



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

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**İNTRASEREBROVENTRİKÜLER AMİLOİD
BETA 1-42 UYGULANAN SIÇANLARDA
TAURİNİN BİLİŞSEL FONKSİYONLAR VE
KAN BEYİN BARIYERİ DİSFONKSİYONU
ÜZERİNE ETKİSİ**

İLAYDA NUMANOĞLU

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

OCAK 2025



**İNTRASEREBROVENTRİKÜLER AMİLOİD BETA 1-42 UYGULANAN
SIÇANLARDA TAURİNİN BİLİŞSEL FONKSİYONLAR VE KAN BEYİN
BARIYERİ DİSFONKSİYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

İlayda NUMANOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2025

İNTRASEREBROVENTRİKÜLER AMİLOİD BETA 1-42 UYGULANAN SIÇANLARDA
TAURİNİN BİLİŞSEL FONKSİYONLAR VE KAN BEYİN BARIYERİ
DİSFONKSİYONU ÜZERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

İlayda NUMANOĞLU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2025

ÖZET

Çalışmamızın amacı sıçanlarda intraserebroventriküler Amiloid Beta 1-42 ile indüklenen nörodejeneratif süreçte, taurin uygulamasının kan beyin bariyerini oluşturan yapılarla ilişkili bazı belirteçler üzerinde amiloidin yaratacağı olası değişimler ile öğrenme ve bellek fonksiyonları üzerine olan olası etkilerinin incelenmesidir. Çalışmamızda 250-300 gram ağırlığında 28 adet erkek Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Deney grupları Kontrol(n=7), Taurin(n=7), Amiloid Beta 1-42(n=7) ve Amiloid Beta 1-42+Taurin(n=7) olarak belirlenmiştir. Kontrol ve Taurin grubundaki hayvanlara toplamda 10 ul olacak şekilde bilateral isv PBS enjeksiyonu, Aβ 1-42 ve Aβ 1-42+Taurin grubundaki hayvanlara ise yine bilateral toplamda 10 ug/ul olacak şekilde oligomer yapıdaki Aβ 1-42 enjeksiyonu yapılmıştır. Taurin uygulaması, Taurin ve Aβ 1-42+Taurin grubuna her deney hayvanı için 300 mg/kg olacak şekilde gavaj ile 1 ml içme suyunda çözündürülerek 28 gün boyunca uygulanmıştır. Kontrol ve Aβ 1-42 gruplarına ise aynı sürede gavaj ile içme suyu verilmiştir. Çalışmanın 24-28. günleri arasında tüm gruplarda Morris Su Tankı testi ile uzaysal öğrenme ve bellek fonksiyonları değerlendirilmiştir. 29. günde hayvanlar feda edilmiş, alınan kortikal beyin dokularında Western blot yöntemi ile GFAP, PDGFR-β, ZO-1 ve Claudin-5 seviyeleri, immünohistokimyasal olarak da kortekste RAGE immün boyamalarındaki değişim değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizde; Morris Su Tankı Testinde elde edilen bulgular Kruskal Wallis ve Friedman testi ile; moleküler çalışmalarda elde edilen bulgular Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiş ve p<0.05 anlamlı kabul edilmiştir. Morris Su Tankı testinde ilk gün platformu bulma sürelerinde sadece Aβ 1-42 ile Aβ 1-42+taurin grubu arasında anlamlı fark saptandı (p<0.05), geri kalan test günlerinde ve son gün uygulanan probe testte (hedef kadranda geçirilen süre) gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. Western blot analizi ile değerlendirilen GFAP, PDGFR-β ve claudin-5 seviyelerinde gruplar arası anlamlı fark bulunmazken, ZO-1 seviyelerinde Mann Whitney U ile yapılan ikili karşılaştırmada Amiloid beta 1-42 grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma görüldü (p<0.05). RAGE immün boyamalarında gruplar arası anlamlı fark bulunmadı. Çalışmamızdaki bulgulara göre, sıçanlarda isv Aβ 1-42 uygulaması, kan-beyin bariyeri belirteçlerinde moleküler düzeyde kısıtlı etki göstermiş ve bu etkiler öğrenme ve bellek fonksiyonlarını etkilememiştir. Taurin uygulaması da gerek moleküler belirteçlerde gerekse uzaysal öğrenme ve bellek testlerinde anlamlı bir değişiklik yaratmamıştır.

Bilim Kodu: : 1023
Anahtar Kelimeler : Amiloid Beta 1-42, taurin, kan beyin bariyeri bozukluğu, vasküler yapı, astroglizis
Sayfa Adedi : 83
Danışman : Prof. Dr. Sibel Dinçer

THE EFFECT OF TAURINE ON COGNITIVE FUNCTIONS AND BLOOD BRAIN
BARRIER DYSFUNCTION IN RATS ADMINISTERED
INTRACEREBROVENTRICULAR AMYLOID BETA 1-42 PEPTIDE

(M. Sc. Thesis)

İlayda NUMANOĞLU

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

January 2025

ABSTRACT

The aim of our study is to investigate the effects of possible changes that taurine administration will cause on some markers that are related to the structures forming the blood brain barrier and the possible effects on learning and memory in the neurodegenerative process that is induced by intracerebroventricular Amyloid beta 1-42 injection. 28 male Wistar albino rats weighing 250-300 grams was used in our study. Experimental groups were defined as Control(n=7), Taurine(n=7), Amyloid Beta 1-42(n=7) and Amyloid Beta 1-42+Taurine(n=7). Control and Taurine groups received total amount of 10 ul icv PBS injection bilaterally, A β 1-42 and A β 1-42+Taurine groups received total amount of 10 ug/ul A β 1-42 oligomer injection bilaterally. Taurine administration was performed with gavage in Taurine and A β 1-42+Taurine groups as 300 mg/kg for 28 days. Control and A β 1-42 groups received tap water with gavage for the same amount of time. In 24-28th days of our study, Morris Watermaze Test was performed to evaluate spatial learning and memory functions. In 29th day, all animals were sacrificed and in cortical tissue after sacrifice, GFAP, PDGFR- β , ZO-1 and Claudin-5 levels were measured by Western blot and RAGE immune staining was evaluated by immunohistochemistry. For statistical analysis, Kruskal Wallis and Friedmann test was performed to evaluate the results of Morris Watermaze and Kruskal Wallis and Mann Whitney U for pair comparisons was performed to evaluate the results of molecular studies. $p < 0.05$ was considered as significant. In Morris Watermaze only in day 1 of the test escape latencies was significantly changed in between A β 1-42 and A β 1-42+Taurine groups($p < 0.05$). Other test days and in the time spent in target zone in probe test was not significant among groups. Levels of GFAP, PDGFR- β and Claudin-5 evaluated by Western Blot were not significant between groups, in pair comparisons ZO-1 levels were significantly reduced in A β 1-42 group compared to the Control group. There were no significant differences between RAGE immune staining among groups. In our study, icv A β 1-42 application on rats had limited effects on blood brain barrier biomarkers on molecular level and these effects did not affect the learning and memory functions. Taurine did not make any significant changes neither learning and memory functions nor molecular biomarkers.

Science Code : 1023
Key Words : Amyloid Beta 1-42, taurine, blood brain barrier impairment, vasculature, astrogliosis
Page Number : 83
Supervisor : Prof. Dr. Sibel Dinçer

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince bana yol gösteren, bir bilim insanı olma yolunda her daim bana pozitif örnek olan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Sibel Dinçer'e sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı hocalarım Prof. Dr. Çiğdem Özer, Prof. Dr. Gonca Akbulut, Prof. Dr. Şevin Güney, Dr. Öğretim Üyesi Ayşe Meltem Sevgili ve Öğr. Gör. Dr. Pelin Türkkkan'a lisansüstü eğitimim boyunca göstermiş oldukları ilgi ve rehberlik için teşekkür ederim.

Tez sürecimde ve beraber çalıştığımız bilimsel projelerde hem akademik anlamda hem de moral ve motivasyon anlamında ağabeyim gibi yanımda olan Öğr. Gör. Dr. Burak Kayabaşı'na; lisansüstü eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı asistan arkadaşlarım ve yüksek lisans ve doktora öğrencileri arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Histolojik çalışmaların yürütülmesinde sabır ve özveri ile bana rehberlik eden Dr. Öğretim Üyesi Zeynep Yığman 'a ve Arş. Gör. Dr. Çisem Yeşil Kayabaşı' na teşekkürlerimi borç bilirim.

Davranış testlerinin analizinde ve Western Blot çalışmalarında bilimsel desteğini esirgemeyen Gazi Üniversitesi Nörobilim ve Nöroteknoloji Mükemmeliyet Ortak Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne, saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Meltem Bahçelioğlu, Dr. Öğr. Üyesi Kerem Atalar ve Öğr. Gör. Dr. Elif Abbasoğlu Topa' ya teşekkürlerimi borç bilirim.

TYL-2023-8731 kodu ile çalışmamızı destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyonu Birimine teşekkür ederiz.

Hayatım boyunca benden sevgilerini ve desteklerini esirgemeyen anneme, babama, kız kardeşime ve arkadaşlarıma; azmi ve çalışkanlığı ile bana bilim insanı olma yolunda örnek olan ve bu yolculuğumun mümkün olmasını sağlayan Türkiye Cumhuriyeti kurucusu Mustafa Kemal Atatürk'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Alzheimer Hastalığı.....	3
2.1.1. Alzheimer hastalığı genel özellikleri ve hastalığın tarihsel süreci	3
2.1.2. Alzheimer hastalığı ana histopatolojik bulguları: amiloid beta proteini ve hiperfosforile tau proteini	5
2.1.3. Alzheimer hastalığı ile ilgili prelinik modeller	7
2.1.4. Alzheimer hastalığı ile ilgili diğer teoriler	8
2.2. Serebral Dolaşım ve Kan Beyin Bariyeri.....	9
2.2.1. Serebral arteriyel ve venöz dolaşım	9
2.2.2. Kan beyin bariyeri.....	10
2.2.3. Kan beyin bariyeri ve Alzheimer hastalığı.....	14
2.3. Taurin.....	15
2.3.1. Taurinin genel özellikleri	15
2.3.2. Taurin ve kan beyin bariyeri.....	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Deney Hayvanları ve Deney Prosedürü	19

	Sayfa
3.2. Stereotaksik Cerrahi Uygulaması.....	20
3.3. Taurin Uygulaması	23
3.4. Morris Su Tankı Testi	23
3.5. Western Blot Yöntemi	25
3.5.1. Western Blot öncesi total protein değerlendirmesi	25
3.5.2. Western Blot Yöntemi	26
3.6. İmmünohistokimyal Analizler.....	30
3.7. Kullanılan Kimyasallar ve Taşınmaz Aletlerin Listesi.....	32
3.7.1. Sarf malzemeleri	32
3.7.2. Taşınmazlar	35
3.8. İstatistiksel Analiz	37
4. BULGULAR	39
4.1. Deney Hayvanları Beden Ağırlıklarının Bulguları.....	39
4.2. Morris Su Tankı Bulguları.....	39
4.2.1. Deney gruplarının günlere göre kaçış latanslarındaki değişim	39
4.2.2. Deney gruplarında probe testte hedef kadranda geçirilen süre	42
4.3. Western Blot Bulguları	43
4.4. Histolojik Bulgular	45
5. TARTIŞMA.....	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR.....	65
EKLER.....	79
EK-1. Etik Kurul Onayı	80
ÖZGEÇMİŞ	82

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Morris su tankı testinde test günleri deney hayvanlarının bırakılma sırası	24
Çizelge 3.2. RIPA Lysis Buffer hazırlama yöntemi	25
Çizelge 3.3. BCA protein tayini için working solüsyonun hazırlanması	26
Çizelge 3.4. BCA protein tayini standart hazırlığı	26
Çizelge 3.5. Resolving jel hazırlanması için gerekli malzemeler	27
Çizelge 3.6. Stacking jel hazırlanması için gerekli malzemeler	27
Çizelge 3.7. Sample buffer için gereken hazırlama hacmi	27
Çizelge 3.8. Denatürasyon öncesinde numunelerin hazırlanma hacmi	28
Çizelge 3.9. Running buffer hazırlama miktarları	28
Çizelge 3.10. Transfer buffer hazırlama hacimleri	29
Çizelge 3.11. Bloklama Solüsyonunun Hazırlanması	29
Çizelge 3.12. TBST' nin Hazırlanması	29
Çizelge 3.13. Primer ve sekonder antikorların hazırlanması	30
Çizelge 3.14. Antikorların listesi ve dilüsyon oranları	30
Çizelge 4.1. Grupların beden ağırlıklarındaki değişim	39
Çizelge 4.2. Morris su tankı deneyinde grupların günlere göre kaçış latanslarının ortalaması	40
Çizelge 4.3. Western blot analizinde protein ekspresyon seviyeleri	44
Çizelge 4.4. Gruplara ait RAGE immünopozitif boyanma yoğunluğu bulguları	45

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Amiloid beta proteini ve hiperfosforile tau proteini oluşumu	6
Şekil 2.2. Alzheimer hastalığı vasküler hipotezi.....	9
Şekil 2.3. Serebral dolaşım ve kan beyin bariyer.....	11
Şekil 2.4. Alzheimer hastalığında kan beyin bariyerinin değişimi	15
Şekil 3.1. Deney takvimi.....	20
Şekil 3.2. Sıçan beyinde Lateral Ventrikülün tespit edilmesi	21
Şekil 4.1. Grupların kaçış latansları.....	41
Şekil 4.2. Test günlerinde ortalama kaçış latanslarının karşılaştırılması	41
Şekil 4.3. Deney gruplarında günlere göre kaçış latanslarındaki değişim.....	42
Şekil 4.4. Probe testi hedef kadranda geçirilen süre($p>0.05$)	43
Şekil 4.5. Kan beyin bariyerinin oluşturan hücre gruplarının parametrelerinin değerlendirilmes	44
Şekil 4.6. Kontrol (A), Taurin (B), A β 1-42 (C) ve A β 1- 42 + Taurin (D) gruplarına ait beyin kesitlerinde motor korteks iç piramidal hücre tabakasının RAGE immünopozitif boyanma yoğunluğunun gösterildiği mikrograflar. 400 $\times$ büyültme.....	46
Şekil 4.7. Kontrol (A), Taurin (B), A β 1-42 (C) ve A β 1- 42 + Taurin (D) gruplarına ait beyin kesitlerinde somatosensoriyel korteks iç piramidal hücre tabakasının RAGE immünopozitif boyanma yoğunluğunun gösterildiği mikrograflar. 400 $\times$ büyültme.....	47
Şekil 4.8. İmmünohistokimyasal analizde somatosensoriyel kortekste H skorların değerlendirilmesi.....	48
Şekil 4.9. İmmünohistokimyasal analizde motor kortekste H skorların değerlendirilmesi.	48

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Alois Alzheimer ve Auguste Deter (A: Alois Alzheimer, B: Nöritik Plakların Resmedilmesi, C: Auguste Deter)	4
Resim 3.1. Sıçan beyinde Lateral Ventrikülün tespit edilmesi	21
Resim 3.2. Stereotaksik cerrahi uygulaması	22
Resim 3.3. Gavaj ile taurin uygulaması	23
Resim 3.4. Morris su tankı testi deney süresince farklı hayvanların kayıtları	25
Resim 3.5. Western blot running aşaması	28
Resim 4.1. Morris su tankı gruplara göre ısı haritası	40

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Kısaltmalar	Açıklama
APP	Amiloid Öncül Protein:
sAPPβ	Çözünebilen Amiloid Öncül Protein Beta
GFAP	Glial Fibriler Asidik Protein
PDGFR-β	Platelet Derived Growth Factor Receptor Beta
ZO-1	Zonula Occludens 1
GSK-3β	Glikojen Sentaz Kinaz 3 Beta
LRP-1	Low density lipoprotein receptor-related protein 1
RAGE	Receptor for Advanced Glycation End Products
Ang-2	Anjiyopietin-2
Tie-2	Tirozin Reseptör Kinaz 2
M.Ö.	Milattan önce
PBS	Fosfat Tampon Salin
Ach	Asetilkolin
NMDA	N-metil-D-Aspartat Reseptörü
pTau	Fosforile Tau
Da	Dalton
AP	Anterioposterior
ML	Mediolateral
DV	Dorsoventral
Mg	Miligram
Kg	Kilogram
BCA	Bikinkoninik Asit
Ug	Mikrolitre
uL	Mililitre
Aβ 1-40	Amiloid Beta 1-40
Aβ 1-42	Amiloid Beta 1-42

1.GİRİŞ

Alzheimer hastalığı bilişsel fonksiyonlar, öğrenme ve bellek problemleri ile karakterize kronik, ilerleyici ve nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın etyolojisi ile ilgili henüz kesin bir bilgi bulunmamakla birlikte ana histopatolojik biyobelirteçleri, beyinde ekstraselüler amiloid plaklar ve intraselüler nörofibriler yumak yapılarıdır. Bu yapıların korteksin belirli bölgeleri ve hipokampus gibi alanlarda birikmesi ile nörodejeneratif süreç tetiklenerek yapısal değişimlere ve öğrenme ve bellek fonksiyonlarında bozulmalara sebep olur (Puzzo ve diğerleri,2015; Pinhero ve diğerleri, 2019; Briggs ve diğerleri 2016; Oboudiyat ve diğerleri,2013; Wang ve diğerleri,2023; Pinhero ve diğerleri,2019)

Kan beyin bariyeri, astrositler, perisitler ve endotel hücrelerinden oluşan ve beyni kandan gelen patojenlere karşı koruma görevi üstlenen metabolik bariyer yapısıdır (Daneman ve diğerleri, 2015). Alzheimer hastalığında kan beyin bariyerini oluşturan hücresel yapılarda nöroinflamasyona bağlı değişiklikler açığa çıkmaktadır. Astrositler santral sinir sisteminde kan beyin bariyerinin oluşmasında endotel hücresi ile girdiği etkileşim ile katkı sağlamakta ve santral sinir sisteminde iyon homeostazı, nörotransmitterlerin salınması, oksidatif stresin düzenlenmesi gibi rollere sahiptir. Nöroinflamatuvar durumlarda mikroglialar gibi reaktif forma geçerler ve Glial Fibriler Asidik protein gibi yapılarında artış meydana gelir (Liao ve diğerleri, 2008; Han ve diğerleri, 2016; Fakhoury ve diğerleri, 2018; Birch ve diğerleri, 2014). Perisitler kan beyin bariyerinde vasküler stabilitede ve bariyer geçirgenliğinde önemli role sahip mural hücrelerdir. Endotel hücresi ile PDGFR- β : PDGF-B etkileşimi üzerinden vasküler stabiliteye etki etmektedir (Ding ve diğerleri, 2020; Smyth ve diğerleri, 2022). Endotel hücreleri arasında bulunan sıkı bağlantı yapıları, paraselüler taşınmayı kısıtlayan temel yapılardır. Kan beyin bariyerinde bu yapılardan Claudin-5 bariyer fonksiyonlarının devamlılığı açısından yaşamsal öneme sahiptir. İnterendotelyal protein olan Claudin-5, ZO-1 ile hücre iskeletine tutunur ve iki endotel arasındaki madde geçişini sınırlar (Liao ve diğerleri, 2022; Yamazaki ve diğerleri, 2019; Stamatovic ve diğerleri, 2016). Amiloid betanın kan beyin bariyerinde, kan ve beyin arasındaki geçişini LRP-1 ve RAGE reseptörleri düzenler. Bu reseptörler antagonist çalışır ve LRP-1 ile A β proteini beyinden kana, RAGE ile A β proteini kandan beyine geçer. Alzheimer hastalığında kan beyin bariyerinde LRP-1 seviyelerinde azalma ve RAGE seviyelerinde artma görülür ve bunun sonucunda A β proteininin kandan beyne geçişinde artış açığa çıkar. (Deane ve diğerleri, 2004)

Taurin, 2- aminoetanolsülfonik asit olarak da bilinen bir beta aminoasittir. Memelilerde beyin kalp, retina, kas dokusu, karaciğer gibi dokularda bulunur ve vücutta karaciğerde metabolize edilir. Santral sinir sisteminde ana metabolizmasını astrositler düzenler ve taurinin nöronlara taşınmasını sağlar. Santral sinir sisteminde taurinin retinanın gelişmesi, hücre membranının stabilizasyonu, antioksidan, antiapoptotik etki gibi çok yönlü etkileri bulunmaktadır (Junyent ve diğerleri, 2011; Ramirez-Guerrero ve diğerleri, 2022; El Idrissi ve diğerleri, 2019).

Taurinin kan beyin bariyeri üzerindeki etkisine yönelik çalışmalar literatürde sınırlı sayıda yer almaktadır. Bilişsel bozuklukların, kan beyin bariyeri üzerinden değişimine taurinin etkisini incelemek isteyen bir çalışmada, yaşlı kadınlarda egzersiz ve taurinin kombine tedavisi ile bilişsel fonksiyonlarda düzelme görülürken periferik kan beyin bariyeri parametrelerinde kısmi değişim bulunmuştur (Chupel ve diğerleri, 2018). Taurin bazlı enerji içeceği ile yapılan bir diğer çalışmada, alkol kullanımına bağlı bariyer yapısındaki bozulmanın ve artan GFAP seviyelerinin verilen enerji içeceği ile normale döndüğü bulunmuştur (Takechi ve diğerleri, 2022). Retinal mikrovasküler perisitlerde taurinin, Anjiyopietin-2 ve Tirozin Reseptör Kinaz 2 reseptörü üzerinden Caspase-3 aktivitesindeki artış ve buna bağlı açığa çıkan apoptozu önleyici etkisi gösterilmiştir. (Zeng ve diğerleri, 2014). Bununla birlikte deneysel Alzheimer modelinde taurinin kan beyin bariyeri parametrelerine olan etkisini inceleyen bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.

Çalışmamızda intraserebroventriküler Amiloid beta 1-42 proteini ile indüklenen nörodejeneratif süreçte kan beyin bariyerini oluşturan yapılardaki olası değişiklikler ile bu değişikliklerin öğrenme ve bellek fonksiyonlarına etkisinin değerlendirilmesi ve taurinin bu süreçte koruyucu bir etkisi olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Alzheimer Hastalığı

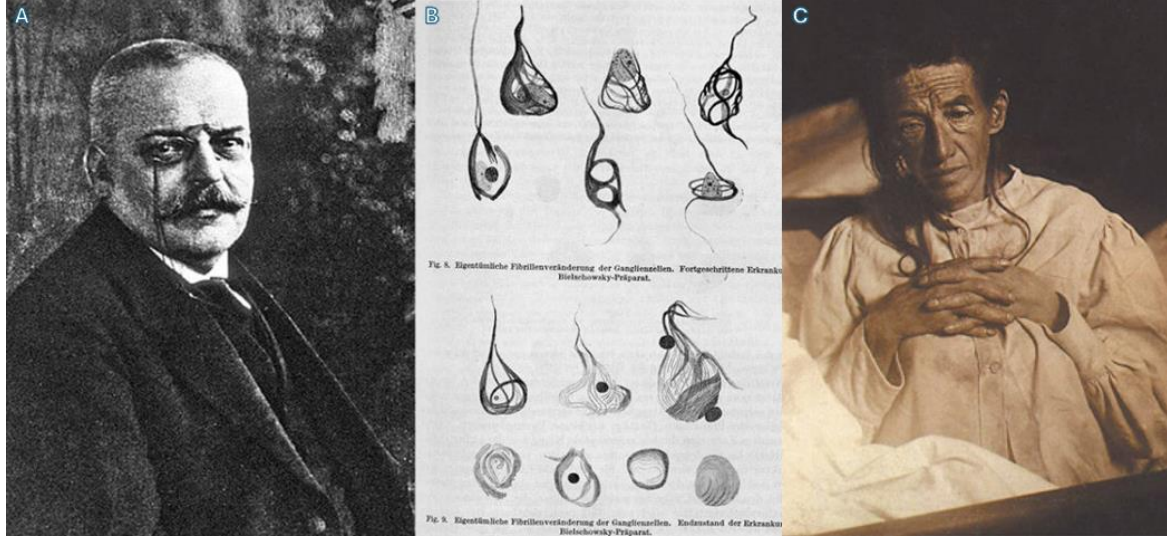
2.1.1. Alzheimer hastalığı genel özellikleri ve hastalığın tarihsel süreci

Alzheimer hastalığı, ana biyobelirteçleri ekstraselüler amiloid beta plakları ve intraselüler nörofibriler yumak yapıları olan, bu yapıların neden olduğu nörodejenerasyon sonucunda, parietal lob ve temporal lobda belirgin nöronal kayıp, sinaptik kayıp ve serebral atrofi ile karakterize, kronik, ilerleyici ve nörodejeneratif bir hastalıktır. Klinikte en sık görülen demans tipidir ve yaşlı popülasyonda görülme sıklığı yüksektir, bunun yanı sıra erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı, hastalar arasında daha küçük bir yer kapsamaktadır (Blennow ve diğerleri, 2006, Oboudiyat ve diğerleri, 2013). Nörolojik hasar erken dönemde entorinal korteks ve hipokampal formasyonlardan başlayıp medial temporal ve parietal kortikal alanlara yayılır. Klinikte en sık karşılaşılan bulgu öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki yetersizliktir ve erken dönemde özellikle semantik hafızadaki değişiklikler dikkati çekmektedir (Verma ve diğerleri, 2012, Jahn H. ,2013).

Demansın ve klinikte en yaygın görülen demans olan Alzheimer hastalığının keşfedilmesi ve anlamlandırılması, Antik Mısır zamanlarına dayanmaktadır. Bu çağlarda, kalp ve diyaframın mental hayatın çevreleyicisi olduğu ön görülmesine karşın, mental bozuklukların yaşlanma ile ilişkilendirildiği belirtilmektedir. Bu görüşten farklı olarak Solon (M.Ö. 636-560), muhakeme yeteneği ile fiziksel patolojileri; Plato ve Hipokrat, Antik Mısır dönemindeki düşünceyle benzer olarak yaşlanma ile bilişsel durumdaki bozulmayı; Galen ise bilişsel bozuklukların beyindeki primer hasar veya vücuttaki herhangi bir hasara bağlı sekonder gelişebileceğini öne sürmüştür. Beyindeki patolojilerin akut ve kronik olarak sınıflandırmasını yapan Aretaeus, akut beyin hastalıklarını delirium, kronik beyin hastalıklarını ise demans olarak nitelendirmiştir (Boller ve Forbes, 1998).

Demansın daha yaygın ve detaylı incelenmesinde öncü olan isimlerden biri Thomas Willis'tir ve kendisi ilk defa vasküler demans terimini kullanmıştır. Thomas Willis haricinde Phillipe Fienl, demansın bir tanı kriteri olarak görülmesine öncülük eden bilim insanıdır. Öğrencisi Jean Etienne Dominique Esquirol, demansın tanımını yapan ilk bilim insanıdır ve tanımına göre demans hastalığı; beyindeki hasar sonucu muhakeme yeteneği, entelektüel yetenekler

ve iradenin kaybolması ile karakterize, bunun sonucunda neşe ve zenginliğin kaybolması ile devam eden bir süreçtir. Vasküler demans ile ilgili birçok yayın yapan Otto Ludwig Binswonger, bu çalışmalarında ilk defa presenil demans ifadesini kullanmıştır. (Yang ve diğerleri, 2016).



Resim 2.1. Alois Alzheimer ve Auguste Deter (A: Alois Alzheimer, B: Nöritik Plakların Resmedilmesi, C: Auguste Deter)

1901 yılında Auguste Deter isimli 51 yaşındaki kadın hasta, hafıza problemleri, sanrılar ve bunun sonucunda günlük yaşam aktivitelerini yerine getirememe gibi problemler yaşadığı dönemde eşi, kendisini doktora götürmüş ve kendisinin hastaneye yatırılmasına karar verilmiştir. Hastane sürecinde kendisiyle Alois Alzheimer ilgilenmiş ve Auguste'nin kendisine ait detayları yanlış hatırlaması, ancak günlük hayatta rastgele nesneleri doğru hatırlaması ile kendisine presenil demans teşhisi koymuştur. (Alzheimer, 1906) Auguste Deter, 56 yaşında günlük yaşam aktivitelerinde tamamen bağımlı haldeyken, septisemi ve pnömoniye bağlı komplikasyonlardan dolayı hayatını kaybetmiştir. Yapılan otopside Bielschowsky' nin geliştirdiği gümüş boyama tekniği ile şiddetli serebral atrofi, milier plaklar (günümüzde senil plaklar olarak bilinen) ve nörofibriler yumak yapılarının bulunmasından yola çıkarak Alois Alzheimer bu hastalığı 'beynin tuhaf hastalığı' olarak tanımlamış ve 1906 yılında Tübingen'de düzenlenen Güney Alman Psikiyatristler toplantısında bahsetmiş, ancak psikiyatri çevresinde beklenen ilgiyi görememiştir. Alzheimer hastalığı tanımını ilk kullanan bilim insanı, Alois Alzheimer'ın aksine, presenil ve senil demans ile ilgili yayınladığı kitabında Auguste Deter' den bahseden Emil Kreaplin'dir (Jellinger, 2006).

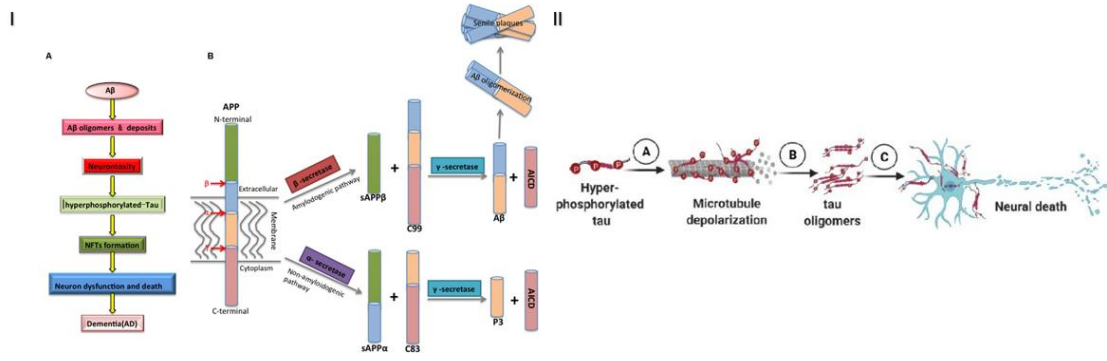
Alzheimer hastalığı ile ilgili önemli çalışmaları bulunan bir diğer isim Oskar Fischer isimli bilim insanıdır. Senil demans hastalarının serebral korteksinde yaptığı çalışmalarda, bu hastaların %75'inde nöritik plak yapısını görmesi, ancak kalan hastalarda bu plak yapısını görmemesine rağmen mental bozuklukların kaydedilmesi ile bu hastalığın senil demanstan farklı olduğunu tespit etmiştir. Yaptığı çalışmadan 3 yıl sonra yayınladığı başka bir raporda ise plakları sekiz sınıfa ayırmış ve bu sınıflandırmaya göre ilk altı sınıftaki plak yapılarının erken dönemden geç döneme kadar uzandığını belirtmiştir (Goedert, 2009).

Bulunan plak yapılarının amiloid beta kökenli olduğu, 1980'li yıllarda yapılan çalışmalar doğrultusunda öne sürülmüştür. Yapılan çalışmada Alzheimer hastalığındaki serebral amiloidozis ile Down Sendromlu bireylerdeki amiloidozis üzerinden karşılaştırma yapılmış ve bu şekilde aynı kromozomda kodlandığı tespit edilmiştir (Glenner ve diğerleri, 1984).

2.1.2. Alzheimer hastalığı ana histopatolojik bulguları: amiloid beta proteini ve hiperfosforile tau proteini

Alzheimer hastalığında, Amiloid Kaskad Hipotezi 'ne göre temel nörodejeneratif protein yapısı Amiloid beta oligomerleridir. Oligomer yapısının oluşması, Amiloid Öncül Protein birikimi ile gerçekleşmektedir. (Puzzo ve diğerleri, 2015; Briggs ve diğerleri, 2006) Amiloid öncül protein, 365 ila 770 aminoasitten oluşan bir transmembran proteindir ve insanda APP695 izoformu, nöronlarda sıkça sentezlenmektedir. Santral sinir sisteminde Amiloid Öncül Proteinin yıkımında iki yolak bulunmaktadır. Bu yolaklardan ilki amiloidojenik olmayan yolaktır ve proteolitik enzimi alfa sekretazdır. Alfa sekretazın yıkımı sonucu sAPP-alfa ve 83 aminoasitli C terminal uç oluşur. Bu yolakta C terminal ucun gamma sekretaz ile yıkımı ile p3 ve A β proteini oluşur. Bu yolak dışında beta sekretaz yolağı ile APP yıkımından sonra sAPP β ve 99 aminoasitli C terminal uç açığa çıkar. C terminal ucun gamma sekretaz ile yıkımı sonucunda APP intraselüler domain ve A β 1-40 ve A β 1-42 gibi monomer yapılar açığa çıkar. Amiloid öncül protein genindeki mutasyon ile bu yapının oligomerleşmesi sonucunda nörotoksisite açığa çıkmaktadır. (Puzzo ve diğerleri, 2015; Chen ve diğerleri, 2017). Amiloid öncül protein haricinde 14. Kromozomda kodlanan Presenilin 1 ve 1. Kromozomda kodlanan Presenilin 2 yapılarının nörodejenerasyona katkıda bulunabileceği çalışmalarda gösterilmiş olsa da sağlıklı bireylerde bu proteinin varlığının gösterilmesi, Presenilin proteinlerinde fizyolojik fonksiyonların yitirilmesinden kaynaklı bir bozukluk olabileceği de öne sürülmektedir (Xia ve diğerleri, 2015). Bu kapsamda preklinik

çalışmalarda APP/PS1 mutasyonlu deney modelleri de kullanılmaktadır (Wirths ve diğerleri, 2006). Amiloid beta proteininin santral sinir sistemindeki yayılımı neokorteksten başlar ve buradaki küçük fokal birikintilerin giderek artması ve entorinal korteks, orta beyin ve en sonunda serebellum ve retiküler formasyona geçmesi söz konusudur (Koychev ve diğerleri, 2020). Amiloid Kaskad Hipotezinden yola çıkılarak Alzheimer hastalığının tedavisinde Anti-Amiloid stratejiler geliştirilmiş; ancak bu etkilerin bilişsel bozukluğun giderilmesinde düşük seviyede olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Lyu ve diğerleri, 2023)



Şekil 2.1. Amiloid beta proteini ve hiperfosforile tau proteini oluşumu (I: Amiloid beta proteini, II: Hiperfosforile tau proteini (Sun ve diğerleri, 2015))

Alzheimer hastalığında Amiloid Beta Proteini haricinde önemli bir yere sahip olan bir diğer yapı da hiperfosforile tau proteinidir. Tau proteini, nöronlarda mikrotübül stabilizasyonunda ve tübülün oluşumunda görev alan, çözünürlüğü yüksek bir protein yapısıdır. Alzheimer hastalığında tau proteininin tau kinaz ve tau fosfataz enzimleri arasındaki dengenin bozulması ile tau oligomerlerinin agregasyonu, agregatların bir araya gelmesi ile çift sarmal yapıları nörofibriller yumak yapısı meydana gelir. Tau patolojisinin yayılımı transentornial korteksten limbik sisteme, ardından neokortekse olacak şekildedir (Hu ve diğerleri, 2017; Chong ve diğerleri, 2018; Kametani ve diğerleri, 2018). Tau patolojisinin giderilmesi için yapılan çalışmalarda, fosforilasyonda görev alan GSK-3β'nın inhibisyonu üzerinden patolojinin giderilmesi amaçlanmıştır ve farklı deney modellerinde beyin farklı bölgelerindeki etkileri gösterilmiştir (Yu ve diğerleri, 2012; Engel ve diğerleri, 2006).

2.1.3. Alzheimer hastalığı ile ilgili preklinik modeller

Transjenik modeller

Transjenik modeller, Amiloid Öncül Proteinin aşırı ekspresyonu ve tau proteininin aşırı ekspresyonu baz alınarak oluşturulur (Carmo ve Cuello, 2013).

Transjenik olmayan modeller

Transjenik olmayan modellerin Alzheimer patolojisini akut düzeyde taklit etmesi, öğrenme ve bellek fonksiyonlarının akut değişimlerin saptanabilmesine olanak sağlamaktadır. Bu modellemelere örnek olarak doğal yaşlanma modelleri (Akhtar ve diğerleri, 2022), D-Galaktoz ile indüklenen Alzheimer benzeri modeller (Gao ve diğerleri, 2015), intraperitoneal Lipopolisakkarit ile nöroinflamasyonun indüklenmesi (Sheng ve diğerleri, 2003) gibi modeller örnek verilebilir. Bu deney modellerinin Alzheimer benzeri öğrenme ve bellek fonksiyonlarında bozulmalar yarattığı gösterilse de Alzheimer benzeri patolojiyi tam olarak yansıtmamaktadır. Bu modellerin dışında stereotaksik cerrahi ile Amiloid beta 1-42 enjeksiyonu, oligomer yapıdaki A β proteininin intraserebroventriküler veya intrahipokampal enjeksiyonu ile oluşturulmaktadır. Amiloid beta 1-42 enjeksiyonu ile yapılan çalışmalarda öğrenme ve bellek fonksiyonlarında bozulma, proinflamatuvar sitokinlerde artış, uzun dönem potansiyasyonun indüklenmesinde bozuklukların ortaya çıkabileceği gösterilmiştir. (Basir ve diğerleri, 2024; Song ve diğerleri, 2013). Preklinik çalışmalarda intrahipokampal A β 1-42 enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel Alzheimer modelleri, öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki bozulmanın değerlendirilmesinde literatürde yer almasına rağmen (Chen ve diğerleri, 2018), Alzheimer hastalığı ve Amiloid Beta Proteininin kortikal yayılımı ve birikimi göz önüne alındığında (Koychev ve diğerleri, 2020) intraserebroventriküler Amiloid beta 1-42 enjeksiyonu, nörotoksik A β oligomerlerinin lateral ventriküllerden perivasküler alanlara ve glimfatik sisteme dağılması ile geniş kortikal yayılım gösterir (Kasza ve diğerleri, 2017). A β 1-42 proteini oligomerleşerek nörotoksik etkisini göstermektedir. Monomer formunda yapılan bir çalışmada hücre ölümüne karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (Zou ve diğerleri, 2002). İntraserebroventriküler A β 1-42 enjeksiyonu ile nörotoksik sürecin tetiklenmesi, bu prensipten yola çıkarak enjekte edilecek A β 1-42 proteininin oligomerleşmesini gerekli kılmaktadır. Literatürde oligomerizasyonu ile ilgili farklı yöntemler yer almaktadır; bununla

birlikte PBS içerisinde, 37 derecede 7 gün inkübasyona bırakılan amiloid beta proteinindeki oligomerizasyonu yapılan bir çalışmada, kromatografik analizle gösterilmiştir. (Kayabaşı ve diğerleri, 2023).

2.1.4. Alzheimer hastalığı ile ilgili diğer teoriler

Teoriler

Kolinerjik hipotez

Alzheimer hastalığında biyokimyasal yolların incelenmesi için çalışmalar 1960-1970 yılları arasında başlamıştır. Bu çalışmalar kapsamında hastaların kolin alımlarındaki bozulma, asetilkolin (ACh) sentezindeki bozulma ve Meynert hücrelerindeki sinaptik kayıplar esas alınarak, nörodejenerasyonda bazal ön beyin ve ilgili kortikal alanların kolinerjik transmisyonundaki bozulma ile Alzheimer hastalığındaki bilişsel bozukluğun ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. (Bartus ve diğerleri, 1982; Francis ve diğerleri, 1999). Klinikte bu hipotezden yola çıkılarak Donepezil, Rivastigmin ve Galantamin gibi farmakolojik ajanların kullanımı yaygındır. (Briggs ve diğerleri, 2016)

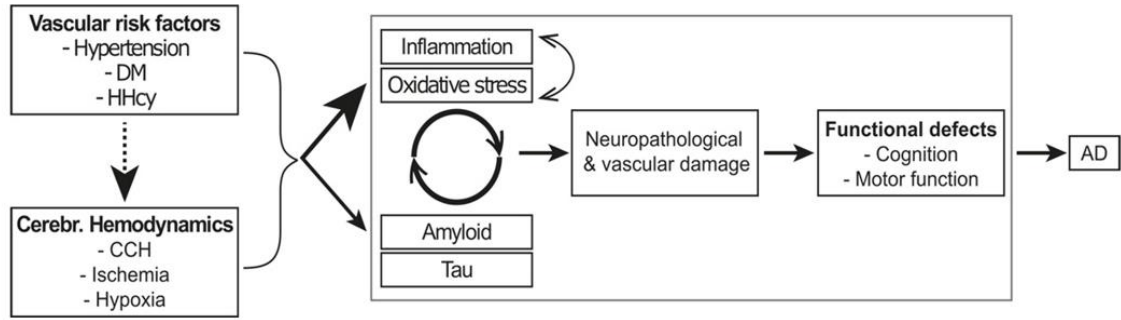
Eksitotoksisite hipotezi

Alzheimer hastalığında eksitotoksisitenin mekanizması, NMDA reseptör aktivasyonunda artış ve reseptör antagonistlerinin aktivasyonunda azalma ile karakterize bir süreçtir. Reseptör aktivasyonunda agonist ve antagonist mekanizmasındaki bu değişim sonucunda hücre içine aşırı miktarda kalsiyum iyonunun girişi söz konusudur. Klinikte, NMDA reseptör blokörü olarak Memantin, bilişsel bozukluk sürecini baskılama amacıyla kullanılmaktadır. (Briggs ve diğerleri, 2016; Hynd ve diğerleri, 2004)

Alzheimer hastalığı ve vasküler hipotez

Alzheimer hastalığı ile ilgili teorilerden biri de çift vuruş vasküler hipotezdir. Bu teoriye göre serebrovasküler hasara sebep olan etkenler ve genetik faktörlerin bir araya gelmesi sonucunda oligemi ve kan beyin bariyerinde bozulma meydana gelmektedir. Kan beyin bariyerindeki bozulma ile nörotoksinlerin beyin parankimine geçişi, Aβ' nın uzaklaştırılamaması ve inflamasyon ortaya çıkmakta; aynı zamanda oligemi ile

mikrovasküler hipoperfüzyon ve APP'nin aşırı ekspresyonu görülmektedir (ikinci vuruş). Açığa çıkan patolojik durumların eşliğinde A β birikmesi, pTau oluşumu ile sinaptik dejenerasyon başlar ve demans gelişir (Nelson ve diğerleri, 2016). Serebrovasküler hasarın ortaya çıkmasına sebep olabilecek mikroanjiyopatilerden en sık karşılaşılanı Tip 2 Diyabetes Mellitus'ta görülendir. Yapılan çalışmalarda diyabet modellerinde kan beyin bariyerinde bozulma, bunun sonucunda bilişsel fonksiyonların bozulması gösterildiği gibi, anti diyabetik ilaçların bu patolojik durumu geri çevirebileceği de gösterilmiştir. (Lu ve diğerleri, 2024; Chen ve diğerleri, 2016). Bu kapsamda A β birikiminin önlenmesi ve A β 'nın uzaklaştırılması adına daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.



Şekil 2.2. Alzheimer hastalığı vasküler hipotezi (Scheffer ve diğerleri, 2021)

2.2. Serebral Dolaşım ve Kan Beyin Bariyeri

2.2.1. Serebral arteriyel ve venöz dolaşım

Serebral dolaşım, beyin fizyolojik fonksiyonlarını sürdürebilmesi açısından beyindeki arteriyel ve venöz dönüş mekanizması ve özel dolaşım bölgelerini kapsayan kompleks bir periferik dolaşım sistemidir. Periferden gelen glukoz gibi maddelerin enerji metabolizmasında kullanılması, kandan gelen oksijenin kullanılması gibi görevleri bulunmaktadır. Bununla birlikte beyin dokusu, oklüzyonlar gibi dolaşım ile ilgili bozukluklardan kısa süreli etkilenebilmektedir; bu nedenle beyin dokusunun beslenmesinin yanı sıra, dış etkenlerden korunması için farklı endotelial ve epitelyal alanlar bulunmaktadır (Tan ve diğerleri, 2021; Mastorakos ve McGavern, 2019). Beynin arteriyel dolaşımında internal karotid arter, anterior ve medial serebral arter ile posterior serebral arter olarak kraniyumda ikiye ayrılmaktadır. Anterior ve medial dallar neokortikal alanları ve striatum

gibi yapıların beslenmesinde sorumluyken; posterior serebral arter beyin sapı ve serebellumun beslenmesinde görev almaktadır. Anterior ve posterior dolaşım alanları Willis poligonunda anastamoz ile birbiri ile ilişkilidir. Arteriyel ve venöz dolaşım yolları yapısal olarak farklılık göstermektedir. Venöz dolaşım tamamen kapalı olmamakla birlikte yüzeysel ve derin venöz dolaşım seviyelerinde farklı şekillerde ilerlemektedir. Yüzeysel ve derin venler, beyindeki sinüslere, ardından jugular ven ile periferik venöz dolaşıma katılırken arteriyel dolaşım, dışı pia mater ile örtülü kapalı bir sistemden oluşmaktadır.

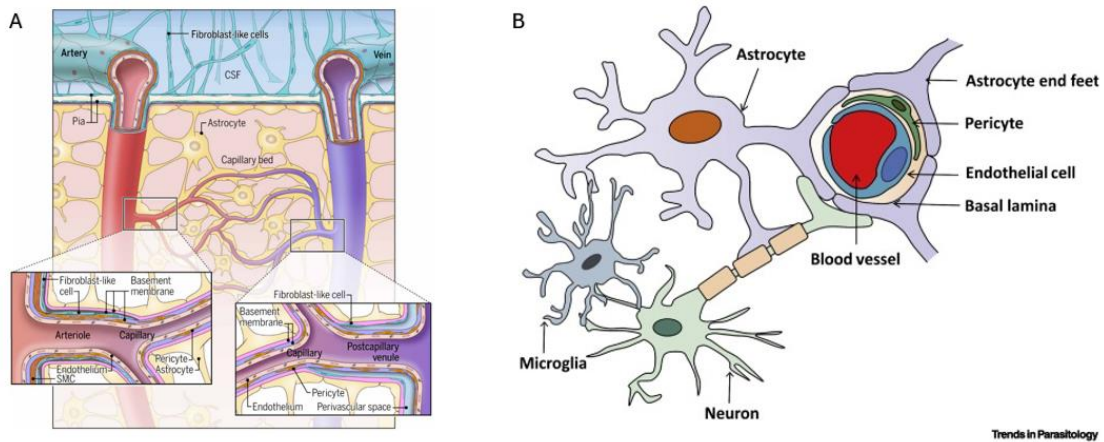
Meninksler

Pia mater, araknoid mater ve dura mater yapıları beyinde ve medulla spinaliste koruyucu işlevi, kök hücre üretmedeki rolü ve postnatal gelişime olan katkıları ile bilinen beyin zarı yapılarıdır. Pia mater, tek hücreli katmandan oluşan ve beyin parankimi ile subaraknoid boşluğu ayıran en içteki meninks yapısıdır. Subaraknoid aralık, pia mater ile araknoid mater arasında yer alan ve içerisinden beyin omurilik sıvısının geçtiği bir alandır. Bu alanda, yapılan bir çalışmada, subaraknoid aralığı fizyolojik kompartmanlara ayıran başka bir meningeal tabakanın varlığından da bahsedilmektedir. Subaraknoid aralığı oluşturan bir diğer sınırlayıcı meningeal tabaka olan araknoid mater, birden çok katmandan oluşan düz hücre hattına sahip bir tabakadır ve altında kolajen liften ve fibroblastlardan zengin trabekül yapıları bulunmaktadır. Subaraknoid aralık bu yapı altında bulunmaktadır ve buradan kan dolaşımı ile bağlantı içerisindedir. En dıştaki meningeal tabaka olan dura mater ise, kan damarından ve lenfatik dolaşımdan zengindir ve bu yapısal özelliklerinden ötürü kafatasının beslenmesi ve serebrospinal sıvının drenajı gibi görevleri de üstlenirler. Meninksler, nöroenezisin devamlılığı, trofik faktörlerin beyin dokusuna sağlanması gibi önemli görevlere sahiptir. (Møllgård ve diğerleri, 2023; Dasgupta ve diğerleri, 2019; Mastorakos ve McGavern, 2019).

2.2.2. Kan beyin bariyeri

Santral sinir sisteminin dolaşımı, beyin dokusunu besleyici özelliğinin yanı sıra beyin parankiminin kandan gelen maddelerin sınırlandırılarak korunma sağlanması yönünde, özgün hücreli bir organizasyona sahiptir. Mikrodolaşımsal düzeyde bu organizasyon, astrositlerden perisitlerden, endotel hücrelerinden oluşan ve nöronlar ve mikroglialar ile etkileşimde olan kan beyin bariyeridir (Saunders ve diğerleri, 1999; Zhao ve diğerleri, 2022).

Kan beyin bariyerinin keşfedilmesi ilk olarak Paul Ehrlich'in intravenöz Coerulean-S sülfat enjekte ettiği kemirgenlerde, beyin dokusunda boyanmasının az olduğunu tespit etmesiyle bilinmektedir (Ehrlich, 1885). Ehrlich bu durumu, IV uyguladığı ajanın beyinde bağlanma afinitesinin daha az olduğuna yorumlamıştır. Ehrlich'in çalışmasının ardından Lewandowsky, 1900 yılında beyin dokusuna potasyum ferrosiyaniür uygulaması yaptığı çalışmada ilk defa kan beyin bariyeri terimini kullanmıştır (Lewandowsky, 1900). Kan beyin bariyeri ile beyin dolaşımının, kandan gelen maddelere getirdiği metabolik kısıtlamanın yanı sıra, santral sinir sisteminde, diğer sistemlerden ayrı bir dolaşımsal organizasyonun varlığına örnek olarak, Weed'in 1917 yılında domuz embriyoları ile yaptığı çalışma örnek gösterilebilir. Çalışmada embriyolojik gelişiminin 19. günündeki domuz embriyolarının spinal kanallarına enjekte ettiği maddenin nöronal tüpte boyanma yapmasına karşın diğer organlarda bu boyanmadığının olmadığı görülmüştür. Bunun sonucunda santral sinir sistemindeki ayrılmış dolaşımsal organizasyonun varlığı gösterilmiştir (Weed, 1917a/b; Saunders ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.3. Serebral dolaşım ve kan beyin bariyeri (A: Kortikal serebrovasküler yatak yapısının şematik görüntüsü, B: Kan beyin bariyerini oluşturan hücresel yapılar (Nishanth ve Schlüter, 2019))

Kandan beyin parankimine madde geçişi, paraselüler alandan pasif difüzyon, taşıyıcı bağımlı madde taşınması, reseptöre bağlı madde taşınması ve adsorpsiyon yolu ile taşınma olmak üzere dört farklı şekilde gerçekleşir (Grabrucker ve diğerleri, 2016). Pasif difüzyon ile kan beyin bariyerini geçebilecek maddeler, 400 Da'dan küçük ve lipofilik maddelerdir. Bunun haricinde yağda çözünemeyen ve daha büyük moleküler ağırlığa sahip maddelerin taşınmasında belirli reseptörler, taşıyıcılar ya da adsorpsiyonu sağlayacak mekanizmalar

gerekmektedir. Reseptöre bağılı taşıma mekanizmasında polarize hücreler, hedef ligandın bağlanması ile hücre içine girişı, bunun sonucunda hücre içi kimyasal reaksiyonlar zinciri ile ilgili dokuya ulaşması ile son bulur (Haqqani ve diğlerleri, 2024).

Kan beyin bariyerinde reseptör mekanizmasına bağılı taşınan protein yapılarına örnek olarak Amiloid beta proteini verilebilir. Amiloid beta proteininin kan ve beyin arasındaki geçişı, LDL Reseptör İlişkili Protein 1(LRP-1) ve İleri Glikasyon Son Ürünleri için Reseptör (RAGE) yapıları düzenler (Deane ve diğlerleri, 2004). Taşıyıcı bağımlı taşıma mekanizması, beyin dokusuna aminoasitler gibi ilgili metabolitlerin sağlanması açısından yaşamsaldır ve hem abluminal yüzeyde hem de luminal yüzeyde belirli proteinlerin reseptörleri bulunabilmektedir. Kolaylaştırıcı veya aktif taşıma ile istenen madde kan beyin bariyerinden beyne taşınabilmekte ve belirli iyonların aracılığı ile bu taşıma gerçekleştirilebilmektedir (Zaragoza, 2020). Bu taşıma mekanizmasına, taurin aminoasidinin abluminal yüzeyden sodyum ve klor bağımlı taşınması örnek verilebilir. (Rasgado-Flores ve diğlerleri, 2012). Adsorpsiyon yolu ile taşınma katyonik proteinlerin endotel hücre yüzeyine spesifik olmayan bir şekilde bağlanarak hücre içine alınmasıdır. Protamin gibi yapılar bu şekilde endotel hücrelerine alınmış olur (Herve ve diğlerleri, 2008)

Kan beyin bariyeri, metabolik bir bariyer yapısı göstermektedir ve temelde madde geçişini kısıtlayan hücresel bağlantıların iki endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantı yapısı (tight junction) olduğu bilinse de farklı hücre grupları, bu organizasyonun devamlılığı açısından katkı göstermektedir. Endotel hücreleri haricinde astrositler ve perisitler, kapiller düzeyde bariyer yapısının hücresel organizasyonunu oluşturan yapılardır (Daneman ve diğlerleri, 2015).

Astrositler

Santral sinir sisteminde en sık bulunan glial hücrelerdir. Kan beyin bariyerinde devamlılığın sağlanması, glutamat gibi nörotransmitterlerin metabolizması, iyon homeostazının sağlanması ve nöronlara belirli besin maddelerinin sağlanması gibi görevleri bulunmaktadır. (Liebner ve diğlerleri, 2011). Nöronlar ile presinaptik ve post sinaptik nöronlara komşu olan perisinaptik astrositik çıkıntılar ile bağlantı sağlar (Zhou ve diğlerleri, 2019). Endotel ile etkileşimi ise astrositik ayakları uzantıları sayesinde gerçekleşir ve burada Aquaporin 4 kanalları ile ozmotik ve hidrostatik gradiyentlere bağılı suyun geçişı sağlanır (Liebner ve

diğerleri, 2011). Bunun haricinde endotelde sıkı bağlantı yapılarının sağlamlaştırılması, TGF- β , GDNF, ANG1 gibi faktörlerin salınması gibi görevleri bulunmaktadır (Abbot ve diğerleri, 2006). Astrositlerin fizyolojik fonksiyonlarını sürdürebilmesi hem nöronlarla hem de endotel ile olan etkileşimin sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesine bağlıdır. Nörodejeneratif durumlarda bu fonksiyonlarda kayıp ile görevlerinde aksama meydana gelmektedir ve yapısal elementlerinde belirli değişimler olmaktadır. Bu yapısal elementlerden, astrositlere özgü olan Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP) bir intermediant filaman proteinidir. Hücreye yapısal destek ve morfolojisinde sağlanması gibi görevleri bulunmaktadır (Eng ve Ghirnikar, 1994). Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif durumlarda astrositlerin bu yapısal proteininde, reaktif gliosis sürecine bağlı olarak birtakım değişiklikler ortaya çıkmaktadır (Fakhoury, 2018). Erken dönemde astositlerde glial atrofi ile GFAP (+) hücrelerde azalma; amiloid plakların birikmeye başladığı dönemde ise bu hücre sayısında artma olduğu yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Beauquis ve diğerleri, 2013; Olabarria ve diğerleri, 2010).

Perisitler

Endotel ile etkileşim halinde olan, embriyolojik düzeyde anjiyogenezin düzenlenmesinde rol alan ve kapiller düzeyde kan akımından sorumlu olan mural hücrelerdir (Liebner ve diğerleri, 2011; Sweeney ve diğerleri, 2018). Perisitlerin endotel ile etkileşimi, farklı reseptör ve ligand ilişkileri ile düzenlenmektedir. Bu düzenlemelerden anjiyogenezin düzenlenmesinde Notch sinyal yolları (Tefft ve diğerleri, 2022) ve VEGF-A üzerinden etki gösterirken (Hellström ve diğerleri, 2001) perisitlerde bulunan PDGFR- β , endoteldeki PDGF-BB ile etkileşime girerek vasküler stabilizeye katkı sağlamaktadır. PDGFR- β reseptör KO farelerde bu stabilizasyonda kayıp, mikroanevrizmalar ve kan beyin bariyerinde bozukluk olduğu gösterilmiştir. (Smyth ve diğerleri, 2022)

Endotel hücreleri

Kan beyin bariyerinde, perisitler ve astrositlerle girdiği etkileşimin yanı sıra endotel hücreleri, iki endotel hücresi arasında bulunan sıkı bağlantı yapıları, adherens bağlantı yapıları ve ara bağlantı yapıları ile madde geçişinde kısıtlayıcı fiziksel bariyer görevini yerine getirmektedir (Keep ve diğerleri, 2018). Bu bağlantılar arasında sıkı bağlantı yapıları, interendotelyal alanın lateralinde bulunan Claudin, Occludin ve Bağlantısal Adhezyon

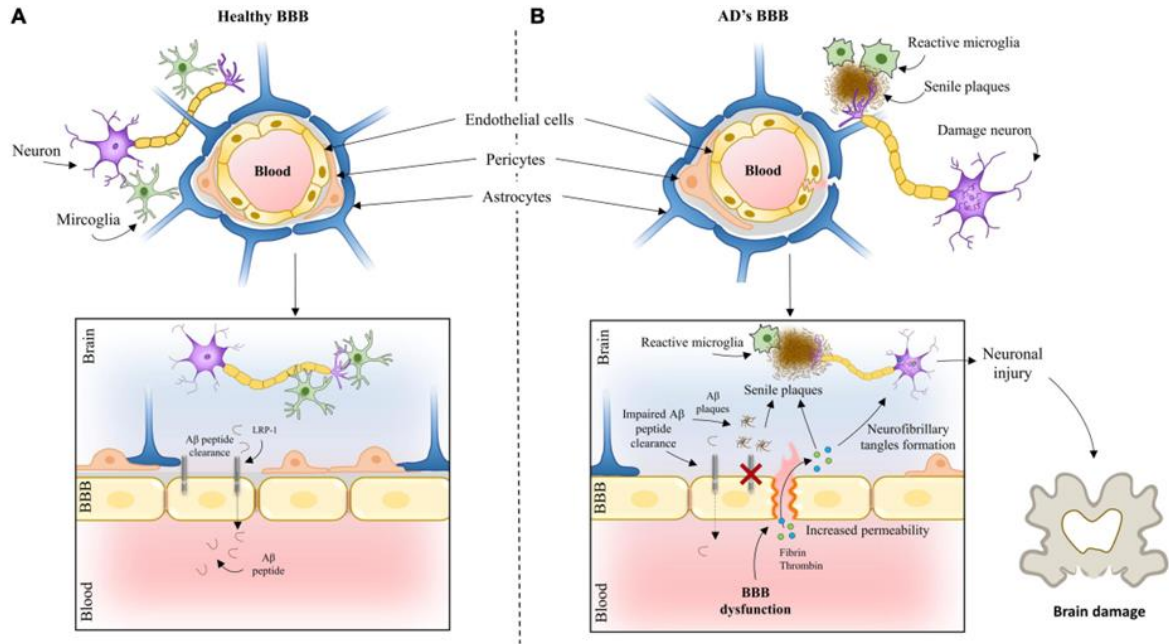
Molekülleri yapılarıdır; bu yapılar Zonula Occludens proteinleri aracılığı ile hücre iskeleti ile bağlantılarını sağlamaktadır (Stamatovic ve diğerleri, 2016). Bu sıkı bağlantı yapılarından Claudin-5, embriyolojik dönemden itibaren kan beyin bariyeri oluşumuna katkı sağlayan temel sıkı bağlantı yapılarından ve yapılan prelinik çalışmalarda postnatal dönemdeki canlılığın devamlılığı için önem arz etmektedir (Nitta ve diğerleri, 2003). Claudin-5 ekspresyonunda rol alan farklı yollar bulunmaktadır (Greene ve diğerleri, 2019). Bu yollardan biri olan Wnt/Beta Katenin sinyal yolağı üzerinden deneysel Alzheimer modelinde yapılan bir çalışmada A β nörotoksitesinin etkilerini düzenlendiği de gösterilmiştir (Wang ve diğerleri, 2022).

Serebral kortikal damarlarda Claudin-5 gibi sıkı bağlantı yapıları, hücre adhezyon molekülleri sayesinde Zonula Occludens proteinleri ile hücre iskeletine bağlantılarını sağlar (Miyoshi ve Takai, 2008; Watson ve diğerleri, 1991). Bu bağlantı, ZO-1'in hücre iskeleti yapısındaki aktin proteini ile bağlanması ile sıkı bağlantı yapılarının organizasyonu ve stabilizasyonunu da sağlamış olur (Dithmer ve diğerleri, 2024). Alzheimer hastalığı gibi nöroinflamatuvar durumlarda, proinflamatuvar yolların aktivasyonu ile ZO-1 ekspresyonunda azalma ve buna bağlı olarak da kan beyin bariyeri yapısında bozulma meydana gelir (Wan ve diğerleri, 2015).

2.2.3. Kan beyin bariyeri ve Alzheimer hastalığı

Alzheimer hastalığında nörodejeneratif süreç, amiloid beta 1-42 proteini ile serebral kortekste tetiklenmektedir. Beyinde interstisyel sıvıda amiloid birikiminin yanında, amiloid beta metabolizmasında, hem kan beyin bariyerindeki antagonist reseptör mekanizmasında, hem de enzimatik degradasyonda amiloid beta birikimi yönündeki değişim, amiloid betanın uzaklaştırmasını zorlaştırmaktadır (Deane ve diğerleri, 2009). Kan beyin bariyerinde LRP-1 ve RAGE reseptörlerinin antagonist mekanizması, beyin ve kandaki amiloid beta geçişini düzenler. Bu düzenlemenin Alzheimer hastalığında LRP-1 ekspresyonunda azalma ve RAGE ekspresyonunda artma yönünde değişimi, amiloid betanın kan ve beyin parankimi arasındaki geçişinde, kandan beyne geçişin artması yönünde değişir (Bell ve diğerleri, 2009; Deane ve diğerleri, 2004). Amiloid betanın beyin parankimine geçişinde rol oynayan RAGE ile etkileşiminin nörotoksik etkisi, nöronları, mikrogliaları ve vasküler yapıları etkilemektedir (Yan ve diğerleri, 1996). RAGE ve Amiloid beta etkileşimi ile ilgili yapılan çalışmalarda, Amiloid beta ve RAGE etkileşimi sonucunda hücre içi kalsiyum miktarlarında

artma, bu artışa bağlı ZO-1 gibi sıkı bağlantı yapılarında bozulma olduğu ve kanda bulunan fibrin gibi yapıların, bozulan kan beyin bariyerinin sonucunda beyin parankiminde biriktiği gösterilmiştir. Bu yapılardan fibrinin, amiloid beta ile etkileşime girerek nörotoksik süreci tetiklediği de bulgular arasındadır (Wang ve diğerleri, 2023; Kook ve diğerleri, 2012). Nöro inflammatuar süreçte astrositler ve mikroglialar gibi glial hücreler yapısal değişikliğe uğrar. Kan beyin bariyerinin devamlılığında görevli astrositler, inflammatuar süreçte fizyolojik fonksiyonlarını kaybeder ve amiloid plaklar ile etkileşimde bulunurlar. Bu etkileşim, immün histokimyasal çalışmalarda GFAP immün reaktivitesindeki artış ile gösterilebilir. (Nagele ve diğerleri, 2004). Kan beyin bariyerinde interendotelyal alanda bulunan Claudin-5 yapısının da bu nöro inflammatuar süreçten etkilenerek farklı kortikal alanlarda azaldığı yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Yamazaki ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.4. Alzheimer hastalığında kan beyin bariyerinin değişimi (Sousa ve diğerleri, 2023)

2.3. Taurin

2.3.1. Taurinin genel özellikleri

Taurin, 2 aminoetanolsülfonik asit olarak bilinen bir beta aminoasittir. Vücutta belirli dokularda sentezlenmesine rağmen diyet ile alımı belirli sistemlerin fizyolojik fonksiyonlarını gerçekleştirmesi için gerekmektedir. Taurin; et ve süt ürünleri, kabuklu deniz ürünleri gibi besinlerden alınabilir. Buna ek olarak vücutta sentezlenebilen Taurin

aminoasidi, karaciğer, beyin, retina ve kas dokusu gibi dokularda sık miktarda bulunur. Vücutta temel metabolizması karaciğer tarafından sistein ve metionin aminoasitlerinin girdiği kimyasal reaksiyonlar sonucunda sağlanır; aminoasitlerden sisteinin sistein deoksigenaz ile girdiği reaksiyonlardan, metioninin ise transsülfürasyon ile sisteine dönüşmesinden bu kimyasal reaksiyonlar başlar. Sistein deoksigenaz ile sistein sülfinat; sistein sülfinatın sistein sülfinat dekarboksilaz ile hipotaurine, ardından taurine dönüşmesi ile karaciğerde sentezi gerçekleşir. Sentezlenen ve diyet ile alınan taurinin ozmoregülatur, anti inflamatur, enerji metabolizmasında düzenleyici etkisi bulunmaktadır. Bunun yanı sıra sekonder safra asitlerinin oluşmasında substratın sağlanması da taurinin sentezi ile ilişkidir. (Huxtable, 1992; Ripps ve Shen, 2012; Schaffer ve Kim, 2018).

Santral sinir sisteminde Taurin, astrositler tarafından metabolize edilmektedir. Beyinde bu Taurin sentezinde görevli üç yolak olduğu literatürde yer almaktadır. İlk yolak sisteinin sistein dekarboksilaz tarafından sistein sülfinata, ardından sistein sülfinat dekarboksilazın hipotaurine dönüşmesi ile karaciğerdeki enzimatik reaksiyonlarla benzerlik gösterir. İkinci yolak ekstraselüler ortamdan metioninin astrositlerde hücre içerisine alınarak transsülfürasyon reaksiyonlarından geçerek ilk yolağı takip etmesiyle devam eder. Üçüncü yolak ise Ko enzim-A'nın sisteine dönüşerek 2 aminoetanoldioksigenaz ile hipotaurine dönüşmesi ile gerçekleşir. Bu yollar doğrultusunda açığa çıkan hipotaurin, astrositler tarafında nöronlara sağlanır ve taurine dönüştürülür. Ek olarak oluşan Taurin de reseptörüne bağlanarak post sinaptik hücreye sağlanır. Taurinin nöronlarda GABA(A) reseptörleri üzerinden nörotoksik etkiyi inhibe ettiğine yönelik çalışmalar literatürde yer almaktadır (Louzada ve diğerleri, 2004, Ramirez-Guerrero ve diğerleri, 2022). Korteks ve hipokampüste, astrosit ve kan damarlarında TauT2 reseptörü ile hücre içerisine alınır (Pow ve diğerleri, 2002). (Beetsch ve Olson, 1998)

Taurin aminoasidinin santral sinir sisteminde kan beyin bariyerinden geçişi, taşıyıcı mekanizmalarla sağlanmaktadır. Bu mekanizmada rol oynayan TauT taşıyıcısının serebellum ve hipokampus gibi alanlarda izoformlarının bulunduğu, bu alanlarda Purkinje liflerinde ve astrositlerde lokalize olduğu ve hipokampüsteki TauT2 reseptörünün aynı zamanda kan damarlarında bulunduğu da literatürde yer almaktadır (Pow ve diğerleri, 2002). (Beetsch ve Olson, 1998). Kan beyin bariyerinden geçişinde taurin taşıyıcısı hem luminal hem de abluminal yüzeyden Na ve Cl bağımlı taşıma yoluyla taurini beyin parankimine almaktadır. (Tamai ve diğerleri, 1994)

2.3.2. Taurin ve kan beyin bariyeri

Santral sinir sisteminde kan beyin bariyeri, astrositler, perisitler ve endotel hücrelerinden oluşan metabolik bir bariyer yapısıdır ve beynin kandan gelen toksinlere ve patojenlere karşı korunması için yaşamsal bir role sahiptir. Taurinin farklı deney modellerinde, in vitro ve in vivo ortamda, kan beyin bariyerini oluşturan hücre gruplarına etkisi ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıda bulunmaktadır. Yaşlı kadınlarda yapılan egzersiz ve taurinin kombine tedavisi ile bilişsel fonksiyonlarda düzelme görülmekle birlikte periferik kan beyin bariyeri parametrelerinin bir kısmında taurin takviyesi etkili olmuştur (Chupel ve diğerleri, 2018). Kan beyin bariyerinin oluşmasında rol oynayan astrositlere taurinin etkisi ile ilgili yapılan çalışmalar ele alındığında, C57Bl farelerde alkol tüketimine bağlı kan beyin bariyerindeki bozulma ve GFAP seviyelerindeki artışın taurin bazlı enerji içeceği ile azaltıldığı (Takechi ve diğerleri, 2022), isv streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde taurinin artan GFAP seviyelerini normale getirdiği (Zeng ve diğerleri, 2009) ve deneysel isv streptozotosin ile oluşturulan Alzheimer modelinde hipokampüste artmış GFAP seviyelerinde taurin takviyesi ile belirli alanlarda kontrole yaklaşma görülmüştür (Huf ve diğerleri, 2024). Taurinin perisitler üzerindeki etkileri, in vitro ortamda retinal mikrovasküler perisitler üzerinde incelenmiştir ve anti-apoptotik etkileri gösterilmekle birlikte perisitlerde antioksidan etkileri belirlenmemiştir (Zeng ve diğerleri, 2014; Kim, 2004). Perisitlerde endotel ile etkileşimde rol oynayan PDGFR- β ve taurinin ilişkisi kapsamında bir çalışma bulunmamaktadır. Taurinin sıkı bağlantı yapıları ZO-1 ve Claudin-5 proteinleri ve A β proteininin taşınmasında görevli olan RAGE reseptörü üzerindeki etkisinin deneysel Alzheimer modellerinde incelendiği bir çalışma literatürde yer almamaktadır.

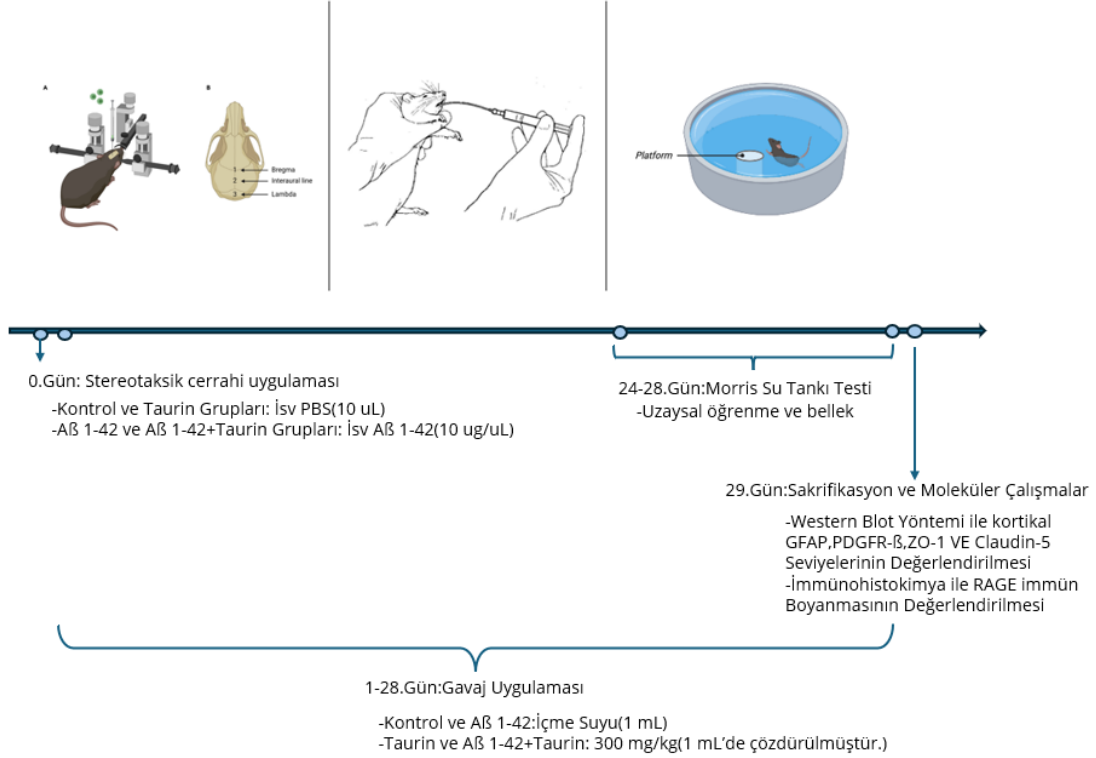
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Deney Prosedürü

Çalışmamızda 250-300 gram erkek Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları kullanımı ile ilgili Etik Kurul Onayı **G.Ü.ET 23.043** numaralı karar ile alındı. Tez çalışması Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2023-8731 numarası ile desteklendi. Deney hayvanları Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edildi; 23 ± 1 °C'de, %60-70 nemli ortamda, aydınlık-karanlık döngüsü 12:12 saat olacak şekilde, ad libitum beslenme ile standart sıçan kafesinde tutuldu. Stereotaksik cerrahi öncesinde deney hayvanları 10 gün aklimatizasyonda bırakıldı. Her deney grubunda n sayısı 7 olarak belirlendi. Deney gruplarına ek olarak, intraserebroventriküler enjeksiyonun lateral ventriküllere başarılı bir şekilde gerçekleştiğinin belirlenmesi için 2 ön deneme hayvanı kullanıldı. Tüm deney hayvanlarının beden ağırlıkları haftalık takip edildi. Sağlık durumları takip edilerek gerekli durumlarda deney hayvanları çalışma dışı bırakıldı. Deney süresinde Kontrol grubundan 1 deney hayvanı, Taurin grubundan 1 deney hayvanı ve Amiloid beta 1-42 grubundan 1 deney hayvanı, hayvanların sağlık durumlarındaki bozulma nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. Amiloid beta 1-42+Taurin grubundan 1 hayvan, deney prosedürü tamamlanmadan kaybedildi. Deney gruplarının hayvan sayılarının belirlenmesinde hayvan deneyi etik ilkeler ve 3R prensibi esas alındı. Deney grupları aşağıdaki gibi belirlendi.

Deney Grupları:

1. Kontrol Grubu(n=7): Bilateral İSV 10 uL PBS (pH=7.4) enjeksiyonu ve gavaj ile 1 mL içme suyu
2. Taurin Grubu(n=7): Bilateral İSV 10 uL PBS (pH=7.4) enjeksiyonu ve gavaj ile 300 mg/kg Taurin
3. Amiloid Beta 1-42 Grubu(n=7): Bilateral İSV 10 ug/uL Aβ 1-42 enjeksiyonu ve gavaj ile 1 mL içme suyu
4. Amiloid Beta 1-42+ Taurin Grubu(n=7): Bilateral İSV 10 ug/uL Aβ 1-42 enjeksiyonu ve gavaj ile 300 mg/kg Taurin



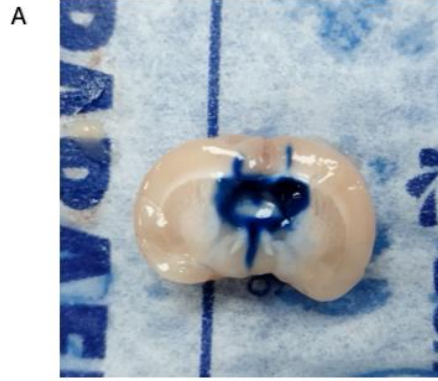
Şekil 3.1. Deney takvimi

3.2. Stereotaksik Cerrahi Uygulaması

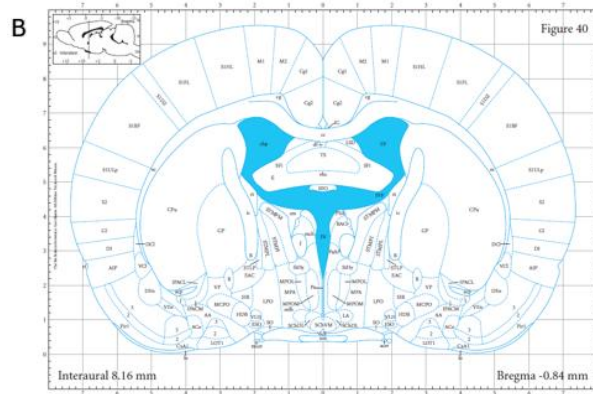
Stereotaksik cerrahi uygulaması, hedeflenen maddenin beyin içerisindeki belirli bir yapıya enjeksiyon yolu ile verilmesini amaçlayan deneysel bir yöntemdir ve nörodejeneratif hastalıkların modellenmesinde sıkça kullanılmaktadır. Deneysel Alzheimer modelinin oluşturulmasında intraserebroventriküler(isv) veya intrahipokampal amiloid beta 1-42 enjeksiyonu literatürde yer alan yöntemler arasındadır (Kayabaşı ve diğerleri, 2023; Karakelle ve diğerleri, 2023).

Çalışmamızda nörodejeneratif sürecin tetiklenmesi için Aβ 1-42 ve Aβ 1-42+Taurin gruplarına stereotaksik cerrahi ile Paxinos atlasında belirtilen koordinatlara göre lateral ventriküllere bilateral olacak şekilde 10 ug/uL Aβ enjeksiyonu yapıldı (Paxinos ve Watson,2007) Kontrol ve Taurin grupların aynı miktarda 10uL PBS (pH:7.4) enjeksiyonu yapıldı. PBS solüsyonu 100 mL'de PBS tabletin çözündürülmesi ile hazırlandı ve cerrahi öncesi pH değerlerinin 7.4 ± 0.5 olmasına dikkat edildi. Amiloid beta 1-42 proteini, PBS solüsyonunda 0,1 mg Aβ 1-42 için 100 uL PBS ile çözündürüldü ve 37 santigrat derecede ayarlanmış etüvde 7 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Bu şekilde oligomerizasyonun

sağlandığı literatürde yer almaktadır (Kayabaşı ve diğerleri, 2023; Karakelle ve diğerleri, 2021). Stereotaksik cerrahi öncesi yapılan ön çalışmada metilen mavisi ile lateral ventriküle enjeksiyonun yapıldığı teyit edildi.



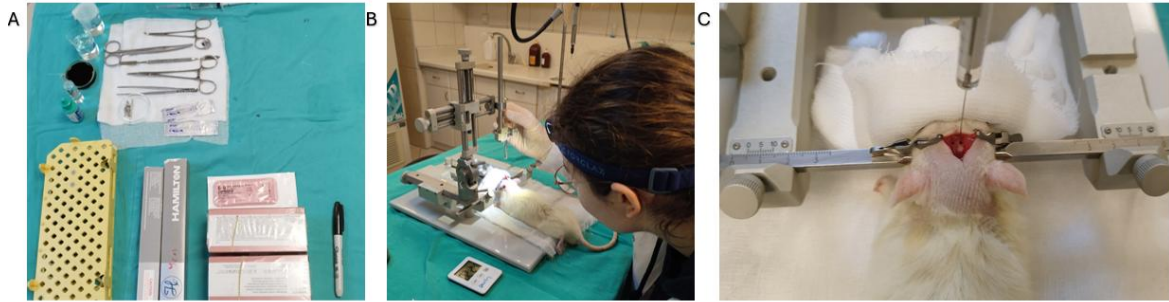
Resim 3.1. Sıçan beyinde Lateral Ventrikülün tespit edilmesi (A: Çalışmamızda metilen mavisi ile tespit edilen lateral ventrikülün görüntüsü)



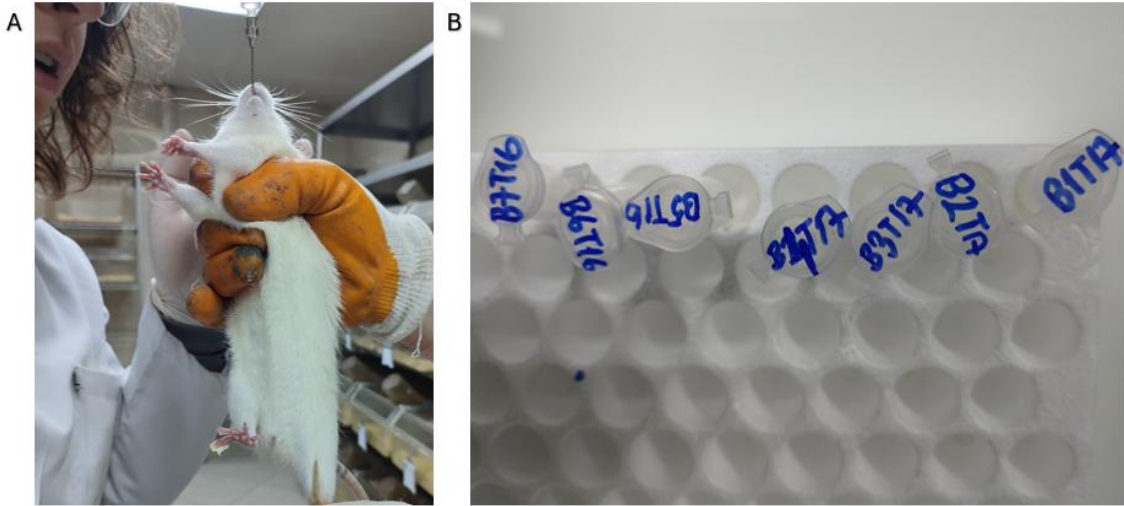
Şekil 3.2. Sıçan beyinde Lateral Ventrikülün tespit edilmesi (B:Paxinos Atlası'nda(2007) Lateral Ventrikülün Görüntüsü)

Cerrahi öncesi tüm gruplar 10 günlük bir aklimatizasyon sürecinden geçmiş ve cerrahi günü tüm deney grupları 45 mg/kg Ketamin hidroklorür ile 5 mg/kg Ksilazin hidroklorür ile anesteziye alındı. Anestezi sonrasında tüm deney gruplarının kafa derileri açıkta kalacak şekilde tüyleri tıraş edildi. Deney hayvanları anestezi altındayken stereotaksik cerrahi aparatına ön dişlerinden ve çene ekleminden sabitlendi. Kulak zarının harabiyeti, deney hayvanlarında otit geliştirme riski ve kilo kaybının önlenmesi bakımından dikkate alınarak sabitleme işlemi çene eklemine altından yapıldı. (Barahona ve diğerleri, 2020) Sabitleme sonrası bistüri yardımı ile kafa derisine sagittal insizyon yapıldı. Kafa derisinde insizyona

bağlı kanama kontrol altına alınarak ekartör ile fasyaya ulaşıldı. Fasyal yapı, kurutma makinesi ile kurutularak kafatası kemiklerinde Bregma ve Lambda yapılarının görülmesi amaçlandı. Stereotaksik koordinatlar Paxinos atlasına göre belirlendi ve bu koordinatlardan yola çıkarak Bregma noktası başlangıç kabul edildi. Başlangıç noktası esas alınarak lateral ventriküllerin koordinatları AP:- 0.8 mm, ML:1.5 mm ve DV:-3.8 mm olarak belirlendi. Belirlenen koordinatlara göre cerrahi matkap ile kafatası kemiklerinden beyin dokusuna, dokuya harabiyet vermeyecek şekilde ulaşıldı. Beyin dokuya ulaşıldıktan sonra Kontrol ve Taurin gruplarına her ventriküle 5 uL, toplamda 10 uL PBS (7.4); A β 1-42 ve A β 1-42+Taurin gruplarına A β 1-42 oligomerleri, her ventriküle 5 uL, toplamda 10 uL olacak şekilde bilateral olarak verildi. Enjeksiyonlar, Hamilton enjektörü ile her ventrikül için 5 dakika süre ile uygulandı. Enjeksiyon bitiminde, verilen maddenin emilmesi için 5 dakika beklendi ve 5 dakika bitiminde yavaşça çıkartıldı. Çıkartma süresi 5 dakika olarak gerçekleştirildi. Enjektörün çıkartılması ile sagittal düzlemde dikiş atıldı ve batikon ile alanın temiz kalması sağlandı. Post operatif dönemde deney hayvanlarının vital bulguları takip edildi. (Fornari ve diğerleri, 2012)



Resim 3.2. Stereotaksik cerrahi uygulaması (A: Cerrahide Kullanılan Malzemeler, B: Stereotaksik Cerrahi İşlemi, C: Cerrahi Sonrası Sıvı Emilimi için Beklenmesi)



Resim 3.3. Gavaj ile taurin uygulaması (A: Gavaj Uygulaması, B: B Grubu Taurinlerinin Hazırlanmasına Örnek)

3.3. Taurin Uygulaması

Taurin, 2-aminoetansülfonik asit olarak da bilinen bir beta aminoasittir. Taurin takviyesinin sağlıklı hayvanlarda ve nörodejeneratif modellerde farklı etkilerinin bulunduğu literatürde yer almaktadır. Çalışmamızda 300 mg/kg Taurin takviyesi Taurin ve A β 1-42+Taurin gruplarına gavaj yolu ile verildi. Taurin aminoasidi, 1 mL içme suyunda, 37 derecede kuru blok ısıtıcıda çözdürüldü. Kontrol ve A β 1-42 gruplarına, gavaj uygulamasının yaratacağı stresten kaynaklı farklılık olmaması için 1 mL içme suyu uygulandı. (Zhang ve diğerleri, 2017; Yıldırım ve diğerleri, 2023). Gavaj uygulaması için, sıçanlara uygun olan 18 G gavaj kullanıldı. Gavaj uygulaması 28 gün boyunca sabah 08.30-09.30 saatleri arasında gerçekleştirildi.

3.4. Morris Su Tankı Testi (MST)

Morris Su Tankı Testi (MST), kemirgenlerde uzaysal öğrenme ve bellek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan bir davranış testidir (Morris, 1981). Alzheimer modeli gibi deney modellerinin yansıra, farklı hayvan modellerinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki değişimin incelenmesi için de kullanılabilir. (Bromley-Brits ve diğerleri, 2011). Çalışmamızda, deney gruplarının uzaysal öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki değişimin incelenmesi amacı ile, deney takviminin 24-28.günleri arasında uygulandı. MST, 150 cm çapında, 65 cm yüksekliğinde bir havuz düzeneğini

içermektedir ve havuzun 1 ila 1,5 cm derininde bir platform yer almaktadır. Havuzda kuzey, doğu, batı ve güney köşeleri olmak üzere toplamda 4 köşeye; kuzeydoğu, kuzeybatı, güneydoğu ve güneybatı olmak üzere toplamda 4 kadrana ayrıldı. Kuzeydoğu kadranda havuzun su yüksekliğinden 1,5 cm altında gizlenmiş bir platform yerleştirildi. Suyun sıcaklığı 25 ± 2 dereceye ayarlandı. Deney hayvanı olarak Wistar albino sıçan kullanıldığı için havuzun içerisindeki su, siyah gıda boyası ile boyandı. Deney alanı 4 tarafı siyah perdeler ile kapatılarak deney hayvanının dış ortamdan görsel uyarı alması engellendi. Perdelerin üzerinde görsel ipuçları, uzaysal öğrenme için yerleştirildi. Deney öncesinde tüm deney gruplarındaki sıçanlar aklimatizasyon için yarım saat deney alanında bekletildi. Deney başlangıcı için ortam aydınlatması ayarlandı ve sıçanlar, sırasıyla aşağıdaki gibi su tankına bırakıldı:

Çizelge 3.1. Morris su tankı testinde test günleri deney hayvanlarının farklı köşelerden bırakılma sırası

	1.Deneme	2.Deneme	3.Deneme	4.Deneme
1.Gün	Güney	Batı	Kuzey	Doğu
2.Gün	Batı	Kuzey	Doğu	Güney
3.Gün	Kuzey	Doğu	Güney	Batı
4.Gün	Doğu	Güney	Batı	Kuzey

Sıçanların, bırakıldıkları her kadranda 60 saniye yüzerek platformu bulmalarına izin verildi. Platformu bulan sıçanların, 15 saniye boyunca platformu ve etraftaki görsel ipuçlarını keşfetmesi için zaman tanındı; platformu bulamayan sıçanların ise, platforma yerleştirilerek 15 saniye boyunca etrafı incelemelerine izin verildi. 15 saniye sonunda sıçanlar, deney alanından uzaklaştırılarak sonraki denemeleri için 15 dakika beklendi. Testin beşinci gününde platform kaldırıldı ve sıçanların, platforma en uzak kadrana olan güneybatı kadrandan bırakılarak, platformun bulunduğu kadrana giriş çıkışları 60 saniye boyunca kaydedildi. Morris Su Tankı testi, uzaysal öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki değişimin ölçülmesinde kullanıldı ve testin parametreleri olan kaçış latansları (60 saniye içerisinde gizlenen platformu bulma süresi) ve probe testte hedef kadrana (kuzeydoğu kısmı) giriş çıkış zamanı ANYMaze 7.1(Stoelting) yazılımı ile değerlendirildi.



Resim 3.4. Morris su tankı testi deney süresince farklı hayvanların kayıtları

3.5. Western Blot Yöntemi

3.5.1. Western Blot öncesi total protein değerlendirmesi

Western Blot analizi öncesinde total protein analizi ile numunelerin protein havuzunun belirlenmesi amaçlandı. (Meftahi ve diğerleri, 2021). Bu kapsamda Bikinkoninik Asit (BCA) Protein Tayini yöntemi kullanıldı. -80 derecede saklanan beyin dokuları, hassas terazi üzerinde 20 miligram olacak şekilde tartıldı. Tartılan dokular 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüplere alındı ve kuru buz içerisindeyken üzerlerine RIPA Lysis Buffer (24948,Santa Cruz, Birleşik Devletler) eklendi.

Çizelge 3.2. RIPA Lysis Buffer hazırlama yöntemi

Kullanılan Malzeme	Hazırlanma Miktarı
1X RIPA Lizis Buffer	9000 µl
PMSF Solüsyonu	90 µl
Sodyum Ortovanadat	90 µl
Proteaz İnhibitör Kokteyl Solüsyonu	90 µl

RIPA Lysis Buffer eklenen dokuların, 10-15 saniye boyunca sonikatör (Sonics VCX 130, Birleşik Devletler) ile homojenizasyonu yapıldı. Homojenize olan dokular, -20 derin dondurucu (Arçelik, Türkiye) içerisinde 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası homojenizatlar, +4 derecede 5 dakika boyunca Soğutmalı Santrifüjde (Hettich, Almanya) 15000 G'de santrifüj edildi. Santrifüj edilen homojenizatların süpernatant kısmı mikrosantrifüj tüplere pipetaj ile konarak saklandı. Lizatların protein tayini öncesinde BCA Protein Tayini Kiti (ThermoFischer/ 23225) içerisindeki Working Solüsyon hazırlandı. Working solüsyonun ardından total protein ölçümünde baz alınacak standartlar hazırlandı.

Çizelge 3.3. BCA protein tayini için working solüsyonun hazırlanması

Kullanılan Malzeme	Hazırlanma Miktarı
Reagent A	27,5 mL
Reagent B	0,55 mL

Çizelge 3.4. BCA protein tayini standart hazırlığı

	Dilüent Madde Hacmi (PBS)	BSA Kaynağı ve Hacmi	BSA Konsantrasyonu(ug/uL)
Standart A	0	90 uL Stok Solüsyonu	2,000
Standart B	37,5 uL	112,5 uL Stok Solüsyonu	1,500
Standart C	97,5 uL	97,5 uL Stok Solüsyonu	1,000
Standart D	52,5 uL	52,5 uL B Solüsyonu	750
Standart E	97,5 uL	97,5 uL C Solüsyonu	500
Standart F	97,5 uL	97,5 uL E Solüsyonu	250
Standart G	97,5 uL	97,5 uL F solüsyonu	125
Standart H	120 uL	30 uL G Solüsyonu	25
Standart I	120 uL	0	0=Blank

Standartlar hazırlandı ve microplate (655101, Greiner Bio-one, Avusturya) üzerine önce ilk sütunlar blank olacak şekilde ikinci satırdan itibaren ilk üç sütuna pipetleme ile sırasıyla yerleştirildi. Ardından 25 uL numuneler pipetlendi (S7100-1100, StarLab, Birleşik Krallık) ve üzerlerine 200 mikrolitre Working solüsyon, çok kanallı pipet (705910, TransferPette, Almanya) ile pipetlendi. Microplate'in üzeri ışık almaması için örtüldü ve 30 dakika 37 derecede inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası spektrofotometre cihazında (SpectroStar Nano BMG Labtech, Almanya) 562 nm ile absorbans değerleri hesaplandı. Bu hesaplamalardan protein konsantrasyonu belirlendi. Bu değerlendirme sonucu her numune için 20 mikrogram protein yükleneceği tespit edildi.

3.5.2. Western Blot Yöntemi

Western blot yöntemi, beyin dokusunda kan beyin bariyeri parametrelerindeki değişimin değerlendirilmesi amacıyla kullanıldı. Deney öncesinde total protein tayini için BCA yöntemi kullanılarak 20 mikrogram protein miktarına göre numunelerin yüklenme hacimleri hesaplandı. Jel kabininde %12'lik SDS-Poliakrilamid jelin ilk olarak Resoliving jel kısmı hazırlandı ve jelin sertleşmesi için üzeri distile su ile kapatıldı. Jel yapısını oluşturan yapılar aşağıda verildi.

Çizelge 3.5. Resolving jel hazırlanması için gerekli malzemeler

Kullanılan Malzeme (Eklenme Sırasına Göre)	Eklenme Hacmi (uL)
Distile Su	4000
Akrilamid	3300
1,5 M Tris Hidroklorür	2500
%10 Sodyum Dodesil Sülfat	100
Ammoniyum Persülfat	100
N, N, N', N'-Tetrametiletilendiamin (TEMED)	4,5

Resolving Jelin donması ile üzerindeki distile su uzaklaştırıldı ve üzerine Stacking Jel eklenerek jel tarakları ile kuyucukların oluşması sağlandı. Stacking Jelin hazırlanması için gerekli malzemeler aşağıdaki tabloda yer almaktadır.

Çizelge 3.6. Stacking jel hazırlanması için gerekli malzemeler

Eklenen Malzeme (Sırasıyla)	Eklenme Hacmi(uL)
Distile Su	3075
Akrilamid	670
0,5 M Tris Hidroklorür	1250
%10 Sodyum Dodesil Sülfat	50
Ammoniyum Persülfat	25
N, N, N', N'-Tetrametiletilendiamin (TEMED)	6

SDS Poliakrilamid jel hazırlandıktan sonra numuneler -80 derin dondurucudan çıkartıldı. Örnekler SDS Polilakrilamid Jele yüklenmeden önce Sample Buffer hazırlandı. Mikrosantrifüj tüplere hazırlanan Sample Buffer (7722S, Cell Signaling Technology, Birleşik Devletler) pipetleme ile yüklendi. Sample Buffer içerisindeki kimyasallar, toplam yükleme hacimleri baz alınarak hesaplandı. Ardından yükleme hacmine uygun distile su ve numuneler yüklendi. Numunelerin yükleme hacimleri 30 mikrograma göre hazırlandı. Denatürasyonda hazırlanan örneklerin buharlaşma katsayısı göz önünde bulundurularak yüklenecek protein miktarının 1,5 katı hazırlandı. Bu hesaplama ile toplamda 15 mikrolitre denatürasyon öncesi hacim olarak hesaplandı, 10 mikrolitresi jeldeki kuyucuklara yüklenecek hacim olarak belirlendi.

Çizelge 3.7. Sample buffer için gereken hazırlama hacmi

Sample Buffer için Gereken Kimyasal	Hazırlama Hacmi(uL)
3X Blue Loading Buffer	270
30X Reducing Agent (1.25 M DTT)	27

Çizelge 3.8. Denatürasyon öncesinde numunelerin hazırlanma hacmi (C: Konsantrasyon, BCA protein tayini ile hesaplanmıştır.)

	Hazırlama Hacmi(uL)
Numune Hacmi	$30:C_{\text{Protein}}$
Sample Buffer	5
Distile Su Hacmi	$15-(5+30:C_{\text{Protein}})$
Toplam Hacim	15

Hazırlanan numuneler, Kuru Blok Isıtıcıda (Eppendorf, Birleşik Devletler) 5 dakika 95 derecede denatürasyona bırakıldı. Denatürasyon sonrası numuneler çıkartıldı, jel tankı içerisindeki jel kuyucuklarına çıkartıldı ve 10 mikrolitre hacimde kuyucuklara yüklendi. Numuneler yüklenmeden önce Protein Ladder (773302, Biolegend, Birleşik Devletler) 4 mikrolitre olarak yüklendi. Numuneler yüklendikten sonra proteinlerin jelde yürütülmesi başlatıldı. Yürütme işlemi öncesinde Running Buffer (sc-296527, Santa Cruz, Birleşik Devletler) hazırlandı ve jel tankına dolduruldu. Proteinler 120 dakika 100 Volt potansiyel farkta yürütüldü.



Resim 3.5. Western blot running aşaması

Çizelge 3.9. Running buffer hazırlama miktarları (*Running Buffer katı formdadır, 10X hacme getirilmesi için 1 L distile su eklenir. Toplamda 1 L hacimde Running Buffer elde edilir.)

Kullanılan Malzeme	Hazırlama Hacmi(mL)
Running Buffer 10X	100*
Distile Su	900

Proteinlerin yürütülmesinin ardından jeller cihazdan çıkartıldı. Çıkartılan jellerin Stacking jel kısmı uzaklaştırıldı. Jeller, proteinlerin nitroselüloz membrana transferi için transfer

kasetlerine yerleştirildi. Transfer kasetleri, transfer işleminin gerçekleştirilmesi için jeli içerisinde barındıracak şekilde düzenlendi. Siyah ve beyaz yüzü olan kasetlerin içerisine, en dıştan içe doğru sünger ve filtre kağıtları yerleştirildi. Beyaz kaset kısmında filtre kâğıdı üzerine nitroselüloz membran ve jel yerleştirilip kasetler kapatıldı. Transfer cihazına kasetler, beyaz kısım ön tarafta olacak şekilde yerleştirildi. Yerleştirilen kasetlerin üzerine Transfer Buffer ilave edildi ve jel tankının içerisine buz kalıbı ve manyetik bilye eklendi. Manyetik karıştırıcı üzerinde soğuk transfer 60 dakikada 350 miliamperde gerçekleştirildi.

Çizelge 3.10. Transfer buffer hazırlama hacimleri (Toplamda 1 L transfer buffer elde edilir.)

Kullanılan Malzeme	Eklenme Hacmi(mL)
Tris Glycine Buffer 10X	100
Metanol	200
Distile Su	700

Transfer işleminin ardından transfer kaseti cihazdan çıkartıldı. Jel uzaklaştırıldı, ardından filtre kâğıdı ve süngerler çıkartıldı. Nitroselüloz membran Tris Buffer Saline with Tween (TBST) (TA-999-TT, Epredia, Birleşik Devletler) ile 3 kez 7 dakika yıkandı. Yıkamanın ardından membran 90 dakika oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda 10 mL TBST’de çözdürülmüş 0,3 BSA (BSA-1U, Capricorn Scientific, Almanya) ile bloklamaya bırakıldı.

Çizelge 3.11. Bloklama Solüsyonunun Hazırlanması (BSA katı formda tartılır, TBST’de çözdürülür.)

Kullanılan Malzeme	Hazırlama Miktarı
Bovin Serum Albumin	0,3 gram
Tris	10 mL

Çizelge 3.12. TBST’ nin Hazırlanması (Toplamda 1 L hazırlanmıştır.)

Kullanılan Malzeme	Hazırlama Miktarı(mL)
Tris Buffer Saline With Tween(20X)	50
Distile Su	950

Bloklama işleminin ardından membran, primer antikora +4 derecede gece boyunca orbital çalkalayıcıda bırakıldı. Primer antikorlar 10 mL TBST’de çözdürülen 0,3 BSA içerisine uygun dilüsyonda pipetlendi. Ertesi gün membran primer antikordan uzaklaştırıldı ve 3 kez 7 dakika boyunca TBST ile yıkandı. Yıkamanın ardından 60 dakika oda sıcaklığında sekonder antikorda inkübe edildi. Sekonder antikorda inkübasyon sonrasında 3 ekz 7 dakika membran yıkandı ve görüntülemenin yapılması için Gazi Üniversitesi Nörobilim ve Nöroteknoloji Mükemmeliyet Ortak Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde iBright cihazında

ECL ile okutuldu. IBright cihazı, tanımlanan protein bantlarındaki piksel yoğunluğunun toplamını hesaplar. Bu hesap toplam şerit hacmi değerini verir ve bu değer yoğunluk cinsinde verilir. Bu değerden arka plan hacmini çıkartarak verdiği değer ayarlanmış toplam şerit hacmi olarak belirlenmiştir. Ayarlanmış toplam şerit hacminin birimi yoğunluktur. Bu yoğunlukları, bantları kendi içerisinde referans bant belirleyerek normalizasyon yapar. Kontrol grubu, çalışmamızda referans olarak kabul edildi. Western blot analizindeki değerler, ayarlanmış toplam şerit hacimlerinin değerlerinde primer antikor/beta aktin olacak şekilde hesaplanmasıyla bulundu.

Çizelge 3.13. Primer ve sekonder antikorların hazırlanması

	Primer Antikor	Sekonder Antikor
BSA Miktarı	0,3 gram	0,3 gram
TBST Miktarı	10 mL	10 mL
Antikor Miktarı	6 uL	1 uL

Çizelge 3.14. Antikorların listesi ve dilüsyon oranları

Antikor Adı	Antikor Özelliği	Dilüsyon Oranı
Anti GFAP	Primer Antikor	1:500-1:2000 6 uL antikor pipetlenmiştir.
Anti PDGFR- β	Primer Antikor	1:500-1:2000 6 uL antikor pipetlenmiştir
Anti Claudin-5	Primer Antikor	1:500-1:2000 6 uL antikor pipetlenmiştir
Anti ZO-1	Primer Antikor	1:500-1:2000 6 uL antikor pipetlenmiştir
Anti Beta Aktin	Yükleme Kontrol Antikoru	1:500-1:2000 6 uL antikor pipetlenmiştir
HRP ile Konjuge Sekonder Antikor	Sekonder Antikor	1:10000 1 uL antikor pipetlenmiştir.

3.6. İmmünohistokimyal Analizler

Çalışmada Amiloid beta 1-42 metabolizması ile ilgili olan RAGE' nin ekspresyonu sağ hemisfere ait kesitlerde immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Deney hayvanlarının feda edilmesiyle alınan beyinlerin sağ hemisferleri %10'luk nötral formalin içerisinde 48 saat boyunca fiksasyona bırakıldı. Fiksasyon sonrası beyin doku örnekleri doku takibine alınarak parafin doku blokları elde edildi. Beyin dokusu parafin bloklarından, sıçan beyni stereotaksik koordinatlarının verildiği atlas (Paxinos & Watson) referans alınarak, motor korteks ve somatosensoriyal korteksin kesit düzlemine girdiği 169. düzlemle uyumlu, 4 μ m kalınlığında sagittal kesitler mikrotom ile (HistoCore MULTICUT, Leica, Almanya) kesilerek pozitif yüklü lamalar üzerine alındı. Kesitler kuruma işlemini takiben önce bir gece etüvde bekletildi ardından ksilol içerisinde parafinden uzaklaştırma işlemi gerçekleştirildi ve preparatlar immünohistokimyasal boyama için hazır hale getirildi. Deparafinizasyonun

ardından kesitler sırasıyla %100, %96 ve %75 etil alkolden geçirilerek distile su içerisine alındı. Rehidrate edilen beyin doku kesitleri sitrat tamponu (pH 6.0) içerisine alınarak ısı ile indüklenen antijen dönüştürme işlemi uygulandı. Antijen dönüştürme aşaması sonrasında kesitler fosfat tamponlu salin (phosphate buffered saline, PBS) ile yıkandı. Yıkamanın ardından, %3'lük hidrojen peroksit ile etkin bırakılarak doku kesitlerinin endojen peroksidaz enzim etkinliği bloke edildi. Bu aşamadan sonra PBS ile yıkanan kesitler özgün olmayan antikor bağlanmalarını önlemek için UltraV Block (TA-125-UB, Thermo Scientific, Birleşik Devletler) protein bloklama solüsyonuyla etkin bırakıldı. UltraV Block uzaklaştırıldıktan sonra kesitler yıkanmadan anti- RAGE primer antikoruyla (1:100 dilüsyon, AF5309, Affinity Biosciences, Birleşik Devletler) 1 gece boyunca +4 °C'de inkübasyona bırakıldı. Ardından PBS ile yıkanan dokulara biotinli sekonder antikor (TP-125-BN, Thermo Scientific, Birleşik Devletler) uygulandı. Sekonder antikorla inkübasyondan sonra PBS ile yıkanan kesitler streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (TS-125-HR, Thermo Scientific, Birleşik Devletler) etkin bırakıldı. Streptavidin peroksidaz enzim kompleksi uzaklaştırıldıktan sonra PBS ile yıkanan kesitler, gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya çıkması için diaminobenzidin (DAB) kromojen-substrat kompleksinde (TA-125-HDX, Thermo Scientific, Birleşik Devletler) bekletildi. Zemin boyası olarak Mayer'in hematoksileni kullanıldı. Prosedürün tamamlanmasının ardından azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 20 dakika ksilolde bekletildikten sonra entellan ile kapatıldı (Ramos ve diğerleri, 2005).

İmmünohistokimyasal analiz için hazırlanan tüm kesitler Leica DM 4000B (Almanya) bilgisayar destekli ışık mikroskobunda değerlendirildi ve Leica LAS V4.12 programı kullanılarak kesitlere ait görüntüler elde edildi. İmmünopozitif boyanma yoğunluğunu değerlendirmek üzere motor ve somatosensoriyal korteks alanlarının her birinde V. tabaka (iç piramidal hücre tabakası), 400× büyültmede, çakışma göstermeyen ardışık 5 alan halinde görüntülendi. Elde edilen mikrograflarda RAGE immünopozitif boyanma yoğunluğu, H-Skor = $\sum P_i (i + 1)$ formülüne göre hesaplanan H-skor değeriyle belirlendi (Bacus ve diğerleri, 1988) Bunun için alınan görüntülerde, ImageJ programı (1.54g, National Institutes of Health) kullanılarak % 0-100 arasında değişen yüksek pozitif, pozitif, düşük pozitif ve negatif boyanma oranları belirlendi (Schneider ve diğerleri, 2012). Bu boyanma oranları, "i" değerinin karşılığı olan ve yüksek pozitif boyanma için 3, pozitif boyanma için 2, düşük pozitif boyanma için 1 ve negatif boyanma için 0 puan verilerek boyanma yoğunluklarının ağırlıklandırıldığı H-Skor = $\sum P_i (i + 1)$ formülasyonunda kullanılarak sonuç H-skorlar elde edildi. Elde edilen bu skorlar gruplar arasında karşılaştırıldı.

3.7. Kullanılan Kimyasallar ve Taşınmaz Aletlerin Listesi

3.7.1. Sarf malzemeleri

Sarf Malzemesi	Marka/Katalog No.
Amiloid Beta 1-42 Proteini	Sigma Aldrich/A9810
Metilen Mavisi	-
Fosfat Tampon Salin(PBS)	Bioshop/PBS404.100
Dermosept Batikonal %10 Antiseptik Çözelti	Dermosept
29G Hamilton Enjektörü	Hamilton/701 SN
6.0 Cerrahi Dikiş İpi	CAPROSYN/SC-5688-G
18G Sıçan Gavajı	-
Taurine	BioShopTAU303.1
Ketamin Hidroklorür	Keta Control
Ksilazin Hidroklorür	SantaVet Sanalazin
Mikrosantrifüj Tüp(1.5 mL)	-
Mikrosantrifüj Tüp(100 uL)	Microcult/232110
Otomatik Pipet 100-1000 uL	StarLab/S7100-0510
Otomatik Pipet 10-100 uL	StarLab/ S7100-1100
Otomatik Pipet 1-10 uL	StarLab/S7110-1000

Çok Kanallı Otomatik Pipet	TransferPette/705910
Bikinkoninik Asit Protein Tayin Kiti	Thermo/ 23225
RIPA Lysis Buffer	Santa Cruz/24948
Microplate	Greiner Bio-one/655101
Akrilamid	SERVA/10680
Tris Base	BiosShop/TRS001.1
Sodyum Dodesil Sülfat	SERVA/20765
Amonyum Persülfat	SERVA/13376.02
Tetrametilendiamin	SERVA/ 35925.01
Sample Buffer	Cell Signaling Technology/7722S
Protein Ladder	Biolegend/ 773302
Tris Glisin SDS Running Buffer 10X	Santa Cruz/ sc-296527
Tris Glisin Transfer Buffer 10X	ThermoFischer/28363
Metanol	ISOLAB/ 947.046.2500
Nitroselüloz Membran	Ammersham Protran/10600003
Bovin Serum Albumin	Capricorn Scientific/BSA-1U
Tris Buffer Saline with Tween 20X	EPREDIA/TA-999-TT
GFAP Polyclonal Antibody	Affinity BioScience/ DF6040

PDGFR-β Polyclonal Antibody	Affinity BioScience/ AF6133
Claudin-5 Polyclonal Antibody	Origene Technologies Inc / TA384012
ZO-1 Polyclonal Antibody	Bioss/ bs-1329R
RAGE Polyclonal Antibody	Affinity BioScience/AF5309
Beta Aktin Polyclonal Antibody	Bioss/bs-0061R
HRP ile Konjuge Sekonder Antikor	Advansta Inc. /R-0572-500
ECL Western Blot Substratı	ThermoFischer/ 32106
Formaldehit	IsoLab/ 923.015.2500
Mikrotom Bıçağı	LEİCA 819/ 14035838925
Absolute Ethanol	IsoLab/920.026
Ksilen	IsoLab/ 990.019
Teksoll	Tekkim/ TK.200650.05001
Parafin	PatoLab/ PWax58
Sitrat Buffer	ThermoFischer/AP-9003-999
%30'luk Hidrojen Peroksit	Merck/ 108597.2500
Pap Pen	PatoLab/01
UltraV Block	Thermo Scientific/ TA-125-UB
Biotinli Sekonder Antikor	Thermo Scientific/TP-125-BN

Streptavidin Peroksidaz Kompleksi	Thermo Scientific/TS-125-HR
Diaminobenzidin (DAB) Kromojen-Substrat Kompleksi	Thermo Scientific/TA-125-HDX
Mayer Hematoksilen	HST-HEM
Entellan	Merck/107961.0100
Pozitif Şarjlı Lam	Microcult/216110
Lam	Isotherm/CLR00000001
Lamel	Isotherm/CLML002424

3.7.2. Taşınmazlar

Kullanılan Taşınmaz Malzemeler	Marka	Bulunduğu Birim/Anabilim Dalı
Stereotaksik Cerrahi Aparatı	Stoelting	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Stereotaksik Cerrahi Matkabı	Foredom	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Hassas Terazı	Hettich	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Kuru Blok Isıtıcı	Eppendorf	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Distile su Cihazı	MP MINIpure	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Soğutmalı Santrifüj Cihazı	Hettich	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
İnkübatör	Nüve EC 160	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Sonikatör	Sonics VCX 130	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Mini Santrifüj Cihazı	Dizge Analitik	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Spektrofotometre	SpectroStar Nano BMG Labtech	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Biorad Mini-PROTEAN Tetra Cell, Mini Trans- Blot Module, and PowerPac Basic Power Orbital Çalkalayıcı	BioRad	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
+4 Buzdolabı	D- Lab	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
-20 Derin Dondurucu	Arçelik	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
-80 Derin Dondurucu	Arçelik	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Morris Su Tankı Deney Düzenegi	Sanyo	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Sıvı Azot Tankı	-	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
DokuNumunesi Hazırlama Cihazı	International cryogenics Inc.	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Parafin Tankı	Leica	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Mikroalga	Leica EG1120	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
	Arçelik MD 574	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Bilgisayar Destekli Işık Mikroskobu	Leica DM 4000	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Mikrotom Cihazı	Leica RM2245	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
iBright Kemilüminesans Görüntüleme Cihazı	ThermoFischer	Gazi Üniversitesi Nörobilim Ve Nöroteknoloji Mükemmeliyet Ortak Uygulama Ve Araştırma Merkezi
Bilgisayar Destekli ANYMaze Görüntüleme Sistemi 7.1	Stoelting	Gazi Üniversitesi Nörobilim Ve Nöroteknoloji Mükemmeliyet Ortak Uygulama Ve Araştırma Merkezi

3.8. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel verileri Ortalama $\pm$ Standart hata olarak verilmiştir. Veri sayıları göz önünde bulundurularak Morris Su Tankı testinde Kruskal Wallis ve Friedmann analizi, post hoc test olarak Dwass Steel Critchlow-Fligner analizi ile Durbin Conover Analizi; moleküler çalışmalarda Kruskal Wallis ve ikili karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel analizler Jamovi 2.5.6. programı ile yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanları Beden Ağırlıklarının Bulguları

Her deney grubundaki hayvanın ortalama beden ağırlıkları başlangıç beden ağırlıklarından itibaren birinci hafta(Kontrol Grubu: 287 ± 3.33 ,Taurin Grubu: 265 ± 9.86 ,Amiloid Beta 1-42 Grubu: 286 ± 6.83 ,Amiloid Beta 1-42+Taurin Grubu: 275 ± 12.3), ikinci hafta(Kontrol Grubu: 289 ± 5.20 ,Taurin Grubu: 270 ± 7.98 ,Amiloid Beta 1-42 Grubu: 297 ± 7.51 ,Amiloid Beta 1-42+Taurin Grubu: 285 ± 13.4),üçüncü hafta(Kontrol Grubu: 294 ± 5.54 ,Taurin Grubu: 272 ± 10.3 ,Amiloid Beta 1-42 Grubu: 306 ± 8.30 ,Amiloid Beta 1-42+Taurin Grubu: 282 ± 10.0), dördüncü hafta (Kontrol Grubu: 284 ± 5.13 ,Taurin Grubu: 266 ± 10.2 ,Amiloid Beta 1-42 Grubu: 304 ± 9.55 ,Amiloid Beta 1-42+Taurin Grubu: 282 ± 9.43) olarak Çizelge 4.1’de verilmiştir. Tüm haftalar için gruplar arası anlamlı fark bulunmadı.

Çizelge 4.1. Grupların beden ağırlıklarındaki Değişim (Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi. Gruplar arası anlamlı fark bulunmadı.)

	Başlangıç Ortalaması	7.Gün Ortalaması	14.Gün Ortalaması	21.Gün Ortalaması	28.Gün Ortalaması
Kontrol Grubu(n=6)	290 ± 4.54	287 ± 3.33	289 ± 5.20	294 ± 5.54	284 ± 5.13
Taurin Grubu(n=6)	276 ± 10.4	265 ± 9.86	270 ± 7.98	272 ± 10.3	266 ± 10.2
Amiloid Beta 1-42 Grubu(n=6)	284 ± 7.74	286 ± 6.83	297 ± 7.51	306 ± 8.30	304 ± 9.55
Amiloid Beta 1-42+Taurin Grubu(n=6)	275 ± 10.3	275 ± 12.3	285 ± 13.4	282 ± 10.0	282 ± 9.43
P Değeri	0.251	0.168	0.289	0.165	0.119

4.2. Morris Su Tankı Bulguları

4.2.1. Deney gruplarının günlere göre kaçış latanslarındaki değişim

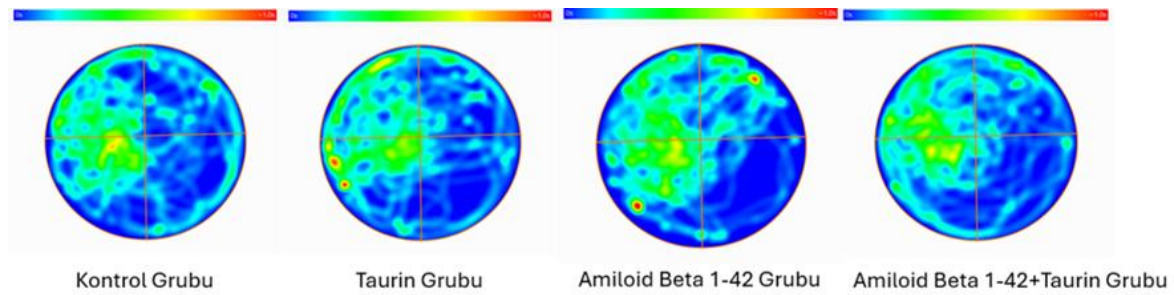
Morris Su Tankı testinde ilk 4 gün gruplar arası kaçış latansları ve 5.gün probe testte hedef kadranda geçirilen süreler değerlendirildi (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.4). Verilerin Sharpio Wilk testi ile normal dağılım göstermediği tespit edildi ve her deney günü kaçış latanslarının ve probe testte hedef kadranda geçirilen sürenin değerlendirilmesinde Kruskal Wallis testi ve Dwass Steel Critchlow-Fligner post hoc analizi uygulandı. Gruplarda ilk deney gününde

Amiloid Beta 1-42 grubunun ortalama kaçış latansı verileri, Amiloid Beta 1-42+Taurin grubuna göre anlamlı değişiklik gösterdi($p<0.05$). İkinci, üçüncü ve dördüncü deney günlerinde gruplar arası anlamlı fark gözlemlenmedi. ($p>0.05$)

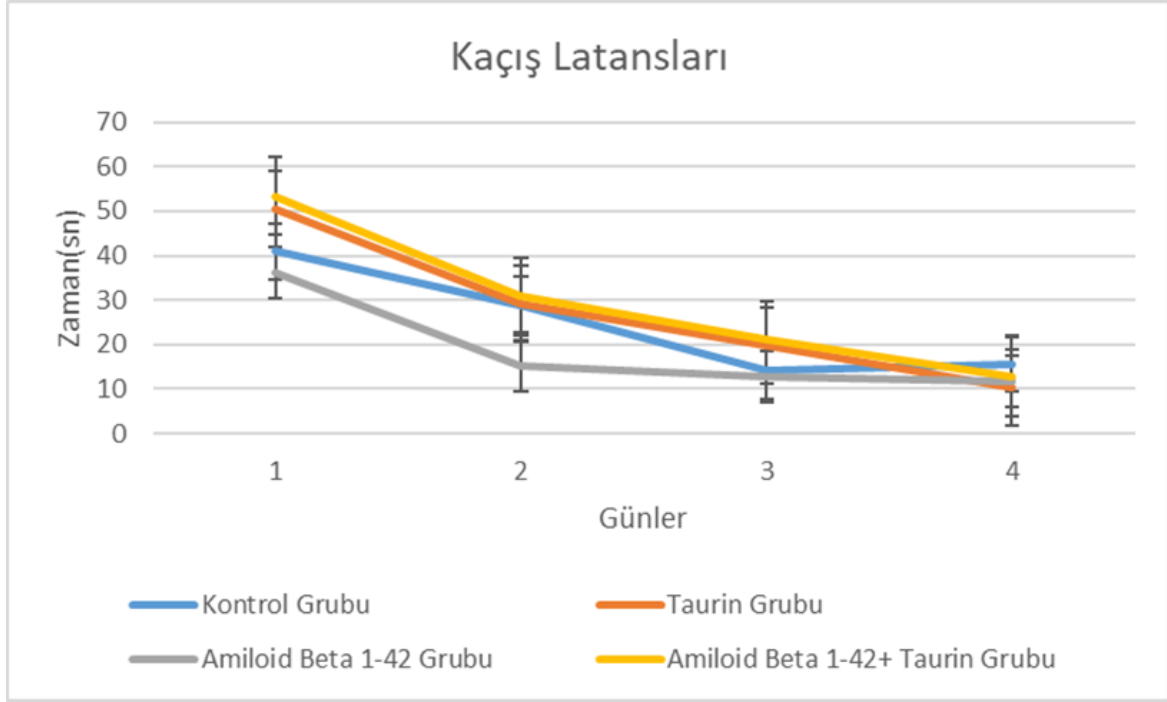
Çizelge 4.2. Morris su tankı deneyinde grupların günlere göre kaçış latanslarının ortalaması

	1.Gün Kaçış Latansları	2.Gün Kaçış Latansları	3.Gün Kaçış Latansları	4.Gün Kaçış Latansları
Kontrol Grubu(n=6)	40.9±6.26	29.0±7.62	14.1±5.49	15.7±5.93
Taurin Grubu(n=6)	50.3±4.58	29.2±5.06	19.9±2.72	10.3±2.14
Amiloid Beta 1-42 Grubu(n=6)	36.0±4.11*	15.2±2.65	12.9±2.05	11.6±2.40
Amiloid Beta 1-42+Taurin Grubu(n=6)	53.4±2.59*	30.8±6.08	21.1±6.55	12.8±3.34
p değeri	0.029* 0.020**	0.174	0.255	0.924

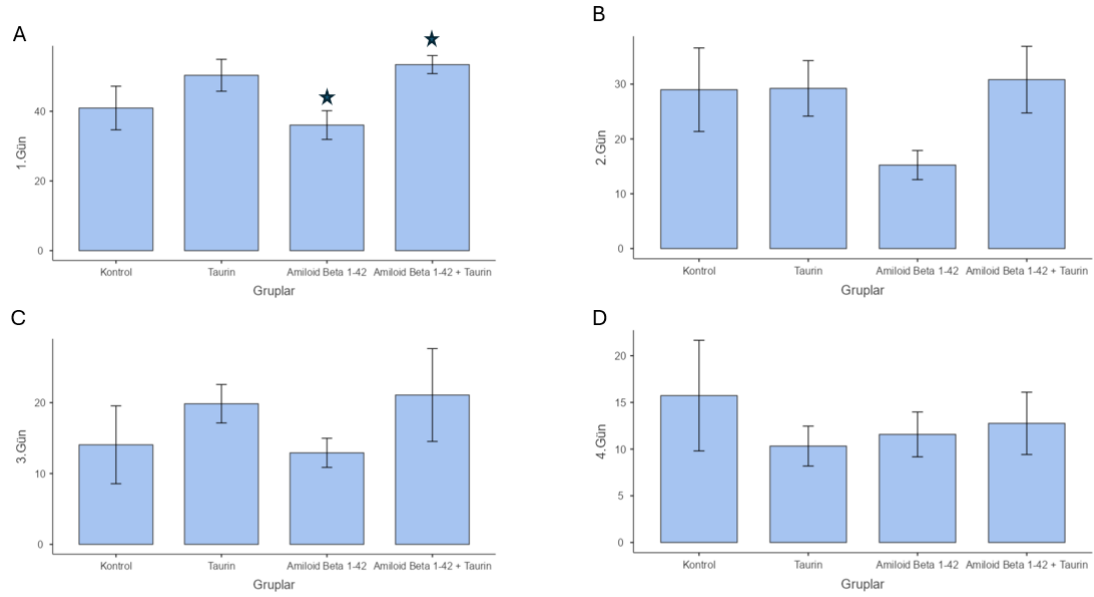
* $p<0.05$, Kruskal Wallis ile istatistiksel analiz yapıldı, post hoc testi olarak Dwass-Steel-Critchlow-Fligner testi kullanıldı. Veriler ortalama± standart hata olarak paylaşıldı.



Resim 4.1. Morris su tankı gruplara göre ısı haritası (Isı haritaları 1 saniyedeki konumlarına göre ANYMaze 7.1 programında yapıldı.)



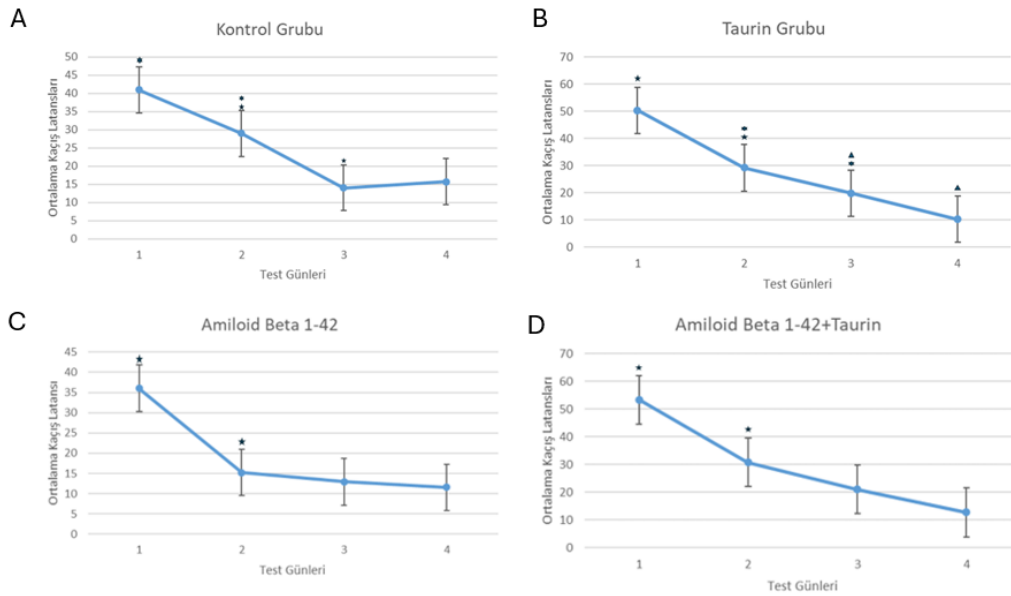
Şekil 4.1. Grupların kaçış latansları (Günlere göre değişimi)



Şekil 4.2. Test günlerinde ortalama kaçış latanslarının karşılaştırılması (A: Birinci Gün, B: İkinci Gün, C: Üçüncü Gün, D: Dördüncü Gün Ortalama Kaçış Latansı Değerleri)

Her deney hayvanının öğrenme ve bellek kapasitesinde günlere bağlı değişimi Friedmann analizi ile değerlendirildi. Bu değerlendirme kapsamında tüm grupların ilk günden dördüncü güne kadar kaçış latansları anlamlı şekilde azaldı (Kontrol grubu; $p=0.006$; Taurin, $p<0.01$; Amiloid Beta 1-42; $p=0.014$; Amiloid Beta 1-42+Taurin: $p=0.004$). Günlere arası karşılaştırma Durbin Conover analizi ile yapıldı (Şekil 4.3). Kontrol grubunda ilk gün ve

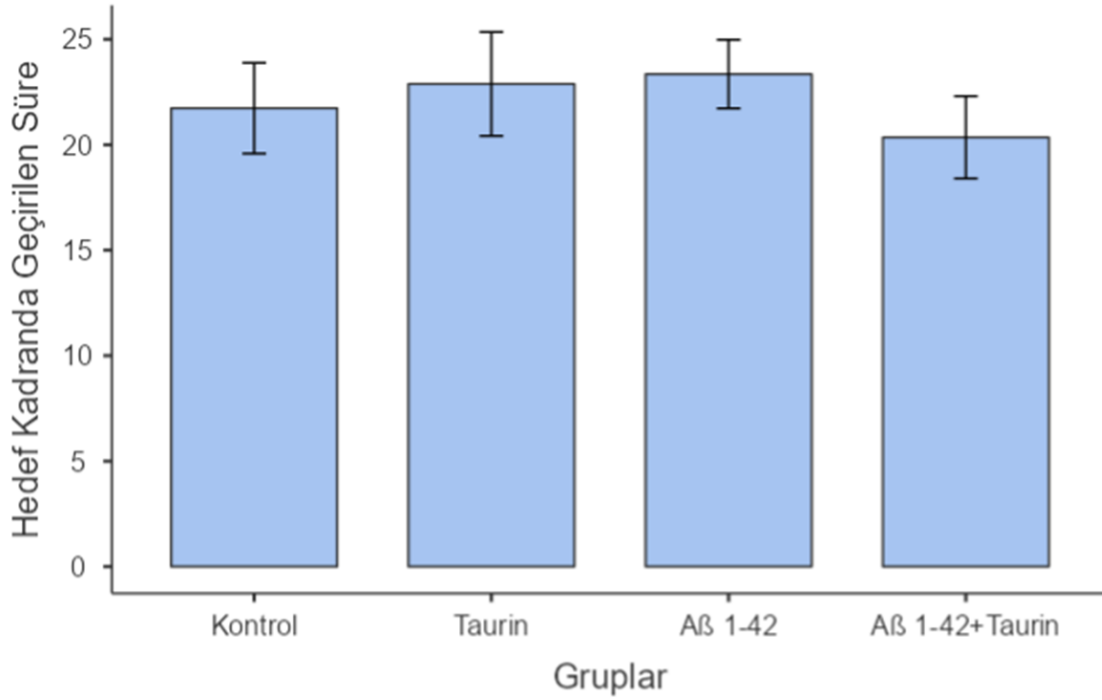
ikinci gün arasında($p=0.281$) ve üçüncü gün ve dördüncü gün arasında($p=0.715$) arasında anlamlı fark bulunmazken; ikinci ve üçüncü gün arasında anlamlı fark tespit edildi($p=0.004$). Taurin grubunda ilk gün ve ikinci gün($p<0.01$), ikinci gün ve üçüncü gün($p=0.003$) ve üçüncü gün ve dördüncü gün arasında ($p<0.01$) anlamlı fark tespit edildi. Amiloid Beta 1-42 grubunda ilk gün ve ikinci gün arasında anlamlı fark tespit edilirken ($p=0.042$) ikinci ve üçüncü gün arasında($p=0.132$) ve üçüncü ve dördüncü gün arasında($p=0.775$) anlamlı fark tespit edilmedi. Amiloid Beta 1-42+Taurin grubunda ilk gün ve ikinci gün arasında ($p=0.006$) anlamlı değişiklik gözlemlenirken, ikinci gün ve üçüncü gün ($p=0.062$) ile üçüncü gün ve dördüncü gün arasında ($p=0.432$) anlamlı değişim gözlemlenmedi.



Şekil 4.3. Deney gruplarında günlere göre kaçış latanslarındaki değişim (A: Kontrol Grubu, B: Taurin Grubu, C: Amiloid Beta 1-42 Grubu, D: Amiloid beta 1-42+Taurin gruplarının günlere göre dağılımı verilmiştir.)

4.2.2. Deney gruplarında probe testte hedef kadranda geçirilen süre

Test günleri sonrasında probe test uygulandı ve her deney hayvanı için hedef 60 saniyede hedef kadranda geçirilen süre hesaplandı (Şekil 4.4). Yapılan probe testte hedef kadranda geçirilen süreler açısından gruplar arası fark bulunmadı ($p>0.05$).



Şekil 4.4. Probe testi hedef kadranda geçirilen süre($p>0.05$)

4.3. Western Blot Bulguları

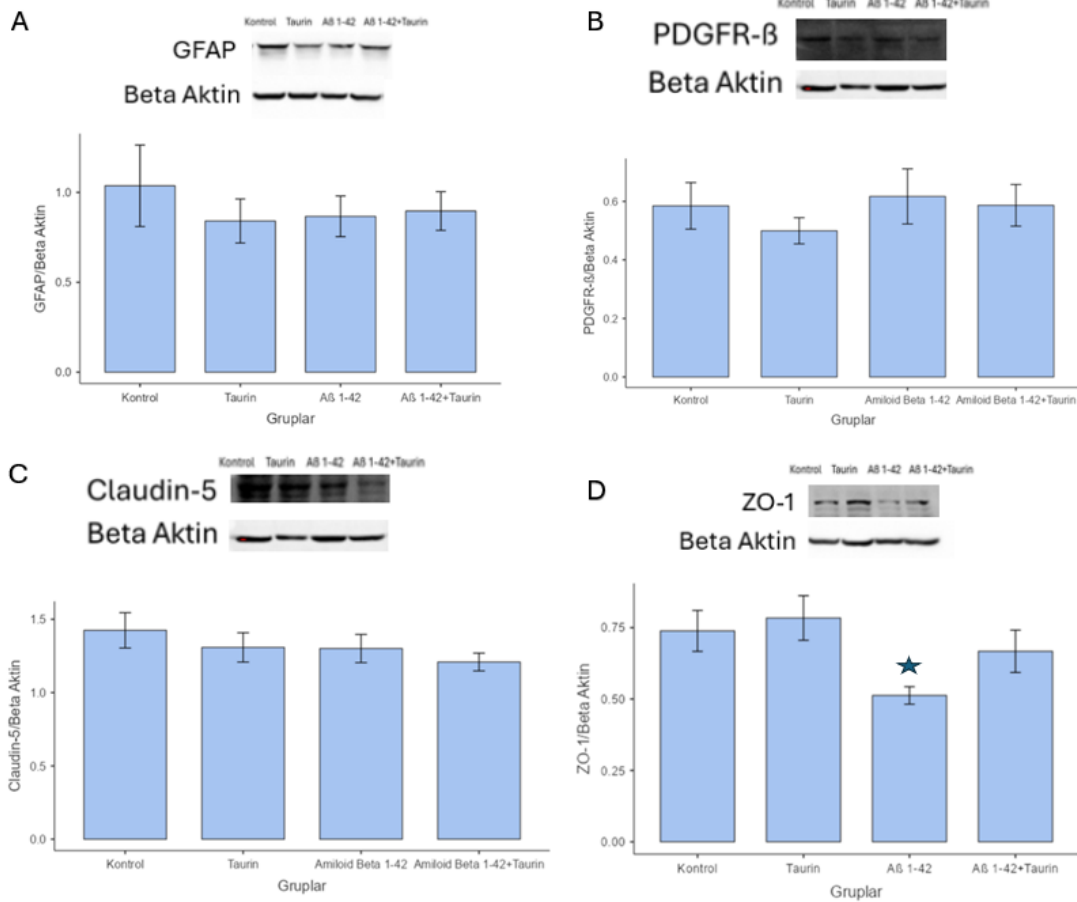
Western blot ile kan beyin bariyerini oluşturan hücrelerdeki parametreler değerlendirildi. Bu kapsamda astrositlerde nöroinflamatuvar biyobelirteç olan GFAP, perisitlerde vasküler stabilitenin sağlanmasında rol oynayan PDGFR- β , interendotelyal alandaki paraselüler geçişin düzenlenmesinde rol oynayan Claudin-5 ve Aktin hücre iskeleti ile Claudin-5 gibi sıkı bağlantı yapılarının bağlantısını sağlayan ZO-1 seviyeleri kortekste değerlendirildi (Çizelge 4.3, Şekil 4.5). Değerlendirmeler Sharpio Wilk Analizi ile normal olmayan dağılımın belirlenmesinin ardından Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi. Bu kapsamda GFAP, PDGFR- β ve Claudin-5 seviyelerinde, yapılan Kruskal Wallis testinde gruplar arası bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Zonula Occludens 1 (ZO-1) seviyelerinde, gruplar arası Kruskal Wallis ile anlam çıkmaması; ancak ZO-1 ekspresyon seviyelerinin ölçülmesinde kullanılan band hacmindeki azalmanın tespit edilmesi üzerine, ikili karşılaştırmalar Kontrol ile Taurin, Kontrol ile Amiloid Beta 1-42 ve Amiloid Beta 1-42 ile Amiloid beta 1-42+Taurin grupları arasında yapılmıştır. Taurin grubunun yalnızca kontrol grubu ile kıyaslanması amacıyla var olması sebebiyle bu karşılaştırma yapılmıştır. Bu şekilde bu grubun standart sapmadan dolayı Kruskal Wallis testindeki etkisinin giderilmesi amaçlanmıştır. ZO-1 seviyelerinde, Amiloid beta 1-42 grubunda kontrole göre anlamlı azalma

bulunurken($p<0.05$) Amiloid Beta 1-42+Taurin grubunda, Amiloid Beta 1-42 grubuna göre gözlenen artış anlamlı seviyede bulunmadı. ($p>0.05$).

Çizelge 4.3. Western blot analizinde protein ekspresyon seviyeleri

	Kontrol	Taurin	A β 1-42	A β 1-42+Taurin	p değeri
GFAP/Beta Aktin	1.04 $\pm$ 0.227	0.841 $\pm$ 0.123	0.867 $\pm$ 0.113	0.897 $\pm$ 0.107	0.926
PDGFR- β /Beta Aktin	0.585 $\pm$ 0.0795	0.499 $\pm$ 0.0446	0.617 $\pm$ 0.0941	0.587 $\pm$ 0.0711	0.862
ZO-1/Beta Aktin	0.739 $\pm$ 0.0717 *	0.784 $\pm$ 0.0780	0.513 $\pm$ 0.0306 *	0.667 $\pm$ 0.0741	0.117 0.021*
Claudin-5/Beta Aktin	1.42 $\pm$ 0.120	1.31 $\pm$ 0.0999	1.30 $\pm$ 0.0960	1.21 $\pm$ 0.0605	0.536

(Ortalama $\pm$ Standart hata olarak verilmiştir. * ZO-1 seviyelerinde Mann Whitney U testi sonuçları)



Şekil 4.5. Kan beyin bariyerinin oluşturan hücre gruplarının parametrelerinin değerlendirilmesi (A: Gruplar arası GFAP seviyelerinin değişimi($p>0.05$), B: Gruplar arası PDGFR- β seviyelerinin değerlendirilmesi($p>0.05$), C: Gruplar arası Claudin-5 seviyelerinin değerlendirilmesi($p>0.05$), D: Gruplar arası ZO-1 seviyelerinin değerlendirilmesi (Mann Whitney U testi ile Kontrol ve A β 1-42 grupları arasında anlamlı fark($p<0.05$))

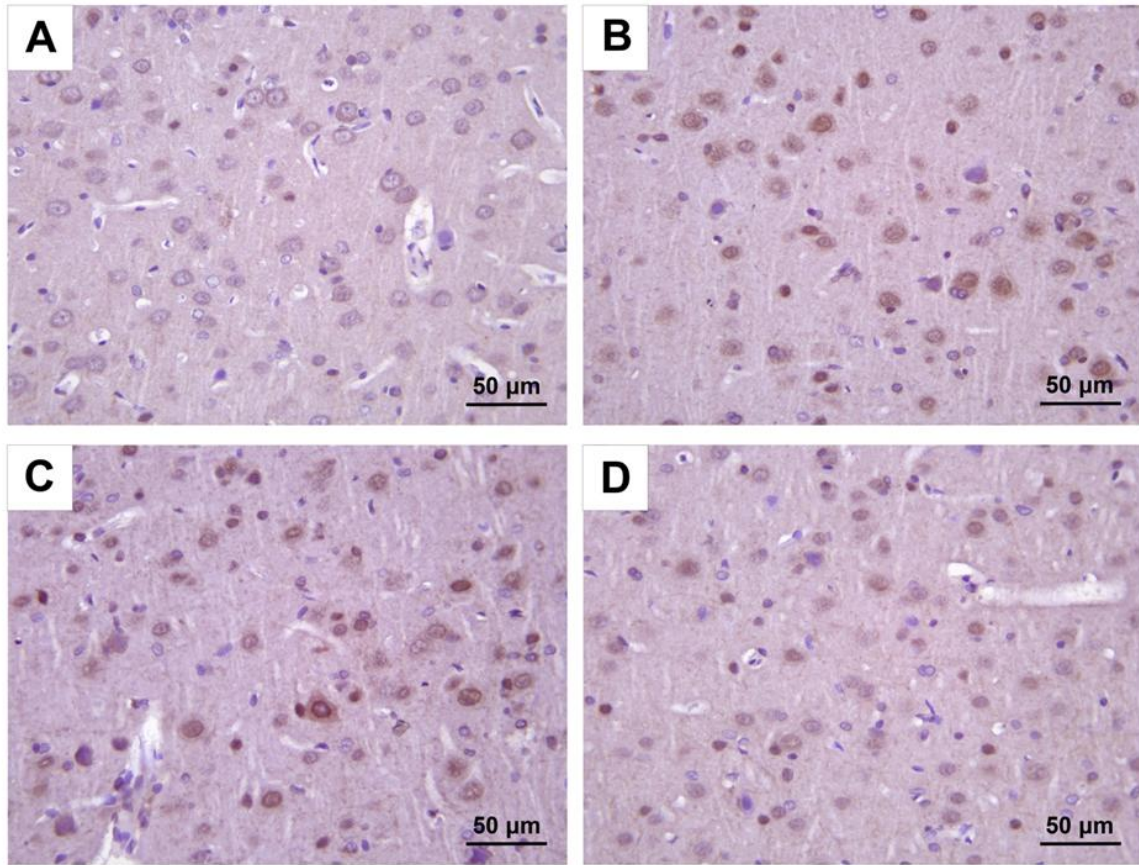
4.4. Histolojik Bulgular

RAGE, nöronlarda, kan damarlarında ve mikroglialarda ekspresyonu olan bir multiligand reseptörüdür. Çalışmamızda immünohistokimyasal analizlerle RAGE reseptörünün frontal ve parietal kortikal nöronlarda belirgin immün boyaması saptandı. Alzheimer hastalığında RAGE ile nörotoksisite ilişkisi göze alınarak frontal ve parietal kortekste, piramidal hücre tabakasındaki immün boyama, H skorlama ile değerlendirildi (Çizelge 4.4.). İstatistiksel analizler Kruskal Wallis testi ile yapıldı. Motor korteks ve somatosensoriyel kortekste RAGE immün boyamasında Amiloid Beta 1-42 grubu kontrol grubuna göre artış gösterdi; ancak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9)

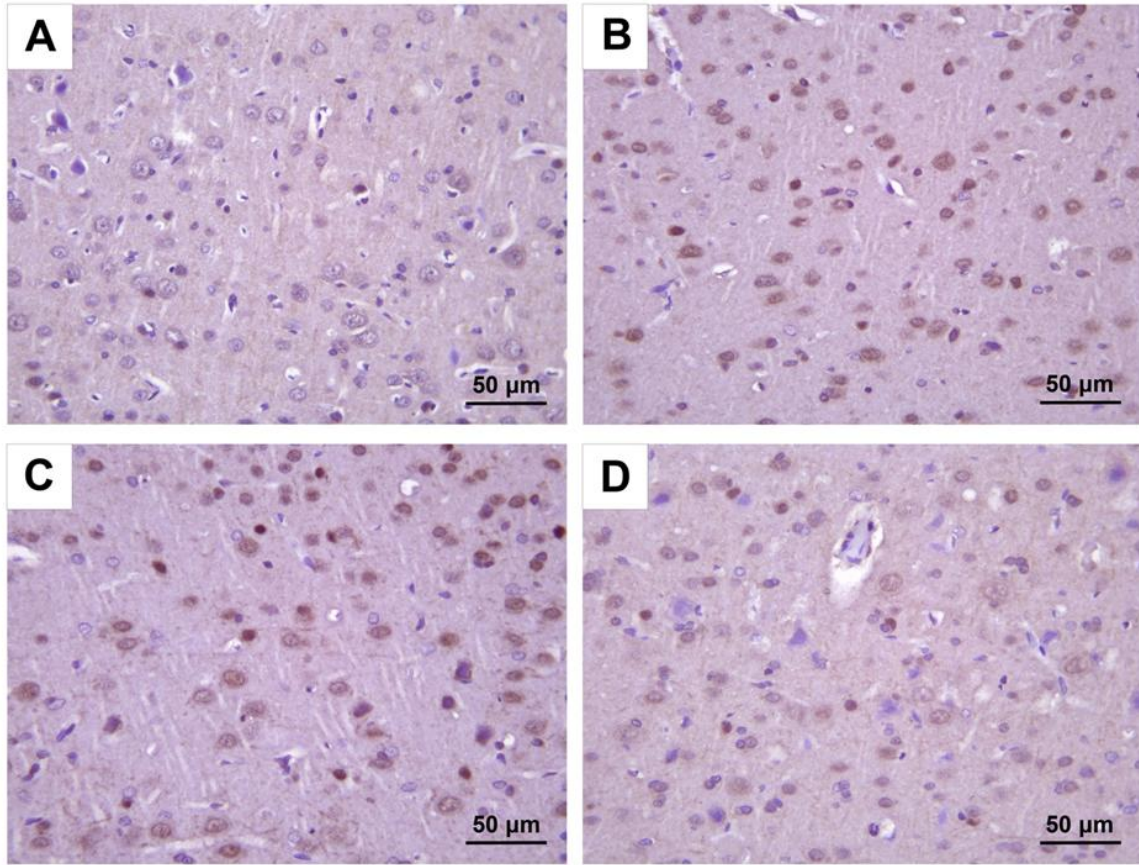
Çizelge 4.4. Gruplara ait RAGE immünopozitif boyanma yoğunluğu bulguları

	Kontrol Grubu	Taurin Grubu	A β 1-42 Grubu	A β 1- 42 + Taurin Grubu	p *
Motor korteks RAGE immünopozitif boyanma yoğunluğu	120 $\pm$ 3.63	130 $\pm$ 8.55	138 $\pm$ 6.97	132 $\pm$ 4.37	0.200
Somatosensoriyel korteks RAGE immünopozitif boyanma yoğunluğu	124 $\pm$ 4.61	134 $\pm$ 7.42	139 $\pm$ 6.00	131 $\pm$ 4.63	0.455

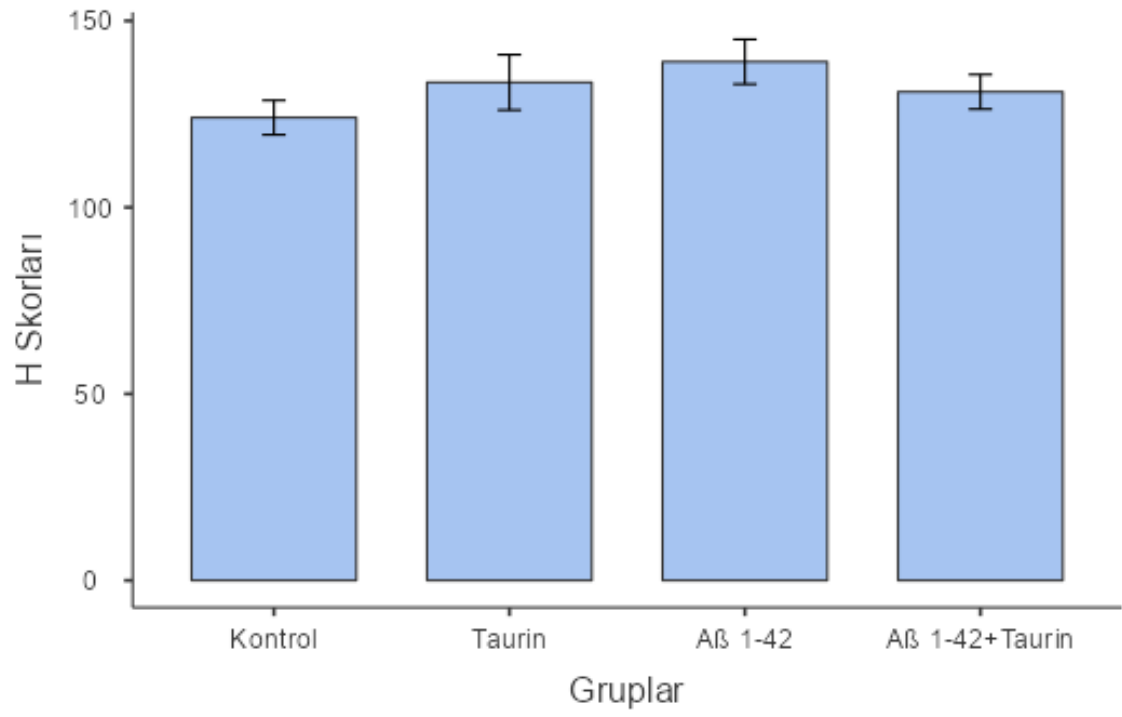
(Ortalama $\pm$ SH) P*: Kruskal Wallis testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$



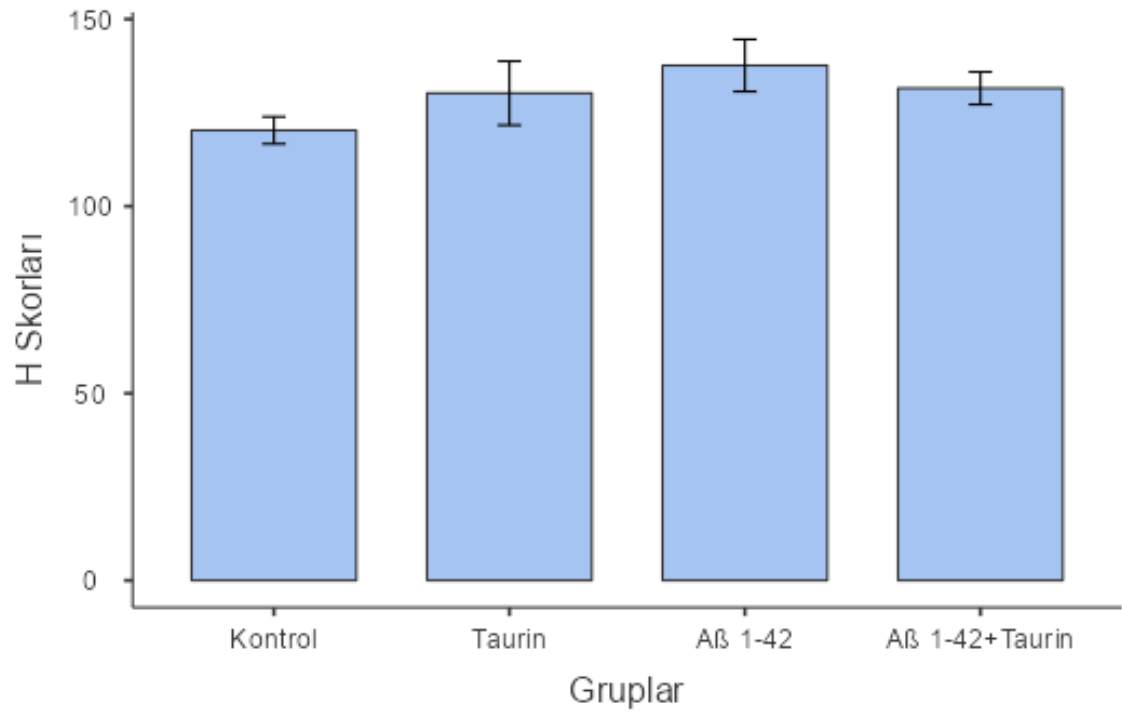
Şekil 4.6. Kontrol (A), Taurin (B), Aβ 1-42 (C) ve Aβ 1-42 + Taurin (D) gruplarına ait beyin kesitlerinde motor korteks iç piramidal hücre tabakasının RAGE immünopozitif boyanma yoğunluğunun gösterildiği mikrograflar. 400× büyültme.



Şekil 4.7. Kontrol (A), Taurin (B), Aβ 1-42 (C) ve Aβ 1-42 + Taurin (D) gruplarına ait beyin kesitlerinde somatosensoriyal korteks iç piramidal hücre tabakasının RAGE immünopozitif boyanma yoğunluğunun gösterildiği mikrograflar. 400× büyültme.



Şekil 4.8. İmmünohistokimyasal analizde somatosensoriyel kortekste H skorların değerlendirilmesi. ($p>0.05$)



Şekil 4.9. İmmünohistokimyasal analizde motor kortekste H skorların değerlendirilmesi. ($p>0.05$)

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda intraserebroventriküler Amiloid Beta 1-42 uygulanan sıçanlarda taurinin, kan beyin bariyeri parametreleri ile öğrenme ve bellek fonksiyonlarına etkisini incelemeyi amaçladık. Bu kapsamda kortikal dokuda bariyer geçirgenliği ile ilgili interendotelyal ZO-1 ve Claudin-5 proteinleri, perisitlerde endotel ile etkileşimi sayesinde vasküler stabilitede rol oynayan PDGFR- β , astrositlerde reaktif astrogliazisin belirlenmesi için GFAP yapılarının ekspresyonunu ve Amiloid beta 1-42 metabolizmasında rol oynayan RAGE ekspresyonunu inceledik. Öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki değişimi Morris Su Tankı (MST) Testi ile inceledik.

Alzheimer hastalığının etyolojisinin ve hastalığa yönelik tedavi yaklaşımlarının belirlenmesi açısından hastalığı modellemede farklı deney modelleri kullanılmaktadır. Stereotaksik cerrahi ile isv olarak verilen A β 1-42 enjeksiyonu ile indüklenen nörodejenerasyon modeli de prelinik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu model ile nörotoksik A β oligomerlerinin kortikal alanlara serebrospinal dolaşım ile dağılması, A β 1-42 yayılımı ile uyumluluk göstermektedir (Tarasoff-Conway ve diğerleri, 2015; Koychev ve diğerleri, 2020; Puzzo ve diğerleri, 2015). A β 1-42 oligomerlerinin kortikal alanlarda, hipokampüste ve farklı beyin bölgelerinde birikimi, literatürde çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. (Jantaratnotai ve diğerleri, 2003; Kim ve diğerleri, 2016)

Alzheimer hastalık modellerinde, beyinde A β 1-42 dağılımının incelenmesi için histolojik kesitlerin Kongo kırmızısı ile boyanması yöntemi sıklıkla uygulanır. Bu kapsamında yapılan bir çalışmada, hastalık grubunda kontrol grubuna göre Kongo kırmızısı ile boyamada artış olduğu gösterilmiştir. (Arabi ve diğerleri, 2023).

Bu model ile yapılan çalışmalarda, öğrenme ve bellek mekanizmasında rol oynayan Long Term Potansiyasyon (LTP) mekanizmasında bozulmalar meydana gelmektedir (Kazemi ve diğerleri, 2023; Arabi ve diğerleri, 2023). LTP mekanizması, öğrenme ve bellek fonksiyonlarının devamlılığı açısından belirleyicidir ve bu mekanizmadaki herhangi bir bozulma, fizyolojik süreci etkilemektedir (Chen ve diğerleri, 2000). Fizyolojik fonksiyonlardaki bu bozulmanın literatürde yer alması, bu kapsamda yapılan çalışmalarda, öğrenme ve bellek testlerinde deney gruplarının kontrol grubuna göre farklılık göstermesi ile aynı doğrultudadır (Basir ve diğerleri, 2024).

İsv Aβ 1-42 ile indüklenen modellerde, öğrenme ve bellek türlerindeki değişimler, farklı davranış testleri ile incelenmektedir. Bu kapsamda literatürde yer alan Morris Su Tankı testi, uzaysal öğrenme ve bellek fonksiyonlarının incelenmesi için literatürde sıklıkla kullanılır. Davranış testinin uygulanmasında deney hayvanlarının deneme fazında farklı kadranslardan bırakılarak deney düzeneğinde gizli platformu bulması beklenir ve bulunduğu süre kaçış latansı olarak kaydedilir (Bromley-Britts, 2011). Son gün uygulanan prop testi ise daha önce platformun olduğu kadranda geçirilen süreyi belirler ve bu sürenin uzaması öğrenmenin gerçekleştiğinin göstergesi olarak kabul edilir. İsv Aβ 1-42 uygulanan kemirgenlerde, öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki bozulma ile kaçış latansında kontrol grubuna göre uzama olduğu, prop testinde ise hedef kadranda geçirilen sürenin kısaldığı yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir (Song ve diğerleri, 2013; Li ve diğerleri, 2022).

Bizim çalışmamızda ise MST testinde hem günler bazında kaçış latanslarında hem de son günde yapılan probe testinde (hedef kadranda geçirilen süre), kontrol ve Aβ 1-42 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Sadece Aβ 1-42+Taurin grubunda ilk günde platformu bulma süresi Aβ 1-42 grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$). Morris Su Tankı testinin deneme günlerinde deney hayvanları 4 farklı kadrandan suya 4 kez bırakılmakta ve her birinde platformu bulma süreleri kaydedilerek sonunda ortalama süre hesaplanmaktadır. Buna göre tüm gruplarda ilk günden dördüncü güne kadar kaçış latansları ortalamaları alındığında deneklerin platformu bulma süreleri 4. günde ilk güne göre anlamlı şekilde azalmıştır. MST testinde uzaysal öğrenme sürecinde deney hayvanlarının platformu önceki güne göre daha kısa sürede bulması beklenen bir durumdur. İlk gün deney hayvanının test alanını ve görsel ipuçlarını tanıması bakımından önem arz etmektedir. Literatürde Morris Su Tankı ile uzaysal öğrenmeyi değerlendiren çalışmalarda ilk test gününde istatistiksel olarak anlamlı olmayan sonuçların yer alması, (Qi ve diğerleri, 2019; Chen ve diğerleri, 2018) deney alanına adaptasyon süreci ile ilişkilendirilmektedir. Ancak çalışmamızda ikinci, üçüncü ve dördüncü günlerde ve probe gününde gruplar arasında anlamlı fark olmayışı, uyguladığımız Amiloid beta 1-42'nin henüz davranışa yansıyacak derecede bir öğrenme-bellek fonksiyon bozukluğu yaratmadığını düşündürmüştür.

Alzheimer hastalığının incelenmesi için uygulanan prelinik modellerden Alzheimer patolojisini bire bir taklit eden bir model bulunmamaktadır. Alzheimer hastalığının sporadik kökenli olan tiplerinin ağırlıklı olması, transjenik hayvan modelleri için bir dezavantaj

yaratmaktadır. Bu modellere alternatif olarak stereotaksik cerrahi ile oluşturulan modellerde A β oligomerlerine bağılı nörotoksik etki akut düzeydeki nörotoksitenin araştırılması için daha uygundur (Puzzo ve diğerleri, 2015; Nakamura ve diğerleri, 2001). Bununla birlikte bu modellerde de kullanılan hayvan türüne, toksik ajanın verilış yerine, doza ve geçen zamana bağılı olarak davranışsal bozukluklar ortaya çıkmayabilir (Cetin ve diğerleri, 2009). Bu bilgiler eşliğinde çalışmamızda olduğu gibi isv A β 1-42 ile indüklenen nörodejeneratif sürecin davranışa etkisi ile ilgili farklı süre ve dozların ya da farklı ajanların denendiği çalışmalar yapılabilir.

Kan beyin bariyeri astrositler, perisitler ve endotel hücrelerinin oluşturduğu, santral sinir sisteminde kandan beyine madde geçişinde rol alan temel yapıdır. Bu hücresel ünite, nöronlarla ve mikroglialarla etkileşim halindedir. Alzheimer hastalığında kan beyin bariyerindeki bozulma ile bu hücre grupları doğrudan etkilenmektedir (Sharma ve diğerleri, 2022). Çalışmamızda bu kapsamda isv A β 1-42 uygulanan sıçanlarda kan beyin bariyerinde yer alan ve etkileşimde olan hücre gruplarında belirli parametrelerin değışimlerini ve taurinin bu parametrelere ve öğrenme ve bellek fonksiyonlarına etkisini inceledik.

Kan beyin bariyerinde devamlılığın sağlanmasında astrositler önemli düzeyde rol oynar (Abbott ve diğerleri, 2006). Kan beyin bariyeri hasarında astrositler, bu bozulmaya cevap olarak reaktif forma geçer ve GFAP seviyelerinde artış meydana gelir (Liao ve diğerleri, 2008). Alzheimer hastalarında yapılan bir çalışmada, post mortem beyin dokusunda immün boyama ile astrositlerin, A β 1-42 protein yapıları ile komşuluk içerdđi gösterilmiştir (Nagele ve diğerleri, 2003). Post mortem çalışmalar haricinde, preklinik çalışmalarda deneysel Alzheimer modellerinde GFAP seviyelerindeki değışimin incelendiği çalışmalar literatürde yer almaktadır. Bu kapsamda deneysel Alzheimer modeli APP/PS1 transjenik farelerle yapılan bir çalışmada, kan beyin bariyeri bütünlüğünde rol oynayan MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinde astrositlere bağılı değışim ve GFAP seviyelerindeki değışime bakılmış ve çalışmada plak yapılarına komşu olan astrositlerde MMP-2 ve MMP-9 enzimlerinde artış gözlemlenmiş ve GFAP mRNA ekspresyonunda artış tespit edilmiştir (Yin ve diğerleri, 2006). İsv A β 1-42 ile oluşturulan model ile yapılan çalışmada kafeik asidin farklı nörodejeneratif biyobelirteçlerdeki etkisi ile öğrenme ve bellek fonksiyonlarına etkisi değerlendirilmiştir. Bu biyobelirteçler arasında bulunan GFAP seviyeleri incelendiğinde, A β 1-42 grubunda GFAP immün reaktivitesinde artış, öğrenme ve bellek fonksiyonlarının değerlendirilmesi için yapılan Morris Su Tankı testinde ise kaçış latanslarında uzama tespit

edilmiştir (Khan ve diğerleri, 2023). İsv Aβ 1-42 ile yapılan başka bir çalışmada luteolinin nörodejeneratif süreçteki etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada davranış testi kullanılmamış hem frontal korteks hem de hipokampüste nörodejenerasyon ile ilgili biyobelirteçler incelenmiştir. Bu biyobelirteçlerin arasında GFAP hem immünohistokimya hem de Western blot ile değerlendirilmiş ve her iki deney bulgularında arttığı tespit edilmiştir (Ahmad ve diğerleri, 2021). Bu çalışmalara ek olarak 3xTg Alzheimer modelinde yapılan bir çalışmada astrositlerin hipertrofik karakteristik özelliklerini 12. aydan itibaren göstermeye başladıkları, bu evrede amiloid plakların görülmesi ile plak komşuluğundaki astrositlerin GFAP yoğunluğunda artış tespit edilmiştir. Çalışmada bu evreden önceki dönemlerde ise astrositlerin atrofik karakterde olduğu, GFAP yoğunluğundaki azalma ile tespit edilmiştir (Olabarria ve diğerleri, 2010). 3xTg farelerle yapılan başka bir çalışmada, farklı medial prefrontal kortekste kortikal katmanlarda erken evrede GFAP yüzey alanı ve hacimlerinde erken evrede ve geç evrede azalma olduğu gösterilmiştir (Kulijewicz-Nawrot ve diğerleri, 2012).

İsv Aβ 1-42 uygulanan modeller, Aβ toksisitesinin akut seviyedeki etkisinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bu deney modelleri ile 2.haftadan itibaren öğrenme ve bellek süreçleri etkilenmektedir, ancak Alzheimer hastalığının gelişimi daha kronik bir süreçte gerçekleşir (Xu ve diğerleri, 2023) Bu süreçte nöroinflamatuvar değişikliklerde rol oynayan astrositlerin morfolojisindeki değişimin de değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu bilgilerin eşliğinde astrositlerde gliozisin belirlenmesi için akut ve kronik inflamasyon modellerinde farklı çalışmalar gerekmektedir.

Kan beyin bariyerinde perisitler, kan beyin bariyer fonksiyonunu güçlendirici ve vasküler stabiliteyi koruyucu görev üstlenmektedir (Armulik ve diğerleri, 2005). Farklı sinyal yolları ile etkileşime geçtiği literatürde yer almaktadır, bu yollardan biri endotel ile etkileşime geçtiği PDGF-B- PDGFR-β etkileşimidir. Endoteldeki PDGF-B, perisitler üzerindeki PDGFR-β reseptörü ile bağlanarak vasküler yapıdaki stabilizasyona katkı sağlamaktadır. Alzheimer hastalığında bu yolaktaki değişimler literatürde yer almaktadır (Winkler ve diğerleri, 2014).

Perisitlerin Alzheimer hastalığında, bariyer geçirgenliğindeki rolünün incelenmesi için literatürde gerek post mortem dokularda gerek deneysel Alzheimer modellerinde farklı çalışmalar yer almaktadır. Bu kapsamda yapılan bir çalışmada Alzheimer hastaları ve sağlıklı

kontrollerin post mortem beyin dokularında PDGFR- β seviyeleri değerlendirilmiş ve precuneus ve beyaz cevherde reseptör seviyeleri ile beyin fibrinojen seviyeleri karşılaştırılmıştır. Fibrinojen seviyeleri her iki beyin bölgesinde de artmış ve kan beyin bariyeri geçirgenliğinde her iki beyin bölgesinde kontrole göre artış tespit edilmiş; buna karşın precuneusta PDGFR- β seviyelerinde azalma görülürken, beyaz cevherde değişim gözlemlenmemiştir (Miners ve diğerleri, 2018). Post mortem dokularda yapılan başka bir çalışmada APOE4 geni taşıyıcılarının frontal korteksinde sağlıklı kontrollerine göre Fibrin ve IgG ekstrasvazasyonunda belirgin artış ve PDGFR- β seviyelerinde belirgin azalma açıkça çıkmıştır (Halliday ve diğerleri, 2016). Hem post mortem dokularda hem de APP^{Swe0} transjenik Alzheimer modelinde yapılan başka bir çalışmada amiloid plaklar ile PDGFR- β pozitif hücrelerin komşulukta olduğu, bu sayede perisitlerin amiloid beta metabolizmasında yer aldığı, LRP-1 reseptörü üzerinden A β 1- 42'nin hücre hattından uzaklaştırıldığı gösterilmiştir (Ma ve diğerleri, 2018). Bölümümüzde yapılan bir çalışmada da isv A β 1- 42 uygulanan sıçan beyinlerinde western blot ile analiz edilen LRP-1 reseptör düzeylerinin kontrollere göre anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir (Tekin ve diğerleri, 2023). İnme sonrası, vasküler demans ve Alzheimer hastalarındaki perisit kaybının değerlendirilmesi için yapılan başka bir çalışmada frontal korteksten alınan kesitlerde beyaz cevher yapısında Alzheimer hastalarında sağlıklı kontrollerine göre perisit kaybı, PDGFR- β seviyelerindeki azalma ve bu kayıp ile tetiklenen bariyer geçirgenliğindeki artış ile gösterilmiştir (Ding ve diğerleri, 2020). PDGFR- β ile PDGF-BB sinyal yollarının belirlenmesi için insan post mortem dokularında yapılan bir çalışmada, immünohistokimyasal analizler ile kontrol ve Alzheimer grubu arasında anlamlı fark bulunamamış, PDGFR- β seviyelerinde RNASeq ile artış yönünde değişim gözlemlenmiştir (Smyth ve diğerleri, 2022). SH-SY5Y hücre hattından primer hipokampal hücre hattı oluşturulmuş bir çalışmada, nöronlardaki PDGFR- β 'nin amiloid beta ile inhibe olduğu ve yaşayan hücre sayısında azalma meydana geldiği gösterilmiştir (Liu ve diğerleri, 2018)

Literatürde yer alan Alzheimer hastalığında perisitler ve PDGFR- β ile ilgili postmortem, in vitro ve in vivo bu çalışmalarda da görüleceği üzere reseptör yapısında, aktivasyonunda ve dağılımındaki değişimler, değişik beyin bölgeleri ve değişik deney modellerinde farklı sonuçlar vermiştir. Çalışmamızda isv A β 1-42 uygulanan sıçanlarda kortikal PDGFR- β seviyeleri Western blot ile değerlendirildi. Yapılan Kruskal Wallis testinde gruplar arası anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). İsv A β 1-42 ile indüklenen nörodejeneratif süreçte PDGFR- β seviyelerindeki değişimi inceleyen bir çalışma literatürde yer almamaktadır.

Perisitlerin Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklardaki rolü, araştırılmaya değerdir, bu nedenle farklı beyin bölgeleri ve farklı deney modelleri üzerinde daha fazla çalışmanın gerektiği aşikardır.

Taurinin perisitler üzerinde etkisi ile ilgili literatürde sadece bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada retinal mikrovasküler perisitlerde taurinin Ang-1 ve Tie-2 üzerinden Caspase-3 aktivitesinde artışı ve buna bağlı açığa çıkan apoptozu önleyici yönde etki gösterdiği bulunmuştur (Zeng ve diğerleri, 2014). Perisitlerde bulunan PDGFR- β reseptörü ile taurinin ilişkisinin incelendiği bir çalışma literatürde yer almamaktadır. Çalışmamızda 300 mg/kg taurin takviyesi, gruplar arasında anlamlı bir değişime sebep olmamıştır. Taurinin bu etkisinin incelenmesi için farklı deney modelleri ve farklı taurin dozları ile ilgili daha fazla çalışma gerektiğini düşünmekteyiz.

Kan beyin bariyerinde interendotelyal aralıkta bulunan sıkı bağlantı yapılarından Claudin-5, paraselüler madde transferini önemli ölçüde kısıtlayarak beyin parankiminde koruyucu görev üstlenmektedir. Claudin-5 yapısı, kan beyin bariyerinin devamlılığının sürdürülmesi açısından yaşamsal öneme sahiptir. Kan beyin bariyerindeki Claudin-5 gibi yapılar hücre aktin iskeletine ZO-1 gibi bağlantı yapıları sayesinde tutunur. Her iki yapının devamlılığı, kan beyin bariyerinde fiziksel bariyerin devamlılığı açısından önem arz eder (Nitta ve diğerleri, 2003). Alzheimer hastalığında nöroinflamasyon sürecinde bu yapı zarar görmektedir ve beyin parankimi toksik maddelere karşı korunmasız hale gelmektedir (Ashgari ve diğerleri, 2024). Çalışmamızda fiziksel bariyerin korunmasında rol oynayan bu yapıların, isv A β 1-42 ile indüklenen nörodejeneratif süreçteki değişimi ve taurinin bu yapılardaki değişime olası olumlu etkileri incelendi. Claudin-5 seviyelerinde A β 1-42 grubunda kontrol grubuna göre kısıtlı ve istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma görüldü, diğer gruplar arasında da anlamlı fark bulunmadı. Yapılan Kruskal Wallis testinde ZO-1 seviyelerinde de gruplar arası anlamlılık saptanmadı, ancak Amiloid Beta 1-42 grup ortalamasının kontrol grubuna göre belirgin azalma gösterdiği esas alınarak, bu iki grup arasında Mann Whitney U testi ile ikili kıyaslama yapıldı ve A β 1-42 grubundaki azalmanın kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Mann Whitney U testi ile ikili karşılaştırma, Taurin grubunun standart sapmasının gruplar arası istatistikte analiz sonuçlarını etkileyebileceği ön görülerek tercih edildi. Amiloid Beta 1-42+Taurin grubunda A β 1-42 grubuna göre bir artış saptandı ancak bu artış anlamlı düzeyde bulunmadı.

Sıkı bağlantı yapıları Claudin-5 ve ZO-1, birbiri ile bağlantı halindedir ve Alzheimer hastalığı ile ilişkili hem prelinik çalışmalarda hem de post mortem beyin dokularında gözlenen değişiklikleri literatürde beraber yer almaktadır. APP/PS1 transjenik Alzheimer modelleri ile yapılan bir çalışmada Claudin-5, ZO-1 ve bunlara ek olarak Occludin proteinlerindeki değişiklikler incelenmiş ve kontrollerine göre bu protein yapılarında azalma tespit edilmiştir. Bu yapılar fiziksel bariyer yapısındaki geçirgenliği kısıtlamaktadır ve aynı çalışmada kontrollerine göre artmış Evans Blue geçirgenliği ile bu sonuçlar desteklenmiştir (Jang ve diğerleri, 2021). mThy1-hAPP transjenik modelle yapılan bir çalışmada kontrole göre serebral amiloid anjiyopati hem korteksteki pial arterlerde hem de hipokampüste daha küçük arterlerde tespit edilmiş, aynı zamanda ZO-1 seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir (Rockenstein ve diğerleri, 2005). Çalışmamızda ZO-1 seviyelerindeki azalma ile bu bulgular uyumluluk göstermektedir, ancak Claudin-5 seviyelerinde kontrol grubuna göre saptanan azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir. Birbiri ile bağlantılı bu iki protein yapısının yapılan bir çalışmada in vitro ortamda Aβ 1-42 maruziyeti sonucunda kontrol grubuna göre azaldığı ve bu etkinin RAGE bağımlı nöroinflamatuvar süreç ile tetiklendiği gösterilmiştir, aynı çalışmada kan beyin bariyeri geçirgenliğinin de arttığı 5xFAD transjenik fare modellerinde in vivo olarak gösterilmiştir. (Kook ve diğerleri, 2012). İn vitro ortamda, yapılan başka bir çalışmada ise TY-10 hücre hattında Aβ 1-42 uygulaması yapılmış ve kan beyin bariyeri geçirgenliği için FITC-Dextran ile geçirgenlik değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada Aβ 1-42 uygulamasının endotel hücre hattında Claudin-5 seviyelerinde değişiklik yapmadığı tespit edilmiş; endotel hücreleri ile astrositlerin ko-kültürlenmesi ile geçirgenliğin belirgin arttığı gösterilmiştir (Spampinato ve diğerleri, 2017). Bu çalışma ile kan beyin bariyeri fonksiyonundaki değişikliklerin değerlendirilmesinde sıkı bağlantı yapılarının yanı sıra astrositlerin de bu oluşuma belirgin katkısının olduğu görülmektedir ve çalışmamızda astrositlerin değerlendirilmesi bu açıdan önem arz etmektedir.

Literatürde yer alan bir çalışmada Aβ 25-35 enjeksiyonu yapılan farelerde luteloinin öğrenme ve bellek fonksiyonları ile nörovasküler üniteye etkisinin incelenmesi amaçlanmış ve Aβ enjeksiyonu yapılan farelerde Claudin-5 ve ZO-1 yapılarında azalma tespit edilmiştir (Liu ve diğerleri, 2009). Bu azalmanın yanı sıra Tg-SwDI transjenik Alzheimer modeli ile yapılan başka bir çalışmada da kontrol grubuna göre Occludin seviyelerinde artış olmasına rağmen Claudin-5 seviyelerinde anlamlı fark bulunmamıştır. (Rosas-Hernandez ve diğerleri, 2020). Post mortem beyin dokularında, normal yaşlanma, patolojik yaşlanma ve Alzheimer hastalarında yapılan bir çalışmada Alzheimer hastalarında sağlıklı kontrollerine göre

Claudin-5 ve ZO-1 seviyelerindeki azalma tespit edilmesine rağmen Claudin-5 seviyeleri ile A β 1-42 seviyeleri arasında bir korelasyon bulunmadığı tespit edilmiştir (Yamazaki ve diğerleri, 2019). Bu kapsamda kan beyin bariyerini oluşturan elemanların bazılarının etkilenebileceği gibi bazı parametrelerin değişmediği gözlemlenebilir. Bizim çalışmamızda da Claudin-5 seviyelerinde azalma istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ZO-1 seviyelerinde anlamlı azalma tespit edilmiştir.

Alzheimer hastalığında RAGE reseptörüne A β proteininin ekstraselüler domainine bağlanması ile hücre içi proinflamatuvar süreç tetiklenir (Yan ve diğerleri, 2012). RAGE-A β etkileşimi ile hem NF- κ B gibi yolaklar tetiklenerek proinflamatuvar sitokinler salınır; hem de APP'nin β - Sekretaz ile yıkımı artarak amiloidojenik süreç tetiklenir. Bunun sonucunda endotelde, nöronlarda (Yan ve diğerleri, 1996) ve mikrogliyalarda (Fang ve diğerleri, 2009) nörodejeneratif sürecin devamlılığı sağlanmış olur (Kong ve diğerleri, 2020).

Çalışmamızda bu kapsamda RAGE immün pozitif boyaması immünohistokimyasal analizlerle değerlendirildi. Amiloid beta dağılımı ve literatürdeki çalışmalar esas alınarak bu değerlendirme frontal ve parietotemporal kortikal alanlarda, kortikal iç piramidal hücre katmanında yapıldı. Amiloid beta 1-42 grubunda, kontrol grubuna göre immün pozitif boyamada artış gözlemlendi, ancak yapılan skorlamada istatistiksel anlamda fark bulunmadı.

Literatürde beyindeki RAGE seviyeleri hem Alzheimer preklinik modellerinde hem de Alzheimer için risk faktörü oluşturabilecek modellerde incelenmiştir. Alzheimer için bir risk faktörü olan diyabet hastalığının oluşturulduğu bir modelde RAGE reseptöründe 1 ila 3. Haftalarda anlamlı artış saptanmazken 6. haftada anlamlı artış saptanmış; dolaşımdaki A β 1-40 proteininin kan beyin bariyerinden geçişinin de arttığı gösterilmiştir (Liu ve diğerleri, 2009). Diyabet hastalığının modellendiği başka bir çalışmada db/db farelerde RAGE inhibitörü bir ajanın kullanılması ile A β proteinin kan beyin bariyerinden geçişi değerlendirilmiş ve bu inhibitör ile beyne doğru artmış olan A β geçişi ve endoteldeki RAGE ekspresyonu ile öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki bozulmanın doza bağlı olarak düzeldiği gösterilmiştir (Wang ve diğerleri, 2018). Bu bulgular eşliğinde diyabete bağlı mikroanjyopatilerin santral sinir sisteminde dolaşıma olan olumsuz etkilerinden ve bu etkilerin Alzheimer hastalığı ile ilgili bağlantısında RAGE' nin rolünden bahsedilebilir Alzheimer hastalığında vasküler hipoteze göre erken dönemde başlayan vasküler hasar beyin

endotelinde proinflatuar süreçlerin başlamasında, bunun sonucundan serebrovasküler geçişin artması, beyin parankiminin nörotoksik maddelere karşı daha savunmasız kalmasını sağlamaktadır (Kong ve diğerleri, 2020). Diyabet modellerinde RAGE reseptöründe ve amiloid beta geçişinde artış olması, bununla birlikte öğrenme ve bellek fonksiyonlarında bozulmanın gösterilmesi ile bu risk faktörünün vasküler etkileri ve bu vasküler etkilerin nöral ağlara yansması söz konusudur.

Alzheimer hastalığına yönelik yapılan hücre kültürü çalışmalarından birinde COS-1 hücre hattında RAGE transfeksiyonunun doza bağlı olarak hücre hattında A β bağlanmasını arttırdığını, bu artışın da hem vasküler alanlarda hem de nöritik çıkıntılarda olduğu gösterilmiştir (Yan ve diğerleri, 1996). Yapılan başka bir çalışmada serebral vasküler hücre hattında A β bağlanması ile artan VCAM seviyelerinde RAGE inhibitörü ile belirgin azaldığı gösterilmiştir (Giri ve diğerleri, 2000). Alzheimer hastalığında in vitro ortamda bu çalışmalar eşliğinde RAGE-A β etkileşiminde önemli bir yer tutmaktadır.

Alzheimer hastalığında yapılan prelinik çalışmalardan birinde A β 1-40 proteini enjeksiyonu yapılan kemirgenlerde cerrahi sonrası korku hafızasında Amiloid beta grubunda bu korkunun gelişmediği, deney hayvanlarının kortikal RAGE seviyelerinde Amiloid beta 1-40 grubunda kontrole göre arttığı gözlemlenmiştir (Gindharan ve diğerleri, 2015). RAGE reseptörünün aktivasyonunda görev alan AGE ligandının da yapılan bir çalışmada immünohistokimyasal analizler sonucunda hem kortekste hem de hipokampüste RAGE immün reaktivitesinde ve RAGE'nin aktive ettiği NF- κ B da ortalama dansitede artış tespit edilmiştir. Bu grupta aynı zamanda öğrenme ve bellek fonksiyonlarının incelenmesi sonucunda, kontrole göre Morris Su Tankı testinde öğrenme ve bellek fonksiyonlarında bozulma, kaçış latanslarındaki uzama ile tespit edilmiştir (Wang ve diğerleri, 2014). A β 25-35 enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel Alzheimer modeli ile yapılan bir çalışmada endotel yapısında bozulma, astrositlerde proliferasyon ve nöronlarda kayıp gözlenmiş ve nörovasküler ünitelerdeki bozulma tespit edilmiştir. RAGE ve NF- κ B seviyelerinde artış gözlemlenmiştir. Öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki bozulma Morris su tankı testi ile gösterilmiş ve A β 25-35 grubunda, kontrole göre kaçış latanslarında artış tespit edilmiştir (Liu ve diğerleri, 2013). 3xTg transjenik Alzheimer modeli ile yapılan bir çalışmada ise erişkin farelerde RAGE seviyelerinde kontrol ve hastalık grubunda anlamlı fark gözlemlenmemiş; yaşlı farelerde kontrole göre RAGE ekspresyonunda artış gözlemlenmiştir. Yaşlı farelerde bu artış immünohistokimyasal analizlerle hem kortekste

hem de belirli hipokampal alanlarda gösterilmiştir. RAGE-A β kolokalizasyonu yalnızca yaşlı hayvanlar arasında incelenerek kortekste iç piramidal katmanda ve hipokampüste yalnızca CA1 alanında gösterilmiştir. Erişkin hayvanlarda ise bu bilgi çalışmada yer almamaktadır (Choi ve diğerleri, 2014).

Bu çalışmalar sonucunda hem A β hem de RAGE reseptörünün diğer ligandlarının reseptörü aktive etmesi ile nöroinflamatuvar süreci tetiklediği sonuncuna varılabilmektedir. Bu tetiklenme ile hücre içi proinflamatuvar sürecin başlaması ve nöroinflamasyonun devamlılığı söz konusu olmaktadır. Yapılan çalışmaların sonucunda yaş faktörünün de – RAGE'nin ekspresyonundaki değişimleri etkilediği göz önüne alındığında, bizim çalışmamızda RAGE immunreaktivitesinde artış olmakla birlikte, bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmaması, çalışmada genç erişkin hayvanların kullanılmasına bağlı olabilir. Ayrıca diğer moleküler parametrelerde de kısıtlı değişiklikler olması ve bu değişikliklerin davranışa yansımaması, kan beyin bariyerinde erken dönemde bozulmanın başladığını, ancak buna bağlı nöroinflamatuvar sürecin henüz yeterince tetiklenmediğini düşündürmektedir.

Literatürde taurin uygulamasının çalışmamızdaki gibi kan beyin bariyeri parametreleri üzerindeki etkisinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmaların birçoğunda taurinin GFAP üzerindeki etkileri incelenmiştir. Kısa dönem alkol tüketimi ile ilgili yapılan bir çalışmada taurin bazlı enerji içeceğinin mikropiller hasara olan etkisi incelenmiş kan beyin bariyeri geçirgenliği IgG ekstravazasyonu ile değerlendirmiştir. Çalışmada alkol tüketen grupta IgG ekstravazasyonu ve GFAP seviyelerinde artış; taurin bazlı enerji içeceği verilen grupta ise bu parametrelerde azalma olduğu gösterilmiştir (Takechi ve diğerleri, 2022). LPS ile oluşturulan kronik inflamasyon modelinde yapılan başka bir çalışmada 30 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarda taurin dozlarının, serebellumda glial hücrelerdeki değişime etkisi incelenmiş ve LPS ile GFAP immünreaktivitesinde azalma gözlemlenmiş ve 100 mg/kg dozlarda bu azalmanın kontrole yakınlığı gösterilmiştir (Silva ve diğerleri, 2021). IP Streptozotosin ile diyabet modeli oluşturularak yapılan bir çalışmada taurin, diyetin %5'i oranda olacak şekilde deney hayvanlarına uygulanmış ve retinada Müller hücrelerinde GFAP seviyelerinde artışın, taurin takviyesi ile azaltıldığı gösterilmiştir (Zeng ve diğerleri, 2009). İsv Streptozotosin verilerek oluşturulan Alzheimer modelinde 25 gün boyunca uygulanan 100 mg/kg taurinin nöroinflamatuvar belirteçlere etkisi incelenmiş ve deney modelinde artan hipokampal GFAP seviyelerinde yalnızca CA1 alanında taurin uygulaması ile azalma tespit edilmiştir. Öğrenme ve bellek fonksiyonlarında

Y-Maze ve Yeni Obje Tanıma Testi kullanılmış ve bu testler ile uzaysal hafıza ve tanıma hafızasında taurin uygulaması ile düzelme tespit edilmiştir. (Huf ve diğerleri, 2024). Çalışmamızda taurin 300 mg/kg dozda 28 gün boyunca uygulandı, buna karşın kortikal GFAP seviyelerinde ve Morris Su Tankı testinde anlamlı bir değişiklik yaratmadı. Taurinin GFAP seviyelerindeki etkilerinin anlamlı düzeyde olmaması, astrositlerin morfolojik değişiminin henüz tam olarak gerçekleşmemesi, dolayısıyla nöroinflamasyon sürecinin de tam olarak başlamamasına bağlı olabilir. Diğer yandan bu değişiklikler hipokampal alanlarda başlamış, ancak bizim ölçüm yaptığımız kortikal alanlarda başlamamış olabilir.

Taurinin perisitler üzerindeki etkisi ile ilgili yapılan çalışmalar literatürde sınırlı sayıda ve in vitro düzeyde yapılan çalışmalar olarak yer almaktadır. Retinal kapiller perisitlerin hücre kültürü ortamında glikozlanmış albümine maruz bırakılması ile diyabete bağlı oksidatif stres modeli oluşturularak taurinin de içinde bulunduğu farklı antioksidanların etkileri incelenmiştir. Taurinin glikozlanmış albümine bağlı sitotoksik etkide anlamlı bir etki göstermediği tespit edilmiştir (Kim, 2004). Retinal mikrovasküler perisitlerin hücre kültürü ortamında incelendiği başka bir çalışmada, yüksek glikoza maruz bırakılmış perisitlerde, Anjiyopietin-2 ve Tirozin Kinaz-2 sistemi üzerinden açığa çıkan apoptotik sürecin ve bu süreç sonucu artan caspase-3 seviyelerinin taurin uygulaması ile kontrol grubu değerlerine yaklaştığı tespit edilmiştir (Zeng ve diğerleri, 2014). Her iki çalışmada da in vitro diyabet patolojisi çalışılmıştır, ancak bu çalışmalar haricinde literatürde taurin ve perisitlerin ilişkisinin incelendiği in vivo bir çalışma yer almamaktadır. Diyabetin Alzheimer hastalığı için bir risk faktörü olarak yer alması, diyabete bağlı mikroanjiyopatilerin de bu kapsamda kan beyin bariyerindeki farklı elemanları etkilemesi nedeniyle çalışmamızda A β 1-42 ile indüklenen nörodejeneratif süreçte vasküler patolojilerin nöral dokudaki etkisi ve taurinin bu etkileri ne yönde değiştirdiğinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışmamızda perisitlerdeki değişimin incelenmesi için PDGFR- β seviyeleri değerlendirildi ve 300 mg/kg taurin uygulaması, PDGFR- β seviyeleri üzerinde anlamlı bir değişim oluşturmadi. Literatürde taurinin PDGFR- β seviyeleri üzerine etkisi ile ilgili bir çalışma yer almamaktadır. Literatür kapsamında ve bulgularımız eşliğinde bu etkileşim ile ilgili daha fazla çalışmanın gerektiği söylenebilir.

Sıkı bağlantı yapıları beyin haricinde kolon gibi dokularda bulunabilmektedir ve taurinin bu dokulardaki sıkı bağlantı yapılarına etkisi üzerine yapılan çalışmalar, literatürde daha sıklıkla yer almaktadır. Spontane hipertansiyon modeli ile yapılan bir çalışmada taurin

%3'lük oranda içme suyuna katılmış ve kolonda ZO-1 ve Occludin yapılarındaki değişim incelenmiştir. Yapılan çalışmada spontane hipertansiyon modelinde kontrole göre azalan ZO-1 ve Occludin seviyelerinde 8 haftalık taurin uygulaması ile anlamlı seviyede artış tespit edilmiştir (Su ve diğerleri, 2024). Ülseratif kolit modelinde yapılan bir çalışmada, taurinin vücuttaki sentez ve taşınma mekanizmalarındaki değişimin hastalık modelindeki etkisinin incelenmesi hedeflenmiş ve taurin taşıyıcısı (TauT) ve hız kısıtlayıcı enzim olan sistein sülfürik asit dekarboksilaz (CSAD) enzimi ekspresyonunu gerçekleştiremeyen (Knock Out-KO) farelerde taurin takviyesi uygulanmıştır. Kontrol ve ülseratif kolit modeli oluşturulan ve KO olmayan farelerde CSAD ile TauT seviyelerinde azalma, CSAD ve TauT KO olan farelerde ülseratif kolit patolojisinde şiddetlenmenin artışı ve CSAD ve TauT KO olmayan ülseratif kolit modelinde taurin takviyesi ile azalan ZO-1 ve Claudin-1 seviyelerinde artış gözlemlenirken Occludin seviyelerinde anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir (Zheng ve diğerleri, 2024). Beyinde bulunan sıkı bağlantı proteinlerinde taurinin etkisi ile ilgili literatürde sadece bir çalışma yer almaktadır, bu çalışmada in vitro ortamda TM-BBB4 hücre hattında hiperamonyemi oluşturulmuş ve kan beyin bariyeri fonksiyonundaki bozulma ile taurinin taşınması ile ilgili parametreler incelenmiştir. Çalışmada hiperamonyemi oluşturulan hücre hattında TauT seviyeleri, Occludin ve Claudin-12 gibi sıkı bağlantı yapılarında azalma tespit edilmiştir (Bélanger ve diğerleri, 2007). Çalışmamızda taurin uygulaması, ZO-1 ve Claudin-5 gibi parametrelerde anlamlı bir değişiklik yapmadı. Azalan ZO-1 seviyelerinde taurin, anlamlı olmayan bir artış gösterse de Claudin-5 seviyelerinde bu değişiklik gözlemlenmedi. Yapılan çalışmalarda gerek nörodejeneratif süreçlerde gerek taurin uygulamasında incelenen sıkı bağlantı yapılarında istatistiksel anlamda anlamlı değişikliklerin saptanmadığı görülmüştür. Bu konuda bu proteinlerin ekspresyon seviyelerinde etkili sinyal yollarının irdelenmesi için daha fazla çalışma gerekmektedir.

Taurinin RAGE seviyelerindeki değişimi ile ilgili literatürde yapılan bir çalışmada, in vitro diyabetik retinopati modelinde ARPE-19 hücre hattında yüksek glikoz uygulamasının RAGE ekspresyonunda artışa sebep olduğu; taurin uygulamasının da doza bağımlı bu artışı kontrol değerlerine yaklaştırdığı gösterilmiştir (Song ve diğerleri, 2011). Taurinin diyabetik renal tübüler epitelyal hücrelerde RAGE ligandı AGE 'ye bağlı Raf-1 ve ERK yollarının üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışma, taurinin bu yollar üzerinde inhibitör etkisini ve hücre morfolojisindeki değişimin önüne geçildiğini göstermiştir (Huang ve diğerleri, 2008). Taurinin serumdaki çözünebilir RAGE seviyelerindeki değişime olan etkisinin incelenmesini hedefleyen başka bir çalışmada 46 katılımcıya 3.000 mg/kg taurin 8 hafta

verilmiş, tedavi sonrasında başlangıca göre serum seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Esmaceli ve diğerleri, 2020). RAGE seviyeleri ve taurinin bu seviyelerdeki değişime etkisi literatürde çoğunlukla diyabet patolojisine yöneliktir. Beyinde RAGE seviyelerini değerlendiren çalışmalarda Alzheimer benzeri modeller çalışılmış olsa da taurinin bu konuda etkisi ile ilgili yapılan herhangi bir çalışma literatürde yer almamaktadır. RAGE antagonisti LRP-1'in isv Aβ 1-42 uygulanan modelde beyin dokusunda azaldığı, 1000 mg/kg profilaktik taurin uygulamasının bu azalmayı kısmen önlediği saptanmıştır (Tekin ve diğerleri, 2023). Çalışmamızda RAGE immunreaktivitesinde Aβ 1-42+Taurin grubunda Aβ 1-42 grubuna göre daha düşük bir skorlama gözlemlendi ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Diğer parametrelerle uyumlu bir şekilde nörodejeneratif sürecin tam oturmaması ile açıklanabilecek bu bulgular, farklı nöroinflamatuvar modellerde değerlendirmeyi ya da çalışmamızdaki düşük hayvan sayısının artırılarak farklı çalışmalar ile taurinin etkisinin incelenmesi gerektiğini göstermektedir.

Bilişsel fonksiyonlardaki bozulma ile taurinin bu bozulmaya ve periferik kan beyin bariyeri parametrelerine olan etkisini inceleyen literatürde bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada egzersiz ve taurinin yaşlı kadınlarda bilişsel fonksiyonlara olan etkisi incelenmiş ve serumda periferik biyobelirteçleri olan S100β ve Nöronal Spesifik Enolaz (NSE) seviyeleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada periferik kan beyin bariyeri parametrelerinden yalnızca Nöronal Spesifik Enolaz'ın taurin grubunda kontrole göre anlamlı bir artış olduğu saptanmıştır. Bilişsel fonksiyonlardaki Mini Mental Durum Değerlendirmesi skorlarındaki artışın ise sadece egzersiz ile taurinin kombine tedavisinde görüldüğü tespit edilmiştir (Chupel ve diğerleri, 2018).

Çalışmamızın limitasyonları gözden geçirildiğinde kan beyin bariyeri geçirgenliğinin ve amiloid beta proteini ile kolokalizasyonunun gösterilmesi amacıyla Fibrin proteininde immünohistokimyasal değerlendirme yapılması amaçlanmış ancak bütçe kapsamında bu değerlendirme gerçekleştirilememiştir. Çalışma esnasında hayvan kayıplarının olmasının da moleküler çalışmalarda ve davranış testinde istatistiksel anlamlılığın ortaya çıkmamasında etken olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamıda intraserebroventriküler Amiloid beta 1-42 ile nörodejeneratif süreç indüklenerek bu süreçte değişen kan beyin bariyeri parametrelerinde taurinin etkisinin incelenmesi hedeflenmiştir. İntraserebroventriküler Amiloid beta 1-42 uygulaması nörodejeneratif süreci moleküler düzeyde kısıtlı seviyede etkilemiş ve bu etkiler öğrenme ve bellek fonksiyonlarına yansımamıştır. Taurinin bu parametreler üzerindeki etkisi de sınırlı miktarda olmuştur. Çalışmamızda bu sonuçların deney modeli, hayvanların yaşı ve hayvan sayılarının az olmasına bağlı olarak elde edildiği ve ileriye dönük çalışmaların bu faktörlerin göz önünde bulundurularak gerçekleştirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Abbott, N.J., Rönnbäck, L., Hansson, E. (2006, May). Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(1), 41-53.
- Ahmad, S., Jo, M.H., Ikram, M., Khan, A., Kim, M.O. (2021, Sep). Deciphering the Potential Neuroprotective Effects of Luteolin against A β 1-42-Induced Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences* 22(17), 9583.
- Akhtar, A., Gupta, S.M., Dwivedi, S., Kumar, D., Shaikh, M.F., Negi, A. (2022 Dec). Preclinical Models for Alzheimer's Disease: Past, Present, and Future Approaches. *ACS Omega Journal*. 7(51), 47504-47517.
- Alzheimer, A. (1906) Über einen eigenartigen schweren Er Krankungsprozeb der Hirnrinde. *Neurologisches Centralblatt*. 23, 1129-1136.
- Arabi, A., Karimi, S.A., Salehi, I., Haddadi, R., Komaki, A. (2023 Jun). Effects of sesamin on A β 1-42-induced oxidative stress and LTP impairment in a rat model of Alzheimer's disease. *Metabolic Brain Disease*. 38(5), 1503-1511.
- Armulik, A., Abramsson, A., Betsholtz, C. (2005 Sep). Endothelial/pericyte interactions. *Circulation Research*. 97(6), 512-23.
- Asghari, K., Niknam, Z., Mohammadpour-Asl, S., Chodari, L. (2024 Feb). Cellular junction dynamics and Alzheimer's disease: a comprehensive review. *Molecular Biology Reports*. 51(1), 273.
- Aslan Karakelle N., Kayabaşı, B., Dinçer, S. (2024). The Effect of Taurine on Clusterin and Sestrin Expressions in Apoptotic and Neurodegenerative Process Induced by Intrahippocampal Amyloid Beta 1-42 Injection. *Acta Physiologica*. 240(730), 40.
- Bacus, S., Flowers, J.L., Press, M.F., Bacus, J.W., Mccarty, Jr, K.S. (1988). The evaluation of estrogen receptor in primary breast carcinoma by computer-assisted image analysis. *American Journal of Clinical Pathology*. 90, 233–239
- Barahona, M.J., Rojas, J., Uribe, E.A., García-Robles, M.A. (2020 Dec). Tympanic Membrane Rupture During Stereotaxic Surgery Disturbs the Normal Feeding Behavior in Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 14, 591204.
- Bartus, R.T., Dean, R.L.3rd., Beer, B., Lippa, A.S. (1982 Jul). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*. 217(4558), 408-414.
- Basir, HS., Mirazi, N., Komaki, A., Mohamadpour, B., Hosseini, A. (2024 Aug). Selegiline Improves Cognitive Impairment in the Rat Model of Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*.
- Beauquis, J., Pavía, P., Pomilio, C., Vinuesa, A., Podlutsкая, N., Galvan, V., Saravia, F. (2013 Jan). Environmental enrichment prevents astroglial pathological changes in the hippocampus of APP transgenic mice, model of Alzheimer's disease. *Experimental Neurology*. 239, 28-37.

- Beetsch, J.W., Olson, J.E. (1998 Apr). Taurine synthesis and cysteine metabolism in cultured rat astrocytes: effects of hyperosmotic exposure. *American Physiological Society Journal*. 274(4), C866-74. doi: 10.1152/ajpcell.1998.274.4.C866. PMID: 9575782.
- Bélanger, M., Asashima, T., Ohtsuki, S., Yamaguchi, H., Ito, S., & Terasaki, T. (2007). Hyperammonemia induces transport of taurine and creatine and suppresses claudin-12 gene expression in brain capillary endothelial cells in vitro. *Neurochemistry international*. 50(1), 95–101
- Bell, R.D., Deane, R., Chow, N., Long, X., Sagare, A., Singh, I., Streb, J.W., Guo, H., Rubio, A., Van Nostrand, W., Miano, J.M., Zlokovic, B.V. (2009 Feb). SRF and myocardin regulate LRP-mediated amyloid-beta clearance in brain vascular cells. *Nature Cell Biology*. 11(2), 143-53.
- Birch, A.M. (2014 Oct). The contribution of astrocytes to Alzheimer's disease. *Biochemical Society Transactions*. 42(5), 1316-20.
- Blennow, K., de Leon, M.J., Zetterberg, H. (2006 Jul). Alzheimer's disease. *Lancet*. 368(9533), 387-403.
- Boller, F., Forbes, M.M. (1998 Jun). History of dementia and dementia in history: an overview. *Journal of the Neurological Sciences*. 158(2), 125-33.
- Briggs, R., Kennelly, S.P., O'Neill, D. (2016 Jun). Drug treatments in Alzheimer's disease. *Clinical Medicine (London)*16(3), 247-53.
- Bromley-Brits, K., Deng, Y., Song, W. (2011 Jul). Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. *Journal of Visualized Experiments*. (53):2920.
- Cetin, F., Dincer, S., Isik Gönül, İ., & Poyraz, A., (2009). Effects of Single Administration of Intrahippocampal Amyloid Beta 1-42 on Spatial Learning and Memory, Microglia and NOS System in Rats. *Neurology Psychiatry And Brain Reserch*, 16(2), 41-48.
- Chen, C., Li, B., Cheng, G., Yang, X., Zhao, N., & Shi, R. (2018). Amentoflavone ameliorates A β 1–42-induced memory deficits and oxidative stress in cellular and rat model. *Neurochemical research*. 43, 857-868.
- Chen, F., Dong, R.R., Zhong, K.L., Ghosh, A., Tang, S.S., Long, Y., Hu, M., Miao, M.X., Liao, J.M., Sun, H.B., Kong, L.Y., Hong, H. (2016 Feb). Antidiabetic drugs restore abnormal transport of amyloid- β across the blood-brain barrier and memory impairment in db/db mice. *Neuropharmacology*. 101,123-36.
- Chen, G. F., Xu, T. H., Yan, Y., Zhou, Y. R., Jiang, Y., Melcher, K., & Xu, H. E. (2017). Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta pharmacologica Sinica*, 38(9), 1205–1235.
- Chen, Q.S., Kagan, B.L., Hirakura, Y., Xie, C.W. (2000 Apr). Impairment of hippocampal long-term potentiation by Alzheimer amyloid beta-peptides. *Journal Neuroscience Res*. 60(1), 65-72.

- Choi, B. R., Cho, W. H., Kim, J., Lee, H. J., Chung, C., Jeon, W. K., & Han, J. S. (2014). Increased expression of the receptor for advanced glycation end products in neurons and astrocytes in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Experimental & molecular medicine*, 46(2), e75
- Chong, F.P., Ng, K.Y., Koh, R.Y., Chye, S.M. (2018 Jul). Tau Proteins and Tauopathies in Alzheimer's Disease. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 38(5), 965-980.
- Chupel, M.U., Minuzzi, L.G., Furtado, G., Santos, M.L., Hogervorst, E., Filaire, E., Teixeira, A.M. (2018 Jul). Exercise and taurine in inflammation, cognition, and peripheral markers of blood-brain barrier integrity in older women. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 43(7), 733-741.
- Daneman, R., Prat, A. (2015 Jan). The blood-brain barrier. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 7(1), a020412.
- Dasgupta, K., Jeong, J. (2019 May). Developmental biology of the meninges. *Genesis*. 57(5), e23288.
- Deane, R., Wu, Z., Zlokovic, B.V. (2004 Nov). RAGE (yin) versus LRP (yang) balance regulates alzheimer amyloid beta-peptide clearance through transport across the blood-brain barrier. *Stroke*. 35(11 Suppl 1), 2628-31.
- Ding, R., Hase, Y., Ameen-Ali, K. E., Ndung'u, M., Stevenson, W., Barsby, J., Gourlay, R., Akinyemi, T., Akinyemi, R., Uemura, M. T., Polvikoski, T., Mukaetova-Ladinska, E., Ihara, M., & Kalara, R. N. (2020). Loss of capillary pericytes and the blood-brain barrier in white matter in poststroke and vascular dementias and Alzheimer's disease. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 30(6), 1087–1101
- Dithmer, S., Blasig, I.E., Fraser, P.A., Qin, Z., & Haseloff, R.F. (2024). The Basic Requirement of Tight Junction Proteins in Blood-Brain Barrier Function and Their Role in Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*. 25(11), 5601.
- Do Carmo, S., Cuello, A.C. (2013 Oct). Modeling Alzheimer's disease in transgenic rats. *Molecular Neurodegeneration*. 8, 37.
- Ehrlich, M. (1885). Königthum und staatswesen der alten Hebräer: Nach biblischen und talmudischen quellen bearbeitet (Gedruckt bei J. v. Bertalanffy, Steinamanger,)
- El Idrissi, A. (2019). Taurine Regulation of Neuroendocrine Function. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1155, 977-985.
- Eng, L.F., Ghirnikar, R.S. (1994 Jul). GFAP and astrogliosis. *Brain Pathology*. (3), 229-37.
- Engel, T., Goñi-Oliver, P., Lucas, J.J., Avila, J., Hernández, F. (2006 Dec). Chronic lithium administration to FTDP-17 tau and GSK-3beta overexpressing mice prevents tau hyperphosphorylation and neurofibrillary tangle formation, but pre-formed neurofibrillary tangles do not revert. *Journal of Neurochemistry*. (6), 1445-55.
- Engel, T., Hernández, F., Avila, J., Lucas, J.J. (2006 May). Full reversal of Alzheimer's disease-like phenotype in a mouse model with conditional overexpression of glycogen synthase kinase-3. *Journal Neuroscience*. 26(19), 5083-90.

- Esmaceli, F., Maleki, V., Kheirouri, S., Alizadeh, M. (2021 Feb). The Effects of Taurine Supplementation on Metabolic Profiles, Pentosidine, Soluble Receptor of Advanced Glycation End Products and Methylglyoxal in Adults With Type 2 Diabetes: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Canadian Journal of Diabetes*. 45(1), 39-46.
- Fakhoury, M. (2018). Microglia and Astrocytes in Alzheimer's Disease: Implications for Therapy. *Current Neuroparmacology*. 16(5), 508-518.
- Fang, F., Lue, L.F., Yan, S., Xu, H., Luddy, J.S., Chen, D., Walker, D.G., Stern, D. M., Yan, S., Schmidt, A.M., Chen, J.X., Yan, S.S., (2010 Apr) RAGE-dependent signaling in microglia contributes to neuroinflammation, Abeta accumulation, and impaired learning/memory in a mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB Journal*. 24(4)1043-55.
- Fornari, R.V., Wichmann, R., Atsak, P., Atucha, E., Barsegyan, A., Beldjoud, H., Messanvi, F., Thuring, C.M., Roozendaal, B. (2012 Jan). Rodent stereotaxic surgery and animal welfare outcome improvements for behavioral neuroscience. *Journal of Visualized Experiments*. 30(59), e3528.
- Francis, P.T., Palmer, A.M., Snape, M., Wilcock, G.K. (1999 Feb). The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 66(2), 137-47.
- Gao, J., He, H., Jiang, W., Chang, X., Zhu, L., Luo, F., Zhou, R., Ma, C., Yan, T. (2015 Oct). Salidroside ameliorates cognitive impairment in a d-galactose-induced rat model of Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research*. 15, 293:27-33.
- Giri, R., Shen, Y., Stins, M., Du Yan, S., Schmidt, A.M., Stern, D., Kim, K.S., Zlokovic, B., Kalra, V.K. (2000 Dec). Beta-amyloid-induced migration of monocytes across human brain endothelial cells involves RAGE and PECAM-1. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 279(6), C1772-81.
- Giridharan, V.V., Thandavarayan, R.A., Arumugam, S., Mizuno, M., Nawa, H., Suzuki, K., Ko, K.M., Krishnamurthy, P., Watanabe, K., Konishi, T. (2015 Nov). Schisandrin B Ameliorates ICV-Infused Amyloid β Induced Oxidative Stress and Neuronal Dysfunction through Inhibiting RAGE/NF- κ B/MAPK and Up-Regulating HSP/Beclin Expression. *PLoS One*. 10(11): e0142483
- Glenner, G.G., Wong, C.W. (1984 Aug). Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 16;122(3), 1131-5.
- Goedert, M., (2009 Apr). Oskar Fischer and the study of dementia. *Brain*. 132(Pt 4), 1102-11.
- Grabrucker, A.M., Ruozi, B., Belletti, D., Pederzoli, F., Forni, F., Vandelli, M.A., Tosi, G. (2016 Feb). Nanoparticle transport across the blood brain barrier. *Tissue Barriers*. 4(1), e1153568.
- Greene, C., Hanley, N., Campbell, M. (2019 Jan). Claudin-5: gatekeeper of neurological function. *Fluids Barriers CNS*. 16(1), 3.

- Halliday, M.R., Rege, S.V., Ma, Q., Zhao, Z., Miller, C.A., Winkler, E.A., Zlokovic, B.V. (2016 Jan). Accelerated pericyte degeneration and blood-brain barrier breakdown in apolipoprotein E4 carriers with Alzheimer's disease. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism Metab.* 36(1), 216-27.
- Han, X., Yang, L., Du, H., Sun, Q., Wang, X., Cong, L., Liu, X., Yin, L., Li, S., Du, Y. (2016 Aug). Insulin Attenuates Beta-Amyloid-Associated Insulin/Akt/EAAT Signaling Perturbations in Human Astrocytes. *Cellular and Molecular Neurobiology.* 36(6), 851-864.
- Haqqani, A.S., Bélanger, K., & Stanimirovic, D.B. (2024). Receptor-mediated transcytosis for brain delivery of therapeutics: receptor classes and criteria. *Frontiers in Drug Delivery.* 4, 1360302.
- Hellström, M., Gerhardt, H., Kalén, M., Li, X., Eriksson, U., Wolburg, H., & Betsholtz, C. (2001). Lack of Pericytes Leads to Endothelial Hyperplasia and Abnormal Vascular Morphogenesis. *In The Journal of Cell Biology.* Vol. 153, Issue 3.
- Hervé, F., Ghinea, N., Scherrmann, J.M. (2008 Sep). CNS delivery via adsorptive transcytosis. *AAPS Journal.* 10(3), 455-72.
- Hu, W., Wu, F., Zhang, Y., Gong, C.X., Iqbal, K., Liu, F. (2017 Sep). Expression of Tau Pathology-Related Proteins in Different Brain Regions: A Molecular Basis of Tau Pathogenesis. *Frontiers in Aging Neuroscience.* 9, 311.
- Huang, J.S., Chuang, L.Y., Guh, J.Y., Yang, Y.L., Hsu, M.S. (2008 Dec). Effect of taurine on advanced glycation end products-induced hypertrophy in renal tubular epithelial cells. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 233(2), 220-6.
- Huf, F., Gutierrez, J.M., da Silva, G.N., Zago, A.M., Koenig, L.F.C., Fernandes, M.C. (2024 Oct) Neuroprotection elicited by taurine in sporadic Alzheimer-like disease: benefits on memory and control of neuroinflammation in the hippocampus of rats. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 479(10), 2663-2678.
- Huxtable, R.J. (1992 Jan). Physiological actions of taurine. *Physiological Reviews.* 72(1), 101-63.
- Hynd, M.R., Scott, H.L., Dodd, P.R. (2004 Oct). Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochemistry International.* 45(5), 583-95.
- Jahn, H. (2013 Dec). Memory loss in Alzheimer's disease. *Dialogues in Clinical Neuroscience.* 15(4), 445-54.
- Jakaria, M., Azam, S., Haque, M.E., Jo, S.H., Uddin, M.S., Kim, I.S., Choi, D.K. (2019 Jun). Taurine and its analogs in neurological disorders: Focus on therapeutic potential and molecular mechanisms. *Redox Biology.* 24, 101223.
- Jang, M., Choi, S.H., Choi, J.H., Oh, J., Lee, R.M., Lee, N.E., Cho, Y.J., Rhim, H., Kim, H.C., Cho, I.H., Nah, S.Y. (2021 Apr). Ginseng gintonin attenuates the disruptions of brain microvascular permeability and microvascular endothelium junctional proteins

- in an APPswe/PSEN-1 double-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Experimental and Therapeutic Medicine* 21(4), 310.
- Jantaratnotai, N., Ryu, J.K., Kim, S.U., McLarnon, J.G. (2003 Aug). Amyloid beta peptide-induced corpus callosum damage and glial activation in vivo. *Neuroreport*. 14(11), 1429-33.
- Jellinger, K.A. (2006 Nov). Alzheimer 100--highlights in the history of Alzheimer research. *Journal of Neural Transmission, Supplement (Vienna)*. 113(11), 1603-23.
- Junyent, F., De Lemos, L., Utrera, J., Paco, S., Aguado, F., Camins, A., Pallàs, M., Romero, R., Auladell, C. (2011 Feb). Content and traffic of taurine in hippocampal reactive astrocytes. *Hippocampus*. 21(2), 185-97.
- Kametani, F., Hasegawa, M. (2018 Jan). Reconsideration of Amyloid Hypothesis and Tau Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*. 12, 25.
- Kasza, Á., Penke, B., Frank, Z., Bozsó, Z., Szegedi, V., Hunya, Á., Németh, K., Kozma, G., Fülöp, L. (2017 Nov). Studies for Improving a Rat Model of Alzheimer's Disease: Icv Administration of Well-Characterized β -Amyloid 1-42 Oligomers Induce Dysfunction in Spatial Memory. *Molecules*. 22(11), 2007.
- Kayabaşı, B. Et Al. (8 - 11 Haziran 2023). *Taurine Attenuates the Impairment of Learning and Memory Functions in Rats with Experimental Alzheimer-Like Disease Model Induced by Intracerebroventricular Injection of A β 1-42*. 21. Ulusal Sinirbilim Kongresi, Bolu, Türkiye, ss.105,
- Kazemi, S., Safari, S., Komaki, S., Karimi, S. A., Golipoor, Z., & Komaki, A. (2024). The effects of carvacrol and p-cymene on A β ₁₋₄₂ -induced long-term potentiation deficit in male rats. *CNS neuroscience & therapeutics*, 30(3), e14459
- Keep, R.F., Andjelkovic, A.V., Xiang, J., Stamatovic, S.M., Antonetti, D.A., Hua, Y., Xi, G. (2018 Aug). Brain endothelial cell junctions after cerebral hemorrhage: Changes, mechanisms and therapeutic targets. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 38(8),1255-1275.
- Khan, A., Park, J.S., Kang, M.H., Lee, H.J., Ali, J., Tahir, M., Choe, K., Kim, M.O. (2023 Jun). Caffeic Acid, a Polyphenolic Micronutrient Rescues Mice Brains against A β -Induced Neurodegeneration and Memory Impairment. *Antioxidants (Basel)*. 12(6), 1284.
- Kim, H.Y., Lee, D.K., Chung, B.R., Kim, H.V., Kim, Y. (2016 Mar). Intracerebroventricular Injection of Amyloid- β Peptides in Normal Mice to Acutely Induce Alzheimer-like Cognitive Deficits. *Journal of Visualized Experiments*. (109), 53308.
- Kim J. (2004 Dec) Pericytes and the prevention of diabetic retinopathy. *Diabetes Research and Clinical Practice*., 66 Suppl 1 ,49-51.
- Kong, Y., Liu, C., Zhou, Y., Qi, J., Zhang, C., Sun, B., Wang, J., Guan, Y., (2020 Aug) Progress of RAGE Molecular Imaging in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 4 (12), 227.

- Kook, S.Y., Hong, H.S., Moon, M., Ha, C.M., Chang, S., Mook-Jung, I. (2012 Jun). A β ₁₋₄₂-RAGE interaction disrupts tight junctions of the blood-brain barrier via Ca²⁺-calcineurin signaling. *Journal Neuroscience*. 32(26), 8845-54.
- Koychev, I., Hofer, M., Friedman, N. (2020 Oct). Correlation of Alzheimer Disease Neuropathologic Staging with Amyloid and Tau Scintigraphic Imaging Biomarkers. *Journal of Nuclear Medicine*. 61(10), 1413-1418.
- Kulijewicz-Nawrot, M., Verkhatsky, A., Chvátal, A., Syková, E. and Rodríguez, J.J. (2012). Astrocytic cytoskeletal atrophy in the medial prefrontal cortex of a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Anatomy*. 221, 252-262.
- Lewandowsky, M., (1900). Zur lehre von der cerebrospinal flüssigkeit. *Zeitschrift für klinische Medizin*. 40, 480-94
- Li, X., Zhang, P., Li, H., Yu, H., Xi, Y. (2022 Jun). The Protective Effects of Zeaxanthin on Amyloid- β Peptide 1-42-Induced Impairment of Learning and Memory Ability in Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 16, 912896.
- Liao, C.W., Cho, W.L., Kao, T.C., Su, K.E., Lin, Y.H., Fan, C.K. (2008 Oct). Blood-brain barrier impairment with enhanced SP, NK-1R, GFAP and claudin-5 expressions in experimental cerebral toxocariasis. *Parasite Immunology*. 30(10), 525-34.
- Liao, D.M., Pang, F., Zhou, M., Li, Y., Yang, Y.H., Guo, X., Tang, C.L. (2022 Jul). [Effect of electroacupuncture on cognitive impairment in APP/PS1 mice based on TLR4/NF- κ B/NLRP3 pathway]. *Zhen Ci Yan Jiu*. 47(7), 565-72.
- Liebner, S., Czupalla, C.J., Wolburg, H. (2011) Current concepts of blood-brain barrier development. *The International Journal of Developmental Biology*. 55(4-5), 467-76.
- Liu, H., Saffi, G.T., Vasefi, M.S., Choi, Y., Kruk, J.S., Ahmed, N., Gondora, N., Mielke, J., Leonenko, Z., Beazely, M.A. (2018). Amyloid- β Inhibits PDGF β Receptor Activation and Prevents PDGF-BB-Induced Neuroprotection. *Current Alzheimer Research*. 15(7), 618-627.
- Liu, L.P., Hong, H., Liao, J.M., Wang, T.S., Wu, J., Chen, S.S., Li, Y.Q., Long, Y., Xia, Y.Z. (2009 Aug). Upregulation of RAGE at the blood-brain barrier in streptozotocin-induced diabetic mice. *Synapse*. 63(8), 636-42.
- Liu, R., Gao, M., Qiang, G.F., Zhang, T.T., Lan, X., Ying, J., Du, G.H. (2009 Sep). The anti-amnesic effects of luteolin against amyloid beta(25-35) peptide-induced toxicity in mice involve the protection of neurovascular unit. *Neuroscience*. 162(4), 1232-43.
- Liu, R., Zhang, T.T., Zhou, D., Bai, X.Y., Zhou, W.L., Huang, C., Song, J.K., Meng, F.R., Wu, C.X., Li, L., Du, G.H. (2013 Apr). Quercetin protects against the A β (25-35)-induced amnesic injury: involvement of inactivation of rage-mediated pathway and conservation of the NVU. *Neuropharmacology*. 67:419-31.
- Louzada, P.R, Paula, Lima, A.C., Mendonca-Silva, D.L., Noël, F., De Mello, F.G., Ferreira, S.T. (2004 Mar). Taurine prevents the neurotoxicity of beta-amyloid and glutamate receptor agonists: activation of GABA receptors and possible implications for Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Faseb Journal*. 18(3), 511-8.

- Lu, D., Qu, C., Fang, M., Zhang, J. (2024 Nov). Exercise rescues cognitive impairment through inhibiting the fibrinogen neuroinflammatory pathway in diabetes. *Metabolic Brain Disease*. 40(1), 2.
- Lyu, D., Lyu, X., Huang, L., (2023 Jul). Fang, B. Effects of three kinds of anti-amyloid- β drugs on clinical, biomarker, neuroimaging outcomes and safety indexes: A systematic review and meta-analysis of phase II/III clinical trials in Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews*. 88, 101959.
- Ma, Q., Zhao, Z., Sagare, A.P., Wu, Y., Wang, M., Owens, N.C., Verghese, P.B., Herz, J., Holtzman, D.M., Zlokovic, B.V. (2018 Oct). Blood-brain barrier-associated pericytes internalize and clear aggregated amyloid- β 42 by LRP1-dependent apolipoprotein E isoform-specific mechanism. *Molecular Neurodegeneration*. 13(1), 57.
- Mastorakos, P., McGavern, D. (2019 Jul). The anatomy and immunology of vasculature in the central nervous system. *Science immunology*. 4(37), eaav0492.
- Meftahi, G.H., Bahari, Z., Zarei, Mahmoudabadi, A., Iman, M., Jangravi, Z. (2021 Jul). Applications of western blot technique: From bench to bedside. *Biochemistry and Molecular Biology Education*. 49(4), 509-517.
- Miners, J.S., Schulz, I., Love, S. (2018 Jan). Differing associations between A β accumulation, hypoperfusion, blood-brain barrier dysfunction and loss of PDGFRB pericyte marker in the precuneus and parietal white matter in Alzheimer's disease. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 38(1), 103-115.
- Miyoshi, J., Takai, Y. (2008 Mar). Structural and functional associations of apical junctions with cytoskeleton. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1778(3), 670-91.
- Møllgård, K., Beinlich, F.R.M., Kusk, P., Miyakoshi, L.M., Delle, C., Plá, V., Hauglund, N.L., Esmail, T., Rasmussen, M.K., Gomolka, R.S., Mori, Y., Nedergaard, M.A. (2023 Jan). Mesothelium divides the subarachnoid space into functional compartments. *Science*. 379(6627), 84-88.
- Morris, R.G. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and motivation*, 12(2), 239-260.
- Nagele, R.G., D'Andrea, M.R., Lee, H., Venkataraman, V., Wang, H.Y. (2003 May). Astrocytes accumulate A beta 42 and give rise to astrocytic amyloid plaques in Alzheimer disease brains. *Brain Research*. 971(2), 197-209.
- Nagele, R.G., Wegiel, J., Venkataraman, V., Imaki, H., Wang, K.C., Wegiel, J. (2004 May-Jun). Contribution of glial cells to the development of amyloid plaques in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 25(5), 663-74.
- Nakamura, S., Murayama, N., Noshita, T., Annoura, H., Ohno, T. (2001 Sep). Progressive brain dysfunction following intracerebroventricular infusion of beta(1-42)-amyloid peptide. *Brain Research*. 912(2), 128-36.
- Nelson, A.R., Sweeney, M.D., Sagare, A.P., Zlokovic, B.V. (2016 May). Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1862(5), 887-900.

- Nishanth, G., & Schlüter, D. (2019). Blood-Brain Barrier in Cerebral Malaria: Pathogenesis and Therapeutic Intervention. *Trends in parasitology*, 35(7), 516–528
- Nitta, T., Hata, M., Gotoh, S., Seo, Y., Sasaki, H., Hashimoto, N., Furuse, M., Tsukita, S. (2003 May). Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice. *Journal of Cell Biology*. 161(3), 653-60.
- Oboudiyat, C., Glazer, H., Seifan, A., Greer, C., Isaacson, R.S. (2013 Nov). Alzheimer's disease. *Seminars in Neurology*. 33(4), 313-29.
- Olabarria, M., Noristani, H.N., Verkhratsky, A., Rodríguez, J.J. (2010 May). Concomitant astroglial atrophy and astrogliosis in a triple transgenic animal model of Alzheimer's disease. *Glia*. 58(7), 831-8.
- Pinheiro, L., Faustino, C. (2019). Therapeutic Strategies Targeting Amyloid- β in Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*. 16(5), 418-452.
- Pow, D.V., Sullivan, R., Reye, P., Hermanussen, S. (2002 Feb). Localization of taurine transporters, taurine, and (3)H taurine accumulation in the rat retina, pituitary, and brain. *Glia*. 37(2), 153-68.
- Puzzo, D., Gulisano, W., Palmeri, A., Arancio, O. (2015 Jul). Rodent models for Alzheimer's disease drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 10(7), 703-11.
- Qi, Y., Shang, L., Liao, Z., Su, H., Jing, H., Wu, B., Bi, K., Jia, Y. (2019 Feb). Intracerebroventricular injection of resveratrol ameliorated A β -induced learning and cognitive decline in mice. *Metabolic Brain Disease*. 34(1), 257-266.
- Ramírez-Guerrero, S., Guardo-Maya, S., Medina-Rincón, G.J., Orrego-González, E.E., Cabezas-Pérez, R., González-Reyes, R.E. (2022 Jul). Taurine and Astrocytes: A Homeostatic and Neuroprotective Relationship. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 15, 937789.
- Ramos-Vara, J.A. (2005 Jul). Technical aspects of immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*. 42(4), 405-26.
- Rasgado-Flores, H., Mokashi, A., & Hawkins, R.A. (2012). Na⁺-dependent transport of taurine is found only on the abluminal membrane of the blood–brain barrier. *Experimental neurology*. 233(1), 457-462.
- Ripps, H., Shen, W. (2012 Nov). Review: taurine: a "very essential" amino acid. *Molecular Vision*. 18, 2673-86.
- Rockenstein, E., Adame, A., Mante, M., Larrea, G., Crews, L., Windisch, M., Moessler, H., & Masliah, E. (2005). Amelioration of the cerebrovascular amyloidosis in a transgenic model of Alzheimer's disease with the neurotrophic compound cerebrolysin. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 112(2), 269–282
- Rosas-Hernandez, H., Cuevas, E., Raymick, J.B., Robinson, B.L., Sarkar, S. (2020 Aug). Impaired Amyloid Beta Clearance and Brain Microvascular Dysfunction are Present in the Tg-SwDI Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Neuroscience*. 440, 48-55.

- Saunders, N.R., Dreifuss, J.J., Dziegielewska, K.M., Johansson, P.A., Habgood, M.D., Møllgård, K., Bauer, H.C. (2014 Dec). The rights and wrongs of blood-brain barrier permeability studies: a walk through 100 years of history. *Frontiers in Neuroscience*. 8, 404.
- Saunders, N.R., Habgood, M.D., Dziegielewska, K.M. (1999 Feb). Barrier mechanisms in the brain, II. Immature brain. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 26(2), 85-91.
- Schaffer, S., Kim, H.W. (2018 May). Effects and Mechanisms of Taurine as a Therapeutic Agent. *Biomolecules and Therapeutics (Seoul)*. 26(3), 225-241.
- Scheffer, S., Hermkens, D. M., Van Der Weerd, L., De Vries, H. E., & Daemen, M. J. (2021). Vascular hypothesis of Alzheimer disease: topical review of mouse models. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 41(4), 1265-1283.
- Schneider, C., Rasband, W., Eliceiri, K. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*. 9(7), 671–5.
- Sharma, C., Woo, H., Kim, S.R. (2022 Mar). Addressing Blood-Brain Barrier Impairment in Alzheimer's Disease. *Biomedicines*. 10(4), 742.
- Sheng, J.G., Bora, S.H., Xu, G., Borchelt, D.R., Price, D.L., Koliatsos, V.E. (2003 Oct). Lipopolysaccharide-induced-neuroinflammation increases intracellular accumulation of amyloid precursor protein and amyloid beta peptide in APPsw transgenic mice. *Neurobiology of Disease*. 14(1), 133-45.
- Silva, S.P., Zago, A.M., Carvalho, F.B., Germann, L., Colombo, G.M., Rahmeier, F.L., Gutierrez, J.M., Reschke, C.R., Bagatini, M.D., Assmann, C.E., Fernandes, M.D.C. (2021 Jul) Neuroprotective Effect of Taurine against Cell Death, Glial Changes, and Neuronal Loss in the Cerebellum of Rats Exposed to Chronic-Recurrent Neuroinflammation Induced by LPS. *Journal of Immunology Research*. 5, 2021, 7497185.
- Smyth, L.C.D., Highet, B., Jansson, D., Wu, J., Rustenhoven, J., Aalderink, M., Tan, A., Li, S., Johnson, R., Coppieters, N., Handley, R., Narayan, P., Singh-Bains, M.K., Schweder, P., Turner, C., Mee, E.W., Heppner, P., Correia, J., Park, T.I., Curtis, M.A., Faull, R.L.M., Dragunow, M. (2022 Mar). Characterisation of PDGF-BB:PDGFR β signalling pathways in human brain pericytes: evidence of disruption in Alzheimer's disease. *Communications Biology*. 5(1), 235.
- Song, M. K., Roufogalis, B. D., & Huang, T. H. W. (2011). Modulation of RAGE and the downstream targets of RAGE signaling cascades by taurine in *Lycium barbarum* (Goji Berry): protection of human retinal pigment epithelial barrier function and its potential benefit in diabetic retinopathy. *The Journal of Diabetes & Metabolism*, 2, 1000162.
- Song, Y., Chen, X., Wang, L.Y., Gao, W., Zhu, M.J. (2013 Aug). Rho kinase inhibitor fasudil protects against β -amyloid-induced hippocampal neurodegeneration in rats. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 19(8), 603-10.

- Sousa, J. A., Bernardes, C., Bernardo-Castro, S., Lino, M., Albino, I., Ferreira, L., Brás, J., Guerreiro, R., Tábuas-Pereira, M., Baldeiras, I., Santana, I., Sargento-Freitas, J. (2023). Reconsidering the role of blood-brain barrier in Alzheimer's disease: From delivery to target. *Frontiers in aging neuroscience*, 15, 1102809.
- Spampinato, S.F., Merlo, S., Sano, Y., Kanda, T., Sortino, M.A. (2017 Aug). Astrocytes contribute to A β -induced blood-brain barrier damage through activation of endothelial MMP9. *Journal of Neurochemistry*. 142(3), 464-477.
- Spies, P.E., Verbeek, M.M., van Groen, T., Claassen, J.A. (2012 Jun). Reviewing reasons for the decreased CSF Abeta42 concentration in Alzheimer disease. *Frontiers in Bioscience-Landmark*. 17(6), 2024-34.
- Stamatovic, S.M., Johnson, A.M., Keep, R.F., Andjelkovic, A.V. (2016 Feb). Junctional proteins of the blood-brain barrier: New insights into function and dysfunction. *Tissue Barriers*. 4(1), e1154641.
- Su, Q., Pan, X.F., Li, H.B., Xiong, L.X., Bai, J., Wang, X.M., Qu, X.Y., Zhang, N.R., Zou, G.Q., Shen, Y., Li, L., Huang, L.L., Zhang, H., Xu, M. L. (2024). Taurine Supplementation Alleviates Blood Pressure via Gut–Brain Communication in Spontaneously Hypertensive Rats. *Biomedicines*, 12(12), 2711.
- Sun, X., Chen, W. D., & Wang, Y. D. (2015). β -Amyloid: the key peptide in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Frontiers in pharmacology*, 6, 221.
- Sweeney, M.D., Kisler, K., Montagne, A., Toga, A.W., Zlokovic, B.V. (2018 Oct). The role of brain vasculature in neurodegenerative disorders. *Nature Neuroscience*. 21(10), 1318-1331.
- Takechi, R., Mamo, J., Das, S., Graneri, L., D'Alonzo, Z., Nesbit, M., Junaldi, E., Lam, V. (2022 Nov). Short-term consumption of alcohol (vodka) mixed with energy drink (AMED) attenuated alcohol-induced cerebral capillary disturbances and neuroinflammation in adult wild-type mice. *Nutritional Neuroscience*. 25(11), 2398-2407.
- Tamai, I., Senmaru, M., Terasaki, T., Tsuji, A. (1995 Nov). Na(+)- and Cl(-)-dependent transport of taurine at the blood-brain barrier. *Biochemical Pharmacology*. 50(11), 1783-93.
- Tan, A., Roberts, D. (2021 Oct). Cerebral circulation 1: anatomy. *BJA Education*. 21(10), 390-395.
- Tarasoff-Conway, J.M., Carare, R.O., Osorio, R.S., Glodzik, L., Butler, T., Fieremans, E., Axel, L., Rusinek, H., Nicholson, C., Zlokovic, B.V., Frangione, B., Blennow, K., Ménard, J., Zetterberg, H., Wisniewski, T., (2015 Aug). de Leon MJ. Clearance systems in the brain-implications for Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*. 11(8), 457-70.
- Tefft, J.B., Bays, J.L., Lammers, A., Kim, S., Eyckmans, J., & Chen, C.S. (2022). Notch1 and Notch3 coordinate for pericyte-induced stabilization of vasculature. *American Journal of Physiology- Cell Physiology*. 322(2), C185–C196.

- Tekin, E., Aslan, Karakelle, N., Dinçer, S. (2023 Sep). Effects of taurine on metal cations, transthyretin and LRP-1 in a rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 79, 127219.
- Verma, M., Howard, R.J. (2012 Dec). Semantic memory and language dysfunction in early Alzheimer's disease: a review. *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 27(12), 1209-17.
- Wan, W., Cao, L., Liu, L., Zhang, C., Kalionis, B., Tai, X., Li, Y., Xia, S. (2015 Jul). A β (1-42) oligomer-induced leakage in an in vitro blood-brain barrier model is associated with up-regulation of RAGE and metalloproteinases, and down-regulation of tight junction scaffold proteins. *Journal of Neurochemistry*. 134(2), 382-93.
- Wang, H., Chen, F., Du, Y.F., Long, Y., Reed, M.N., Hu, M. Suppiramaniam, V., Hong, H., Tang, S.S. (2018 Mar). Targeted inhibition of RAGE reduces amyloid- β influx across the blood-brain barrier and improves cognitive deficits in db/db mice. *Neuropharmacology*. 15(131), 143-153.
- Wang, Q., Huang, X., Su, Y., Yin, G., Wang, S., Yu, B., Li, H., Qi, J., Chen, H., Zeng, W., Zhang, K., Verkhratsky, A., Niu, J., Yi, C. (2022 Dec). Activation of Wnt/ β -catenin pathway mitigates blood-brain barrier dysfunction in Alzheimer's disease. *Brain*. 145(1), 4474-4488.
- Wang, S.Y., Liu, J.P., Ji, W.W., Chen, W.J., Fu, Q., Feng, L., Ma, S.P. (2014 Dec). Qifu-Yin attenuates AGEs-induced Alzheimer-like pathophysiological changes through the RAGE/NF- κ B pathway. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 12(12):920-8.
- Wang, Y., Wang, Q., Luo, D., Zhao, P., Zhong, S.S., Dai, B., Wang, J.J., Wan, Y.T., Liu, Z.B., Yang, H. (2023 May). Electroacupuncture Improves Blood-Brain Barrier and Hippocampal Neuroinflammation in SAMP8 Mice by Inhibiting HMGB1/TLR4 and RAGE/NADPH Signaling Pathways. *Chinese Journal of Integrative Medicine*. 29(5), 448-458
- Watson, P.M., Anderson, J.M., Vanltallie, C.M., Doctrow, S.R. (1991 Aug). The tight-junction-specific protein ZO-1 is a component of the human and rat blood-brain barriers. *Neuroscience Letters*. 129(1), 6-10.
- Weed, L. H. (1917). An anatomical consideration of the cerebro-spinal fluid. *The anatomical record*, 12(4), 461-496.
- Weed, L.H. (1917b). The development of the cerebrospinal fluid spaces in pig and in man. *Contributions in embryology*. 5, 3–116.
- Winkler, E.A., Sagare, A.P., Zlokovic, B.V. (2014 Jul). The pericyte: a forgotten cell type with important implications for Alzheimer's disease? *Brain Pathol*. 24(4), 371-86.
- Wirths, O., Weis, J., Szczygielski, J., Multhaup, G., Bayer, T.A. (2006 Apr). Axonopathy in an APP/PS1 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*. 111(4), 312-9.
- Xia, D., Watanabe, H., Wu, B., et al. (2015). Presenilin-1 Knockin Mice Reveal Loss-of-Function Mechanism for Familial Alzheimer's Disease. *Neuron*. 85, 967–981

- Xu, Q.Q., Yang, W., Zhong, M., Lin, Z.X., Gray, N.E., & Xian, Y.F. (2023). Animal models of Alzheimer's disease: preclinical insights and challenges. *Acta Materia Medica*. 2(2), 192-215.
- Yamazaki, Y., Shinohara, M., Shinohara, M., Yamazaki, A., Murray, M.E., Liesinger, A.M., Heckman, M.G., Lesser, E.R., Parisi, J.E., Petersen, R.C., Dickson, D.W., Kanekiyo, T., Bu, G. (2019 Apr). Selective loss of cortical endothelial tight junction proteins during Alzheimer's disease progression. *Brain*. 142(4), 1077-1092.
- Yan, S.D., Chen, X., Fu, J., Chen, M., Zhu, H., Roher, A., Slattery, T., Zhao, L., Nagashima, M., Morser, J., Migheli, A., Nawroth, P., Stern, D., Schmidt, A.M. (1996 Aug). RAGE and amyloid-beta peptide neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Nature*. 382(6593), 685-91.
- Yan, S.S., Chen, D., Yan, S., Guo, L., Du, H., Chen, J. X., (2012 Jan), RAGE is a key cellular target for A β -induced perturbation in Alzheimer's disease. *Frontiers in Bioscience-Scholar Edition*. 4(1):240-50.
- Yang, H.D., Kim, D.H., Lee, S.B., Young, L.D. (2016 Dec). History of Alzheimer's Disease. *Dementia and neurocognitive disorders*. 15(4), 115-121.
- Yildirim, C., Yar, Saglam, A.S., Guney, S., Turan, B., Ebegil, M., Coskun, Cevher, S., Balabanli, B. (2023 Apr). Investigation Covering the Effect of Boron plus Taurine Application on Protein Carbonyl and Advanced Oxidation Protein Products Levels in Experimental Alzheimer Model. *Biological Trace Element Research*. 201(4), 1905-1912.
- Yin, K.J., Cirrito, J.R., Yan, P., Hu, X., Xiao, Q., Pan, X., Bateman, R., Song, H., Hsu, F.F., Turk, J., Xu, J., Hsu, C.Y., Mills, J.C., Holtzman, D.M., Lee, J.M. (2006 Oct). Matrix metalloproteinases expressed by astrocytes mediate extracellular amyloid-beta peptide catabolism. *Journal Neuroscience*. 26(43), 10939-48.
- Yu, F., Zhang, Y., Chuang, D.M. (2012 Sep). Lithium reduces BACE1 overexpression, β amyloid accumulation, and spatial learning deficits in mice with traumatic brain injury. *Journal Neurotrauma*. 29(13), 2342-51.
- Zaragoza, R. (2020 Sep). Transport of Amino Acids Across the Blood-Brain Barrier. *Frontiers in Physiology*. 11, 973.
- Zeng, K., Ming, J., Yang, N., Wang, J., Yu, X., Song, Y., Yang, Y. (2014 Nov). Taurine prevents high glucose-induced angiotensin-2/tie-2 system alterations and apoptosis in retinal microvascular pericytes. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 396(1-2), 239-48.
- Zeng, K., Xu, H., Mi, M., Zhang, Q., Zhang, Y., Chen, K., Chen, F., Zhu, J., Yu, X. (2009 Feb). Dietary taurine supplementation prevents glial alterations in retina of diabetic rats. *Neurochemical Research*. 34(2), 244-54.
- Zhang, X., Wang, X., Zhang, J., Pan, X., Jiang, J., 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 (1), 119-130.

Zhao, Y., Gan, L., Ren, L., Lin, Y., Ma, C., Lin, X. (2022 Aug). Factors influencing the blood-brain barrier permeability. *Brain Research*. 1788, 147937.

Zhou, B., Zuo, Y.X., Jiang, R.T. (2019 Jun). Astrocyte morphology: Diversity, plasticity, and role in neurological diseases. *CNS Neuroscience and Therapeutics*. 25(6), 665-673.

Zheng, J., Zhang, J., Zhou, Y., Zhang, D., Guo, H., Li, B., Cui, S. (2024 May). Taurine Alleviates Experimental Colitis by Enhancing Intestinal Barrier Function and Inhibiting Inflammatory Response through TLR4/NF- κ B Signaling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 72(21), 12119-12129.

Zou, K., Gong, J. S., Yanagisawa, K., & Michikawa, M. (2002). A novel function of monomeric amyloid beta-protein serving as an antioxidant molecule against metal-induced oxidative damage. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(12), 4833–4841

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 01.06.2023-E.667897



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

Sayı : E-66332047-604.01.02-667897
Konu : Değerlendirme ve Onay

01.06.2023

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

Daha önce 05.05.2023 tarih ve E.648981 sayılı yazımız ile onay alan, araştırmacı grubu Sibel DİNÇER, İlayda NUMANOĞLU, Burak KAYABAŞI, Çisem YEŞİL KAYABAŞI ve Zeynep YİĞMAN'dan oluşan G.Ü.ET-23.043 kod numaralı ve "*Intraserebroventriküler Amiloid Beta 1-42 Uygulanan Sıçanlarda Taurin'in Bilişsel Fonksiyonlar ve Kan Beyin Bariyeri Disfonksiyonu Üzerine Etkisi*" başlıklı araştırma önerisi ile ilgili alınan 15.05.2023 tarihli dilekçeniz Kurulumuzun 26.05.2023 tarih ve 05 sayılı toplantısında incelenmiş olup,

Çalışmanın immünohistokimyasal analiz için her deney grubundan tek beyin hemisferinde gerçekleştirilmesi, diğer beyin hemisferinden ilgili belirteçlerin Western Blot ile değerlendirilmesine karar verilmesi nedeniyle, bu değişikliğin immünohistokimyasal analiz sonucunda istatistiksel değerlendirmeye uygun bir sonuca ulaşmak ile mümkün olduğu, bu kapsamda deney gruplarındaki hayvan sayısında bir değişiklik talep edilmediği yalnızca immünohistokimyasal çalışmanın uygulandığı hayvan sayısında bir değişiklik yapılması ile ilgili talebinizin uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiş olup, karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa ARSLAN
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 26/05/2023		TOPLANTI SAYISI : 05	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Mustafa ARSLAN (Başkan)			
Prof.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.İlker ŞEN			
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Prof.Dr.İpek SÜNTAR			
Prof.Dr.Serkan YAVUZ			
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER			
Prof.Dr.Fatma Gökçe APAYDIN			
Doç.Dr.Elvan ANADOL			
Doç.Dr.Yeliz KILINÇ			
Doç.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN			
Doç.Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ			
Dr.Öğr.Üyesi Şevki Mustafa DEMİRÖZ			
Dr.Öğr.Üyesi Sühan GÜRBÜZ			
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep YIĞMAN			
Dr.Öğr.Üyesi Nur Banu BAL			
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Öğr.Gör.Dr. Beyza AYDOĞAN			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ			

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Numanoglu İlayda
Uyruğu :T.C.

Eğitim Derecesi

Yüksek Lisans

Mezuniyet Tarihi

Devam ediyor

Lisans

Eğitim Birimi

Gazi Üniversitesi/ Fizyoloji
 Anabilim Dalı

02.07.2020

Lise

Başkent Üniversitesi/Fizyoterapi Ve
 Rehabilitasyon

17.06.2016

İş Deneyimi Yıl

09.2022-12.2022

Zonguldak İMKB Anadolu Lisesi

Yer

Akademik Gelişim Özel Eğitim ve
 Rehabilitasyon Merkezi

Görev

Fizyoterapist

Yabancı Dil B2

İngilizce A1

Almanca

Yayınlar

Araştırmacı Öğrenci Olarak Görev Alınan Projeler

Acta Physiologica, Volume 240, Issue S730 Special Issue: Turkish Society of Physiological Sciences, 48th Turkish Physiology Congress, 1–4 November 2023, Sakarya University, Türkiye, January 2024

İntrahipokampal Amiloid Beta 1-42 Enjeksiyonu ile İndüklenen Apoptotik ve Nörodejeneratif Süreçte Taurin'in Clusterin ve Sestrin Ekspresyonları üzerine Etkisi
Nida Aslan Karakelle¹, Burak Kayabaşı², İlayda Numanoğlu², Sibel Dinçer²

¹Lokman Hekim Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Poster Bildiriler

Numanoğlu, İ., Kayabaşı, B., & Dincer, S., (2024). Does Taurine Prevent Blood Brain Barrier Impairment in Rats Administered with Intracerebroventricular Amyloid Beta 1-42 Injection? Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 49. Ulusal Fizyoloji Kongresi/Turkish Society of Physiological Sciences, 49th Turkish Physiology Congress (pp.95). İzmir, Turkey

Hobiler

Fitness

Kutu Oyunları (Board Game)



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

