

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOFİZİK**  
**DOKTORA PROGRAMI**

**BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR (BDNF)**  
**HETEROZİGOT FAREDE YÜKSEK KOLESTEROLLÜ**  
**DİYETİN DAVRANIŞ VE NÖROKİMYASAL ETKİLERİ**

**HATİCE KESER**  
**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Dr. Öğr. Üyesi Özlem BOZKURT GİRİT**

**II.DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. İsmail ABİDİN**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-19016 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2022**

## KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı Doktora Programı Hatice KESER tarafından hazırlanan “Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) heterozigot farede yüksek kolesterolü diyetin davranış ve nörokimyasal etkileri” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 13/12/2021

Üye (T.D.)	: Dr. Öğr. Üyesi Özlem BOZKURT GİRİT	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Selcen ABİDİN	Karadeniz Teknik Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Gizem DÖNMEZ YALÇIN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Doç. Dr. Deniz AKPINAR	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

### ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ..... tarih ve ..... sayılı oturumunda alınan ..... nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü V.

## TEŞEKKÜR

Doktora tez çalıőmamda ilgi, yardım ve hoőgörösünü esirgemeyen danıőmanım Dr. Öğr. Üyesi Özlem Bozkurt Girit ve eő danıőmanım Prof. Dr. İsmail Abidin'e çok teşekkür ederim. Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakóltesi Temel Tıp Bilimleri Biyofizik Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mehmet Dinçer Bilgin'e ve KTÜ Tıp Fakóltesi Temel Tıp Bilimleri Biyofizik Ana Bilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Selcen Aydın Abidin'e ve Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakóltesi Temel Tıp Bilimleri Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Gizem Dönmez Yalçın'a teőekkürü bir borç bilirim.

Tez çalıőmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için babam Hamza Keser'e, annem Emine Keser'e, kardeőlerim Hasan Erinç Keser ve İbrahim Erdel Keser'e ayrıca teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ .....	xii
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Kolesterol .....	4
2.1.1. Diyetle Alınan Kolesterol ve Etkileri .....	6
2.1.2. Kolesterol ve Beyin .....	6
2.1.2.1. Gerekliliği ve Fizyolojik Önemi.....	6
2.1.2.2. Fazla Kolesterolün Zararlı Etkileri .....	10
2.2. BDNF ve Trk B Sinyal Yolağı .....	11
2.2.1. Bir nöroprotektif peptit olarak BDNF .....	14
2.2.2. BDNF Heterozigot Fare Modeli .....	14
2.2.3. Kolesterol ve Trk B İlişkisi .....	15
2.3. Olası Nörokimyasal Etkiler .....	18
2.3.1. Oksidatif Stres .....	18
2.3.2. Nöroinflamasyon .....	20
2.3.3. Sinaptik Proteinler .....	23
2.4. Motor Korteks ve Davranış Modelleri .....	27
2.4.1. Deney hayvanlarında duysal-motor davranış testleri .....	31
2.5. Elektrokortikografi ve Beyin Dalgaları .....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	37
3.1. Gereç.....	37
3.1.1. Cihaz ve Malzemeler .....	37
3.1.2. Kimyasal Maddeler .....	38

3.1.3. Kitler.....	39
3.1.4. Deney Hayvanları.....	40
3.2. Yöntem.....	40
3.2.1. Genotiplendirme.....	41
3.2.2. Davranış testleri.....	43
3.2.2.1. Silindir testi (cylinder test).....	44
3.2.2.2. Telde asılı kalma testi (hang wire test).....	44
3.2.2.3. Yapışkandan kurtulma testi (adhesive removal test).....	44
3.2.3. Biyokimyasal İncelemeler.....	45
3.2.3.1. Homojenizasyon.....	45
3.2.3.2. Protein miktarı tayini.....	46
3.2.3.3. ELİSA Ölçümleri.....	47
3.2.3.4. Oksidatif Stres Parametreleri Ölçümleri.....	50
3.2.4. İkinci Aşamada Gerçekleştirilen Elektrofizyolojik İncelemeler.....	52
3.2.4. İstatiksel Analiz.....	56
4. BULGULAR.....	58
4.1. Ağırlık Değişimi.....	58
4.2. Davranış Deneyleri.....	59
4.3. Oksidatif Stres Parametreleri.....	60
4.4. Nöroinflamasyon İşaretçileri.....	62
4.5. Sinaptik Protein Miktarı.....	62
4.6. Elektrofizyolojik Kayıt Analizi.....	63
5. TARTIŞMA.....	66
5.1. Vücut ağırlıkları.....	67
5.2. Davranış deneyleri.....	67
5.3. Nöroinflamasyon ve Oksidatif Stres.....	70
5.4. Sinaptik Proteinler.....	72
5.5. Uyarılabilirlik ve ECoG.....	73
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	76
KAYNAKLAR.....	78
EKLER.....	103
Ek 1 KTÜ HADYEK-1.....	103
Ek 2 KTÜ HADYEK-2.....	104
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	105

ÖZ GEÇMİŞ .....	106
-----------------	-----

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>24S-OHC</b>	: 24S hidroksikolesterol
<b>27OHC</b>	: 27-hidroksikolesterol
<b>ABCA1</b>	: ATP bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcıları ABC alt ailesi A, üye 1
<b>ABCG1</b>	: ATP bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcıları ABC alt ailesi G, üye 1
<b>AMPA</b>	: $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit
<b>ApoE</b>	: Apolipoprotein E
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>A<math>\beta</math></b>	: Amiloid beta peptid
<b>BBB</b>	: Kan-beyin bariyeri
<b>BCA</b>	: Bisinkoninik asit
<b>BDNF</b>	: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
<b>BSA</b>	: Sığır serum albumini
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CoA</b>	: Koenzim A
<b>CPG</b>	: Merkezi model üretici
<b>CuZnSOD</b>	: Bakır ve çinko içeren süperoksit dismutaz formu
<b>CYP46A1</b>	: Kolesterol 24-hidroksilaz
<b>DLG-4</b>	: Discs large homolog 4
<b>DNA</b>	: Deoksiribo nükleik asit
<b>ECoG</b>	: Elektrokortikografi
<b>ECSOD</b>	: Ekstrasellüler matrikste bakır ve çinko içeren süperoksit dismutaz formu
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin tetraasetik asit
<b>ELISA</b>	: Enzyme-linked immunosorbent assay
<b>ER</b>	: Endoplazmik retikulumda

<b>FeSOD</b>	: Demir içeren süperoksit dismutaz formu
<b>FLISA</b>	: Flüoresans bağlantılı immünosorban analizi
<b>GABA</b>	: Gama aminobütirik asit
<b>GABAA</b>	: GABA alt tipi A
<b>GPX</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>HDL</b>	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
<b>HMG CoA</b>	: 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA
<b>HRP</b>	: Yaban turpu peroksidaz
<b>IDL</b>	: Orta yoğunluklu lipoprotein
<b>IL-1</b>	: İnterlökin 1
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	: İnterlökin1 $\beta$
<b>IL-4</b>	: İnterlökin-4
<b>IPSP</b>	: İnhibitör postsinaptik potansiyel
<b>IVC</b>	: Havalandırmalı fare kafesi
<b>LDL</b>	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
<b>LDLR</b>	: Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü
<b>LFP</b>	: Yerel alan potansiyeli
<b>LTP</b>	: Uzun süreli güçlenme (potansiyasyon)
<b>LXR</b>	: Karaciğer X reseptörleri
<b>MAPK</b>	: Mitojenle aktive olan protein kinaz
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MEG</b>	: Manyetoenselografi
<b>MnSOD</b>	: Manganez içeren süperoksit dismutaz formu
<b>MSS</b>	: Merkezi sinir sistemi
<b>NF-K<math>\beta</math></b>	: Nükleer faktör kappa B
<b>NGF</b>	: Nörotrofin sinir büyüme faktörü



<b>NMDA</b>	: N-metil-D-aspartat
<b>NMDAR</b>	: N-metil D-aspartat reseptörü
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NPC1L1</b>	: Niemann-Pick C1-Like 1
<b>PCR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>PI3K</b>	: Fosfotidilinositol-3-kinaz
<b>PLC<math>\gamma</math></b>	: Fosfolipaz C- $\gamma$
<b>PSD</b>	: Postsinaptik yoğunluk
<b>PSD-95</b>	: Postsinaptik yoğunluk proteini-95
<b>PUFA</b>	: Çoklu doymamış yağ asitleri
<b>RNS</b>	: Reaktif nitrojen türleri
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>RS</b>	: Reaktif türler
<b>SD</b>	: Standart fare diyeti
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>SR-BI</b>	: Süpürücü (scavenger) reseptörü B tipi I
<b>SYP</b>	: Sinaptofizin
<b>TBA</b>	: Tiyobarbitürik asit
<b>TNF</b>	: Tümör nekroz faktörü
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktörü alfa
<b>TrkB</b>	: Tirozin kinaz reseptörü B
<b>TrkBFL</b>	: Tam boy TrkB reseptörü
<b>UV</b>	: Ultraviyole, mor ötesi
<b>VLDL</b>	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
<b>WT</b>	: Wild type- doğal fenotip
<b>YKD</b>	: Yüksek kolesterollü diyet

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kolesterol yapısı .....	4
Şekil 2. Endojen ve eksojen kolesterol döngüsü .....	5
Şekil 3. Beyinde kolesterol homeostazı .....	9
Şekil 4. BDNF-TrkB sinyal yolağı.....	12
Şekil 5. Yaşlılıkta TrkB-kolesterol ilişkisi .....	16
Şekil 6. Kimyasal sinaps .....	24
Şekil 7. Duysal ve istemli hareket ile ilgili yollar .....	28
Şekil 8. EEG kaydı ile piramidal hücrelerin elektriksel aktivitesinin izlenmesi.....	34
Şekil 9. Protein miktarı standart grafiğı .....	47
Şekil 10. ELISA standart grafikleri A) IL-6 standart grafiğı, B) TNF- $\alpha$ standart grafiğı, C) SYP grafiğı, D) PSD-95 standart grafiğı.....	50
Şekil 11. MDA standart grafiğı .....	51
Şekil 12. SOD standart grafiğı .....	52
Şekil 13. ECoG kayıt alımı A) ECoG kaydı, B) 1 dakikalık ECoG kaydı, C) 1 saniyelik ECoG kaydı, D) Güç spektrumu .....	56
Şekil 14. Deney gruplarında yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun vücut ağırlıkları üzerindeki etkileri .....	58
Şekil 15. Yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun davranışsal performanslar üzerindeki etkileri. A) Silindir testinde temas sayısı, B) Telde asılı kalma testinde tutma süresi, C) Yapışkan çıkarma testinde yapışkana ilk temas süresi, D) İlk yapışkanı çıkarma süresi, E) İkinci yapışkanı çıkarma çıkarma süresi.....	60
Şekil 16. Yüksek kolesterol ve BDNF heterozigotluğunun oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkileri. A) MDA seviyelerindeki değişiklikler, B) SOD aktivitesindeki değişiklikler, C) Gruplar arasında CAT aktivitesindeki değişiklikler.....	61
Şekil 17. Yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun nöroinflamasyon üzerindeki etkileri. A) Grupların korteksindeki IL-6 $\beta$ seviyeleri, B) Grupların korteksindeki TNF $\alpha$ seviyeleri.....	62
Şekil 18. Deney gruplarında yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun sinaptik protein seviyelerine etkileri. A) SYP protein seviyeleri, B) PSD-95 protein seviyeleri .....	63

- Şekil 19.** Deney gruplarında yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun toplam güce etkisi.....64
- Şekil 20.** Yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun beyin dalgaları mutlak gücü üzerindeki etkileri. A) Delta dalgası , B) Teta dalgası, C) Alfa dalgası, D) Beta dalgası, E) Gama dalgası..... 65

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> PCR işlemi sonrası yürütülen jelde gözlenen BDNF ve Neomisin bantları .....	43
<b>Resim 2.</b> Davranış testleri A) Silindir testi B) Telde asılı kalma testi .....	44
<b>Resim 3.</b> Yapışkandan kurtulma testi.....	45
<b>Resim 4.</b> Protein miktarı tayini .....	46
<b>Resim 5.</b> Stereotaksik yöntemle elektrot yerlerinin belirlenmesi .....	53
<b>Resim 6.</b> Amplifikatör (A-M Systems).....	54

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Cihaz ve malzemeler .....	37
<b>Tablo 2.</b> Kimyasallar.....	38
<b>Tablo 3.</b> Kitler.....	40
<b>Tablo 4.</b> Primerler .....	42
<b>Tablo 5.</b> PCR karışım içeriği .....	42
<b>Tablo 6.</b> PCR prosedürü.....	42

## ÖZET

### BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR (BDNF) HETEROZİGOT FAREDE YÜKSEK KOLESTEROLLÜ DİYETİN DAVRANIŞ VE NÖROKİMYASAL ETKİLERİ

**Keser H. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2021.**

**Amaç:** Kolesterol, hücre fonksiyonu için önemli ve beyinde de-novo sentezlenen bir moleküldür. Yüksek kolesterolü diyetin, nöroinflamasyonu ve oksidatif stresi artırarak nörodejenerasyonu tetiklediği önerilmektedir. Bireysel genotipik farklılıklar, beyindeki bu değişikliklere diyetin etkisinin belirlenmesinde önemli olabilir. Çalışmanın amacı, yüksek kolesterolü beslenmenin beyinde yol açtığı hasarlara karşı BDNF'nin koruyucu bir etkisinin olup olmadığının davranışsal, biyokimyasal ve elektrofizyolojik yöntemlerle araştırılmasıdır. Çalışmanın bulguları, BDNF-Trk-B yolağına ilişkin tedavi amaçlı çalışmalara yol gösterici niteliktedir.

**Gereç ve Yöntem:** 20-25 g erkek C57BL/6 cinsi fareler, kontrol diyetiyle beslenen doğal fenotip (CD:WT), kontrol diyetiyle beslenen BDNF heterozigot (CD:HT), yüksek kolesterol diyetiyle beslenen doğal fenotip (HCD:WT) ve yüksek kolesterol diyetiyle beslenen BDNF heterozigot (HCD:HT) olmak üzere dört gruba ayrıldı. 16 hafta süreyle ad libitum diyet uygulandıktan sonra, kortikal duyu-motor fonksiyonlarını test etmek için silindir testi, tel asılı kalma testi, yapışkan çıkarma testi yapıldı. Ayrıca gruplara ait korteks homojenatlarında sinaptofizin, PSD-95, tümör nekroz faktörü-alfa, interlökin-6 seviyeleri ile MDA, SOD ve CAT oksidatif stres parametreleri ölçüldü. Buna ek olarak, 6 hafta boyunca aynı diyet protokolü uygulanarak elektrokortikografi kayıtları alındı.

**Bulgular:** Yüksek kolesterol diyeti, CD:WT ve HCD:WT grupları arasında oksidatif stresi, CD:HT ve HCD:HT grupları arasında nöroinflamasyonu önemli ölçüde etkiledi. Ayrıca, genotip farklılıklar davranışsal performans değişiklikleri sağlamıştır. Hem diyet hem de genotip, HCD:WT ve CD:HT grupları arasında sinaptofizin miktarlarını azalttı. Elektrofizyolojik kayıtlarda heterozigotluk normal diyetle beslenen hayvanlarda gücü

düşürmüştür. İlginç bir şekilde WT hayvanların aksine HT hayvanlarında yüksek kolesterol ile beslenme mutlak gücü artırma eğilimindedir.

**Sonuç:** Endojen BDNF seviyeleri, beyinde yüksek kolesterolü diyetin neden olduğu inflamasyon ve sonrasında beklenen fonksiyon kaybında belirleyici olabilir.

**Anahtar kelimeler:** BDNF, Duyusal-Motor Fonksiyonları, Elektrokortikografi, Nöroinflamasyon, Oksidatif Stres, Yüksek Kolesterolü Diyet.

## ABSTRACT

### BEHAVIORAL AND NEUROCHEMICAL EFFECTS OF HIGH CHOLESTEROL DIET ON BRAIN DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF) HETEROZYGOUS MICE

**Keser H. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Biophysics Program, Doctorate Thesis, Aydın, 2021.**

**Objective:** Cholesterol is an molecule molecule for cellular functioning, which is synthesized de-novo in the brain. A high cholesterol diet has been suggested to trigger neurodegeneration by increasing neuroinflammation and oxidative stress. In addition, individual genotypic differences may be important in determining the effect of diet on these changes in the brain. The aim of the study is to investigate the possible protective effects of BDNF against high cholesterol diet-induced damages by behavioral, biochemical and electrophysiological methods. The findings of the study have the potential to lead future therapeutic studies on the BDNF-Trk-B pathway.

**Material and Methods:** 20-25 g male C57BL/6 mice were divided into four groups as control diet fed wild type (CD:WT), control diet fed BDNF heterozygous (CD:HT), high cholesterol diet fed wild type (HCD:WT) and high cholesterol diet fed BDNF heterozygous (HCD:HT). After the ad libitum diet procedure applied for 16 weeks, cylinder test, hang wire test and adhesive removal test were performed to test cortical sensory-motor functions. In addition, synaptophysin, PSD-95, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6 levels together with the oxidative stress parameters of MDA, SOD and CAT were measured from the cortical homogenates. Furthermore, same diet procedure was applied for 6 weeks and electrocorticography recordings were taken.

**Results:** High cholesterol diet significantly affected oxidative stress among CD:WT and HCD:WT groups, and neuroinflammation among CD:HT and HCD:HT groups. In addition, genotype differences resulted in behavioral performance changes. Both diet and genotype reduced synaptophysin amounts among the HCD:WT and CD:HT groups. In electrophysiological recordings, heterozygosity decreased the potency in the animals fed with



a normal diet. Interestingly, feeding with high cholesterol tends to increase absolute potency in HT animals in contrast to WT animals.

**Conclusion:** Endogenous BDNF levels may be indicative of the inflammation and subsequent loss of function in the brain caused by high cholesterol diet.

**Keywords:**

BDNF, Electrocorticography, High Cholesterol Diet, Neuroinflammation, Oxidative Stress, Sensory-Motor Functions.

# 1. GİRİŞ

Kolesterol, membran yapılarında bulunan önemli bir biyolojik lipittir. Kanda serbest ve ester halde bulunur. Kolesterol arteriyal plak oluşumuna neden olan lipidlerden biridir. Yüksek plazma kolesterol seviyeleri aterosklerotik plak yaygınlığına neden olmakta ve kardiyovasküler risk faktörünü artırmaktadır (Jaguszewski ve diğerleri, 2013; Libby ve Plutzky, 2000). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler, ağırlıklı olarak düşük fiziksel aktiviteyle birlikte kalori ve yağ içeriği yüksek gıda alımı yönünde gerçekleşen yaşam tarzı değişiklikleri ile bunlarla ilişkili kolesterol bozukluklarında düzenli bir artışa tanık olmuştur (Colagiuri ve diğerleri, 2010; Miller ve diğerleri, 2015). Kolesterol bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar, obezite, diyabet, hipertansiyon ve hepatik steatoz insidansı ile ilişkili olabileceklerinden morbidite ve mortalitenin başlıca nedenleri olabilir (Abdel-Sattar ve diğerleri, 2011). Bununla birlikte kolesterol, insan beyninin önemli bir bileşenidir ve beyin, kolesterol yönünden en zengin organdır. Beyinde çok sayıda lipoprotein reseptörü ve apolipoprotein eksprese edilir. Kolesterol, beyin hücrelerinde sıkı bir şekilde düzenlenir ve normal beyin gelişimi için gereklidir. Kolesterol metabolizmasındaki kusurlar yapısal ve fonksiyonel merkezi sinir sistemi hastalıklarına yol açar (Orth ve Bellosta, 2012a). Bu nedenle beyin kolesterol etkileri açısından, kolesterol ile ilişkili hastalıklarda ilk akla gelen karaciğer, kalp vb. organlardan farklı ele alınmalıdır. Kolesterol, oluşumu, şekli ve salınım özellikleri bakımından, kolesterol içeriği ile kontrol edilen sinaptik veziküllerin ana bileşenidir (Segatto ve diğerleri, 2014). Post sinaptik tarafta, kolesterolün nörotransmitter reseptörlerinin doğru konumlanmasında önemli bir rolü vardır. Bu nedenle, postsinaptik yüzeyde daha az miktarda kolesterol nörotransmisyonu bozabilir ve dendrit dikenleri ve sinapslarının kaybına neden olabilir (Sooksawate ve Simmonds, 2001). Biyolojik membranların yapısında bulunmasına ve beyinde pek çok fizyolojik fonksiyon için gerekli olmasına karşın, kolesterol yüksek konsantrasyonlarda nöroinflamasyonu artırır ve sinir fonksiyonlarına zararlı etkileri vardır. Beyindeki kolesterolün büyük bölümü yine beyinde sentezlenir ve periferik kolesterolden kan beyin bariyeri ile ayrılır. Fakat diyetle alınan kolesterol merkezi sinir sistemi metabolizmasını yine de etkiler. Diyetle alınan kolesterolün metabolitleri olan 24-hidroksikolesterol ve 27-hidroksikolesterol gibi yan zincirler kan beyin bariyerini geçebilirler ve nöroinflamasyonda rol oynarlar (Gamba ve diğerleri, 2015; Testa ve diğerleri, 2016).

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), merkezi sinir sisteminde nöronal gelişme, farklılaşma, morfolojik değişiklikler gibi nörotrofik rollerinin yanında hasardan sonra koruyucu ve rejeneratif etkileri kolaylaştırabilen bir faktördür. Çalışmalar, memeli merkezi sinir sisteminde geniş BDNF dağılımı olduğunu ve BDNF'ün normal gelişimsel ve bilişsel süreçlerle yakın ilişkileri olduğunu göstermiştir. BDNF eksikliği sinaptik dejenerasyona yol açar ve artmış BDNF seviyeleri klinik öncesi modellerde sinaptik onarımı destekleyebilir. BDNF seviyelerindeki değişiklikler nörodejeneratif bozukluklar (Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı ve epilepsi dahil), nöropsikiyatrik bozukluklar (depresyon, anksiyete bozuklukları, bipolar bozukluklar, şizofreni ve bağımlılık dahil) ve obezite ile ilişkilidir. Hayvan modellerinde BDNF'ün, spinal motor nöronların ve kortikospinal motor nöronların lezyonla oluşturulan dejenerasyonunu önlediği gösterilmiştir. Nöronal rollerinin yanında BDNF'ün sinir sistemi için zararlı nörodejeneratif ve nörotoksik olaylarda koruyucu etkisi vardır. BDNF'ün oksidatif stres, inflamasyon, nöronal apoptozu engelleyici yönde etkileri olduğu gösterilmiştir (A. Chen ve diğerleri, 2013).

Literatürde BDNF'ün nörolojik fonksiyonları pek çok deneysel ve klinik çalışma ile incelenmiştir. Ancak BDNF, insan popülasyonunda ekspresyon ve serum konsantrasyonları arasında büyük farklılıklar gösterir (Iughetti ve diğerleri, 2011). Nöronal adaptif süreçlerdeki etkileri gözönüne alındığında, BDNF'ün diyet gibi çevresel bir faktörün beyindeki etkisinin şekillenmesinde genetik bir faktör olabileceği düşünülmüştür.

BDNF etkilerinin incelendiği pek çok deneysel yaklaşım olmasına rağmen, yüksek kolesterollü diyetin farklı BDNF konsantrasyonlarında beyinde nasıl etkileri olacağı konusunda BDNF'nin fizyolojik rolünü daha iyi ortaya koyabilecek, elde edilen sonuçların translasyonel tıp ile daha sağlıklı ilişkilendirilebilecek nitelikte çalışmalar literatürde yetersizdir.

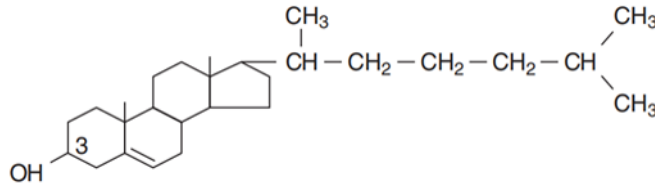
Çalışmanın amacı, yüksek kolesterollü beslenmenin beyinde yol açtığı hasarlara karşı BDNF'nin koruyucu bir etkisinin olup olmadığının araştırılmasıdır. Bunun için BDNF ekspresyonunun beyinde yaklaşık %50 oranında azaldığı BDNF heterozigot fare modeli kullanılmıştır. BDNF homozigot (+/+) ve BDNF heterozigot transgenik (+/-) fareler yüksek kolesterollü diyetle beslenerek beyindeki değişiklikler biyokimyasal, davranışsal ve elektrofizyolojik yöntemler ile gözlenmiş ve gözlemler ışığında kognitif ve davranış bozuklukları gelişiminde BDNF ve yüksek kolesterollü diyetin ilişkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, BDNF ekspresyonunun merkezi sinir sisteminde yüksek kolesterol kaynaklı hasarın modülasyonuna katkıda bulunan endojen bir faktör olabileceği sonucu

açısından önemli olup BDNF-Trk-B yolağına ilişkin tedavi amaçlı ileriki çalışmalara yol gösterici nitelikte olacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kolesterol

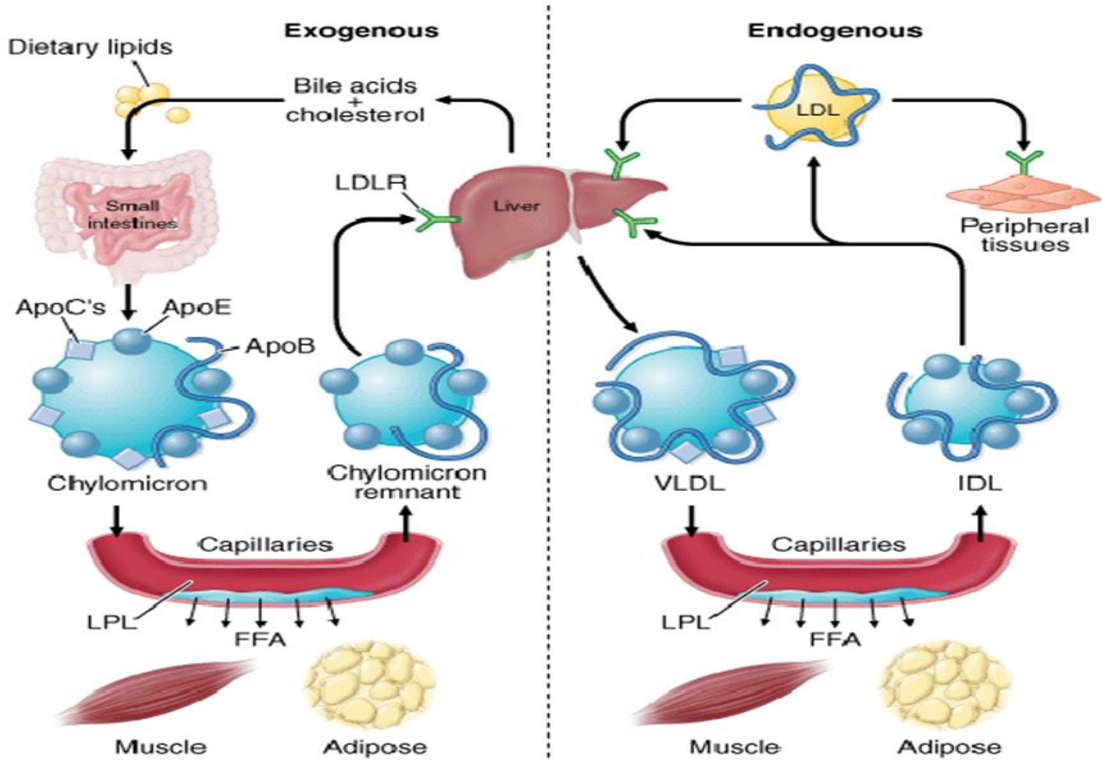
Kolesterol, tüm hayvan hücre zarlarının temel bir bileşenidir ve yağda çözünen vitaminlerin ve kortizol, estradiol, progesteron ve testosteron gibi steroid hormonların ve safra asitlerinin sentezi için gereklidir. Kolesterol suda çözünmez, plazmada lipoprotein partiküllerinde taşınır. Kolesterol, bağırsaktan sentezlenir veya emilir. Yetişkinler günde yaklaşık 100 mg kolesterol sentezler. Karaciğer kolesterolün yaklaşık %25'ini sentezler; beyin, üreme organları, böbrek üstü bezleri ve bağırsaklar da yüksek kolesterol sentezi oranlarına sahiptir. Kolesterol, asetil CoA (koenzim A) ve asetoasetil-CoA'dan birçok basamak yoluyla sentezlenir. Kolesterol sentezindeki hız sınırlayıcı adım, statinlerin hedefi olan 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA (HMG CoA) redüktaz tarafından mevalonata indirgenmesidir. Mevalonatın aşağı akış metabolitleri, statinlerin bazı olumsuz etkileriyle ilişkilendirilen birkaç biyoaktif molekül içerir (Robinson, 2021).



**Şekil 1.** Kolesterol yapısı (Semenkovich ve Goldberg, 2021)

Plazma zarındaki kolesterol (Şekil 1), zarın akışkanlığını korumak için kritik öneme sahiptir. Ayrıca sinyal iletimine aracılık eden plazma membran alanları olarak düzenlenmiş lipid sallarını birleştirmek için de gereklidir (Stone ve diğerleri, 2017). Kolesterol konsantrasyonu, plazma zarında çoğu hücre içi organellerin zarlarına göre daha yüksek seviyededir. Kolesterol eksikliği, muhtemelen Hedgehog sinyal iletim yolunun bozulmasından kaynaklanan nadir Smith-Lemli-Opitz sendromunda ortaya çıktığı gibi, ciddi gelişimsel kusurlarla ilişkilidir (Cooper ve diğerleri, 2003). Kolesterol fazlalığı safra taşı ve damar hastalığı ile bağlantılıdır.

Kolesterolün biyofiziksel özellikleri ve kolesterol metabolizmasının enzimolojisi, hücrelerin kolesterolü nasıl tuttukları ve birbirleriyle nasıl değiştikleri için temel oluşturur (Ikonen, 2008). Kolesterol, hücresel membranların, miyelinin, oksisterol öncüllerinin, steroid hormonların ve safra asitlerinin önemli bir yapısal bileşenidir. Serbest kolesterol, kolesterol esterleri oluşturarak veya çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), trigliseritler ve apolipoproteinler ile bir araya getirilerek karaciğerde depolanabilir ve ardından kan dolaşımına salgılanır (Şekil 2). Kandaki dolaşımda, VLDL trigliserid içeriğini lipoprotein lipaz ve hepatik lipaz ile kaybeder ve orta yoğunluklu lipoprotein (IDL), ardından düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ile dönüştürülür (Hussain, 2014). LDL'deki artış kardiyovasküler hastalık riski üzerinde önemli bir etkiye sahiptir, çünkü yüksek LDL plazmasındaki artış aterosklerotik plak oluşumunu destekleyen mekanizmalara sahiptir (Gould ve diğerleri, 2007). Ateroskleroz, arter duvarını tutan ve büyük arterlerin intimaları içindeki lipidlerin ve inflamatuvar hücrelerin ilerleyen birikimi ile karakterize enflamatuvar bir hastalıktır (Badimón ve diğerleri, 2009). İlk evre, kan damarlarının en iç tabakasından lipidlerin (LDL'ler) içe alınmasıyla birlikte endotel aktivasyonu/disfonksiyonudur (Mehta, 2006).



Şekil 2. Endojen ve eksojen kolesterol döngüsü (Rader ve Kathiresan, 2018)

### **2.1.1. Diyetle Alınan Kolesterol ve Etkileri**

Yetişkinlerde, birçok doku kolesterol sentezi yapabildiğinden diyet kolesterolü gerekli değildir. Çoğu diyet, kolesterol kaynağı olan hayvansal ürünleri içerir. Bitkilerde kolesterol yoktur, ancak zırları, yapısal olarak kolesterole benzeyen ve emilim için kolesterol ile rekabet eden hiperkolesteroleminin diyet tedavisinde yararlı olan fitosteroller içerir. Karaciğer ve bağırsak, kantitatif olarak insanlarda kolesterol metabolizması için en önemli bölgelerdir, ancak cildin normal döngüsü yoluyla çok az miktarda kolesterol de kaybedilir (Semenkovich ve Goldberg, 2021).

Diyet ile günde 300 ila 500 mg kolesterol alınır. Safra asitleri, günlük kolesterolün yaklaşık üçte ikisini (800 ila 1200 mg) sağlar. Esterleştirilmemiş kolesterol, karaciğerde safra asitlerinden salgılanır. Safra asitleri safra kesesinde depolanır ve ince bağırsağa salgılanır, burada diyet yağlarını çözer ve yağ asidi, lipid ve yağda çözünen vitamin emilimini artırır. Safra asitleri büyük ölçüde distal ileumdan emilir ve enterohepatik dolaşım yoluyla karaciğere geri taşınır. Bağırsakta parçalanan diyet yağları ve hayvansal ürünler ve bileşenler, kolesterol ester ve trigliseritlere yeniden esterleştirildikleri enterositlere taşınır. Kolesterol, ezetimib ile inhibe edilebilen Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) reseptörü aracılığıyla bağırsaktan emilir (Robinson, 2021)

### **2.1.2. Kolesterol ve Beyin**

#### **2.1.2.1. Gerekliliği ve Fizyolojik Önemi**

Kolesterol, insan beyninin başlıca bileşenlerinden biridir (Orth ve Bellosta, 2012b). İnsan beyni tüm vücut kütleinin sadece %2'sini oluşturmasına rağmen, esterlenmemiş kolesterol havuzunun dörtte birini barındırır ve bu onu vücutta kolesterol açısından en zengin organ (~23 mg/g doku) yapar (Dietschy ve Turley, 2004). Erişkin beyninde kolesterol havuzunun önemli bir kısmı, beyaz madde liflerinin miyelininde yoğunlaşır. Bu, toplam havuzun %70'ine kadarına (40 mg/g) (Russell ve diğerleri, 2009) denk gelir, diğer kısmı ise nöronların ve glianın plazma membranında bulunur (Dietschy ve Turley, 2004; Orth ve Bellosta, 2012b).

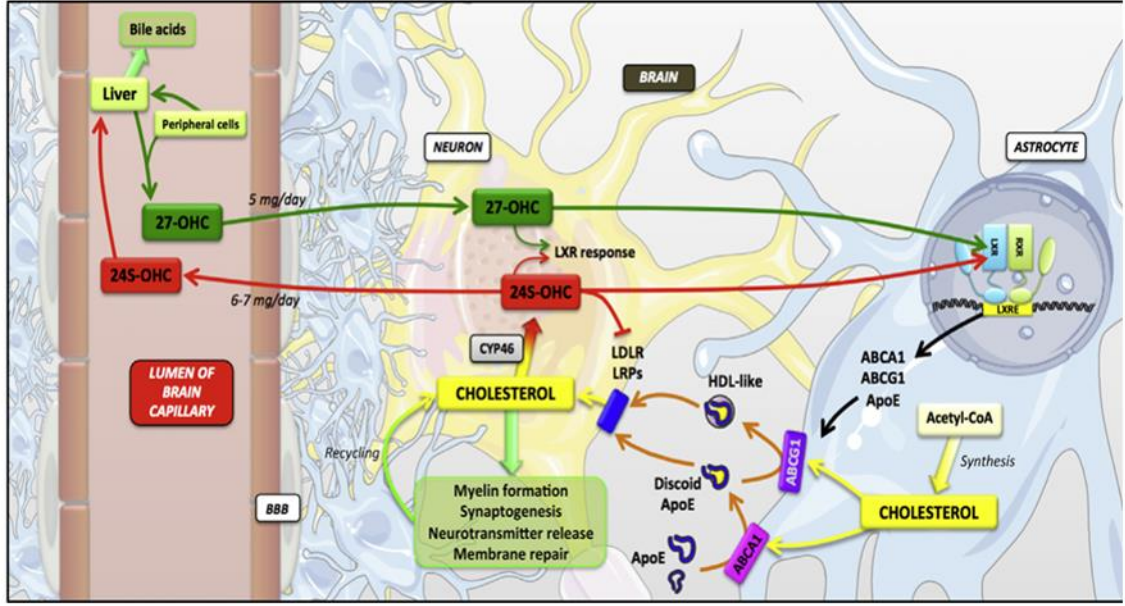
Merkezi sinir sisteminde (MSS) kolesterol lokal olarak sentezlenir ve beyin kolesterol metabolizması periferik kolesterol metabolizmasından kan-beyin bariyeri (BBB) ile büyük ölçüde ayrılır. Kolesterol sentezi ve klirensi, az bir miktarda kolesterol döngüsüne izin veren homeostatik bir sistem ile düzenlenmiştir. Gelişim sırasında, özellikle miyelinogenez sırasında, hem astrositler hem de nöronlar, yüksek miktarda kolesterol üretir; bununla birlikte nöronlar, beyin olgunlaştıkça kolesterol sentez mekanizmasında yer alan birçok genin ekspresyonunu azaltır (Vitali ve diğerleri, 2014). Yetişkin nöronlar, zar plastisitesini ve hücrel işlevi korumak için komşu glial hücreler tarafından sentezlenen kolesterolü alırlar. Beyinde kolesterol, kolesterol ve fosfolipid yükünü hem alma hem de boşaltma yetenekleri açısından periferik yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) benzeri parçacıkların bir bileşeni olarak taşınır. MSS'deki bu partiküllerin ana apolipoprotein bileşeni, ters kolesterol taşınımı olarak adlandırılan bir süreçte astrositler ve nöronlar veya oligodendrositler arasında lipidlerin taşınmasına aracılık eden apolipoprotein E'dir (apoE). Karaciğer X reseptörleri (LXR), apoE'nin ve onun lipidleştirici taşıyıcılarının transkripsiyonunu doğrudan düzenler. Ters kolesterol taşınımı yoluyla kolesterol akışını düzenlemeye ek olarak, LXR'leri ayrıca düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü (LDLR) hücre yüzeyi reseptörleri ailesinin üyeleri tarafından kolesterol alımını da düzenler (Zhang ve diğerleri, 2012).

Periferde kolesterol homeostazisi temel olarak diyet alımına bağlıdır, beyinde ise bunun aksine de novo sentezi ve geri dönüşüme bağlıdır (Şekil 3). Yetişkin beyinde, kolesterol, astrositler tarafından, 20'den fazla enzimi içeren karmaşık bir dizi reaksiyon yoluyla asetil koenzim A'dan sentezlenir. Daha sonra, ATP bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcıları (ABC alt ailesi A, üye 1 (ABCA1) ve ABC alt ailesi G, üye 1 (ABCG1)) gibi astrositler tarafından eksprese edilen belirli taşıyıcılar, geri dönüşümlü kolesterol taşıma işlemi aracılığıyla kolesterol ve apolipoprotein E'den (ApoE) oluşan lipoproteinleri salgırlar. Bu lipoproteinler daha sonra sinaptogenez, miyelin oluşumu, nörotransmitter salınımı ve membran onarımında kullanılmak üzere nöronlara taşınır. Bu hücrel kolesterol havuzu dikkatle düzenlenir ve onu kontrol eden spesifik genlerin ekspresyonunu LXR nükleer reseptörleri module eder. Kolesterol havuzunun bir kısmı, difüzyon ile 27-hidroksikolesterol (27-HC) ve 24S hidroksikolesterol (24S-HC) gibi oksisterol metabolitleri şeklinde beyin ve kan dolaşımı arasında değiştirilir (I. Björkhem, 2006; Gosselet ve diğerleri, 2014). Kolesterolün küçük bir miktarı genel havuzdan 27-HC olarak veya süpürücü (scavenger) reseptörü B tipi I (SR-BI) ile alınabilir. Beyin kapiller endotel hücrelerinde bulunan SR-BI, HDL ve LDL, kolesterol de dahil olmak üzere selektif lipit alımından sorumludur (Balazs ve diğerleri, 2004).



Beyinde en bol bulunan oksisterol olan 24S-HC, kolesterolün sitokrom P450 enzimi kolesterol 24-hidroksilaz (CYP46A1) tarafından nöronlarda hidroksilasyonu ile üretilir ve hidroksillenmiş kolesterol türleri normal olarak nöronlardan temizlenir (Matsuda ve diğerleri, 2013). Bu oksisterol (öncelikli serebrosterol olarak adlandırılır) esas olarak beyinde sentezlenir, periferik dolaşımda elimine edilir, daha sonra safra asitlerine dönüştürüldüğü karaciğere ulaşır. 24S-HC daha sonra, büyük ölçüde membranlar boyunca pasif difüzyon yoluyla KBB'ini geçer ve bu temizleme, beyinden kolesterol akışının ana yolunu temsil eder (M. Y. Sun ve diğerleri, 2016). 24S-HC ayrıca nöronlarda ya bir hayatta kalma veya ölmeye karar veren (prosurvival ya da prodeath) faktör olarak görev yapar. Fizyolojik konsantrasyonlarda 24S-HC, nöronlarda LXR sinyalini indükler ve nöroprotektif bir yanıt oluştururken (Moutinho ve diğerleri, 2015), yüksek konsantrasyonlarda 24S-HC, LXR transkripsiyonel aktivitesini inhibe ederek nöronlarda 'nekroptoz benzeri' bir ölüm yolunu teşvik eder (Noguchi ve diğerleri, 2015). Son zamanlarda 24S-HC'nin nöroprotektif etkisinin, N-metilD-aspartat reseptörü (NMDAR) fonksiyonunun allosterik modülasyonunu içerdiği öne sürülmüştür, ancak bu aktivite, LXR aktivasyonunun değil, NMDA reseptörlerine doğrudan bağlanmanın sonucudur ve LXR'yi aktive eden oksisterollerin nöronlar üzerinde etkili olduğu mekanizmalara daha fazla karmaşıklık katmaktadır (Linsenbardt ve diğerleri, 2014).

CYP46'nın bulunmadığı veya çok az eksprese olduğu periferik hücrelerde, sentezlenen ana oksisterol, 27-HC 'dir. 24S-HC'nin aksine, 27-HC çeşitli periferik hücreler tarafından yüksek seviyelerde sentezlenir ve KBB'ini geçerek beyne girer, beyindeki plazma kolesterol düzeylerinin bir göstergesi olarak hareket eder. Dolaşım ve beyindeki 24S-HC ve 27-HC konsantrasyonlarının Alzheimer hastalığı ile doğrudan ilişkili olduğunu araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Dias ve diğerleri, 2014). Alzheimer, Huntington ve Parkinson hastalıkları dahil olmak üzere çeşitli nörodejeneratif bozukluklarda 27-HC'nin düşük seviyeleri gözlenmiştir (Luu ve diğerleri, 2016). 27-HC, beyin renin-anjiyotensin sistemini LXR'ye bağlı bir şekilde yukarı regüle etme yeteneği sayesinde yüksek periferik kolesterolü birçok MSS hastalığıyla ilişkilendirebilir (Mateos ve diğerleri, 2011). Ayrıca, bu oksisterollerin her ikisi de LXR için doğal ligandlardır (Gosselet ve diğerleri, 2014). Böylelikle beyin hücreleri, gereksinimlerine ve periferik yapıya bağlı olarak kendi kolesterol devirlerini adapte edebilirler. Bu nedenle beyin, sonuç olarak kolesterol metabolizması açısından yarı özerk olarak kabul edilir.



Şekil 3. Beyinde kolesterol homeostazı (Gosselet ve diğerleri, 2014)

Merkezi sinir sisteminin önemli bir yapısal bileşeni olmasının yanı sıra kolesterol, beyin matürasyonu sırasında miyelinasyon (Saher ve diğerleri, 2005) , dendrit büyümesinin modülasyonu ve mikrotübül stabilitesi (Fan ve diğerleri, 2002) ve sinaptogenez (Goritz ve diğerleri, 2005; Mauch ve diğerleri, 2001) için gereklidir. Beyin lipitleri yaklaşık eşit mol oranlarında gliserofosfolipidler, sfingolipidler ve kolesterol içerir (Korade ve Kenworthy, 2008). Kolesterol miktarı beyin hücreleri (nöronlar ve glia, astrositler, mikroglia ve oligodendrositler) arasında sıkı bir şekilde düzenlenir ve normal beyin gelişimi sırasında sinaps ve dendrit oluşumu (Fester ve diğerleri, 2009; Goritz ve diğerleri, 2005), aksonal dallanma ve gelişimi için gereklidir (Posse de Chaves ve diğerleri, 1997). Kolesterol azalması sinaptik ve dendritik omurga dejenerasyonuna, başarısız nörotransmisyon ve sinaptik plastisitede azalmaya yol açar (Koudinov ve Koudinova, 2005). Beynin, lipit peroksidasyonuna duyarlı yüksek konsantrasyonlarda doymamış yağ asidi içerdiğinden, enerji üretimi için nispeten büyük miktarlarda oksijen tükettiğinden ve diğer organlara göre daha düşük antioksidan savunmaları içerdiğinden, oksidatif strese karşı özellikle savunmasız olduğuna inanılmaktadır. Tüm beyin hücreleri içerisinde, nöronlar düşük seviyelerde azaltılmış glutatyon nedeniyle oksidatif strese karşı özellikle hassastırlar (Ralf, 2000). Ateroskleroza ek olarak, oksidatif stresin Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, multipl skleroz ve amyotrofik lateral skleroz gibi birçok nörodejeneratif bozukluğun bir bileşeni olduğu gösterilmiştir.

### 2.1.2.2. Fazla Kolesterolün Zararlı Etkileri

Beyin, birden fazla bariyer sistemi ile büyük ölçüde çevresel organlardan ayrılır. Kan-beyin bariyeri (KBB), beyinde birçok kan bileşeninin girişini ve çıkışını büyük ölçüde kısıtlayan serebrovasküler endotelial hücreler tarafından oluşturulan sıkı bağlantılardır. KBB bütünlüğünün kaybı, koma ve diğer patolojik olaylar dahil, derin beyin değişikliklerinin bir nedeni olarak kabul edilir (Daneman, 2012). Kanda bulunan ve KBB'ne zarar verebilecek tehlikeli maddeler vardır. Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, okside düşük yoğunluklu lipoprotein (oxLDL), mitokondriyon bağımlı mekanizma yoluyla serebrovasküler endotelial hücrelerde apoptotik hasarları indüklediği gösterilmiştir (T. G. Chen ve diğerleri, 2007). KBB'nin etkinliği nedeniyle, plazma ve beyin arasındaki lipoprotein kolesterol değişimleri ihmal edilebilir ve bu nedenle kolesterol üretimi beyinde esas olarak de novo kolesterol sentezine dayanır (Moutinho ve diğerleri, 2016). Kolesterol metabolizmasının merkezi sinir sistemindeki rolü ana bileşenler dikkate alınarak düşünülür. Yapısal ve fonksiyonel çalışmaların sonuçları, nörovasküler ünite kavramını oluşturan nöronlar, serebral kan damarları ve nöroglia bileşenlerinin birbirileri ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Kowiański ve diğerleri, 2013).

Beyindeki yüksek kolesterol düzeyi, değişen kolesterol metabolizmasının nörolojik hastalıklarda nedensel bir faktör olabileceği araştırmalarını yoğunlaştırmıştır. Son yapılan çalışmalarda, kolestenolik asitlerin motor nöronların hayatta kalmasını düzenlerken, oksisterollerin orta beyin nörogenezini arttırdığı hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak gösterilmiştir (Theofilopoulos ve diğerleri, 2013). Nörolojik hastalıkların fare modelleri, bu durumların nedenlerini ve tedavilerini araştırmak için önemli bir kaynaktır. Sterol homeostazında rol oynayan spesifik enzimlerin mutasyonlarına sahip knockout hayvanların yanı sıra sayısız hastalık için giderek daha gelişmiş fare modelleri de ortaya çıkmaktadır. Gözlenen biyolojik fenomenleri altta yatan moleküler nedenlere bağlamak için, farenin farklı dokularında oksisterol ve kolestenolik asit düzeylerini analiz etmek yararlıdır (Meljon ve diğerleri, 2012).

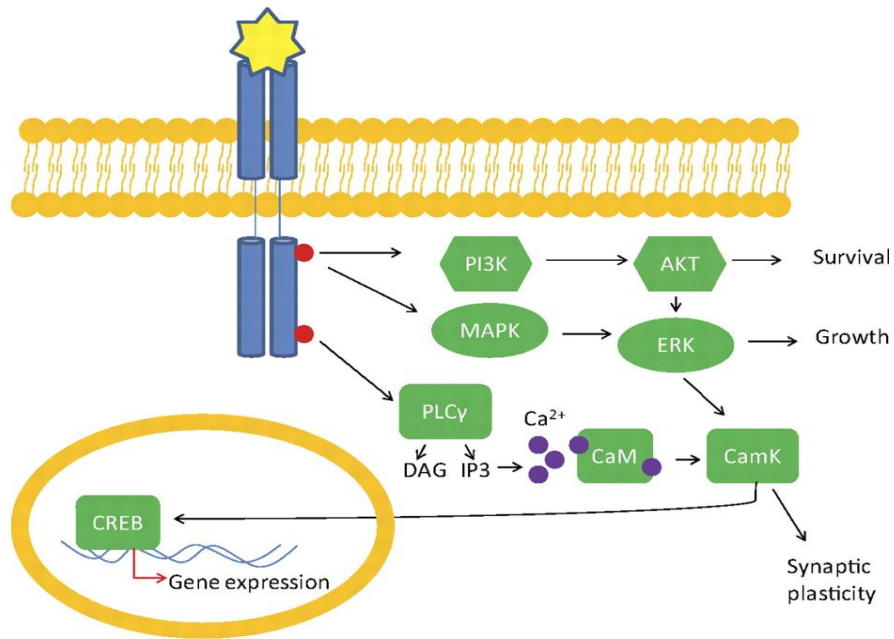
## 2.2. BDNF ve Trk B Sinyal Yolağı

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), nörotrofin protein ailesine aittir ve orjinalinde periferel sinir sistemi nöronlarının spesifik popölasyonları için önemli bir sağkalım faktörü olarak tanımlanmıştır. Birçok periferel sinir sistemi ve merkezi sinir sistemi nöronundaki hasarlardan kaynaklanan nöronal farklılaşma ve iyileşme süreçleriyle klasik olarak ilişkilendirilmiştir (Lewin ve Barde, 1996). Beyindeki endojen olarak eksprese edilen BDNF aksonal hedeflemesi, kortikal aksonlarda ve hipokampal fiberlerde bulunmaktadır (Altar ve Distefano, 1998; Danzer ve McNamara, 2004; Smith ve diğerleri, 1997). Ayrıca serebellumdaki granül hücre akson terminallerinde ve merkez amiglaya doğru aksonal çıkıntılar içinde bulunur (Conner ve diğerleri, 1997; Sadakata ve diğerleri, 2004). Hipokampal CA1 ve kortikal piramidyel nöronlarda dendritik bölgelerde, yoğun çekirdekli veziküllerde (dense core vesicle) lokalize olur (Lessmann ve diğerleri, 2003).

BDNF gelişim sırasında ve olgun sinir sisteminde nöronal fonksiyonun birçok farklı yönünü modüle ettiği ortaya çıkmıştır. BDNF'nin akut (dakikalar içinde) etkileri, merkezi nöronlarda GABAerjik sinaptik iletimde azalma ve glutamaterjik sinaptik iletimde artışı içerir. BDNF'nin kronik varlığı, glutamaterjik ve GABAerjik sinapsların oluşumunu ve fonksiyonel olgunlaşmasını artırır. BDNF'nin varlığı, embriyonik kök hücrelerin nöronal olgunlaşmasını destekler, yüksek frekanslı uyarım üzerine sinaptik veziküllerin doğru çevrimi için gereklidir ve merkezi sinir sistemindeki glutamaterjik ve GABAerjik sinapsların uzun süreli potansiyasyonu (LTP) için önemli araçlardan biridir (Gottmann ve diğerleri, 2009).

Genel olarak nöropeptid salınımı aşığıdaki olaylar dizisini varsaymaktadır: pro-proteinler pürüzlü endoplazmik retikulumda (ER) sentezlenmektedir. Daha sonra Golgi aparatına yönlendirilirler, burada propeptidde bulunan temel sekans bilgisine bağlı olarak en az iki farklı vezikül tipine göre sınıflandırılabilirler. Yeşil floresan protein etiketli nörotrofinlerin nöron kültürlerinde ve endojen olarak eksprese edilen nörotrofinlerin trafiğini takip etmeyi sağlayan immünositokimya tekniklerinde canlı hücre görüntülemesi, BDNF ve diğer nörotrofinlerin hedeflenmesi ve salgılanması için yukarıda belirtilen olay dizisini doğrular. Bu çalışmalar, endojen seviyelerde aşırı eksprese edilmiş veya eksprese edilmiş olsun, nöronal BDNF'ün, en iyi düzenlenmiş sekresyon yolunu hedefleyen nörotrofin olduğunu gösterir (Adachi ve diğerleri, 2005; Brigadski ve diğerleri, 2005; Hartmann ve diğerleri, 2001; Lessmann ve diğerleri, 2003; A. Wu ve diğerleri, 2004). Sinir hücrelerinde ortaya çıkan nörotrofin yanıtlarının çoğuna, tirozin kinaz reseptörü ailesinin transmembran

reseptörleri (trk) aracılık eder. Trk reseptörü ile BDNF etkileşimi yüksek ligand spesifikliğı gösterir. Ligand bağlanması üzerine, trk reseptörleri dimerize olur, sitoplazmik tirozin kinaz rezidüleri ve reseptör aktifleşir. Daha sonra, aktif tirozin rezidüleri, hücre içi sinyal iletim basamaklarına başlangıç bölgeleri olarak işlev görür (Patapoutian ve Reichardt, 2001; Segal ve Greenberg, 1996). Eksprese TrkB reseptörlerinin ek varyantlarından biri olan tam boy TrkB reseptörü (TrkBFL), hücre içi bir tirozin kinaz aktivitesine sahiptir ve enzimatik aktivitesinin BDNF'ün etkileri için çok önemli olduğu bildirilmiştir (Barbacid, 1995; E. J. Huang ve Reichardt, 2003). BDNF'ün TrkBFL'ye bağlanması, bir dizi sinyal iletim yolu tetikler (E. J. Huang ve Reichardt, 2003; Kaplan ve Miller, 2000; Klesse ve Parada, 1999; Schlessinger, 2000). Bunlardan en önemlileri fosfolipaz C- $\gamma$  (PLC $\gamma$ ), mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ve fosfotidilinositol-3-kinaz (PI3K) sinyal yolaklarıdır (Şekil 4).



Şekil 4. BDNF-TrkB sinyal yolağı (Autry ve Monteggia, 2012)

Trk reseptörü aracılı nörotrofik sinyal yolağı gen transkripsiyonunu ve sinaptik plastisiteyi ve aynı zamanda uzun süreli potansiyasyonu ayarlar. Ayrıca hücre sağkalımı, proliferasyon, akson ve dendrit büyümesi ve düzenlenmesi ve sinaptik plastisite dahil olmak üzere çeşitli nöronal olayları düzenler. BDNF'ün nörojenezi arttırdığı gösterilmiştir. BDNF veya adenoviral kaynaklı BDNF aktivitesinin intraventriküler infüzyonu, yetişkin olfaktör

ampul, striatum, septum ve talamustaki nöron sayısını artırır (Benraiss ve diğerleri, 2001; Zigova ve diğerleri, 1998). İlk nörotrofin sinir büyüme faktörü (NGF) periferik nöronlarda nörit büyümesinin uyarıcısı olarak tanımlandığından, merkezi nöronlarda BDNF için benzer bir rol önermek düşünülebilir. BDNF kortikal nöronların ve dentat granül hücrelerinin dendritik büyümesini düzenler (Danzer ve diğerleri, 2002; Horch ve Katz, 2002; Horch, Krüttgen ve diğerleri, 1999; McAllister ve diğerleri, 1996; McAllister ve diğerleri, 1995). BDNF ayrıca sinaps ve dikenlerin morfolojisinin modülasyonunda da rol oynar, hem uyarıcı hem de inhibe edici sinapsların oluşumunu ve stabilizasyonunu teşvik eder (Alsina ve diğerleri, 2001; Z. J. Huang ve diğerleri, 1999). Buna ek olarak BDNF sinaps olgunlaşmasını da düzenler. Spesifik olarak, aktif bölgelerdeki sinaptik veziküllerin sayısı, BDNF veya TrkB içermeyen farelerde azalır (Martínez ve diğerleri, 1998; Tyler ve Pozzo-Miller, 2001). TrkB üzerinden BDNF sinyalleri dendritlerin, aksonların ve sinapsların oluşumunu ve idamesini düzenler, böylece işlevsel nöronal devre oluşumunu teşvik eder (İ. Abidin, 2006; İ. Abidin ve diğerleri, 2008). BDNF, farklı sinaps türlerinde sinaptik geçişi farklı şekilde modüle eder (Bolton ve diğerleri, 2000; Poo, 2001). Uyarıcı sinapslarda, pre-sinaptik membran ile birlikte BDNF, post sinaptik membran üzerinde etkilidir. BDNF, nitrik oksit sentaz neokortikal nöronların ekspresyonunu, gelişen neokortikal nöronlardaki AMPA reseptör seviyelerini artırır, seçici Na<sup>+</sup> iyon kanallarının hızlı açılmasına neden olur, gelişen fare korteksinde sinaptik bölgedeki AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit)-reseptör trafiğini aktive eder ve kortikal nöronlarda PDZ proteinleriyle ilişkili AMPA reseptörünün ekspresyonunu artırır ve korur (Itami ve diğerleri, 2003; Jourdi ve diğerleri, 2003; Kafitz ve diğerleri, 1999; Narisawa-Saito ve diğerleri, 1999; Xiong ve diğerleri, 1999). BDNF'ün hızlı sinaptik inhibisyonun düzenlenmesinde ve aynı zamanda inhibitör sinapsların yapımında kritik bir rol oynadığı öne sürülmüştür (Rico ve diğerleri, 2002; T. Tanaka ve diğerleri, 1997). GABA-A aracılı inhibitör iletim ile ilgili olarak, BDNF, inhibitör postsinaptik potansiyellerin (IPSP) genliğini zayıflatır veya kuvvetlendirir, bağımsız olarak hem postinaptik hem de presinaptik mekanizmalar önerilmiştir (İ. Abidin ve diğerleri, 2019; T. Tanaka ve diğerleri, 1997).

### **2.2.1. Bir nöroprotektif peptit olarak BDNF**

Klasik nörotrofik rollerinin yanı sıra, BDNF, iskemi, travmatik yaralanma ve Alzheimer hastalığı gibi bir dizi beyin hasarına karşı nöroprotektif bir fonksiyona sahiptir (Criscuolo ve diğerleri, 2015; Zhao ve diğerleri, 2017).

Çalışmalar, memeli santral sinir sisteminde geniş BDNF dağılımı ve normal gelişimsel ve bilişsel süreçlerle yakın ilişkileri olduğunu göstermiştir. BDNF, nöronal hücre canlılığına aracılık eder (Barbacid, 1995). Kanıtlar, nekrozun hasardan sonra hücre ölümü için birincil araç olduğunu öne sürmesine rağmen, nekroptoz, apoptoz ve otofajinin de önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle nöral hasarı azaltmada ve kalan hücrelerin hayatta kalmasını sağlamak için anti-hücre ölümü önlemleri gereklidir (Zhao ve diğerleri, 2017). BDNF-TrkB etkileşimlerinden başlıca sonuçlardan biri, anti-apoptotik yolların aktivasyonudur. Sinyal yolları, hipoksik-iskemik hasarın ölçeği olan merkezi sinir sistemi bölgeleri arasında farklı şekilde kullanılmalıdır (Z. Y. Chen ve diğerleri, 2004). BDNF, nöronal hücre yenilenmesine aracılık eder. Sinir kök hücreleri (özellikle hipokampal ve ventriküler bölgede), özellikle yenidoğanlarda nörogenez için yüksek bir kapasiteye sahiptir. Bu yenilenme kapasitesi, olgunlaşmamış nöronların hasar gören bölgelere önemli oranda göç etmesiyle de desteklenmektedir. BDNF tedavilerinin ciddi hasar etkilerini hafifletme potansiyeli ve hem nöronal canlılığa hem de yenilenmeye müdahale ederek mortaliteyi azaltma potansiyeli olabilir. BDNF seviyelerindeki değişiklikler nörodejeneratif bozukluklar (Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı ve epilepsi dahil), nöropsikiyatrik bozukluklar (depresyon, anksiyete bozuklukları, bipolar bozukluklar, şizofreni ve bağımlılık dahil) ve obezite ile ilişkilidir (A. Chen ve diğerleri, 2013; Egan ve diğerleri, 2003).

### **2.2.2. BDNF Heterozigot Fare Modeli**

BDNF heterozigot fare, BDNF kodlayan alellerin birinden yoksun olup BDNF protein konsantrasyonlarının beyin dokusunda yaklaşık %50 azalması ile karakterize bir knock-down modeldir (İ. Abidin, 2006; Korte ve diğerleri, 1995). BDNF'ün fizyolojik rollerinin anlaşılmasında pekçok çalışmada ideal model olarak kullanılmıştır. Heterozigot fareler dış görünüş olarak normaldir, normal hayat süreleri ve normal üreme özellikleri vardır.

Üretimde, normal (+/+) dişi ve heterozigot (+/-) erkek fareler kullanılır ve yavrular genotiplendirilir. Canlı iken genotiplenmeleri gerekirse, kuyruk ucundan çok küçük bir doku örneği alınarak homojenize edilir ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile genotip tayini yapılır. Neomisin bandının varlığı heterozigotluğun belirteçidir.

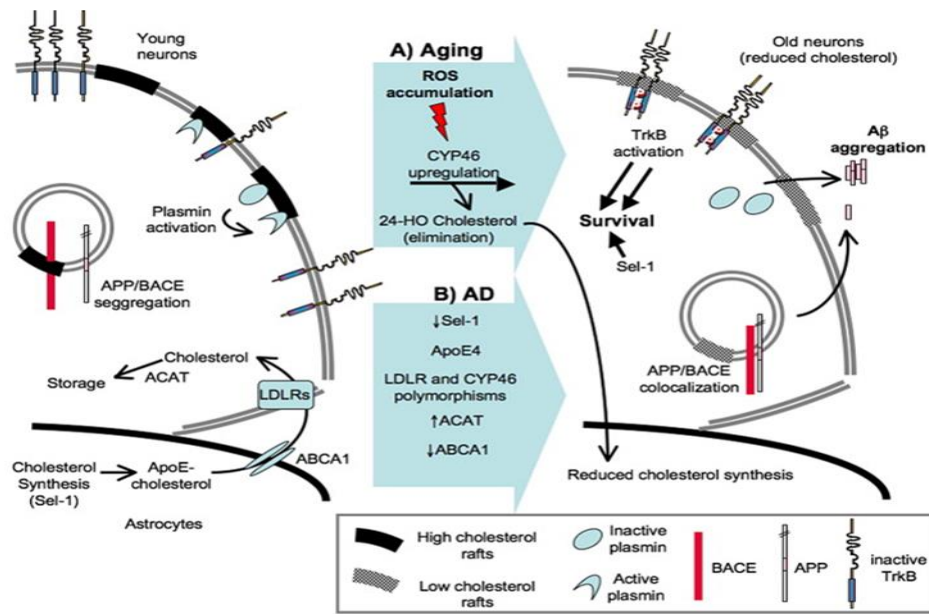
### 2.2.3. Kolesterol ve TrkB İlişkisi

Nörotrofinler, tirozin kinazlara reseptörlerine bağlanır ve aktive eder, bu da birden çok hücre içi sinyal yolunun aktivasyonuna yol açar. En önemli hücre için yollar MAPK ve PI3K' dır (Kaplan ve Miller, 2000). TrkB'nin ligandların bir kombinasyonuna bağlanma olasılıklarından bağımsız olarak, hücrelerin bu önemli sinyal reseptörünün transdüksiyonunu sağlayan ligand aracılı olmayan mekanizmalar da geliştirdiği düşünülmektedir. Bu tür bir mekanizma, en çok bilinen kolesterol olmak üzere farklı zar lipidlerinin içeriğinin/oranlarının modülasyonu olabilir. Kolesterol, plazma zarında belirli proteinleri yanal olarak ayıran düzenli alanların oluşturulmasında önemli bir rol oynar, böylece yanal difüzyon oranlarını azaltır ve bu sayede kümelenmeyi ve dolayısıyla sinyal gücünü artırır (Hancock ve Parton, 2005). Bu gözlemler, farklılaşmış hipokampustaki TrkB aktivitesinin, nöronal plazma membranındaki kolesterol seviyelerinin fizyolojik bir modülasyonu yoluyla kontrol edilebileceği hipotezini ele almaya yönelmiştir. Yapılan bir çalışmada TrkB aktivitesindeki yaşa bağlı artışın, hafif ancak ilerleyen bir kolesterol kaybı ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir (Martin, Dotti ve Ledesma, 2010). Bu da, kolesterol katabolik enzim kolesterol 24S-OHC artan ekspresyonu ile ilişkilidir. Doğrudan neden-sonuç, kolesterol kaybı-yüksek TrkB aktivitesi, farmakolojik yollarla ve kolesterol 24S-OHC seviyelerinin manipüle edilmesiyle gösterilmiştir. Yaşlı farelerin hipokampusunda kolesterol seviyelerinde azalma ve 24S-OHC ekspresyonunda artış gözlemlendiğinden, hücresel kolesterol içeriğindeki değişiklikler, otonom olarak *in vivo* reseptör aktivite gücünü modüle etmek için veya nörotrofin üretiminin doğal bozulmasını tamamlamanın bir yolu olarak kullanılabilir (Şekil 5).

Hem *in vivo* hem de *in vitro* farklılaşmış nöronlarda kolesterol kaybı, katabolik enzim CYP46A1'nin yukarı regülasyonu yoluyla meydana gelmektedir. Bu beyne özgü enzim, kolesterolün, kolesterolün salgılanan formu olan 24S-OHC dönüştürülmesinden sorumludur ve yaşla birlikte giderek artan bir olaydır (Lund ve diğerleri, 2003; D. Lütjohann, 2006). Bu, diğer olayların yaşlanma sırasında beyin kolesterolünün azalmasına katkıda bulunduğunu ekarte etmese de, enzimlerin sentezlenmesi veya astrositlerden kolesterol taşınmasında bir



azalma, genç nöronlarda TrkB aktivasyonunu tetikleyen CYP46A1'in aşırı ekspresyonu ve onun yaşlı nöronlarda oluşumunu engelleyen yıkımı, bu enzimin modülasyonunun reseptör aktivasyonu için yeterli ve gerekli bir uyarıcı olarak hareket edebileceğini kanıtlar. Farklılaşmış hipokampusta *in situ* enzim aktivitesinin de yüksek olduğu bulgusu, *in vivo* çalışılarak doğrulanması gerekmektedir. CYP46A1 ekspresyon aktivitesinin arttığı şimdiye kadar oksidatif stres ile gösterilmiştir (Ohyama ve diğerleri, 2006). Fakat, CYP46A1 knockout farelerin kullanımı bu amaç için düşünülememektedir çünkü bu fareler, *de novo* sentezinde bir azalma ile azalan kolesterol atılımını telafi eder (Lund ve diğerleri, 2003).



Şekil 5. Yaşlılıkta TrkB-kolesterol ilişkisi (Martin ve diğerleri, 2010)

Trk nörotrofin reseptörlerinin lokalizasyonu, gelişen ve olgun nöronlarda hücre içi iletişimi yönlendirmede önemli bir faktördür. Potansiyel etki bölgesi, lipid sal membran mikro bölgeleridir. Trk reseptörleri lipid sallarına lokalize edilmiş olsa da, bu nörotrofin reseptörlerinin oraya nasıl yönlendirildiği veya bu membran mikro bölgelerine lokalizasyonun Trk sinyalini nasıl düzenlediği hakkında çok az şey bilinmektedir. Burada, TrkB reseptörünün, BDNF'ye yanıt olarak kortikal ve hipokampal membranlarda hücre içi lipid sallarına spesifik olarak lokalize olduğunu ve bu sürecin kritik olarak tirozin kinaz Fyn'e bağlı olduğunu bildirilmiştir (Suzuki ve diğerleri, 2004; C. Wu ve diğerleri, 1997). BDNF'ye bağlandıktan sonra, TrkB içe alınır ve Fyn'in bulunduğu hücre içi bölmelere ulaşır (Shao ve diğerleri, 2002). Proteinler lipid sallarının içinde ve dışında hızla bölünebildikleri için, TrkB,

Fyn ile etkileşime girerek sallarında harcanan zamanı artırabilir. Bu, reseptörün Fyn tarafından doğrudan fosforilasyonunu kolaylaştırabilir, bu da TrkB'nin tam aktivasyonuna yol açar ve lipid sallarında zenginleştirilmiş aşağı akış PLC $\gamma$ 'ye bağlanmayı artırır (Matsumoto ve diğerleri, 2001). Bulgular, içe alınmış Trk reseptörlerinin, belirli temel nöronal yanıtları düzenlemek için ayrılmış bölmelerde seçici bir şekilde sinyal verdiği fikrine ek destek getirir. Pereira ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada TrkB'nin hücre içe alımı bloke edilerek lipid sallarında BDNF'nin neden olduğu TrkB birikimi önlenmiştir. Nörotrofin sinyallemede lipid sallarının rolünü desteklemek için, ya Fyn knock-out nöronları ya da lipid salı bozucu ajanlar kullanarak TrkB'nin lipid sallarına translokasyonunu inhibe etmek, TrkB'nin ve aşağı akış fosfolipaz C-'nin tam aktivasyonunu engellemiştir. Bu sonuçlar, TrkB reseptörlerinin lipid salı lokalizasyonunun Fyn tarafından düzenlendiğini ve nöronlarda BDNF sinyallemesi sonucunun belirlenmesinde önemli bir faktörü temsil ettiğini göstermektedir (Pereira ve Chao, 2007).

Beyindeki kolesterolün BDNF sinyal yollarında önemli düzenleyici rollere sahip olduğu onaylanmıştır. Kolesterol açısından zengin lipid sallarını, nörotrofik faktör sinyalizasyonu için bir platform sağlar (Paratcha ve Ibáñez, 2002; Simons ve Toomre, 2000). Ek olarak, BDNF ile indüklenen sinaptik modülasyon ve sinir büyüme konilerinin kemotrofik rehberliği için lipid sallar gereklidir (Guirland ve diğerleri, 2004). Kolesterol seviyesindeki azalma, BDNF'ye bağlı sinaptik iletimi azaltmıştır (Suzuki ve diğerleri, 2004). Aynı çalışmada kortikal gelişim sırasında hem BDNF'nin hem de kolesterolün önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (Suzuki ve diğerleri, 2004). Bu bulgular, hem BDNF'nin hem de kolesterolün birbirlerinin metabolizması için çok önemli ve gerekli olduğunu göstermektedir. Beyindeki kolesterol seviyelerini dengede tutmak hayati önem taşır; aksi takdirde kolesterol seviyesindeki herhangi bir küçük değişiklik nöronal fonksiyonu ciddi şekilde etkileyebilir (Cartocci ve diğerleri, 2017). Örneğin kolesterol seviyelerindeki ve homeostazındaki değişiklikler Alzheimer, Parkinson ve Huntington hastalıkları gibi nörodejeneratif bozukluklara neden olur (Arenas ve diğerleri, 2017). Son bilimsel gelişmeler, beyindeki yüksek kolesterol seviyelerinin ve değişen kolesterol metabolizmasının nörolojik hastalıklarda tetikleyici bir faktör olabileceğini ele almaktadır. Çalışmalarda, kolestenoik asitlerin motor nöronların hayatta kalmasını düzenlediği, oksisterollerin ise hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak orta beyin nörojenezini arttırdığı gösterilmiştir (Theofilopoulos ve diğerleri, 2013).

## 2.3. Olası Nörokimyasal Etkiler

### 2.3.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS) oluşum hızının, canlı organizmanın korunma yeteneğini aştığı ve biyomoleküllerde oksidatif hasarda artışa neden olduğu bir durum olarak tanımlanır. ROS, mitokondrilerden pasif olarak salınır veya NADPH oksidazlar dahil olmak üzere enzimatik kaynaklardan aktif olarak üretilir. İkinci haberciler olarak hareket ederek fizyolojik fonksiyonlara aracılık eder. Fakat ROS üretimi proteinlere ve organellere zarar verir. İndirgeme ve oksidasyon (redoks), hücrelerde büyüme, ölüm, farklılaşma, kasılma ve metabolizma dahil olmak üzere çok çeşitli işlevleri düzenleyen sinyal moleküllerinin translasyon sonrası modifikasyonunun önemli bir mekanizmasıdır. Aşırı miktarda ROS'u azaltmak ve proteinlerin oksidatif translasyon sonrası modifikasyonunu tersine çevirmek için hücreler, antioksidanları kullanır (Maejima ve diğerleri, 2012). ROS, moleküler oksijenden daha reaktif olan oksijen türevleridir. Birincil ROS, moleküler oksijenin bir elektron indirgenmesiyle oluşan süperoksittir ( $O_2^-$ ). Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), dismutasyon yoluyla  $O_2^-$ 'nin indirgenmesiyle üretilir. Hidroksil radikali ( $OH^-$ ), Harber-Weiss reaksiyonu yoluyla  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  arasındaki elektron alışverişinden kaynaklanır veya Fenton reaksiyonu ile  $H_2O_2$ 'nin indirgenmesiyle de üretilir. Düzenlenmiş koşullar altında üretildiğinde ROS, özellikle  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  gibi fizyolojik süreçlere aracılık eden sinyal molekülleri olarak hareket edebilir. Bu tip hücre içi sinyal yolu, "redoks sinyalleşmesi" olarak adlandırılır. Öte yandan, aşırı ROS üretimi deoksiribo nükleik asit (DNA), protein ve lipidlere zarar vererek hücre ölümüne neden olur (Giordano, 2005).

ROS'nin nörolojik hastalık bağlamında normal beyin fonksiyonu ve patolojisinde kilit rol oynar. ROS, beyin hasarının önemli araçları olarak kabul edilmektedir. Hem ROS hem de reaktif nitrojen türlerini (RNS) içeren daha geniş bir terim olan reaktif türler (RS), mitokondriyal işlev bozukluğu, proteazomal işlev bozukluğu ve inflamasyon gibi bilinen diğer beyin hasarı mekanizmalarına da katkıda bulunabilir. Beynin oksidatif hasara karşı hassasiyeti fizyolojik, anatomik ve fonksiyonel faktörlere dayanmaktadır. Beyin, insanlarda vücut ağırlığının %2'sini oluşturur ve yüksek metabolizma hızı nedeniyle vücudun oksijeninin ( $O_2$ ) %20'sini tüketir. Ağırlık başına  $O_2$  tüketimindeki bu uyumsuzluk, ROS'un ana öncüsü olan  $O_2$ 'nin daha yüksek kullanılabilirliği ile sonuçlanır. Tüketilen  $O_2$ 'nin büyük kısmı, aksiyon potansiyelleri, sinaptik makineler (transmitterlerin ekzositozu ve enerjik pompaların

korunumu), nörotransmisyon ve enzimatik reaksiyonlar gibi enerji tüketen süreçler için gerekli olan adenzin trifosfat (ATP) üretimi için verimli bir elektron alıcısı sağlamaktır (Patel, 2016).

Vücuttaki oksidatif stres, antioksidan enzim aktivitelerindeki değişiklik ve enzimatik olmayan antioksidan içeriğinin ölçülmesi yoluyla kolayca tanınabilir. Bunların dışında *in vivo* oksidatif stresi tespit etmek için bazı biyobelirteçler mevcuttur. Bunlara DNA oksidasyonu, glikoksidasyon, aminoasit oksidasyonu ve en önemlisi lipid peroksidasyonu dahildir.

Lipid peroksidasyonu, hem bitkilerde hem de hayvanlarda iyi bilinen bir hücre hasar mekanizmasıdır ve oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılır. Lipid peroksidasyonu, muhtemelen serbest radikaller tarafından indüklenen en kapsamlı araştırılan süreçtir. Özellikle, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar), bir çift bağın mevcudiyeti, bitişik karbon atomundaki karbon-hidrojen bağını zayıflattığı için serbest radikal saldırısına eğilimlidir. Lipid peroksidasyonunun hücre fonksiyon üzerinde derin etkileri olabilir. Hücre zarlarındaki aşırı peroksidasyon, akışkanlıkta değişikliklere, geçirgenliğin artmasına, zar potansiyelinde bir azalmaya ve nihayetinde zar yırtılmasına neden olacaktır (Betteridge, 2000).

Lipid peroksidasyonu sırasında ikincil ürünler olarak oluşabilen birçok farklı aldehit arasında malondialdehit (MDA), en mutajenik ürünüdür. MDA, tiyobarbitürik asit (TBA) ile kolay reaksiyona girmesi nedeniyle omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu için uygun bir biyobelirteç olarak uzun yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır (Esterbauer ve Cheeseman, 1990). TBA testi, yoğun renkli bir kromojen floresan kırmızı katkı maddesi vermek için TBA'nın MDA'ya karşı reaktivitesine dayanır.

Süperoksit dismutaz (SOD) yüksek derecede reaktif süperoksit anyonunun O<sub>2</sub>'ye ve daha az reaktif tür H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye dismutasyonu katalize eden metalloenzimdir. Peroksit, akabindeki reaksiyonlar katalaz (CAT) veya glutatyon peroksidaz (GPX) reaksiyonları ile yok edilebilir. SOD'un hücre ve dokuları oksidatif strese karşı korumada anahtar rol oynadığı gösterilmiştir. Ökaryotlarda dört farklı SOD türü karakterize edilmiştir; sitozolde lokalize bakır ve çinko içeren bir form (CuZnSOD), mitokondride manganez içeren bir form (MnSOD), bazı prokaryotlarda ve bitkilerin dış mitokondriyal zarında demir içeren (FeSOD) ve ekstrasellüler matrikste bakır ve çinko içeren bir form (ECSOD) (Marklund, 1982).

Katalaz, moleküler ağırlığı 240 kD olan tetramerik bir hemoproteindir. Tipik bir katalaz, her biri aktif bölgede bir heme sahip dört özdeş alt birim içerir. Katalazın birçok formu vardır

ve bunların çoğu Fe-hem içerir, ancak bazıları Mn içerir. Hemen hemen tüm aerobik hücrelerin peroksizomlarında bulunan katalaz, serbest radikal üretmeden moleküler oksijen ve suya ayrışmasını katalize ederek hücreyi hidrojen peroksitin toksik etkilerinden korumaya hizmet eder. Katalazın hücrelerdeki ana işlevi başta elektron taşıma zinciri olmak üzere metabolik süreçlerin bir yan ürünü olarak oluşan hidrojen peroksitin toksik seviyelerinin birikmesini önlemektir.

### **2.3.2. Nöroinflamasyon**

İnflamasyon, enfeksiyon ve doku hasarı gibi zararlı uyaranlar ve durumlar tarafından tetiklenen adaptif bir yanıttır (Medzhitov, 2008). İnflamasyonlar, çeşitli enflamatuvar süreçlere ve hücrel mekanizmalara bağlı olarak temel olarak akut ve kronik inflamasyon olarak ikiye ayrılır. Son araştırmalar, inflamasyonun diyabet, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, göz bozuklukları, artrit, obezite, otoimmün hastalıklar ve inflamatuvar bağırsak hastalığı dahil olmak üzere çeşitli kronik hastalıkların/bozuklukların ilerlemesinde önemli bir faktör olduğunu açıklığa kavuşturmuştur (Arulselvan ve diğerleri, 2016).

İnflamasyonu tetikleyen farklı beslenme aracılı oksidatif stres kaynakları vardır. ROS ve RNS vücutta oksidatif metabolizma, mitokondriyal biyoenerjetik ve bağışıklık fonksiyonu yoluyla sürekli olarak üretilir. Nükleik asitler, enzimler, membran lipidleri, proteinler ve diğer küçük moleküller ile bağlanabilirler. Uzun süreli kronik aşırı besin tüketimi, proinflamatuvar faktörleri salgılayan beyaz yağ dokusu üretimi yoluyla kalıcı inflamasyon durumlarını indükleyen obeziteye katkıda bulunur (Fernández-Sánchez ve diğerleri, 2011). Kapsamlı araştırmalar, yüksek glikoz ve yüksek yağlı bir diyetin inflamasyona aracılık ettiğini göstermiştir, bu da oksidatif stresin hücrel fizyolojik süreçleri değiştirebileceğini düşündürmektedir (Herioka ve Erridge, 2014). Önemli kanıtlar, rafine karbonhidratlar ve doymuş yağ oranı yüksek diyetlerin zararlı etkisini vurgulamaktadır (DiNicolantonio ve diğerleri, 2016). Kardiyovasküler hastalık, obezite, tip 2 diyabet ve alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı gibi pek çok bozukluk, karbonhidrat ve doymuş yağ oranı yüksek gıdaların aşırı tüketimine, besin deposunun doyunluğuna ve hareketsiz yaşam tarzına bağlanmaktadır (Iyer ve diğerleri, 2010). Yüksek yağ ve karbonhidrat içeren rafine gıda tüketimiyle karakterize Western tipi bir diyet düzeninin kolorektal kanser gibi inflamatuvar hastalıklar üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar, tutarlı bir şekilde benzer bir eğilim göstermiştir. Bu tür bulgular,

diyet kalitesinin bağımsızlık fonksiyonunu ve sistematik inflamasyonu etkileyebileceği temel fikrini vurgulamaktadır (Park ve diğeri, 2016).

Nöroinflamasyon, beyin veya omurilikte bir inflamatuvar yanıt olarak tanımlanır. Bu inflamasyona sitokinlerin, kemokinlerin, reaktif oksijen türlerinin ve ikincil habercilerin üretimi eşlik eder (DiSabato ve diğeri, 2016). Risk faktörleri arasındaki bağlantılar ve nöroinflamasyonun gelişimi vasküler bozunmaya, oksidatif strese ve sonuçta beyin hasarına katkıda bulunan birçok karmaşık etkileşimi içerir (Milatovic ve diğeri, 2011). Oksidatif stres, nöroinflamasyon ile yakından ilişkilidir ve Alzheimer'de oksidatif stres ve inflamasyon bağlantılı kısır bir döngü bulunmuştur. Hiperkolesterolemi, nöroinflamasyona neden olabilir (Y. Chen ve diğeri, 2018).

Oksidatif stresin ve inflamasyonun yanı sıra, değişen kolesterol metabolizması ve hiperkolesterolemi de Alzheimer hastalığının gelişimine ve nöron hasarına katkıda bulunur (Gamba ve diğeri, 2015; Testa ve diğeri, 2016). Bununla birlikte, demans ve bilişsel bozukluk için bir risk faktörü olarak serum kolesterol düzeyleri yetersiz kalır. Lipoproteinlerin farklı sınıfları, periferik ve merkezi sinir sistemindeki inflamasyon ve oksidatif streste farklı ya da zıt düzenleyici rollerde kullanılır (Cartocci ve diğeri, 2017).

MSS içinde aktif bir bağımsızlık denetimi vardır ve farklı yaralanmalara cevap olarak beyinde inflamatuvar yanıtlar meydana gelebilir. Bu, çeşitli olaylarla sonuçlanır: dolaşımdaki bağımsızlık hücreleri, MSS'e sızar; yerleşik hücreler aktive edilir; ve sitokinler ve nitrik oksit (NO) gibi proinflamatuvar araçlar üretilir ve salınır. Son kanıtlar ayrıca, MSS'deki bağımsızlık tepkilerinde aktif olarak yer alan glial hücrelerin, sinapsın önemli bir üçüncü unsuru olduğunu göstermektedir. Pre ve post sinaptik nöronlara ek olarak, bu hücreler aktif olarak nörotransmisyon, nöronal uyarılabilirliğe ve uzun süreli güçlenme (LTP) gibi çeşitli sinaptik plastisite biçimlerine katkıda bulunur (Volterra ve Meldolesi, 2005). MSS inflamasyonu sırasında meydana gelen inflamatuvar mediatörlerin anormal ekspresyonunun ve diğeri hastalığa özgü anormalliklerin kombinasyonunun, sinaptik plastisitenin bozulmasına ve ardından nöronal ağların kararsızlaşmasına yol açar (Di Filippo ve diğeri, 2008).

Nöronal canlılık ve plastisite üzerinde sitokinlerin etkilerini açıklamak için iki ana hipotez önerilmiştir. İlk olarak, sitokinlerin plastisite ve nöronal hayatta kalma üzerindeki etkisinin, bu bağımsızlık moleküllerinin sinaptik konsantrasyonuna bağlı olduğunu varsaymak mümkündür. Gerçekten de düşük, "fizyolojik" seviyelerde, bu bağımsızlık araçları, nöroplastisitenin başlatılması ve sürdürülmesi için gerekli olabilirken, bir nöroinflamatuvar

süreç sırasında aşırı eksprese edildiğinde, nörodejenerasyon ve sinaptik plastisitenin bozulması ile sonuçlanabilir. İkincisi, daha önce önerildiği gibi, sitokinlerin net sinaptik ve nöronal etkisinin, pro- ve anti-inflamatuar moleküller arasındaki sinaptik dengenin sonucunu temsil ettiğini varsaymak mümkündür. Buna göre, hipokampal LTP'nin yaşa bağlı bozulmasının, hem anti-inflamatuar molekül interlökin-4 (IL-4) konsantrasyonunda bir azalma hem de pro-inflamatuar aracı interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) konsantrasyonunda bir artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Nolan ve diğerleri, 2005).

İnterlökin 1 (IL-1) ailesinin tüm üyeleri, düşük veya saptanamayan konsantrasyonlarda beyinde yapısal olarak eksprese ediliyor gibi görünmektedir, ancak yaralanmadan sonra hızla yukarı regüle edilebilirler. Özellikle, monosit ve makrofaj kökenli hücrelerde erken ekspresyon meydana gelirken, daha sonraki ekspresyon astrositlerde, glial hücrelerde, nöronlarda ve vasküler endotelial hücrelerde ve ayrıca istilacı immün hücrelerde görülür (Allan ve diğerleri, 2005). Hem *in vitro* hem de *in vivo* deneysel koşullarda, LTP sırasında IL-1 $\beta$  gen ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı ve IL-1 reseptörlerinin bloke edilmesinin LTP korunumunu bozabileceği gösterilmiştir. Bu veriler, bu sitokinin fizyolojik olarak sinaptik plastisiteye dahil olduğunu göstermektedir (Schneider ve diğerleri, 1998).

IL-1, sinaptik plastik fenomenlerin indüklenmesinde gerekli olduğu N-metil-D-aspartat (NMDA) ve AMPA glutamat reseptörü sinyallemesi; glutamat salınımı; hücre içi kalsiyum konsantrasyonları ve kalsiyum kanal akımlarının modülasyonu; ve kolinerjik sinyalizasyon gibi birkaç anahtar moleküler adımı önemli ölçüde etkiler (Lai ve diğerleri, 2006). Araştırmalar, IL-1'in muskarinik reseptörler yoluyla kolinerjik sinyal transdüksiyon kaskadı ile etkileşime girdiğini göstermiştir; aynı zamanda nikotinik kolinerjik reseptörlerin birleşmesini etkiler ve asetilkolin salınımını modüle eder (Rada ve diğerleri, 1991). Dentat girusta, IL-1 $\beta$ , farmakolojik olarak izole edilmiş NMDA reseptörü uyarıcı post sinaptik potansiyeller üzerinde önemli bir engelleyici etki gösterir. Bununla birlikte, IL-1 $\beta$  aynı zamanda NMDA reseptörünün tirozin fosforilasyonunu artırarak sensitizasyonuna ve sinaptik lokalizasyonuna katkıda bulunur (Viviani ve diğerleri, 2006). IL-1 $\beta$  ayrıca doza bağımlı olarak NMDA reseptör aracılı akımları ve NMDA ile indüklenen hücre içi Ca<sup>2+</sup> artışını artırır. AMPA glutamat reseptörleri ile ilgili olduğu sürece, IL-1 $\beta$ 'nin, NMDA reseptör aktivitesini içeren bir mekanizma yoluyla AMPA reseptör fosforilasyonunu ve yüzey ekspresyonunu seçici olarak düzenleyebildiği gösterilmiştir (Lai ve diğerleri, 2006).

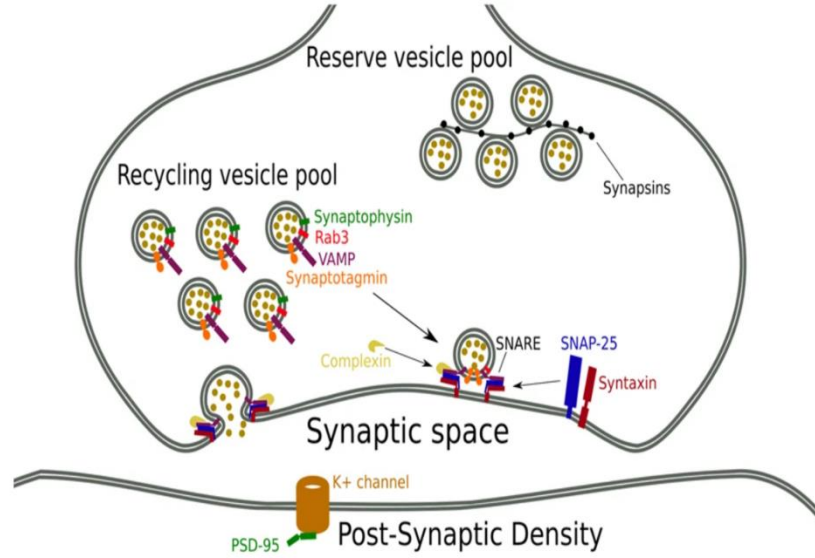
Güçlü bir pro-inflamatuar sitokin olan tümör nekroz faktörü (TNF), glia tarafından uygulanan sinaptik gücün kontrolüne aracılık ederek, bağışıklık sistemi ile sinir sistemi

arasındaki karışma sırasında çok önemli bir etki yapıyor gibi görünmektedir. Özellikle, TNF- $\alpha$ , AMPA glutamat reseptörlerinin hücre yüzeyi ekspresyonunu arttırabilir, sinaptik etkinliği arttırır ve aktivitenin uzun süreli blokajına yanıt olarak bazı homeostatik plastisite biçimlerinin (örneğin sinaptik ölçekleme) ekspresyonunda çok önemli bir role sahiptir (Beattie ve diğerleri, 2002). TNF- $\alpha$ 'nın, nöronlar ve astrositler arasında meydana gelen fizyolojik çapraz iletişim sırasında ve glia-nöron iletişiminin TNF- $\alpha$  aracılı modülasyonu sırasında önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (Bezzi ve diğerleri, 2001).

### 2.3.3. Sinaptik Proteinler

İki nöronun iletişim kurduğu noktaya sinaps denir. Sinyal ileten sinir hücresine presinaptik hücre denir. Sinyali alan hücre, postsinaptik hücredir. Presinaptik hücre, akson dallarının presinaptik terminaller olarak adlandırılan uçlarından sinyaller iletir. Bununla birlikte, iki hücre sinaptik boşluk ile ayrıldığından, presinaptik bir hücre, postsinaptik hücre ile anatomik olarak temas etmez veya iletişim kurmaz. Presinaptik terminallerin çoğu, postsinaptik nöronun dendritlerinde biter, ancak terminaller ayrıca hücre gövdesinde veya daha az sıklıkla alıcı hücrenin aksonunun başında veya sonunda da bitebilir (Kandel ve diğerleri, 2000). Vücutta elektriksel ve kimyasal sinaps olarak sınıflandırılan iki tür sinaps bulunmaktadır. Elektriksel sinapslar, iyonların ve sinyal moleküllerinin hücreden hücreye doğrudan geçişine izin verir. Buna karşılık, kimyasal sinapslar, sinyali doğrudan presinaptik hücreden postsinaptik hücreye iletmez. Kimyasal bir sinapsta (Şekil 6), presinaptik nörondaki bir aksiyon potansiyeli, nörotransmitter adı verilen kimyasal bir habercinin salınmasına yol açar. Nörotransmitter daha sonra sinaps boyunca yayılır ve postsinaptik hücre üzerindeki reseptörlere bağlanır. Nörotransmitterin bağlanması, postsinaptik hücrede postsinaptik hücrenin membran potansiyelinde geçici bir değişikliğe yol açarak bir elektrik sinyali üretir. Kimyasal sinapslar vücuttaki sinapsların çoğunu oluşturur.





**Şekil 6.** Kimyasal sinaps (Osimo, Beck, Reis Marques ve Howes, 2019)

Nöronların sinir terminali, küçük sinaptik veziküller, nörotransmitterlerin depolanması ve saliverilmesinde görev alan özel salgı organelleri ile doludur. Sinapsinler, sinaptik veziküllerin sitoplazmik yüzündeki başlıca periferel proteinler olan dört proteinden oluşan bir ailedir. Sinaptofizin (SYP), sinaptik veziküllerin ana integral membran proteinidir. Bir sinir hücresinin biyolojisinde sinapsinlerin ve sinaptofizinin rolünü anlamak, beyin fonksiyonunun temel mekanizmasını, nörotransmitter salınımını aydınlatmak anlamına gelir. Veziküller, plazma zarının özel bir bölgesi olan "aktif bölge" ile transmitterlerini serbest bırakır. Nörotransmitterler, postsinaptik hücre üzerindeki aynı kökenli reseptörlerine bağlanır ve sinyal yayılır. Bu senaryo, klasik peptit olmayan nörotransmitterler (glutamat, gama aminobütirik asit (GABA), dopamin, serotonin, adrenalin, noradrenalin, asetilkolin) için sinyal iletim yolunu açıklar. Ek olarak, nöronlar tarafından salgılanan ve klasik nörotransmitterlerin sinyallerini modüle eden birkaç nöropeptit vardır. Bu peptitler ağırlıklı olarak farklı bir organelde, büyük, yoğun ana vezikülde depolanır. Yoğun ana vezikül zarlarının protein bileşimi küçük sinaptik veziküllerden farklıdır ve içeriklerini "aktif bölge" dışına salmaktadırlar (Schnatz ve diğerleri, 2021; Thiel, 1993; Yuzaki, 2018). MSS içindeki sinapsların oluşumu, diğer gelişimsel süreçlerde olduğu gibi kesin bir zamansal ve uzaysal dağılım izler. Hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesini sağlayan çok sayıda protein, presinaptik ve postsinaptik membranların fonksiyonel ve yapısal dinamiklerini belirler. Bazı sinaptik proteinler, uyarıcı ve engelleyici nöronlarda zıt bir işleve sahiptir. Sinaptofizin, sinaps uyarıcı veya engelleyici, aksodendritik veya aksosomatik tipine veya veziküllerin içerdiği nörotransmitter tipine spesifik değildir,

ancak sinaps oluşumunun genel modelini gösterir ve bu özgünlüğü tanımlamak için diğer immünreaktivitelere birleştirilebilir. Sinaptogenez, olgun sinaptik veziküller ile terminal aksonal projeksiyonu, depolarizasyonun kimyasal uyarısına yanıt verecek reseptörleri olan bir postsinaptik membranı ve plazma zarının dinlenme membran potansiyelini ve elektriksel uyarılabilirliğini sürdürmek için enerji üreten  $\text{Na}^+$  ,  $\text{K}^+$ -ATPase sisteminin olgunluğunu gerektirir (Laşek ve diğerleri, 2015).

Nöronların, morfolojileri ve yüksek derecede polariteleri nedeniyle hücresel bölümleri daha iyi düzenlenmiştir. Diğer hücre tiplerinde yaygın olan zarla çevrili organellere ve diğer zarsız yapılanmalara ek olarak, nöronlar, tüm sinir sistemlerinde sinyal işlemeyi ve iletimleri belirleyen moleküler aparatlar olan sinapslar olarak bilinen benzersiz bir yarı kapalı membranlı bölme türü içerir. Ne pre- ne de postsinaptik kompartmanlar membran çift katmanları tarafından çevrelenmez. Her sinapsın postsinaptik plazma membranlarının altında, presinaptik hücreler tarafından başlatılan sinyallerin alınmasından, yükseltilmesinden ve depolanmasından sorumlu bir yapı olan postsinaptik yoğunluk (PSD) olarak bilinen protein açısından zengin bir alt bölme bulunur (X. Chen ve diğerleri, 2008). PSD'ler, birkaç yüz nanometre genişliğinde ve ~ 30-50 nm kalınlığında mega düzenekler oluşturan yoğun şekilde paketlenmiş proteinlerden oluşur. Presinaptik bölmelerde, aktif bölge bulunur. Aktif bölgeler, kolayca salınabilen sinaptik veziküllerin yerleştirilmesinde ve hazırlanmasında ve nörotransmitter salınımlarının hızını ve gücünü düzenlemek için presinaptik aktif bölge zarının alt bölgelerinde voltaj kapılı  $\text{Ca}^{2+}$  kanallarının kümelenmesi ve konumlandırılmasında kritik roller oynar (Südhof, 2012).

Sinaptofizin (aynı zamanda p38 olarak da adlandırılır), küçük sinaptik veziküllerin en bol bulunan integral membran proteindir. Sinaptik vezikül membran proteininin %6-8'ini oluşturur. Moleküler klonlama, sinaptofizinin dört transmembran bölgesi olan bir integral membran proteini olduğunu ortaya çıkarmıştır.  $\text{NH}_2$  ve  $\text{COOH}$  terminallerinin her ikisi de bölgeye özgü antikorlarla gösterildiği gibi vezikülün sitoplazmik tarafındadır. Sinaptofizin, tirozin açısından zengin bir tekrarın on kopyası ile uzun bir sitoplazmik  $\text{COOH}$  terminali içerir. Tekrarlar, muhtemelen sinaptik vezikül bağlı c-src kinaz tarafından tirozin fosforilasyonu için yerler içerir. Sinaptofizin beyindeki tirozin kinaz(lar) için en iyi substratlardan biri olmasına rağmen, tirozin fosforilasyonunun fonksiyonel rolü hala bilinmemektedir. Sinaptofizinin sitoplazmik kuyruğu ayrıca  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin bağımlı protein kinaz II tarafından fosforile edilebilir. Bu fosforilasyonun işlevsel anlamı bilinmemektedir.  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin-bağımlı protein kinaz II'nin sinapsin I'e bağlanmasına ilişkin son sonuçlar,

sinaptofizin kuyruğunun ayrıca vezikül-bağlı kinaz ile etkileşime girdiğine dair ilgi çekici hipotezi ortaya koymaktadır. Doğal sinaptofizin, üç ila altı sinaptofizin alt biriminden ve ikinci, tanımlanamayan bir proteinden oluşan bir hetero-oligomer oluşturur. Üç boyutlu yapı için kararsız disülfid bağları gereklidir. Ek olarak, sinaptofizin homo-oligomerleri, daha yüksek dereceli yapılar oluşturmak için diğer vezikül membran proteinleri ile etkileşime girebilir (Cousin, 2021; Johnston ve Sudhof, 1990).

Postsinaptik yoğunluk, uyarıcı sinapsların dendritik dikenleri içinde yoğun bir lokalize alandır ve sinaptik plastisite ile ilişkili reseptörler, kinazlar, yapısal proteinler ve sinyal moleküllerinden oluşur (Cheng ve diğerleri, 2006). Membranla ilişkili guanilat kinaz ailesinin bir üyesi olan postsinaptik yoğunluk proteini-95 (PSD-95), uyarıcı sinapslarda bulunan bir matris proteini, NMDA ve AMPA reseptörlerinin postsinaptik membrana stabilizasyonu, güçlendirilmesi ve trafiği için gereklidir (Kornau ve diğerleri, 1995). PSD-95, nörogelişim sırasında glutamaterjik iletim, sinaptik plastisite ve dendritik diken morfogenezinde yer alan önemli bir bileşendir (Kim ve Sheng, 2004). Gelişim sırasındaki PSD-95 disfonksiyonu, dendritik dikenlerdeki nörolojik bozukluklarla ilişkili sinaps malformasyonlarına katkıda bulunan sinaptik plastik olayları değiştirebilir (Coley ve Gao, 2018).

PSD-95, NMDA ve AMPA reseptörlerinin etkileşimi ve fonksiyonel etkileri nedeniyle nörogelişim sırasında glutamaterjik sinapsların sinaptik plastisitesi ile uzun süredir ilişkilendirilmiştir (Collingridge ve diğerleri, 2013; Dumas, 2005). Uzun süreli güçlenme (LTP) ve uzun süreli depresyon (LTD) gibi sinaptik plastik süreçler, dendritik dikenin sinaptik olgunlaşmasında büyük ölçüde yer alır; bu yüzden, PSD'deki değişiklikler, sinapsın nöropatolojilerine yol açan bütünsel diken oluşumu sürecini tehlikeye atabilir. Bu nedenle, PSD-95, diken oluşumunu ve/veya omurga eliminasyonunu/budamayı kontrol ederek sinaptik gücün düzenlenmesinde rol oynayan anahtar bir bileşen olarak hareket edebilir (Coley ve Gao, 2018).

Glutamat reseptörlerinin sabitlenmesi ve stabilizasyonu sinaps, sinyal molekülleri dahil olmak üzere diğer postsinaptik yoğunluk (PSD) bileşenleri ile etkileşime giren yapı matris proteinleri tarafından kontrol edilir. BDNF'nin sıçan ön beyin sinaptonörozomlarında PSD yapı matris proteini Homer2'yi yukarı regüle ettiği gösterilmiş, bu da nörotrofinin glutamata yanıtta yer alan postsinaptik makineleri güçlendirmedeki bir etkisini ortaya koymuştur (Leal ve diğerleri, 2014).

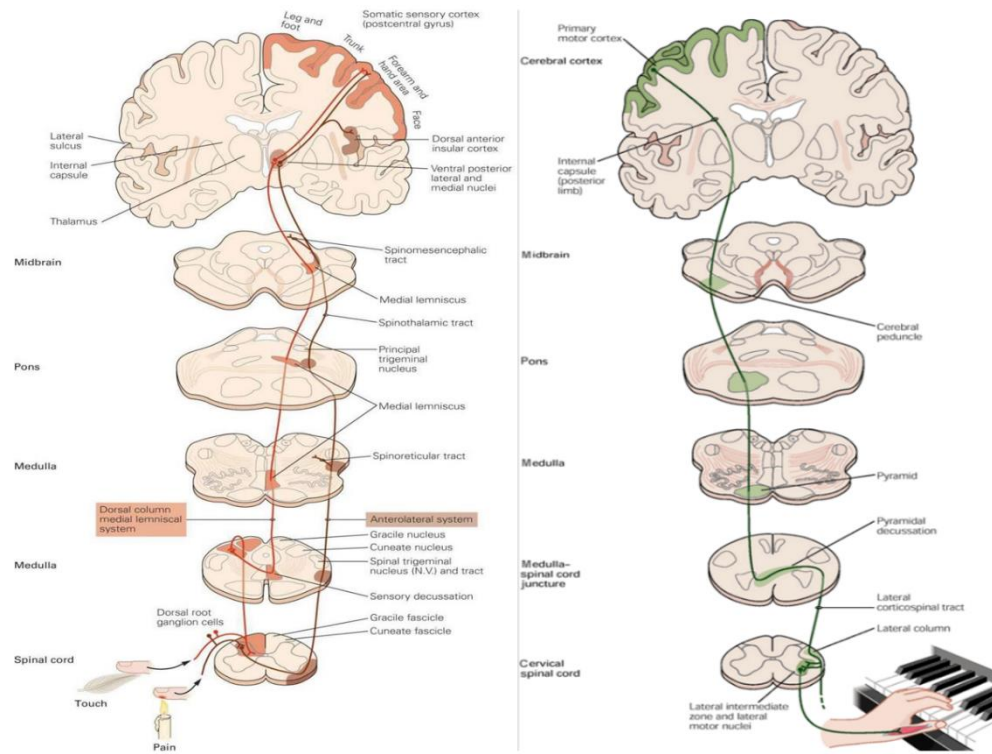
Sinaptik proteinlerin dokularda biyokimyasal ölçümlerle elde edilen konsantrasyonları; nöronal fonksiyonları yansıtan bir parametredir (İ. Abidin ve diğerleri, 2018). Sinaptik protein ekspresyonundaki değişiklikler Alzheimer gibi patolojik durumlarda neokortikal sinaptik disfonksiyon göstergesi olabilir (Counts ve diğerleri, 2006). Ayrıca insan frontal korteksindeki sinaptik gelişim gibi normal durumlar da sinaptik yoğunluğun değişimine bağlıdır. Sinaptik yoğunluk, iki işaretçi molekül olan sinaptik protein sinaptofisin (presinaptik) ve PSD-95 (postsinaptik) seviyeleri ölçülerek belirlenmektedir (Glantz ve diğerleri, 2007). Nörolojik hastalıklarda sinaps miktarındaki değişim için belirleyici olan sinaptik protein ekspresyonu, transgenik hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda da sinaptik değişiklikleri karakterize etmek ve bölgesel tanımlamak için kullanılmaktadır (Gottschall ve diğerleri, 2010).

#### **2.4. Motor Korteks ve Davranış Modelleri**

Nöronlar genel olarak duyuşal, motor ve internöron (ara nöron) olmak üzere üç ana fonksiyonel gruba ayrılır. Duyusal nöronlar vücudun bilgisini taşır. Hem algı hem de motor koordinasyon amacıyla sinir sistemine bilgi taşırlar. Motor nöronlar, beyinden veya omurilikten komutları taşır. Ara nöronlar, spesifik olarak duyuşal veya motor olmayan tüm sinir hücrelerinden oluşan en büyük sınıfı oluşturur. Merkezi sinir sistemi ile duyuşal ve motor nöronların bağlantısını kurarlar.

Motor korteks, beyin sapı ve omurilikteki motor nöronlarla doğrudan bağlantı kuran ve hassas motor hareketler sağlayan piramidal sistemin motor liflerinin ana kaynağıdır. Motor korteks işlevleri genellikle uyum içinde çalışan kas gruplarının bağımsız kontrolüne izin verir (Kandel ve diğerleri, 2000). Motor korteksteki büyük piramidal hücreler, aksonlarını omuriliğin karşı tarafına gönderir ve hedef motor nöronlarını doğrudan aktive edebilirler, ancak beyin sapı veya omurilikteki bir dizi internöron da etkilenir. Bu uzun projeksiyon nöronlarına kortikospinal nöronlar denir. Hareketler üzerindeki kortikal etki, birkaç farklı kanal aracılığıyla, bazal ganglionların (striatum) giriş aşamasına doğrudan projeksiyonlar yoluyla, beyin sapı devreleri yoluyla uygulanan etkiler yoluyla ve ayrıca belirtildiği gibi kortikospinal projeksiyonlar yoluyla doğrudan omuriliğe uygulanır. Beyin sapı, hareketleri başlatabilen ve motor performansı düzeltebilen bir dizi inen yol (rubrospinal, vestibulospinal ve retikülospinal yollar) içerirken, diğerleri spinal devrenin daha ince modülasyonunu sağlar

(Şekil 7). Birincisi, motor kontrolünde gerekli olan milisaniyelik zaman diliminde hızla hareket eder. İkincisinin örnekleri, yavaş ileten ve yavaş hareket eden noradrenerjik ve serotonerjik yollardır. Bu yollar, farklı tipteki nöronların, sinapsların ve omurilik devrelerinin tepkisini belirler. Motor koordinasyonun kortikal kontrolü, bazal gangliyonlar yoluyla olan etkilere ek olarak, hem spinal hem de beyin sapı motor merkezleri üzerindeki doğrudan etkiyle, ayrıca önemli ölçüde çeşitli beyin sapı çekirdekleri üzerindeki paralel etkiyle sağlanır. Korteksten başlatılan hareketlerin yürütülmesi, büyük ölçüde, sinir sisteminin birçok bölümünün ortak çabasıdır. Retikülospinal ve vestibulospinal yollar, duruşun kontrolüne aracılık eder ve birincisi, omurilikte bulunan merkezi model üretici (CPG) aracılığıyla hareketin başlatılmasında yer alır. Memeliler ve primatlar ile frontal lobda fokal lezyonlardan muzdarip hastalar üzerinde yapılan deneylerden yola çıkarak, hareketin kortikal kontrolü, parmakların ve ellerin ince manipülatör becerileri ve ayrıca konuşma gibi usta ve esnek motor koordinasyon için özellikle önemlidir (Grillner, 2013).



Şekil 7. Duyusal ve istemli hareket ile ilgili yollar (Kandel ve diğerleri, 2000)

Farklı kasları kontrol eden motor nöronlar, omurilik boyunca ve beyin sapında farklı motor çekirdeklerde bulunur. Her motor nöron, aksonunu bir kasa gönderir ve sınırlı sayıda kas lifini innerve eder. Kas lifleri ile bir motor nöron, bir motor ünite olarak adlandırılır. Her

motor ünitenin kas lifleri benzer kasılma özelliklerine ve metabolik profile sahiptir. Farklı kaslardaki kas liflerine özgü motor üniteleri bulunmaktadır. Örneğin uzun mesafeli koşuda olduğu gibi sürekli bir çaba için yavaş motor üniteler veya ağır bir nesneyi kaldırma, hızlı patlayıcı hareketler gibi farklı talepler için hızlı motor üniteleri mevcuttur.

Motor nöronlar, farklı motor programlarının veya refleks merkezlerinin internöronları tarafından ve ön beyinle beyin sapından inen yollar tarafından aktive edilir. Böylece, farklı kasları besleyen motor nöronlar, birlikte aktivasyon derecesini ve ayrıca belirli bir kasın motor nöronlarının tam zamanlamasını belirleyen bu farklı kaynaklar tarafından büyük bir hassasiyetle aktive edilebilir.

Birincil somatosensoriyel korteks, somatik duyumların işlenmesinden sorumludur. Bu duyumlar, dokunma, propriyosepsiyon (yani vücudun uzaydaki konumu), nosisepsiyon (yani ağrı) ve sıcaklığın tespit edilmesinden sorumlu olan vücut boyunca konumlandırılmış reseptörlerden kaynaklanır. Dışarıdan gelen bilgiler duyuşal reseptörler vasıtasıyla birincil duyuşal kortekse ulaşır ve daha sonra hippokampal alana iletilir. Buradan hipotalamusa yayılarak duyuşal tepkiyi veya duyuşal ifadeyi başlatır. Talamusun ön çekirdeğine yönelen uyarılar singulat girusa yansıtılır. Duygu, içsel bir durum veya ruh hali olarak bilinçli olarak algılanır. Singulat girus içindeki işlem, retrosplenial korteks yoluyla hipokampusa geri bildirim sağlayarak devreyi tamamlar (Papez, 1937). Ayrıca duyuşal afferentler entorinal kortekste işlenir.

Birincil somatosensoriyel korteks, Alman sinirbilimci Korbinian Brodmann'ın tanımlamalarına dayalı olarak birçok alana bölünmüştür. Brodmann, birincil somatosensoriyel korteksi 3 (3a ve 3b'ye bölünmüştür), 1 ve 2'ye ayırmıştır. Aslında, alan 3 genellikle somatosensoriyel korteksin birincil alanı olarak kabul edilir. Alan 3, somatosensoriyel girdinin çoğunu doğrudan talamustan alır ve bu bilginin ilk işlenmesi burada gerçekleşir. Alan 3b, özellikle dokunma duyumlarının temel işlenmesi ile ilgilenirken, alan 3a, proprioseptörlerden gelen bilgilere yanıt verir. Alan 3b, alan 1 ve 2'ye yoğun bir şekilde bağlıdır. Böylece, alan 3b, dokunma bilgisi için birincil alan görevi görürken, bu bilgi daha sonra daha karmaşık işleme için alan 1 ve 2'ye de gönderilir. Örneğin Alan 1, bir nesnenin dokusunu algılamak için önemli gibi görünürken, alan 2, boyut ve şekli algılamada rol oynuyor gibi görünmektedir. Alan 2 ayrıca propriyosepsiyon ile ilgilidir. Somatosensoriyel korteksin bu alanlarından herhangi birine özgü lezyonlar yukarıda bahsedilen rolleri destekler; örneğin, alan 3b'deki lezyonlar, dokunma duyumlarında yaygın bozukluklara neden olurken, alan 1'deki lezyonlar, nesnelere dokusunu ayırt etmede eksikliklerle sonuçlanır. Birincil

somatosensoryel korteksin dört bölgesinin her biri, o bölgedeki belirli bir yer vücudun belirli bir bölümünden bilgi alacak şekilde düzenlenir. Bu düzenlemeye somatotopik denir ve tüm vücut somatosensoryel korteksin dört bölümünün her birinde bu şekilde temsil edilir. Vücudun bazı bölgeleri (örneğin dudaklar, eller) diğerlerinden daha hassas olduğundan, onlardan gelen duyumları işlemek için daha fazla devre ve korteks gerekir. Bu nedenle, somatosensoryel kortekste bulunan somatotopik haritalar, vücudun son derece hassas bölgeleri, orantısız miktarda yer kaplayacak şekilde bozulur (Purves ve diğerleri, 2008). Duyusal reseptörler hareket kontrolünde önemlidir. Motor kontrolüne duyu katkı birçok farklı bağlamda çok önemlidir. Duyusal kontrol yetersiz kalırsa, çoğu durumda motor performansı düşecektir. Farklı biçimlerde duyu bilgileri olmadan, hareketler genellikle yine de çok daha az mükemmellik ile gerçekleştirilebilir (Grillner, 2013).

Üst motor nöronlar, hücre gövdesi serebrumun motor korteksinde yer alan ve aksonu kortikobulbar ve kortikospinal yolları oluşturan motor nöronlardır. Beyin sapı motor çekirdeklerinde ve spinal sinirin ön kökünde bulunan alt motor nöronlar, doğrudan iskelet kaslarını innerve eder. Üst motor nöronlar alt motor nöronlara rostraldır ve alt motor nöronlar üzerinde doğrudan veya dolaylı supranükleer kontrol uygular. Serebral kortekste, üst motor nöronlar, sırasıyla ek motor alan (bazen ikincil motor korteks olarak adlandırılır) ve premotor korteks olarak alt bölümlere ayrılan birincil motor korteks ve premotor alanlarda bulunur. Betz hücreleri (dev piramidal nöronlar), birincil motor korteksin 5. tabakasındaki ayrı bir büyük motor nöron grubudur ve kortikospinal yollarda aksonları olan tüm birincil motor nöronların sadece küçük bir bölümünü temsil eder. Birincil motor kortekste özgün motor nöronlar, özgün hareketlere hizmet eden küçük iskelet kas gruplarının kasılmasını başlatır ve kontrol eder. Serebral korteksin tüm motor alanı, motor planlama ve kas hareketinin programlanması dahil olmak üzere en yüksek istemli kas hareketi seviyelerini kontrol eder. Motor alanlardan gelen aksonlar kortikospinal ve kortikobulbar yolları oluşturur. Primer motor kortekste nöronlardan kaynaklanan aksonlar, tüm kortikospinal ve kortikobulbar yolların sadece üçte birini oluşturur. Bunların arasında, Betz hücre aksonları, yolun %3-5'ini oluşturur ve birincil motor korteksten kalan lifler, birincil motor korteksin 5. tabakasındaki diğer nöronlardan kaynaklanır. Bu yollardaki aksonların bir diğer üçte biri, ek motor ve lateral premotor korteksi içeren Brodmann alan 6'dan türer. Kalan üçte birlik kısım somatik duyu korteksten ve bitişik temporal lob bölgesinden kaynaklanır (Fearon ve diğerleri, 2021).

Birincil motor korteks, organize bir hareket temsili haritası içerir. El kullanımını etkileyen ortopedik bozukluklar, nörolojik bir hasar olmasa bile motor kortekste aktivasyonun

azalmasına neden olabilir. İnsan ve hayvan çalışmaları, sürekli olarak kullanım eksikliği ile kortikal aktivitenin azaldığını göstermiştir. Beyin modelindeki bu değişiklikler hızla gerçekleşir. Örneğin, 12 saat kadar kısa bir süre kol hareketsiz kalması kişinin motor performansını düşürmeye başlar. Sert el, ödem ve doku yapışması ile esasen “hareketsizleştirilir” ve bu nedenle daha az kullanılır ve/veya günlük aktiviteler için uygun olmayan bir hareket paterniyle kullanılır. Bu gerçekleşirken, normal, sinerjik hareketin motor ve duysal kortikal temsili azalır ve yerine uyumsuz bir model alır. Anormal hareket kalıpları zamanla tekrarlandığında, motor kortekste değişikliklere yol açarlar. Sertlik devam ettikçe, bu nöral devreler güçlendirilir ve değiştirilmesi daha zordur. Alternatif olarak, sinirbilim plastisite literatürü “kullan ya da kaybet” ve “kullan ve geliştir” kavramlarını vurgulamıştır. Tekrarlanan, zorlu hareketlerin sinir ağlarını geliştirebileceği ve motor korteks temsiliğini genişletebileceği kanıtlanmıştır. Bu şekilde, yoğun olarak uygulanan davranış, belirli bir kas grubunun beyindeki temsiliğini boyutunu artırabilir (Midgley ve Pisano, 2021).

#### **2.4.1. Deney hayvanlarında duysal-motor davranış testleri**

Davranış deneylerinin tasarımında yer alan birçok faktör vardır. Bu faktörler, bir model organizma seçmeyi, davranışsal bir paradigmayı seçmeyi, bireyler arasındaki değişkenliği azaltmayı ve hayvan davranışını insan davranışı ve hastalığı için yararlı bir model olarak doğrulamayı içerir. Bir hayvanın motor ve vestibüler sistemlerinin gücünü test etmek için motor koordinasyon ve denge testleri kullanılır. Duyu-motor yeterliliğinin değerlendirilmesi, hayvan davranışının değerlendirilmesinin önemli bir parçasıdır. Duyusal motor performansının ölçülmesi, duysal veya motor süreçlerin araştırmalarında açık bir öneme sahiptir; bununla birlikte, deneysel manipülasyonların sensorimotor performans üzerindeki etkileri davranışsal sinirbilim için daha geniş etkilere sahiptir çünkü davranışsal deneyler tipik olarak duysal bilgilere motor tepkilerini ölçer. Bu nedenle, diğer nörobiyolojik süreçleri değerlendirmek için tasarlanmış davranışsal deneylerin sonuçları, sensorimotor fonksiyon üzerindeki eşlik eden etkiler göz önüne alınmadan genellikle uygun şekilde yorumlanamaz. Örneğin, bir lezyon veya genetik manipülasyon, radyal kol labirenti gibi bir uzamsal bellek testinde performansı bozarsa, bu bozulma, duysal-motor eksikliklerin sonucu olmadığı ilk kez kanıtlanmadıkça, bilişsel işlev bozukluğunun kanıtı olarak yorumlanamaz. Ayrıca, manipülasyonların sensorimotor etkileri, hayvan modellerinde, ölçülmesi daha zor olan etkilerin yerine geçenler olarak sıklıkla kullanılabilir ve sensorimotor ölçümlerin



nispeten basit varyasyonları, biliş ve duygu dahil olmak üzere diğer davranışsal alanlarda performans göstergeleri olarak kullanılabilir (Curzon ve diğerleri, 2009).

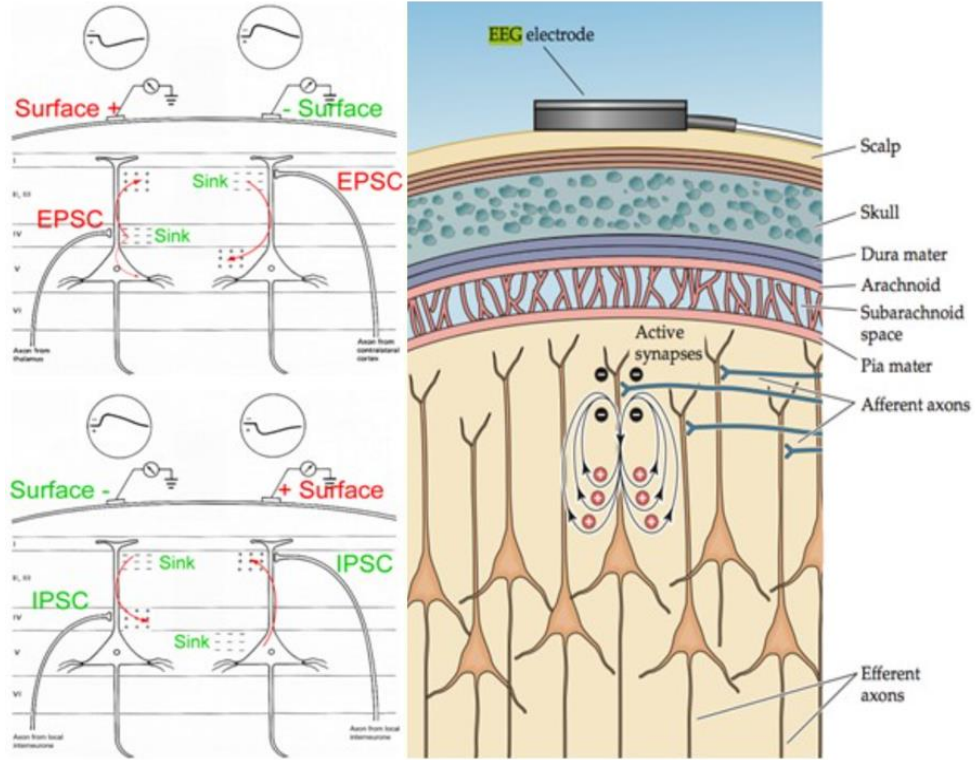
Duyusal-motor performansların değerlendirilmesinde kortikal fonksiyonla ilişkili olan başlıca davranış deneyleri; silindir testi, telde asılı kalma testi ve yapışkandan kurtulma testidir. Telde asılı kalma testi, nöromüsküler açıkları ölçmek için kullanılır. Bir araştırmacı, bir kemirgeni bir kafes kapağına yerleştirir, kemirgen teli kavrar. Araştırmacı daha sonra kapağı nazikçe çevirir, böylece kemirgen baş aşağı asılı kalır. Düşmeyi önlemek için kemirgen, hem denge hem de kavrama kuvveti gerektiren teli kavrar. Araştırmacı, kemirgen yastıklı bir yüzeye düşmeden önce geçen süreyi ölçer. Normal bir kemirgen birkaç dakika baş aşağı asılı kalabilir, ancak deneysel amaçlar için genellikle 60 saniyelik bir süre kullanılır (Carter ve Shieh, 2015). Silindir testi, kemirgenlerin ön ayak kullanım asimetrisine neden olan bir dizi yaralanma modelinde duysal-motor işlevini değerlendirmek için kullanılabilen spontan ön ayak kullanımını ölçer. Bu testte, fare bir cam silindire yerleştirilir ve yukarı kalkıp silindir duvarına temas etme sayısı ölçülür. Yavaş çekimde kaydedilen videolarda duvar dokunuşları daha sonra bir gözlemci tarafından sol, sağ veya her iki pati için puanlanır. Sonuçlar, toplam dokunuş sayısına göre her bir pençe kullanımının yüzdesi olarak ifade edilir (Schallert ve diğerleri, 2000). Silindir testinin uygulanması kolay ve diğer davranış testlerinin tespit edemediği motor bozuklukları tespit etmede hassas olduğu bulunmuştur. Öte yandan, video kayıtlarının analizi zaman alıcıdır ve fareler silindirin dikey yüzeyini keşfetmeye olan ilgilerini kaybedeceğinden test sıklıkla tekrarlanamaz (Lundblad ve diğerleri, 2002). Yapışkandan kurtulma testi, pençe ve ağızla ilgili duysal ve motor kusurların objektif bir değerlendirmesini sağlar. Farelerde kullanılmak üzere, prosedürün birkaç adımının uyarlanması gerekir. Örneğin, farelerdeki kullanıma kıyasla, fare pençesinin çok küçük avuç içi yüzeyi nedeniyle, yapışkan bant şeritlerinin dikdörtgen şeklinde küçük olması gerekir. Buna göre, herhangi bir değişiklik sonuçların doğruluğu için zararlı olacağından, yapışkan şeritlerin boyutunun doğru şekilde yeniden üretilebilirliği birincil öneme sahiptir. Ayrıca, sıçanın kullanımı kolay bir hayvan olduğu bilinmesine rağmen, fareleri yönetmek genellikle daha zordur. Bu kritik bir noktadır ve deney, hayvanın stresinde bir artıştan mümkün olduğunca kaçınacak ve aynı zamanda yapışkan bandın doğru konuma yerleştirilmesine izin verecek şekilde gerçekleştirilmelidir (Bouet ve diğerleri, 2009).

## 2.5. Elektrokortikografi ve Beyin Dalgaları

Beyindeki nöronal aktivite, hücre dışı ortamda ölçülebilen potansiyel değişimlerine yol açar. Hücre dışı sinyalin en büyük katkısı sinaptik transmembran akımı olmasına rağmen,  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^{2+}$  diken deşarjları, voltaj ve ligand kapılı kanallardan iyonik akımlar ve intrinsik membran salınımları dahil olmak üzere diğer kaynaklar hücre dışı alanı önemli ölçüde şekillendirebilir. Son zamanlarda geliştirilen veri işleme araçları ve hesaplamalı modelleme ile birleştirilen hayvanlarda yüksek yoğunluklu alan aktivitesi kayıtları ve insanlarda subdural grid kayıtları, nöronların işbirliği davranışları, ortalama sinaptik girdileri ve ani çıktıkları hakkında bilgi verebilir ve bu süreçlerin hücre dışı sinyale nasıl katkıda bulunduğunu anlamamıza yardımcı olabilir (Buzsáki ve diğerleri, 2016).

Fizyolojik durumlarda, sinaptik aktivite genellikle membranda meydana gelen akımların en önemli kaynağıdır. Sinaptik akımların yerel alan potansiyeline katkıda bulunduğu fikri, birçok ayrı bölmedeki hücre dışı akımların ölçülebilir bir sinyal oluşturmak için zamanında üst üste binmesi gerektiği ve bu örtüşme en kolay sinaptik akımlar gibi nispeten yavaş olaylar için elde edildiği fikrinden kaynaklanmaktadır (Logothetis ve Wandell, 2004). Bir nöronun dendritleri ve soması, elektriksel olarak iletken bir iç kısmı nispeten yalıtkan bir zar ile çevrili, yüzlerce ila onbinlerce sinaps bulunan ağaç benzeri bir yapı oluşturur. Sinaptik AMPA ve NMDA reseptörleri üzerinde etkili olan nörotransmitterler, sinapsta içe doğru akan sırasıyla  $\text{Na}^+$  veya  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarını içeren uyarıcı akımlara aracılık eder. Hücre dışından hücre içi boşluğa bu katyon akını, lokal hücre dışı bir akıya yol açar. Sistem nörobilimi ile ilgili zaman sabitleri içinde etkili elektronötralite elde etmek için, hücre dışı lavabonun hücre dışı bir kaynak tarafından, yani nöron boyunca hücre içi boşluğa, hücre dışı boşluğa zıt bir iyonik akıyla "dengelenmesi" gerekir; bu akıya pasif akım veya dönüş akımı denir. Özellikle, GABA alt tipi A (GABAA) reseptör aracılı inhibitör akımların tipik olarak  $\text{Cl}^-$  denge potansiyeli dinlenme membran potansiyeline yakın olduğu için hücre dışı alana çok az katkıda bulunduğu varsayılır (Bartos ve diğerleri, 2007; Koch, 1999). Bununla birlikte, aktif olarak uyarılan nöronlarda zar depolarize edilir ve bu nedenle inhibitör (ve genellikle hiperpolarize edici) akımlar önemli transmembran akımları üretebilir (Bazelot ve diğerleri, 2010; Trevelyan, 2009). Küçük bir hacimde nöron popülasyonunun hemen hemen hepsinin veya en azından temsili bir kısmının aktivitesi, yeterince büyük bir kayıt yeri yoğunluğu ile izlenebilir. Mevcut kaynak ile kayıt elektrodu arasındaki yumuşak ve sert dokuların çarpık ve zayıflatıcı etkilere sahiptir. Bu yüzden yüzeyel elektroda yakın sinir

hücrelerinin katkısı elektroensefalografiye (EEG) daha çoktur. EEG sinyalinin en önemli kaynağı piramidal hücrelerdir (Şekil 8). Piramidal hücreler korteksin tüm katmanları boyunca dikey ve birbirine paralel uzanır. Tek bir piramidal hücre binlerce eksitator ve inhibitör sinapsa sahiptir.



**Şekil 8.** EEG kaydı ile piramidal hücrelerin elektriksel aktivitesinin izlenmesi (Darbas ve Lohrengel, 2019)

EEG, beynin elektriksel aktivitesinin araştırılması için en eski ve en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Tek bir elektrot tarafından kaydedilen kafa derisi elektroensefalogramı, 10 cm<sup>2</sup> veya daha fazla bir alana entegre edilmiş yerel alan potansiyelinin (LFP) uzamsal olarak düzgünleştirilmiş bir versiyonudur. Çoğu koşulda, katkıda bulunan tek nöronların ateşleme şekilleri ile çok az belirgin bir ilişkisi vardır (Nunez ve Srinivasan, 2006) ve bunun nedeni büyük ölçüde mevcut kaynak ile kayıt elektrodu arasındaki yumuşak ve sert dokuların çarpık ve zayıflatıcı etkilerinden kaynaklanmaktadır. Yakın zamanda kullanılmaya başlanan “yüksek yoğunluklu” EEG kayıtları, EEG'nin uzamsal çözünürlüğünü önemli ölçüde iyileştirmiştir (Ebersole ve Ebersole, 2010; Tucker, 1993).

EEG, manyetoensefalografi (MEG) ve elektrokortikografi (ECoG) esas olarak korteksin yüzeysel katmanlarında meydana gelen elektriksel aktiviteyi örneklemektedir. Daha derin

konumlardaki elektrik olayları, LFP'yi ('mikro-EEG' olarak da bilinir) kaydetmek için beyne metal veya cam elektrotlar veya silikon probalar sokularak araştırılabilir. Mikroelektrot kullanarak, hem aksiyon potansiyellerini hem de küçük bir nöronal hacimde diğer membran potansiyeli kaynaklı dalgalanmaları içeren geniş bant sinyalinin (doğru akım 40 kHz'e) kaydedilmesi, kortikal elektrogenezin incelenmesi için en bilgilendirici sinyali verir. Kayıt alanları arasında kısa mesafeli ve beyin dokusu üzerinde minimum etkiye sahip olan birçok gözlem noktasına, yüksek uzamsal çözünürlük elde etmek için ihtiyaç duyulmaktadır. Prensipite, küçük bir hacimde nöron popülasyonunun hemen hemen hepsinin veya en azından temsili bir kısmının spayk aktivitesi, yeterince büyük bir kayıt yeri yoğunluğu ile izlenebilir. Hücre içi dinamiklerle ilgili ek ipuçları hücre dışı aksiyon potansiyellerinin dalga formu değişikliklerinden çıkarılabilir (Gold ve diğerleri, 2006; Henze ve diğerleri, 2000). Bu alandaki ilerleme, giderek artan sayıda kayıt alanına sahip mikro işlenmiş silikon bazlı problemlerin bulunmasıyla hız kazanmıştır (Buzsáki ve diğerleri, 2016).

Nöron popülasyonundaki postsinaptik ve aksiyon potansiyelleri, ECoG tarafından tespit edilen elektriksel aktiviteden sorumludur. Bu kayıtlar rastgele görünse de, beyin alanına, duygusal duruma ve bilince göre değişen serebral ritimleri tanımlamak mümkündür. En önemli beyin ritimleri şunlardır: delta (0,5–4 Hz); teta (4-8 Hz); alfa (8-14 Hz); ve beta (14-30 Hz). Daha yüksek frekans dalgalarının daha fazla katkısı, beyin aktivitesinin hızını artırır ve daha fazla uyarılabilirliği destekler. Elektriksel aktivitedeki değişiklikler epilepsi gibi bozukluğu gösterebilir (Hall, 2014).

ECoG, doğrudan serebral korteksten elektriksel aktivitenin intraoperatif kaydından oluşur. 1940'lı yıllarda Penfield ve Jasper tarafından geliştirilen ECoG, epileptojenik kortikal bölgenin preoperatif, noninvaziv değerlendirme ile oluşturulandan daha ayrıntılı olarak tanımlanmasına yardımcı olmak için kullanılır. Elektriksel stimülasyon ile birlikte, fonksiyonel kortikal alanları, şebeke stimülasyonu çalışmalarıyla aynı şekilde tanımlamak için kullanılır. Son olarak, ECoG rezeksiyonun bütünlüğünü değerlendirmek ve çıkarılması düşünülebilecek rezidüel epileptiform aktivite alanlarını belirlemek için ilk rezeksiyonu takiben gerçekleştirilir. ECoG'de çeşitli elektrot düzenlemeleri kullanılabilir. Birçok merkez, kafatasına bağlı, kraniyotomi sonrası korteksin üstünde çeşitli pozisyonlara yönlendirilebilen bir dizi elektrot (genellikle 16) içeren bir taç kullanır.

ECoG, klinik ortamlarda çeşitli kortikal olayları incelemek için giderek daha popüler bir araç haline gelmektedir (Engel ve diğerleri, 2005). Elektrik aktivitesini doğrudan serebral korteksin yüzeyinden kaydetmek için subdural platin-iridyum veya paslanmaz çelik

elektrotlar kullanır, böylece sinyal bozucu kafatası ve ara dokuyu atlar. Kaydedilen elektrik alanının uzamsal çözünürlüğü, esnek, yakın aralıklı subdural grid veya şerit elektrotlar kullanılarak önemli ölçüde iyileştirilebilir ( $<5 \text{ mm}^2$ ) (Bazhenov ve diğerleri, 2011).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Cihaz ve Malzemeler

Tez çalışmasında kullanılan laboratuvar cihazları, malzemeler ve ait oldukları firmalar Tablo 1’de listelenmiştir.

**Tablo 1.** Cihaz ve malzemeler

Laboratuvar cihaz ve malzemeleri	Firma
Cam tüpler	Axygen
Derin Dondurucu (-80°C)	Thermo Electron Corporation
Elektroforez Güç Kaynağı	Thermo EC250-90
Elektroforez Tankı	Thermo EC300
Ependorf	Greiner Bio-one
Hassas Terazi	Mettler Toledo AB204-S
Havalandırılmalı Kafes Sistemi	RAIR IsoSystem
İnkübatör	Shel Lab, Heraeus
Jel Görüntüleme Sistemi	Gel Logic 200 Imaging System
Mikrodalga Fırın	Altus ALMD 171
Mikroplaka	Greiner Bio-one
Mikroplaka Okuyucu	VERSA Max, Molecular Devices
Mikroplaka Yıkayıcısı	BioTek ELx 50
Otomatik Pipet, 0,5-10 µL	Socorex
Otomatik Pipet, 2-20 µL	Axypet
Otomatik Pipet, 20-200 µL	Axypet

Otomatik Pipet, 10-100 µL	Axypet
pH metre	Hanna Instrument
Pipet uçları	Isolab
Santrifüj	Eppendorf
Termocycler	Applied Biosystems
Termomikser	Thermo Scientific
Ultrasonik homojenizatör	Sonics Vibracell
Vorteks	IKA Vortex Genius 3
Stereotaksik çerçeve	World Precision Instruments
Amplifikatör	A-M Systems
A/D çevireç	Axon CNS Molecular Devices

### 3.1.2. Kimyasal Maddeler

Kullanılan kimyasal maddeler ve ait oldukları firmalar Tablo 2’de verilmiştir. Tüm kimyasallar firmalardan mümkün olan en saf hallerinde temin edildi.

**Tablo 2.** Kimyasallar

Kimyasallar	Firma
Agaroz	Sigma-Aldrich (A.B.D.)
Aprotinin	Phoenix Pharmaceuticals (A.B.D.)
Deoksinükleotid (dNTP)	Promega (A.B.D.)
Etidyum bromür	Sigma-Aldrich (A.B.D.)
Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)	Merck (Almanya)

Thermus aquaticus taq polimeraz	Promega (A.B.D)
Jelatin	Sigma-Aldrich (A.B.D.)
KCl	Sigma-Aldrich (A.B.D.)
Leupeptin	Phoenix Pharmaceuticals (A.B.D.)
MgCl <sub>2</sub>	Merck (Almanya)
NP-40	Sigma-Aldrich (A.B.D.)
PCR buffer	Promega (A.B.D)
PCR MgCl <sub>2</sub>	Promega (A.B.D)
Proteinaz K	Biolabs (A.B.D.)
Sığır serum albumin	Sigma-Aldrich (A.B.D.)
Tween 20	Fisher Scientific (A.B.D)
Tris pH 8.3	Merck (Almanya)
Triton X-100	Sigma-Aldrich (A.B.D.)
Üretan	Sigma-Aldrich (A.B.D.)

BDNF ileri primer (1236), Neomisin ileri primer (1237), BDNF-Neomisin geri primer (1238) PCR primerleri Karadeniz Teknik Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Dr. Öğretim Üyesi Bayram Toraman tarafından tasarlanmıştır (Tablo 4).

### 3.1.3. Kitler

Çalışmada kullanılan kitler, katalog, lot numaraları ve alındıkları firmalar Tablo 3’de verilmiştir.



**Tablo 3. Kitler**

Kit	Katalog no.	Lot no.	Firma
Mouse SYP ELISA kiti	E-EL-M1105	54DKLFCEH	Elabscience (A.B.D.)
Mouse DLG-4 ELISA kiti	SEG168Mu	L190120340	USCN (Çin)
Mouse TNF- $\alpha$ ELISA kiti	E-EL-M0049	33JUTNM2VP	Elabscience (A.B.D.)
Mouse IL-6 ELISA kiti	E-EL-M0044	IAPDLLKG3D	Elabscience (A.B.D.)
BCA Protein Miktar Tayini Kiti	71285-3	-	Merck Millipore (A.B.D.)

### 3.1.4. Deney Hayvanları

C57BL6/J ırkı BDNF heterozigot (+/-) ve WT (wild type- doğal fenotip) ortalama 20-25 gr ağırlığında beş haftalık erkek fareler kullanılmıştır. Deney davranış ve biyokimyasal araştırmalar için birinci aşama, elektrofizyolojik araştırmalar için ikinci aşama olacak şekilde planlandı. Bu yüzden Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinden KTÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na yapılan birinci aşama 2018/42 ve ikinci aşama 2019/495 protokol numaralı başvurularının onaylanması ile temin edilmiştir.

### 3.2. Yöntem

Çalışmada önceden genotiplendirilmiş C57BL6/J ırkı fareler kullanıldı. Aynı hayvanlardan hedeflenen bütün veriler elde edilemeyeceğinden dolayı çalışma iki aşamada gerçekleştirildi:

1. Aşama; 16 hafta diyet uygulaması ve sonrasında gerçekleştirilen davranış ve biyokimya araştırmaları
2. Aşama; 6 hafta diyet uygulaması ve sonrasında gerçekleştirilen elektrofizyolojik araştırmalar.

İki aşamalı olarak planlanan deneyde genotiplendirilen fareler kendine özel havalandırılmalı (IVC) fare kafeslerine konularak çalışmanın ilk aşamasında 16 hafta boyunca ikinci aşamasında ise 6 hafta boyunca yüksek kolesterolü diyetle (YKD) (Research Diets,

D12109C, USA) ad libitum beslenmişlerdir (Han, 2018). Uygulanan yüksek kolesterol diyeti, sıradan kazein ve %1,25 ilave kolesterol içeren ve %20 Kcal protein, %40 Kcal yağ ve %40 Kcal karbonhidrattan oluşan yüksek yağlı kemirgen diyetidir (Research Diets, D12109C, USA). Kontrol grubuna ise standart fare diyeti (SD) verilmiştir. Fareler,  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  çevre sıcaklığı, 12/12 saat aydınlık/karanlık siklusunun sağlandığı, bağıl nem oranı (40-50%) ve havalandırılması kontrol edilen semiklimatize laboratuvar koşullarında bulundurulmuşlardır. İlk aşamada uygulanan diyet protokolünden sonra tüm farelere davranış deneyleri uygulanmış vedekapite edilen deneklerin korteks dokuları alınarak biyokimyasal çalışmalar yapılana dek -80 °C' de saklanmıştır. İkinci aşamada ise uygulanan diyet protokolünden sonra tüm farelerden elektrokortikografi ölçümleri alınmıştır.

### **3.2.1. Genotiplendirme**

Kuyruk uçlarından alınan dokular tek tek 1.5 ml'lik ependorflara konuldu. 190 µl lizis tampon çözeltisi (50 mM KCl, 10 mM Tris pH8.3, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1 mg/ml jelatin, %0.45 nonidet P-40, %0.45 Tween 20) ve 10 µl proteinaz K ile hazırlanan solüsyondan her bir doku örneğine 200 µl eklendi. Termomikserde bir gece 55°C'de sonra 30 dakika 95°C'de inkübe edilen örneklerden homojenat elde edildi. Daha sonra ayrı ayrı BDNF ve neomisin primerlerini içeren iki karışım (Tablo 4,5) hazırlandı. PCR için 19 µl karışım üzerine 1 µl doku homojenatı eklenerek ısıl döngüleyicide gerekli protokol (Tablo 6) uygulandı. Bu sırada bir yandan 100 ml Tris-asetik asit-EDTA (TAE) elektroforez tamponu (242 g Tris,37.2 g Na<sub>2</sub>EDTA.2H<sub>2</sub>O, 57.1 ml asetik asit, deiyonize su, pH 8.5) içerisinde 2 gr agaroz mikrodalga fırında 40 saniye çözdürüldükten sonra 5 µl etidyum bromür eklendi. Tarakları yerleştirilmiş olan jel kabına dökülüp donması beklendi. Donan jelden taraklar çıkarıldı ve kuyucuklar oluşturuldu. Protokol sonunda gliserol boya (4 µl) ile boyanan örnekler hazırlanan agaroz jele her bir kuyucuğa 14 µl hacimde olacak şekilde yüklendi. 100 volt 300 amperde 30 dakika örnekler yürütüldü. Daha sonra jel önce UV ışıktta görüntülenerek sonra fotoğrafı çekilerek bantların yerleri tespit edildi. Sadece BDNF bandının varlığı o hayvanın sadece BDNF genine sahip olduğunu yani BDNF (+/+) homozigot genotipinde olduğunu göstermektedir (Resim 1). Neomisin bandının varlığı (+/-) heterozigotluğun belirtecidir (Korte ve diğerleri, 1995).

**Tablo 4.** Primerler

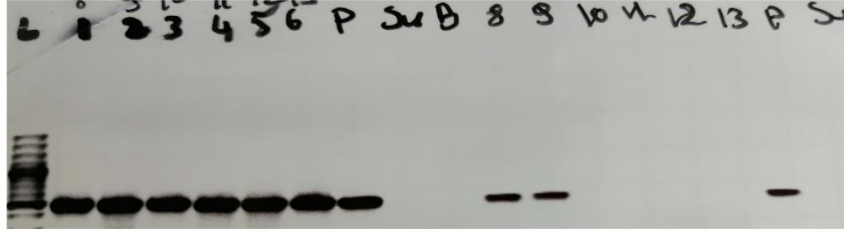
Hedef gen	Primer dizisi
BDNF ileri (1236)	CAACGAAGAAAACCATAAGGAC
Neomisin ileri (1237)	GTGATATTGCTGAAGAGCTTGG
BDNF-Neomisin geri (1238)	GGTCAGTGTACATACACAGGAAG

**Tablo 5.** PCR karışım içeriği

Madde	Miktar ( $\mu$ l)
Tampon (10X) fermantaz	4
Magnezyum klorür (25 mM)	1.2
DNTP (10 mM)	0.5
İleri primer	0.5
Geri primer	0.5
Deiyonize su	12.05
Thermus aquaticus Polimeraz (5U/ $\mu$ l)	0.25
DNA	1

**Tablo 6.** PCR prosedürü

Aşamalar	Sıcaklık/süre
Ön denatürasyon	94°C/5 dakika
Denatürasyon	94°C/30 saniye 40 döngü
Yapışma	58°C/30 saniye 40 döngü
Uzama	72°C/1 dakika 40 döngü
Son uzama	72°C/7 dakika
Bekleme	10°C/ $\infty$



**Resim 1.** PCR işlemi sonrası yürütülen jelde gözlenen BDNF ve Neomisin bantları

Genotiplendirilen 20-25 g ağırlığındaki WT ve BDNF heterozigot transgenik (+/-) fareler kullanılarak aşağıdaki gruplar oluşturuldu. Farelere yüksek kolesterolü diyet (YKD) (Research Diets, D12109C, USA) *ad libitum* 16 hafta boyunca uygulandı. Benzer şekilde kontrol grubuna ise standart fare diyeti (SD) verildi. Oluşturulan dört çalışma grubu;

- I. Grup: 9 adet Wild Type, Standart Diyet, WT
- II. Grup: 8 adet Wild Type, Yüksek Kolesterolü Diyet, WT YK
- III. Grup: 6 adet BDNF heterozigot transgenik (+/-), Standart Diyet, BDNF
- IV. Grup: 7 adet BDNF heterozigot transgenik (+/-), Yüksek Kolesterolü Diyet, BDNF YK

Tüm gruplar standardizasyon için 15 gün süre ile standart fare yemi ile beslendi. Diyet protokolü sonunda deneklerin ağırlıkları tekrar tartılıp kaydedildi.

### 3.2.2. Davranış testleri

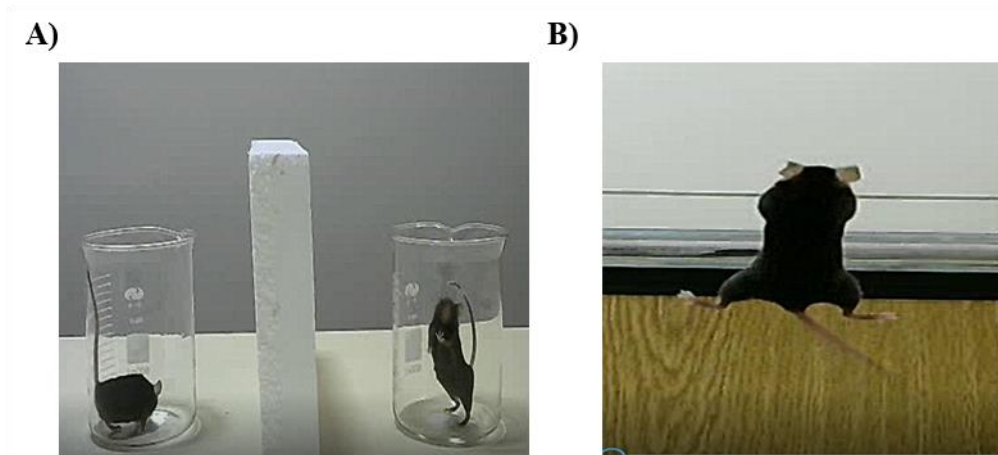
Duyusal-motor (sensory-motor) sinir fonksiyonlarını test etmek amacıyla deneklere üç ayrı davranış deneyi uygulandı. Bu davranış testleri genel olarak yüksek kolesterolü diyetle ilgili verilen tepkiyi incelemek için yapıldı. Bu deneyler hayvanların kendi habitatlarında gerçekleştirilmiş olup deney başından itibaren hayvanlarla ilgilenen araştırmacı tarafından yapıldı.

### 3.2.2.1. Silindir testi (cylinder test)

Silindir testinde fare 12 cm cam silindir beher içerisine konuldu ve 180 saniye süre içerisinde arka ayakları üzerinde kalkma ve cam çeperlere ön ayaklarını dokundurma sayısına göre skorlaması yapıldı. Deneme 30 dakika ara ile 2 defa tekrar edildi (Resim 2A).

### 3.2.2.2. Telde asılı kalma testi (hang wire test)

Fare gergin ve 0,5 cm kalınlığında bir telin üzerine bırakıldı. 120 s. boyunca tel üzerinde dengede kalma ve telde tutunma davranışı skorlandı. Telden düşmesi halinde 35 cm alta yerleştirilmiş yastığın üzerine düştü. Deneme 1 saat arayla 2 defa tekrar edildi (Resim 2B).



**Resim 2.** Davranış testleri A) Silindir testi B) Telde asılı kalma testi

### 3.2.2.3. Yapışkandan kurtulma testi (adhesive removal test)

Yapışkandan kurtulma testinde farelerin ön patileri avuç içlerine 3 mm x 3 mm boyutlarında renkli bir kâğıt yapıştırıldı. Fare bu yabancı objeyi hissedip ondan kurtulma eğilimindedir. Farenin davranışları 3 dakika boyunca gözlenerek, avuç içini ağızına götürüp yapışkan kâğıda temas süresi ve yapışkan kâğıtlardan kurtulma süresi tespit edildi (Resim 3).



**Resim 3.** Yapışkandan kurtulma testi

Davranış deneyleri kamera ile kayıt edildi. Skorlama ve analizler daha sonra görüntülerden yapılarak teyit edildi. Davranış deneyleri sonunda hayvanlar dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Biyokimyasal incelemelerde kullanılmak üzere beyin dokusu hızlıca çıkartılıp kortikal dokuları disekte edildi, sağ ve sol kortikal dokular ayrı ayrı dondurularak  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Her bir deneğin sağ ve sol korteksleri ayrılmış olan dokularından sol korteks sinaptik proteinler sinaptofizin (SYP), postsinaptik yoğunluk proteini 95 (PSD-95 ya da DLG-4, discs large homolog 4) ve inflamasyon işaretçileri tümör nekroz faktörü alfa ( $\text{TNF-}\alpha$ ), interlökin 6 (IL-6) miktarı tespiti için yapılan ELISA testlerinde; sağ korteks ise oksidatif stres parametreleri ölçümlerinde kullanıldı.

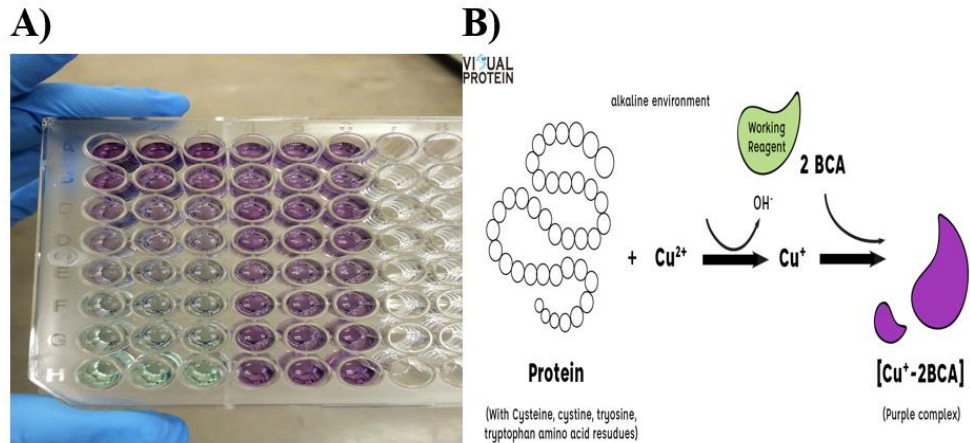
### **3.2.3. Biyokimyasal İncelemeler:**

#### **3.2.3.1. Homojenizasyon:**

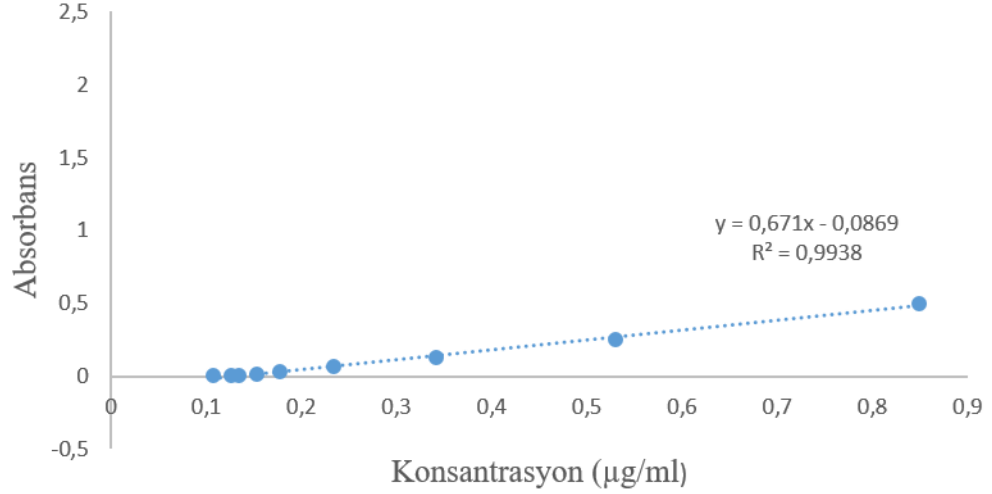
Sol kortikal dokular tartılarak 1 mg dokuya 10  $\mu\text{l}$  hacminde hazırlanan homojenizasyon çözeltisi (137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1.5 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -monobazik, 7.7 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -dibazik, %1 Triton X-100, 5 $\mu\text{g/ml}$  aprotinin, 5 $\mu\text{g/ml}$  leupeptin, pH 7.4) eklenerek ultrasonik hücre parçalayıcısıyla (Sonics Vibracell, Newtown, CT, USA) homojenize edildi. Homojenat 20.000 g de 20 dakika boyunca santrifuj edilerek supernatantı ELISA testleri için ayrıldı. Sağ kortikal dokular MDA ölçümü için 2ml ice cold 0.5 ml/L Triton X-100 içeren %1.15 KCl çözeltisi, SOD ve CAT için 2ml ice cold Tris-HCl (50 mmol/L, pH 7.4) çözeltisi içinde homojenize edildi.

### 3.2.3.2. Protein miktarı tayini:

Hazırlanan sol kortikal doku homojenatlarının supernatanları 150 µl'lik miktarlarda kendi homojenizasyon tamponuyla X5, X10, X20, X40 kat seyreltildi ve vortekslendi. Protein miktarı tayini bisinkoninik asit (BCA) protein ölçüm kiti (Katolog No: 71285-3, Novagen, Merck Millipore, Almanya) protokolüne göre belirlendi. Bunun için stok standart olan 2mg/ml'lik sığır serum albumininde (BSA) seyreltilerek 25 µl hacminde plate kuyucuklarına yüklendi (Resim 4A). Daha sonra BCA çözeltisi ve CuSO<sub>4</sub> karıştırılarak elde edilen solüsyon her bir kuyucuğa 200 µl hacminde eklendi. 30 saniye sallanarak karıştırılıp üzeri kapalı bir şekilde 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Oda sıcaklığına gelmesi beklenerek 562 nm'de spektrofotometrede ölçüm alındı. Alkali çözeltideki protein biüret reaksiyonuyla Cu<sup>+2</sup>'yi Cu<sup>+1</sup>'e indirger (Resim 4B). BCA, indirgenmiş Cu ile şelatlaşarak yeşil renkten mor renge dönüşür. Mor şelat içerisindeki indirgenmiş Cu konsantrasyonu 562 nm'de ölçülerek protein tayini yapılır. Lineer standart grafiklerine göre protein miktarları (µg/ml) hesaplandı (Şekil 3).



**Resim 4.** Protein miktarı tayini



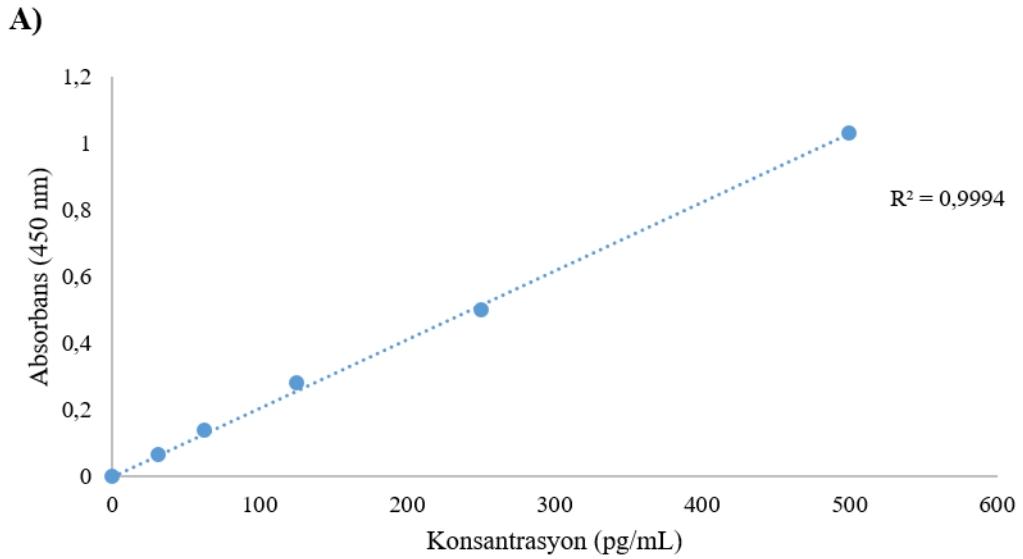
**Şekil 9.** Protein miktarı standart grafiği

### 3.2.3.3. ELİSA Ölçümleri:

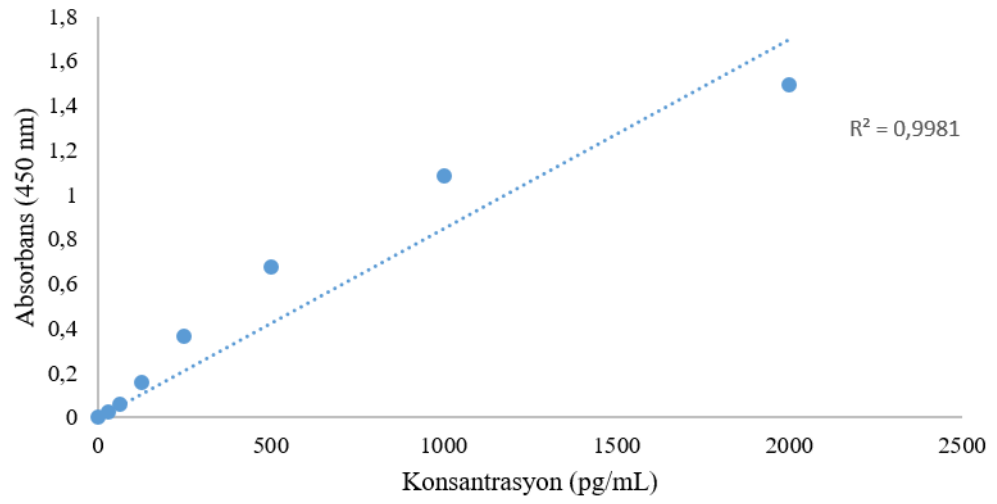
Sinaptofizin, PSD-95, tümör nekroz faktörü alfa, interlökin 6 miktarları sırasıyla Elabscience Mouse SYP, USCN DLG-4, Elabscience Mouse TNF- $\alpha$  ve Elabscience Mouse IL-6 ELİSA kitlerinin prosedürlerine göre tespit edildi. Sinaptofizin için öncelikle tüm reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına (18~25°C) getirildi. Microplate okuyucu kılavuzu izlenerek optik yoğunluk ölçümünden önce 15 dakika ön ısıtma yapıldı. 750 ml yıkama tamponu hazırlamak için 30 ml konsantre yıkama tamponu 720 ml distile suyla seyreltildi. 1 dakika boyunca 10.000×g'de santrifüjlenen standarda 1 ml referans standart ve örnek diluenti eklendi. 10 dakika bekletilip birkaç kez yavaşça ters düz edildi. Tamamen çözüldükten sonra bir pipetle iyice karıştırıldı ve 40 ng/ml'lik bir çalışma solüsyonu elde edildi. 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0 ng /ml gradyantlarda olacak şekilde seri dilüsyonlar yapıldı. Kullanılmadan önce gerekli miktarı hesaplanan (100 µL / kuyu) ve santrifüjlenen 100×konsantre biyotinlenmiş tespit antikoruna stok tüpünden 1× seyreltilmiş çalışma solüsyonu elde edildi. Aynı şekilde 100× konsantre HRP (yaban turpu peroksidaz) konjugatından 1× seyreltilmiş çalışma solüsyonu elde edildi. Standart çalışma solüsyonunun her konsantrasyonu iki kez, her biri bir kuyucuğa yan yana (her kuyucuk için 100 uL) eklendi. Örnekler diğer kuyucuklara eklendi (her kuyucuk için 100 uL). Plaka kapatılarak 37 ° C'de 90 dakika inkübe edildi. Daha sonra her kuyucuğa 100 µL biyotinlenmiş tespit antikor çalışma solüsyonundan



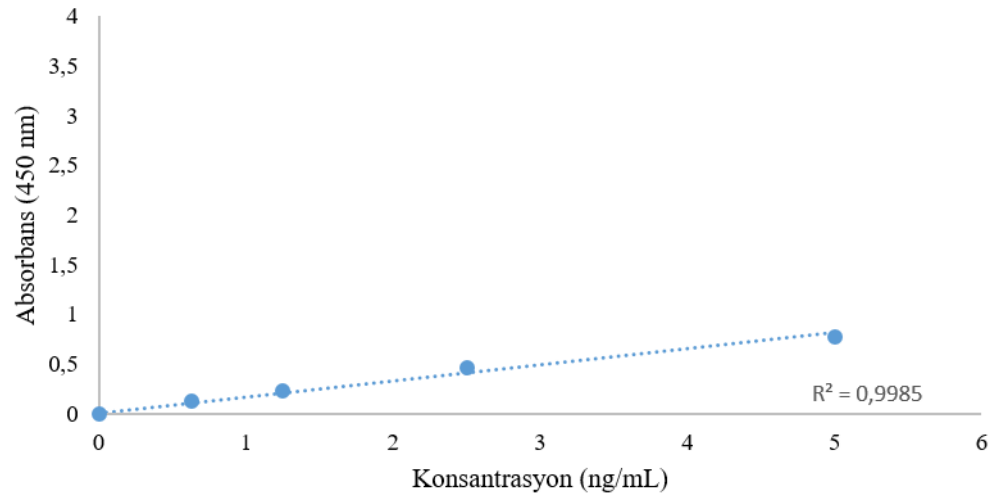
eklenerek kapatıldı ve 37 ° C'de 1 saat inkübe edildi. Solüsyon her kuyudan aspire edildi, her kuyucuğa 350 uL yıkama tamponu eklendi. 1 ~ 2 dakika beklenip tekrar aspire edildi ve temiz emici bir kağıda hafifçe vurularak kurulandı. Bu yıkama adımı 3 kez tekrarlandı. Her kuyuya 100 µL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklendi, kapatıldı, 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Solüsyon aspire edilerek yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı. Her kuyuya 90 µL substrat reaktifi eklendi. Kapatılarak 37 ° C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edildi. Plakanın ışıktan korunmasına dikkat edildi. Son olarak her kuyuya 50 µL durdurma solüsyonu eklenerek 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro plaka okuyucu ile her bir kuyunun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi. Sonuçlar standart eğri grafiği denklemi kullanılarak hesaplandı. Diğerleri için de aynı prosedür uygulandı. Sadece referans standart ve örnek diluenti çalışma solüsyonu tümör nekroz faktörü alfa ve interlökin 6 için 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 0 pg/ml, PSD-95 için 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,312, 0,156, 0 ng/ml gradyanlarda olacak şekilde seyreltildi (Şekil 4).

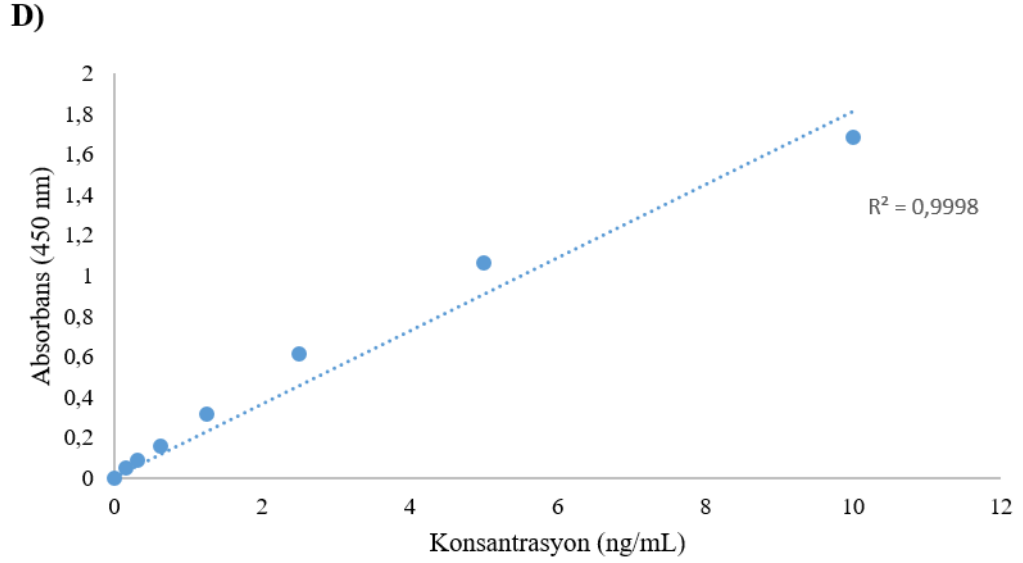


**B)**



**C)**

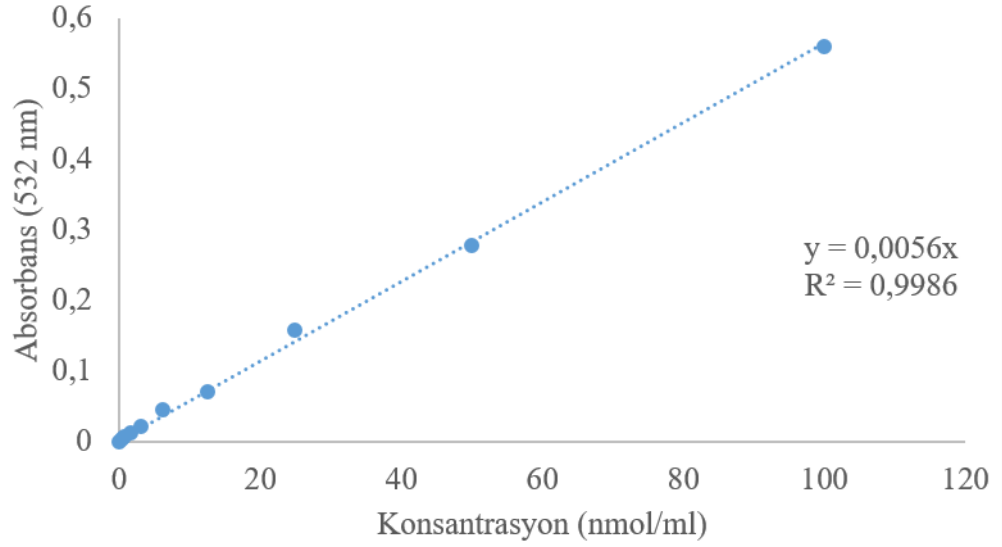




**Şekil 10.** ELISA standart grafikleri A) IL-6 standart grafiği, B) TNF- $\alpha$  standart grafiği, C) SYP grafiği, D) PSD-95 standart grafiği

#### 3.2.3.4. Oksidatif Stres Parametreleri Ölçümleri

Lipid peroksidasyonun en önemli ürünlerinden olan MDA, hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Mercan, 2004). Lipit peroksidasyonun son ürünü olan MDA, TBA ile bir kompleks oluşturur. Böylelikle doku proteinindeki miktarı 532 nm’de bu kompleksin absorbansının ölçülmesiyle tespit edilebilir (Uchiyama ve Mihara, 1978). Öncelikle gerekli solüsyonlar hazırlandı. TBA solüsyonunun için 0.67 g TBA 50 mL asetik asitte çözündürülüp 50 ml saf su ilave edildi. %1’lik  $H_3PO_4$  solüsyonu için 2.94 ml % 85’lik  $H_3PO_4$  biraz saf su üzerine eklenerek son hacim saf suyla 250 ml’ye tamamlandı. Standart solüsyonu için 50 ml 0.01 M HCl çözeltisine 82.5  $\mu$ l tetrametoksipropan eklenerek 50°C’de 1 saat inkübe edildi. Daha sonra 10 nmol/ml solüsyon hazırlanıp 5, 2.5, 1.25, 0.63 ve 0.31 nmol/ml’lik seri seyreltmeler yapılarak standart çözeltiler elde edildi (Şekil 5). MDA parametrelerini tespit etmek için hazırlanan doku numunesinin 200  $\mu$ l %10 homojenatına, 1200  $\mu$ l %1  $H_3PO_4$  ve 400  $\mu$ l %0,6 TBA sulu solüsyonu eklendi. 45 dakika boyunca 100 °C’ de inkübe edildi. Son olarak spektrofotometrede 532 nm’de absorbans ölçümü yapıldı.

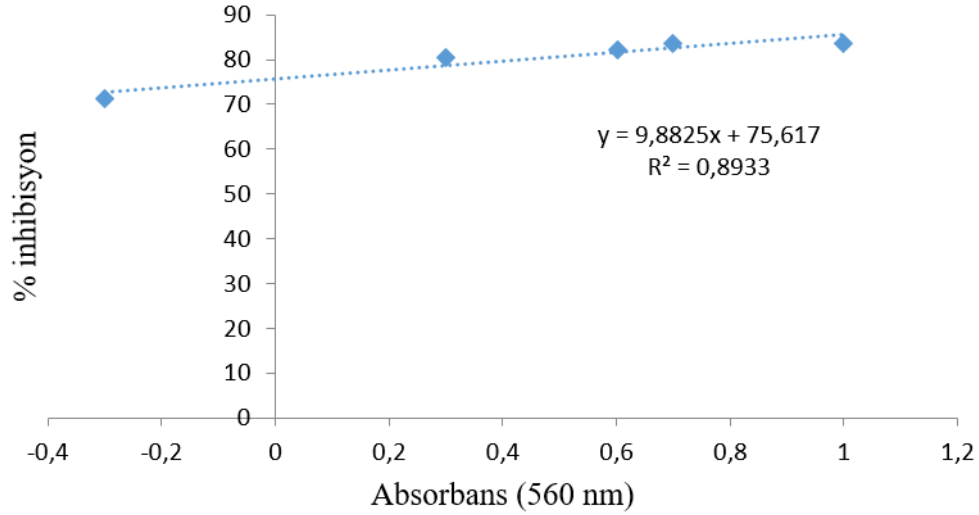


**Şekil 11.** MDA standart grafiği

Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalının sıradan moleküler oksijen ve hidrojen perokside dönüşümünü katalize eden bir enzimdir. Süperoksit, oksijen metabolizmasının bir yan ürünü olarak üretilir ve düzenlenmezse birçok hücre hasarına neden olur. Sun ve arkadaşlarının (1988) yöntemine göre nitroblue tetrazoliumunun  $O_2^-$  tarafından indirgenmesi sonucu rengi mor olan formazan oluşur (Y. Sun ve diğerleri, 1988). 560 nm’de absorbansının ölçülmesiyle dokudaki SOD miktarı belirlenir. 3.65 mg ksantin, 8.93 mg etilendiamintetraasetik asit (EDTA), 1.01 g  $Na_2CO_3$ , 12 mg BSA tartılıp hacmi 156 ml’ye tamamlanarak SOD reaktif karışımı elde edildi. 2.64 g  $(NH_4)_2SO_4$  10 ml saf suda çözülerek 2M’lık çözelti elde edildi. 101  $\mu$ l ksantin oksidaz üzerine eklenerek 2 ml’ye tamamlandı. Aynı bir yerde ışıktan korunmasına dikkat edilerek 4.9 mg nitroblue tetrazolium 40 ml distile suda çözüldü. Daha sonra 200  $\mu$ l örnek, SOD reaktif karışımı (796  $\mu$ l) , ksantin oksidaz (204  $\mu$ l) ve nitroblue tetrazolium (20  $\mu$ l) çözeltileri ile 25 °C’de 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 50 ml distile suda 6.82 mg çözülerek hazırlanan 0.8 mM  $CuCl_2$ ’den 400  $\mu$ l eklenerek reaksiyon durduruldu. 560 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbansları ölçüldü. SOD stok standardından (100 U/ml) 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 U/ml’ lik standartlar distile suyla seyreltilerek hazırlandı.

% inhibisyon =  $(Abs\ K\ddot{o}r - Abs\ Numune) \div (Abs\ K\ddot{o}r) \times 100$  eşitliğine göre % inhibisyon hesaplandı. Hesaplanan bu değere karşılık gelen konsantrasyonların logaritması

alınarak standart grafiği elde edildi (Şekil 6). Buradan da SOD aktivitelerinde gruplar arası gerçekteşen değişimler örneklerde var olan protein miktarına oranlanarak hesaplandı.



Şekil 12. SOD standart grafiği

Katalaz enzimi hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ile reaksiyona girerek su ve oksijene ayıran bir enzimdir. Goth ve arkadaşlarının (1991) geliştirdiği yöntemine göre örneğin içerisinde ne kadar katalaz (CAT) varsa  $H_2O_2$  'i parçalar ve 240 nm dalga boyunda UV/Vis spektrofotometrede ölçüldüğünde absorbansı zamanla düşer (Góth, 1991). Bu yüzden iki kuvars küvetten birine numune ve üzerine 250  $\mu$ l  $H_2O_2$  eklendi, diğer küvete ise kör olarak fosfat tamponu konuldu. 30 saniyede bir üç defa her bir örnek için ölçüm olarak katalaz aktivitesiyle ilgili veri elde edildi. Bunun için 2 ml substrat (50 mmol/l sodyum-potasyum fosfat tamponu içinde 10  $\mu$ mol/ml  $H_2O_2$ , pH 7.0), 10  $\mu$ l örnek ile inkübe edildi ve CAT aktivitesi ölçümü yapıldı.

### 3.2.4. İkinci Aşamada Gerçekleştirilen Elektrofizyolojik İncelemeler

Genotipleme yapıldıktan sonra, BDNF homozigot (+/+) ve BDNF heterozigot transgenik (+/-) fareler kafeslere konulup ve aşağıdaki gruplar oluşturuldu. Farelere yüksek kolesterollü diyet (Research Diets, D12109C, USA) ad libitum 6 hafta boyunca uygulandı.

Benzer şekilde kontrol grubuna ise standart fare diyeti verildi. Çalışmanın bu aşamasında dört çalışma grubu oluşturuldu;

- I. Grup: 7 adet BDNF homozigot (+/+), Standart Diyet, CD:WT
- II. Grup: 7 adet BDNF homozigot (+/+), Yüksek Kolesterolü Diyet, HCD:WT
- III. Grup: 7 adet BDNF heterozigot transgenik (+/-), Standart Diyet, CD:HT
- IV. Grup: 7 adet BDNF heterozigot transgenik (+/-), Yüksek Kolesterolü Diyet, HCD:HT

Diyet protokolünün sonunda amplifikatör (A-M Systems) kullanılarak *in vivo* ECoG kayıtları alındı (Resim 6). Üretan (1.75 g/kg, intraperitoneal, 0,1 ml salin fosfat tamponu içinde) ile anestezi yapılan farelerin serebral korteksi kraniotomiyle açığa çıkartılıp kafası stereotaksik yöntemle sabitlendi (Resim 5). Mouse brain atlası (<http://labs.gaidi.ca/mouse-brain-atlas>) göre bregmanın 1,5 mm sağ tarafına, ilk elektrot bregmanın 1,5 mm önünde, ikinci elektrot bregmanın 1,5 mm arkasında olacak şekilde kortekse Ag/AgCl top elektrotlar yerleştirildi. 15 dakika kayıt alındı (Şekil 13A).

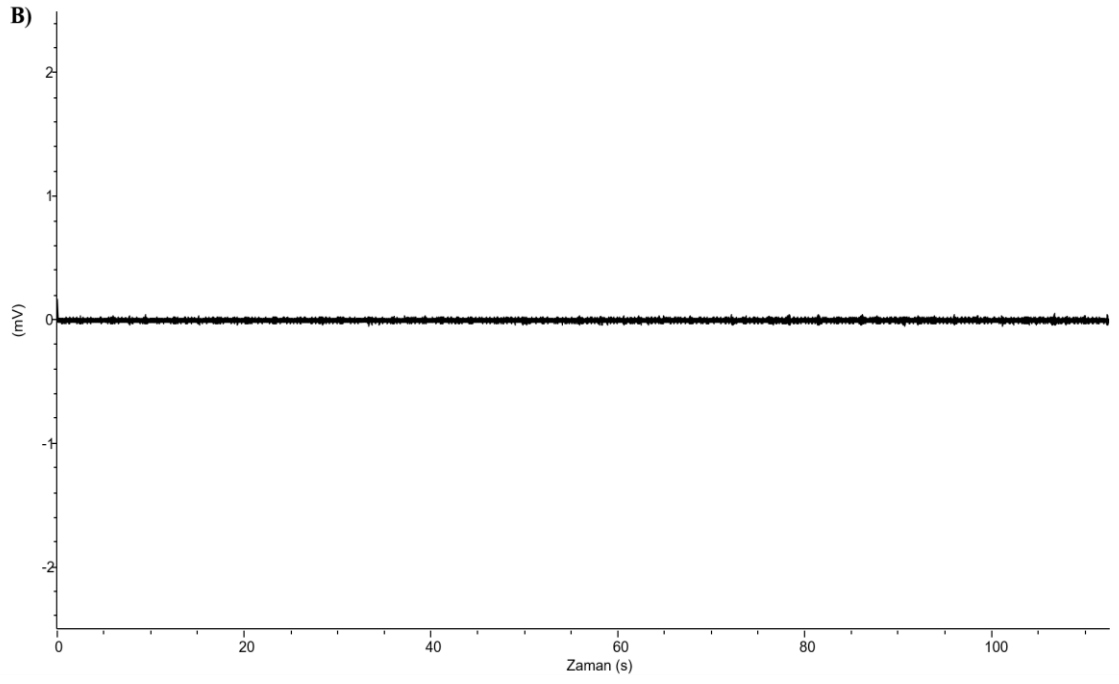
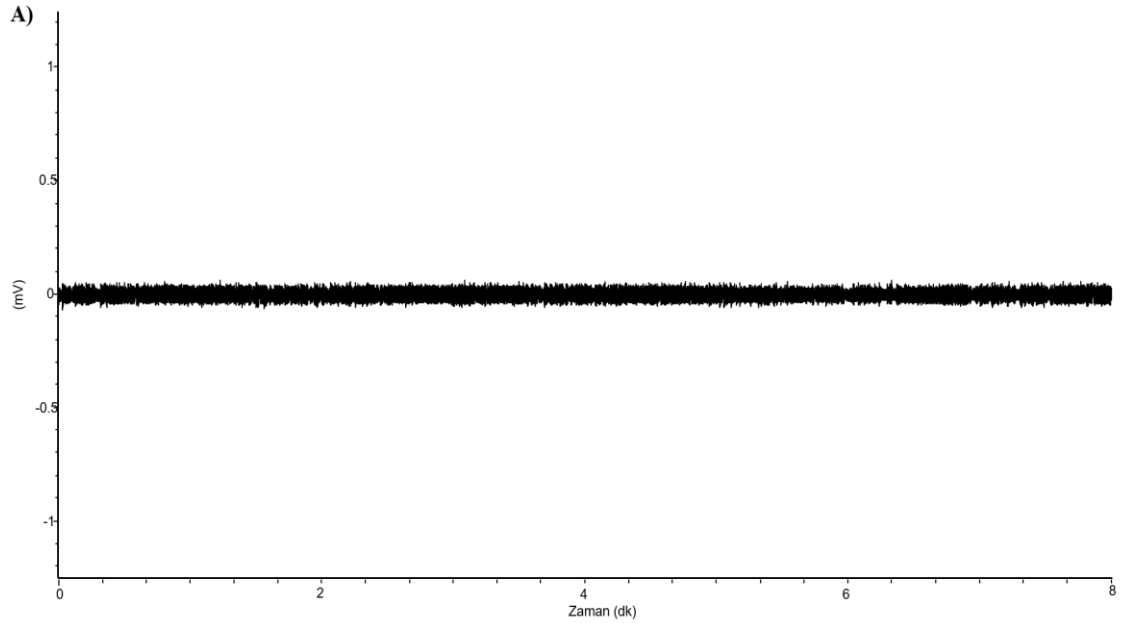


**Resim 5.** Stereotaksik yöntemle elektrot yerlerinin belirlenmesi

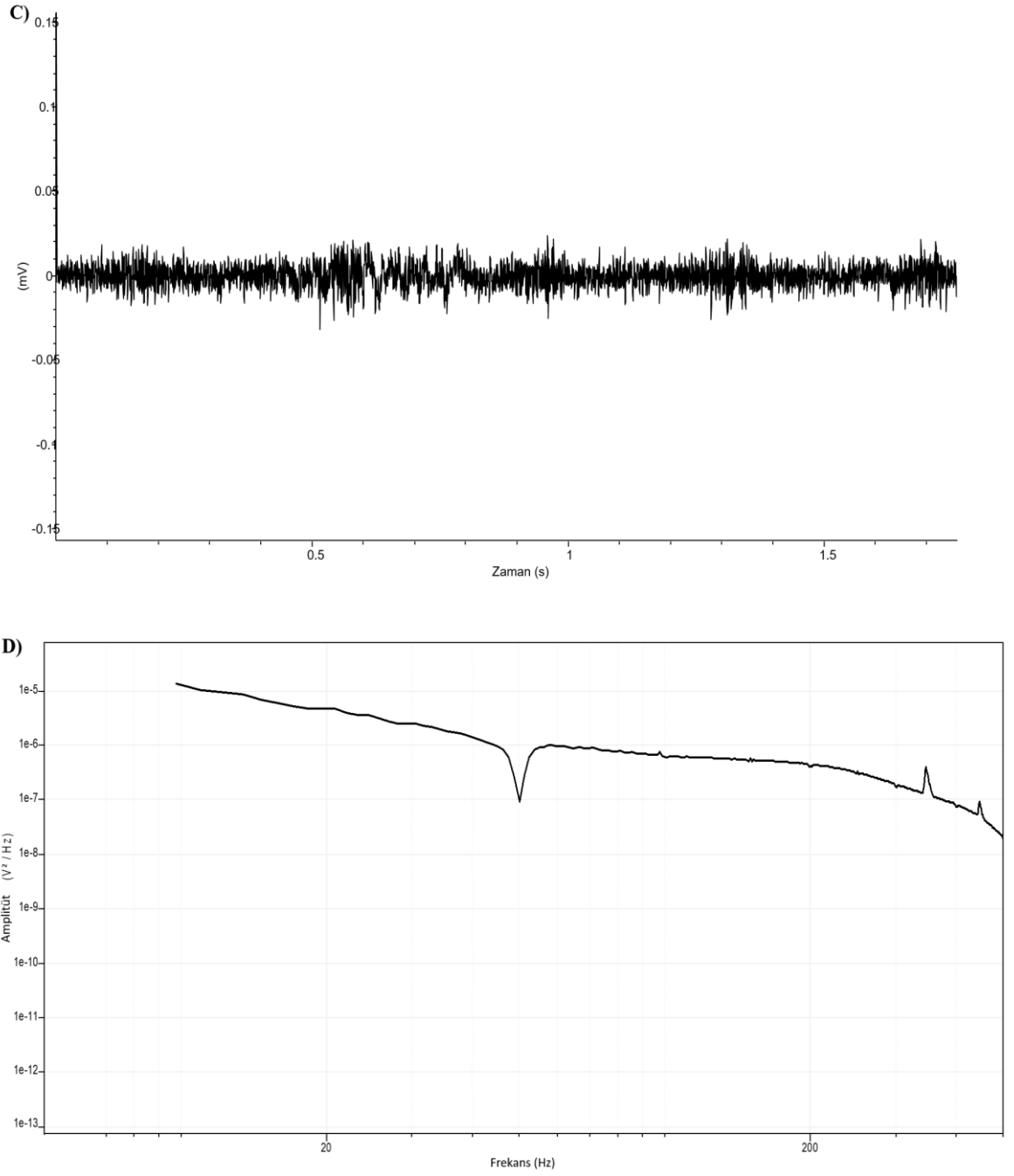


**Resim 6.** Amplifikatör (A-M Systems)

Güç spektrumunun spektral analizinde güç spektral yoğunluğu Hertz başına mikrovolt kare olarak ifade edilir. Araştırmamızda alınan kayıtlar p-Clamp 10 software programıyla analiz edildi. Onbeşer dakikalık baseline elektrokortikografi kayıtları öncelikle 50 Hz notch filtre ve 280 Hz low pass filtre uygulanarak gürültüden arındırıldı. Daha sonra 0-50 Hz arası güç spektrum verileri alındı ve excel dosyasına aktarıldı (Şekil 13B). Her bir hayvan için toplam güç hesaplandı. Ortalamalar delta (0,5–4 Hz); teta (4-8 Hz); alfa (8-14 Hz); beta (14-30 Hz) ve gama (30-50 Hz) olacak şekilde band aralıklarına bölünerek mutlak güç değerleri hesaplandı.







**Şekil 13.** ECoG kayıt alımı A) ECoG kaydı, B) 1 dakikalık ECoG kaydı, C) 1 saniyelik ECoG kaydı, D) Güç spektrumu

### 3.2.4. İstatiksel Analiz

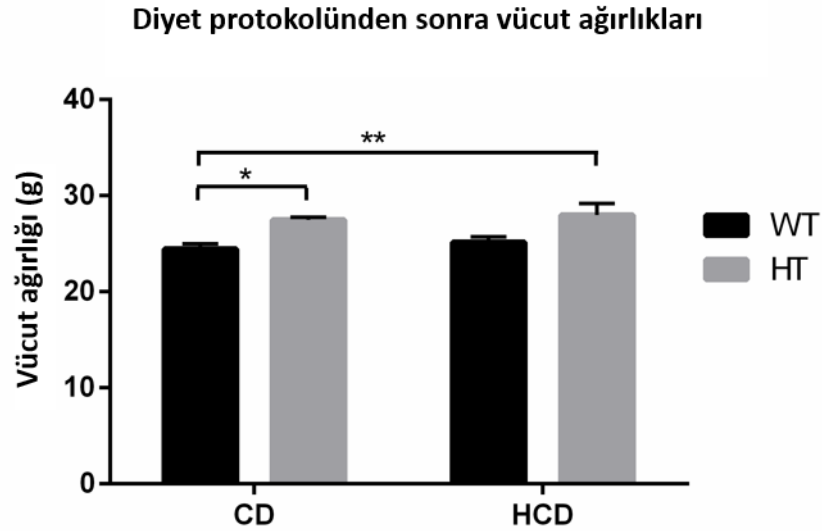
Çalışmada diyet ve genotip olmak üzere iki değişken bulunmaktadır. SPSS istatistik programıyla verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları kontrol edildi. Tüm veriler normal

dağıldığından verilerin istatistiksel karşılaştırmaları GraphPad Prism yazılımı kullanılarak iki yönlü ANOVA testi ile analiz edildi. Fisher's LSD post hoc testi kullanıldı. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak sunuldu.  $p < 0,05$  p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Ağırlık Değişimi

Diyet protokolü uygulanmadan önce grupların vücut ağırlıkları arasında fark yoktu. 16 haftalık diyet protokolü sonrasında vücut ağırlıkları ölçüldü ve sonuçlar CD:WT grubu için  $24,4 \pm 0,53$  gr ve CD:HT grubu için  $27,5 \pm 0,3$  gr olarak kaydedildi. Kolesterolü yüksek diyetle beslenen HCD:WT ve HCD:HT gruplarının vücut ağırlıkları ise sırasıyla  $25,15 \pm 0,57$  g ve  $27,9 \pm 1,19$  g olarak kaydedildi. Genotip ( $F(1, 26) = 16,32$ ;  $p < 0,0005$ ) vücut ağırlıklarını önemli ölçüde etkilemiştir. Ayrıca CD:HT grubu, CD:WT grubuna göre daha ağır ( $p < 0,05$ ) ve HCD:HT grubunun vücut ağırlığı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ) (Şekil 14).



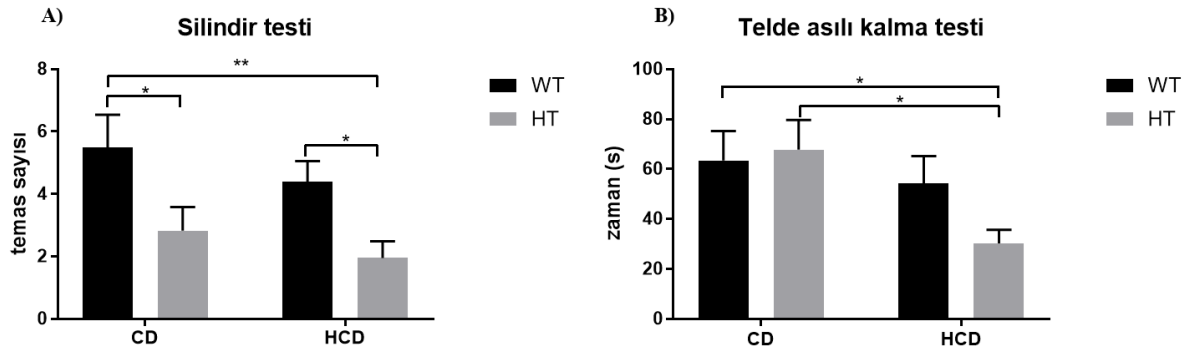
**Şekil 14.** Deney gruplarında yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun vücut ağırlıkları üzerindeki etkileri. CD: kontrol diyeti, HCD: yüksek kolesterol diyeti, WT: doğal fenotip, HT: BDNF heterozigot. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,001$ .

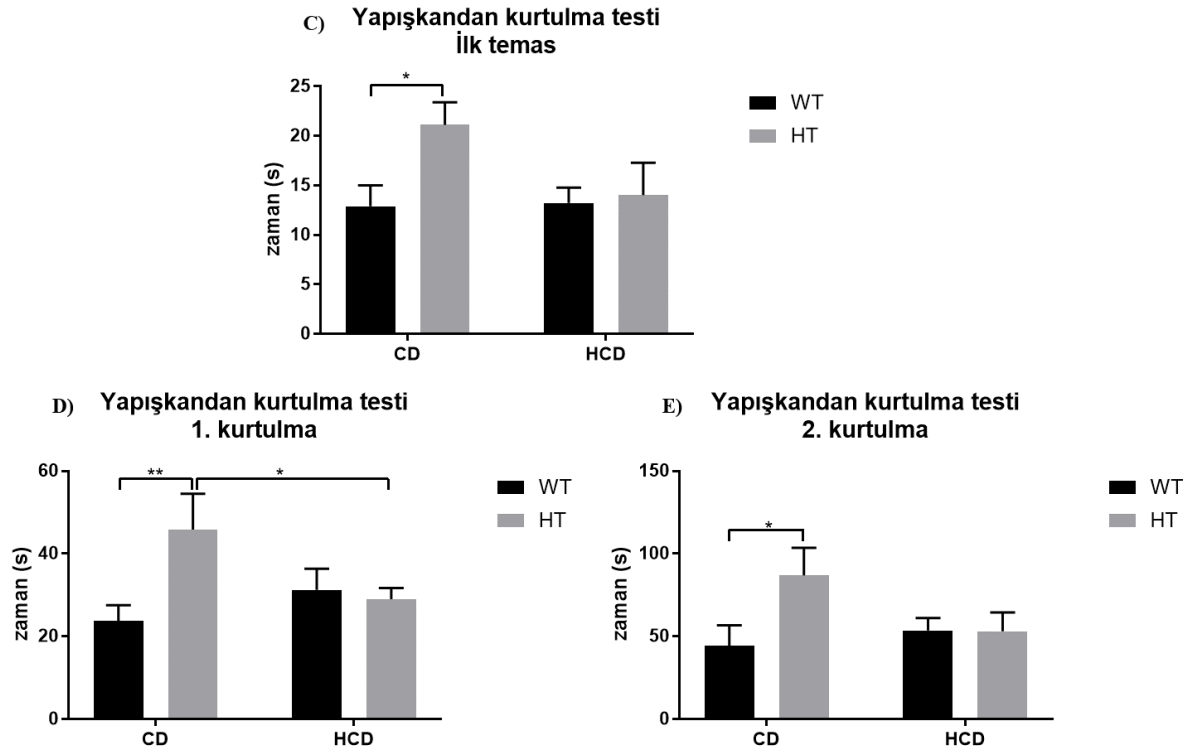
## 4.2. Davranış Deneyleri

Duyusal motor performansları kortikal fonksiyonla ilgili üç farklı davranış testi ile değerlendirildi. Silindir testinde ön patilerin cam duvarlara temas sayısına göre puanlama yapılmıştır. Her iki diyet türünde de heterozigot farelerde temas sayısının azaldığı tespit edilmiştir. İki yönlü ANOVA, temas sayısı üzerinde genotipin ( $F(1, 26) = 9,169$ ;  $p < 0,05$ ) önemli bir etkisi olduğunu, ancak diyetin ( $F(1, 26) = 1,368$ ) etkisinin olmadığını ortaya koymuştur. CD: WT ( $5,48 \pm 1,06$ ) ve CD: HT ( $2,83 \pm 0,75$ ), HCD: HT ( $1,95 \pm 0,54$ ) grupları arasında temas sayılarının önemli ölçüde değiştiğini göstermiştir (Şekil 15A).

Telde asılı kalma testinde teli tutma süresi puanlanmıştır. Tutma süresi üzerinde önemli bir diyet etkisi olduğu ( $F(1, 26) = 4,713$ ;  $p < 0,05$ ), ancak genotipin etkisi olmadığı ( $F(1, 26) = 0,846$ ) belirlenmiştir. CD:HT ( $67,8 \pm 12$  sn) grubu, HCD:HT ( $30,3 \pm 5,43$  sn) grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek görünmektedir ( $p < 0,05$ ). Kontrol doğal fenotip grubu ile karşılaştırıldığında, HCD:HT ( $30,3 \pm 5,43$  s) grubu CD:WT grubuna ( $63,47 \pm 11,7$  s) göre daha düşüktür ( $p < 0,05$ ) (Şekil 15B). HCD:WT grubunda telin tutma süresi  $54,3 \pm 10,9$  sn olarak belirlenmiştir.

Yapışkandan kurtulma testinde patilere ilk temas süresi, ardından yapışkanı ilk çıkarma ve ikinci çıkarma süreleri ölçülmüştür. Tüm bu süreler CD:HT grubunda uzamıştır. CD:HT grubunda ( $21,11 \pm 2,27$  sn) yapışkan için ilk temas süresi CD:WT grubundan ( $12,9 \pm 2,11$  sn) anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0,005$ ) (Şekil 15C). Yapışkanın birinci ( $p < 0,001$ ) ve ikinci çıkarma süreleri ( $p < 0,05$ ) de CD:HT grubunda CD:WT grubuna göre daha yüksektir. CD:HT grubunda birinci ve ikinci çıkarma süreleri sırasıyla  $45,83 \pm 8,66$  s ve  $87 \pm 16,6$  s, CD:WT grubunda  $23,74 \pm 3,8$  s ve  $44,13 \pm 12,62$  s olarak kaydedilmiştir (Şekil 15D ve 15E).





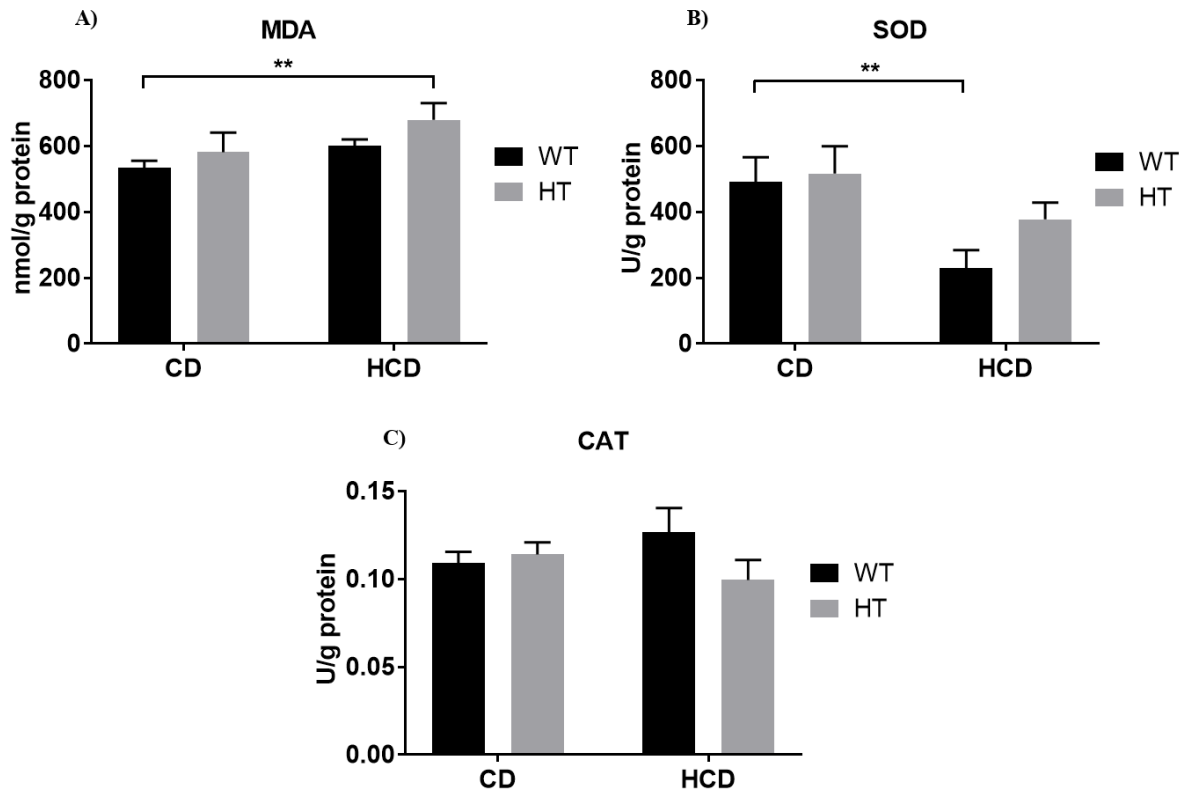
**Şekil 15.** Yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun davranışsal performanslar üzerindeki etkileri. A) Silindir testinde temas sayısı, B) Telde asılı kalma testinde tutma süresi, C) Yapışkan çıkarma testinde yapışkana ilk temas süresi, D) İlk yapışkanı çıkarma süresi, E) ikinci yapışkanı çıkarma çıkarma süresi. CD: kontrol diyeti, HCD: yüksek kolesterol diyeti, WT:doğal fenotip, HT: BDNF heterozigot. \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$

#### 4.3. Oksidatif Stres Parametreleri

Yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun oksidatif stres üzerindeki etkilerinin olup olmadığını araştırmak için fare beyninin korteksindeki MDA seviyesi, SOD ve CAT aktivitesi analiz edildi. İki yönlü ANOVA, MDA seviyelerinde önemli bir diyet etkisi ( $F(1, 26) = 5,877$ ,  $p < 0,05$ ) gösterdi, ancak genotip etkisi ( $F(1, 26) = 3,656$ ) göstermedi. Post hoc testi, MDA düzeylerinin HCD:HT grubunda ( $679,88 \pm 50,47$  nmol/g) CD:WT grubuna ( $533,42 \pm 21,7$  nmol/g) göre anlamlı olarak arttığını ortaya koymuştur ( $p < 0,001$ ) (Şekil 16A). MDA düzeyleri sırasıyla CD:HT grubunda  $581,2 \pm 59,7$  nmol/g ve HCD:WT grubunda  $601,13 \pm 18,4$  nmol/g olarak kaydedilmiştir.

SOD aktiviteleri diyet faktöründen ( $F(1, 26) = 8,765$ ,  $p < 0,05$ ) önemli ölçüde etkilenmiş, ancak genotip faktöründen ( $F(1, 26) = 1,629$ ) etkilenmemiştir. Şekil 16B'de görüldüğü gibi, CD:WT'de ( $491,84 \pm 74,05$  U/g) HCD:WT'den ( $230,04 \pm 54,55$  U/g) daha yüksek SOD seviyeleri belirlenmiştir ( $p < 0,001$ ). HCD:HT grubunun ( $377,9 \pm 50,4$  U/g) SOD aktiviteleri diğer gruplardan önemli ölçüde farklı olmadığı gösterilmiştir.

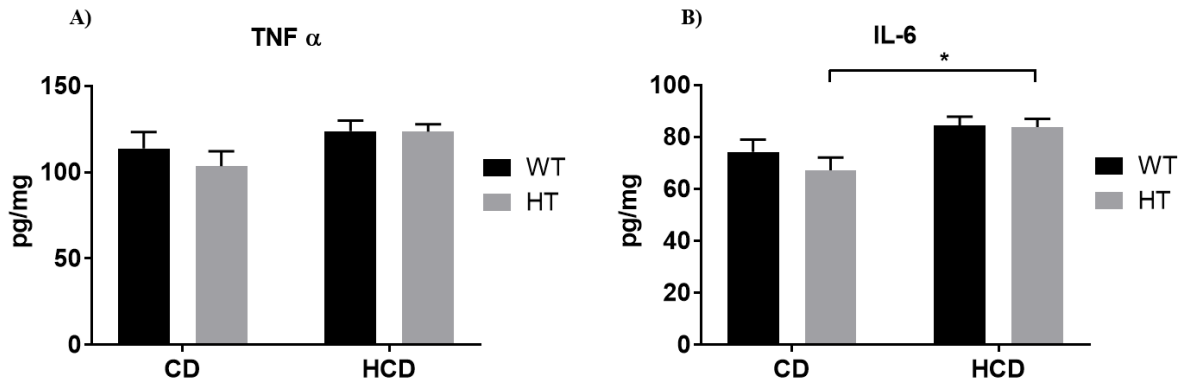
CAT aktiviteleri gruplar arasında önemli ölçüde fark tespit edilememiştir. (Şekil 16C). CAT aktiviteleri CD:WT, CD:HT, HCD:WT ve HCD:HT gruplarında sırasıyla  $0,11 \pm 0,006$  U/g,  $0,114 \pm 0,007$  U/g,  $0,13 \pm 0,014$  U/g ve  $0,1 \pm 0,011$  U/g olarak kaydedilmiştir.



**Şekil 16.** Yüksek kolesterol ve BDNF heterozigotluğunun oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkileri. A) MDA seviyelerindeki değişiklikler, B) SOD aktivitesindeki değişiklikler, C) Gruplar arasında CAT aktivitesindeki değişiklikler. CD: kontrol diyeti, HCD: yüksek kolesterol diyeti, WT: doğal fenotip, HT: BDNF heterozigot. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,001$ .

#### 4.4. Nöroinflamasyon İşaretçileri

Nöroinflamasyonu araştırmak için interlökin (IL-6 $\beta$ ) ve tümör nekroz faktörleri (TNF- $\alpha$ ) düzeylerini değerlendirildi. İki yönlü ANOVA, IL-6 üzerinde önemli bir diyet etkisi ortaya çıkardı (F (1, 26) = 9.823, p<0.001). HCD:HT ile CD:HT arasında anlamlı fark bulunmaktadır (p<0,05). IL-6 düzeyleri CD:WT, CD:HT, HCD:WT ve HCD:HT gruplarında sırasıyla 74.3 $\pm$ 4.8, 67.21 $\pm$ 4.94, 84.39 $\pm$ 3.41, 83.76 $\pm$ 3.17 pg/mg'dir (Şekil 17B). Gruplar arasında TNF- $\alpha$  seviyelerinde anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 17A). CD:WT, CD:HT, HCD:WT ve HCD:HT gruplarının TNF- $\alpha$  düzeyleri sırasıyla 113,8 $\pm$ 9,4 pg/mg, 103,6 $\pm$ 8,62 pg/mg, 123,8 $\pm$ 6,04 pg/mg ve 123,5 $\pm$ 4,33 pg/mg idi.

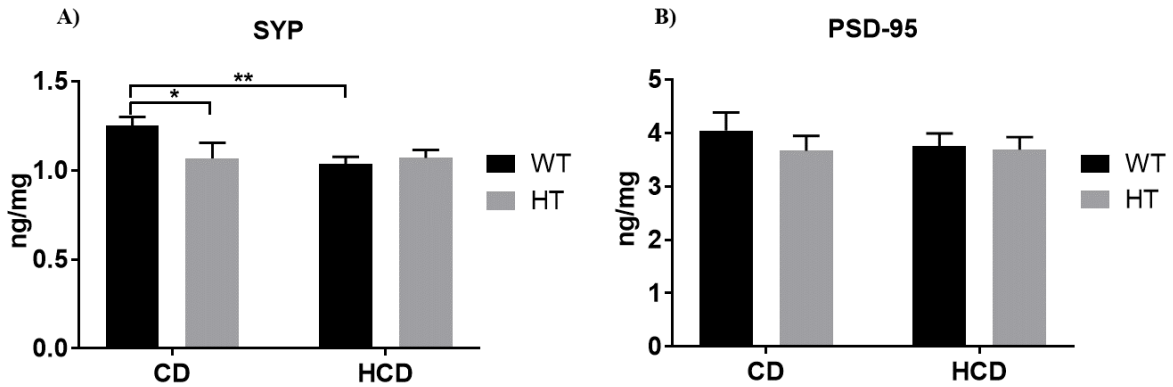


**Şekil 17.** Yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun nöroinflamasyon üzerindeki etkileri. A) Grupların korteksindeki IL-6 $\beta$  seviyeleri, B) Grupların korteksindeki TNF $\alpha$  seviyeleri. CD: kontrol diyeti, HCD: yüksek kolesterol diyeti, WT: doğal fenotip, HT: BDNF heterozigot. \* p < 0.05, \*\* p < 0.001.

#### 4.5. Sinaptik Protein Miktarı

Diyet ve BDNF'nin sinaptik protein ekspresyonları üzerindeki etkilerini belirlemek için ELİSA ile sinaptofizin (SYP) ve PSD-95 sinaptik protein düzeyleri ölçüldü. İki yönlü ANOVA, SYP protein seviyeleri üzerinde diyet etkisi (F (1, 26) =3,76) ve genotip etkisi (F (1, 26) =1,843) anlamlı bir fark göstermemiştir. CD:WT (1,25 $\pm$ 0,05 ng/mg) grubundaki sinaptofizin (SYP) miktarları, HCD:WT (1,04 $\pm$ 0,04 ng/mg) (p<0,001) ve CD:HT (1,12 $\pm$ 0,09 ng/mg) (p<0,05)'den daha yüksek bulunmuştur (Şekil 18A). Gruplar arasında PSD-95 düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediği ortaya koyulmuştur. PSD-95 seviyeleri

sırasıyla CD:WT, CD:HT, HCD:WT ve HCD:HT gruplarında  $4,05 \pm 0,34$  ng/mg,  $3,7 \pm 0,3$  ng/mg,  $3,75 \pm 0,24$  ng/mg ve  $3,7 \pm 0,2$  ng/mg'dir (Şekil 18B).



**Şekil 18.** Deney gruplarında yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun sinaptik protein seviyelerine etkileri. A) SYP protein seviyeleri, B) PSD-95 protein seviyeleri.

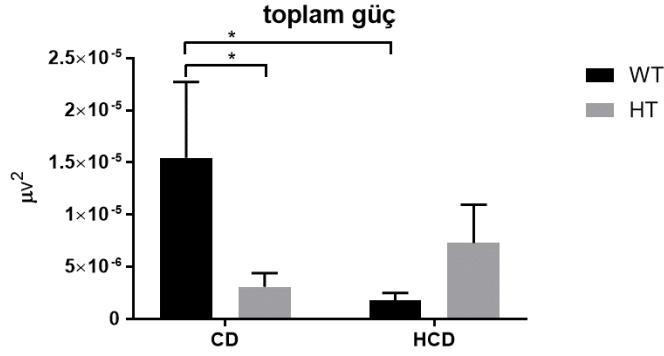
CD: kontrol diyeti, HCD: yüksek kolesterol diyeti, WT: doğal fenotip, HT: BDNF heterozigot. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,001$

#### 4.6. Elektrofizyolojik Kayıt Analizi

Mutlak güç, farklı frekans bantlarında belirli bir bölgedeki bir elektrotun toplam enerji yoğunluğu olarak tanımlanır. Güç spektrumunun spektral analizinde güç spektral yoğunluğu Hertz başına mikrovolt kare ( $\mu V^2$ ) olarak ifade edilir. Band aralıkları delta (0,5–4 Hz); teta (4–8 Hz); alfa (8–14 Hz); ve beta (14–30 Hz) şeklindedir. Daha yüksek frekans dalgalarının daha fazla katkısı, beyin aktivitesinin hızını artırır ve daha fazla uyarılabilirliği destekler.

Yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun toplam güç ve mutlak güç üzerindeki etkilerini tespit etmek için elektrokortikografi kayıtları alınarak güç spektrumunu elde edilmiş ve gerekli analizler yapılarak verilere ulaşılmıştır. Gruplar arası toplam güç karşılaştırılmasında CD:HT ile CD:WT arasında  $p < 0,05$  ve HCD:WT ile CD:WT arasında  $p < 0,05$  anlamlı fark vardır. Diyet,  $F(1, 24) = 1,312$  ve genotip,  $F(1, 24) = 0,6857$  farkı bulunmamaktadır (Şekil 19). Toplam güç, CD:WT, CD:HT, HCD:WT ve HCD:HT gruplarında sırasıyla  $1,54514 \times 10^{-5} \pm 7,26974 \times 10^{-6} \mu V^2$ ,  $3,08914 \times 10^{-6} \pm 1,30865 \times 10^{-6} \mu V^2$ ,  $1,77516 \times 10^{-6} \pm 7,25002 \times 10^{-7} \mu V^2$ ,  $7,27611 \times 10^{-6} \pm 3,68353 \times 10^{-6} \mu V^2$ 'dir.



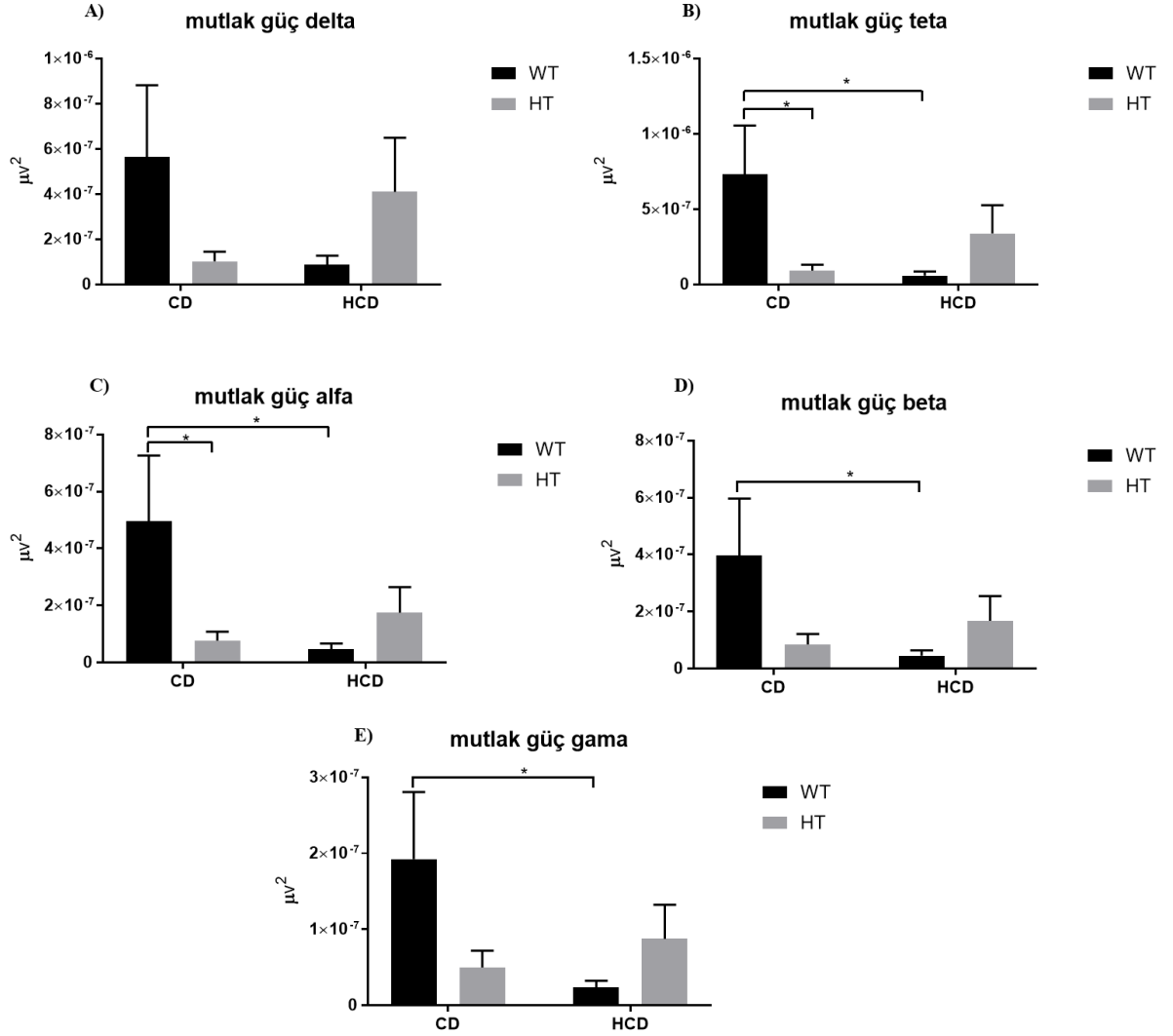


**Şekil 19.** Deney gruplarında yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun toplam güce etkisi ( $p<0,05$ , \* ;  $p<0,001$ , \*\*)

Gruplar arası mutlak güç farkı beyin dalgalarında tek tek incelenmiştir. Delta dalgasında gruplar arası anlamlı bir fark bulunmamıştır. Diyet,  $F(1, 24) = 0,1735$  ve genotip,  $F(1, 24) = 0,1174$  etkisi de bulunmamaktadır (Şekil 20A). Teta dalgasında CD:HT ( $9,28137E-08 \pm 3,84626E-08 \mu V^2$ ) ile CD:WT ( $7,3175E-07 \pm 3,23369E-07 \mu V^2$ ) arasında ve HCD:WT ( $5,87566E-08 \pm 2,76962E-08 \mu V^2$ ) ile CD:WT arasında  $p<0,05$  anlamlı fark gözlemlenmiştir (Şekil 20B). Diyet,  $F(1, 24) = 1,283$  ve genotip,  $F(1, 24) = 0,9065$  etkisi yoktur. Alfa dalgasında ise gruplar arası CD:HT ile CD:WT ve HCD:WT ile CD:WT arasında  $p<0,05$  anlamlı fark vardır (Şekil 20C). Diyet,  $F(1, 24) = 1,982$  ve genotip,  $F(1, 24) = 1,353$  etkisinde ise anlamlı fark yoktur. CD:WT, CD:HT, HCD:WT ve HCD:HT gruplarında  $4,96193E-07 \pm 2,30058E-07 \mu V^2$ ,  $7,67511E-08 \pm 3,18097E-08 \mu V^2$ ,  $4,62218E-08 \pm 2,09039E-08 \mu V^2$ ,  $1,75313E-07 \pm 8,89717E-08 \mu V^2$ 'dir. Beta dalgası incelendiğinde HCD:WT ( $4,54888E-08 \pm 1,87447E-08 \mu V^2$ ) ile CD:WT ( $3,96888E-07 \pm 2,00336E-07 \mu V^2$ ) arasında  $p<0,05$  anlamlı fark gözlenmiştir (Şekil 20D). Diyet,  $F(1, 24) = 1,465$  ve genotip,  $F(1, 24) = 0,7267$  etkisinde anlamlı fark bulunmamıştır. Son olarak gama dalgasında HCD:WT ( $2,36033E-08 \pm 8,70953E-09 \mu V^2$ ) ile CD:WT ( $1,92352E-07 \pm 8,8221E-08 \mu V^2$ ) arasında  $p<0,05$  anlamlı fark vardır. Diğer dalgalarda olduğu gibi diyet,  $F(1, 24) = 1,667$  ve genotip,  $F(1, 24) = 0,5976$  etkisinde anlamlı fark görülmemiştir.

Elektrofizyolojik kayıtlarda gerek toplam güç gerekse beyin dalgalarının mutlak güçlerinin çoğunda anlamlı fark gözlemlenmiştir. Özellikle 4-14 Hz frekans aralığında gruplar arası fark daha belirgindir. Delta dalgası hariç tüm dalgalarda normal diyet ile beslenen WT hayvanların mutlak gücünün daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Yüksek kolesterol diyeti WT gruplarında mutlak gücü düşürmüştür. Normal diyet ile beslenen WT ve HT grupları arası toplam güç, teta ve alfa dalgaları mutlak gücünde anlamlı fark olduğu görülmektedir.

Heterozigotluk normal diyetle beslenen hayvanlarda gücü düşürmüştür. İlginç bir şekilde WT hayvanların aksine HT hayvanlarında anlamlı bir şekilde olmasa da yüksek kolesterol ile beslenme mutlak gücünü artırma eğilimindedir.



**Şekil 20.** Yüksek kolesterol diyeti ve BDNF heterozigotluğunun beyin dalgaları mutlak gücü üzerindeki etkileri. A) Delta dalgası , B) Teta dalgası, C) Alfa dalgası, D) Beta dalgası, E) Gama dalgası. CD: kontrol diyeti, HCD: yüksek kolesterol diyeti, WT: doğal fenotip, HT: BDNF heterozigot. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ .

## 5. TARTIŞMA

Kolesterol, ökaryotik membran yapılarında bulunan, membran sentezi, organizasyonu, dinamikleri ve işlevinde görev alan önemli bir bileşendir. Beyin kolesterolü, nöronun aksonal bölgelerini saran oligodendrositlerde (miyelinizasyon) ve astrositlerin ve nöronların plazma membranlarında bulunur (I. Björkhem ve diğerleri, 2004). Beyinde kolesterol de novo sentezi ile üretildiği gibi kan beyin bariyerini geçebilen kolesterol metabolitleri 24-OHC ve 27-OHC'nin alışverişi ile de serebral kolesterol homeostazı sağlanmaktadır. Literatürde beyin ve diyet ile alınan kolesterol ilişkisi incelendiğinde, kolesterolün iki farklı etkisi görülür. Günümüzde oldukça yaygın bir beslenme şekli olan batı tipi beslenme ile günlük yüksek doymuş yağ ve rafine karbonhidrat alımı vücutta eksojen kolesterol seviyesini artırmaktadır. Bu da ateroskleroz, obezite vb. gibi hastalıklara yol açmakla beraber hem hayvan modellerinde hem de insanlarda bilişsel bozulma ve duygusal bozukluklarla bağlantılıdır (Blundell, 1990; López-Taboada ve diğerleri, 2020). Yapılan çalışmalarda diyet ile alınan kolesterolün oksidatif stresin tetiklediği nöroinflamasyonu artırarak nörodejenerasyona kadar uzanan bir etki mekanizmasına sahip olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra diyet ile alınan kolesterolün yaşlılık gibi bazı farklı durumlarda olumlu etkileri olabileceği saptanmıştır. Ayrıca yüksek kolesterollü diyetin hipokampal BDNF seviyelerini artırdığı bildirilmiştir (Hu ve diğerleri, 2014). Literatürde kolesterolün rol aldığı farklı mekanizmalar henüz aydınlatılamamıştır. Genetik farklılıklar, diyet gibi çevresel bir faktörün etkisini belirleyen önemli bir faktördür. Çalışmamızda BDNF'ün, kolesterol ve beyin ilişkisini belirleyen bir genetik faktör olabileceğinden yola çıktık. Çünkü BDNF, nörodejeneratif hastalıklar ve nöropsikiyatrik hastalıklar ile doğrudan ilişkili olmasının yanında, kolesterol sentezi ve enerji metabolizmasını da kontrol eden bir faktördür. Çalışmamızda diyet ile alınan kolesterolün beyin korteks bölgesinde ne gibi değişiklikler yaptığı ve BDNF'nin buna etkisi nörokimyasal, davranış ve elektrofizyolojik yöntemler ile araştırılmış ve açığa çıkmayı bekleyen kolesterol-BDNF ilişkisini aydınlatacak bulgular elde edilmiştir.

## 5.1. Vücut ağırlıkları:

Çalışmamızda yüksek kolesterolü diyetin WT ve BDNF heterozigot farelerde kilo alımına nasıl bir etkisi olduğunu belirlemek için başlangıçta vücut ağırlıkları ortalama 25 gr olan farelerin diyet sonunda vücut ağırlıklarını ölçtük. Elde ettiğimiz sonuçları gruplar arası karşılaştırdığımızda BDNF heterozigot farelerin vücut ağırlıkları WT farelere göre anlamlı bir şekilde artmıştır. Fakat yüksek kolesterol diyeti daha yüksek vücut ağırlıklarına yol açmamıştır. Litaratürde daha önceki çalışmalarda yüksek kolesterol diyetinin vücut ağırlığına anlamlı bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (Strekalova ve diğerleri, 2015; S. Tanaka ve diğerleri, 2013). BDNF fenotipi obezite ile ilişkidir (Fox ve diğerleri, 2013). Aynı fare modelinde yapılan önceki çalışmalarda benzer şekilde BDNF heterozigot farelerin vücut ağırlıklarının WT farelere göre anlamlı artış gösterdiği gözlenmiştir (Bodur ve diğerleri, 2019). Bu da BDNF heterozigot gruplarının vücut ağırlık artışına yatkın olduğunu göstermektedir.

## 5.2. Davranış deneyleri

Davranış testleri, beyinde meydana gelen değişiklikleri, beyin bölgesi özelinde fonksiyonel olarak ortaya koymak için ideal deneysel yöntemlerdir. Yüksek kolesterolü beslenmeye bağlı öğrenme, hafıza, bilişsel bozukluk, duygu-durum, ve hareket koordinasyonu değişikliklerini davranış modelleriyle inceleyen birçok çalışma mevcuttur. Çalışmamızda hedef bölgemiz korteks olduğu için duyu-motor korteksten yola çıkılarak en yaygın kullanılan modeller tespit edilip yüksek kolesterolü diyetin davranıştaki etkileri incelenmiştir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile gerek BDNF eksikliğinin ve gerekse de yüksek kolesterol diyetinin duyu-motor performanslarına etkisi ilk defa ortaya konmuştur.

Duyu-motor deneylerimizin sonuçlarına göre, diyetle alınan kolesterolün performansları bozduğu görülmüştür. Yüksek kolesterolü diyetin C57BL/6J farelerde davranışsal umutsuzluk, anksiyöjenik değişiklikler ve hiper lokomasyona yol açtığı ve bu anormalliklerin prefrontal kortekste meydana gelen değişikliklerden kaynaklandığı gösterilmiştir (Strekalova ve diğerleri, 2015). Benzer şekilde yüksek kolesterolü diyet ile beslenen Swiss farelerde uzamsal bellek ve nesne tanıma bozukluğuna neden olduğu ve bu bilişsel işlev bozukluğunun hipokampal IL-6 seviyeleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (de Souza ve diğerleri, 2018). Ayrıca yüksek plazma kolesterol seviyelerinin, farelerin prefrontal korteksinde ve hipokampusundaki bilişsel bozuklukları indüklediğini ve amiloid öncü protein aktivitesini artırdığını gösterilmiştir (Moreira ve diğerleri, 2014). Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen

dişi Wistar sıçanlarında obezite ile ilişkili lokomotor ve bilişsel davranışlarda bozulmanın yanı sıra depresif etkiler gözlenmiştir (Metwally ve diğerleri, 2019). Aşırı diyet kolesterolüne kısa süreli maruz kalmanın, bilişsel ve/veya davranışsal bozuklukla ilişkili erken inflamatuvar yanıtları değiştirdiği öne sürülmüş ve yüksek kolesterolü beslenmenin inflamasyon ve davranış bağlantısı belirlenmiştir (Mayagoitia ve diğerleri, 2020). Yüksek kolesterol içerikli diyet öğrenme zorluğu, anksiyete, lokomotor aktivite bozulması gibi etkilere yol açmıştır. Yapılan çalışmalarla paralellik gösteren bir şekilde çalışmamızda duyu-motor performanslarının (telde asılı kalma ve silindir testlerinde) bozulduğu görülmüştür. Buna ek olarak duyuusal motor korteks davranış modelleri duyu ve motor koordinasyon kavramlarında farklı sonuçlar doğurmuştur. Hareket koordinasyonu ve postür yönetimi ağırlıklı silindir ve telde asılı kalma testlerinde yüksek kolesterol diyeti ile beslenmiş BDNF heterozigot grubu kötü performans sergilerken duyu ve algılama ilişkili olan yapışkan çıkarma testinde daha iyi bir performans sergilemiştir. Bu da kolesterolün duyu ve motor mekanizmasını ayrı ayrı etkilediğini ortaya koymuştur. Ayrıca önceki çalışmalara benzer bir durum söz konusu olup motor koordine testleri ile nöroinflamasyon işaretçileri seviyeleri paralellik göstermektedir.

Parkinson hastalığı modelinde yüksek kolesterolü diyet ile beslenen Swiss alibino farelerde substantia nigrada dopaminerjik nöron kaybı ve bunun ardından striatal dopamin seviyelerinde motor bozukluk üreten azalma gözlenmiştir. Ayrıca mitokondriyal disfonksiyonların ve oksidatif stresin ya da tam tersinin hiperkolesteroleminin neden olduğu dopaminerjik nörotoksistide rol oynadığı belirlenmiştir (Paul ve diğerleri, 2017). Benzer şekilde Swiss albino farelerde, yüksek kolesterol diyetinin psikomotor davranışlara neden olan ayrı beyin bölgelerinde dopamin ve serotonin metabolizmasını etkileyerek Parkinson hastalığının davranışsal fenotiplerine benzer motor davranış anormallikleri geliştirdiğini ortaya konmuştur (Paul ve diğerleri, 2017). Substantia nigrada oksidatif stresin motor hareketleri bozduğu gösterilmiştir. Literatürdeki bu bilgilerin ışığında, bu çalışmada da kortekste meydana gelen oksidatif stresin davranış testlerinin sonuçlarını etkilediği söylenebilir.

Davranış deneylerinde, diğer iki testin aksine, yapışkan çıkarma testinde gözlenen, en yavaş performans, kontrol diyetiyle beslenen BDNF heterozigot farelere ait olduğu görülmüştür. Yapışkan çıkarma testi hem somatosensoryel hem de motor fonksiyonu değerlendiren. Nigrostriatal dopaminerjik nöronların somato-sensoryel davranış için kritik öneme sahip olduğu düşünülmektedir. Bu nöronların tek taraflı geri döndürülemez bir şekilde ortadan kaldırılmasının ardından, bir hayvan ipsiversif (aynı tarafa doğru) bir postürel eğilim gösterir ve başını vücudun karşı tarafına yerleştirilmiş dokunsal uyarılara doğru

yönlendirmeyi kalıcı olarak başaramaz. Bir dopamin agonisti olan apomorfine yanıt olarak, bu sıçanlar ters tarafa doğru bir dönüş gösterir. Bu etkinin, ipsilateral striatumdaki dopamin reseptörlerinin denervasyona bağlı proliferasyonunu yansıttığı düşünülmektedir. Sensörimotor fonksiyonu postürel ve dairesel eğilimlerden bağımsız olarak ölçen hassas bir prosedür geliştirilmiştir. Bunun için burnun üstüne veya ön ayakların radyal yüzeyine yerleştirilen küçük yapışkan uyarıcı parçalarını çıkarmak için gecikmeler kaydedilmiştir. Uyarılar simetrik ve eşzamanlı olarak yerleştirilir, bu da klinik olarak kullanılan dokunsal yok olma prosedürlerine benzer (Schallert ve diğerleri, 1983).

Beyin ve motor çevre arasındaki etkileşim, motor kontrolüne neden olur. BDNF seviyelerinin diğer beyin bölgelerinde ve çevresinde değişip değişmediği, dolayısıyla Parkinson hastalığının motor olmayan semptomlarına katkıda bulunup bulunmadığı bilinmemektedir (Johnson ve diğerleri, 2019). Periferik ve beyin kolesterolünün düzenlenme mekanizmaları birbirinden bağımsız olabilir. Literatürdeki bir çalışmada, sırasıyla yüksek dozlarda lipofilik ve hidrofilik statinlerin, simvastatin ve pravastatinin veya yüksek kolesterol diyetinin kobayların beynindeki kolesterol homeostazını etkileyebilme olasılığını test edilmiştir. Kan-beyin bariyerini aşan taşınabilir kolesterol formu olan 24-OHC, pravastatin uygulanan hayvanların beyinde önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur. Aşırı kolesterol beslenmesi, daha yüksek serum kolesterol seviyelerine neden olmuş, ancak toplam beyin kolesterol seviyesini etkilememiştir. Bu da kolesterol seviyelerinde dramatik ekstraserebral değişikliklerin olduğu koşullar altında bile çok iyi dengelenmiş bir kolesterol homeostazını koruyabildiğini gösterir. Bunun önemli bir açıklaması, beyin kolesterol sentezi ile kolesterol akışı arasındaki yakın bağlantı gibi görünmektedir (D. Lütjohann ve diğerleri, 2004). APOE knock-in fareler kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise bu farelerin önemli ölçüde farklı serum kolesterol seviyelerine ve kararlı durum beyin APOE seviyelerine sahip olduğu ve beyin kolesterol seviyelerinin eşit olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler, merkezi sinir sistemine göre periferdeki kolesterol metabolizmasında APOE için bağımsız bir role işaret etmektedir (Mann ve diğerleri, 2004). Bu nedenlerden dolayı diyet kolesterolü, merkezi ve periferik sinir sistemini farklı şekilde etkileyebilir ve bu, yapışkan çıkarma test sonuçlarımızın diğer motor performanslarının sonuçlarından farklı olmasının nedeni olabilir. Daha ileri çalışmalar daha fazla bilgi sağlayacaktır.

### 5.3. Nöroinflamasyon ve Oksidatif Stres

Nöroinflamasyon, yüksek kolesterol ile nöronal fonksiyondaki hasarı mekanik olarak birbirine bağlayan bir faktördür. Periferdeki yüksek kolesterol seviyeleri inflamatuvar mekanizmalara neden olabilir (Hansson ve diğerleri, 2006). Hiperkolesteroleminin neden olduğu bilişsel bozukluklarda nöroinflamasyon ve kan-beyin bariyer disfonksiyonunun rol oynadığı kanıtlanmıştır (De Oliveira ve diğerleri, 2020). Reaktif astrositlerin ve mikrogliaların varlığı, periferik bağışıklık hücrelerinin orta derecede infiltrasyonu ve ayrıca yüksek inflamatuvar aracı seviyeleri ile karakterize edilen nöroinflamasyonun, merkezi sinir sisteminin motor bölgelerini etkilediği bulunmuştur (Liu ve Wang, 2017). Çalışmamızda yüksek kolesterol diyetinin nöroinflamasyon üzerinde etkisi olup olmadığını anlamak için diyet sonrası fare korteks dokusunda TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyeleri belirlenmiştir.

Yüksek kolesterolü diyetin LDLr - / - farelerde nöroinflamasyon ve kan beyin bariyeri disfonksiyonu nedeniyle bilişsel bozukluğa yol açtığı ortaya konmuştur (De Oliveira ve diğerleri, 2020). Yaşlı sıçanlar yüksek kolesterol diyeti ile beslendiğinde, piramidal hücre sayısında azalma ve hipokampusta nöroinflamasyonda artış olduğu gösterilmiştir (Rui ve diğerleri, 2017). Hafızada bilişsel bozukluğa neden olduğu belirlenen yüksek kolesterol diyetinin beyinde nükleer faktör kappaB (NF-kB) sinyal yolunun aktivitesini artırdığı, beyin NO seviyesi ve TNF- $\alpha$  ve kandaki interlökin-10 (IL-10) seviyelerini artırdığı gözlenmiştir (Husain ve diğerleri, 2017). Ayrıca yüksek kolesterol ile beslenen yaşlı farelerin hipokampüsünde artmış IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-4 ve IL-10 mRNA seviyeleri gözlenmiştir (Y. Chen ve diğerleri, 2018). Bu diyetin sadece periferik sistemlere değil, merkezi sinir sistemine de zarar verdiği, ayrıca hipokampustaki erken gelişim ve nöronal göçe zarar verdiği ve hipokampustaki inflamasyonu artırdığı sonucuna varılmıştır (Freeman ve diğerleri, 2011). Önceki çalışmalarda görüldüğü gibi yüksek kolesterolü diyet beyinde özellikle hipokampus dokusunda birçok nöroinflamasyon işaretçisinin seviyelerinde artışa neden olmuştur. Çalışmamızda da benzer şekilde diyet kaynaklı nöroinflamasyonun merkezi sinir sistemine zarar verdiği ve diğer çalışmalardan farklı olarak korteks dokusunda IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin arttığı belirlenmiştir. Ayrıca uyguladığımız diyet tek başına yüksek kolesterolü diyet olup yüksek yağ etkileri değil sadece kolesterol etkisini göstermektedir. Yüksek yağlı ve yüksek kolesterolü diyet yaşlı sıçanlarda bilişsel performansı azaltmış, nöroinflamasyon işaretçi ve fosforile Tau (p Tau) seviyelerini artırmıştır (Ledreux ve diğerleri, 2016). Kolesterol homeostazının bozulmasının nöroinflamasyonda ve Alzheimer patogeneğinde önemli ölçüde yer aldığı hipotezi ortaya konmuştur (Abuelezz ve Hendawy, 2021).

Çalışmamızda Alzheimer gibi birçok nörodejeneratif hastalıkta rolü olan BDNF heterozigotluğunda yüksek kolesterolü diyetin nöroinflamasyonu tetiklediği gözlenmiştir.

Batı tipi beslenme kaynaklı sistemik bozukluklar, Alzheimer hastalığı gelişiminin erken aşamalarında beyin nöroinflamasyonunu ve amiloidogenezi hızlandırabilir. Kolesterol ağırlıklı bir diyet olan batı tipi diyetin bir aylık kısa süreli beslenmede, artırılmış astroglisis gibi beyin nöroinflamasyon olaylarına neden olduğu ve mikroglia aktivasyonunu indüklediği, beş aylık uzun süreli beslenmede ise artan amiloid beta peptid (A $\beta$ ) üretimini hızlandırdığı gözlenmiştir (Wiğckowska-Gacek ve diğerleri, 2021). Bu sonuçlar, batılılaştırılmış beslenme düzeninin, Alzheimer gelişiminin önemli bir değiştirilebilir risk faktörü olduğunu ve sağlıklı, dengeli bir diyetin en etkili Alzheimer önleme yöntemlerinden biri olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda yüksek kolesterolü diyet ile birlikte nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasına yatkın olan BDNF heterozigot fare korteks dokularında IL-6 anlamlı bir şekilde artması önceki çalışmaların hipotezlerini destekler niteliktedir.

Oksidatif stres, antioksidan savunmada bir azalmanın eşlik ettiği reaktif oksijen türlerinin artan üretimini bir sonucudur. Nöroinflamasyon ve oksidatif stres, nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde ayrılmaz bir şekilde bağlantılıdır (Sies, 2015). Anormal glial hücreler, hücrel stres ve inflamatuvar aktivasyonun karakteristik özelliği olan, artmış endoplazmik retikulum stresi sergiler. Aktive edilmiş mikroglia, proinflamatuvar sitokinleri (örn., TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL12...vb.) salgılar. Glial ve infiltre bağışıklık hücreleri, merkezi sinir sistemi patolojik koşullarında ROS ve reaktif nitrojen türlerinin başlıca üreticileri arasında kabul edilir (Liddelow ve diğerleri, 2017).

Oksidatif stres, yüksek kolesterol diyetinin neden olduğu nöronal hasarın mekanizmasında yer alan önemli bir faktördür. Sinaptik bölgelerde, reaktif oksidatif stres ile ilişkili olarak yüksek miktarda enerji gerekir. Sinaptik mitokondri yeterli olmadığında, sinaptik fonksiyonun değişmesine ve sinaptik kayba yol açan reaktif oksidatif türler üretilir (Crispino ve diğerleri, 2020). Çalışmamızda yüksek kolesterolü diyetin beyin korteks dokusunda oksidatif stresi nasıl etkilediğini tespit etmek amacıyla oksidatif stres parametreleri olan MDA, SOD ve CAT miktarları ölçülmüştür. Yüksek kolesterol diyetinin Apo E homozigot farelerin beyin dokularında oksidatif stres ve nöroinflamasyonu yüksek oranda artırdığı gözlenmiştir (Di Cataldo ve diğerleri, 2016). Ayrıca yüksek yağ/yüksek kolesterol diyetinin fare hipokampusunda inflamasyonu ve oksidatif stresi artırdığı tespit edilmiştir (Thirumangalakudi ve diğerleri, 2008). 4 hafta boyunca yüksek kolesterolü diyet ile beslenen tavşan hipokampusunda ve korteksinde oksidatif stresin arttığı bulunmuştur (Aytan ve



diğerleri, 2008). Yaptığımız çalışmada da benzer olarak bu diyetin fare korteks dokusunda nöroinflamasyon ile birlikte oksidatif stresin de arttığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda yüksek kolesterol diyetinin neden olduğu bir dizi oksidatif stres parametresindeki değişikliklerin yanı sıra BDNF'nin kortekste potansiyel antioksidan rolü araştırıldı. Oksidatif stres ve BDNF sistemi arasındaki etkileşimin, sinaptik plastisite ve bilişsel işlevde diyetle ilgili değişiklikleri düzenleyebildiği ve buna bağlı olarak nöronal ve davranışsal plastisitenin, oksidatif strese tepki veren moleküler olaylarla modüle edilebildiği gösterilmiştir (A. Wu ve diğerleri, 2004). Laboratuvarımızda yapılan bir başka çalışmada, kortekste azalan BDNF seviyeleri, MDA seviyelerinin artmasına ve sinaptik proteinlerin kaybına neden olmuştur (İ. Abidin ve diğerleri, 2018). Yüksek MDA seviyeleri ve oksidatif stres parametrelerinin, bozulmuş kortikal fonksiyon ile korele olduğunu gösterilmiştir (Yaras ve diğerleri, 2003; Yargıçoğlu ve diğerleri, 2004). Çalışmamızdaki mevcut bulgular lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'nın HCD:HT grubunda en yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca her iki diyet türünün de WT grupları, HT gruplarından daha düşük seviyelere sahip olduğu ve antioksidan savunma enzimi SOD aktivitesi HT gruplarında daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızdaki oksidatif stres parametrelerinin sonuçlarına dayanarak, BDNF'nin kortikal dokularda belirgin bir antioksidan etki oluşturduğunu söyleyebiliriz.

#### **5.4.Sinaptik Proteinler**

PSD-95, sinaptik plastisitede rolü olan glutamat reseptörlerinin kümelenmesini sağlayan önemli bir postsinaptik proteindir. Küçük sinaptik veziküllerle ilişkili presinaptik bir protein olan sinaptofizin, veziküler yerleşimde rol oynar. Kalsiyum bağlanmasında (Rehm, Wiedenmann ve Betz, 1986), kanal oluşumunda (Thomas ve diğerleri, 2016), ekzositozda (Mullany ve Lynch, 1998) ve endositoz yoluyla sinaptik vezikül geri dönüşümünde (Evans ve Cousin, 2005) rol oynadığı düşünülmektedir. Bu sinaptik proteinlerin konsantrasyonları fonksiyonel sinaps sayısı ve dolayısı ile de korteks fonksiyonu ile ilişkilidir. Bu nedenle, çalışmamızda yüksek kolesterollü bir diyetin kortekste bu sinaptik proteinleri azaltıp azaltamayacağını belirlemek için ve ayrıca endojen BDNF'nin bir koruma sağlayıp sağlamadığını ortaya çıkarmak için bir presinaptik protein olan sinaptofizin (SYP) ve bir postsinaptik protein olan PSD-95 seviyeleri ölçülmüştür.

Yüksek yağlı ve yüksek kolesterollü diyetin iki aylık bir süreç sonrasında C57BL/6 türü farelerin hipokampus dokularında sinaptofizin seviyelerinde önemli bir değişikliğe yol açmadığı fakat belirgin bir şekilde, post-sinaptik protein PSD-95'in miktarını düşürdüğü

belirlenmiştir (Bhat ve Thirumangalakudi, 2013). Çalışmamızda ise post sinaptik protein seviyeleri açısından sadece yüksek kolesterolli diyetle verilen cevabın daha belirgin olmadığı gözlenmiştir. 8 hafta süresince yüksek kolesterolli diyet ile beslenen farelerin hipokampuslarında SYP ve PSD-95 düzeylerinin değişmediği tespit edilmiştir (Y. L. Chen ve diğerleri, 2016). Yüksek kolesterol diyetin yaşlı farelerin hipokampusunda PSD-95 seviyelerini değiştirmediği, sinaptofizin ekspresyonundaki azalmayı büyük ölçüde hafiflettiği gözlenmiştir (Y. Chen ve diğerleri, 2018). Yüksek kolesterolli diyetle beslenen tavşanların hipokampus PSD-95 seviyelerinde düşüş belirlenmiştir (Brooksa ve diğerleri, 2017). Çalışmamızda, yüksek kolesterol diyetinin SYP ekspresyonunu azalttığı ancak PSD-95'i değiştirmediği bulunmuştur. Yapılan araştırmalardan görüldüğü gibi yüksek kolesterolli beslenme özellikle SYP başta olmak üzere sinaptik protein seviyelerini değiştirmektedir. Ayrıca önceki çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda korteks dokusu kullanılmıştır. Kontrol diyeti ile beslenen farelerde BDNF'nin anlamlı bir şekilde koruyucu etkisi gözlenmesine rağmen yüksek kolesterolli diyet ile beslenen farelerde gözlenmemiştir. Fakat yüksek kolesterol diyeti ile beslenen heterozigot farelerde SYP kaybının kontrol diyeti ile beslenen heterozigot farelere göre belirgin olarak daha fazla olduğu sonucu elde edilmiştir. BDNF ve yüksek kolesterol diyetinin sinaps yoğunluğu üzerine olan etkileriyle ilgili sonuçlarımız yüksek kolesterol diyetinin sinaps yoğunluğunu azalttığını işaret etmektedir.

## 5.5. Uyarılabilirlik ve ECoG

Karmaşık bir sinir dokusunda çalışmamız dahilinde ölçebildiğimiz parametreler kısıtlıydı. Bu yüzden çalışmada elde edilen sonuçlar kolesterol/BDNF ilişkisinin bir kısmını göstermektedir. Çalışmamızın ilk kısmında elde edilen verilerde, tek başına kolesterol diyetinin, yüksek yağlı diyet gibi büyük zararlarının olmadığı, aksine duyuşal ve motor performans fonksiyonunun birlikte analiz edildiği ve duyuşal yolağın ön planda olduğu yapışkan çıkarma testinde olduğu gibi bazı parametrelerde BDNF eksikliğinden kaynaklanan bozuklukları normale döndürme eğilimi olduğu gözlemlenmiştir. Literatürde yüksek kolesterolli diyetin etkisinin incelenmesi amacıyla gerçekleştirilen elektrofizyolojik çalışma sayısı oldukça kısıtlıdır. Bu alanda literatüre katkı yapmak amacıyla gerçekleştirdiğimiz ve bir elektrofizyolojik araştırma yöntemi olan ECoG kayıt alımı çalışmamızın ikinci kısmını oluşturmaktadır. Bu kısımda diyetin minimum etkisini görebilmek amacıyla daha kısa süreli yüksek kolesterol diyeti uygulanmış ve bu diyetin en önemli beyin dalgaları olan delta, teta, alfa, beta ve gama frekans bantlarını nasıl etkileyeceği ECoG kayıtları vasıtasıyla

araştırılmıştır. Bu dalgaların güç spektrumlarından mutlak güçleri belirlenerek diyet farklılıklarının doğal fenotip ve BDNF heterozigot farelerin bazal beyin aktivitesinin nasıl değiştiği gözlenmiştir.

Labortuvarımızda yapılan daha önceki ECoG çalışmalarında BDNF heterozigot farelerin frekans bantlarında, özellikle de yüksek frekans bantlarında bir güç azalması gözlenmiştir (İ. Abidin ve diğerleri, 2011). Ayrıca kortikal EEG kaydında BDNF heterozigot farelerin teta frekans bandında anlamlı güç azalması tespit edilmiştir (Geist ve diğerleri, 2017). Çalışmamız ECoG sonuçlarına göre kontrol diyeti ile beslenen BDNF heterozigot farelerin teta ve alfa dalgalarında anlamlı olmak üzere frekans bantlarında güç azalması olduğu görülmüştür. Toplam güçte de anlamlı bir azalma vardır. Bu sonuç önceki çalışmalarla uyum içerisindedir. %25 yağ içeren diyet ile 2 ay boyunca beslenen sıçanların bazal beyin aktiviteleri ECoG kayıtlarına ait delta bantlarında anlamlı bir azalma beta bantlarında anlamlı bir artış gözlenmiştir (Nogueira ve diğerleri, 2019). Literatürde yer alan bir çalışmada %1 kolesterol içeren diyet ile 14 hafta beslenen albino sıçanların frekans bantları ortalama genlik değerlerinde (dB) anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Yüksek kolesterollü diyet uzun süre beslenmede bazal beyin aktivitesini azaltan bir etki göstermiştir (Agar ve diğerleri, 1994). Yaptığımız çalışmada yüksek kolesterol diyeti (%1,25 kolesterol içeren) ile beslenen WT farelerin teta, alfa, beta, gama frekans bantlarında ve toplam gücünde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Bu sonuç diyet süresinin ve içeriğinin bazal beyin aktivitesini değiştirebileceğini göstermektedir. Yüksek yağlı diyetin aksine yüksek kolesterollü diyet bazal beyin aktivitesini yavaşlatmıştır. Bazal beyin aktivitesinin azalması sinaptik iletimde bir sorun olduğuna işaret eder. Yüksek kolesterollü diyetin sinaptik iletimde rol alan SYP ve PSD-95 ekspresyon seviyelerini değiştirdiği sonucu çalışmanın ilk aşamasında elde edilmiştir. Bunun kaynağının da fazla kolesterol alımının indüklediği oksidatif stres ve nöroinflamasyon olduğu düşünülmektedir. Kontrol diyeti ile beslenen BDNF heterozigot farelerin WT farelere göre frekans bantlarındaki anlamlı azalma BDNF'ün korteks bölgesinde normalde koruyuculuğunun olduğunu gösterir. İlginç olarak, yüksek kolesterollü diyet ile beslenen BDNF heterozigot farelerde bir iyileşme eğilimi gözlenmiştir. BDNF'ün kolesterol sentezinde rol oynadığı bilinmektedir. Astrositlerde kolesterol akışını, ABCA1 taşıyıcısı ve ApoE ekspresyonunu uyarır. (Spagnuolo ve diğerleri, 2018). Bu durumda normal farelerde normal kolesterol sentezine ek olarak diyetle alınan kolesterolün zararlı etkileri gözlemlenirken, heterozigot farede daha az sentezlenen kolesterol fonksiyonel olarak bozukluklara yol açmaktadır. Heterozigot farede eksik olan sentez, diyetle desteklenince, kolesterol seviyeleri normale yaklaşmış ve ECoG güçleri de iyileşme göstermiş

olabilir. Benzer şekilde yaşıllık ile birlikte BDNF ekspresyonu azalmaktadır. Önceki çalışmalarda yaşıllıkta kolesterol ile BDNF'ün bağlandığı reseptör olan Trk-B reseptörünün module edilebileceği ortaya konmuştur (Martin ve diğerleri, 2010). Heterozigotluk ve yaşıllıkta olduğu gibi normalden daha az BDNF ekspresyonu olan durumlarda alınan kolesterolün doza bağlı olarak bu açığı kapayabileceği düşüncesi ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, BDNF sinyal yolağının başlangıç noktası olan Trk B reseptörleri membranda lipid suları içerisinde bulunduğundan, yüksek kolesterol diyeti ile sinir membranlarında lipid sal yoğunluğu, buna bağlı olarak da Trk B reseptör aktivitesi değişmiş olabilir. Bu durumun, BDNF heterozigot farelerde gerçekleşen sinyalizasyonu etkilemiş olabileceği düşünülmektedir. Ancak çalışmalar kolesterol ile Trk-B yolağının modülasyonun mümkün olduğunu işaret etse de moleküler anlamda nasıl bir yol ile izlediği henüz aydınlatılamamıştır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın ilk aşamasında BDNF ve uzun süreli yüksek kolesterol diyetinin vücut ağırlığına, oksidatif stres parametreleri ve nöroinflamasyon işaretçileri seviyelerine, sinaptik protein ekspresyonuna ve duyu-motor performans üzerine etkileri araştırılmıştır. Vücut ağırlıklarında YKD ile beslenen BDNF heterozigot farelerin ağırlığı diğerlerine göre daha fazladır. Davranış testlerinden silindir testinde YKD ile beslenen BDNF heterozigot fareler, diğerlerine göre daha kötü bir performans sergilemiştir. Telde asılı kalma testinde benzer şekilde YKD ile beslenen BDNF heterozigot fareler daha kısa sürelerde asılı kalabilmiştir. Yapışkandan kurtulma testinde ise en kötü performans SD ile beslenen BDNF heterozigot farelere aittir. Oksidatif stres parametrelerinde YKD ile beslenen BDNF heterozigot farelerde MDA seviyesi en yüksektir. YKD ile beslenmiş doğal fenotip farelerin SOD seviyeleri, SD ile beslenmiş doğal fenotip ve BDNF heterozigot farelere göre anlamlı olarak daha düşüktür. Nöroinflamasyon işaretçisi olan IL-6 seviyeleri YKD ile beslenmiş BDNF heterozigot farelerde daha yüksektir. Sinaptik protein sinaptofizin ekspresyonu SD ile beslenmiş doğal fenotip farelerde diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksektir. Çalışmamızın ikinci aşamasında ise BDNF ve kısa süreli yüksek kolesterol diyetinin beyin dalgaları mutlak güçlere ve toplam güce etkileri incelenmiştir. Toplam güçte ve teta, alfa, beta, gama dalgalarının mutlak güçleri YKD ile beslenen doğal fenotip farelerde anlamlı şekilde en düşük bulunmuştur.

Uzun süre boyunca yüksek kolesterollü diyet ile beslenen C57BL/6 farelerde davranış testleri ve nörokimyasal incelemelerin birçoğunda BDNF heterozigot fareler anlamlı bir şekilde en kötü performans ve değerler gözlenmiştir. Bu da yüksek kolesterollü diyetle BDNF'nin koruyucu bir etkisi olduğunu göstermektedir. Kısa süreli yüksek kolesterollü beslenme sonrasında yapılan elektrofizyolojik incelemelerde ise BDNF'nin koruyuculuğundan çok kolesterolün heterozigot hayvanlarda iyileştirici etkisi gözlenmiştir. Kolesterole maruz kalma süresinin BDNF heterozigot hayvanlarda farklı etkileri olabileceği ortaya konmuştur. Ayrıca yapılan elektrofizyolojik çalışmalarda alınan kolesterol miktarına bağlı olarak BDNF heterozigot farelerde olumlu etkisinin gözlenmesi Trk-B reseptörünün doza bağlı olarak kolesterol ile modüle edilebileceğine dair önceki çalışmalara katkı sağlamıştır. Trk-B-kolesterol ilişkisi ayrıntılı moleküler çalışmalar ile aydınlatılmayı bekleyen bir sinyal yolağına işaret etmektedir.

İleriki çalışmalarda;

- Uzun süreli yüksek kolesterol diyeti ile BDNF ilişkisi in vivo elektrofizyolojik yöntemlerle incelenebilir.
- BDNF heterozigot farelerde 24S-HC ve 27-HC metabolitlerinin akut etkisi beyin kesitlerinde elektrofizyolojik ex vivo kayıt alımı ile araştırılıp tanımlanabilir.
- Yüksek koleterollü diyet sonrası epileptik aktivite oluşturularak 24S-HC ve 27-HC metabolitlerinin beyin uyarılabilirliğine etkisi in vivo ve ex vivo elektrofizyolojik yöntemlerle araştırılabilir.
- Trk-B ve kolesterol ilişkisini ilgilendiren sinyal yolları lusiferaz deneyleri gibi ileri moleküler teknikler ile ortaya konabilir.
- 24S-HC ve 27-HC metabolitleri ile Trk-B sinyal yolağı regülasyonunun mümkün olup olmayacağı nörodejenaratif hastalıklar tedavi yöntemleri açısından değerlendirilmesi çeşitli moleküler, davranışsal ve elektrofizyolojik yöntemler ile araştırılabilir.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Sattar, E. A., Elberry, A. A., Harraz, F. M., Ghareib, S. A., Nagy, A. A. ve Gabr, S. A. (2011). Antihyperglycemic and hypolipidaemic effects of the methanolic extract of Saudi mistletoe (*Viscum schimperi* Engl.). *Journal of Advanced Research*, 2(2), 171–177. doi:10.1016/j.jare.2011.01.006
- Abidin, İ. (2006). *Effects of reduced levels of Brain-derived neurotrophic factor ( BDNF ) on excitatory and inhibitory synaptic transmission in the visual cortex Ismail Abidin*. Ruhr-University Bochum.
- Abidin, İ., Aydin-Abidin, S., Bodur, A., İnce, İ. ve Alver, A. (2018). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) heterozygous mice are more susceptible to synaptic protein loss in cerebral cortex during high fat diet. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 124(5), 442–447. doi:10.1080/13813455.2017.1420666
- Abidin, İ., Aydin-Abidin, S. ve Mittmann, T. (2019). Neuronal excitability and spontaneous synaptic transmission in the entorhinal cortex of BDNF heterozygous mice. *Neuroscience Letters*, 690(September 2018), 69–75. doi:10.1016/j.neulet.2018.10.019
- Abidin, İ., Eysel, U. T., Lessmann, V. ve Mittmann, T. (2008). Impaired GABAergic inhibition in the visual cortex of brain-derived neurotrophic factor heterozygous knockout mice. *Journal of Physiology*, 586(7), 1885–1901. doi:10.1113/jphysiol.2007.148627
- Abidin, İ., Yildirim, M., Aydin-Abidin, S., Kalay, E., Cansu, A., Akca, M. ve Mittmann, T. (2011). Penicillin induced epileptiform activity and EEG spectrum analysis of BDNF heterozygous mice: An in vivo electrophysiological study. *Brain Research Bulletin*, 86(3–4), 159–164. doi:10.1016/j.brainresbull.2011.06.015
- Abuelezz, S. A. ve Hendawy, N. (2021). HMGB1/RAGE/TLR4 axis and glutamate as novel targets for PCSK9 inhibitor in high fat cholesterol diet induced cognitive impairment and amyloidosis. *Life Sciences*, 273(February), 119310. doi:10.1016/j.lfs.2021.119310
- Adachi, N., Kohara, K. ve Tsumoto, T. (2005). Difference in trafficking of brain-derived neurotrophic factor between axons and dendrites of cortical neurons, revealed by live-cell imaging. *BMC Neuroscience*, 6, 1–10. doi:10.1186/1471-2202-6-42

- Agar, A., Yargıçoğlu, P., Şentürk, K. U. ve Öner, G. (1994). The role of diet cholesterol changes on EEG. *International Journal of Neuroscience*, 75(1–2), 103–109. doi:10.3109/00207459408986293
- Allan, S. M., Tyrrell, P. J. ve Rothwell, N. J. (2005). Interleukin-1 and neuronal injury. *Nature Reviews Immunology*, 5(8), 629–640. doi:10.1038/nri1664
- Alsina, B., Vu, T. ve Cohen-Cory, S. (2001). Visualizing synapse formation in arborizing optic axons in vivo: Dynamics and modulation by BDNF. *Nature Neuroscience*, 4(11), 1093–1101. doi:10.1038/nn735
- Altar, C. A. ve Distefano, P. S. (1998). Neurotrophin trafficking by anterograde transport. *Trends in Neurosciences*, 21(10), 433–437. doi:10.1016/S0166-2236(98)01273-9
- Arenas, F., Garcia-ruiz, C. ve Fernandez-checa, J. C. (2017). Intracellular Cholesterol Trafficking and Impact in Neurodegeneration, 10(November). doi:10.3389/fnmol.2017.00382
- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E. ve Kumar, S. S. (2016). Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. doi:10.1155/2016/5276130
- Autry, A. E. ve Monteggia, L. M. (2012). Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacological Reviews*, 64(2), 238–258. doi:10.1124/pr.111.005108
- Aytan, N., Jung, T., Tamtürk, F., Grune, T. ve Kartal-Özer, N. (2008). Oxidative stress related changes in the brain of hypercholesterolemic rabbits. *BioFactors*, 33(3), 225–236. doi:10.1002/biof.5520330308
- Badimón, L., Vilahur, G. ve Padró, T. (2009). Lipoproteins, Platelets, and Atherothrombosis. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, 62(10), 1161–1178. doi:10.1016/S1885-5857(09)73331-6
- Balazs, Z., Panzenboeck, U., Hammer, A., Sovic, A., Quehenberger, O., Malle, E. ve Sattler, W. (2004). Uptake and transport of high-density lipoprotein (HDL) and HDL-associated  $\alpha$ -tocopherol by an in vitro blood-brain barrier model. *Journal of Neurochemistry*, 89(4), 939–950. doi:10.1111/j.1471-4159.2004.02373.x
- Barbacid, M. (1995). PDFlib PLOP: PDF Linearization , Optimization , Protection Page inserted by evaluation version Structural and Functional Properties of the TRK Family of



- Neurotrophin Receptors. *Ann N Y Acad Sci.*, 766, 442–58.
- Bartos, M., Vida, I. ve Jonas, P. (2007). Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(1), 45–56. doi:10.1038/nrn2044
- Bazelot, M., Dinocourt, C., Cohen, I. ve Miles, R. (2010). Unitary inhibitory field potentials in the CA3 region of rat hippocampus. *Journal of Physiology*, 588(12), 2077–2090. doi:10.1113/jphysiol.2009.185918
- Bazhenov, M., Lonjers, P., Skorheim, S., Bedard, C. ve Destexhe, A. (2011). Non-homogeneous extracellular resistivity affects the current-source density profiles of up-down state oscillations. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 369(1952), 3802–3819. doi:10.1098/rsta.2011.0119
- Beattie, E., Stellwagen, D., Morishita, W., Bresnahan, J., Ha, B., Von Zastrow, M., ... Malenka, R. (2002). Control of synaptic strength by glial TNF $\alpha$ . *Neuron*, 295(March), 2282–2285.
- Benraiss, A., Chmielnicki, E., Lerner, K., Roh, D. ve Goldman, S. A. (2001). Adenoviral brain-derived neurotrophic factor induces both neostriatal and olfactory neuronal recruitment from endogenous progenitor cells in the adult forebrain. *Journal of Neuroscience*, 21(17), 6718–6731. doi:10.1523/jneurosci.21-17-06718.2001
- Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism: Clinical and Experimental*, 49(2 SUPPL. 1), 3–8. doi:10.1016/S0026-0495(00)80077-3
- Bezzi, P., Domercq, M., Brambilla, L., Galli, R., Schols, D., De Clercq, E., ... Volterra, A. (2001). CXCR4-activated astrocyte glutamate release via TNF $\alpha$ : Amplification by microglia triggers neurotoxicity. *Nature Neuroscience*, 4(7), 702–710. doi:10.1038/89490
- Bhat, N. ve Thirumangalakudi, L. (2013). Increased tau phosphorylation and impaired brain insulin/IGF signaling in mice fed a high fat/high cholesterol diet. *J Alzheimers Dis.*, 36(4), 781–789. doi:10.3233/JAD-2012-121030.INCREASED
- Björkhem, I. (2006). Crossing the barrier: Oxysterols as cholesterol transporters and metabolic modulators in the brain. *Journal of Internal Medicine*, 260(6), 493–508. doi:10.1111/j.1365-2796.2006.01725.x

- Björkhem, I., Meaney, S. ve Fogelman, A. M. (2004). Brain Cholesterol: Long Secret Life behind a Barrier. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 24(5), 806–815. doi:10.1161/01.ATV.0000120374.59826.1b
- Blundell, J. E. (1990). Appetite Disturbance and the Problems of Overweight. *Drugs*, 39(3), 1–19. doi:10.2165/00003495-199000393-00003
- Bodur, A., İnce, İ., Kahraman, C., Abidin, İ., Aydın-Abidin, S. ve Alver, A. (2019). Effect of a high sucrose and high fat diet in BDNF (+/-) mice on oxidative stress markers in adipose tissues. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 665(August 2018), 46–56. doi:10.1016/j.abb.2019.02.004
- Bolton, M. M. L., Pittman, A. J., Lo, D. C. ve Lo. (2000). Brain-derived neurotrophic factor differentially regulates excitatory and inhibitory synaptic transmission in hippocampal cultures. *Journal of Neuroscience*, 20(9), 3221–3232. doi:10.1523/jneurosci.20-09-03221.2000
- Bouet, V., Boulouard, M., Toutain, J., Divoux, D., Bernaudin, M., Schumann-Bard, P. ve Freret, T. (2009). The adhesive removal test: A sensitive method to assess sensorimotor deficits in mice. *Nature Protocols*, 4(10), 1560–1564. doi:10.1038/nprot.2009.125
- Brigadski, T., Hartmann, M. ve Lessmann, V. (2005). Differential vesicular targeting and time course of synaptic secretion of the mammalian neurotrophins. *Journal of Neuroscience*, 25(33), 7601–7614. doi:10.1523/JNEUROSCI.1776-05.2005
- Brooks, S. W., Dykes, A. C. ve Schreurs, B. G. (2017). High-Cholesterol Diet Increases 27-Hydroxycholesterol and J Alzheimers Dis J Alzheimers Dis . Author manuscript; available in PMC 2017 April 06. . 2017; 56(1): 185–196. doi:10.3233/JAD-160725. Modifies Estrogen Receptor Expression and Neurodegeneration i. *J Alzheimers Dis.*, 56(1), 185–196. doi:10.3233/JAD-160725.A
- Buzsáki, G., Anastassiou, C. A. ve Koch, C. (2016). The origin of extracellular fields and currents — EEG, ECoG, LFP and spikes Electric current contributions from all active cellular processes within a volume of brain tissue superimpose at a given location in the extracellular medium and generate a potent, 13(6), 407–420. doi:10.1038/nrn3241
- Carter, M. ve Shieh, J. (2015). Animal Behavior. *Guide to Research Techniques in Neuroscience* içinde (ss. 39–71). doi:10.1016/C2009-0-01531-1
- Cartocci, V., Servadio, M., Trezza, V. ve Pallottini, V. (2017). Can Cholesterol Metabolism

- Modulation Affect Brain Function and Behavior? *Journal of Cellular Physiology*, 232(2), 281–286. doi:10.1002/jcp.25488
- Chen, A., Xiong, L., Tong, Y. ve Mao, M. (2013). The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury. *Biomedical Reports*, 1(2), 167–176. doi:10.3892/br.2012.48
- Chen, T. G., Chen, T. L., Chang, H. C., Tai, Y. T., Cherng, Y. G., Chang, Y. T. ve Chen, R. M. (2007). Oxidized low-density lipoprotein induces apoptotic insults to mouse cerebral endothelial cells via a Bax-mitochondria-caspase protease pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 219(1), 42–53. doi:10.1016/j.taap.2006.11.031
- Chen, X., Winters, C., Azzam, R., Li, X., Galbraith, J. A., Leapman, R. D. ve Reese, T. S. (2008). Organization of the core structure of the postsynaptic density. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(11), 4453–4458. doi:10.1073/pnas.0800897105
- Chen, Y. L., Wang, L. M., Chen, Y., Gao, J. Y., Marshall, C., Cai, Z. Y., ... Xiao, M. (2016). Changes in astrocyte functional markers and  $\beta$ -amyloid metabolism-related proteins in the early stages of hypercholesterolemia. *Neuroscience*, 316, 178–191. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.12.039
- Chen, Y., Yin, M., Cao, X., Hu, G. ve Xiao, M. (2018). Pro- and Anti-inflammatory Effects of High Cholesterol Diet on Aged Brain. *Aging and Disease*, 9(3), 374. doi:10.14336/AD.2017.0706
- Chen, Z. Y., Patel, P. D., Sant, G., Meng, C. X., Teng, K. K., Hempstead, B. L. ve Lee, F. S. (2004). Variant Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) (Met66) Alters the Intracellular Trafficking and Activity-Dependent Secretion of Wild-Type BDNF in Neurosecretory Cells and Cortical Neurons. *Journal of Neuroscience*, 24(18), 4401–4411. doi:10.1523/JNEUROSCI.0348-04.2004
- Cheng, D., Hoogenraad, C. C., Rush, J., Ramm, E., Schlager, M. A., Duong, D. M., ... Peng, J. (2006). Relative and absolute quantification of postsynaptic density proteome isolated from rat forebrain and cerebellum. *Molecular and Cellular Proteomics*, 5(6), 1158–1170. doi:10.1074/mcp.D500009-MCP200
- Coley, A. ve Gao, W. (2018). PSD95: A synaptic protein implicated in schizophrenia or autism? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*,

2(82), 187–194.

- Collingridge, G., Volianskis, A., Bannister, N., France, G., Hanna, L., Mercier, M., ... Jane, D. E. (2013). The NMDA receptor as a target for cognitive enhancement. *Neuropharmacology*, *64*, 13–26. doi:10.1016/j.neuropharm.2012.06.051.
- Conner, J. M., Lauterborn, J. C., Yan, Q., Gall, C. M. ve Varon, S. (1997). Distribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA in the normal adult rat CNS: Evidence for anterograde axonal transport. *Journal of Neuroscience*, *17*(7), 2295–2313. doi:10.1523/jneurosci.17-07-02295.1997
- Cooper, M. K., Wassif, C. A., Krakowiak, P. A., Taipale, J., Gong, R., Kelley, R. I., ... Beachy, P. A. (2003). A defective response to Hedgehog signaling in disorders of cholesterol biosynthesis. *Nature Genetics*, *33*(4), 508–513. doi:10.1038/ng1134
- Counts, S. E., Nadeem, M., Lad, S. P., Wu, J. ve Mufson, E. J. (2006). Differential expression of synaptic proteins in the frontal and temporal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, *65*(6), 592–601. doi:10.1097/00005072-200606000-00007
- Cousin, M. A. (2021). Synaptophysin-dependent synaptobrevin-2 trafficking at the presynapse-Mechanism and function. *Journal of Neurochemistry*, *159*(1), 78–89. doi:10.1111/jnc.15499
- Criscuolo, C., Fabiani, C., Bonadonna, C., Origlia, N. ve Domenici, L. (2015). BDNF prevents amyloid-dependent impairment of LTP in the entorhinal cortex by attenuating p38 MAPK phosphorylation. *Neurobiology of Aging*, *36*(3), 1303–1309. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.11.016
- Crispino, M., Trinchese, G., Penna, E., Cimmino, F., Catapano, A., Villano, I., ... Mollica, M. P. (2020). Interplay between peripheral and central inflammation in obesity-promoted disorders: The impact on synaptic mitochondrial functions. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(17), 1–22. doi:10.3390/ijms21175964
- Curzon, P., Zhang, M., Radek, R. ve Fox, G. (2009). The Behavioral Assessment of Sensorimotor Processes in the Mouse: Acoustic Startle, Sensory Gating, Locomotor Activity, Rotarod, and Beam Walking. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience 2nd edition* içinde (ss. 145–179). doi:10.1201/9781420041811
- Daneman, R. (2012). The blood-brain barrier in health and disease. *Annals of Neurology*,

72(5), 648–672. doi:10.1002/ana.23648

- Danzer, S. C., Crooks, K. R. C., Lo, D. C. ve McNamara, J. O. (2002). Increased expression of brain-derived neurotrophic factor induces formation of basal dendrites and axonal branching in dentate granule cells in hippocampal explant cultures. *Journal of Neuroscience*, 22(22), 9754–9763. doi:10.1523/jneurosci.22-22-09754.2002
- Danzer, S. C. ve McNamara, J. O. (2004). Localization of brain-derived neurotrophic factor to distinct terminals of mossy fiber axons implies regulation of both excitation and feedforward inhibition of CA3 pyramidal cells. *Journal of Neuroscience*, 24(50), 11346–11355. doi:10.1523/JNEUROSCI.3846-04.2004
- Darbas, M. ve Lohrengel, S. (2019). Review on Mathematical Modelling of Electroencephalography (EEG). *Jahresbericht der Deutschen Mathematiker-Vereinigung*, 121(1), 3–39. doi:10.1365/s13291-018-0183-z
- De Oliveira, J., Engel, D. F., De Paula, G. C., Dos Santos, D. B., Lopes, J. B., Farina, M., ... De Bem, A. F. (2020). High Cholesterol Diet Exacerbates Blood-Brain Barrier Disruption in LDLr<sup>-/-</sup> Mice: Impact on Cognitive Function. *Journal of Alzheimer's Disease*, 78(1), 97–115. doi:10.3233/JAD-200541
- De Souza, R. M., De Souza, L., Machado, A. E., de Bem Alves, A. C., Rodrigues, F. S., Aguiar, A. S., ... Moreira, E. L. G. (2018). Behavioural, metabolic and neurochemical effects of environmental enrichment in high-fat cholesterol-enriched diet-fed mice. *Behavioural Brain Research*, (September), 0–1. doi:10.1016/j.bbr.2018.09.022
- Di Cataldo, V., Géloën, A., Langlois, J. B., Chauveau, F., Thézé, B., Hubert, V., ... Canet-Soulas, E. (2016). Exercise does not protect against peripheral and central effects of a high cholesterol diet given ad libitum in old ApoE<sup>-/-</sup> mice. *Frontiers in Physiology*, 7(OCT), 1–12. doi:10.3389/fphys.2016.00453
- Di Filippo, M., Sarchielli, P., Picconi, B. ve Calabresi, P. (2008). Neuroinflammation and synaptic plasticity: theoretical basis for a novel, immune-centred, therapeutic approach to neurological disorders. *Trends in Pharmacological Sciences*, 29(8), 402–412. doi:10.1016/j.tips.2008.06.005
- Dias, I. H. K., Polidori, M. C. ve Griffiths, H. R. (2014). Hypercholesterolaemia-induced oxidative stress at the blood–brain barrier. *Biochemical Society Transactions*, 42(4), 1001–1005. doi:10.1042/BST20140164

- Dietschy, J. M. ve Turley, S. D. (2004). *Thematic review series: Brain Lipids*. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. *Journal of Lipid Research*, 45(8), 1375–1397. doi:10.1194/jlr.R400004-JLR200
- DiNicolantonio, C. J., Lucan, S. C. ve O’Keefe, J. H. (2016). The evidence for saturated fat and sugar related to coronary heart disease. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 58(5), 464–472.
- DiSabato, D. J., Quan, N. ve Godbout, J. P. (2016). Neuroinflammation: the devil is in the details. *Journal of neurochemistry*, 139 Suppl(Suppl 2), 136–153. doi:10.1111/jnc.13607
- Dumas, T. C. (2005). Developmental regulation of cognitive abilities: Modified composition of a molecular switch turns on associative learning. *Progress in Neurobiology*, 76(3), 189–211. doi:10.1016/j.pneurobio.2005.08.002
- Ebersole, J. S. ve Ebersole, S. M. (2010). Combining MEG and EEG source modeling in epilepsy evaluations. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 27(6), 360–371. doi:10.1097/WNP.0b013e318201ffc4
- Egan, M. F., Kojima, M., Callicott, J. H., Goldberg, T. E., Kolachana, B. S., Bertolino, A., ... Weinberger, D. R. (2003). The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*, 112(2), 257–269. doi:10.1016/S0092-8674(03)00035-7
- Engel, A. K., Moll, C. K. E., Fried, I. ve Ojemann, G. A. (2005). Invasive recordings from the human brain: Clinical insights and beyond. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(1), 35–47. doi:10.1038/nrn1585
- Esterbauer, H. ve Cheeseman, K. H. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology*, 186(C), 407–421. doi:10.1016/0076-6879(90)86134-H
- Evans, G. J. O. ve Cousin, M. A. (2005). Tyrosine phosphorylation of synaptophysin in synaptic vesicle recycling. *Biochemical Society Transactions*, 33(6), 1350–1353. doi:10.1042/BST20051350
- Fan, Q. W., Yu, W., Gong, J. S., Zou, K., Sawamura, N., Senda, T., ... Michikawa, M. (2002). Erratum: Cholesterol-dependent modulation of dendrite outgrowth and microtubule stability in cultured neurons (Journal of Neurochemistry (80) (178-190)). *Journal of Neurochemistry*, 80(5), 940. doi:10.1046/j.0022-3042.2002.00785.x

- Fearon, C., Murray, B. ve Mitsumoto, H. (2021). Disorders of upper and lower motor neurons. *Bradley and Daroff's Neurology in Clinical Practice, Eighth Edition* içinde (Eighth Edi., ss. 1535–1567). Elsevier Inc.
- Fernández-Sánchez, A., Madrigal-Santillán, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-González, Á., Esquivel-Chirino, C., ... Morales-González, J. A. (2011). Inflammation, oxidative stress, and obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, *12*(5), 3117–3132. doi:10.3390/ijms12053117
- Fester, L., Zhou, L., Bütow, A., Huber, C., Von Lossow, R., Prange-Kiel, J., ... Rune, G. M. (2009). Cholesterol-promoted synaptogenesis requires the conversion of cholesterol to estradiol in the hippocampus. *Hippocampus*, *19*(8), 692–705. doi:10.1002/hipo.20548
- Fox, E. A., Biddinger, J. E., Jones, K. R., McAdams, J. ve Worman, A. (2013). Mechanism of hyperphagia contributing to obesity in brain-derived neurotrophic factor knockout mice. *Neuroscience*, *229*, 176–199. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.09.078
- Freeman, L. R., Small, B. J., Bickford, P. C., Umphlet, C. ve Granholm, A. C. (2011). A high-fat/high-cholesterol diet inhibits growth of fetal hippocampal transplants via increased inflammation. *Cell Transplantation*, *20*(10), 1499–1514. doi:10.3727/096368910X557281
- Gamba, P., Testa, G., Gargiulo, S., Staurengi, E., Poli, G. ve Leonarduzzi, G. (2015). Oxidized cholesterol as the driving force behind the development of Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *7*(JUN), 1–21. doi:10.3389/fnagi.2015.00119
- Geist, P., Dulka, B., Barnes, A., Totty, M. ve Datta, S. (2017). BDNF heterozygosity is associated with memory deficits and alterations in cortical and hippocampal EEG power. *Behav Brain Res.*, *332*, 154–163. doi:10.1016/j.bbr.2017.05.039.BDNF
- Giordano, F. J. (2005). Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *Journal of Clinical Investigation*, *115*(3), 500–508. doi:10.1172/JCI200524408
- Glantz, L. A., Gilmore, J. H., Hamer, R. M., Lieberman, J. A. ve Jarskog, L. F. (2007). Synaptophysin and postsynaptic density protein 95 in the human prefrontal cortex from mid-gestation into early adulthood. *Neuroscience*, *149*(3), 582–591. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.06.036
- Gold, C., Henze, D. A., Koch, C. ve Buzsáki, G. (2006). On the origin of the extracellular action potential waveform: A modeling study. *Journal of Neurophysiology*, *95*(5), 3113–

3128. doi:10.1152/jn.00979.2005

- Goritz, C., Mauch, D. H. ve Pfrieder, F. W. (2005). Multiple mechanisms mediate cholesterol-induced synaptogenesis in a CNS neuron. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 29(2), 190–201. doi:10.1016/j.mcn.2005.02.006
- Gosselet, F., Saint-Pol, J. ve Fenart, L. (2014). Effects of oxysterols on the blood-brain barrier: Implications for Alzheimer's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 446(3), 687–691. doi:10.1016/j.bbrc.2013.11.059
- Góth, L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta*, 196(2–3), 143–151. doi:10.1016/0009-8981(91)90067-M
- Gottmann, K., Mittmann, T. ve Lessmann, V. (2009). BDNF signaling in the formation, maturation and plasticity of glutamatergic and GABAergic synapses. *Experimental Brain Research*, 199(3–4), 203–234. doi:10.1007/s00221-009-1994-z
- Gottschall, P., Ajmo, J., Eakin, A., Howell, M., Mehta, H. ve Bailey, L. (2010). Panel of synaptic protein ELISAs for evaluating neurological phenotype. *Exp Brain Res.*, 201(4), 885–93.
- Gould, A. L., Davies, G. M., Alemao, E., Yin, D. D. ve Cook, J. R. (2007). Cholesterol reduction yields clinical benefits: meta-analysis including recent trials. *Clinical Therapeutics*, 29(5), 778–794. doi:10.1016/j.clinthera.2007.05.012
- Grillner, S. (2013). Fundamentals of Motor Systems. *Fundamental Neuroscience: Fourth Edition*, 599–611. doi:10.1016/B978-0-12-385870-2.00027-5
- Guirland, C., Suzuki, S., Kojima, M., Lu, B. ve Zheng, J. Q. (2004). Lipid Rafts Mediate Chemotropic Guidance of Nerve Growth Cones, 42, 51–62.
- Hall, J. E. (2014). States of Brain Activity - Sleep, Brain Waves, Epilepsy, Psychoses, and Dementia. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology 13ed* içinde (ss. 763–766).
- Hancock, J. F. ve Parton, R. G. (2005). Ras plasma membrane signalling platforms. *Biochemical Journal*, 389(1), 1–11. doi:10.1042/BJ20050231
- Hansson, G. K., Robertson, A. K. L. ve Söderberg-Nauclér, C. (2006). Inflammation and atherosclerosis. *Annual Review of Pathology*, 1, 297–329. doi:10.1146/annurev.pathol.1.110304.100100



- Hartmann, M., Heumann, R. ve Lessmann, V. (2001). Synaptic secretion of BDNF after high-frequency stimulation of glutamatergic synapses. *EMBO Journal*, 20(21), 5887–5897. doi:10.1093/emboj/20.21.5887
- Henze, D. A., Borhegyi, Z., Csicsvari, J., Mamiya, A., Harris, K. D. ve Buzsáki, G. (2000). Intracellular features predicted by extracellular recordings in the hippocampus in vivo. *Journal of Neurophysiology*, 84(1), 390–400. doi:10.1152/jn.2000.84.1.390
- Herieka, M. ve Erridge, C. (2014). High-fat meal induced postprandial inflammation. *Molecular Nutrition and Food Research*, 58(1), 136–146. doi:10.1002/mnfr.201300104
- Horch, H. W. ve Katz, L. C. (2002). BDNF release from single cells elicits local dendritic growth in nearby neurons. *Nature Neuroscience*, 5(11), 1177–1184. doi:10.1038/nn927
- Horch, H. W., Krüttgen, A., Portbury, S. D. ve Katz, L. C. (1999). Destabilization of cortical dendrites and spines by BDNF. *Neuron*, 23(2), 353–364. doi:10.1016/S0896-6273(00)80785-0
- Hu, X., Wang, T., Luo, J., Liang, S., Li, W., Wu, X., ... Wang, L. (2014). Age-dependent effect of high cholesterol diets on anxiety-like behavior in elevated plus maze test in rats. *Behavioral and Brain Functions*, 10(1), 1–9. doi:10.1186/1744-9081-10-30
- Huang, E. J. ve Reichardt, L. F. (2003). Trk receptors: Roles in neuronal signal transduction. *Annual Review of Biochemistry*, 72, 609–642. doi:10.1146/annurev.biochem.72.121801.161629
- Huang, Z. J., Kirkwood, A., Pizzorusso, T., Porciatti, V., Morales, B., Bear, M. F., ... Tonegawa, S. (1999). BDNF regulates the maturation of inhibition and the critical period of plasticity in mouse visual cortex. *Cell*, 98(6), 739–755. doi:10.1016/S0092-8674(00)81509-3
- Husain, I., Akhtar, M., Vohora, D., Abdin, M. Z., Islamuddin, M., Akhtar, M. J. ve Najmi, A. K. (2017). Rosuvastatin Attenuates High-Salt and Cholesterol Diet Induced Neuroinflammation and Cognitive Impairment via Preventing Nuclear Factor KappaB Pathway. *Neurochemical Research*, 42(8), 2404–2416. doi:10.1007/s11064-017-2264-2
- Hussain, M. M. (2014). Intestinal Lipid Absorption and Lipoprotein Formation. *Curr Opin Lipidol.*, 25(3), 200–206. doi:10.1097/MOL.0000000000000084
- Ikonen, E. (2008). Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(2), 125–138. doi:10.1038/nrm2336

- Itami, C., Kimura, F., Kohno, T., Matsuoka, M., Ichikawa, M., Tsumoto, T. ve Nakamura, S. (2003). Brain-derived neurotrophic factor-dependent unmasking of “silent” synapses in the developing mouse barrel cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(22), 13069–13074. doi:10.1073/pnas.2131948100
- Iughetti, L., Casarosa, E., Predieri, B., Patianna, V. ve Luisi, S. (2011). Plasma brain-derived neurotrophic factor concentrations in children and adolescents. *Neuropeptides*, 45(3), 205–211. doi:10.1016/j.npep.2011.02.002
- Iyer, A., Fairlie, D. P., Prins, J. B., Hammock, B. D. ve Brown, L. (2010). Inflammatory lipid mediators in adipocyte function and obesity. *Nature Reviews Endocrinology*, 6(2), 71–82. doi:10.1038/nrendo.2009.264
- Jaguszewski, M., Klingenberg, R. ve Landmesser, U. (2013). Intracoronary Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) Imaging for Detection of Lipid Content of Coronary Plaques: Current Experience and Future Perspectives. *Current Cardiovascular Imaging Reports*, 6(5), 426–430. doi:10.1007/s12410-013-9224-2
- Johnson, M. E., Zhou, X. F. ve Bobrovskaya, L. (2019). The effects of rotenone on TH, BDNF and BDNF-related proteins in the brain and periphery: Relevance to early Parkinson’s disease. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 97(January), 23–32. doi:10.1016/j.jchemneu.2019.01.010
- Johnston, P. A. ve Sudhof, T. C. (1990). The multisubunit structure of synaptophysin. Relationship between disulfide bonding and homo-oligomerization. *Journal of Biological Chemistry*, 265(15), 8869–8873. doi:10.1016/s0021-9258(19)38968-9
- Jourdi, H., Iwakura, Y., Narisawa-Saito, M. Ibaraki, K., Xiong, H., Watanabe, M., Hayashi, Y., ... Nawa, H. (2003). BDNF signal enhances and maintains the expression of AMPA receptor-associated PDZ proteins in developing cortical neurons. *Developmental Biology*, 263, 216–30. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf> adresinden erişildi.
- Kafitz, K. W., Rose, C. R., Thoenen, H. ve Konnerth, A. (1999). Neurotrophin-evoked rapid excitation through TrkB receptors. *Nature*, 401(6756), 918–921. doi:10.1038/44847
- Kandel, E., Schwartz, J. ve Jessell, T. (2000). Nerve cells and behavior. *Principles of Neural Science 4th (fourth) Edition* içinde (ss. 22–23).

- Kaplan, D. R. ve Miller, F. D. (2000). Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Current Opinion in Neurobiology*, 10(3), 381–391. doi:10.1016/S0959-4388(00)00092-1
- Kim, E. ve Sheng, M. (2004). PDZ domain proteins of synapses. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(10), 771–781. doi:10.1038/nrn1517
- Klesse, L. J. ve Parada, L. F. (1999). Trks: Signal transduction and intracellular pathways. *Microscopy Research and Technique*, 45(4–5), 210–216. doi:10.1002/(SICI)1097-0029(19990515/01)45:4/5<210::AID-JEMT4>3.0.CO;2-F
- Koch, C. (1999). *Biophysics of Computation*. Oxford Univ. Press. <http://dspace.mit.edu/bitstream/handle/1721.1/6414/AIM-795.pdf?sequence=2> adresinden erişildi.
- Korade, Z. ve Kenworthy, A. K. (2008). Lipid rafts, cholesterol, and the brain, 55(8), 1265–1273. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.08.021.Secreted
- Kornau, H., Schenker, L. T., Kennedy, M. B. ve Seeburg, P. H. (1995). Domain interaction between NMDA receptor subunits and the postsynaptic density protein PSD-95. *Science*, 22(269(5231)), 1737–40. www.sciencemag.org adresinden erişildi.
- Korte, M., Carroll, P., Wolf, E., Brem, G., Thoenen, H. ve Bonhoeffer, T. (1995). Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(19), 8856–8860. doi:10.1073/pnas.92.19.8856
- Koudinov, A. R. ve Koudinova, N. V. (2005). Cholesterol homeostasis failure as a unifying cause of synaptic degeneration. *Journal of the Neurological Sciences*, 229–230, 233–240. doi:10.1016/j.jns.2004.11.036
- Kowiański, P., Lietzau, G., Steliga, A., Waśkow, M. ve Moryś, J. (2013). The astrocytic contribution to neurovascular coupling - Still more questions than answers? *Neuroscience Research*, 75(3), 171–183. doi:10.1016/j.neures.2013.01.014
- Lai, A. Y., Swayze, R. D., El-Husseini, A. ve Song, C. (2006). Interleukin-1 beta modulates AMPA receptor expression and phosphorylation in hippocampal neurons. *Journal of Neuroimmunology*, 175(1–2), 97–106. doi:10.1016/j.jneuroim.2006.03.001
- Laßek, M., Weingarten, J. ve Volkandt, W. (2015). The synaptic proteome. *Cell and Tissue Research*, 359(1), 255–265. doi:10.1007/s00441-014-1943-4

- Leal, G., Comprido, D. ve Duarte, C. B. (2014). BDNF-induced local protein synthesis and synaptic plasticity. *Neuropharmacology*, 76(PART C), 639–656. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.04.005
- Ledreux, A., Wang, X., Schultzberg, M., Granholm, A. C. ve Freeman, L. R. (2016). Detrimental effects of a high fat/high cholesterol diet on memory and hippocampal markers in aged rats. *Behavioural Brain Research*, 312, 294–304. doi:10.1016/j.bbr.2016.06.012
- Lessmann, V., Gottmann, K. ve Malsangio, M. (2003). Neurotrophin secretion: Current facts and future prospects. *Progress in Neurobiology*, 69(5), 341–374. doi:10.1016/S0301-0082(03)00019-4
- Lewin, G. R. ve Barde, Y. A. (1996). Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci*, 48(19), 289–317. doi:10.2307/1536704
- Libby, P. ve Plutzky, J. (2000). Atherosclerosis: An inflammatory disease. *International Congress and Symposium Series - Royal Society of Medicine*, (243), 27–31.
- Liddelow, S., Guttenplan, K., Clarke, L., Bennett, F., Bohlen, C., Schirmer, L., ... Barres, B. (2017). Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature*, 541(7638), 481–487.
- Linsenhardt, A. J., Taylor, A., Emmett, C. M., Doherty, J. J., Krishnan, K., Covey, D. F., ... Mennerick, S. (2014). Different oxysterols have opposing actions at N-methyl-D-aspartate receptors. *Neuropharmacology*, 85, 232–242. doi:10.1016/j.neuropharm.2014.05.027.Different
- Liu, J. ve Wang, F. (2017). Role of neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: Cellular mechanisms and therapeutic implications. *Frontiers in Immunology*, 8(AUG), 1–12. doi:10.3389/fimmu.2017.01005
- Logothetis, N. K. ve Wandell, B. A. (2004). Interpreting the BOLD signal. *Annual Review of Physiology*, 66, 735–769. doi:10.1146/annurev.physiol.66.082602.092845
- López-Taboada, I., González-Pardo, H. ve Conejo, N. M. (2020). Western Diet: Implications for Brain Function and Behavior. *Frontiers in Psychology*, 11(November), 1–11. doi:10.3389/fpsyg.2020.564413
- Lund, E. G., Xie, C., Kotti, T., Turley, S. D., Dietschy, J. M. ve Russell, D. W. (2003). Knockout of the cholesterol 24-hydroxylase gene in mice reveals a brain-specific

- mechanism of cholesterol turnover. *Journal of Biological Chemistry*, 278(25), 22980–22988. doi:10.1074/jbc.M303415200
- Lundblad, M., Andersson, M., Winkler, C., Kirik, D., Wierup, N. ve Cenci Nilsson, M. A. (2002). Pharmacological validation of behavioural measures of akinesia and dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience*, 15(1), 120–132. doi:10.1046/j.0953-816x.2001.01843.x
- Lütjohann, D. (2006). Cholesterol metabolism in the brain: Importance of 24S-hydroxylation. *Acta Neurologica Scandinavica*, 114(SUPPL. 185), 33–42. doi:10.1111/j.1600-0404.2006.00683.x
- Lütjohann, D., Stroick, M., Bertsch, T., Kühl, S., Lindenthal, B., Thelen, K., ... Fassbender, K. (2004). High doses of simvastatin, pravastatin, and cholesterol reduce brain cholesterol synthesis in guinea pigs. *Steroids*, 69(6), 431–438. doi:10.1016/j.steroids.2004.03.012
- Luu, W., Sharpe, L. J., Capell-Hattam, I., Gelissen, I. C. ve Brown, A. J. (2016). Oxysterols: Old Tale, New Twists. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 56, 447–467. doi:10.1146/annurev-pharmtox-010715-103233
- Maejima, Y., Zablocki, D. ve Sadoshima, J. (2012). *Oxidative stress and cardiac muscle*. *Muscle* (First Edit., C. 1). Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-12-381510-1.00023-5
- Mann, K. M., Thorngate, F. E., Katoh-Fukui, Y., Hamanaka, H., Williams, D. L., Fujita, S. ve Lamb, B. T. (2004). Independent effects of APOE on cholesterol metabolism and brain A $\beta$  levels in an Alzheimer disease mouse model. *Human Molecular Genetics*, 13(17), 1959–1968. doi:10.1093/hmg/ddh199
- Marklund, S. L. (1982). Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79(24 I), 7634–7638. doi:10.1073/pnas.79.24.7634
- Martin, M., Dotti, C. G. ve Ledesma, M. D. (2010). Brain cholesterol in normal and pathological aging. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1801(8), 934–944. doi:10.1016/j.bbalip.2010.03.011
- Martínez, A., Alcántara, S., Borrell, V., Del Río, J. A., Blasi, J., Otal, R., ... Soriano, E. (1998). TrkB and TrkC signaling are required for maturation and synaptogenesis of hippocampal connections. *Journal of Neuroscience*, 18(18), 7336–7350.

doi:10.1523/jneurosci.18-18-07336.1998

- Mateos, L., Ismail, M. A. M., Gil-Bea, F. J., Schüle, R., Schöls, L., Heverin, M., ... Cedazo-Mínguez, A. (2011). Side chain-oxidized oxysterols regulate the brain renin-angiotensin system through a liver X receptor-dependent mechanism. *Journal of Biological Chemistry*, 286(29), 25574–25585. doi:10.1074/jbc.M111.236877
- Matsuda, A., Nagao, K., Matsuo, M., Kioka, N. ve Ueda, K. (2013). 24(S)-hydroxycholesterol is actively eliminated from neuronal cells by ABCA1. *Journal of Neurochemistry*, 126(1), 93–101. doi:10.1111/jnc.12275
- Matsumoto, T., Numakawa, T., Adachi, N., Yokomaku, D., Yamagishi, S., Takei, N. ve Hatanaka, H. (2001). Brain-derived neurotrophic factor enhances depolarization-evoked glutamate release in cultured cortical neurons. *Journal of Neurochemistry*, 79(3), 522–530. doi:10.1046/j.1471-4159.2001.00591.x
- Mauch, D. H., Nagler, K., Goritz, C., Muller, E.-C., Otto, A. ve Pfrieger, F. W. (2001). CNS Synaptogenesis Promoted by Glia-Derived Cholesterol. *Science*, 294(5545), 1354–1357. doi:10.1126/science.294.5545.1354
- Mayagoitia, K., Shin, S. D., Rubini, M., Siebold, L., Wilson, C. G., Bellinger, D. L., ... Soriano, S. (2020). Short-term exposure to dietary cholesterol is associated with downregulation of interleukin-15, reduced thigmotaxis and memory impairment in mice. *Behavioural Brain Research*, 393(November 2019), 112779. doi:10.1016/j.bbr.2020.112779
- McAllister, A. K., Katz, L. C. ve Lo, D. C. (1996). Neurotrophin regulation of cortical dendritic growth requires activity. *Neuron*, 17(6), 1057–1064. doi:10.1016/S0896-6273(00)80239-1
- McAllister, A. K., Lo, D. C. ve Katz, L. C. (1995). Neurotrophins regulate dendritic growth in developing visual cortex. *Neuron*, 15(4), 791–803. doi:10.1016/0896-6273(95)90171-X
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435. doi:10.1038/nature07201
- Mehta, D. (2006). Signaling Mechanisms Regulating Endothelial Permeability. *Physiological Reviews*, 86(1), 279–367. doi:10.1152/physrev.00012.2005
- Meljon, A., Theofilopoulos, S., Shackleton, C. H. L., Watson, G. L., Javitt, N. B., Knölker, H.-J., ... Griffiths, W. J. (2012). Analysis of bioactive oxysterols in newborn mouse

- brain by LC/MS. *Journal of Lipid Research*, 53(11), 2469–2483. doi:10.1194/jlr.D028233
- Mercan, U. (2004). Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 91-96–96.
- Metwally, F. M., Rashad, H. ve Mahmoud, A. A. (2019). Morus alba L. Diminishes visceral adiposity, insulin resistance, behavioral alterations via regulation of gene expression of leptin, resistin and adiponectin in rats fed a high-cholesterol diet. *Physiology and Behavior*, 201(April 2018), 1–11. doi:10.1016/j.physbeh.2018.12.010
- Midgley, R. ve Pisano, K. (2021). *Chapter 28 – Therapist’s Management of the Stiff Hand. Rehabilitation of the Hand and Upper Extremity* (Seventh Ed.). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-323-50913-8.00028-6
- Milatovic, D., Zaja-Milatovic, S., Breyer, R. M., Aschner, M. ve Montine, T. J. (2011). *Neuroinflammation and Oxidative Injury in Developmental Neurotoxicity. Reproductive and Developmental Toxicology*. Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-12-382032-7.10064-5
- Moreira, E. L. G., De Oliveira, J., Engel, D. F., Walz, R., De Bem, A. F., Farina, M. ve Prediger, R. D. S. (2014). Hypercholesterolemia induces short-term spatial memory impairments in mice: Up-regulation of acetylcholinesterase activity as an early and causal event? *Journal of Neural Transmission*, 121(4), 415–426. doi:10.1007/s00702-013-1107-9
- Moutinho, M., Nunes, M. J., Gomes, A. Q., Gama, M. J., Cedazo-Minguez, A., Rodrigues, C. M. P., ... Rodrigues, E. (2015). Cholesterol 24S-Hydroxylase Overexpression Inhibits the Liver X Receptor (LXR) Pathway by Activating Small Guanosine Triphosphate-Binding Proteins (sGTPases) in Neuronal Cells. *Molecular Neurobiology*, 51(3), 1489–1503. doi:10.1007/s12035-014-8828-0
- Moutinho, M., Nunes, M. J. ve Rodrigues, E. (2016). Cholesterol 24-hydroxylase: Brain cholesterol metabolism and beyond. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1861(12), 1911–1920. doi:10.1016/j.bbalip.2016.09.011
- Mullany, P. M. ve Lynch, M. A. (1998). Evidence for a role for synaptophysin in expression of long-term potentiation in rat dentate gyrus. *NeuroReport*, 9(11), 2489–2494. doi:10.1097/00001756-199808030-00012
- Narisawa-Saito, M., Carnahan, J., Araki, K., Yamaguchi, T. ve Nawa, H. (1999). Brain-

- derived neurotrophic factor regulates the expression of AMPA receptor proteins in neocortical neurons. *Neuroscience*, 88(4), 1009–1014. doi:10.1016/S0306-4522(98)00496-5
- Noguchi, N., Urano, Y., Takabe, W. ve Saito, Y. (2015). New aspects of 24(S)-hydroxycholesterol in modulating neuronal cell death. *Free Radical Biology and Medicine*, 87, 366–372. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.036
- Nogueira, R. de A., Pessoa, D. T., da Silva, E. L. A. ve Costa, E. V. L. (2019). Can a hypercholesterolemic diet change the basal brain electrical activity and during status epilepticus in rats? *Metabolic Brain Disease*, 34(1), 71–77. doi:10.1007/s11011-018-0321-4
- Nolan, Y., Maher, F. O., Martin, D. S., Clarke, R. M., Brady, M. T., Bolton, A. E., ... Lynch, M. A. (2005). Role of interleukin-4 in regulation of age-related inflammatory changes in the hippocampus. *Journal of Biological Chemistry*, 280(10), 9354–9362. doi:10.1074/jbc.M412170200
- Nunez, P. ve Srinivasan, R. (2006). *Electric Fields Of The Brain*. Oxford Univ. Press. doi:10.3390/brainsci10060379
- Ohyama, Y., Meaney, S., Heverin, M., Ekström, L., Brafman, A., Shafir, M., ... Björkhem, I. (2006). Studies on the transcriptional regulation of cholesterol 24-hydroxylase (CYP46A1): Marked insensitivity toward different regulatory axes. *Journal of Biological Chemistry*, 281(7), 3810–3820. doi:10.1074/jbc.M505179200
- Orth, M. ve Bellosta, S. (2012). Cholesterol: Its regulation and role in central nervous system disorders. *Cholesterol*, 2012. doi:10.1155/2012/292598
- Osimo, E. F., Beck, K., Reis Marques, T. ve Howes, O. D. (2019). Synaptic loss in schizophrenia: a meta-analysis and systematic review of synaptic protein and mRNA measures. *Molecular Psychiatry*, 24(4), 549–561. doi:10.1038/s41380-018-0041-5
- Papez, J. W. (1937). A Proposed of Emotion Mechanism. *Journal of Neuropsychiatry*, 7(1), 103–112.
- Paratcha, G. ve Ibáñez, C. F. (2002). Lipid rafts and the control of neurotrophic factor signaling in the nervous system: variations on a theme. *Curr Opin Neurobiol.*, Oct;12(5), 542–549. doi:10.1016/s0959-4388(02)00363-x
- Park, Y., Lee, J., Oh, J. H., Shin, A. ve Kim, J. (2016). Dietary patterns and colorectal cancer



- risk in a Korean population. *Medicine (United States)*, 95(25). doi:10.1097/MD.00000000000003759
- Patapoutian, A. ve Reichardt, L. F. (2001). Trk receptors: mediators of neurotrophin action Patapoutian and Reichardt 273 Trk-mediated signaling, 272–280.
- Patel, M. (2016). Targeting Oxidative Stress in Central Nervous System Disorders. *Trends in Pharmacological Sciences*, 37(9), 768–778. doi:10.1016/j.tips.2016.06.007
- Paul, R., Choudhury, A., Chandra Boruah, D., Devi, R., Bhattacharya, P., Choudhury, M. D. ve Borah, A. (2017). Hypercholesterolemia causes psychomotor abnormalities in mice and alterations in cortico-striatal biogenic amine neurotransmitters: Relevance to Parkinson's disease. *Neurochemistry International*, 108, 15–26. doi:10.1016/j.neuint.2017.01.021
- Paul, R., Choudhury, A., Kumar, S., Giri, A., Sandhir, R. ve Borah, A. (2017). Cholesterol contributes to dopaminergic neuronal loss in MPTP mouse model of Parkinson's disease: Involvement of mitochondrial dysfunctions and oxidative stress. *PLoS ONE*, 12(2), 1–22. doi:10.1371/journal.pone.0171285
- Pereira, D. B. ve Chao, M. V. (2007). The tyrosine kinase fyn determines the localization of TrkB receptors in lipid rafts. *Journal of Neuroscience*, 27(18), 4859–4869. doi:10.1523/JNEUROSCI.4587-06.2007
- Poo, M. ming. (2001). Neurotrophins as synaptic modulators. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(1), 24–32. doi:10.1038/35049004
- Posse de Chaves, E. I., Rusinol, A. E., Vance, D. E., Campenot, R. B. ve Vance, J. E. (1997). Role of lipoproteins in the delivery of lipids to axons during axonal regeneration. *Journal of Biological Chemistry*, 272(49), 30766–30773. doi:10.1074/jbc.272.49.30766
- Purves, D., Augustine, G., Fitzpatrick, D., Hall, W., Lamantia, A., McNamara, J. ve White, L. (2008). The Somatic Sensory System. *Neuroscience 4th ed.* içinde (ss. 203–204).
- Rada, P., Mark, G. P., Vitek, M. P., Mangano, R. M., Blume, A. J., Beer, B. ve Hoebel, B. G. (1991). Interleukin-1 $\beta$  decreases acetylcholine measured by microdialysis in the hippocampus of freely moving rats. *Brain Research*, 550(2), 287–290. doi:10.1016/0006-8993(91)91330-4
- Rader, D. J. ve Kathiresan, S. (2018). Disorders of Lipoprotein Metabolism. *Harrison's Principles of Internal Medicine 20th Edition.* içinde (ss. 1–26).

- Ralf, D. (2000). Metabolism and functions of glutathione in brain. *Progress in Neurobiology*, 62(6), 649–671. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030100829900060X> adresinden erişildi.
- Rehm, H., Wiedenmann, B. ve Betz, H. (1986). Molecular characterization of synaptophysin, a major calcium-binding protein of the synaptic vesicle membrane. *The EMBO journal*, 5(3), 535–541. doi:10.1002/j.1460-2075.1986.tb04243.x
- Rico, B., Xu, B. ve Reichardt, L. (2002). TrkB receptor signaling is required for establishment of GABAergic synapses in the cerebellum. *Nat Neurosci.*, 5, 225–33. doi:10.1038/nn808.TrkB
- Robinson, J. G. (2021). 195 - Disorders of Lipid Metabolism. *Goldman-Cecil Medicine* (Twentieth.). Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-323-53266-2.00195-8
- Rui, X., Wenfang, L., Jing, C., Meng, C., Chengcheng, D., Jiqu, X. ve Shuang, R. (2017). Neuroprotective effects of phytosterol esters against high cholesterol-induced cognitive deficits in aged rat. *Food and Function*, 8(3), 1323–1332. doi:10.1039/c6fo01656a
- Russell, D. W., Halford, R. W., Ramirez, D. M. O., Shah, R. ve Kotti, T. (2009). Cholesterol 24-Hydroxylase: An Enzyme of Cholesterol Turnover in the Brain. *Annual Review of Biochemistry*, 78(1), 1017–1040. doi:10.1146/annurev.biochem.78.072407.103859
- Sadakata, T., Mizoguchi, A., Sato, Y., Katoh-Semba, R., Fukuda, M., Mikoshiba, K. ve Furuichi, T. (2004). The Secretory Granule-Associated Protein CAPS2 Regulates Neurotrophin Release and Cell Survival. *Journal of Neuroscience*, 24(1), 43–52. doi:10.1523/JNEUROSCI.2528-03.2004
- Saher, G., Brügger, B., Lappe-Siefke, C., Möbius, W., Tozawa, R. I., Wehr, M. C., ... Nave, K. A. (2005). High cholesterol level is essential for myelin membrane growth. *Nature Neuroscience*, 8(4), 468–475. doi:10.1038/nn1426
- Schallert, T., Fleming, S. M., Leasure, J. L., Tillerson, J. L. ve Bland, S. T. (2000). CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury. *Neuropharmacology*, 39(5), 777–787. doi:10.1016/S0028-3908(00)00005-8
- Schallert, T., Upchurch, M., Wilcox, R. E. ve Vaughn, D. M. (1983). Posture-independent sensorimotor analysis of inter-hemispheric receptor asymmetries in neostriatum. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 18(5), 753–759. doi:10.1016/0091-

3057(83)90019-9

- Schlessinger, J. (2000). Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*, *103*, 211–225. doi:10.1007/978-90-481-2642-2\_16
- Schnatz, A., Müller, C., Brahmer, A. ve Krämer-Albers, E. M. (2021). Extracellular Vesicles in neural cell interaction and CNS homeostasis. *FASEB BioAdvances*, *3*(8), 577–592. doi:10.1096/fba.2021-00035
- Schneider, H., Pitossi, F., Balschun, D., Wagner, A., Del Rey, A. ve Besedovsky, H. O. (1998). A neuromodulatory role of interleukin-1 $\beta$  in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(13), 7778–7783. doi:10.1073/pnas.95.13.7778
- Segal, R. A. ve Greenberg, M. E. (1996). Intracellular signaling pathways activated by neurotrophic factors. *Annual Review of Neuroscience*, *19*, 463–489. doi:10.1146/annurev.ne.19.030196.002335
- Segatto, M., Leboffe, L., Trapani, L. ve Pallottini, V. (2014). Cholesterol Homeostasis Failure in the Brain: Implications for Synaptic Dysfunction and Cognitive Decline. *Current Medicinal Chemistry*, *21*(24), 2788–2802. doi:10.2174/0929867321666140303142902
- Semenkovich, C. F. ve Goldberg, I. J. (2021). *41 – Disorders of Lipid Metabolism*. *Williams Textbook of Endocrinology* (Fourteenth.). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-323-55596-8.00041-3
- Shao, Y., Akmentin, W., Toledo-Aral, J. J., Rosenbaum, J., Valdez, G., Cabot, J. B., ... Halegoua, S. (2002). Pincher, a pinocytic chaperone for nerve growth factor/TrkA signaling endosomes. *Journal of Cell Biology*, *157*(4), 679–691. doi:10.1083/jcb.200201063
- Sies, H. (2015). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, *4*, 180–183. doi:10.1016/j.redox.2015.01.002
- Simons, K. ve Toomre, D. (2000). LIPID RAFTS AND SIGNAL TRANSDUCTION, *1*(October).
- Smith, M. A., Zhang, L. X., Lyons, W. E. ve Mamounas, L. A. (1997). Anterograde transport of endogenous brain-derived neurotrophic factor in hippocampal mossy fibers. *NeuroReport*, *8*(8), 1829–1834. doi:10.1097/00001756-199705260-00008

- Sooksawate, T. ve Simmonds, M. A. (2001). Effects of membrane cholesterol on the sensitivity of the GABA(A) receptor to GABA in acutely dissociated rat hippocampal neurones. *Neuropharmacology*, 40(2), 178–184. doi:10.1016/S0028-3908(00)00159-3
- Spagnuolo, M. S., Donizetti, A., Iannotta, L., Aliperti, V., Cupidi, C., Bruni, A. C. ve Cigliano, L. (2018). Brain-derived neurotrophic factor modulates cholesterol homeostasis and Apolipoprotein E synthesis in human cell models of astrocytes and neurons. *Journal of Cellular Physiology*, 233(9), 6925–6943. doi:10.1002/jcp.26480
- Stone, M. B., Shelby, S. A., Nññez, M. F., Wisser, K. ve Veatch, S. L. (2017). Protein sorting by lipid phase-like domains supports emergent signaling function in b lymphocyte plasma membranes. *eLife*, 6, 1–33. doi:10.7554/eLife.19891
- Strekalova, T., Costa-Nunes, J. P., Veniaminova, E., Kubatiev, A., Lesch, K. P., Chekhonin, V. P., ... Steinbusch, H. W. M. (2016). Insulin receptor sensitizer, dicholine succinate, prevents both Toll-like receptor 4 (TLR4) upregulation and affective changes induced by a high-cholesterol diet in mice. *Journal of Affective Disorders*, 196, 109–116. doi:10.1016/j.jad.2016.02.045
- Strekalova, T., Evans, M., Costa-Nunes, J., Bachurin, S., Yeritsyan, N., Couch, Y., ... Anthony, D. C. (2015). Tlr4 upregulation in the brain accompanies depression- and anxiety-like behaviors induced by a high-cholesterol diet. *Brain, Behavior, and Immunity*, 48, 42–47. doi:10.1016/j.bbi.2015.02.015
- Südhof, T. C. (2012). The presynaptic active zone. *Neuron*, 75(1), 11–25. doi:10.1016/j.neuron.2012.06.012
- Sun, M. Y., Linsenhardt, A. J., Emmett, C. M., Eisenman, L. N., Izumi, Y., Zorumski, C. F. ve Mennerick, S. (2016). 24(S)-Hydroxycholesterol as a Modulator of Neuronal Signaling and Survival. *Neuroscientist*, 22(2), 132–144. doi:10.1177/1073858414568122
- Sun, Y., Oberley, L. W. ve Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497–500. doi:10.1093/clinchem/34.3.497
- Suzuki, S., Numakawa, T., Shimazu, K., Koshimizu, H., Hara, T., Hatanaka, H., ... Kojima, M. (2004). neuronal lipid rafts : roles in synaptic modulation, 167(6), 1205–1215. doi:10.1083/jcb.200404106
- Tanaka, S., Yamamoto, H., Nakahashi, O., Ishiguro, M., Takei, Y., Masuda, M., ... Takeda, E. (2013). Hypercholesterolemia and effects of high cholesterol diet in type IIa sodium-

- dependent phosphate co-transporter (Npt2a) deficient mice. *Journal of Medical Investigation*, 60(3–4), 191–196. doi:10.2152/jmi.60.191
- Tanaka, T., Saito, H. ve Matsuki, N. (1997). Inhibition of GABA(A) synaptic responses by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in rat hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 17(9), 2959–2966. doi:10.1523/jneurosci.17-09-02959.1997
- Testa, G., Staurenghi, E., Zerbinati, C., Gargiulo, S., Iuliano, L., Giaccone, G., ... Gamba, P. (2016). Changes in brain oxysterols at different stages of Alzheimer’s disease: Their involvement in neuroinflammation. *Redox Biology*, 10, 24–33. doi:10.1016/j.redox.2016.09.001
- Theofilopoulos, S., Wang, Y., Kitambi, S. S., Sacchetti, P., Sousa, K. M., Bodin, K., ... Arenas, E. (2013). Brain endogenous liver X receptor ligands selectively promote midbrain neurogenesis. *Nature Chemical Biology*, 9(2), 126–133. doi:10.1038/nchembio.1156
- Thiel, G. (1993). Synapsin I, Synapsin II, and Synaptophysin: Marker Proteins of Synaptic Vesicles. *Brain Pathology*, 3(1), 87–95. doi:10.1111/j.1750-3639.1993.tb00729.x
- Thirumangalakudi, L., Prakasam, A., Zhang, R., BimonteNelson, H., Sambamurti, K., Kindy, M. S. ve Bhat, N. R. (2008). HIGH CHOLESTEROL-INDUCED NEUROINFLAMMATION AND AMYLOID PRECURSOR PROTEIN PROCESSING CORRELATE WITH LOSS OF WORKING MEMORY IN MICE. *J Neurochem*, 106(1), 475–485. doi:10.1111/j.1471-4159.2008.05415.x.HIGH
- Thomas, L., Hartung, K., Langosch, D., Rehm, H., Bamberg, E., Thomas, L. E. O., ... Betzt, H. (2016). Identification of Synaptophysin as a Hexameric Channel Protein of the Synaptic Vesicle Membrane Werner W . Franke and Heinrich Betz Published by: American Association for the Advancement of Science Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/1702766> REFEREN, 242(4881), 1050–1053.
- Trevelyan, A. J. (2009). The direct relationship between inhibitory currents and local field potentials. *Journal of Neuroscience*, 29(48), 15299–15307. doi:10.1523/JNEUROSCI.2019-09.2009
- Tucker, D. M. (1993). Spatial sampling of head electrical fields: the geodesic sensor net. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 87(3), 154–163. doi:10.1016/0013-4694(93)90121-B

- Tyler, W. J. ve Pozzo-Miller, L. D. (2001). BDNF enhances quantal neurotransmitter release and increases the number of docked vesicles at the active zones of hippocampal excitatory synapses. *Journal of Neuroscience*, 21(12), 4249–4258. doi:10.1523/jneurosci.21-12-04249.2001
- Uchiyama, M. ve Mihara, M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 86(1), 271–278. doi:10.1016/0003-2697(78)90342-1
- Vitali, C., Wellington, C. L. ve Calabresi, L. (2014). HDL and cholesterol handling in the brain. *Cardiovascular Research*, 103(3), 405–413. doi:10.1093/cvr/cvu148
- Viviani, B., Gardoni, F., Bartesaghi, S., Corsini, E., Facchi, A., Galli, C. L., ... Marinovich, M. (2006). Interleukin-1 $\beta$  released by gp120 drives neural death through tyrosine phosphorylation and trafficking of NMDA receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 281(40), 30212–30222. doi:10.1074/jbc.M602156200
- Volterra, A. ve Meldolesi, J. (2005). Astrocytes, from brain glue to communication elements: The revolution continues. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(8), 626–640. doi:10.1038/nrn1722
- Więckowska-Gacek, A., Mietelska-Porowska, A., Chutorański, D., Wydrych, M., Długosz, J. ve Wojda, U. (2021). Western Diet Induces Impairment of Liver-Brain Axis Accelerating Neuroinflammation and Amyloid Pathology in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 13(April), 1–27. doi:10.3389/fnagi.2021.654509
- Wu, A., Ying, Z. ve Gomez-Pinilla, F. (2004). The interplay between oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor modulates the outcome of a saturated fat diet on synaptic plasticity and cognition. *European Journal of Neuroscience*, 19(7), 1699–1707. doi:10.1111/j.1460-9568.2004.03246.x
- Wu, C., Butz, S., Yingt, Y. S. ve Anderson, R. G. W. (1997). Tyrosine kinase receptors concentrated in caveolae-like domains from neuronal plasma membrane. *Journal of Biological Chemistry*, 272(6), 3554–3559. doi:10.1074/jbc.272.6.3554
- Xiong, H., Yamada, K., Han, D., Nabeshima, T., Enikolopov, G., Carnahan, J. ve Nawa, H. (1999). Mutual regulation between the intercellular messengers nitric oxide and brain-derived neurotrophic factor in rodent neocortical neurons. *European Journal of Neuroscience*, 11(5), 1567–1576. doi:10.1046/j.1460-9568.1999.00567.x

- Yaras, N., Yargicoglu, P., Agar, A., Gumuslu, S., Abidin, I. ve Ozdemir, S. (2003). Effect of immobilization and cold stress on visual evoked potentials. *International Journal of Neuroscience*, 113(8), 1055–1067. doi:10.1080/00207450390203708
- Yargiçoğlu, P., Yaraş, N., Açar, A., Gümüşlü, S., Abidin, I. ve Bilmen, S. (2004). Effects of N-nitro L-arginine methyl ester (L-NAME), a potent nitric oxide synthase inhibitor, on visual evoked potentials of rats exposed to different experimental stress models. *Acta Physiologica Scandinavica*, 180(3), 307–316. doi:10.1111/j.0001-6772.2003.01254.x
- Yuzaki, M. (2018). Two Classes of Secreted Synaptic Organizers in the Central Nervous System. *Annual Review of Physiology*, 80(November 2017), 243–262. doi:10.1146/annurev-physiol-021317-121322
- Zhang, L., Reue, K., Fong, L. G., Young, S. G. ve Tontonoz, P. (2012). Feedback regulation of cholesterol uptake by the LXR–IDOL–LDLR axis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 32(11), 2541–2546. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf> adresinden erişildi.
- Zhao, H., Alam, A., San, C. Y., Eguchi, S., Chen, Q., Lian, Q. ve Ma, D. (2017). Molecular mechanisms of brain-derived neurotrophic factor in neuro-protection: Recent developments. *Brain Research*, 1665, 1–21. doi:10.1016/j.brainres.2017.03.029
- Zigova, T., Pencea, V., Wiegand, S. J. ve Luskin, M. B. (1998). Intraventricular administration of BDNF increases the number of newly generated neurons in the adult olfactory bulb. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 11(4), 234–245. doi:10.1006/mcne.1998.0684

## EKLER

### Ek 1 Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onay belgesi-1



T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
KTÜ HAYVAN DENEYLERİ  
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

Sayı : 53488718 - 792  
Konu: Onay Belgesi 19.12.2018

Sayın; Prof. Dr. İsmail ABİDİN  
Biyofizik ABD. Öğretim Üyesi

“Beyin Kaynaklı · Nörotrofik Faktör (BDNF) Heterozigot Farede Yüksek Kolesterolü Diyetin Davranış ve Nörokimyasal Etkileri” başlık ve 2018/42 protokol numaralı çalışma önerisi Kurulumuzca incelenmiş olup; yürürlükteki etik ilke ve kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize ve gereğini rica ederim.

  
Prof. Dr. Serdar TÜRKİYILMAZ  
Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkan V.

Ek: 1 adet onay belgesi

ASLININ AYNIDIR  
  
Şerafettin YILMAZ  
Etik Kurul Sekreteri

61080 – Trabzon / TÜRKİYE  
Tel: +90 (462) 377 5403 Faks: +90(462)375 2270 Elektronik Ağ: www.ktu.edu.tr

Ayrıntılı Bilgi için İrtibat  
Şerafettin YILMAZ  
e posta:  
serafettinyilmaz@ktu.edu.tr



**Ek 2 Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onay belgesi-2**



T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
KTÜ HAYVAN DENEYLERİ  
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI


Sayı : 53488718 - 495  
Konu: Onay Belgesi

04.07.2019

**Sayın;** Prof. Dr. İsmail ABİDİN  
Biyofizik ABD. Öğretim Üyesi

“Yüksek Kolesterol İçerikli Diyetin Beyin Fonksiyonlarına Etkisinde Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)’ün Rolünün Elektrofizyolojik Yöntemlerle İncelenmesi” başlık ve 2019/33 protokol numaralı çalışma önerisi Kurulumuzca incelenmiş olup; yürürlükteki etik ilke ve kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize ve gereğini rica ederim.

  
Prof. Dr. Ahmet AYAR  
Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı

Ek: 1 adet onay belgesi

61080 – Trabzon / TÜRKİYE

Tel: +90 (462) 377 5403

Faks: +90(462)325 2270

Elektronik Ağ: www.ktu.edu.tr

Ayrıntılı Bilgi İçin İrtibat  
Şerafettin YILMAZ  
e posta:  
serafettinyilmaz@ktu.edu.tr

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) Heterozigot Farede Yüksek Kolesterolü Diyetin Davranış Ve Nörokimyasal Etkileri” başlıklı Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

.....

Hatice Keser

13 / 12 / 2021

## ÖZ GEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : KESER Hatice  
**Uyruk** : T.C.  
**Doğum yeri ve tarihi** : İzmir / 25.09.1982  
**Telefon** : 0 554 973 97 42  
**E-posta** : [hatice.k35@gmail.com](mailto:hatice.k35@gmail.com)  
**Yabancı dil** : İngilizce

## EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Aydın, Türkiye	2021
Y. Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Aydın, Türkiye	2016
Lisans	Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, İzmir, Türkiye	2012

## BURSLAR ve ÖDÜLLER

Erasmus Staj Programı bursu / Utrecht University, Utrecht, Hollanda, 2015

Hücrel Görüntüleme Teknikleri Kursu bursu / İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü- Oxford Üniversitesi, 2016

## İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2017-2021	Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Biyofizik Ana Bilim Dalı, Trabzon, Türkiye	Araştırma görevlisi
Mart-Temmuz 2015	Utrecht University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Membrane Biochemistry and Biophysics Laboratory, Prof. Dr J. Antoinette Killian Research Group, Utrecht, Hollanda	Erasmus stajeri

## AKADEMİK YAYINLAR

### 1. MAKALELER

#### Hakemli dergilerdeki makaleler (SCI)

Keser H, Bozkurt Girit Ö, Majeed M, Nayak M, Bilgin MD, "Pterostilbene administration improves the recovery potential of extremely low-frequency magnetic field in acute renal ischemia-reperfusion injury: an FTIR spectroscopic study", Turk J Biol. 2020; 44(1): 48– 60

Keser H, Doğramacı Ş, Şahin E, Sağlam N, Erdem M, Alver A, Aydın-Abidin S, "The TrkB agonist 7,8-dihydroxyflavone improves sensory-motor performance and reduces lipid peroxidation in old mice", General Physiology And Biophysics. 2020; 39: 471-479

Kalkan ÖF, Şahin Z, Öztürk H, Keser H, Aydın Abidin S, Abidin İ, "Phoenixin-14 reduces the frequency of interictal-like events in mice brain slices", Experimental Brain Research. 2021; Jul 20 B.

#### Hakemli dergilerdeki özetler (SCI)

Bozkurt Girit O, Keser H, Severcan F, Bilgin MD, "Protective Effects of Extremely Low Frequency Magnetic Field (50 Hz, 1mT) and Pterostilbene Treatment on Renal ischemic Injury", Biophysical Journal, Volume 112, Issue 3, Supplement 1, p280a, 3 February 2017 C.

## **Diğer Dergilerde Yayınlanan Makaleler**

Başoğlu H, Öztürk H, Keser H, Aydın Abidin S, Abidin İ, "L-Theanin beyin kesitlerinde epileptiform aktiviteyi azaltır". Akdeniz Tıp Dergisi, 2021

## **2. PROJELER**

Ventilasyonlu sistem kafeslerde ve klasik açık kafeslerde barındırılan farelerin kilo alımları depresyon durumlarının ve motor performanslarının karşılaştırılması, Karadeniz Teknik Üniversitesi, KTÜ-BAP Araştırma Alt Yapı Projesi, 2020-

Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) heterozigot farede yüksek kolesterolü diyetin davranış ve nörokimyasal etkileri, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tez projesi, 2019-

Endojen Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)'ün Kainik Asit Nörotoksitesine Etkisi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, KTÜ-BAP projesi, 2018-2019

Manyetik Alan ve Pterostilbenin Renal İskemi ve Reperfüzyona Etkisi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tez projesi, 2015-2016.

WALP/KALP interactions with phospholipids and Using SMA to Investigate Lipid Homogeneity, Membrane Biochemistry and Biophysics, Research Traniee, Utrecht University Science Faculty Chemistry Department Membrane Biochemistry and Biophysics Laboratuvary, 2015

Deneysel diyabet modelinde pterostilbenin ve pterokarbosidin olası nöroprotektif etkisinin elektrobiyofiziksel, nosiseptif, biyokimyasal ve FTIR spektroskopik yöntemlerle araştırılması, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, ADÜBAP projesi, 2014-2016

Parçacık Detektörleri, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Lisans tez projesi, 2012

## **3. BİLDİRİLER**

### **A) Uluslararası Toplantılardaki Sunumlar**

Bozkurt O, Keser H, Bilgin M.D, Severcan F, "Protective effects of pterostilbene and magnetic field on renal ischemic injury", 6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channels, 24-27 May, 2016, Isparta, Turkey, Journal of Neuroscience and Oxidative Stress, 8 (1): 478, 2016, Sözlü sunum

Bozkurt Girit O, Keser H, Severcan F, Bilgin MD, "The Effects of Combined Treatment of Extremely Low Frequency Magnetic Field (50 Hz, 1 mT) and Pterostilbene on Renal

Ischemic Injury”, 3rd International Turkish Congress on Molecular Spectroscopy, 26-29 August 2017, Muğla, Turkey, page 141, Poster sunumu

Keser H, Bozkurt Girit O, Severcan F, Bilgin M.D, “Pterostilbene exhibits neuroprotective effects on function, composition and structure of sciatic nerves in diabetic neuropathy”, The 11th FENS Forum of Neuroscience (FENS 2018), Berlin, Germany, 7-11 July 2018, Poster sunumu

Keser H, Aydın Abidin S, Abidin İ, "Anti-aging Effect of 7,8 DHF Application on Sensory Motor Performance ", FENS Regional Meeting, Belgrade, Serbia, 10-13 July 2019, pp.629-629, Poster sunumu

### **B) Ulusal Toplantılardaki Sunumlar**

Bozkurt Girit Ö, Keser H, Köken EC, Bilgin MD, “Diyabetik nöropatide pterostilben tedavisinin koruyucu etkileri”, 13. Ulusal Sinirbilim Kongresi, Konya, Türkiye, 1 - 03 Mayıs 2015, ss.92, Sözlü sunum

Bozkurt Girit Ö, Keser H, Majeed M, Vaidyanathan P, Bilgin MD, “Pterostilben tedavisinin tip 1 diyabetik sıçan siyatik siniri üzerine olan nöroprotektif etkileri”, 27. Ulusal Biyofizik Kongresi, Malatya, Türkiye, 29 Eylül - 03 Ekim 2015, ss.44, Sözlü sunum

Keser H, Bozkurt Girit Ö, Severcan F, Bilgin MD, “Manyetik Alan Ve Pterostilbenin Renal İskemi-Reperfüzyon Hasarına Etkisi”, 28.-29. Ulusal Biyofizik Kongresi (Uluslararası katılımı), İstanbul, Türkiye, 6 - 09 Eylül 2017, Sözlü sunum

Keser H, Aydın Abidin S, Abidin İ, “Kronik Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) eksikliğinin duyuusal motor performanslara etkisi “17. Ulusal Sinirbilim Kongresi, Trabzon, Türkiye , 4 - 07 Nisan 2019, Poster sunumu

Keser H, Aydın Abidin S, Abidin İ, “7,8 DHF Akut Etkisinin in vivo Elektrofizyolojik İncelenmesi” 31. Ulusal Biyofizik Kongresi, Adana, Türkiye, 9 - 12 Ekim 2019, ss.44, Poster sunumu

Keser H, Aydın Abidin S, Abidin İ, “Yüksek Kolesterolü Beslenmenin Beyin Üzerindeki Etkilerinin Elektrofizyolojik İncelenmesi”, 18. Ulusal Sinirbilim Kongresi, 6-9 Kasım 2020, Ankara, Poster sunum