPARs in Alzheimers Disease. *Current Neuroparmacology*, 9, 643-650.

- Hernández-Benítez, R., Pasantes-Morales, H., Saldaña, I. T. and Ramos-Mandujano, G. (2010). Taurine stimulates proliferation of mice embryonic cultured neural progenitor cells. *Journal of Neuroscience Research*, 88, 1673-1681.
- Hernández-Benítez, R., Ramos-Mandujano and G., Pasantes-Morales, H. (2012). Taurine stimulates proliferation and promotes neurogenesis of mouse adult cultured neural stem/progenitor cells. *Stem Cell Research*, 9, 24-34.
- Hettema, E. H. and Motley, A. M. (2009). How peroxisomes multiply. *Journal of Cell Science*, Cilt 122, 2331-2336.
- Hulshagen, L., Krysko, O., Bottelbergs, A., Huyghe, S., Klein, R., Veldhoven, P. P. V., Deyn, P. P. D., DHooge, R., Hartmann, D. and Baes, M. (2008). Absence of functional peroxisomes from mouse CNS causes dysmyelination and axon degeneration. *The Journal of Neuroscience*, 28, 4015-4027.
- Huxtable, R. J. (1992). Physiological actions of taurine. *Physiological Reviews*, 72, 101-163.
- Hwang, I., Lee, J., Huh, J. Y., Park, J., Lee, H. B., Ho, Y. S. and Ha, H. (2012). Catalase deficiency accelerates diabetic renal injury through peroxisomal dysfunction. *Diabetes*, 61, 728-738.
- Igarashi, M., Ma, K., Gao, F., Kim, H. W., Rapoport S. I. and Rao J. S. (2011). Disturbed choline plasmalogen and phospholipid fatty acid concentrations in Alzheimers disease prefrontal cortex. *Journal of Alzheimers Disease*, 24, 507-517.
- Imanaka, T., Aihara, K., Takano, T., Yamashita, A., Sato, R., Suzuki, Y., Yokota, S., and Osumi, T. (1999). Characterization of the 70-kDa peroxisomal membrane protein, an ATP binding cassette transporter. *The Journal of Biological Chemistry*, 274, 11968-11976.
- Ito, T., Kimura, Y., Uozumi, Y., Takai, M., Muraoka, S., Matsuda, T., Ueki, K., Yoshiyama, M., Ikawa, M., Okabe, M., Schaffer, S. W., Fujio, Y. and Azuma, J. (2008). Taurine depletion caused by knocking out the taurine transporter gene leads to cardiomyopathy with cardiac atrophy. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 44:927-937.
- Ivashchenko, O., Veldhoven, P. P. V., Brees, C., Ho, Y. S., Terlecky, S. R. and Fransen, M. (2011). Intraperoxisomal redox balance in mammalian cells: oxidative stress and interorganellar cross-talk. *Molecular Biology of the Cell*, 22, 1440-1451.
- Iwatsubo, T., Odaka, A., Suzuki, N., Mizusawa, H., Nukina, N. and Ihara, Y. (1994). Visualization of A Beta 42 (43) and A Beta 40 in Senile Plaques with End-specific A Beta Monoclonals: Evidence that An Initially Deposited Species is A Beta 42 (43). *Neuron*, 13(1), 45-53.
- Jang, H., Lee, S., Choi, S. L., Kim, H. Y., Baek. S. and Kim, Y. (2017). Taurine Directly Binds to Oligomeric Amyloid- β and Recovers Cognitive Deficits in Alzheimer Model Mice. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 975(1), 233-241.

- Jia, N., Sun, Q., Su, Q., Dang, S. and Chen, G. (2016). Taurine promotes cognitive function in prenatally stressed juvenile rats via activating the Akt-CREB-PGC1 α pathway. *Redox Biology*, 10, 179-190.
- Jong, C. J., Azuma, J. and Schaffer, S. (2012). Mechanism underlying the antioxidant activity of taurine: prevention of mitochondrial oxidant production. *Amino Acids*, 42, 2223-2232.
- Jong, C. J., Ito, T., Prentice, H., Wu J. Y. and Schaffer, S. W. (2017). Role of Mitochondria and Endoplasmic Reticulum in Taurine-Deficiency-Mediated Apoptosis. *Nutrients*, 9, 795.
- Jonsson, T., Atwal, J. K., Steinberg, S., Snaedal, J., Jonsson, P. V., Bjornsson, S., Stefansson, H., Sulem, P., Gudbjartsson, D., Maloney, J., Hoyte, K., Gustafson, A., Liu, Y., Lu, Y., Bhangale, T., Graham, R. R., Huttenlocher, J., Bjornsdottir, G., Andreassen, O. A., Jönsson, E. G., Palotie, A., Behrens, T. W., Magnusson, O. T., Kong, A., Thorsteinsdottir, U., Watts, R. J. and Stefansson, K. (2012). A Mutation in APP Protects Against Alzheimers Disease and Age-related Cognitive Decline. *Nature*, 488(7409), 96-105.
- Jonsson, T., Stefansson, H., Steinberg, S., Jonsdottir, I., Jonsson, P. V., Snaedal, J., Bjornsson, S., Huttenlocher, J., Levey, A. I., Lah, J. J., Rujescu, D., Hampel, H., Giegling, I., Andreassen, O. A., Engedal, K., Ulstein, I., Djurovic, S., Ibrahim-Verbaas, C., Hofman, A., Ikram, M. A., Van Duijn, C. M., Thorsteinsdottir, U., Kong, A., Stefansson, K. (2013). Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimers disease. *The New England Journal of Medicine*, 368(2), 107-116.
- Jung, J. H. and Kim S. J. (2019). Anxiolytic Action of Taurine via Intranasal Administration in Mice. *Biomolecules and Therapeutics*, 1-7.
- Junyent, F., De Lemos, L., Utrera, J., Paco, S., Aguado, F., Camins, A., Pallàs, M., Romero, R. and Auladell, C. (2011). Content and traffic of taurine in hippocampal reactive astrocytes. *Hippocampus*, 21, 185-197.
- Junyent, F., Utrera, J., Romero, R., Pallàs, M., Camins, A., Duque, D. and Auladell, C. (2009). Prevention of epilepsy by taurine treatments in mice experimental model. *Journal Neuroscience Research*, 87, 1500-1508.
- Kaczmarek, L. K. and Davison, A. N. (1971b). The physiological role of taurine. *Biochemical Journal*, 123, 45-51.
- Kaczmarek, L. K., Davison, A. N. (1972). Uptake and release of taurine from rat brain slices. *Journal of Neurochemistry*, 19, 2355-2362.
- Kasai, H., Okada, Y., Nishimura, S., Rao, M. S., and Reddy, J. K. (1989). Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in liver DNA of rats following long-term exposure to a peroxisome proliferator. *Cancer Research*, 49, 2603- 2605.
- Kashiwayama, Y., Asahina, K., Shibata, H., Morita, M., Muntau, A. C., Roscher, A. A., Wanders, R. J. A., Shimozaawa, N., Sakaguchi, M., Kato, H. and Imanaka, T. (2005). Role of Pex19p in the targeting of PMP70 to peroxisome. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1764, 116-128.

- Kasza, A., Penke, B., Frank, Z., Bozso, Z., Szegedi, V., Hunya, A., Nemeth, K., Kozma, G. and Fülöp, L. (2017). Studies for Improving a Rat Model of Alzheimers Disease: Icv Administration of Well-Characterized β -Amyloid 1-42 Oligomers Induce Dysfunction in Spatial Memory. *Molecules*, 22(11).
- Kaushik, A., Jayant, R. D., Tiwari, S., Vashist, A., and Nair, M. (2016). Nano-biosensors to detect beta-amyloid for Alzheimers disease management. *Biosensors and Bioelectronics*, 80, 273-287.
- Kawalek, A., Lefevre, S. D., Veenhuis, M., and Klei, I. J. (2013). Peroxisomal catalase deficiency modulates yeast lifespan depending on growth conditions. *Aging*, 5, 67-83.
- Kilb, W. and Fukuda, A. (2017). Taurine as an Essential Neuromodulator during Perinatal Cortical Development. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11, 328.
- Kim, H. Y., Kim, H. V., Yoon, J. H., Kang, B. R., Cho, S. M., Lee, S., Kim, J. Y., Kim, J. W., Cho, Y., Woo, J. and Kim, Y. S. (2014). Taurine in drinking water recovers learning and memory in the adult APP/PS1 mouse model of Alzheimers disease. *Scientific Reports*, 4, 7467.
- Kim, J. H., (2018). Genetics of Alzheimers Disease. *Dementia and Neurocognitive Disorder*, 17(4), 131-136.
- Knoops, B., Goemaere, J., Van der Eecken, V., Declercq, J. P. (2011). Peroxiredoxin 5: structure, mechanism, and function of the mammalian atypical 2-Cys peroxiredoxin. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15, 817-829.
- Koepke, J. I., Wood, C. S., Terlecky, L. J., Walton, P. A. and Terlecky, S. R. (2008). Progeric effects of catalase inactivation in human cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 232, 99-108.
- Koepke, J. I., Nakrieko, K. A., Wood, C. S., Boucher, K. K., Terlecky, L. J., Walton, P. A. and Terlecky, S. R. (2007). Restoration of peroxisomal catalase import in a model of human cellular aging. *Traffic*, 8, 1590-1600.
- Kota B. P., Huang T. H. W. and Roufogalis B. D. (2005). An overview on biological mechanisms of PPARs. *Pharmacological Research*, 51, 85-94.
- Kou J., Kovacs G. G., Hoftberger R., Kulik W., Brodde, Forss-Petter S., Honigschnabl S., Gleiss A., Brugger B., Wanders R., Just W., Budka H., Jungwirth, Fischer P. and Berger J. (2011). Peroxisomal alterations in Alzheimers disease. *Acta Neuropathology*, 122, 271-283.
- Krysko, O., Hulshagen, L., Janssen, A., Schütz, G., Klein, R., Bruycker, M. D., Espeel, M., Gressens, P. and Baes, M. (2007). Neocortical and cerebellar developmental abnormalities in conditions of selective elimination of peroxisomes from brain or from liver. *Journal of Neuroscience Research*, 85, 58-72.
- Kuhn, P. H. (2012). α - and β -secretase in Alzheimers disease: Identity and physiological substrates, *Doctoral Thesis*. Faculty of Medicine of the Technical University of Munich, Munich, 4-12.

- Kuwabara, H., Yamasue, H., Koike, S., Inoue, H., Kawakubo, Y., Kuroda, M., Takano, Y., Iwashiro, N., Natsubori, T., Aoki, Y., Kano, Y. and Kasai, K. (2013). Altered metabolites in the plasma of autism spectrum disorder: a capillary electrophoresis time-of-flight mass spectroscopy study. *PLoS ONE*, 8, e73814.
- Lambert, J. C., Ibrahim-Verbaas, C. A., Harold, D., Naj, A. C., Sims, R., Bellenguez, C., DeStafano, A. L., Bis, J. C., Beecham, G. W., Grenier-Boley, B., Russo, G., Thorton-Wells, T. A., Jones, N., Smith, A. V., Chouraki, V., Thomas, C., Ikram, M. A., Zelenika, D., Vardarajan, B. N., Kamatani, Y., Lin, C. F., Gerrish, A., Schmidt, H., Kunkle, B., Dunstan, M. L., Ruiz, A., Bihoreau, M. T., Choi, S. H., Reitz, C., Pasquier, F., Cruchaga, C., Craig, D., Amin, N., Berr, C., Lopez, O. L., De Jager, P. L., Deramecourt, V., Johnston, J. A., Evans, D., Lovestone, S., Letenneur, L., Morón, F. J., Rubinsztein, D. C., Eiriksdottir, G., Sleegers, K., Goate, A. M., Fiévet, N., Huentelman, M. W., Gill, M., Brown, K., Kamboh, M. I., Keller, L., Barberger-Gateau, P., McGuinness, B., Larson, E. B., Green, R., Myers, A. J., Dufouil, C., Todd, S., Wallon, D., Love, S., Rogaeva, E., Gallacher, J., St George-Hyslop, P., Clarimon, J., Lleo, A., Bayer, A., Tsuang, D. W., Yu, L., Tsolaki, M., Bossù, P., Spalletta, G., Proitsi, P., Collinge, J., Sorbi, S., Sanchez-Garcia, F., Fox, N. C., Hardy, J., Deniz Naranjo, M. C., Bosco, P., Clarke, R., Brayne, C., Galimberti, D., Mancuso, M., Matthews, F.; European Alzheimers Disease Initiative (EADI); Genetic and Environmental Risk in Alzheimers Disease; Alzheimers Disease Genetic Consortium; Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology, Moebus, S., Mecocci, P., Del Zompo, M., Maier, W., Hampel, H., Pilotto, A., Bullido, M., Panza, F., Caffarra, P., Nacmias, B., Gilbert, J. R., Mayhaus, M., Lannefelt, L., Hakonarson, H., Pichler, S., Carrasquillo, M. M., Ingelsson, M., Beekly, D., Alvarez, V., Zou, F., Valladares, O., Younkin, S. G., Coto, E., Hamilton-Nelson, K. L., Gu, W., Razquin, C., Pastor, P., Mateo, I., Owen, M. J., Faber, K. M., Jonsson, P. V., Combarros, O., O'Donovan, M. C., Cantwell, L. B., Soininen, H., Blacker, D., Mead, S., Mosley, T. H. Jr., Bennett, D. A., Harris, T. B., Fratiglioni, L., Holmes, C., De Bruijn, R. F., Passmore, P., Montine, T.J., Bettens, K., Rotter, J. I., Brice, A., Morgan, K., Foroud, T.M., Kukull, W.A., Hannequin, D., Powell, J. F., Nalls, M. A., Ritchie, K., Lunetta, K. L., Kauwe, J. S., Boerwinkle, E., Riemenschneider, M., Boada, M., Hiltunen, M., Martin, E. R., Schmidt, R., Rujescu, D., Wang, L. S., Dartigues, J.F., Mayeux, R., Tzourio, C., Hofman, A., Nöthen, M. M., Graff, C., Psaty, B. M., Jones, L., Haines, J. L., Holmans, P. A., Lathrop, M., Pericak-Vance, M. A., Launer, L. J., Farrer, L. A., Van Duijn, C. M., Van Broeckhoven, C., Moskvina, V., Seshadri, S., Williams, J., Schellenberg, G. D. and Amouyel, P. (2013). Meta-analysis of 74,046 Individuals Identifies 11 New Susceptibility Loci for Alzheimers Disease. *Nature Genetics*, 45, 1452-1458.
- Lanyon-Hogg, T., Warriner, S. L. and Baker, A. (2010). Getting a camel through the eye of a needle: The import of folded proteins by peroxisomes. *Biology of the Cell*, 102, 245-263.
- Lazarow, P. B. and Fujiki, Y. (1985). Biogenesis of peroxisomes. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 1, 489-530.
- Lee, C. H., Chawla, A., Urbiztondo, N., Liao, D., Boisvert, W. A., Evans, R. M. and Curtiss L. K. (2003). Transcriptional repression of atherogenic inflammation: modulation by PPARdelta. *Science*, 302(5644), 453-460.

- Legakis, J. E., Koepke, J. I., Jedeszko, C., Barlasakar, F., Terlecky, L. J., Edwards, H. J., Walton, P. A. and Terlecky, S. R. (2002). Peroxisome senescence in human fibroblasts. *Molecular Biology of the Cell*, 13, 4243-4255.
- Lehmann, J. M., Lenhard, J. M., Oliver, B. B., Ringold, G. M. and Klierer, S. A. (1997). Peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma are activated by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 3406-3410.
- Leon, R., Wu, H., Jin, Y., Wei, J., Buddhala, C., Prentice, H. and Wu, J. Y. (2009). Protective function of taurine in glutamate-induced apoptosis in cultured neurons. *Journal of Neuroscience Research*, 87(5), 1185-1194.
- Lismont, C., Nordgren, M., Van Veldhoven, P. P. and Fransen, M. (2015). Redox interplay between mitochondria and peroxisomes. *Front Cell Developmental Biology*, 3, 35.
- Lizard, G., Rouaud, O., Demarquoy, J., Cherkaoui-Malki, M. and Iuliano, L. (2012). Potential roles of peroxisomes in Alzheimers disease and in dementia of the Alzheimers type. *Journal of Alzheimers Disease*, 29(2), 241-254.
- Lleo, A. and Greenberg, S. M. (2006). Current Pharmacotherapy for Alzheimers Disease. *Annual review of Medicine*, 57, 513-33.
- Lodhi, I. J. and Semenkovich, C. F. (2014). Peroxisomes: A Nexus for Lipid Metabolism and Cellular Signaling. *Cell Metabolism*, 19(3), 380-392.
- Lombardini, J. B. (1983). Effects of ATP and taurine on calcium uptake by membrane preparations of the rat retina. *Journal of Neurochemistry*, 40, 402-408.
- Lopes, J. P., Oliveira, C. R. and Agostinho, P. (2009). Cell Cycle Re-entry in Alzheimers Disease: A Major Neuropathological Characteristic? *Current Alzheimer Research*, 6(3), 205-212.
- Lopez-Erauskin, J., Ferrer, I., Galea, E. and Pujol, A. (2013). Cyclophilin D as a potential target for antioxidants in neurodegeneration: the X-ALD case. *The Journal of Biological Chemistry*, 394, 621-629.
- Loughran, P. A., Stolz, D. B., Barrick, S. R., Wheeler, D. S., Friedman, P. A., Rachubinski, R. A., Watkins, S. C. and Billiar, T. R. (2013). PEX7 and EBP50 target iNOS to the peroxisome in hepatocytes. *Nitric Oxide*, 31, 9-19.
- Lukiw, W. J. and Bazan, N. G. (2006). Survival signalling in Alzheimers disease. *Biochemical Society Transactions*, 34, 1277-1282.
- Ma, C. and Subramani, S. (2009). Peroxisome matrix and membrane protein biogenesis. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 61, 713-722.
- Maar, T., Moran, J., Schousboe, A. and Pasantes-Morales, H. (1995). Taurine deficiency in dissociated mouse cerebellar cultures affects neuronal migration. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 13, 491-502.

- Mandel, H., Sharf, R., Berant, M., Wanders, R. J., Vreken, P. and Aviram, M. (1998). Plasmalogen phospholipids are involved in HDL-mediated cholesterol efflux: Insights from investigations with plasmalogen-deficient cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 250, 369-373.
- Manivannan, S., Scheckhuber, C. Q., Veenhuis, M. and Van der Klei, I. J. (2012). The impact of peroxisomes on cellular aging and death. *Frontiers in Oncology*, 2, 50.
- Marcinkiewicz, J. and Kontny, E. (2014). Taurine and inflammatory diseases. *Amino Acids*, 46(1), 7-20.
- Marcus, D. L., Thomas, C. Rodriguez, C., Simberkoff, K., Tsai, J. S., Strafaci, J. A. and Freedman, M. L. (1998). Increased peroxidation and reduced antioxidant enzyme activity in Alzheimers disease, *Experimental Neurology*, 150, 40-44.
- Masters, C. L., Simms, G., Weinman, N. A., Multhaup, G., McDonald, B. L. and Beyreuther, K. (1985). Amyloid Plaque Core Protein in Alzheimer Disease and Down Syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(12), 4245-4254.
- Maynard, S., Schurman, S. H., Harboe, C., De Souza-Pinto, N.C. and Bohr, V. A. (2008). Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. *Carcinogenesis*, 30, 2-10.
- Mc Larnon, J. G. (2014). Correlated Inflammatory Responses and Neurodegeneration in Peptid-injected Animal Models of Alzheimers Disease. *Biomed Research International*, 923670-9.
- McDonald, R. J., Hong, N. S., and Devan, B. D. (2004). The challenges of understanding mammalian cognition and memory-based behaviours: an interactive learning and memory systems approach. *Neuroscience Biobehavioral Review*, 28, 719-745.
- Meinecke, M., Cizmowski, C., Schliebs, W., Kruger, V., Beck, S., Wagner, R. and Erdmann, R. (2010). The peroxisomal importomer constitutes a large and highly dynamic pore. *Nature Cell Biology*. 12, 273-277.
- Menkes, J. N. (1995). Heredodegenerative Disease. *Textbook of Child Neurology*, 152-212.
- Menzie, J., Pan, C., Prentice, H. and Wu, J. Y. (2014). Taurine and central nervous system disorders. *Amino Acid*, 46(1), 31-46.
- Moreno, S., Farioli-Vecchioli, S. and Ceru, M. P. (2004). Immunolocalization of peroxisome proliferator-activated receptors and retinoid X receptors in the adult rat CNS. *Neuroscience*, 123, 131-145.
- Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience*, 47-60.
- Moruno-Manchon, J. F., Uzor, N. E., Kesler, S. R., Wefel, J. S., Townley, D. M., Nagaraja, A. S., Pradeep, S., Mangala, L. S., Sood, A. K. and Tsvetkov, A. S. (2018). Peroxisomes contribute to oxidative stress in neurons during doxorubicin-based chemotherapy. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 86, 65-71.

- Moser, H. W. and Moser, A. B. (1996). Very long chain fatty acids in diagnosis, pathogenesis, and therapy of peroxisomal disorders. *Lipids*, 31, 141-144.
- Munn, N. J., Arnio, E., Liu, D., Zoeller, R. A. and Liscum, L. (2003). Deficiency in ethanolamine plasmalogen leads to altered cholesterol transport. *Journal of Lipid Research*, 44, 182-192.
- Neuwirth, L. S., Volpe, N. P. and El Idrissi, A. (2013). Taurine effects on emotional learning and memory in aged mice: neurochemical alterations and differentiation in auditory cued fear and context conditioning. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 775, 195-214.
- Nishiyama, S., Takahashi, Y., Yamamoto, K., Suzuki, D., Itoh, Y., Sumita, K., Uchida, Y., Homma, M., Imada, K. and Kawagishi, I. (2016). Identification of a *Vibrio cholerae* chemoreceptor that senses taurine and amino acids as attractants. *Scientific Reports*, 6, 20866.
- Niu, X., Zheng, S., Liu, H. and Li, S. (2018). Protective effects of taurine against inflammation, apoptosis, and oxidative stress in brain injury. *Molecular Medicine Reports*, 18, 4516-4522.
- O'Brien, M. L., Twaroski, T. P., Cunningham, M. L., Glauert, H. P. and Spear, B. T. (2001). Effects of peroxisome proliferators on antioxidant enzymes and antioxidant vitamins in rats and hamsters. *Toxicological Sciences*, 60, 271-278.
- Oku, M. and Sakai, Y. (2010). Peroxisomes as dynamic organelles: autophagic degradation. *The Federation of European Biochemical Societies Journal*, 277, 3289-3294.
- Oku, M. and Sakai, Y. (2016). Pexophagy in yeasts. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1863, 992-998.
- Omura, Y., Hach, A., Furukawa, E., Ueck, M. and Lake, N. (1997). Immunocytochemical localization of taurine in the pineal organ and retina of an anadromous fish, *Plecoglossus altivelis*. *Archives of Histology and Cytology*, 60, 153-162.
- Pan, C., Giraldo, G. S., Prentice, H. and Wu, J. Y. (2010). Taurine protection of PC12 cells against endoplasmic reticulum stress induced by oxidative stress. *Journal of Biomedical Science*, 17(1), S17.
- Panganamala, R. V., Horrocks, L. A., Geer, J. C. and Cornwell, D. G. (1971). Positions of double bonds in the monounsaturated alk-1-enyl groups from the plasmalogens of human heart and brain. *Chemistry Physics Lipids* 6, 97-102.
- Pasantes-Morales, H. and Cruz, C. (1985). Taurine and hypotaurine inhibit light-induced lipid peroxidation and protect rod outer segment structure. *Brain Research*, 330, 154-161.
- Paxinos, G. and Watson, C. 2007. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 6th Edition-Page Count: 456.

- Pellow, S. and File, S. E. (1986). Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24(3), 525-529.
- Perfeito, R., Cunha-Oliveira, T. and Cristina Rego, A. (2012). Revisiting oxidative stress and mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of Parkinson disease: resemblance to the effect of amphetamine drugs of abuse. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(9), 1791-1806.
- Petriv O. I. and Rachubinski R. A. (2004). Lack of peroxisomal catalase causes a progeric phenotype in *Caenorhabditis elegans*. *The Journal of Biological Chemistry*, 279, 19996-20001.
- Poljsak, B. (2011). Strategies for reducing or preventing the generation of oxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011, 194586.
- Poljsak, B. and Milisav, I. (2012). The neglected significance of antioxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 480895.
- Puzzo, D., Lee, L., Palmeri, A., Calabrese, G. and Arancio, O. (2014). Behavioral assays with mouse models of Alzheimers disease: practical considerations and guidelines. *Biochemical Pharmacology*, 88(4), 450-467.
- Raiha, N., Rassin, D., Heinonen, K. and Gaull, G. E. (1975). Milk protein quality and quantity: Biochemical and growth effects in low birth weight infants (LBWI). *Pediatric Research*, 9, 370.
- Reddy, J. K. and Hashimoto, T. (2001). Peroxisomal beta-oxidation and peroxisome proliferator-activated receptor alpha: an adaptive metabolic system. *Annual Review of Nutrition*, 21, 193-230.
- Reddy, J. K., Goel, S. K., Nemali, M. R., Carrino J. J., Laffler T. G., Reddy M. K., Sperbeck S. J., Osumi T., Hashimoto T. and Lalwani N. D. (1986). Transcription regulation of peroxisomal fatty acyl-CoA oxidase and enoyl-CoA hydratase/3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase in rat liver by peroxisome proliferators. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83, 1747-1751.
- Reeta, K. H., Singh, D. and Gupta, Y. K. (2017). Chronic treatment with taurine after intracerebroventricular streptozotocin injection improves cognitive dysfunction in rats by modulating oxidative stress, cholinergic functions and neuroinflammation. *Neurochemistry International*, 108, 146-156.
- Repetto, M. G., Reides, C. G., Evelson, P., Kohan, S., de Lustig, E. S. and Llesuy, S. F. (1999). Peripheral markers of oxidative stress in probable Alzheimer patients. *European Journal of Clinical Investigation*, 29, 643-9.
- Rintala, J., Seemann, R., Chandrasekaran, K., Rosenberger, T. A., Chang, L., Contreras, M. A., Contreras M. A., Rapoport S. I. and Chang M. C. (1999). 85 kDa cytosolic phospholipase A2 is a target for chronic lithium in rat brain. *NeuroReport*, 10, 3887-3890.

- Ripps, H. and Shen, W. (2012). Taurine: A “very essential” amino acid. *Molecular Vision*, 18, 2673-2686.
- Robinson, A., Grösgen, S., Mett, J., Zimmer, V. C., Hauptenthal, V. J., Hundsdörfer, B., Stahlmann, C. P., Slobodskoy, Y., Müller, U. C., Hartmann, T., Stein, R. and Grimm, M. O. W. (2014). Upregulation of PGC1 α expression by Alzheimers disease-associated pathway: presenilin 1/amyloid precursor protein (APP)/intracellular domain of APP. *Aging Cell*, 13, 263-272.
- Sadigh-Eteghad, S., Sabermarouf, B., Majdi, A., Talebi, M., Farhoudi, M. and Mahmoudi, J. (2015). Amyloid-Beta: A Crucial Factor in Alzheimers Disease. *Medical Principles and Practice*, 24(1), 1-10.
- Salari, S. and Bagheri, M. (2016). A review of animal models of Alzheimers disease: a brief insight into pharmacologic and genetic models. *Physiology and Pharmacology*, 20, 5-11.
- Santos, M. J., Quintanilla, R. A., Toro, A., Grandy, R., Dinamarca, M. C., Godoy, J. A. and Inestrosa, N. C. (2005). Peroxisomal proliferation protects from beta-amyloid neurodegeneration. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 41057-41068.
- Schaffer, S. and Kim, H. W. (2018). Effects and Mechanisms of Taurine as a Therapeutic Agent. *Biomolecules Therapeutics*, 26(3), 225–241.
- Schaffer, S. W., Azuma, J. and Mozaffari, M. (2009). Role of antioxidant activity of taurine in diabetes. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 87, 91-99.
- Schaffer, S. W., Azuma, J., Takahashi, K. and Mozaffari, M. (2003). Why is taurine cytoprotective? *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 526, 307-321.
- Schon, E. A. and Przedborski, S. (2011). Mitochondria: the next (neurode)generation. *Neuron*, 70, 1033-1053.
- Schrader, M. and Fahimi, H. D. (2004). Mammalian peroxisomes and reactive oxygen species. *Histochemistry and Cell Biology*, 122, 383-393.
- Schrader, M. and Fahimi, H. D. (2006). Peroxisomes and oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1763, 1755-1766.
- Schrader, M. and Fahimi, H. D. (2008). The peroxisome: Still a mysterious organelle. *Histochemistry and Cell Biology*, 129, 421-440.
- Schrader, M., Costello, J., Godinho, L. F., and Islinger, M. (2015). Peroxisome-mitochondria interplay and disease. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 38, 681-702.
- Seki, Y., Kimura, M., Mizutani, N., Fujita, M., Aimi, Y. and Suzuki, Y. (2005). Cerebrospinal fluid taurine after traumatic brain injury. *Neurochemical Research*, 30, 123-128.
- Shaerzadeh, F., Motamedi, F., Minai-Tehrani, D. and Khodagholi, F. (2014). Monitoring of neuronal loss in the hippocampus of A β injected rat: Autophagy, mitophagy and

- mitochondrial biogenesis stand against apoptosis. *Neuromolecular Medicine*, 16(1), 175-190.
- Shi, R., Zhang, Y., Shi, Y., Shi, S. and Jiang, L. (2012). Inhibition of peroxisomal beta-oxidation by thioridazine increases the amount of VLCFAs and A β generation in the rat brain. *Neuroscience Letters*, 528, 6-10.
- Shin, H. K. and Linkswiler, H. M. (1974). Tryptophan and methionine metabolism of adult females as affected by vitamin B6 deficiency. *Journal of Nutrition*, 104, 1348-1355.
- Shivaraj, M. C., Marcy, G., Low, G., Ryu, J. R., Zhao, X., Rosales, F. J. and Goh, E. L. K. (2012). Taurine Induces Proliferation of Neural Stem Cells and Synapse Development in the Developing Mouse Brain. *PLoS ONE*, 7(8), e42935.
- Sipos, E., Kurunczi, A., Kasza, A., Horvath, J., Felszeghy, K., Laroche, S., Toldi, J., Parducz, A., Penke, B. and Penke, Z. (2007). Beta-amyloid pathology in the entorhinal cortex of rats induces memory deficits: Implications for Alzheimers disease. *Neuroscience*, 147, 28-36.
- Smith, M. A., Nunomura, A., Lee, H. G., Zhu, X., Moreira, P. I., Avila, J. and Perry, G. (2005). Chronological primacy of oxidative stress in Alzheimer disease. *Neurobiology of Aging*, 26, 579-580.
- Steinberg, S. J., Dodt, G., Raymond, G. V., Braverman, N. E., Moser, A. B. and Moser, H. W. (2006). Peroxisome biogenesis disorders. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1763, 1733-1748.
- Sturman, J. A., Moretz, R. C., French, J. H. and Wisniewski, H. M. (1985). Taurine deficiency in the developing cat: persistence of the cerebellar external granule layer. *Journal of Neuroscience Research*, 13(3), 405-416.
- Suarez, L. M., Munoz, M. D., Rio, R. M. and Solis, J. M. (2016). Taurine content in different brain structures during ageing: effect on hippocampal synaptic plasticity. *Amino Acids*, 48, 1199-1208.
- Suge, R., Hosoe, N., Furube, M., Yamamoto, T., Hirayama, A., Hirano, S. and Nomura, M. (2007). Specific timing of taurine supplementation affects learning ability in mice. *Life Sciences*, 81, 1228-1234.
- Sweeney, G. and Song, J. (2016). The Association Between PGC1 α and Alzheimers Disease. *Anatomy and Cell Biology*, 49, 1-6.
- Şenol, Ş. P. ve Tunçtan, B. (2015). Peroksizom Proliferatör ile Etkinleştirilen Reseptörlerin İnsülin Direnci ve Septik Şok Patojenezindeki Rolü. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*, 5, 247-258.
- Taneli, B., Sivrioğlu, Y. ve Taneli, T. (1999). Alzheimer Disease. In: H Aydın, İT Uzbay eds. *Gülhane Psychopharmacology Symposium*. 1. Basım. Ankara: *Gülhane Military Medical Academy Printing Office*, 31-80.

- Tang, X. W., Deupree, D. L., Sun, Y. and Wu, J. Y. (1996). Biphasic effect of taurine on excitatory amino acid-induced neurotoxicity. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 403, 499-505.
- Taranukhin, A. G., Taranukhina, E. Y., Saransaari, P., Pelto-Huikko, M., Podkletnova, I. M. and Oja, S. S. (2012). Taurine protects cerebellar neurons on the external granular layer against ethanol-induced apoptosis in 7-day-old mice. *Amino Acids*, 43, 1705-1711.
- Terlecky, S. R., Koepke, J. I. and Walton, P. A. (2006). Peroxisomes and aging. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1763, 1749-1754.
- Theron, J. J. and Van Papendorp, D. H. (1996). Peroxisomal diseases, a survey. *South African Medical Journal*, 86, 685-690.
- Thoms, S. and Erdmann, R. (2005). Dynamin-related proteins and Pex11 proteins in peroxisome division and proliferation. *The Federation of European Biochemical Societies Journal*, 272, 5169-5181.
- Tiedemann, F. and Gmelin, L. (1827). Einige neue Bestandteile der Galle des Ochsen. *Annalen der Physik und Chemie*, 9, 326-337.
- Titorenko, V. I. and Terlecky, S. R. (2011). Peroxisome metabolism and cellular aging. *Traffic*, 12, 252-259.
- Tomaszewski, A., Kleinrok, A., Zackiewicz, A., Górny, D. and Billewicz-Stankiewicz, J. (1982). Effect of various amino acids on acetylcholine metabolism in brain tissue. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*, 37, 61-70.
- Touyz, R. M. and Schiffrin, E. L. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptors in vascular biology-molecular mechanisms and clinical implications. *Vascular Pharmacology*, 45, 19-28.
- Towbin, H., Staehelin, T. and Gordon, J. (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci*, 76(9), 4350-4354.
- Tran, M. H., Yamada, K. and Nabeshima, T. (2002). Amyloid beta-peptide induces cholinergic dysfunction and cognitive deficits: a mini review. *Peptides*, 23, 1271-1283.
- Tran, T. N., Kim, S. H., Gallo, C., Amaya, M., Kyees, J. and Naravanaswami, V. (2013). Biochemical and Biophysical Characterisation of Recombinant Rat Apolipoprotein E Similarities to Human Apolipoprotein E3. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 520, 18-25.
- Troffer-Charlier, N., Doerflinger, N., Metzger, E., Fouquet, F., Mandel, J. L. and Aubourg, P. (1998). Mirror expression of adrenoleukodystrophy and adrenoleukodystrophy related genes in mouse tissues and human cell lines. *European Journal of Cell Biology*, 75, 254-264.

- Trompier, D., Vejux, A., Zarrouk, A., Gondcaille, C., Geillon, F., Nury, T., Savary, S. and Lizard, G. (2014). Brain peroxisomes. *Biochimie*, 98, 102-110.
- Ventura-Clapier, R., Garnier, A. and Veksler, V. (2008). Transcriptional control of mitochondrial biogenesis: the central role of PGC1 α . *Cardiovascular Research*, 79, 208-217.
- Voss, J. W., Pedersen, S. F., Christensen, S. T. and Lambert, I. H. (2004). Regulation of the expression and subcellular localization of the taurine transporter TauT in mouse NIH3T3 fibroblasts. *European Journal of Biochemistry*, 271, 4646-4658.
- Vuralli, D., Wattiez, A. S., Russo, A. F. and Bolay, H. (2019). Behavioral and cognitive animal models in headache research. *The Journal of Headache and Pain*, 20, 11.
- Walbrech, G., Wang, B., Becker, S., Hannotiau, A., Fransen, M. and Knoop, B. (2015). Antioxidant cytoprotection by peroxisomal peroxiredoxin-5. *Free Radical Biology and Medicine*, 84, 215-226.
- Walton, P. A. and Pizzitelli, M. (2012). Effects of peroxisomal catalase inhibition on mitochondrial function. *Frontiers in Physiology*, 3, 108.
- Wanders, R. J. and Waterham, H. R. (2006a). Peroxisomal disorders: The single peroxisomal enzyme deficiencies. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1763, 1707-1720.
- Wanders, R. J. and Waterham, H. R. (2006b). Biochemistry of mammalian peroxisomes revisited. *Annual Review of Biochemistry*, 75, 295-332.
- Wanders, R. J., Ferdinandusse, S., Bites, P. and Kemp, S. (2010). Peroxisomes, lipid metabolism and lipotoxicity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1801, 272-280.
- Wang, B., Veldhoven, P. P. V., Brees, C. Rubio, N. R., Nordgren, M., Apanasets, O., Kunze, M., Baes, M., Agostinis, P. and Fransen, M. (2013). Mitochondria are targets for peroxisome-derived oxidative stress in cultured mammalian cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 65, 882-894.
- Wang, X., Wang, W., Li, L., Perry, G., Lee, H. G. and Zhu, X. (2014). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimers disease. *Biochimica et biophysica acta*, 1842(8), 1240-1247.
- Wang, X. P. and Ding, H. L. (2008). Alzheimers Disease: Epidemiology, Genetics, and Beyond. *Neuroscience Bulletin*, 24(2), 105-109.
- Wood, C. S., Koepke, J. I., Teng, H., Boucher, K. K., Katz, S., Chang, P., Terlecky, L. J., Papanayotou, I., Walton, P. A. and Terlecky, S. R. (2006). Hypocatalasemic fibroblasts accumulate hydrogen peroxide and display age-associated pathologies. *Traffic*, 7, 97-107.
- Wood, P. L., Mankidy, R., Ritchie, S., Heath, D., Wood, J. A., Flax, J. and Goodenowe, D. B. (2010). Circulating plasmalogen levels and Alzheimer Disease Assessment Scale-Cognitive scores in Alzheimer patients. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 35, 59-62.

- Woods, J. W., Tanen, M., Figueroa, D. J., Biswas, C., Zycband, E., Moller, D. E., Austin, C. P. and Berger, J. P. (2003). Localization of PPAR-delta in murine central nervous system: expression in oligodendrocytes and neurons. *Brain Research*, 975, 10-21.
- Wu, J. Y. and Prentice, H. (2010). Role of taurine in the central nervous system. *Journal of Biomedical Science*, 17(1), S1.
- Yarbrough, G. G., Singh, D. K. and Taylor, D. A. (1981). Neuropharmacological characterization of a taurine antagonist. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 219, 604-613.
- Yumuk, V. D. (2006). Targeting components of the stress system as potential therapies for the metabolic syndrome: the peroxisome-proliferator-activated receptors. *Annual of the New York Academy of Sciences*, 1083, 306– 324.
- Zhang, X., Wang, X., Zhang, J., Pan, X., Jiang, J. and Li, Y. (2017). Effects of taurine on alterations of neurobehavior and neurodevelopment key proteins expression in infant rats by exposure to hexabromocyclododecane. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 975, 119-130.



EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı**Evrak Tarih ve Sayısı: 16/08/2017-E.116581**

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
 Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Sibel DİNÇER
Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Sibel DİNÇER, Nida ASLAN KARAKELLE, Atiye Seda YAR SAĞLAM'dan oluşan, G.Ü.ET-17.058 kod numaralı ve *"Sıçanlarda İntraserebroventriküler Aβ1-42 Uygulamasının Bilişsel Fonksiyonlar Üzerine Etkisi: Taurinin ve Peroksizomların Rolü"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-17.058 and entitled *"The Effect of Intracerebroventricular Aβ1-42 Administration on Cognitive Functions in Rats: The role of Taurine and Peroxisomes"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Sıçan Wistar Albino(Erkek)
 Hayvan Sayısı : 38

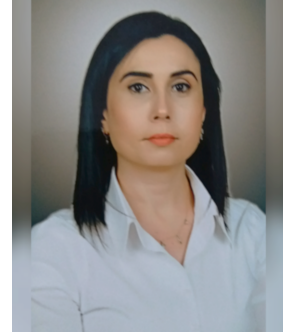
Ek:1 Liste

Ankara
 Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
 e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/

Bilgi için :Esengül BOŞNAK
 Genel Evrak Sorumlusu

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : ASLAN KARAKELLE, Nida
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 10/07/1985 Elazığ
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 542 372 27 75
 e-posta : nida7_06@hotmail.com

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi / Fizyoloji A.D.	Devam ediyor
Yüksek lisans	Fırat Üniversitesi / Biyofizik A.D.	2012
Lisans	Frat Üniversitesi / Biyoloji A.D.	2009
Lise	Ankara Bahçelievler Cumhuriyet Lisesi (YDA)	2003
İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2006	Sarahatun Kadın Doğum Hastanesi Mikrobiyoloji, Biyokimya ve Kan Merkezi Laboratuvarları	Laborant

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

Ulusal/Uluslararası Yayınlar

Dinçer, S., Aslan Karakelle, N. (2019). Santral sinir sisteminde taurinin rolü ve dozun önemi. *Gazi Medical Journal*, 30, 227-230.

Aslan Karakelle, N., Özçelik, O. (2018). Artan yüke karşı yapılan egzersiz testi sırasında kardiyopulmoner ve metabolik cevapların aerobik ve anaerobik egzersiz bölgelerinde karşılaştırılmalı olarak belirlenmesi. *Genel Tıp Dergisi*, 28(4),135-140.

Serhatlioğlu, İ., Kaya, H., Aslan, N., Oruç, S. (2010). Artan yüke karşı yapılan egzersiz sırasında solunum parametrelerinin erkek ve bayanlarda karşılaştırılması. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 24(3), 173-200.

Ulusal/Uluslararası Bildiriler

Aslan Karakelle, N. and Özçelik, O. (2018). *Comparatively evaluation of cardiopulmonary and metabolic response to aerobic and anaerobic region of incremental exercise test international Eurasian conference on biological and chemical sciences (eurasianbiochem)*. Oral Presentation, Ankara.

Oruc, S., Ozcan, M., Aslan, N., Kutlu, S., Kelestimur and Ayar, H. A. (2011). *Leptin activates intracellular calcium signals in isolated rat dorsal root ganglion neurons*. Proc Physiol Soc 23, PC174, University of Oxford.

Aslan, N., Serhatlioglu, I., Ugras, S., Ugur, F. A. and Ozçelik, O. (2011). *Effects of aerobic and anaerobic regions of incremental exercise test on cardiorespiratory and metabolic changes in trained subjects*. Turkish - FEPS Physiology Congress, PC237, İstanbul.

Ugras, S., Yilmaz, B., Serhatlioglu, I., Aslan, N., and Ozcelik, O. (2011). *Effects of work load intensity on body metabolism and substrate utilisation during muscular exercise performance*. Turkish -FEPS Physiology Congress, PC215, İstanbul.

Serhatlioğlu, İ., Özçelik, O., Aslan, N. ve Yılmaz, B. (2010). *Çok kısa süreli aerobik ve anaerobik egzersiz programının voleybolcuların aerobik fitnessleri üzerine etkileri*. 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi'nde sunulmuş bildiri, Edirne.

Serhatlioğlu, İ., Kaya, H., Aslan, N., Oruç, S. ve Özçelik, O. (2010). *Artan güce karşı yapılan egzersiz testi sırasında solunum parametrelerinin genç erkek ve kadınlarda karşılaştırılması*. 22. Ulusal Biyofizik Kongresi'nde sunulmuş bildiri. Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.

Sertifika ve Eğitim Programları

- Ankara Üniversitesi 14. Ulusal Sinirbilim Kongresi Sıçan Beyninde Stereotaksik Girişim ve Tanımlayıcı Diseksiyon Kursu, 26-29 Mayıs 2016, Ankara.
- Gazi Üniversitesi XII. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Eğitim Programı, GÜDAM, 20-28 Mayıs 2015, Ankara.
- Medipol Üniversitesi Nöron Kültürü Kursu, 12-15 Eylül 2011, İstanbul.
- Yeditepe Üniversitesi Egzersiz Fizyolojisi Laboratuvarında bir haftalık egzersiz çalışması eğitimi, 2010, İstanbul.
- Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı, FÜDAM-2010, Elazığ.

Sempozyum ve Kongreler

- Crowne Plaza International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem), 26-27 April 2018, Ankara.
- Adnan Menderes Üniversitesi 22. Ulusal Biyofizik Kongresi, 28 Eylül-1 Ekim 2010, Aydın.
- Yeditepe Üniversitesi Uluslararası Fizyoloji Kongresi (Turkish-FEPS Physiology Congress), 3-7 Eylül 2011, İstanbul.
- Ankara Üniversitesi 14. Ulusal Sinirbilim Kongresi, 26-29 Mayıs 2016, Ankara.

TÜBİTAK-BİDEB 2209- Üniversite Öğrencileri Yurt İçi/Yurt Dışı Araştırma Projeleri Destekleme Programı (Araştırma Elemanı)

(2009). *In vitro* şartlarda bazı bitkisel yağların varlığında oluşturulan lipid peroksidasyonu üzerine pistacia terebinthus & punica granatım ekstratlarının antioksidan etkisinin araştırılması. Fırat Üniversitesi, Elazığ.

Danışman-Yürütücü: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TUZCU
Yavuz ERDEN, Nida ASLAN, Burak BİRCAN, Zeynep KARABOĞA

Fırat Üniversitesi-BAP TF.11.34 Yüksek Lisans Bilimsel Araştırma Projeleri (Araştırma Elemanı)

(2010-2011). *Antrenmanlı bireylerde artan egzersiz testi sırasında kardiyorespiratuvar ve metabolik sistemlerin aerobik ve anaerobik egzersiz bölgelerinde karşılaştırılarak belirlenmesi*. Fırat Üniversitesi, Elazığ.

Danışman-Yürütücü: Doç. Dr. Oğuz ÖZÇELİK
Nida ASLAN

Gazi Üniversitesi-BAP 01/2017-30 Doktora Bilimsel Araştırma Projeleri (Araştırma Elemanı)

(2017- Devam ediyor). *Sıçanlarda intraserebroventriküler $A\beta_{1-42}$ uygulamasının bilişsel fonksiyonlar üzerine etkisi: taurinin ve peroksizomların rolü*. Ankara.

Danışman-Yürütücü: Prof. Dr. Sibel DİNÇER
Doç. Dr. Atiye Seda YAR SAĞLAM, Nida ASLAN KARAKELLE



GAZİ İ OLMAK AYRICALIKTIR...

