

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**VAGAL SİNİR UYARIMI VE YÜKSEK FRUKTOZ TÜKETİMİNİN**  
**SIÇAN ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİNDE**  
**NÖROPSİKİYATRİK SEMPTOMLAR ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Dr. Metin YEŞİLTEPE**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**  
**olarak hazırlanmıştır.**

**ANKARA**  
**2020**



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**VAGAL SİNİR UYARIMI VE YÜKSEK FRUKTOZ TÜKETİMİNİN  
SIÇAN ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİNDE  
NÖROPSİKİYATRİK SEMPTOMLAR ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Dr. Metin YEŞİLTEPE**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ  
olarak hazırlanmıştır.**

**Danışman Öğretim Üyesi  
Prof. Dr. M. Yıldırım Sara**

**ANKARA  
2020**

## TEŞEKKÜR

Tez konumu konumun seçilmesiyle başlayarak 2 yıl boyunca araştırmamın yürütülmesi ve sorunların çözülmesi konusunda bilgi ve tecrübesini cömertle benimle paylaşan, akademik gelişimimde sonsuz katkıları olan danışmanım Prof. Dr. M. Yıldırım SARA'ya,

Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim boyunca, yetkin bir farmakolog olarak yetişmeme gerek akademik gerekse kişisel gelişimime katkı sağlayan başta Prof. Dr. Alper B. İSKİT olmak üzere tüm Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Tez çalışmalarımın özellikle son zamanlarında en büyük destekçim olan ve yardımlarını esirgemeyen başta Dr. Barışcan ÇİMEN olmak üzere tüm Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı araştırma görevlilerine,

Beni her koşulda destekleyen, motive eden, ondan çaldığım zamana aldirmeden hayallerimin peşimden gitmemi teşvik eden başta Bahar ve tezim nedeniyle en çok ihmal ettiğim Mars'a olmak üzere tüm aileme,

Türkiye'de aklın ve bilimin gelişmesine katkı sunan başta M. Kemal ATATÜRK olmak üzere tüm bilim insanlarına teşekkür ederim.

## ÖZET

**Yeşiltepe M., Vagal Sinir Uyarımı ve Yüksek Fruktoz Tüketiminin Sıçan Alzheimer Hastalığı Modelinde Nöropsikiyatrik Semptomlar Üzerine Etkileri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2020.** Nöropsikiyatrik semptomlar (NPS), Alzheimer hastalığı (AH) tanısı alan hastaların neredeyse tamamında görülmesine rağmen etkili bir tedavileri yoktur. Son yıllarda epilepsi, depresyon ve migren tedavisinde kullanılan vagal sinir uyarısı (VSU), NPS'lerin tedavisinde bir alternatif olabilir. Fruktoz tüketiminin, AH etyolojisinde rolü olduğu gösterilmesine rağmen NPS'ler üzerine etkileri bilinmemektedir. Bu çalışmada, VSU ve YFMŞ tüketiminin AH modeli sıçanlarda görülen NPS'ler üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Alzheimer hastalığı modeli lateral ventriküllere  $\beta$ -amiloid enjeksiyonu ile yapılmıştır. AH modelinde, sıçanlar nöropsikiyatrik semptomlara benzer şekilde depresyon benzeri davranış, agresif davranışta azalma ve bellek bozuklukları göstermişlerdir. AH modeli sıçanlar 3 hafta yüksek fruktozlu mısır şurubu (YFMŞ-42) ile beslendikten sonra AH modeli sıçanlara göre agresyonda artış ve depresyon benzeri davranışlarda azalma göstermişlerdir. 14 gün boyunca vagal sinir uyarımı (VSU) uygulanması sıçanlarda, kilo alımını azaltıcı, antidepresan, anksiyolitik, agresif davranışı azaltıcı, lokomotor aktiviteyi ve bellek performansını artırıcı etkiler göstermiştir. Hipokampüste, VSU sonrasında kontrol grubunda NMDAR2B düzeyi %31 azalırken NMDAR2A düzeyi %91 artmıştır. VSU ile lokomotor aktivite artışı, NMDAR2B azalması ile ilişkili bulunmuştur. VSU'nun davranışsal etkilerinin tamamı Alzheimer hastalığı modeli sıçanlarda da görülmesine rağmen, NMDAR2A düzeyleri VSU uygulaması sonrasında artmamıştır. Bu sonuçlara göre VSU, Alzheimer hastalığı modeli uygulanan sıçanlarda NMDAR2A düzeyinden bağımsız bir mekanizma ile bu davranışsal etkileri göstermektedir. Bu tez, Alzheimer hastalığı modelinde görülen nöropsikiyatrik semptomların YFMŞ tüketimi ile arttığını ve tedavide kognitif fonksiyonların da düzelmesine katkı sağlayan VSU'nun etkili olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Alzheimer Hastalığı, Nöropsikiyatrik semptomlar, Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu, Vagal Sinir Uyarımı, NMDA

## ABSTRACT

**Yesiltepe M., The Effects of Vagal Nerve Stimulation and High Fructose Consumption on Neuropsychiatric Symptoms Associated with Alzheimer's Disease Model in Rats, Hacettepe University Medical Faculty Department of Medical Pharmacology Residency Thesis, Ankara, 2020.** Neuropsychiatric symptoms (NPS) were seen in almost all patients diagnosed with Alzheimer's disease (AD) however there is no efficient drug therapy yet. In recent years, vagal nerve stimulation (VNS) has been used for treatment of epilepsy, depression and migraine, might be an alternative therapy for NPS in AD. High fructose consumption (HFCS) was shown to be a significant factor in the etiology of AD but there is no data about its' effects on NPS observed in AD. We aimed to investigate the effects of VNS and fructose consumption on NPS in an rat model of AD. AD model achieved by injecting A $\beta$  in the lateral ventricles. In the AD model, rats showed depression, decreased aggressive behavior and memory disorders similar to that of NPS in AD. AD groups of rats when treated with high fructose corn syrup for 3 weeks, they displayed an increase in aggression and a decrease in depression-like behaviors respect to the rats with AD. In rats treated with VNS for 14 days, behavioral alterations such as reduced weight gain, antidepressant, anxiolytic, lower aggression scores, increased locomotor activity, and increased memory performance were observed. In the hippocampus, NMDAR2B level decreased by 31% in the control group after VNS, while NMDAR2A level increased by 91%. Increased locomotor activity after VNS was correlated with NMDAR2B reduction. Although, all the behavioral effects of VNS are also seen in AD model rats, NMDAR2A levels did not increased after VSU administration. According to these results, VNS shows these behavioral effects in AD model rats via a mechanism independent of NMDAR2A levels. In this thesis we have found that consumption of HFCS increased the NPS observed in the AD rat model. VNS improved cognitive functions and caused positive behavioral alterations which makes VNS a effective candidate for the treatment of NPS seen in AD.

**Keywords:** Alzheimer's Disease, Neuropsychiatric symptoms, High Fructose Corn Syrup, Vagal Nerve Stimulation, NMDA

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iv
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	ix
ŞEKİLLER .....	xii
TABLolar .....	xiv
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Alzheimer Hastalığı .....	3
2.1.1. Alzheimer Hastalığı Epidemiyolojisi .....	3
2.1.2. Alzheimer Hastalığı Risk Faktörleri .....	3
2.1.3. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi .....	4
2.1.4. Alzheimer Hastalığı Tedavisi .....	10
2.2. Alzheimer Hastalığı Nöropsikiyatrik Semptomları .....	11
2.2.1. Alzheimer Hastalığı Nöropsikiyatrik Semptomlarının Tedavisi .....	13
2.3. Alzheimer Hastalığı ve Vagal Sinir İlişkisi .....	14
2.3.1. Vagal Sinir Uyarısı Kullanım Alanları ve Alzheimer Hastalığındaki Rolü ..	16
2.4. Alzheimer Hastalığı Nöropsikiyatrik Semptomları- Fruktoz İlişkisi .....	18
2.5. Alzheimer Hastalığı Modelleri .....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	24
3.1. Deney Hayvanları .....	24
3.2. Deney Protokolü .....	24
3.3. Amiloid $\beta$ enjeksiyonu ile Alzheimer modeli oluşturulması .....	25
3.4. Vagal sinir uyarımı .....	27
3.5. Davranışsal testler .....	28
3.5.1. Porsolt zorunlu yüzme testi .....	28
3.5.2. Yükseltilmiş artı labirent testi .....	29
3.5.3. Tutma Testi .....	30
3.5.4. Açık alan arena testi .....	30
3.5.5. Edilgen Kaçınma Testi .....	30
3.5.6. Morris Su Labirenti .....	31
3.6. Protein düzeyi ölçümü .....	33
3.6.1. Doku toplanması .....	33

3.6.2.	Protein izolasyonu.....	33
3.6.3.	Protein konsantrasyon ölçümü .....	34
3.6.4.	Western blot .....	34
3.6.5.	ELISA.....	35
3.7.	İstatistiksel analizler .....	35
4.	BULGULAR.....	36
4.1.	YFMŞ ve VSU'nun hayvanların ağırlık değişimi üzerine etkileri .....	36
4.2.	Davranış Deneyleri Bulguları .....	37
4.2.1.	Porsolt Zorunlu Yüzme Testi .....	37
4.2.2.	Yükseltilmiş Artı Labirent Testi.....	38
4.2.3.	Tutma testi .....	41
4.2.4.	Açık Alan Arena Testi.....	41
4.2.5.	YFMŞ ve VSU'nun Edilgen Kaçınma Testi üzerine etkisi.....	43
4.2.6.	Morris Su Labirenti Testi .....	44
4.3.	Protein düzeylerinin değerlendirilmesi .....	47
4.3.1.	NMDA reseptörü 2B alt tipi düzeyi .....	47
4.3.2.	NMDA Reseptörü 2A alt tipi düzeyi .....	48
4.3.3.	Süperoksit dismutaz (SOD) düzeyi ölçümü .....	49
5.	TARTIŞMA.....	50
5.1.	Alzheimer hastalığında Nöropsikiyatrik Semptomlar (NPS).....	50
5.2.	Fruktoz Tüketiminin Alzheimer Hastalığındaki Nöropsikiyatrik Semptomlara Etkileri .....	55
5.3.	Vagal Sinir Uyarımının Alzheimer Hastalığındaki Nöropsikiyatrik Semptomlara Etkileri.....	57
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	61
7.	KAYNAKLAR .....	63
8.	EKLER.....	78



**SİMGELER VE KISALTMALAR**

5-HT	Serotonin
AchE	Asetilkolin esteraz
AGE	İleri glikasyon son ürünü
AH	Alzheimer Hastalığı
AICD	Amiloid $\beta$ -prekürsör proteininin intraselüler alt birimi
AMPA	A-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepronik asit reseptörü
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amiloid $\beta$ -prekürsör protein
A $\beta$	Amiloid $\beta$ proteini
A $\beta$ 1-42	Amiloid $\beta$ proteinin 1-42 fragmanı
A $\beta$ 25-35	Amiloid $\beta$ proteinin 25-35 fragmanı
BACE1	$\beta$ -bölgesi APP-kesme enzimi 1
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
BOS	Beyin omurilik sıvısı
BSA	Sığır serum albumini
CA3	Cornu ammonis 3
ChAT	Kolin asetil transferaz
COX-1	Siklooksijenaz-1
COX-2	Siklooksijenaz-2
DBS	Derin beyin stimülasyonu
DLPFC	Dorsolateral prefrontal korteks
ECE	Endotelin dönüştürücü enzim
EGFR	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
EPSC	Eksitator postsinaptik akım
EPSP	Eksitator postsinaptik potansiyel
FDA	Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi
fMRI	Fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme

GSK3	Glikojen sentaz kinaz 3
HAH	4'-hidroksiallohumulinon
HAIH	4'-hidroksi-cis-alloisohumulonun
HNE	4-hidroksi-2-nonenal
IDE	İnsülin degrede edici enzim
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
İAA	İso- $\alpha$ -asit
icv	intraserebrovasküler
ip	intraperitoneal
KST	Kognitif stimülasyon terapisi
LC	Locus coeruleus
LRP1	Lipoprotein reseptör ilişkili protein 1
LTP	Uzun dönem potansiyalizasyon
MDA	Malondialdehit
mEPSC	Minyatür eksitatör postsinaptik akım
MMP	Matriks metalloproteinaz
MMSE	Mini mental test skoru
NAK	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPaz
NAK $\alpha$ 3	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPaz $\alpha$ 3 alt ünitesi
NEP	Neprilisin
NFT	Nörofibriler yumak
NGF	Nöron büyüme faktörü
NMDAR	N-metil-D-aspartat reseptörü
NPS	Nöropsikiyatrik semptom
NTS	Nükleus traktus solitarius
P.O.	Oral yolla alınan
PET	Pozitron emisyon tomografi
PFC	Prefrontal korteks

POMC	Pro-opiomelanokortin
PP	Perforan yol
PVC	Polivinil klorür
PVDF	Poliviniliden florür
RAGE	İleri glikasyon son ürünü reseptörü
RRIV	R-R interval varyasyonu
SKP	Su kanal proteinleri
SNRI	Serotonin-Noradrenalin geri alım inhibitörü
SOD	Süperoksit Dismutaz
SSRI	Serotonin geri alım inhibitörü
STZ	Streptozotosin
T2DM	Tip 2 diyabet
TBS	Tris tamponlu salin
TMS	Transkranyal manyetik stimülasyon
TNF- $\alpha$	Tümör nekrozis faktör- $\alpha$
TrkB	Tropomiyozin reseptör kinaz B
tVSU	Transkutanöz vagal sinir uyarısı
VLDLR	Çok düşük dansiteli lipoprotein reseptörü
VSEP	Vagal somatosensoryel uyarılmış potansiyel
VSU	Vagal Sinir Uyarısı
YFMŞ	Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu

## ŞEKİLLER

	<b>Sayfa</b>
2.1 Amiloid plak ve nörofibriler yumak birikiminin hastalığın evresine göre beyinde etkilediği bölgeler	5
2.2. Amiloid $\beta$ -prekürsör protein (APP)'den amiloid $\beta$ üretimi	6
2.3 Amiloid $\beta$ (A $\beta$ ) proteininin döngüsü	7
2.4 Amiloid $\beta$ (A $\beta$ ) proteininin nörodejenerasyon mekanizması	10
2.5 Braak sınıflamasına göre Alzheimer Hastalığında görülen nöropsikiyatrik bozukluklar	13
2.6 Tip 2 diyabet (T2DM) ve Alzheimer hastalığının ilişkisi	19
2.7 Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu (HFCS) tüketen sıçanlarda duygudurum değişiklikleri	20
2.8 İnsanlarda AH'nin kognitif bozukluklar açısından progresyonu ile fare AH modellerinde görülen kognitif bozukluklar	22
3.1 Deney protokolü	25
3.2 Amiloid $\beta$ enjeksiyonu ve vagal elektrod yerleştirilmesi	26
3.3 Vagal sinir uyarısı için yerleştirilen elektrodun şematik gösterimi	28
3.4 Zorunlu yüzme testi	29
3.5 Yükseltmiş artı testi	29
3.6 Açık alan arena testi	30
3.7 Edilgen Kaçınma Testi	31
3.8 Morris su labirenti ve hayali kadrınların şematik gösterimi	32
4.1 Sıçanlarda zamana karşı ağırlık değişimi	36
4.2 Sıçanlarda Porsolt yüzme testinde immobilite süresi	37
4.3 Sıçanlarda yükseltmiş artı testi sonuçları	40
4.4 Sıçanlarda tutma testi skorları	41
4.5 Sıçanlarda açık alan arena testi sonuçları	43
4.6 Sıçanlarda edilgen kaçınma testinde karanlık bölüme geçme	44

	süreleri	
4.7	Sıçanlarda Morris su labirenti sonuçları	46
4.8	Sıçanlarda hipokampal NMDAR2B düzeyleri	47
4.9	Sıçanlarda hipokampal NMDAR2A düzeyleri	48
4.10	Sıçanlarda hipokampal SOD miktarları	49

**TABLULAR**

	<b>Sayfa</b>
2.1 Alzheimer Hastalığı Modelleri ve genel özellikleri	21
3.1 Deney grupları	25
3.2 Morris su labirenti protokolü	33

## 1. GİRİŞ

Alzheimer hastalığı (AH) ilk olarak 1903 yılında Alman Doktor Alois Alzheimer tarafından hastası Auguste Deter'in ciddi hafıza kaybı, ailesi hakkında asılsız şüpheleri ve bazı başka psikolojik bulguları ile "presenil demans" olarak tanımladığı bir hastalıktır. Auguste D.'nin ölümünden sonra Kasım 1906'da Tübingen'de düzenlenen 37. yıllık Alman Psikiyatristleri toplantısında Auguste D.'nin klinik bulguları ve otopsi bulgularını sunmuştur. Fakat, kongre başkanının bildiriye kısa bulması nedeniyle konuşması yayınlanmamıştır. 1907 yılında Dr. Alzheimer Auguste D.'nin klinik seyri ile ilgili olarak progresif kognitif bozukluk, halüsinasyonlar, delüzyonlar ve psikososyal bozuklukları tanımladığı çalışmasını yayınlamıştır [1] ve otopside ilk defa fibril değişikliklerini/birikimini tanımlamıştır. Hastalık ilk olarak 1910 yılında Alman psikiyatrist Emil Kraepelin'in "Psychiatrie" isimli kitabında "Alzheimer Hastalığı" olarak isimlendirilmiştir. Uzun yıllar Alzheimer hastalığı (AH) ile ilgili pek çok çalışma yapılmış olsa da ancak 1984 yılında Glenner v.d., yeni bir serebrovasküler amiloid protein olan  $\beta$ -amiloidi tanımlamıştır.  $\beta$ -amiloidin, AH'de beyindeki plaklarda biriken temel bileşen olduğunu ve nöron hasarını tetikleyen en önemli şüpheli olduğunu belirtmişlerdir [2]. 1986 yılında ise hastalığın nörofibriler yumak patolojisinde en önemli protein olan tau proteini tanımlanmıştır. Bundan sonra hastalığın tedavisine yönelik çalışmalar giderek artmış ve 1993 yılında Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) tarafından bir asetilkolinesteraz inhibitörü olan takrin (Cognex)'in AH'de kullanımı onaylanmıştır.

AH, dünya genelinde özellikle de orta ve düşük gelirli ülkelerde hızla yayılan, 2018 yılında yaklaşık 50 milyon kişiyi etkileyen, progresif nörodejeneratif bir hastalıktır. AH'nın tipik patolojik bulguları nöron kaybı, sinaptik disfonksiyon,  $\beta$ -amiloid peptidlerden oluşan senil plaklar ve hiperfosforile tau agregatlarından oluşan nörofibriler yumaklardır. Patofizyolojinin ilk basamağı olduğu düşünülen  $\beta$ -amiloid, normal şartlarda da oluşur fakat hızlıca yıkılır. Alzheimer hastalarında gelişen öğrenme-bellek bozukluklarına ek olarak neredeyse tamamında apati, depresyon, irritabilite, anksiyete gibi nöropsikiyatrik semptomlar (NPS) görülmektedir. NPS'ler hastalarda kognitif bozukluktan önce başlamakta ve hastalığın evresine göre

değişiklik göstermektedir. Fakat NPS'lerin gelişiminde rol oynayan faktörler bilinmemektedir.

Günümüzde NPS'lerin tedavisinde, apatinin kısa-dönem kontrolünde kullanılan risperidon haricinde etkinliği gösterilmiş herhangi bir ilaç yoktur. NPS'lerin tedavisinde kullanılan antidepresan, antipsikotik gibi ilaçlar NPS'leri düzeltmediği gibi kognitif bozuklukların progresyonunu hızlandırmaktadır. Bu nedenle alternatif tedavilere ihtiyaç vardır. AH'de yaşam standartlarını düşüren NPS'lerin önlenmesi ve yeni tedavi hedeflerinin bulunması oldukça büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada;

- 1) Refrakter majör depresyonda ve refrakter epilepside psikotropik ilaçlara göre kullanımı kolay ve güvenli bir tedavi olduğu uzun yıllardır yapılan uygulamalarda gösterilen vagal sinir uyarısının (VSU), erken dönem AH'de görülen NPS'lerin tedavisinde etkilerinin incelenmesi,
- 2) Dünyada 1970'li yıllardan beri tüketimi 10 kat artan ve duygudurum değişikliklerine neden olduğu bilinen fruktoz tüketiminin erken dönem AH'de görülen NPS'lerin gelişimindeki etkisinin incelenmesi,

amaçlanmıştır.



## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Alzheimer Hastalığı**

#### **2.1.1. Alzheimer Hastalığı Epidemiyolojisi**

2015 yılı verilerine göre Dünya genelinde 46,8 milyon demans hastası bulunmaktadır ve 2050 yılına kadar özellikle düşük-orta düzey geliri olan ülkelerde demansı olan hasta sayısında %68 artış öngörülmektedir [3]. Demans, hafıza, dil, problem çözme becerileri ve diğer bilişsel yeteneklerde zorlanma ile karakterize hastaların günlük hayatlarını etkileyen bir durumdur ve Alzheimer Hastalığı (AH) demansın en sık nedenidir (%70) [4]. 2018 yılı Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre AH olanların %97'si 65 yaş ve üzerindedir. Ayrıca 2005-2015 yılları arası ölüm nedenlerinde AH'ye bağlı ölümler %123 artarken kalp hastalıklarına bağlı ölümler %11 azalmıştır [4]. Bununla beraber, semptomatik AH olanların neredeyse 8 katı kadar prelinik AH (amiloidoz, nörodejenerasyon veya her ikisi) olan ve hayatları boyunca semptomatik AH olma riski taşıyanlar vardır [5]. Bu nedenle, Alzheimer hastalarının tedavisinin yanı sıra primer ve sekonder korumaya yönelik stratejiler geliştirilmesi de oldukça önemlidir.

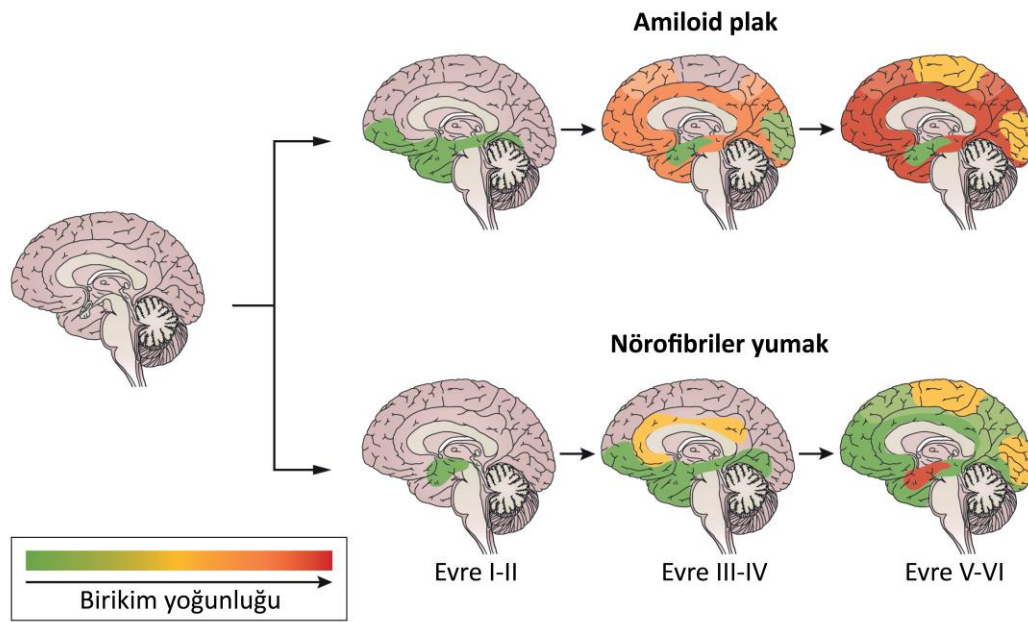
#### **2.1.2. Alzheimer Hastalığı Risk Faktörleri**

Alzheimer hastalığının en önemli genetik risk faktörü 19. kromozom üzerindeki apolipoprotein E (ApoE) polimorfizmidir. Özellikle ApoE4 izoformunun  $\epsilon 4/\epsilon 4$  genotipine sahip bireylerde AH riski çok fazla artmıştır (RR=14,9) [6].

Alzheimer hastalığının çevresel risk faktörleri arasında tip 2 diyabet (RR=1,46), orta yaş hipertansiyonu (RR=1,61), obezite (RR=1,60), fiziksel inaktivite (RR=1,82), depresyon (RR=1,65), sigara (RR=1,59) ve düşük eğitim düzeyi (RR=1,59) yer almaktadır [7]. Diğer yandan, Alzheimer hastalığı olanların %81'inde tip 2 diyabet veya insülin rezistansı bulguları vardır [8].

### 2.1.3. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi

Alzheimer hastalığı (AH), beyinde senil plaklar ve nörofibriler yumaklarla (NFT) karakterize progresif sinaps, nöron ve kognitif fonksiyon kaybına neden olan nörodejeneratif bir hastalıktır. Senil plaklar ilk olarak frontal, temporal lob, hipokampus ve limbik sistemde görülmektedir ve hastalığın evresi ilerledikçe beyin tamamına yayılmaktadır. NFT ise çoğunlukla mediyal temporal lob ve hipokampus çevresinden başlamakta ve hastalığın evrelemesinde kullanılan Braak sınıflamasının temelini oluşturmaktadır [9] (**Şekil 2.1**). AH'de görülen senil plakların, histopatolojik olarak incelemesiyle ekstraselüler kongo red pozitif fibröz bir protein, amiloid  $\beta$  ( $A\beta$ ), olduğu gösterilmiştir [10].  $A\beta$  proteini, amiloid  $\beta$ -prekürsör protein (APP)'in metabolitidir. APP metabolizmasında iki ayrı yolak bulunmaktadır. APP metabolizmasının %90'undan sorumlu majör yoldan  $\alpha$  ve  $\gamma$ -sekretaz sorumludur. Amiloidojenik olan minör yolda ise  $\beta$ - ve  $\gamma$ -sekretaz aktivitesi ile  $A\beta$  ve APP'nin intraselüler alt birimi (AICD) oluşur [11] (**Şekil 2.2**).  $A\beta$  proteinleri C terminallerinin uzunluğuna göre  $A\beta$ 1-42,  $A\beta$ 1-40 şeklinde isimlendirilirler. Saliverilen  $A\beta$ 'nin %90'ı  $A\beta$ 1-40, %10'u  $A\beta$ 1-42 tipindedir [12] ve  $A\beta$ 1-42 daha çok agregat oluşturma eğiliminde olan tiptir [13].  $A\beta$ 'nin fizyolojik rolü hala bilinmemektedir ancak AICD'nin nükleusa giderek farklı proteinlerin sentezini regüle ettiğine dair kanıtlar vardır. Alzheimer hastalığı görülmeden yaklaşık 15 yıl önce beyinde  $A\beta$  birikimi Pozitron Emisyon Tomografi (PET) ile gösterilebilmektedir [14].

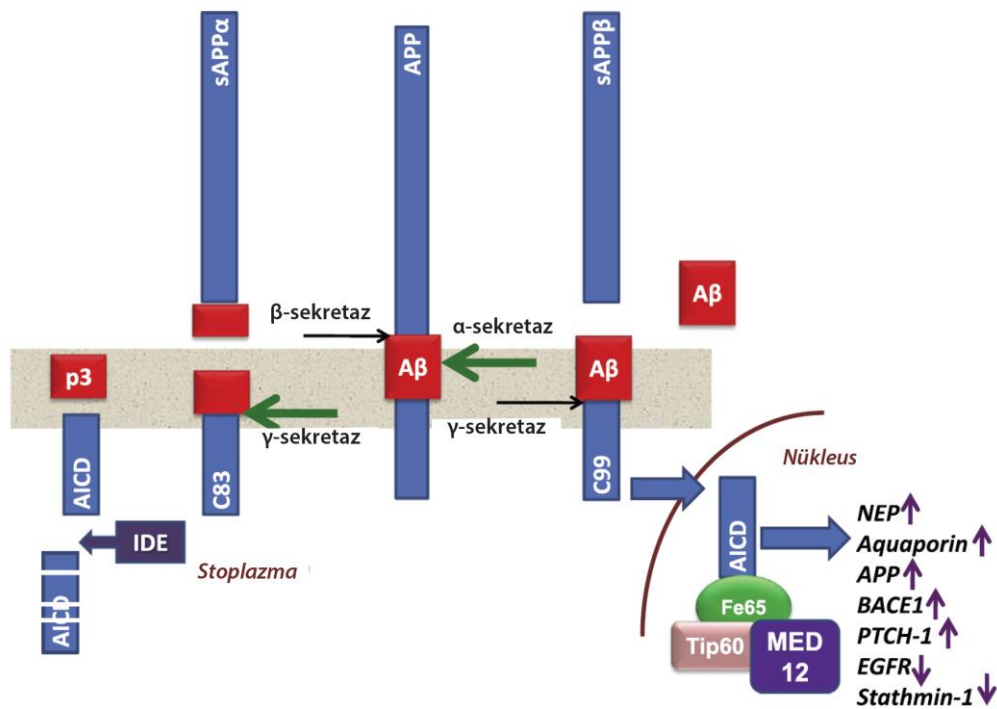


**Şekil 2.1.** Amiloid plak ve nörofibriler yumak birikiminin hastalığın evresine göre beyinde etkilediği bölgeler ([9] numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

### 2.1.3.1. Amiloid $\beta$ klirensi

Alzheimer hastalığında, beyinde A $\beta$  birikiminden A $\beta$  sentezi artışından çok A $\beta$  klirensinin azalmasının sorumlu olduğuna dair çok sayıda kanıt vardır [15]. A $\beta$ , enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla normal durumlarda oluştuğundan hemen sonra büyük oranda yıkılır ya da uzaklaştırılır. A $\beta$ 'nin uzaklaştırılmasında enzimatik olmayan yollar; 1) Drenaj, 2) Mikroglia ve astrosit fagositozu, 3) Lipoprotein reseptörü ile ilişkili protein 1 (LRP1) ve çok düşük dansiteli lipoprotein reseptörü (VLDLR) gibi damar endotelinin abluminal yüzeyinde ve perivasküler bölgelerdeki astrositler üzerinde bulunan reseptörler yardımıyla endotel içerisine alınıp sistemik dolaşıma salıverilmesidir [16].

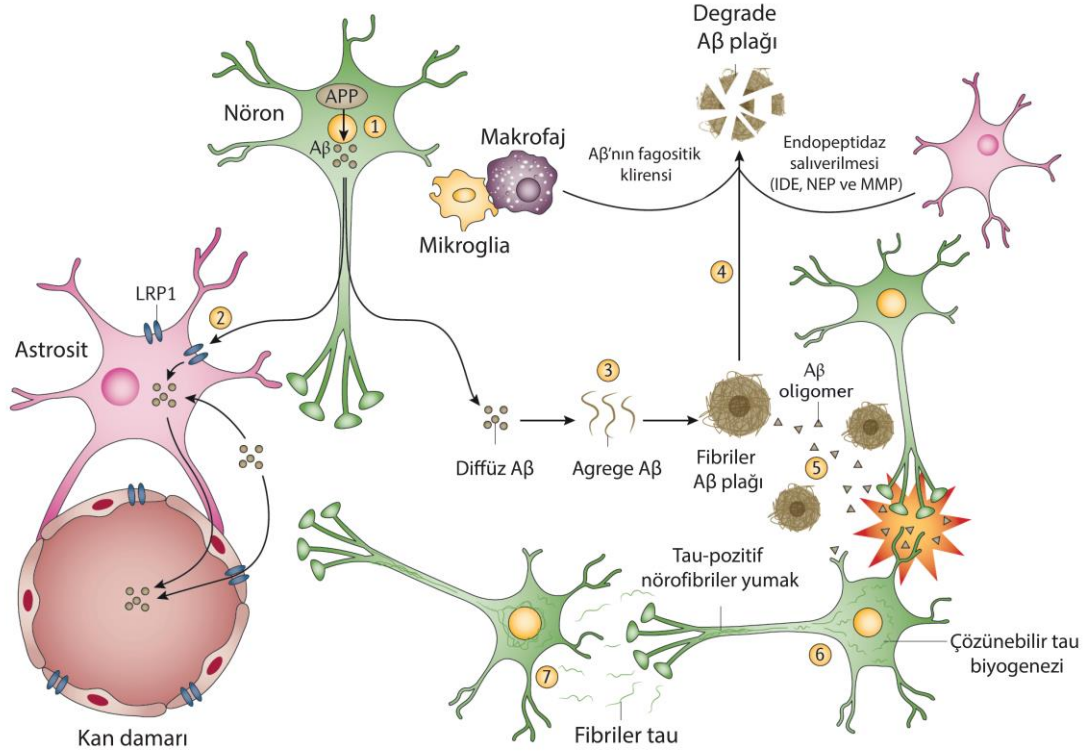
LRP1'in, A $\beta$  uzaklaştırılması dışında beyinde homeostasisin sağlanmasında önemli fizyolojik rolleri vardır [17]. LRP1 gen delesyonu kemirgenler için letaldir. Farelerde LRP1 mRNA'sında antisense mutasyon yaratıldığında beyinde A $\beta_{1-42}$  klirensinin azaldığı, A $\beta_{1-42}$  düzeyinin arttığı ve öğrenme bellek bozukluklarının ortaya çıktığı gösterilmiştir [18]. Ayrıca, LRP1'in AH'nin en önemli genetik risk faktörü olan ApoE'nin patojenik etkilerinde de rol oynadığı düşünülmektedir [19].



**Şekil 2.2.** Amiloid  $\beta$ -prekürsör protein (APP)'den amiloid  $\beta$  üretimi. sAPP $\alpha$ ,  $\alpha$ -sekretaz ile üretilen çözünebilir APP formu. sAPP $\beta$ ,  $\beta$ -sekretaz ile üretilen çözünebilir APP formu [11]. IDE, İnsülin degrade edici enzim. AICD, APP'nin intraselüler alt birimi. NEP, Neprilisin. BACE1,  $\beta$ -bölgesi APP-kesme enzimi 1 ( $\beta$ -sekretaz) ([11] numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

A $\beta$ 'nin uzaklaştırılmasında enzimatik yolda, büyük oranda nötral endopeptidaz ailesinin üyesi olan neprilisin ile katabolize edilir. Yasojima v.d. (2001), Alzheimer hastalarında prelinik dönemde (Braak II) beyinde A $\beta$  birikimi olan bölgelerde neprilisin mRNA düzeyinin anlamlı olarak düşük olduğunu göstermiştir [20]. Toplam A $\beta_{1-42}$  klirensinin %50'sinden sorumlu olan neprilisin yanı sıra A $\beta$  yıkımından, endotelin dönüştürücü enzim (ECE) ve insülin degrade edici enzim (IDE) de sorumludur [21, 22] (**Şekil 2.3**). A $\beta$  klirensinden sorumlu bu enzimlerin deneysel olarak aktivitelerinin azaltılması veya silinmesi beyinde A $\beta$  düzeylerinin artışına ve Alzheimer hastalığı benzeri kognitif bozukluklara neden olur [21].

Alzheimer hastalığı tedavisine yönelik enzimatik olmayan yol ile ilgili yalnızca LRP1 aktivitesinin artırılması üzerine çalışmalar vardır [23]. Fakat, enzimatik yolda özellikle neprilisin aktivitesinin veya ekspresyonunun artırılmasına yönelik çok sayıda çalışma vardır [24, 25].



**Şekil 2.3.** Amiloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) proteininin döngüsü. **1.** Nöron içerisinde amiloid  $\beta$ -prekürsör proteini (APP)'nden üretimi. **2.** Lipoprotein reseptörü ile ilişkili protein 1 (LRP1) ile astrozit içine alınması. **3.**  $\beta$ -amiloid agregatlarından plak oluşumu. **4.**  $\beta$ -amiloid plakların makrofaj ve mikroglialar ile endositoz veya fagositoza uğratarak insülin degrade edici enzim (IDE), neprilisin (NEP) ve matris metalloproteinazlar (MMP) ile degrade edilmesi. **5.** Degrade edilemeyen  $\beta$ -amiloid fibril ve plakalarının sinapslara toksik etkileri. **6.** Sinaps hasarı olan nöronlarda tau-pozitif nörofibriller yumaklarının oluşumu. **7.** tau fibrillerinin salınması ve sağlıklı nöronların bu fibrilleri alarak hasara uğraması ([9] numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

### 2.1.3.2. Kolinerjik hipotez

Kolinerjik hipoteze dair ilk kanıtlar Perry v.d. 1970'li yılların sonlarında,

Alzheimer hastalarının hipokampüsünde kolin asetil transferaz (ChAT) ve asetilkolin esteraz (AChE) enzim düzeylerinin düştüğünü gösterdikleri çalışmalardır [26, 27]. Alzheimer hastalarında yapılan başka çalışmalarda kolinerjik sistem bozukluklarının, ChAT ve AChE dışında kolin taşınması, asetilkolin saliverilmesi, nikotinik ve muskarinik reseptör ekspresyonu ve akson boyunca taşınmaları gibi süreçlerin tamamını içerdiği gösterilmiştir [28]. Alzheimer hastalığının nedenlerine yönelik önerilen hipotezler arasında en çok kabul göreni “kolinerjik hipotez”dir. Kolinerjik hipotez, Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan kolinerjik agonistlerin olumlu etkileri ile desteklenmektedir [29].

AH hayvan modellerinde de kolinerjik sistem bozuklukları görülmektedir. 14 gün boyunca intraserebroventiküler olarak  $A\beta_{1-40}$  enjekte edildiğinde kolinasetil transferaz (ChAT) düzeylerinin düştüğü gösterilmiştir [30]. Ayrıca, sıçan hipokampal nöron kültürlerinde  $A\beta_{1-42}$  'in presinaptik  $\alpha 7$  nikotinik asetilkolin reseptörleri üzerinden, minyatür eksitator postsinaptik akımları (mEPSC) nikotin-aracılı artışı engellediği gösterilmiştir [31].

### 2.1.3.3. Amiloid $\beta$ toksisitesi

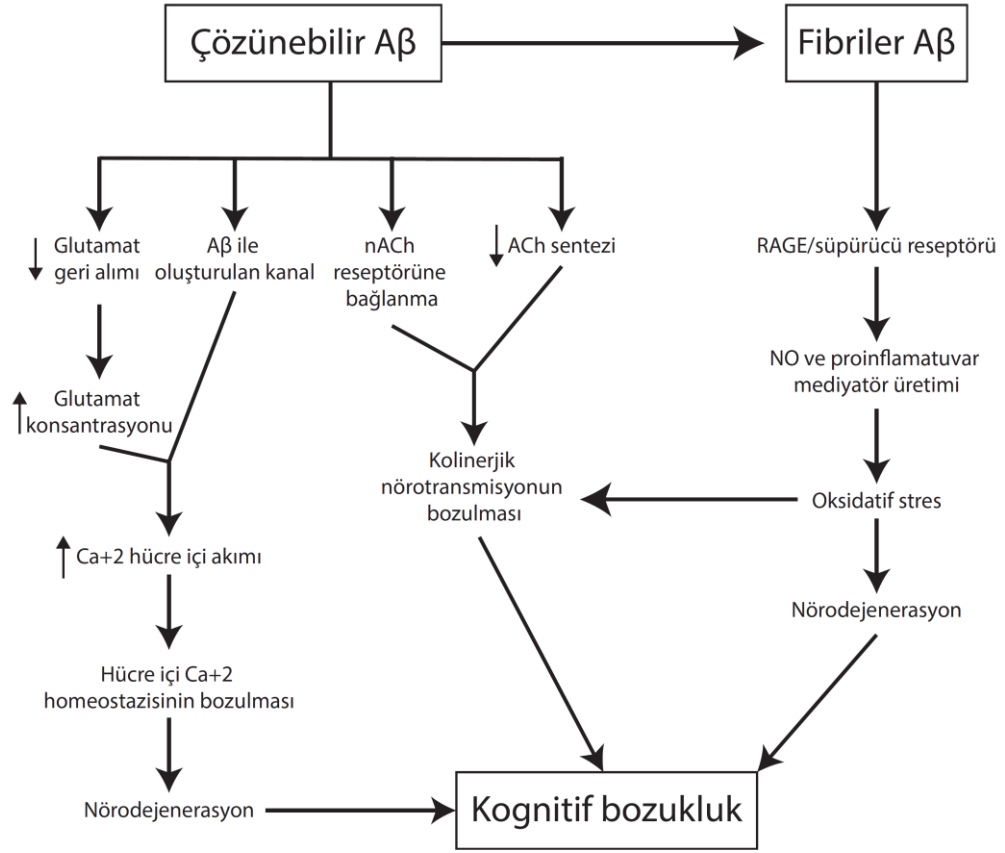
Direkt olarak amiloid toksisitesine bağlı olarak da kognitif bozukluk gelişmektedir. Sıçanlarda  $A\beta$  oligomerlerinin hipokampal uzun dönem potansiyasyonu (LTP) hızlı biçimde bloke ettiği gösterilmiştir [32]. Hafıza konsolidasyonu için gerekli olan noradrenalin saliverilmesi, intraserebral  $A\beta_{1-42}$  enjeksiyonu sonrasında engellenmekte ve hafıza konsolidasyonu bozulmaktadır ve adrenerjik  $\beta 3$  reseptör agonisti verilmesi hafıza üzerindeki bu bozuklukları engellemektedir [33]. Bununla beraber,  $A\beta$  glutamat saliverilmesini artırır ve aşırı glutamaterjik aktivite özellikle hipokampüste sinaptik plastisiteyi bozar ve eksitotoksosite ile nöron hasarına neden olur [34]. Ayrıca, yapılan elektrofizyolojik çalışmalarda  $A\beta_{1-42}$  'in doza bağımlı olarak N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörü aracılı eksitator post sinaptik akımları (EPSC) azalttığı gösterilmiştir [35].  $A\beta_{1-42}$ , AMPA reseptörü kaynaklı minyatür EPSC (mEPSC) da amplitüd ve frekansını da önemli ölçüde azaltır [36].

A $\beta$  birikiminin neden olduğu toksisitelerden birisi de sinaptik aşırım ve nöronal iyon gradiyentinin sağlanması önemli görevleri olan Na-K ATPaz üzerinedir. A $\beta$ <sub>1-42</sub>, Na-K ATPaz (NAK) pompasına direkt olarak bağlanır (Kd 3  $\mu$ M) ve aktivitesini azaltır [37]. Ayrıca, Alzheimer hastalarında yapılan bir çalışmada nöron spesifik Na-K ATPaz  $\alpha$ 3 alt ünitesi (NAK $\alpha$ 3) mRNA düzeyinin benzer yaştakilere göre yaklaşık %35 daha düşük olduğu saptanmıştır [38]. A $\beta$  oligomerleri, nöronlarda NAK $\alpha$ 3'e bağlanarak aktivitesini bozar ve N-tipi voltaj kapılı kalsiyum kanallarını aktive eder ve sonuçta mitokondride kalsiyum homeostazisini bozar ve nöron kaybına neden olur [39].

#### 2.1.3.4. Oksidatif stres ve inflamasyon

Alzheimer hastalığına bağlı gelişen nörodejenerasyonun önemli bir başka bileşeni de serbest radikaller ve oksidatif strestir [40] (**Şekil 2.4.**). Alzheimer hastalarında, 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığı ve buna bağlı olarak lipoik asit miktarının azaldığı gösterilmiştir [41]. Lateral ventriküllere A $\beta$ <sub>1-42</sub> enjeksiyonundan 14 gün sonrasında hipokampüste oksidatif stres belirteci HNE, reaktif oksijen radikali belirteci olan malondialdehit (MDA) düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir [42]. Serbest radikal süpürücü antioksidan enzimlerinden süper oksit dismutaz (SOD) miktarının, Alzheimer hücre serilerinde %30 arttığı [43] ve AH hastaların prefrontal kortekslerinden alınan örneklerde 2 kat arttığı gösterilmiştir [44].

Alzheimer hastalığında, özellikle A $\beta$  birikiminin yüksek olduğu beyin bölgelerinde astrosit ve mikroglia aktivasyonunun olduğu gözlenmiştir [45]. Ayrıca, Alzheimer hastalarının beyinlerinde sağlıklı kontrollere göre IL-1 $\beta$ 'nin 3 kat, TNF- $\alpha$ 'nin 2,5 kat, siklooksijenaz 1 (COX-1) ve COX-2'nin 2 kat arttığı gösterilmiştir [46]. AH'de IL-6'nın serumda 3 kat yükseldiği ve erken tanı için kullanılabilecek bir belirteç olabileceği öne sürülmüştür [47].



**Şekil 2.4.** Amiloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) proteininin nörodejenerasyon mekanizması ([10] numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

#### 2.1.4. Alzheimer Hastalığı Tedavisi

Alzheimer hastalığı, uzun süredir biliniyor olmasına rağmen hala hastalığı önleyen veya progresyonunu yavaşlatan/durduran herhangi bir tedavi bulunamamıştır [48]. Alzheimer hastalığının mevcut tedavileri asetilkolin esteraz inhibisyonuna odaklanmıştır. AChE inhibitörlerinden 3 tanesi (donepezil, rivastigmin ve galantamin) hafif-orta AH tedavisinde onay almıştır. Glutamaterjik eksitotoksiteyi azaltarak etki gösteren bir N-metil D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti, memantin, ise orta-şiddetli AH tedavisinde onaylanmıştır. AChE inhibitörleri ile tedavi edilen 628 hasta üzerinde 36 ay boyunca yapılan bir çalışmada ilk 3 ayda tedaviye iyi yanıt veren hastaların 36 aylık süreçte kognitif fonksiyonlarının tedaviye yanıt vermeyenlerle aynı düzeyde olduğu gösterilmiştir [49].



Onaylanan tedavilerin hastalığın progresyonu ve mortalite üzerine etkileri yetersiz olduğundan muskarinik M1 reseptör agonistleri,  $\alpha 7$  reseptör agonistleri,  $\beta$  sekretaz inhibitörleri,  $\gamma$  sekretaz modülatörleri,  $\alpha$  sekretaz modülatörleri, aktif ve pasif immünizasyon gibi farmakolojik tedaviler denenmektedir. Günümüzde Alzheimer hastalığı tedavisine yönelik klinik çalışmaları devam eden 100'den fazla ilaç vardır [50].

Farmakolojik tedaviler dışında beyin stimülasyon yöntemleri ile AH tedavisinde umut verici sonuçlar elde edilmektedir. Derin beyin stimülasyonu (DBS), transkraniyal manyetik stimülasyon (TMS), elektrokonvülf tedavi ve vagal sinir stimülasyonu günümüzde AH tedavisinde denenmekte olan yöntemlerdir [51]. On iki ay derin beyin stimülasyonu (DBS) tedavisi ile kognitif performansın değerlendirilmesinde kullanılan mini mental test skorlarında (MMSE) az miktarda iyileşme ve kognitif bozulma hızında azalma tespit edilmiştir [52]. Sol dorsolateral prefrontal korteks (DLPFC) alanı üzerine 4 hafta boyunca günde 25 dakika transkraniyal manyetik stimülasyon (TMS) uygulanan Alzheimer hastalığı olanlarda kognitif düzelme olduğu gösterilmiştir [53]. 6 ay boyunca vagal sinir uyarısı (VSU) uygulanan 10 hastadan 7'sinin MMSE performanslarının belirgin olarak düzeldiği gösterilmiştir [54].

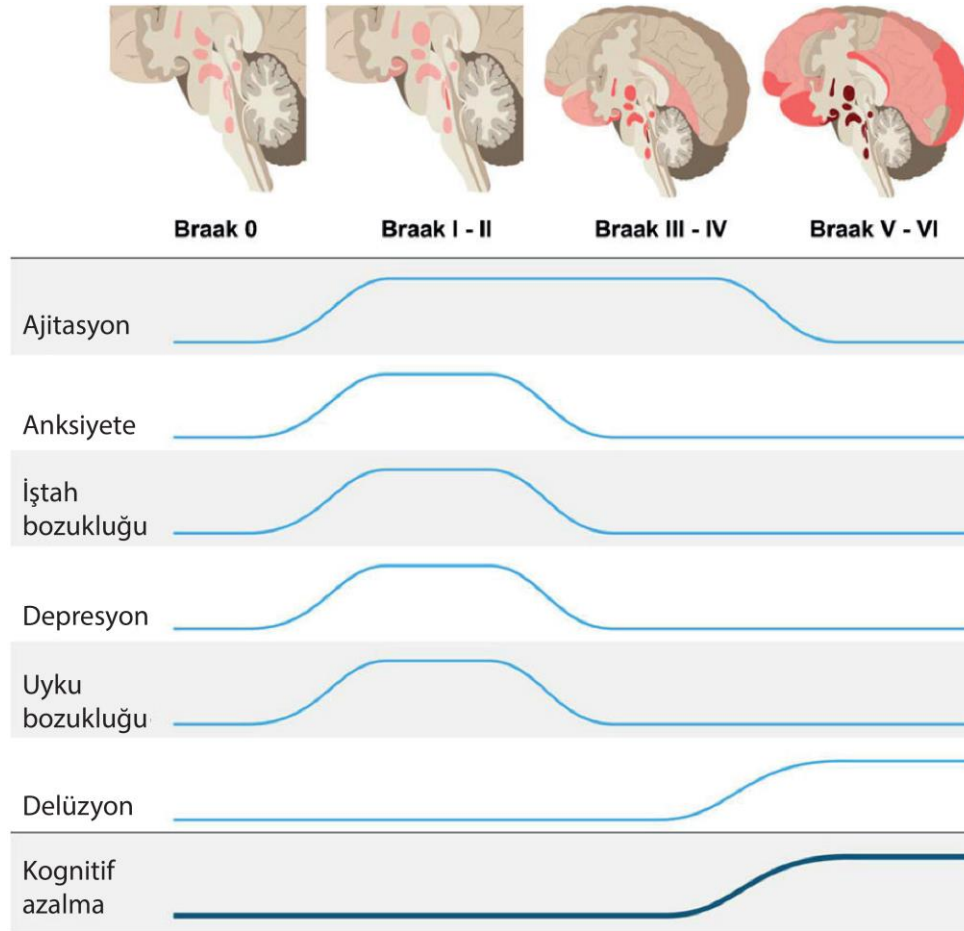
## 2.2. Alzheimer Hastalığı Nöropsikiyatrik Semptomları

Alzheimer hastalığı genellikle kognitif becerilerin bozulduğu bir hastalık olarak bilinse de tanı alan hastaların neredeyse tamamı hastalığın bir evresinde ajitasyon, apati, anksiyete, agresyon, disinhibisyon, öfori, irritabilite, uyku bozuklukları, depresyon, delüzyon veya halüsinasyon gibi nöropsikiyatrik semptomlar (NPS) yaşarlar [55]. Alzheimer hastalarında NPS'lerin prevalansı hakkında 1964-2014 arasındaki tüm çalışmalarda Alzheimer hastalarında apati sıklığı %49, depresyon sıklığı %42, agresyon sıklığı %40 olarak tespit edilmiştir [56]. Tanı anında AH %51'inde en az bir NPS bulunmaktadır ve en sık görülen NPS'ler depresyon (%25), apati (%17) ve irritabilitedir (%17) [57].

Ehrenberg v.d. (2018), 455 hastanın otopsi ve klinik bulgularını inceleyerek yaptığı çalışmada henüz A $\beta$  birikimine bağılı kognitif bozukluk oluşmadan nöropsikiyatrik semptomların (NPS) görülmeye başladığını göstermiştir. Bu çalışmada, AH'nin ilk olarak ajitasyon, anksiyete, iştah bozukluğu, depresyon ve uyku bozukları şeklinde görülebileceği gösterilmiştir. Ayrıca bu bozuklukların NFT patolojisi ile ilişkili bölgelerin etkilenmesi sonucunda oluşmuş olabileceği öne sürülmüştür. Braak sınıflamasının farklı düzeylerinde farklı NPS ortaya çıktığını ortaya koymuştur [58] (**Şekil 2.5**).

Nöropsikiyatrik semptomların nedenleri arasında AH'de en çok etkilenen monoaminlerden biri serotonindir. Özellikle 5-HT<sub>1A</sub> reseptör miktarının azlığı depresif semptomlarla, 5-HT<sub>6</sub> reseptörünün azlığı ise agresyonla ilişkilidir [59]. Bunun yanında, striatumda 5-HT<sub>2A</sub> reseptör miktarındaki düşme ile depresyon ve anksiyete arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir [60]. Sıçanlara tek doz intraserebroventriküler A $\beta$ <sub>1-42</sub> enjeksiyonundan sonra prefrontal korteksde (PFC) serotonin, BDNF (beyin kaynaklı nörotrofik faktör), NGF (sinir büyüme faktörü) düzeylerinde düşüş ile depresyon benzeri davranışlar geliştiği gösterilmiştir [61].

Braak sınıflaması, nörofibriler yumak (NFT) dağılımına göre oluşturulmuş AH'nin progresyonunu gösteren bir sınıflandırmadır. Tau birikiminin pozitron emisyon tomografi (PET) ile *in vivo* olarak gösterilmesi ile Braak sınıflaması yapılabilir. Braak sınıflamasına göre düzey I/II'de tau birikimi entorinal korteks ve hipokampüste iken, III/IV'te paralimbik kortekste ve son olarak düzey V/VI'da neokortekstedir [62].



**Şekil 2.5.** Braak sınıflamasına göre Alzheimer Hastalığında görülen nöropsikiyatrik bozukluklar ([62] numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

### 2.2.1. Alzheimer Hastalığı Nöropsikiyatrik Semptomlarının Tedavisi

NPS'lerin tedavisinde psikotropik ilaçların (antidepresan, antipsikotik ve benzodiazepinler) kullanımı Alzheimer hastalarında NPS'leri düzeltmediği gibi kognitif ve fonksiyonel bozuklukların daha hızlı ilerlemesine neden olmaktadır [63]. Yapılan bir çalışmada psikotropik ilaç kullanımının, NPS'leri düzeltmediği ve AH'de kognitif bozukluğu ve fonksiyonelliği 3,7 yıl daha hızlı bozduğu gösterilmiştir [64].

Wang v.d. (2005), 65 yaş üzeri 22.890 hastanın dahil edildiği bir çalışma ile antipsikotik kullanımının mortaliteyi artırdığını göstermiştir [65]. Ayrıca, Alzheimer hastası ve agresyon veya psikoza olan 421 hasta ile 36 haftalık takiple yapılan bir çalışmada, antipsikotik kullanımının plaseboya göre hastaların kognisyonu, fonksiyonelliği, bakım ihtiyacı veya yaşam kalitesi açısından bir fark yaratmadığını

göstermiştir [66].

AH'de en sık görülen NPS'lerden biri olan depresyonun tedavisinde selektif serotonin geri alım inhibitörlerinden (SSRI) sertralinin 24 haftalık tedavi sonunda plaseboya göre bir üstünlüğü bulunmamaktadır [67].

1966-2001 yılları arasında yapılan çalışmaların incelendiği bir meta-analizde AH hastalığının kognitif semptomlarının tedavisinde en sık kullanılan kolinesteraz inhibitörlerinin NPS'ler üzerine minimal düzeltici etkileri olduğu gösterilmiştir [68]. Randomize kontrollü bir başka çalışmada donepezil tedavisinin 12 haftada NPS'ler üzerine etkili olduğu gösterilmiştir [69].

Bir başka meta-analizde hem kolinesteraz inhibitörlerinin hem de atipik antipsikotiklerin NPS'ler üzerine minimal düzeltici etkilerinin yanında yan etki insidansı ve tedaviyi bırakma riskini belirgin şekilde artırdıkları gösterilmiştir [70].

Alzheimer hastalarında NPS tedavisinde onay alan tek ilaç, agresyonun kısa süreli tedavisinde kullanılan atipik antipsikotiklerden risperidondur [71].

Son yıllarda özellikle AH tedavisinde de etkili olacağı düşünülen kognitif stimülasyon terapisinin (KST) NPS'ler, özellikle de apati üzerine minimal düzeltici etkisi gösterilmiştir [72]. KST, kognitif performans ve NPS'ler üzerine kısa dönemde etkili görünmesiyle beraber uzun dönemli çalışmalar veya etki mekanizmasına yönelik çalışmalar bulunmamaktadır [73].

Mevcut farmakolojik tedavilerin yan etki ve yaşam süresi bakımından olumsuz etkileri ve NPS'ler üzerine etkisiz/minimal etkili olmaları nedeniyle, AH'de görülen NPS tedavisinde beyin stimülasyonu gibi yeni yaklaşımlar denenmelidir [74].

### **2.3. Alzheimer Hastalığı ve Vagal Sinir İlişkisi**

Son yıllarda bağırsak mikrobiotasının Alzheimer hastalığında değiştiğine yönelik çok sayıda kanıt vardır [75]. Bağırsak mikrobiotası ve beyin arasındaki bağlantının iki şekilde sağlanabileceği düşünülmektedir: 1) Vagal Sinir; 2) Bağırsaktan salıverilen ve kan beyin bariyerini geçen moleküller [76].

Vagal sinir, medulla oblongatadan köken alıp bağırsak, kalp, akciğer ve göğüs

ile abdomen içindeki diğer organların parasempatik innervasyonunu yapan sinirdir. Vagal sinirin özefagus, mide, bağırsak proksimali, karaciğer ve pankreasın mukozal kemoreseptörleri, mekanoreseptörleri ve gerilim reseptörlerinden köken alan duyuşal afferent liflerin nöron gövdeleri nodos ganglionda bulunur ve Nükleus Traktus Solitarius (NTS)'a bilgi gönderir. Duyusal vagal afferent liflerin büyük çoğunluğu glutamaterjiktir ve NTS nöronları AMPA, NMDA ve metabotropik glutamat reseptörleri ekprese eder [77]. NTS'nin, locus coeruleus (LC), rostral ventrolateral medulla, amigdala ve talamus gibi beyin farklı bölgeleri ile bağlantıları vardır [78, 79].

Vagal sinir, %80 afferent %20 efferent lifler içeren bir kranial sinirdir [80]. Hepatik ve çölyak dallarının afferent lifleri aracılığı ile karın içi organlardan santrale girdi sağladığı bilinmesine rağmen son yıllarda vagal sinirin özellikle bağırsak mikrobiotası ile beyin farklı bölgelerinde aktivite değişikliklerine neden olarak duygudurumu ve anksiyete düzeyini etkilediğine dair kanıtlar vardır [81]. Alzheimer hastalarının beyinlerinde LC bölgesinde nöron kaybının kontrol grubuna göre çok belirgin olduğu gösterilmiştir [82].

Bağırsak enfeksiyonlarına neden olan *Campylobacter Jejuni* 'nin rodentlere oral olarak verilmesinden 8 saat sonra vagal sinirin somatosensöriyel girdilerinin toplandığı NTS'de 6 kata kadar aktivite artışına yol açtığı gösterilmiştir [83]. *C. Jejuni* uygulamasının sistemik bir immün cevap oluşmadan anksiyete benzeri davranışları artırdığına dair kanıtlar da bulunmaktadır [84].

İntraperitoneal olarak kolesistokinin verilen sıçanlarda LC'de c-fos ekspresyonunun arttığı saptanmış ve vagal sinir çevresine kapsaisin enjekte edildiğinde bu ekspresyon artışı engellenmiştir. Böylece kolesistokinin etkisinin vagal sinir aracılığı ile olduğu gösterilmiştir [85]. Birada bulunan 4'-hidroksiallohumulinon (HAH) ve 4'-hidroksi-cis-alloisohumulonun (HAIH) gibi *Humulus lupulus* acı asitleri (MHBA) skopolamin ile indüklenen uzaysal hafıza bozukluklarını düzeltmektedir. MHBA verilmesi hipokampüste norepinefrin düzeyini artırmaktadır. Fakat, vagatomize edilmiş farelerde ise MHBA'ya bağlı gelişen kognitif düzelmeler görülmemektedir [86]. Benzer bir başka çalışma, bira içinde bulunan iso- $\alpha$ -asitlerin

(İAA) hipokampüste dopamin düzeyini artırdıklarını ve D1 reseptörleri aracılığı ile uzaysal hafıza ve obje tanıma fonksiyonlarını iyileştirdiği gösterilmiştir [87]. Bu bilgiler ışığında, beyin-bağırsak ilişkisinde ve duygudurum, öğrenme-bellek gibi önemli kognitif fonksiyonlarda vagal sinirin önemli etkileri olduğu düşünülmektedir.

Alzheimer hastalarında vagal somatosensoryel uyarılmış potansiyellerin (VSEP) latensinin uzadığı gösterilmiştir [88]. VSEP'in latensinin uzamasının, AH erken tanısında ve AH'nin diğer kognitif bozukluklardan ayrılmasında kullanılabileceğine dair kanıtlar vardır [89]. Ayrıca, ileri kognitif bozukluğu olan Alzheimer hastalarında vagal kardiyak kontrolün daha zayıf, sempatik kardiyak modülasyonların ise daha güçlü olduğuna dair kanıtlar vardır [90]. Yapılan bir başka çalışmada, Alzheimer hastalarında kalpte parasempatik innervasyonla ilişkilendirilen R-R interval varyasyonu (RRIV) ile sempatik innervasyonla ilişkili olan sempatik cilt yanıtı değerlendirilmiştir. AH olanlarda RRIV'nin kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük olduğu gözlenmiştir [91].

Alzheimer hastalığında, parasempatik uyarımın ve vagal sinir aktivitesinin etkilendiğine dair çok sayıda kanıt bulunmaktadır. Bu nedenle, vagal sinir stimülasyonunun önemli bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir.

### **2.3.1. Vagal Sinir Uyarısı Kullanım Alanları ve Alzheimer Hastalığındaki Rolü**

Vagal sinir uyarısı (VSU), ilk olarak dirençli epilepside asıl tedaviye yardımcı olarak 1994 yılında Avrupa'da, 1997 yılında ise ABD'de onaylanarak kullanıma girmiştir. Sağ vagal sinir, kalpte sinoatrial nodu innerve ettiğinden stimülasyonunda kardiyak monitörizasyon gereklidir [92]. Bu nedenle vagal stimülasyon çalışmalarının neredeyse tamamında sol vagus siniri stimüle edilir. Sol vagus siniri etrafına invaziv olarak elektrod yerleştirilerek yapılan stimülasyon dünya genelinde yaklaşık 100.000 kişiye uygulanmıştır ve en sık görülen yan etkileri disfoni, ses kısıklığı ve öksürüktür [93]. Refrakter epilepsi hastalarında atak sıklığının VSU tedavisi sonrasında %45 azaldığı gösterilmiştir [94]. Epilepsi hastası gebelerde, farmakolojik antiepileptik kullanımına bağlı görülebilen nörokognitif gelişme geriliği, konjenital malformasyon

ve büyüme geriliğinin önlenmesinde VSU kullanımını önemli kullanım alanlarından biridir [95].

VSU'nun en sık kullanıldığı alanlardan bir diğeri depresyondur. 2005 yılında Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA), kronik veya rekürren ilaca dirençli majör depresyon tanısı alan 18 yaşından büyüklerde VSU kullanımını onaylamıştır [96, 97].

Epilepsi ve depresyon dışında VSU'nun iştah azaltıcı [98], anti-inflamatuvar [99], kognitif fonksiyonları artırıcı [100-103], öksürük azaltıcı [104] ve anksiyolitik [105] etkileri gösterilmiştir.

VSU'nun kognisyonu artırıcı etkilerinin altında yatan mekanizmaya yönelik olarak sıçanlarda yapılan bir çalışmada VSU ile hipokampüste noradrenalin düzeyinin arttığı gösterilmiştir [106]. VSU ile eş zamanlı olarak alınan elektrofizyolojik kayıtlarda hipokampüste LTP'yi artırdığı [107], sinaptik aşırımı artırdığı [108] gösterilmiştir. Ayrıca, VSU ile eşzamanlı alınan elektrofizyolojik kayıtlarda VSU'nun perforan yol (perforant path; PP)-CA3 arasında eksitator post sinaptik potansiyelleri (EPSP) kalıcı olarak artırdığı ve bu artışın LC ve  $\beta$ -adrenerjik reseptör aktivasyonu aracılığı ile olduğu gösterilmiştir [109]. Son yıllarda insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, 3 aylık ve 1 yıllık kronik invaziv VSU tedavisinin kognitif becerileri artırdığına dair kanıtlar vardır [51, 110]. Erkek Wistar sıçanlarda 1 ms uyarı süresi, 10 Hz uyarı frekansı ve 8 mA'lık uyarı şiddeti ile yapılan elektriksel uyarımın hipokampüste teta ritmi oluşturulduğu ve bu ritmin medial septumdaki kolinerjik nöronlar aracılığı gerçekleştiği gösterilmiştir [111].

Vagal sinir uyarısı için son zamanlarda, özellikle %8,6 oranında görülen postoperatif hematoma, enfeksiyon, vokal kord paralizisi gibi cerrahi komplikasyonlardan [112] kaçınmak için invaziv olmayan boyun bölgesinden transkutanöz (tVSU) veya kulaktan auriküler dal üzerine elektriksel uyarı verilen yöntemler tercih edilmektedir. tVSU ile eş zamanlı alınan fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRI), bazal ganglion ve frontal korteks gibi alanlarda aktivite artışı, hipokampüste ise aktivite azalması tespit edilmiştir [113].

VSU'nun Alzheimer hastalığında özellikle kognitif fonksiyonlar üzerine etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma vardır. İlk çalışmalarda AH olanlarda mini mental test

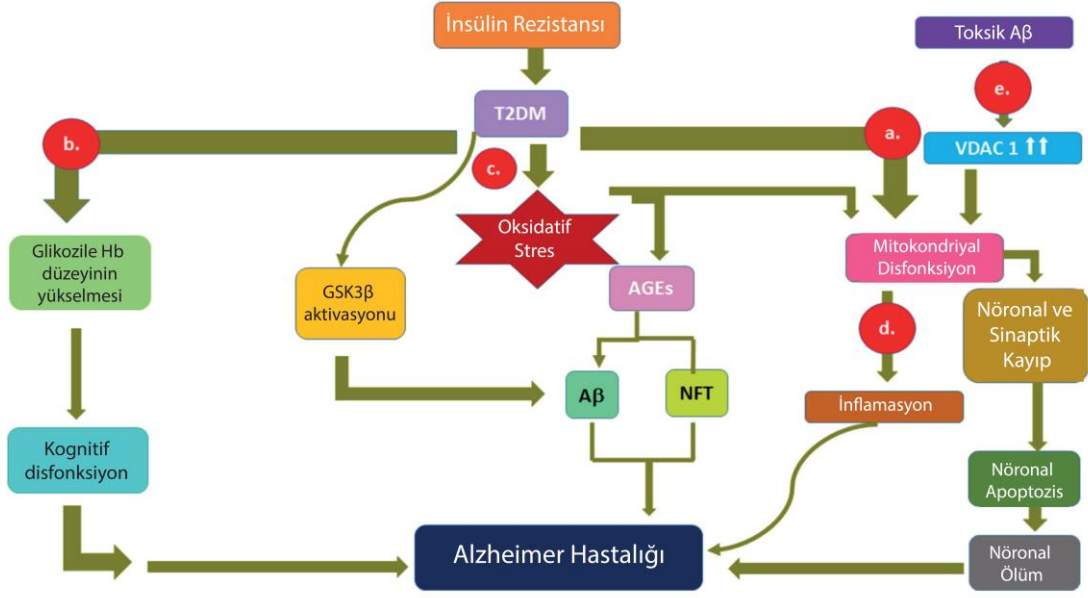
skorlarını düzelttiği gösterilmiştir [54]. 1 yıllık uzun süreli VSU ile AH olanların %70'inde kognitif fonksiyonlarda değişiklik olmadığı görülmüştür [114].

VSU'nun kognisyonu artırdığına dair çok sayıda çalışma bulunmaktadır [102]. Ayrıca, duygudurum ilişkili durumlarda etkinliğini gösteren çok sayıda çalışma vardır [115]. Fakat, Alzheimer hastalığında görülen nöropsikiyatrik semptomların tedavisinde VSU'nun etkilerini gösteren bir çalışma yoktur.

#### **2.4. Alzheimer Hastalığı Nöropsikiyatrik Semptomları- Fruktoz İlişkisi**

Dünya genelinde yüksek fruktozlu mısır şurubunun (YFMŞ) tatlandırıcı olarak kullanımı son yüz yılda 21 kat artmıştır [116] ve buna bağlı olabileceği düşünülen Tip 2 diyabet (T2D) prevalansı 7-8 kat artmıştır [117]. AH ve T2D ortak olarak insülin rezistansı, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) sinyal yolağı, inflamasyon, oksidatif stres, glikojen sentaz kinaz 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) sinyal mekanizmaları ile ilişkilidir [118]. Fruktoz tüketiminin, insanlarda visseral adipozite, lipid disregülasyonu ve insülin resistansına neden olarak T2D'nin en önemli nedenlerinden biri olduğu gösterilmiştir [119]. Ayrıca, fruktoz tüketiminin hipokampüste sinaptik plastisiteyi etkileyerek uzun dönem potansiyelizasyon (LTP) ve uzun dönem depresyon (LTD) üzerine olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir [120]. Yüksek yağlı ve yüksek fruktozlu diyetle beslenen sıçanlarda, hipokampüs ve kortekste, insülin reseptörü, insülin reseptör substratı 1 ve 2'nin mRNA düzeylerinin arttığı gösterilmiştir [121].

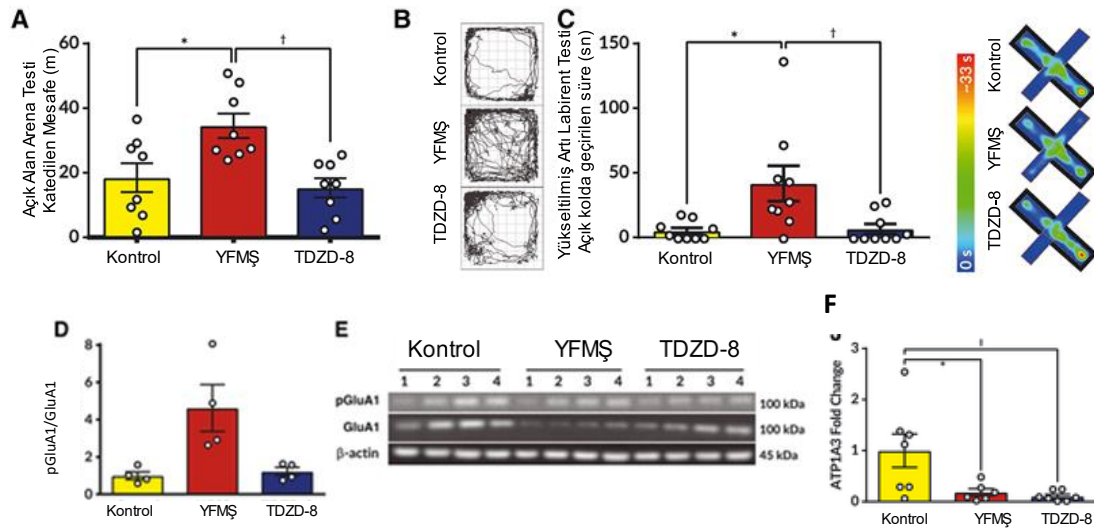




**Şekil 2.6.** Tip 2 diyabet (T2DM) ve Alzheimer hastalığının ilişkisi ([118] numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

T2D'de süregelen hiperglisemi, diyabetin vasküler komplikasyonları ve ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşumunu artırır. AGE'ler ve reseptörleri olan RAGE'ler reaktif oksijen radikali üretimi artışı, vasküler inflamasyon ve farklı hücrelerde birçok genin ekspresyonunu etkileyerek diyabetik vasküler komplikasyonlar ve AH gelişimine katkı sağlarlar [122].

Kendi araştırma ekibimizin yaptığı çalışmada kronik fruktoz tüketiminin, adolesan sıçanlarda bipolar benzeri duygudurum bozukluğuna neden olduğu ve bu etkilerine hipokampal nöronlarda eksitabilite artışı, NAK $\alpha$ 3 mRNA düzeyinin azalması ve fosforile AMPA reseptör miktarında artışın neden olabileceği gösterilmiştir [123] (**Şekil 2.7**).



**Şekil 2.7.** Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu (YFMŞ) tüketen sıçanlarda duygudurum değişiklikleri. Açık Alan Arena Testinde hiperlokomosyon (**A,B**); Yükseltmiş artı testinde cesaret benzeri davranışlar (**C**); pGluA1/GluA1 (AMPA) oranında 5 kata yakın artış (**D,E**) ve ATP1A3 (Na-K ATPaz α3 alt tipi) mRNA düzeyinde anlamlı derece azalma (**F**) tespit edilmiştir. GSK3β inhibitörü olan TDZD-8 tedavisi, ATP1A3 mRNA düzeyindeki azalma haricindeki tüm değişiklikleri geri çevirmiştir [123].

Yüksek fruktoz diyeti ile beslenen sıçanlarda anksiyete ve depresyon benzeri davranış değişiklikleri geliştiği gösterilmiştir [124]. Ayrıca, 2 haftalık fruktoz tüketimi ile plazma TNF-α düzeyinin arttığı ve hipokampal inflamasyon geliştiği görülmüştür [125]. 12 haftalık fruktoz tüketiminde ise nörodejenerasyonun erken bulguları görülmüştür [126].

Yüksek yağlı diyetle beslenen Tg2576 transgenik farelerin beyinlerinde normal diyetle beslenenlere göre daha fazla miktarda Aβ birikimi olduğu ve GSK3β ile γ-sekretaz aktivitesi arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir [127]. Ayrıca, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin vagal sinirlerinin, özellikle beslenme sırasındaki uyarılara cevap verebilirliğinin azaldığı gösterilmiştir [128]. Bununla beraber, Alzheimer hastalarının beslenmesinde ketonejik diyetin kognitif fonksiyonları iyileştirdiğine dair çok sayıda kanıt vardır [129, 130].

Fruktoz tüketiminin böbrek fonksiyonları üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmada böbrekte Aβ yıkımından sorumlu en önemli enzim olan neprilisin düzeyinin fruktoz tüketen grupta azaldığı gösterilmiştir [131]. Fruktoz tüketen sıçanlarda,

insülin degrade edici enzim (IDE) miktarının azaldığına yönelik de kanıtlar vardır [132].

## 2.5. Alzheimer Hastalığı Modelleri

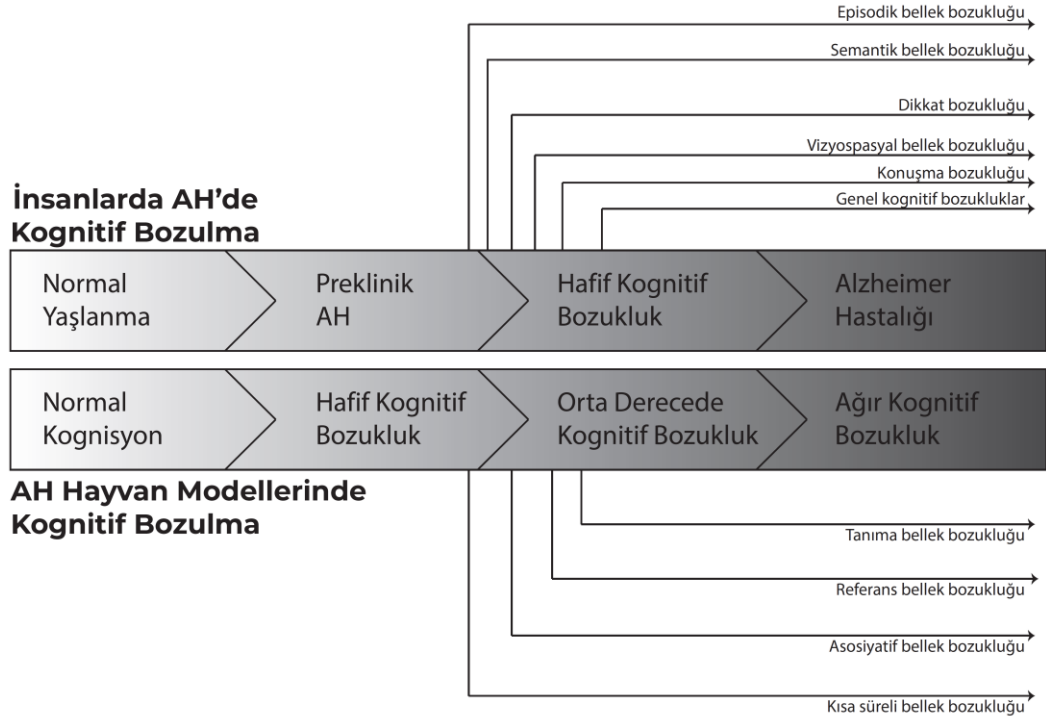
Farklı patofizyolojik temellere dayanan AH'yi modelleyen pek çok yöntem vardır [133]. Tablo 2.1'de bu modellerin bazıları ve genel özellikleri verilmiştir.

**Tablo 2.1.** Alzheimer Hastalığı Modelleri ve genel özellikleri

Modeller	Genel Özellikleri
<b>1. Spontan modeller</b>	
Yaşlanmaya bağlı demans	Demans, yaşlanmanın doğal bir sonucudur. Yaşa bağlı kognitif azalma AH'yi hem nörokimyasal açıdan hem de morfolojik açıdan taklit eder [134]. AH'ye benzer olarak görülen kolinerjik hipofonksiyon ile beraber dopaminerjik ve glutamaterjik disfonksiyon görülür.
<b>2. Kimyasallarla indüklenen modeller</b>	
Skopolamin (ICV veya IP)	Antimuskarinik etkileri, AH'ye benzer olarak hafıza kaybına neden olur [135].
ICV streptozotosin (STZ) verilmesi	STZ nitrozürelere benzer şekilde alkilleyici ajan olarak kullanılan bir antikanser ilaçtır. ICV olarak verildiğinde AH'ye benzer olarak progresif bir hafıza kaybına neden olur [136]. Hiperglisemik etkilerinden çok, oksidatif stres ile nöronal hasara neden olduğundan bu etkilere neden olduğu gösterilmiştir.
Amiloid- $\beta$ infüzyonu	AH'nin tipik bulgularından A $\beta$ birikimini taklit etmek için 3. ventriküle ya da lateral ventriküllere infüzyonu ile hafıza kaybı oluşturulabilir [137].
Metiyonin (P.O.)	Kronik hiperhomosisteineminin NMDA reseptörlerini aşırı aktive etmesi ile nörotoksositeye yol açtığı ve A $\beta$ birikimine ve tau hiperfosforilasyonuna neden olduğu gösterilmiştir [138]. Öğrenme-bellek bozuklukları ile birlikte endotel disfonksiyonu görülür.
Kolşisin	Kolşisin nörotoksositeye yol açarak özellikle kolinerjik nöron kaybı ile bellek bozukluklarına neden olur [139].
<b>3. Genetik olarak indüklenen modeller</b>	

Tg2576	5 kat $A\beta_{1-40}$ ; 14 kat $A\beta_{1-42}$ artışı. Kortikal ve limbik yapılarda $A\beta$ birikimi görülür. 9-10. aylarda öğrenme bellek bozukluğu ortaya çıkar [140].
5xFAD	1,5 ayda $A\beta_{1-42}$ intraselüler miktarında artış. 2 ayda ekstraselüler $A\beta$ birikimi. 4. ayda nöronal kayıp ve kognitif bozukluk ortaya çıkar [141].
3xTg-AD	3-4 ayda intraselüler $A\beta$ birikimi ve kognitif bozukluk. Ekstraselüler $A\beta$ birikimi 6. ayda, tau patolojisi ise 12. ayda görülür [142].

Alzheimer hastalığında prelinik çalışmalar ile insan çalışmalarının sonuçları arasında uyumsuzluk görülmesi oldukça sık rastlanan bir durumdur [143]. Bu uyumsuzluğun nedeni mevcut hastalık modellerinin hiçbirinin hastalığın tüm patofizyolojik süreçlerini içermemesidir [144]. Bu nedenle, tüm nöropsikiyatrik semptomların incelenmesine olanak sağlayan bir AH modeli bulunmamaktadır.



**Şekil 2.8.** İnsanlarda AH'nin kognitif bozukluklar açısından progresyonu ile fare AH modellerinde görülen kognitif bozukluklar ([145] numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

Bu çalışmada,

- 1) Alzheimer Hastalığında görülen nöropsikiyatrik semptomların gelişmesinde fruktoz tüketiminin,
- 2) Alzheimer Hastalığında görülen nöropsikiyatrik semptomların tedavisinde kronik vagal sinir uyarımının, etkileri ve etki mekanizmalarının aydınlatılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada hedeflenen sonuç, fruktoz tüketiminin ve vagal sinir uyarısının Alzheimer Hastalığı NPS'leri üzerine etkileri ile ilgili önemli bilgiler elde etmektir. Bu bilgiler, AH'de NPS'lerinin önlenmesi, yeni tedavi hedeflerinin bulunmasına ve tedavisine yardımcı olacaktır.

Çalışmanın hipotezleri;

- I. Alzheimer hastalığı modelinde yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketimi, glutamaterjik aktiviteyi değiştirerek ve antioksidan enzim SOD miktarını azaltarak kognitif bozukluğu ve nöropsikiyatrik semptomları şiddetlendirir.
- II. Kronik vagal sinir uyarısı Alzheimer hastalığı modelinde, glutamaterjik aktiviteyi değiştirerek ve antioksidan enzim SOD miktarını artırarak nöropsikiyatrik semptomları geri çevirir.
- III. Kronik vagal sinir uyarısı, sağlıklı sıçanlarda anksiyolitik, antidepresan benzeri ve agresyonu azaltıcı etki gösterir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

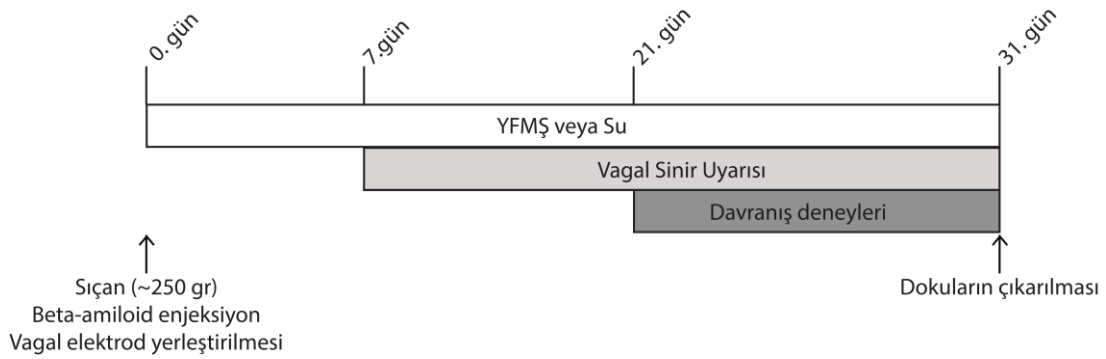
#### 3.1. Deney Hayvanları

Deneylerde, 8-10 haftalık yetişkin erkek Wistar sıçanlar (ortalama 250 gram) kullanılmıştır. Sıçanlar, 21 °C oda sıcaklığında 12 saat gece 12 saat gündüz (ışıklar sabah 08:00'de açılmak üzere) döngüsünde tutulan odalarda barındırılmıştır. Bütün sıçanların deney süresince yem ve suya erişimleri *ad libitum* olarak sağlanmıştır (fruktoz alanlar hariç). Sıçanlar, rastgele 6 gruba ayrılmıştır (**Tablo 3.1**). Sıçanlar 0. günden itibaren içme suyu ya da hacimce %11 yüksek fruktozlu mısır şurubu-42 (YFMŞ-42) içeren içme suyuyla beslendi. Bu tez çalışmasında tercih edilen YFMŞ-42 gazlı içecek, meyve suyu ve bisküvi gibi ürünlerde kullanılır. YFMŞ-42, %45 oranında fruktoz, %54 oranında glukoz içerir ve brix değeri (20°C) 71'dir. Cerrahi işlem sonrasında 7 gün iyileşmeye bırakılan sıçanlar, daha sonra vagal sinir uyarısı tedavisi almıştır. Sıçanların deney başlangıcı ve bitiminde ağırlıkları tartılmış ve aşağıda detaylandırılan deneylere maruz bırakılmıştır (**Şekil 3.1**).

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 04.12.2018 tarih ve 2018/73-01 karar numaralı onayı ile Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılmıştır (**EK-1**).

#### 3.2. Deney Protokolü

Sıçanlar, barınağa geldikten sonra 7 gün klimatizasyon için beklenmiştir. Deneye başlanan gün 0. gün olarak kaydedilmiştir. Sıçanlar, 0. gün cerrahi işleme alınmıştır. Aşağıda tarif edilen şekilde intraserebrovasküler (icv) enjeksiyon ve vagal elektrod yerleştirilmesi işlemlerinden sonra sıçanlar 7 gün iyileşmeye bırakılmıştır. Daha sonra vagal stimülasyon/sham 14 gün boyunca günde 5 dk uygulandıktan sonra davranış deneylerine başlanmıştır (**Şekil 3.1**). Takip eden 10 gün boyunca davranış deneyleri aşağıda tarif edilen şekilde yapılmıştır. Davranış testleri en az stresli olandan en stresli olan teste doğru; Tutma Testi>Açık Alan Arena Testi>Yükseltilmiş Artı Testi>Morris Su Labirenti>Edilgen Kaçınma Testi>Porsolt Zorunlu Yüzme Testi sırasıyla yapılmıştır.



**Şekil 3.1.** Deney protokolü.

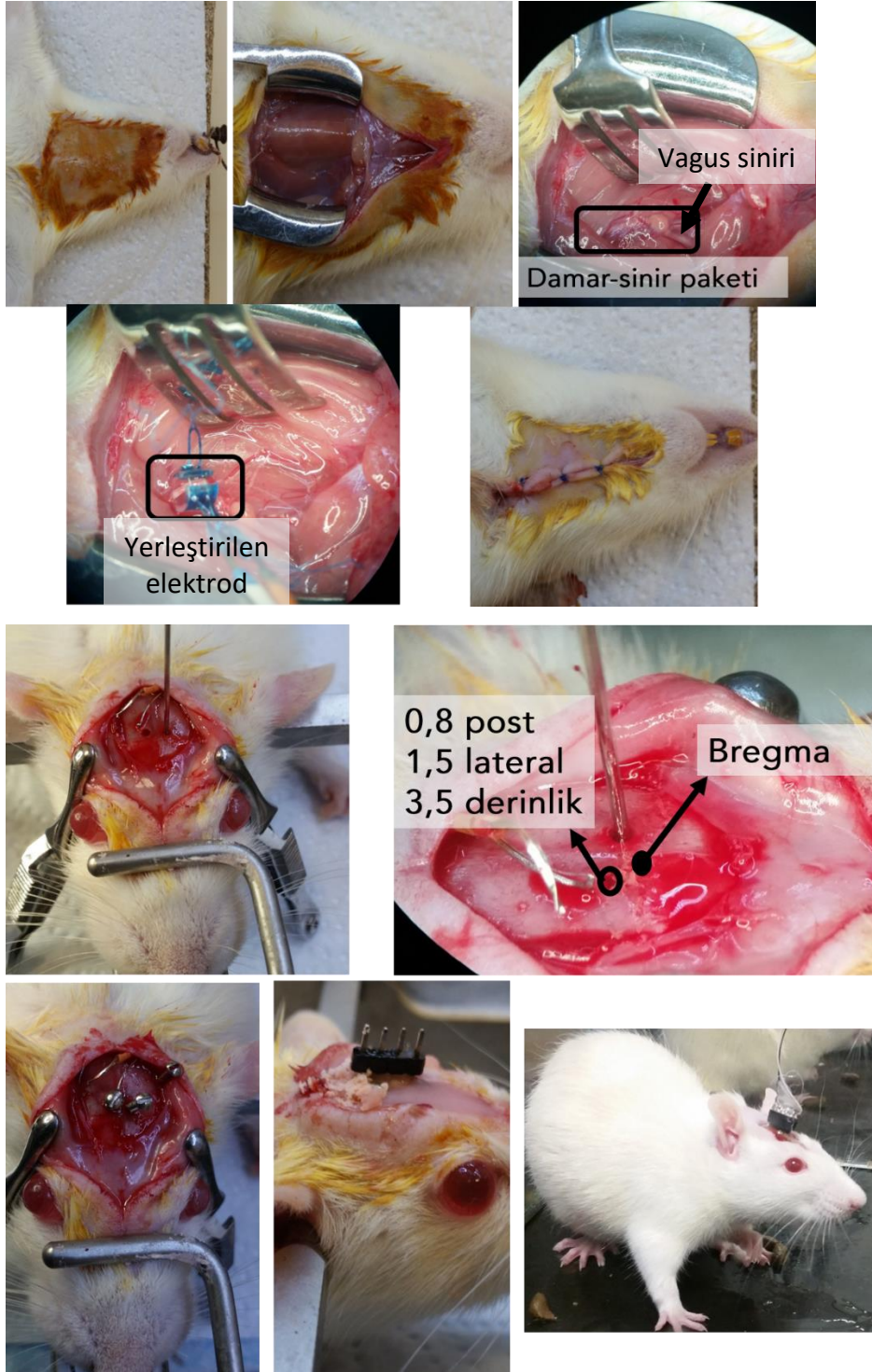
**Tablo 3.1.** Deney grupları

Gruplar	ICV A $\beta$	Yüksek fruktozlu mısır şurubu (YFMŞ)	Kronik Vagal Sinir Uyarımı (VSU)
Grup 1- Kontrol	-	-	-
Grup 2- A $\beta$	+	-	-
Grup 3- A $\beta$ +YFMŞ	+	+	-
Grup 4- Kontrol+VSU	-	-	+
Grup 5- A $\beta$ + VSU	+	-	+
Grup 6- A $\beta$ +YFMŞ+VSU	+	+	+

### 3.3. Amiloid $\beta$ enjeksiyonu ile Alzheimer modeli oluşturulması

Sıçanların deneye alınmasının 0. gününde intraperitoneal olarak verilen ketamin (90 mg/kg) ve ksilazin (10mg/kg) anestezisi altında sıçanlar stereotaksik çerçeveye yerleştirildi. A $\beta_{1-42}$  (Sigma-Aldrich), salin içerisinde 400  $\mu$ M konsantrasyonda çözündürülerek kullanıma kadar -20°C'de saklandı [146]. A $\beta_{1-42}$  enjeksiyonu için anestezisi altındaki sıçanın kafasına orta hattan bir cilt kesisi açıldı. Sonrasında Paxinos atlasına göre bregmanın 0,8 mm gerisine, sagittal sütürün 1,5 mm lateraline ve beyin yüzeyinin 4 mm derinine bilateral olarak her iki lateral ventriküle A $\beta_{1-42}$  enjekte edildi [42] (**Şekil 3.2**). Enjeksiyonlar 10-25  $\mu$ l'lik Hamilton iğnesi ile dakikada 1  $\mu$ l olacak şekilde 5 dakika boyunca 5  $\mu$ l A $\beta_{1-42}$  veya vehikül (salin) olarak

yapıldı. Daha sonra mikroenjeksiyon iğnesi 5 dakika daha yerinde bekletildi. Daha sonra yavaşça enjeksiyon iğnesi çıkarıldı ve karşı taraf enjeksiyonu da aynı şekilde yapıldıktan sonra vagal sinir uyarısı için elektrod yerleştirilmesi işlemine geçildi [146, 147].



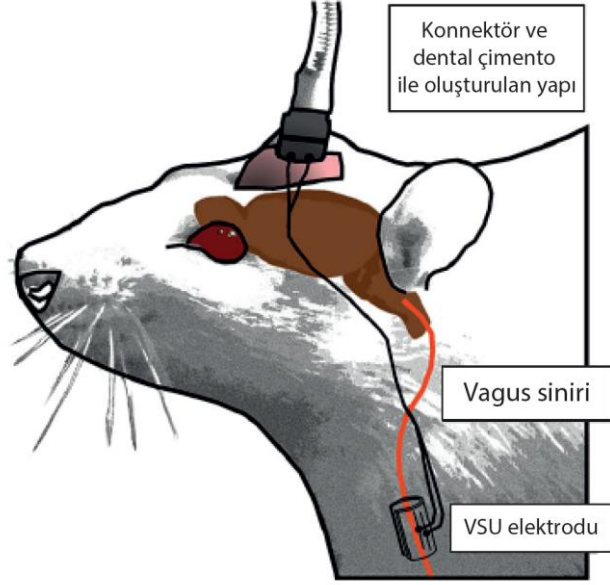
**Şekil 3.2.** Amiloid  $\beta$  enjeksiyonu ve vagal elektrod yerleştirilmesi.



### 3.4. Vagal sinir uyarımı

Vagal elektrod literatüre uygun olarak özel olarak yapılmıştır.  $2,5\pm 0,1$  mm uzunluğunda, 2,8 mm çapında PVC tüpün bir yüzünün çıkarılması ile C şekline getirildi. 7.0 prolene ile tüpün her 2 yanığında bir sütür atıldı ama düğümlemedi [148]. Sonrasında dikiş ipinin geçtiği deliklerden arkası kabloya lehimli gümüş kaplı teller geçirildi. Sonrasında telin ve kablunun açıkta kalan kısımları izolasyon malzemesi ile izole edildi (**Şekil 3.2**).

Amiloid  $\beta$  enjeksiyonu için ketamin ve ksilazin ile anestezi edilen sıçanlar sterotaksik çerçeveden çıkarıldı ve boyun sol yanına 2 cm'lik bir kesi yapıldı [97, 149] (**Şekil 3.2**). Daha sonra vagal sinir çevre dokulardan uzaklaştırılarak daha önce hazırlanmış olan elektrod, vagal sinir çevresine sarılarak sabitlendi (**Şekil 3.3**). Elektrodun yerini optimize etmek için 0,2 mA, 60 Hz, 10 sn'lik bir uyarı verilerek solunum sayısının azalması takip edildi [148]. Daha sonra sıçanların boyun bölgesinde cilt 4.0 prolene ile sütür edildi. Vagal elektrodun telleri ve konnektörünü sabitlemek için kemik vidaları ve dental çimento kullanılarak bir yapı oluşturularak kafadaki kesi kapatıldı. Sham grubunda ise sadece vagal sinir çevresine elektrod yerleştirildi ve elektriksel uyarı uygulanmadı. Daha sonra hayvan 1 haftalık iyileşmeye bırakıldı. 1 hafta iyileşme süreci sonrasında günde 5 dk boyunca 30 s uyarı verilip 30 s beklenerek VSU deneyin son gününe kadar uygulandı. Uyarı amplitüdü 0,8 mA, uyarı frekansı 30 Hz, uyarı devam süresi 0,5 ms olarak verildi.[150].

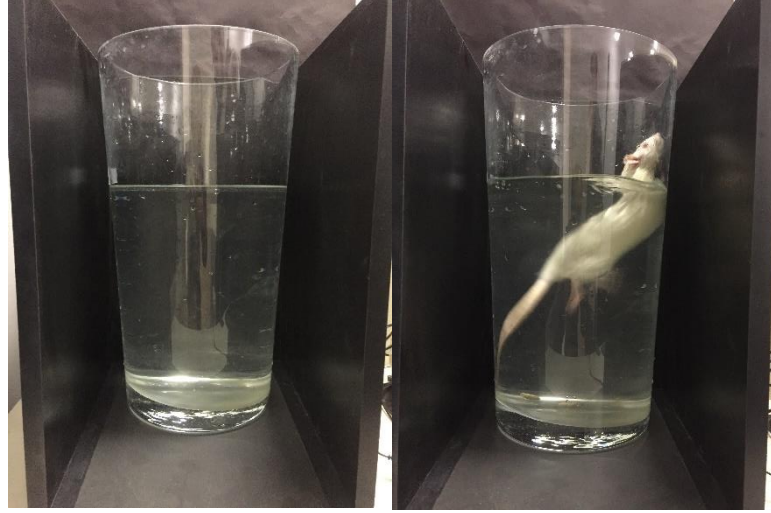


**Şekil 3.3.** Vagal sinir uyarısı için yerleştirilen elektrodun şematik gösterimi ([148] numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

### 3.5. Davranışsal testler

#### 3.5.1. Porsolt zorunlu yüzme testi

Bu test sıçanların depresif duygudurumunu değerlendirmek için kullanılmıştır [151]. Öğrenilmiş çaresizlik modeli olan bu testin aparatı 20 cm çapında, 60 cm yüksekliğinde, içi 40 cm yüksekliğine kadar 21°C su dolu şeffaf cam silindirden oluşmaktadır (**Şekil 3.4**). Bu test iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada 15 dakika boyunca sıçanların bu silindir içinde yüzmeleri sağlandı. Sıçanlar bu aşamada bu silindirden bir çıkışlarının olmadığını öğrenmişlerdir. İlk aşamadan 24 saat sonra ikinci aşama gerçekleştirildi. Bu aşamada 5 dakika boyunca suya bırakılan sıçanların video takip sistemi ile toplam immobilité süreleri kayıt altına alındı.



**Şekil 3.4.** Zorunlu yüzme testi.

### 3.5.2. Yükseltilmiş artı labirent testi

Bu test sıçanların anksiyete seviyelerini değerlendirmek için kullanılmıştır [152]. Yükseltilmiş artı testi aparatı, karşılıklı iki kolu açık, karşılıklı iki kolu kapalı, artı şeklinde birbirlerine dik yerleştirilmiş dört koldan oluşmaktadır (**Şekil 3.5**). Kolların eni 15 cm, boyu ise 45 cm'dir. Aparat ayakları aracılığıyla yerden bir metre yükseltilmiştir. Bu testte, yüzü açık kollardan birine dönük olarak bırakılan sıçanın 5 dakika boyunca video takip sistemi ile açık kollarda bulunma süresi, bu kollarda aldığı yol ve açık kollara geçme sayısı kaydedilmiştir. Ayrıca, açık kolların en uçta kalan 10 cm'lik kısımları "aşırı uç" olarak tanımlanmış ve sıçanların bu bölgede geçirdikleri süreler takip edilmiştir.



**Şekil 3.5.** Yükseltilmiş artı testi.

### 3.5.3. Tutma Testi

Bu test, eldivenle tutulan sıçanların agresiflik düzeylerini anlamak için kullanılmıştır [153]. Sıçanların tutmaya karşı verdiği yanıtlar skorlandı. 0 – sıçan tutmaya izin verir ve kaçmak için herhangi bir çabası olmaz; 1 – tutmaya izin verir fakat kaçmaya çalışır; 2 – elden uzağa kaçar ve yakalanmaktan kurtulmaya çalışır; 3 – ellenmekten aktif olarak kaçar ve tutulduğu zaman çığlık atar, ağzını açar veya ısırır; 4 – ellenmeye izin vermez ve yüksek sesle çığlıklar atarak ele saldırır.

### 3.5.4. Açık alan arena testi

Bu test sıçanların lokomasyonlarını ve anksiyetelerini değerlendirmek için kullanılmıştır [154]. 45 cm kenar uzunluğu olan kareden oluşan üstü açık cam küp içine konulan sıçanların 60 dakika boyunca ortalama hızları, alanın periferinde ve merkezinde geçirdikleri süreler ve buralarda aldıkları yollar video takip sistemi ile kayıt altına alındı (**Şekil 3.6**).



**Şekil 3.6.** Açık alan arena testi.

### 3.5.5. Edilgen Kaçınma Testi

Edilgen kaçınma testi, Morris su labirenti gibi hipokampal öğrenme ve hafızanın test edilmesi için kullanılmaktadır [155, 156]. Bu test, birbirlerine bir geçit (9 cm genişliğinde dikey sürgülü kapı) aracılığıyla açılan biri aydınlık (26x30 cm) biri

karanlık (26x30 cm) olmak üzere iki farklı kompartman içeren bir aparat (52x30 cm) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir (**Şekil 3.7**). Aparatın tabanı 15 mm aralıklarla yerleştirilmiş paslanmaz çelik çubuklardan oluşmaktadır. Bu test üç aşamada gerçekleştirilmiştir: İlk aşamada aydınlık kompartmana sıçan konulduktan sonra kompartmanlar arasındaki geçit açılarak sıçanın aparatı serbestçe keşfetmesi beklendi. Sıçan karanlık kompartmana geçer geçmez aradaki geçit kapatılarak, sıçanın karanlık kompartmana geçene kadar geçirdiği süre kaydedildi ve sıçan karanlık kompartmandan kafesine alınarak ilk aşama sonlandırıldı. İlk aşamadan beş dakika sonra ikinci aşama gerçekleştirildi. Bu aşamada, ilk aşamadan farklı olarak sıçan karanlık kompartmana geçtiğinde tabandaki çubuklar aracılığıyla elektrik şoku (2 saniye süren, 50 Hz frekanslı, 1 mA amplitüdünde kare dalgalardan oluşan) verildi. Şokun ardından ikinci faz sonlandırıldı, sıçan kafesine götürüldü. İkinci aşamadan 24 saat sonra, hayvanın hafızasını test etmek için üçüncü aşama gerçekleştirildi. Bu aşamada aydınlık kompartmana bırakılan sıçanın karanlık kompartmana geçene kadar geçen süre kayıt altına alındı. Hayvanın 300 saniye içerisinde karanlık kompartmana geçmemesi durumunda bu aşama da sonlandırıldı.

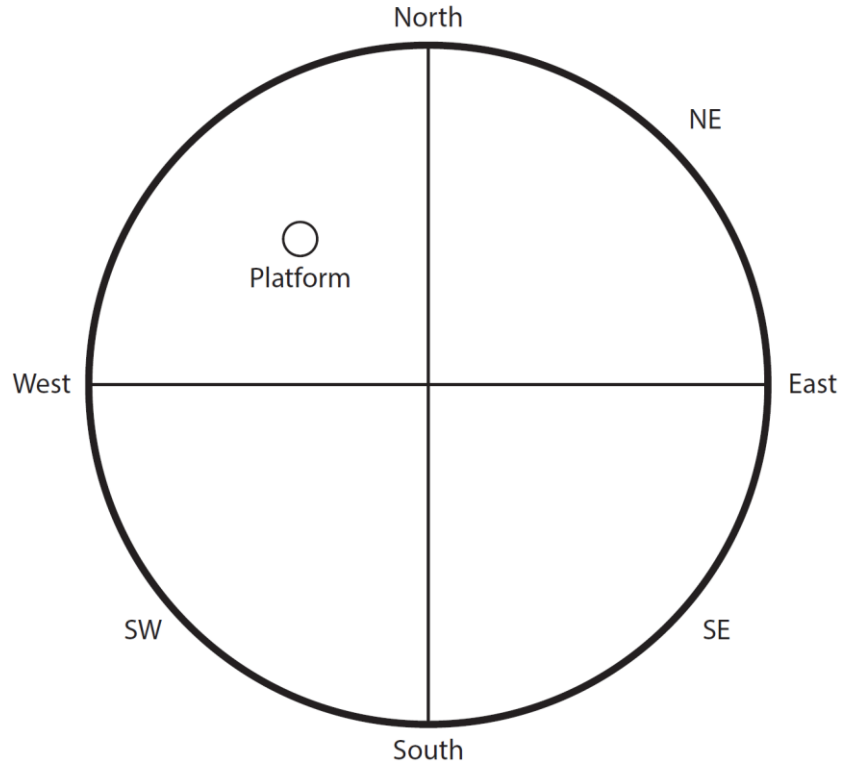


**Şekil 3.7.** Edilgen Kaçınma Testi.

### 3.5.6. Morris Su Labirenti

Morris su labirenti hipokampal öğrenme ve hafızanın altın standart davranışsal testi olarak kabul edilmektedir [157]. Aparat, 180 cm çapında ve 60 cm derinliğinde yarısına kadar 21°C sıcaklığında su ile dolu siyah bir havuzdan oluşmaktadır. Suyun 2 cm altında gizli bir platform yerleştirildi (**Şekil 3.8**). Ayrıca, havuzun etrafında sıçanların platformun uzaysal yerini öğrenebilmeleri için görsel

ipuçları bulunmaktadır. Bu test eğitim ve “probe” testi olmak üzere 2 asamadan oluşmaktadır. Eğitim aşamasında hayvanlar 5 gün boyunca günde dört defa havuzun farklı kadranslarından bırakıldı (**Tablo 3.2**). 2 dakika içinde platformu bulamayan hayvanlar elle platforma yönlendirildi. Bu aşamada hayvanların platformu bulma süreleri, platforma ulaşana kadar kat ettikleri yol, ortalama hızları ve hangi kadranda ne kadar zaman geçirdikleri gibi parametreler video takip sistemi ile kayıt altına alındı. Testin “probe” aşamasında suyun altındaki gizli platform kaldırıldı. Son eğitimden 24 saat sonra havuzun daha önce bırakılmadıkları bir kadransından suya bırakılan hayvanlar, 60 saniye boyunca otomatik takip sistemi ile takip edildi (**Tablo 3.2**). Bu testte de platformun eskiden bulunduğu kadranda geçirdikleri süreler ve aldıkları yollar kayıt altına alındı.



**Şekil 3.8** Morris su labirenti ve hayali kadransların şematik gösterimi.

**Tablo 3.2** Morris su labirenti protokolü

	Deney Günleri					
Denemeler	1	2	3	4	5	Probe
1	S	SW	NE	E	S	SE
2	E	S	SW	NE	SW	
3	SW	NE	E	S	E	
4	NE	E	S	SW	NE	

### 3.6. Protein düzeyi ölçümü

#### 3.6.1. Doku toplanması

Sıçanlar, intraperitoneal olarak verilen 1,4 g/kg üretan anestezi altında dekapite edilerek beyinleri hızla çıkarılıp soğutulmuş yapay beyin-omurilik sıvısı (BOS) içine konuldu. Beyin 1 dakika soğutulduktan sonra serebellum uzaklaştırıldı. Sonrasında orta hattan bir kesi yapılarak beyin hemisferleri ayrıldı. Hemisferlerden birinde diseksiyona devam edilirken diğeri tekrar soğutulmuş yapay BOS içine alındı. Hipokampüsü ortaya çıkarabilmek için frontal korteks bölgesi ve orta beyin uzaklaştırıldı. Son olarak hipokampus çevre dokudan ayrılarak izole edildi. Diğeri beyin hemisferi için de benzer şekilde izole edildikten sonra hipokampal dokular proteaz ve fosfataz inhibitör kokteyli içeren homojenizasyon solüsyonuna konuldu.

#### 3.6.2. Protein izolasyonu

Ticari olarak satın alınan plazma membran protein izolasyon kiti (ab65400, Abcam, İngiltere) kullanıldı. İzolasyon protokolü üreticinin belirlemiş olduğu adımlara uygun olarak uygulandı. Sıçanların beyninden çıkarılan hipokampal dokular, proteaz inhibitör kokteyli (ab65400 kiti içinde bulunan) ve fosfataz inhibitörü (PhosSTOP, Roche Diagnostics, Almanya) içeren homojenizasyon solüsyonuna konuldu. Sonrasında dokular yaklaşık 50 saniye boyunca sonikatör (Sonoplus mini 20, Bandelin, Almanya) ile homojenize edildi. Bu hipokampal homojenatlar, 700xg'de 10 dakika

boyunca, +4°C'de santrifüj edildi. Santrifüj sonunda pellet atıldı. Süpernatant, bundan sonraki deneylerde total protein olarak kullanıldı. İhtiyaç olan durumlarda, sitozolik ve membran proteinlerinin ayrıştırılması için örnekler 10.000xg'de 30 dakika boyunca +4°C'de santrifüj edildi. Üreticinin belirlemiş olduğu protokole göre süpernatant sitozolik protein fraksiyonu, pelet ise membran protein fraksiyonu olarak kabul edildi. Membran proteinlerini çözdürmek için Triton X-100 (Sigma-Aldrich) ile hazırlanan PBS (Sigma-Aldrich) solüsyonu kullanıldı. İzole edilen total, sitozolik ve membran proteinleri daha sonra kullanılmak üzere -80°C'de saklandı.

### **3.6.3. Protein konsantrasyon ölçümü**

Western blot deneylerinde kullanılmak üzere protein konsantrasyon ölçümü DC Protein Assay Kit (Biorad, ABD) kullanılarak yapıldı. Standart olarak sığır serum albümini (BSA) kullanıldı. Standartlar 0,2-1,4 mg/ml konsantrasyonları arasında hazırlandı. Üreticinin belirlediği protokole göre reagent A' için reagent A solüsyonundan 1 ml ve reagent S solüsyonunda 20 µl eklendi. Kalorimetrik ölçümde 96'luk kuyucuklar içeren bir plaka kullanıldı. Her kuyucuğa, örnek ve standartlardan 5 µl, reagent A' solüsyonunda 25 µl ve son olarak reagent B solüsyonundan 200 µl eklendi. Plaka 5 saniye karıştırıldıktan sonra 15 dakika beklendi. Son olarak, 96'luk kuyucuklar içeren plakadan 750 nm dalga boyunda absorbans ölçümü spektrofotometre (MultiScanGO, Thermo Fisher Scientific, ABD) ile yapıldı. Standartlara göre çizilen eğriden örneklerde bulunan protein konsantrasyonu hesaplandı.

### **3.6.4. Western blot**

Hazırlanan protein örnekleri 95°C'de 5 dakika denatüre edildi. Sığır hipokampusünden izole edilen proteinler 10µg/10µl konsantrasyonda %10'luk akrilamid jele (TGX Stain-Free FastCast Acrylamide Solution, Bio-rad, ABD) yüklendi. 90 V'ta 100 dakika boyunca elektroforez yapıldı. Jel yürütme tamamlandığında, PVDF membran metanol içinde ıslatıldı ve Western-blot transfer kaseti içine sırasıyla filtre kağıdı, proteinlerin yürüdüğü jel, PVDF membran ve filtre kağıdı yerleştirilerek transfer sandviç hazırlandı. Transfer işlemi 25 V'da 7 dakikada gerçekleştirildi. Transfer tankından çıkarılan membran 2 kez TBS-T ile yıkandı. TBS- T'de hazırlanan %5



yağsız süt tozu ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilerek bloklama işlemi gerçekleştirildi. Bloklamadan sonra membran TBS-T ile 2 defa çalkalandı. Daha önce 1:1000 dilüsyonda % 0,5 süt tozu veya BSA (Bovine Serum Albumin, Sigma-Aldrich) içeren TBS-T'de hazırlanan primer antikolar NMDAR2B ve NMDAR2A (Cell Signaling Technology), +4°C'de gece boyu yavaşça çalkalanarak membran ile inkübe edildi. Ardından da membran 2 kez çalkalama, 1 kez 15 dk ve 3 kez 5 dk TBS-T ile yıkandı. Dilüsyonu 1/50.000 olarak optimize edilmiş HRP-bağlı tavşan veya fare sekonder antikoları % 0,5 süt tozu içeren TBS-T içinde hazırlandı. Membran sekonder antikor solüsyonunda, oda sıcaklığında 1 saat yavaşça çalkalanarak inkübe edildi. Ardından membran 3 kez 10 dk TBS-T ile yıkandı. Daha sonra Immobilon kemülüminisans substrat (Millipore) ile inkübe edildi ve SynGene ChemiBox XRQ ile görüntülendi. Tüm analizlerde "housekeeping" protein olarak  $\beta$ -aktin kullanıldı. Analizde ImageJ yazılımı kullanılarak, veriler  $\beta$ -aktin ile normalize edilerek raporlandı.

### 3.6.5. ELISA

Yukarıda detaylı olarak anlatılan sıçanların hipokampuslarından elde edilen proteinlerin konsantrasyon ölçümüne göre üreticinin (Rel Assay Diagnostic, Türkiye) belirlemiş olduğu protokole uygun olarak süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri ölçülmüştür. Absorbans ölçümleri Multiskan GO spektrofotometresi (Thermo Fisher Scientific) ile 450 nm dalga boyunda yapılmıştır.

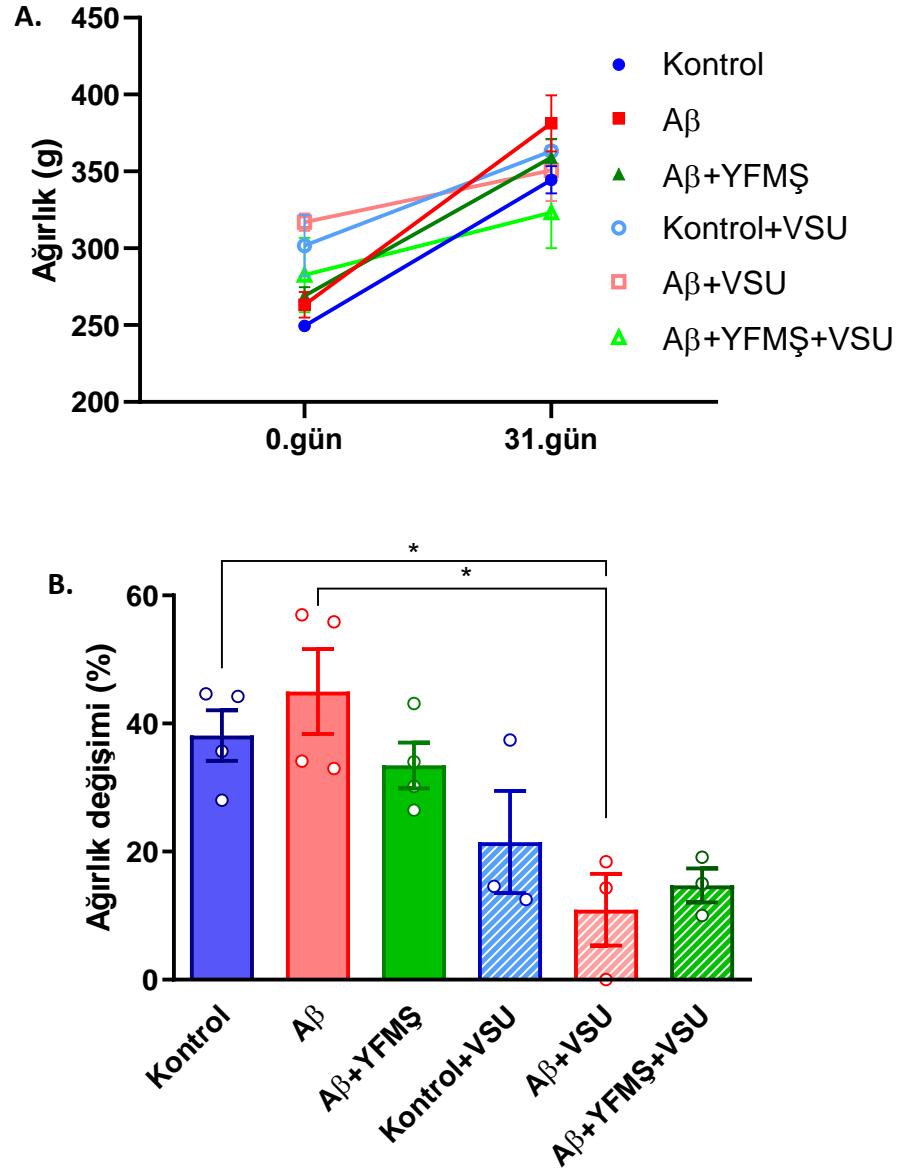
### 3.7. İstatistiksel analizler

İstatistiksel analizler GraphPad Prism (GraphPad Software, ABD) yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Bulgular aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak ifade edilmiştir. Verilerin istatistiksel analizi için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve *post hoc* test olarak *Tukey* testi kullanılmıştır. Yalnızca Morris su labirenti testinin öğrenme fazının analizinde tekrarlayan ölçümler için iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ve *post hoc* test olarak *Tukey* testi kullanılmıştır. Ayrıca, lokomotor aktivite ile NMDAR2B düzeyleri arasındaki ilişkilinin gösterilmesi için Pearson korelasyon katsayısı hesaplanmıştır. Hesaplanan p değerleri 0,05'den küçük olduğunda farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

##### 4.1. YFMŞ ve VSU'nun hayvanların ağırlık değişimi üzerine etkileri

Deneylerin başlangıcında ve bitiminde hayvan ağırlıklarında gruplar arasında bir fark bulunmamaktadır. Fakat, arada geçen süredeki ağırlık değişimi deney başlangıcındaki ağırlığa oranlığında A $\beta$  grubunda %45 $\pm$ 6,6 artış görülürken A $\beta$ +VSU grubunda bu artış %10,9 $\pm$ 5,6 'dur (ANOVA; F(5,15)=6,49; p=0,002) (**Şekil 4.1**).



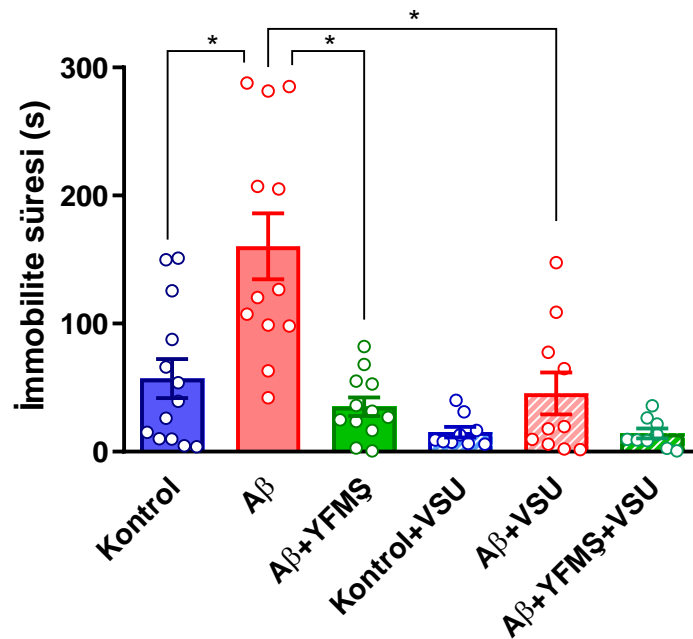
**Şekil 4.1.** Sıçanlarda zamana karşı ağırlık takibi. **A.** Grupların 0. ve 31. gün ağırlık ortalamaları gösterilmiştir. Gruplar arasında herhangi bir fark yoktur. **B.** Grupların

ağırlık değişimlerinin başlangıç ağırlıklarına oranı (%) olarak gösterilmiştir. A $\beta$  grubu, A $\beta$ +VSU'ya göre daha yüksek oranda artış göstermiştir (n=3-4/grup; \*p<0,05). Tek yönlü ANOVA sonrasında post hoc Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. YFMŞ, Yüksek fruktozlu mısır şurubu; VSU, Vagal sinir uyarımı

## 4.2. Davranış Deneyleri Bulguları

### 4.2.1. Porsolt Zorunlu Yüzme Testi

Porsolt zorunlu yüzme testi, sıçanların depresif duygudurumunun değerlendirilmesi için yapılmıştır. Sıçanların, 300 s boyunca immobil oldukları süreler kaydedilmiştir ve yüksek immobilité süresi depresif duygudurum ile ilişkilendirilmiştir. Test aşamasında, kontrol grubunun immobilité süresi 57,2 $\pm$ 15,2 s iken A $\beta$  grubunda bu süre 160,3 $\pm$ 25,7 s'ye yükselmiştir. A $\beta$ +YFMŞ grubunda ise 35,1 $\pm$ 7,2 s'ye düşmüştür. A $\beta$ +VSU grubunda da 45,5 $\pm$ 16,3 s'ye inmiştir (ANOVA; F (5, 59) = 12,6; p<0,0001) (Şekil 4.2).

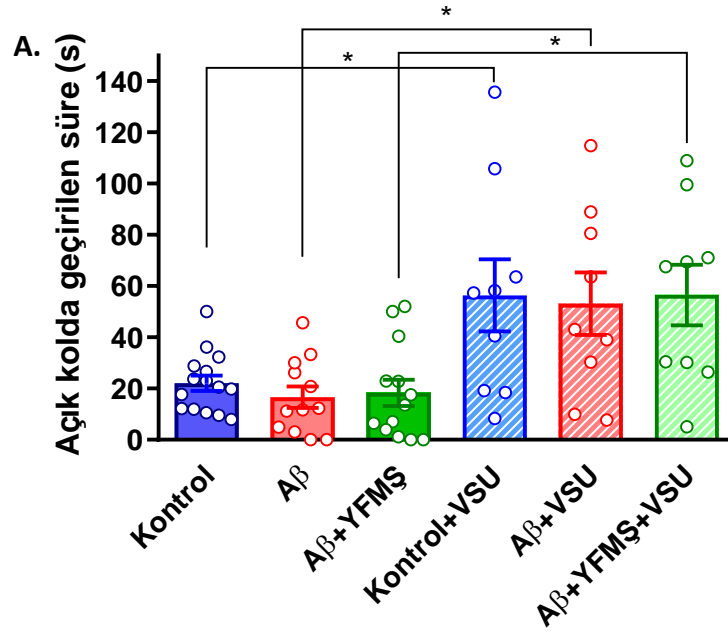


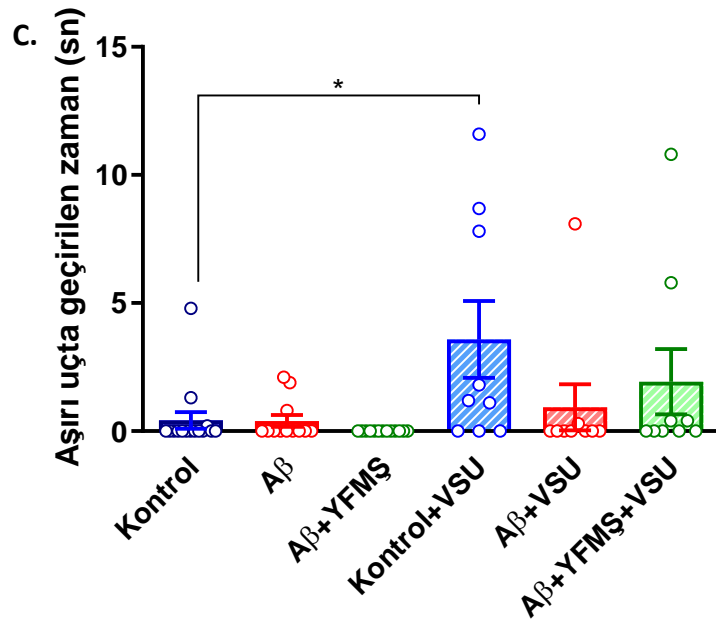
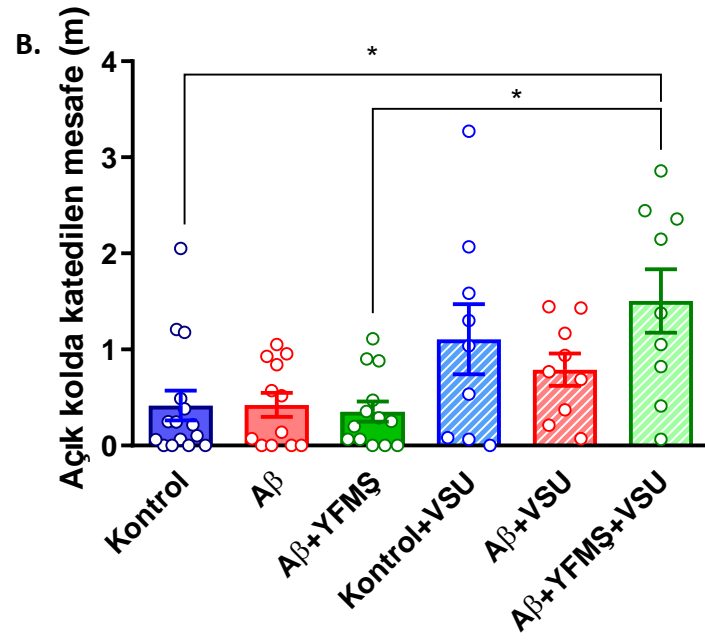
**Şekil 4.2.** Sıçanlarda Porsolt yüzme testinde immobilité süreleri. A $\beta$  grubunda immobilité süresi kontrol, A $\beta$ +YFMŞ ve A $\beta$ +VSU grubuna göre yüksektir (n=9-13/grup; \*p<0,05). Tek yönlü ANOVA sonrasında post hoc Tukey çoklu karşılaştırma testi

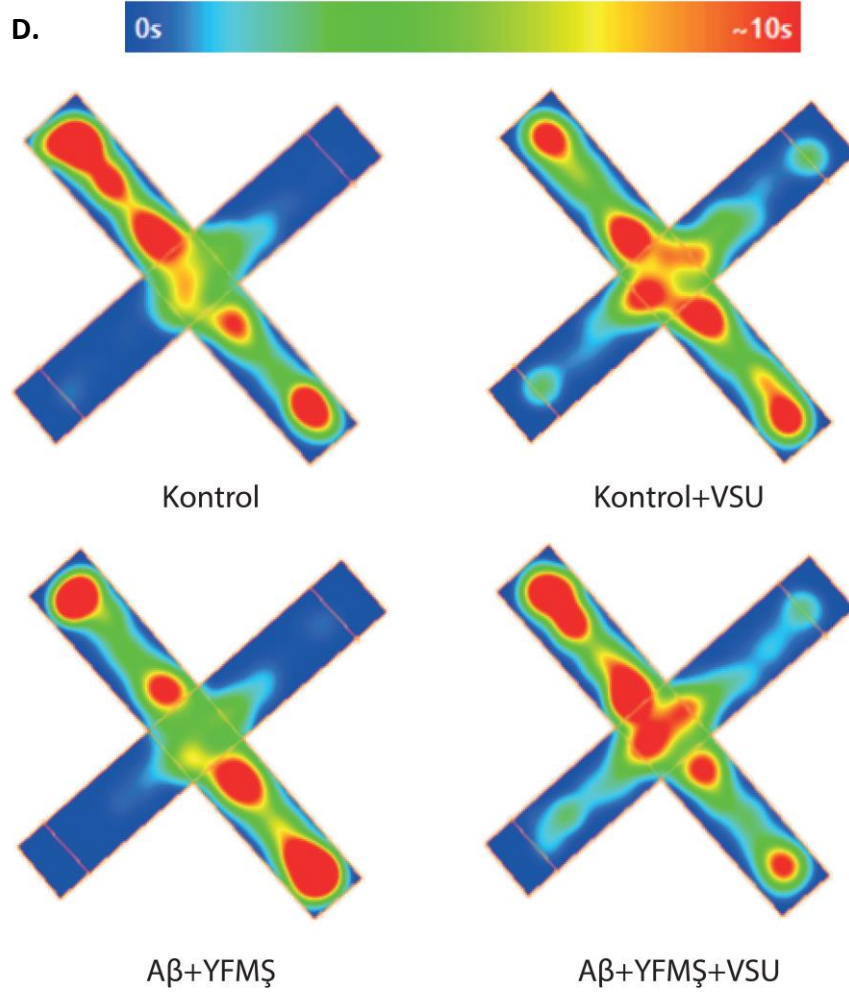
uygulanmıştır. YFMŞ, Yüksek fruktozlu mısır şurubu; VSU, Vagal sinir uyarımı

#### 4.2.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Yükseltilmiş artı labirent testi, sıçanların anksiyete durumlarının değerlendirilmesi için yapılmıştır. Açık kolda geçirilen süre kontrol grubunda  $22,1 \pm 3$  s iken kontrol+VSU grubunda  $56,3 \pm 14$  s'ye yükselmiştir. A $\beta$  grubunda ise  $16,6 \pm 4,2$  s iken A $\beta$ +VSU grubunda  $53,1 \pm 12,2$  s'ye çıkmıştır. Ayrıca, A $\beta$ +YFMŞ grubunda açık kolda geçirilen süre  $18,3 \pm 5,2$  s iken A $\beta$ +YFMŞ+VSU grubunda  $56,5 \pm 11,8$  s'ye yükselmiştir (ANOVA;  $F(5,61)=6,001$ ;  $p=0,0001$ ) (**Şekil 4.3A**). Açık kolda katedilen mesafe, A $\beta$ +YFMŞ+VSU grubunda ( $1,5 \pm 0,3$  m), A $\beta$ +YFMŞ grubuna ( $0,35 \pm 0,1$  m) göre artmıştır (ANOVA;  $F(5,61)=4,781$ ;  $p=0,0009$ ) (**Şekil 4.3B**). Ayrıca, kontrol+VSU grubu aşırı uçta geçirilen süre  $3,6 \pm 1,5$  s iken kontrol grubunda bu süre  $0,4 \pm 0,3$  s'dir (ANOVA;  $F(5,61)=3,004$ ;  $p=0,0173$ ) (**Şekil 4.3C**).



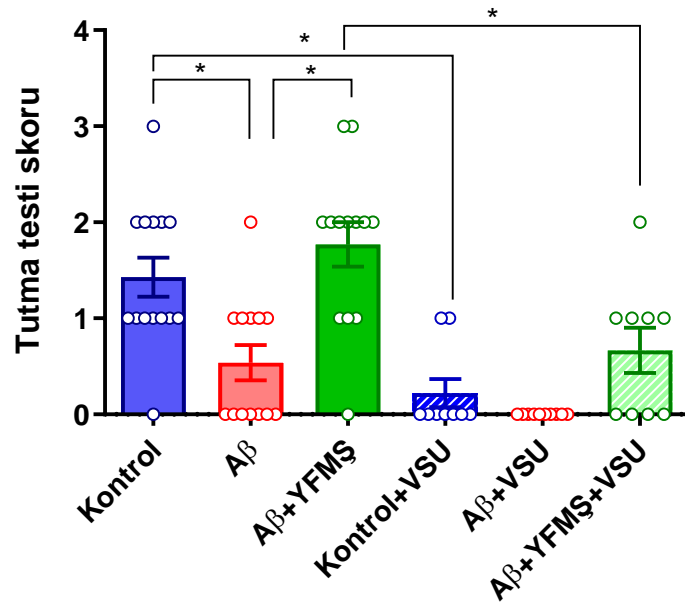




**Şekil 4.3.** Sıçanlarda yükseltilmiş artı testi sonuçları. **A.** VSU uygulaması, tüm gruplarda açık kolda geçirilen süreyi artırmıştır (n=9-15/grup; \*p<0,05). **B.** Açık kolda katedilen mesafe, Aβ+YFMŞ+VSU grubunda kontrol ve Aβ+YFMŞ grubuna göre artmıştır (n=9-15/grup; \*p<0,05). **C.** Aşırı uçta geçirilen zaman, kontrol+VSU grubunda, kontrol grubuna göre artmıştır (n=9-15; \*p<0,05). **D.** Kontrol, Kontrol+VSU, Aβ+YFMŞ ve Aβ+YFMŞ+VSU gruplarının ortalamalarına göre oluşturulan sıcaklık haritaları. Tek yönlü ANOVA sonrasında *post hoc* Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. YFMŞ, Yüksek fruktozlu mısır şurubu; VSU, Vagal sinir uyarımı

### 4.2.3. Tutma testi

Tutma testi, sıçanların agresyon durumlarını değerlendirmek için kullanılmıştır. Agresyonu fazla olan yüksek puan alacak şekilde oluşturulan skora sistemine göre A $\beta$  grubu  $0,5 \pm 0,2$  ortalama skora sahipken kontrol grubu  $1,4 \pm 0,2$  ortalama skora sahiptir. A $\beta$ +YFMŞ grubu  $1,8 \pm 0,2$  ortalama skor ile A $\beta$  grubuna göre daha yüksek skor almıştır. Kontrol+VSU grubu,  $0,2 \pm 0,1$  ortalama skor ile kontrol grubuna göre düşük skor almıştır. A $\beta$ +YFMŞ+VSU grubu ise  $0,7 \pm 0,2$  ortalama skor ile A $\beta$ +YFMŞ grubuna göre daha düşük skor almıştır (ANOVA;  $F(5,62)=13,09$ ;  $p<0,0001$ ) (Şekil 4.4).

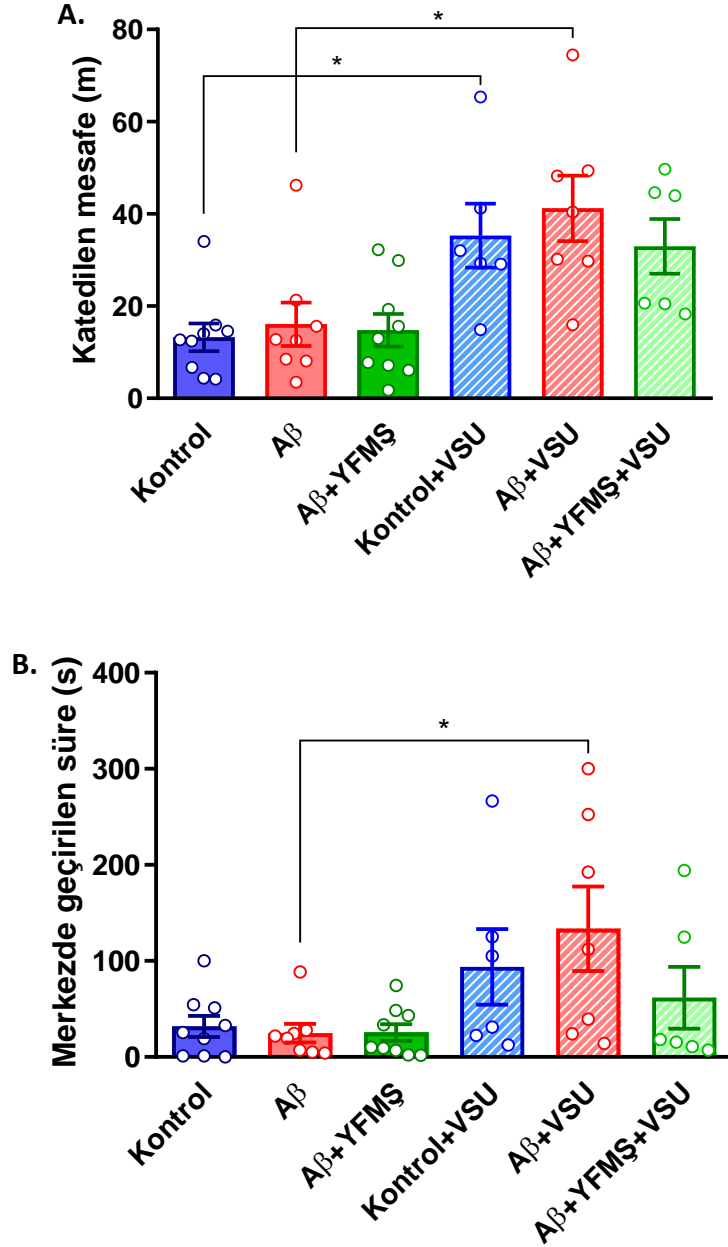


**Şekil 4.4.** Sıçanlarda tutma testi skorları.  $\beta$ -amiloid grubunun skoru, kontrol ve  $\beta$ -amiloid+YFMŞ grubuna göre daha düşüktür. Kontrol+VSU grubu, kontrol grubuna göre daha düşük skor almıştır.  $\beta$ -amiloid+YFMŞ+VSU grubu,  $\beta$ -amiloid+YFMŞ grubuna göre düşük skor almıştır. ( $n=9-14$ /grup;  $*p<0,05$ ). Tek yönlü ANOVA sonrasında post hoc Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. YFMŞ, Yüksek fruktozlu mısır şurubu; VSU, Vagal sinir uyarımı

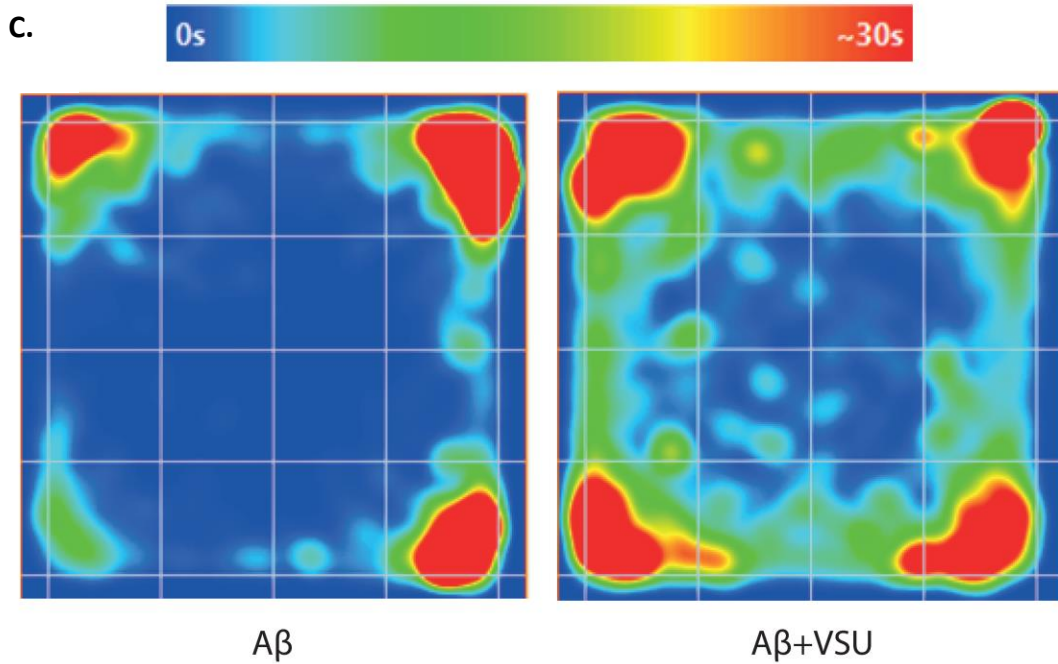
### 4.2.4. Açık Alan Arena Testi

Açık alan arena testi, sıçanların spontan lokomasyonlarını ve anksiyete

düzeylerini değerlendirmek için yapılmıştır. 60 dakika sonunda katedilen toplam mesafe kontrol grubunda  $13,2 \pm 3$  m iken kontrol+VSU grubunda  $35,3 \pm 6,9$  m'ye yükselmiştir. A $\beta$  grubunda ise  $16,1 \pm 4,7$  m iken A $\beta$ +VSU grubunda  $41,2 \pm 7,1$  m'ye yükselmiştir (ANOVA;  $F(5,39)=5,926$ ;  $p=0,0004$ ) (**Şekil 4.5A**). Merkezde geçirilen süre A $\beta$  grubunda  $24,8 \pm 9,7$  s iken A $\beta$ +VSU grubunda  $133,6 \pm 43,9$  s'ye yükselmiştir (ANOVA;  $F(5,39)=3,172$ ;  $p=0,0169$ ) (**Şekil 4.5B**).



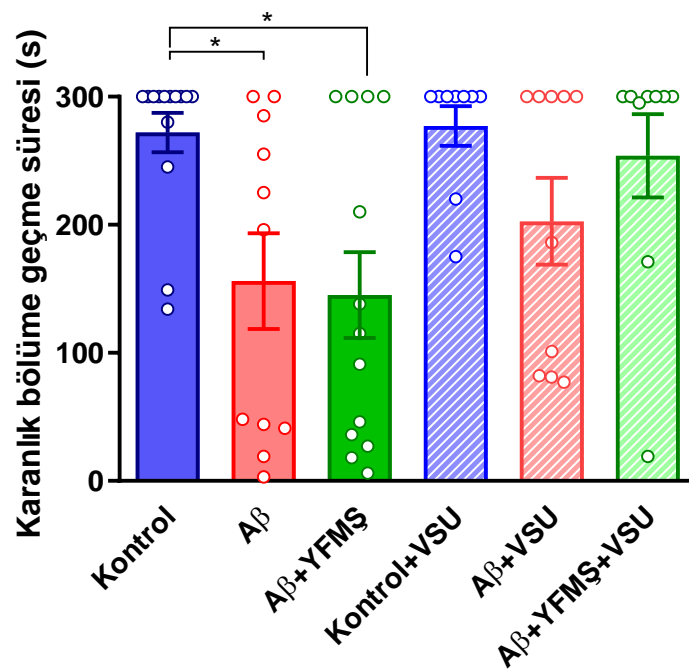




**Şekil 4.5.** Sıçanlarda açık alan arena testi sonuçları. **A.** Katedilen mesafe, kontrol+VSU grubunda kontrole göre ve Aβ+VSU grubunda Aβ grubuna göre artmıştır (n=6-9/grup; \*p<0,05). **B.** Merkezde geçirilen süre Aβ+VSU grubunda Aβ grubuna göre artmıştır (n=6-9/grup; \*p<0,5). **C.** Aβ ve Aβ+VSU gruplarının ortalamalarına göre oluşturulan sıcaklık haritaları. *Tek yönlü ANOVA sonrasında post hoc Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. YFMŞ, Yüksek fruktozlu mısır şurubu; VSU, Vagal sinir uyarımı*

#### 4.2.5. YFMŞ ve VSU'nun Edilgen Kaçınma Testi üzerine etkisi

Edilgen kaçınma testi, asosiyatif bellek performansının değerlendirilmesi için kullanılmıştır. Testin şok aşamasından 24 saat sonra yapılan test aşamasında Aβ ve Aβ+YFMŞ grubunda karanlık bölüme geçme süreleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır (ANOVA;  $F(5,60)=4,158$ ;  $p=0,0026$ ). Karanlık bölüme geçme süresi kontrol grubunda  $272\pm 15,3$  s iken Aβ grubunda  $156\pm 37,4$  s ve Aβ+YFMŞ grubunda  $145,2\pm 33,5$  s'dir. VSU uygulandığında ise karanlık bölüme geçme süresi, Aβ+VSU grubunda  $202,7\pm 33,9$  s'ye, Aβ+YFMŞ+VSU grubunda ise  $253,9\pm 32,6$  s'ye yükselmiştir fakat, istatistiksel anlamlılık bulunmamaktadır (**Şekil 4.6**).

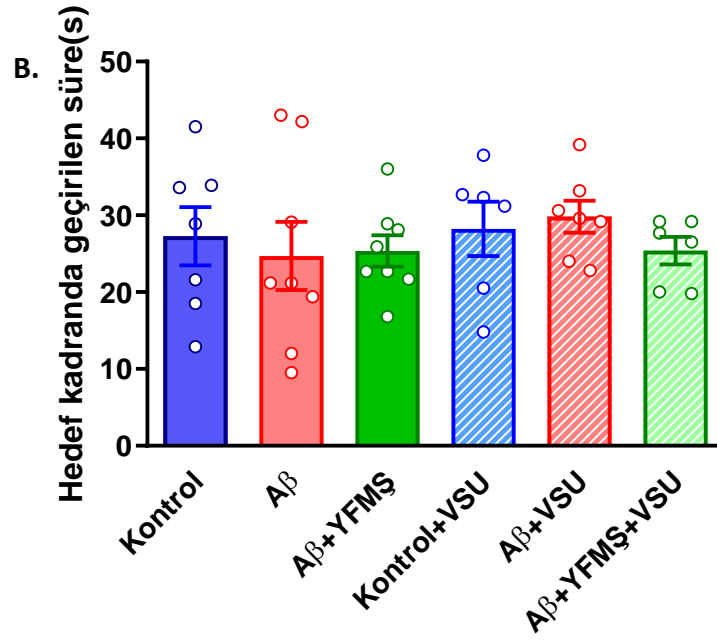
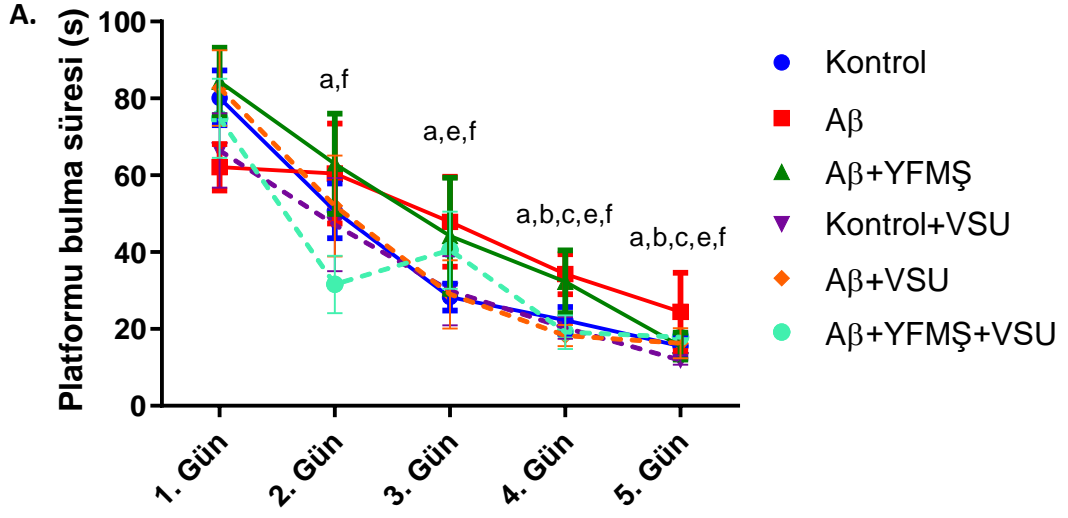


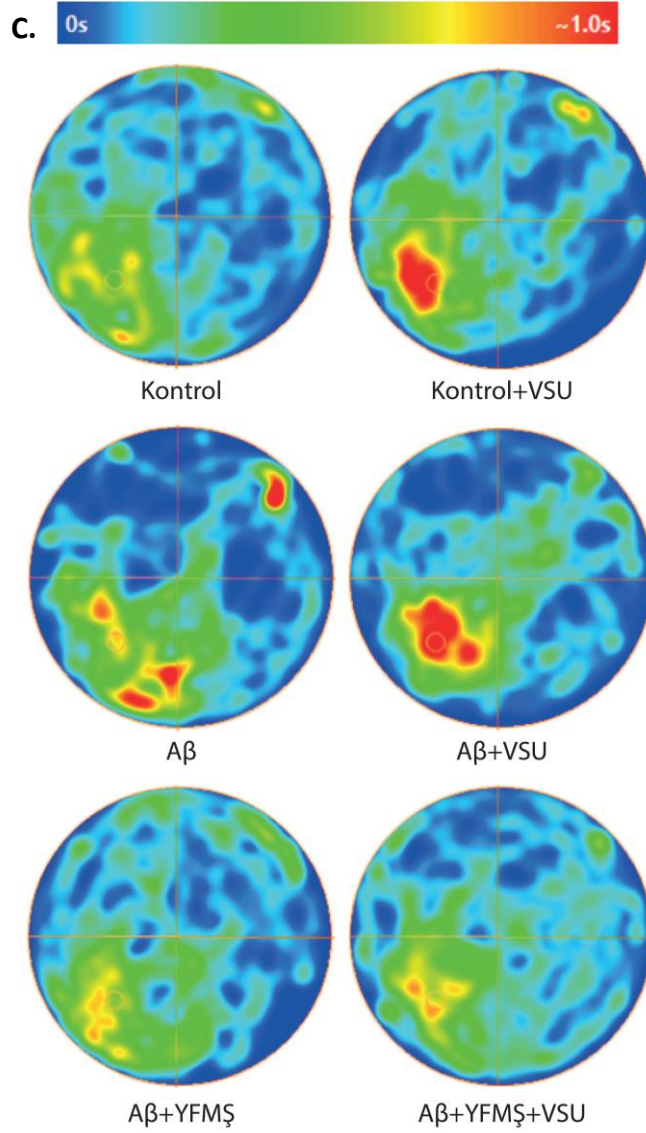
**Şekil 4.6.** Sıçanlarda edilgen kaçınma testinde karanlık bölüme geçme süreleri.  $\beta$ -amiloid ve  $\beta$ -amiloid+YFMŞ grubunda, kontrol grubuna göre azalmıştır (n=9-14/grup; \*p<0,05). Tek yönlü ANOVA sonrasında post hoc Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. YFMŞ, Yüksek fruktozlu mısır şurubu; VSU, Vagal sinir uyarımı

#### 4.2.6. Morris Su Labirenti Testi

Morris su labirenti testi, sıçanların uzaysal öğrenme-belleklerini değerlendirmek için yapılmıştır. 2 aşamadan oluşan bu testte 5 günlük öğrenme sürecinden sonra platform kaldırılarak 60 sn boyunca sıçanların hedef kadranda geçirdikleri süre takip edilmiştir ("Probe" aşaması). Ne öğrenme aşamasında ne de "probe" aşamasında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Fakat, öğrenme aşamasında performansın bir göstergesi olarak kabul edilen platformu bulma süresinin 1. güne göre anlamlı olarak azalması kontrol grubunda 2. günden itibaren görülmüştür. Bununla beraber, A $\beta$  ve A $\beta$ +YFMŞ gruplarında platformu bulma süresi 4. ve 5. günlerde, 1. güne göre anlamlı olarak azalmıştır. VSU uygulanan gruplardan A $\beta$ +VSU grubunda 3. günden, A $\beta$ +YFMŞ+VSU grubunda ise 2. günden itibaren platformu bulma süresi 1. güne göre anlamlı olarak azalmıştır (**Şekil 4.7A**). Probe aşamasında hedef kadranda geçirilen süre açısından gruplar arasında anlamlı

bir farklılık yoktur (Şekil 4.7B).



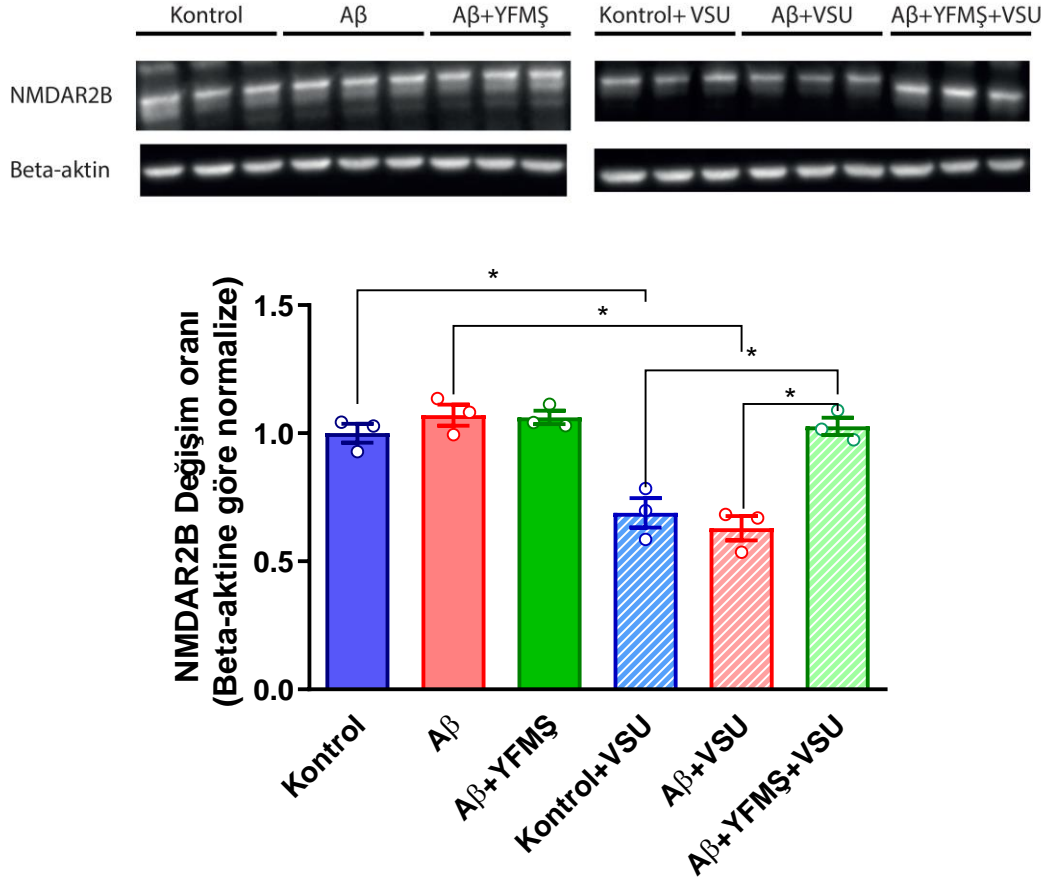


**Şekil 4.7** Sıçanlarda Morris su labirenti sonuçları. **A.** Öğrenme aşamasında gruplar arasında anlamlı fark yoktur. Fakat, platformu bulma süresi 1. güne göre kontrol ve A $\beta$ +YFMŞ+VSU grubunda 2. günden, A $\beta$ +VSU grubunda 3. günden, A $\beta$  ve A $\beta$ +YFMŞ gruplarında ise 4. günden itibaren anlamlı olarak azalmıştır (n=6-8/grup; a, kontrol grubunda 1. güne göre p<0,05; b, A $\beta$  grubunda 1. güne göre p<0,05; c, A $\beta$ +YFMŞ grubunda 1. güne göre p<0,05; e, A $\beta$ +VSU grubunda 1. güne göre p<0,05; f, A $\beta$ +YFMŞ+VSU grubunda 1. güne göre p<0,05). **B.** Probe aşamasında hedef kadranda geçirilen zaman açısından gruplar arasında fark görülmemiştir. **C.** Probe aşamasında grup ortalamalarına göre oluşturulan sıcaklık haritalarında özellikle Kontrol+VSU ve A $\beta$ +VSU gruplarında platform çevresindeki artış dikkat çekicidir.

### 4.3. Protein düzeylerinin değerlendirilmesi

#### 4.3.1. NMDA reseptörü 2B alt tipi düzeyi

Glutamat reseptörü NMDA'nın 2B alt tipi, öğrenme ve nöroplastisite açısından önemlidir [158]. Hipokampal dokulardan izole edilen proteinlerde ölçülen NMDAR2B düzeyi, Kontrol+VSU grubunda kontrol grubuna göre %32 ve A $\beta$ +VSU grubunda A $\beta$  grubuna göre %38 oranında anlamlı olarak azalmıştır. Bununla beraber, NMDAR2B düzeyi A $\beta$ +YFMŞ+VSU grubunda kontrol+VSU ve A $\beta$ +VSU grubuna göre sırasıyla yaklaşık %32 ve %38 oranında anlamlı olarak artmıştır (ANOVA; F (5, 12) = 22,79; p<0,0001) (Şekil 4.8).

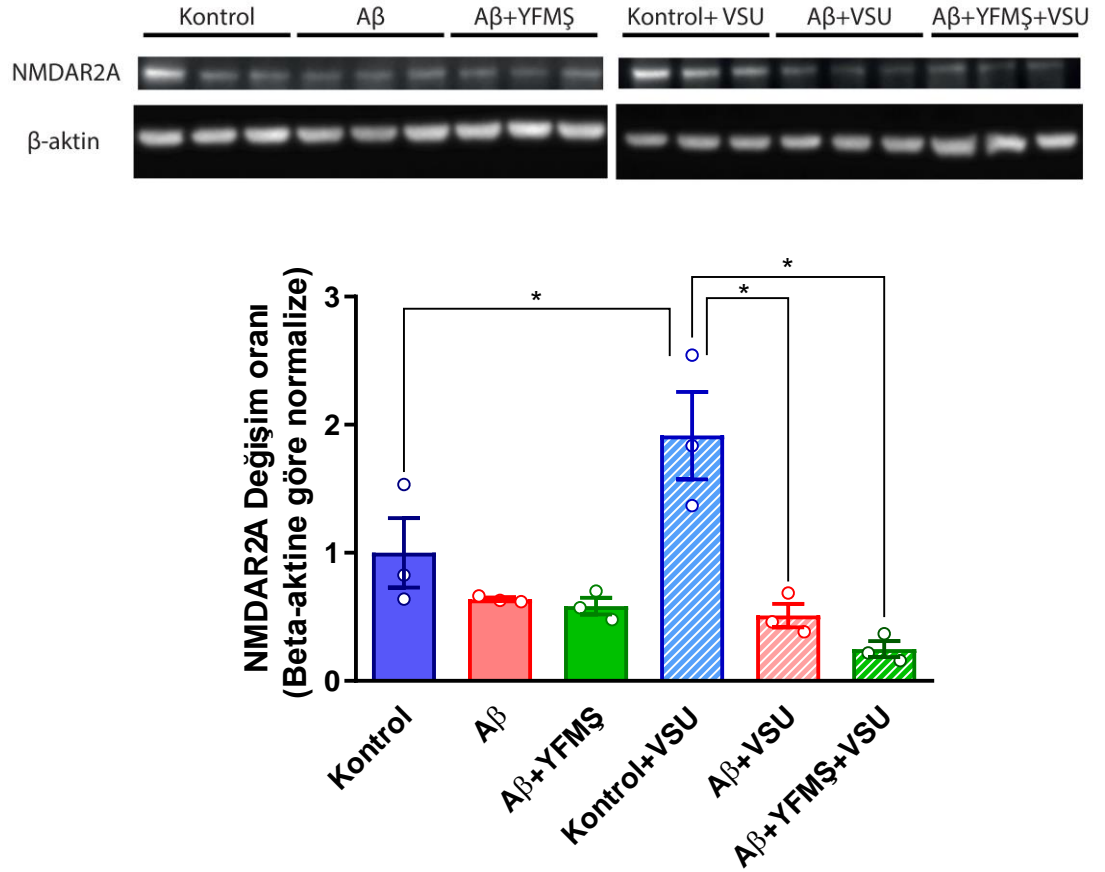


**Şekil 4.8.** Sıçanlarda hipokampal NMDAR2B düzeyleri. Kontrol+VSU grubunda, NMDAR2B düzeyi kontrol ve A $\beta$ +YFMŞ+VSU grubuna göre daha düşüktür. A $\beta$ +VSU grubunda, NMDAR2B düzeyi A $\beta$  ve A $\beta$ +YFMŞ+VSU grubuna göre daha düşük bulunmuştur (n=3/grup; \*p<0,05). Tek yönlü ANOVA sonrasında post hoc Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. YFMŞ, Yüksek fruktozlu mısır şurubu; VSU, Vagal

sinir uyarımı

#### 4.3.2. NMDA Reseptörü 2A alt tipi düzeyi

Hipokampüste, NMDAR2'nin ekspresyon düzeyi en yüksek olan A alt tipi öğrenme bellek fonksiyonları açısından oldukça önemlidir [159]. Hipokampal dokulardan izole edilen proteinlerde ölçülen NMDAR2A düzeyi, Kontrol+VSU grubunda kontrol grubuna göre %91 oranında anlamlı olarak artmıştır. A $\beta$  (%37) ve A $\beta$ +YFMŞ (%42) gruplarında kontrole göre NMDAR2A düzeyinde azalma trendi olmasına rağmen anlamlı bir fark bulunmamaktadır. A $\beta$ +VSU ve A $\beta$ +YFMŞ+VSU gruplarında NMDAR2A düzeyi kontrol+VSU grubuna göre sırasıyla %73 ve %87 oranında anlamlı olarak azalmıştır (ANOVA; F (5, 12) = 10,10; p=0,0006) (**Şekil 4.9**).

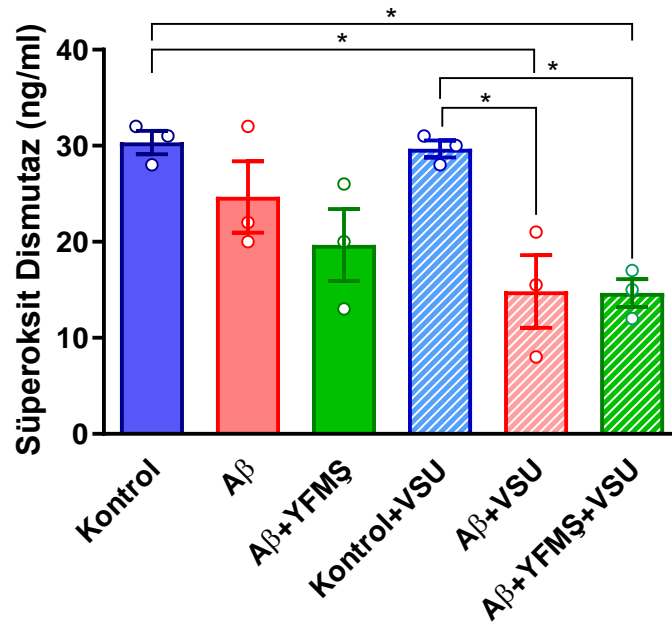


**Şekil 4.9.** Sıçanlarda hipokampal NMDAR2A düzeyleri. Kontrol+VSU grubunda kontrol grubuna göre artmıştır. A $\beta$ +VSU ve A $\beta$ +YFMŞ+VSU grubunda NMDAR2A düzeyleri, kontrol+VSU grubuna göre daha düşük bulunmuştur (n=3/grup; \*p<0,05). Tek yönlü ANOVA sonrasında post hoc Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. YFMŞ,

*Yüksek fruktozlu mısır şurubu; VSU, Vagal sinir uyarımı*

#### 4.3.3. Süperoksit dismutaz (SOD) düzeyi ölçümü

Süperoksit dismutaz (SOD),  $H_2O_2$  ve süperoksitlerin süpürülmesinde rol alan bir antioksidan enzimdir [160].  $A\beta$ +VSU ( $14,8\pm 3,8$  ng/ml) ve  $A\beta$ +YFMŞ+VSU ( $14,7\pm 1,5$  ng/ml) gruplarında SOD miktarı, kontrol+VSU ( $29,4\pm 0,9$  ng/ml) ve kontrol ( $30,3\pm 1,2$  ng/ml) grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır (ANOVA;  $F(5, 12) = 6,343$ ;  $p=0,0042$ ) (Şekil 4.10).



**Şekil 4.10** Sıçanlarda hipokampal SOD miktarları.  $A\beta$ +VSU ve  $A\beta$ +YFMŞ+VSU gruplarında kontrol ve kontrol+VSU gruplarına göre azalmıştır ( $n=3$ /grup;  $*p<0,05$ ). Tek yönlü ANOVA sonrasında post hoc Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. YFMŞ, Yüksek fruktozlu mısır şurubu; VSU, Vagal sinir uyarımı

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Alzheimer hastalığında Nöropsikiyatrik Semptomlar (NPS)

Alzheimer hastalığında (AH) görülen nöropsikiyatrik semptomların (NPS) incelenmesine yönelik kabul gören bir hayvan modeli bulunmamaktadır. AH'deki öğrenme bellek bozuklarının araştırılması için geliştirilen her model hastalığın patofizyolojisinin belirli kısımlarını içermektedir. Bu çalışmamızda, Alzheimer hastalığında kognitif bozukların modellenmesinde sıklıkla kullanılan  $A\beta_{1-42}$  enjeksiyonu modeli kullanılmıştır. Tek doz  $A\beta_{1-42}$  enjeksiyonu sonrasında 21. günde asetilkolin estera (AChE) aktivitesinde ve oksidatif stres belirteçlerinde artma gösterilmiştir [161]. Ayrıca önceki çalışmamızda, 21 günlük YFMŞ tüketiminin sıçanlarda duygudurum değişikliklerine neden olduğu gösterilmiştir. On dört günlük VSU uygulamasının nörotransmitter düzeylerine etkili olduğu görülmüştür [162]. Bu nedenlerle bu tez çalışmasında, YFMŞ tüketimi ve VSU'nun NPS'ler üzerine etkilerinin daha iyi değerlendirilebilmesi için sıçanlara  $A\beta_{1-42}$  intraserebrovasküler (icv) enjeksiyonu yapıldıktan 21 gün sonra davranışsal değerlendirmeler yapılmıştır.

Alzheimer hastalığında apatiden sonra en sık görülen nöropsikiyatrik semptom depresyondur (%42) [56, 163]. Hatta depresyonun AH'nin erken aşama bulgusu olduğuna dair kanıtlar da bulunmaktadır [164]. Sıçanlarda, tek doz  $A\beta_{1-42}$  icv enjeksiyonundan sonra depresyon benzeri davranış değişikliği geliştiği ve prefrontal kortekste serotonin (5-HT) miktarının, BDNF ve NGF ekspresyonunun azaldığı bulunmuştur [61, 165]. Ayrıca, sıçanların beyin sağ lateral ventrikülüne  $A\beta_{1-42}$  enjeksiyonundan sonra gelişen depresyon benzeri duygudurum değişikliği ile beraber prefrontal kortekste azalan 5-HT düzeyinin, COX-2 selektif nonsteroidal anti-inflamatuvar bir ilaç olan selekoksib ile geri döndürüldüğü gösterilmiştir [166]. Bu çalışmamızda da tek doz  $A\beta_{1-42}$  icv enjeksiyonundan sonra yapılan zorunlu yüzme testinde depresyon benzeri davranış değişiklikleri görülmüştür.  $A\beta$  direkt olarak pro-BDNF'in BDNF'e proteolitik dönüşümünü inhibe ederek miktarını azaltır [167]. Bu çalışmamızda,  $A\beta$  enjeksiyonu sonrasında görülen depresyon benzeri davranış değişikliği hipokampüste BDNF düzeyinin azalması ile ilişkili olabilir.



Anksiyete, AH'nin erken evrelerinde sık görülen nöropsikiyatrik semptomlardan biridir [168]. Alzheimer hastalığının genetik modellerinden *Presenilin-1* geni mutasyona uğratılmış TgF344-AD sıçanlarda amiloid plak birikiminin henüz minimal olduğu 4-6 aylık dönemde yükseltilmiş artı labirent testinde, anksiyetenin arttığı görülmüştür [169]. Benzeri bir çalışmada, farelere Amiloid  $\beta$ 'nin 25-35 fragmanının tek doz icv enjeksiyonundan 5 gün sonra yapılan yükseltilmiş artı labirent testinde  $A\beta_{25-35}$  enjeksiyonu yapılan farelerin anksiyete artışı gösterdikleri bulunmuştur [170]. Bir başka çalışmada,  $A\beta_{25-35}$  enjeksiyonunun anksiyete artışı davranışlara neden olmasının altında hipotalamus-hipofiz-adrenal aks disregülasyonu olduğu gösterilmiştir [171]. Ayrıca,  $A\beta_{25-35}$  enjeksiyonunun anksiyete artışı ile birlikte glukokortikoid reseptör (GR) miktarını azalttığı gösterilmiştir [172]. Diğer yandan, AH'de en fazla biriken ve hastalık modellerinde en çok kullanılan  $A\beta$ 'nin 1-42 fragmanının tek doz icv enjeksiyonu ile anksiyete benzeri davranışlar gösterilememiştir [61]. Bu çalışmamızda da tek doz  $A\beta_{1-42}$  icv enjeksiyonundan 21 gün sonra yapılan değerlendirmede anksiyete benzeri davranışlar görülmemiştir.  $A\beta$ 'nin 25-35 fragmanı kullanıldığında anksiyete benzeri davranışlar görülmesine rağmen,  $A\beta$ 'nin 1-42 fragmanı kullanılan çalışmalarda anksiyete benzeri davranışlar görülmemiştir. Bu bulgular, anksiyete gelişiminde  $A\beta$  fragmanı tipinin rolü olabileceğini düşündürmektedir.  $A\beta$ 'nin 25-35 fragmanı,  $A\beta$ 'nin nörotoksitesinden sorumlu temel peptiddir [173, 174]. Bununla beraber,  $A\beta$ 'nin 25-35 fragmanının nöronal hasar oluşturmada daha potent olduğundan  $A\beta$ 'nin 1-42 fragmanının anksiyete benzeri davranışlar geliştirmesinde daha uzun süreler gerekli olabileceğini düşündürmektedir.

Agresyon, AH'ye bağlı görülen nöropsikiyatrik semptomlar arasında hayat kalitesini olumsuz etkileyen ve evde bakımı imkansız hale getiren semptomlardan biridir [175]. Kemirgenlerde, Alzheimer hastalığı modellerinde gelişen agresyonun düzeyini araştıran çok az sayıda çalışma vardır. Sekiguchi v.d. (2011), ddY farelere  $A\beta_{1-42}$  icv enjeksiyonundan 28 gün sonra yapılan sosyal interaksiyon testinde agresyon düzeyinin arttığını tespit etmiştir [176]. Diğer taraftan, *Nucleus basalis magnocellularis*'in elektriksel olarak hasarlanması ile oluşturulan Alzheimer hastalığı

modelinde Popovic v.d. (1997), agresyon skorunun azaldığını göstermiştir [177]. Çalışmamızda Wistar sıçanlara, tek doz  $A\beta_{1-42}$  icv enjeksiyonundan 21 gün sonra yapılan tutma testinde agresyon skorunun belirgin olarak azaldığı tespit edilmiştir. Sekiguchi v.d. çalışmasında AH'ye bağlı artan agresyonun gösterilmesinde ddY fareler kullanılmışken bizim çalışmamızda Wistar sıçan kullanılmıştır. Tür farklılığı, kafeste barındırılan hayvan sayısı, yaş ve hayvanı tutma sıklığı agresyon skorunu etkiler [178]. Bu nedenle, AH modelinde agresyonun değerlendirilmesinde literatürde farklı sonuçlar bulunmaktadır. Bununla beraber, hipotalamusun ventromedial çekirdeğinin ventrolateral kısmı inaktive edildiğinde agresif davranışların azaldığı gözlenmiştir [179]. Sıçanlarda, lateral ventriküllere radyoligand işaretli insülin enjekte edildiğinde 30 dakika sonra hipotalamusta ventromedial çekirdeklerde radyoaktivite tespit edilmiştir [180]. Buna göre, lateral ventriküllere enjekte edilen  $A\beta$ 'nin bu yolu kullanarak hipotalamustaki ventromedial çekirdeklerin ventrolateral kısımlarını etkilediği ve böylece agresyon skorunun azalmasına neden olduğu düşünülebilir.

Alzheimer hastalığı tanısı almış 734 kişi ile yapılan bir çalışmada depresyon prevalansı %47,9, apati prevalansı ise %41,6 olarak bulunmuştur. Apati-depresyon birlikteliği %32,4, yalnız apati %9,4, yalnız depresyon ise hastaların %15,4'ünde görülmüştür [181]. Buna göre, depresyon-apati sıklıkla birlikte görülmektedir.

Bu çalışmada tek doz  $A\beta_{1-42}$  icv enjeksiyonu yapılan sıçanlarda açık alan arena testinde lokomotor aktivite açısından farklılık görülmemiştir. Benzer olarak sıçanların bilateral entorinal korteksine  $A\beta_{1-42}$  enjeksiyonu sonrasında açık alan arena testinde katedilen mesafe ve merkezde geçirilen sürelerde bir farklılık tespit edilmemiştir [182]. Sigurdsson v.d. (1997) yaptığı çalışmada da amigdalaya  $A\beta_{25-35}$  enjeksiyonu sonrasında açık alan arena testinde lokomotor aktivitede herhangi bir fark bulunmamıştır [183]. Schneider v.d. (2014) yaptığı çalışmada AH transgenik modeli 5xFAD farelerde 3. ve 6. ay değerlendirmelerinde açık alan arena testinde herhangi bir fark görülmemiş ancak, 9. ayda katedilen mesafe kontrol grubuna göre azalmıştır [184]. Literatürde AH ile ilgili yapılan çalışmalarda, Schneider v.d. çalışması haricinde lokomotor aktivite değişikliği saptanamamıştır. Bunun yanında, Alzheimer hastalığında en sık görülen NPS olan apati, motivasyon düşüklüğü, akinezi (istemli

olarak hareket etmeme) ve duygusal kayıtsızlık ile karakterizedir [185]. Fakat, hiçbir AH modeli insanlardaki akineziye denk olduğu düşünölen lokomotor aktivite açısından farklılık göstermemiştir. Buna göre apatinin en önemli bileşeni olan akinezinin AH hastalığı modellerinde gösterilebilmesi için yeni hastalık modelleri veya yeni metodlar geliştirilmelidir.

Alzheimer hastalığı gibi nörokognitif bozukluklarla seyreden hastalıklarda, hayvan modellerinin validasyonu için öğrenme-bellek performansının değerlendirildiğı testler oldukça önemlidir [186]. AH hayvan modelleri, Alzheimer hastalığı olan insanlarda görölen bazı kognitif bozuklukları (referans bellek, kısa süreli bellek gibi) modellemede başarılı iken dikkat, konuşma güçlükleri ve episodik bellek gibi fonksiyonları modellemede başarısızdır [145]. Örneğın, 20 gün boyunca devamlı A $\beta$ <sub>1-42</sub> infüzyonu yapılan sıçanlarda Morris su labirenti testinde uzaysal hafızanın belirgin olarak bozulduğı fakat, edilgen kaçınma testinde anlamlı bir farklılık olmadığı gösterilmiştir [187, 188]. Bu çalışmamızda ise tek doz A $\beta$ <sub>1-42</sub> enjeksiyonundan 21 gün sonra Morris su labirenti testi sonuçlarında fark görülmezken, edilgen kaçınma testinde bellek performansı bozulmuştur. Bu tez çalışmasında, AH'de erken dönemde görölen NPS'lerin araştırılması hedeflendiğinden tek doz A $\beta$  enjeksiyonu yapılmış ve 21 günlük bekleme sürecine rağmen edilgen kaçınma testinde bellek bozukluğu olduğu gösterilmiştir.

AH'de görölen NPS'lerin mekanizmalarının araştırıldığı Ham v.d. (2018) çalışmasında, *PSEN* "knockout" AH modeli hayvanlarda yapılan mikroarray çalışmasının sonuçları depresyon, bipolar ve şizofreni hastalık modellerinde yapılan mikroarray çalışmalarının sonuçları ile değerlendirilmiştir. AH'de değışiklik gösteren genlerin şizofreni hastalığında da etkili olduğu görölmüştür. AH ve şizofrenide hipokampüste ortak olarak değışiklik gösteren *Arc* ve *STX3* gibi genlerin sinaptik disfonksiyon ile ilişkili olduğu ve NPS'lerin mekanizmasında sinaptik disfonksiyonların önemli olabileceğı vurgulanmıştır [189]. Hipokampüste *Arc* proteininin azalmasının NMDA reseptörlerinde hipofonksiyona neden olduğu gösterilmiştir [190].

Alzheimer hastalığının erken dönemlerinde nöronal kayıp olmaksızın sinaptik değışiklikler olduğu [191] ve A $\beta$ 'nın NMDA reseptörleri üzerinden glutamat

homeostazisini etkilediği gösterilmiştir [192]. NMDAR2A ve NMDAR2B, hipokampüste yoğun olarak bulunan NMDA reseptör alt tipleridir. NMDAR2A ve NMDAR2B uzun dönemli depresyon (LTD) ve uzun dönemli potansiyelizasyondan (LTP) sorumludur [193]. Bu çalışmamızda, A $\beta$  enjeksiyonundan 31 gün sonra hipokampüste NMDAR2B düzeyinde değişiklik olmadığı ve NMDAR2A düzeyinde azalma trendi görülmüştür. AH'nin transgenik modellerinden biri olan APP/PS1 farelerde de hipokampal NMDAR2B düzeyinin değişmediği fakat p-NMDAR2B/NMDAR2B oranının 2,5 kat arttığı gösterilmiştir [194]. Tersine Wang v.d. (2018), sağ lateral ventriküle A $\beta_{25-35}$  enjeksiyonu sonrasında hipokampal NMDAR2B düzeyinde belirgin düşüş olduğunu göstermiştir [195]. Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada da A $\beta_{1-42}$  enjeksiyonundan 16 gün sonra hipokampüste hem NMDAR2B hem de NMDAR2A düzeylerinin düştüğü gösterilmiştir [196]. Bununla beraber, NMDAR2A ve NMDAR2B mRNA düzeylerinin zamana karşı değişimlerinin incelendiği bir başka çalışmada, A $\beta_{1-42}$  enjeksiyonundan 8 ve 15 gün sonra yapılan değerlendirmelerde hem NMDAR2A hem de NMDAR2B mRNA düzeylerinin arttığı fakat 30. günde bu değişimin ortadan kalktığı gösterilmiştir [197]. A $\beta$  enjeksiyonunun NMDA düzeyleri üzerine etkileri erken dönemde daha belirginken, 30 gün sonrasında özellikle NMDAR2B üzerindeki etkilerin ortadan kalktığı düşünülmektedir.

Alzheimer hastalığında reaktif oksijen radikallerinin arttığı uzun zamandır bilinmektedir [198]. Süper oksit radikallerini daha az toksik bir tür olan hidrojen peroksite dönüştüren antioksidan enzimlerden en önemlisi süperoksit dismutazdır (SOD) [199]. SOD aktivitesinde azalmanın başta AH olmak üzere nörodejeneratif hastalıklara neden olduğu gösterilmiştir [200]. Bu çalışmamızda da A $\beta_{1-42}$  enjekte edilen tüm gruplarda SOD düzeylerinde düşüş trendi olduğu görülmüştür. A $\beta$ 'nin direkt olarak SOD üzerine bağlanabildiği ve SOD inhibisyonu yaptığı gösterilmiştir ( $K_d=12,13$  ve  $K_i=11,72\mu\text{M}$ ) [201]. A $\beta$  verilen tüm gruplarda SOD düzeylerindeki düşüş, A $\beta$ 'nin direkt SOD inhibisyonu yapması ile açıklanabilir.

## 5.2. Fruktöz Tüketiminin Alzheimer Hastalığındaki Nöropsikiyatrik Semptomlara Etkileri

Yüksek fruktozlu mısır şurubu (YFMŞ) tüketimi, 1970-1990 yılları arasında 10 kat artmıştır [202]. Günümüzde özellikle paketli gıdalarda kullanılan tatlandırıcıların %40'ı YFMŞ'dir [203]. YFMŞ tüketiminin uzun dönemli etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 24 hafta boyunca takip edilen sıçanların ağırlıklarında ilk 3 hafta herhangi bir fark gözlenmezken, 3.-24. haftalar arasında YFMŞ-55 tüketenlerde ağırlık artışı tespit edilmiştir [204]. Adölesan sıçanlarda YFMŞ tüketiminin etkilerini incelediğimiz önceki çalışmamızda ise 17-28. günler arasında kontrol grubunun ortalama ağırlığının YFMŞ-55 tüketen gruptan daha fazla olduğunu göstermiştik [123].

Alzheimer hastalığında YFMŞ tüketiminin ağırlık artışı üzerine etkileri bilinmemektedir. Meakin v.d. (2018) yaptığı çalışmada,  $\beta$ -sekretaz enziminin geni olan *Bace1*'in "knockout" edildiği farelerin leptine daha duyarlı olduğu ve diyet ile indüklenen obeziteye dirençli olduğu gösterilmiştir [205]. Bununla beraber, Tamagno v.d. (2006) yaptığı çalışmada fibriller  $A\beta_{1-42}$ 'nin BACE 1 protein düzeyini artırdığı gösterilmiştir [206]. Buna göre, AH'de BACE1 protein düzeyinin artarak leptine direnç gelişeceği düşünülerek, AH modelinde YFMŞ tüketiminin ağırlık artışı üzerine etkileri incelenmiştir. Fakat, YFMŞ tüketiminin AH modeli sıçanlarda ağırlık değişimi üzerine etkisi görülmemiştir. Bu çalışmamız, AH modelinde YFMŞ-42 tüketiminin sıçanlarda ağırlık değişimi üzerinde etkisinin olmadığını gösteren ilk çalışmadır.

YFMŞ tüketiminin, Alzheimer hastalığında görülen NPS'lerden biri olan depresyon üzerine etkileri bilinmemektedir. Yalnız YFMŞ tüketimi, özellikle adölesan sıçanlarda oksidatif stres artışı ve BDNF düzeylerini etkileyerek depresyon benzeri davranış değişikliğine neden olmaktadır [123, 124, 207]. Bu çalışmamızda  $A\beta$  enjeksiyonu yapılan ve YFMŞ-42 tüketen sıçanlarda,  $A\beta$  enjeksiyonu ile görülen depresyon benzeri davranışın ortadan kalktığı görülmüştür. Hem  $A\beta$  hem de YFMŞ tüketimi kendi başına depresyon benzeri davranışlara neden olurken, birlikte uygulanmaları depresyon benzeri davranışı ortadan kaldırmış olması oldukça ilginç bir bulgudur.  $A\beta$ -aracılı depresyonun gelişiminde beynin lenfatik sistemi olarak adlandırılan su kanal proteinlerinden (SKP) AQP4'ün miktarındaki azalma etkilidir

[208, 209]. Bununla beraber, fruktoz tüketimi AQP3 miktarını artırmaktadır [210]. SKP'ler A $\beta$  ve YFMŞ'nin birlikte kullanımında depresyon görülmemesinin nedeni olabilirler.

Anksiyete konusunda YFMŞ tüketiminin net etkisi bilinmemekle beraber, çalışmamızda sıçan AH modelinde YFMŞ-42 tüketiminin anksiyete üzerine etkili olmadığı görülmüştür. Harrell v.d. (2015) yaptığı çalışmada yüksek fruktozla beslenen yetişkin sıçanlarda anksiyete görülmemiştir [124]. Önceki çalışmamızda adölesan dönemde YFMŞ-55 tüketimi, anksiyolitik etki göstermiştir [123]. Buna göre YFMŞ tüketimi, adölesan dönemde anksiyolitik etkiliyken yetişkin dönemde bu etki görülmemektedir. Bu çalışma ise yetişkin sıçanlarda AH modelinde YFMŞ tüketiminin anksiyete üzerine etkisinin olmadığını gösterildiği ilk çalışmadır. YFMŞ tüketiminin yetişkin sıçanlarda etki göstermeksizin, adölesan dönemde anksiyolitik etki göstermesinin nedeni, adölesan dönemin hormonal değişiklikler açısından kritik dönemlerden biri olmasıdır [211].

Bu çalışmamızda, AH modelinde YFMŞ-42 tüketiminin agresyon skorunda artışa neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmamız, aynı zamanda YFMŞ tüketiminin agresyon üzerine etkilerinin incelendiği ilk çalışmadır. Agresyonun nedenlerine yönelik yapılan çalışmalarda, glutamat miktarı ne kadar fazla ise agresyonun o kadar fazla olduğu gösterilmiştir [212, 213]. Bununla beraber agresyon tedavisinde kullanılan ilaçlardan biri olan gabapentinin GABA aktivitesini artırdığı ve NMDA otoreseptörlerini aktive ederek glutamaterjik aktiviteyi düşürdüğü ve agresyonu bu mekanizmalarla azalttığı öne sürülmüştür [214]. Önceki çalışmamızda YFMŞ-55 tüketiminin hipokampüste AMPA miktarında artışa neden olduğunu göstermiştik [123]. Bu çalışmamızda, YFMŞ tüketiminin sıçan AH modelinde agresyon skorunda artışa neden olmasının hipokampal glutamaterjik aktivite artışı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmamız, AH modelinde YFMŞ-42 tüketiminin lokomotor aktivite üzerine etkilerinin incelendiği ilk çalışmadır. Çalışmamızda, AH modeli ile birlikte YFMŞ tüketimi lokomotor aktivitede değişime neden olmamıştır. Önceki çalışmamızda YFMŞ-55 tüketen adölesan sıçanlarda lokomotor aktivite artışını göstermiştik [123].

Bir başka çalışmada da 5 hafta fruktoz tüketen yetişkin sıçanlarda, lokomotor aktivitede artış trendi görülmüştür [215]. Önceki çalışmalardan farklı olarak YFMŞ'nin bilinen lokomasyonu artırıcı etkilerinin görülmemesinin nedeni AH modeli ile birlikte değerlendirilmesi olabilir.

Bu tez çalışmasında, AH modelinde YFMŞ-42 tüketiminin öğrenme-bellek performansında bozukluğa neden olduğu ve bu bozukluğun YFMŞ tüketmeyen yalnız AH modeli uygulanan grupla benzer düzeyde olduğu gösterilmiştir. Sıçanlarda, uzun süreli YFMŞ tüketimi, öğrenme-bellek bozukluğuna neden olur [216]. İnsan çalışmalarında da YFMŞ tüketiminin kognitif fonksiyonlarda bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir [217]. Bu çalışmamızda sıçanlarda YFMŞ tüketimi ile A $\beta$  uygulamasının additif kognitif bozulmaya neden olmadığı gösterilmiştir. YFMŞ, daha uzun süreli tüketildiğinde öğrenme-bellek bozukluğu gösterdiğinden bu çalışmamızda yalnız A $\beta$ 'ye bağlı kognitif bozukluklar gösterilebilmiştir. Kognitif fonksiyonlara benzer olarak YFMŞ tüketimi, A $\beta$ -aracılı NMDA reseptör değişikliklerine ve SOD düzeyine belirgin bir etki göstermemiştir.

### **5.3. Vagal Sinir Uyarımının Alzheimer Hastalığındaki Nöropsikiyatrik Semptomlara Etkileri**

Vagal sinir uyarımının (VSU), kilo alımını azaltıcı etkileri nükleus traktus solitarius (NTS) aracılığı ile gıda alımında önemli bir merkez olan arkuat nükleus (AN) üzerindeki etkileri nedeniyledir. VSU'nun sıçanlarda gıda alımını azalttığı ve kilo kaybına neden olduğu gösterilmiştir [218, 219]. Bu çalışmamızda da AH modelinde VSU uygulaması kilo alımını azaltmıştır. VSU'nun kilo alımını azaltıcı etkisi, ilk defa sıçanlarda AH modelinde gösterilmiştir. Buna göre A $\beta$ 'nin lateral ventriküllere enjeksiyonu, NTS ile hipotalamik arkuat nükleusu arasındaki pro-opiomelanokortin (POMC) nöronlarını etkilememiştir. Böylelikle, önceki çalışmalarda görülen VSU'nun kilo alımını azaltıcı etkileri AH modelinde de gösterilebilmiştir.

VSU uygulamasının sıçanlarda antidepresan etkinliği olduğu bilinmesine rağmen [97], A $\beta$  aracılı gelişen depresyon benzeri davranışların tedavisinde etkinliğinin gösterildiği bir çalışma yoktur [220]. İlk defa bu çalışmamızda, AH modeli

ile gelişen depresyon benzeri davranışlar üzerine VSU'nun etkili olduğu gösterilmiştir. Carreno v.d. (2014), VSU uygulamasının farmakolojik antidepresanlardan farklı olarak Tropomiyozin reseptör kinaz B (TrkB) 'yi fosforillediğini göstermişlerdir [221]. Ayrıca, VSU'nun NTS projeksiyonları ile raphe nükleusunda serotonin ve LC'de noradrenalin miktarlarını artırdığı bilinmektedir [222, 223]. Bu verilerle, AH'de görülen NPS'lerin tedavisinde antidepresan ilaçların aksine kognitif bozukluk yaratmadan, VSU belirgin antidepresan etki gösterir. VSU'nun klinik kullanımda epilepsi, migren ve ilaca dirençli depresyonda yan etki açısından da güvenli olduğu ve AH'de kognisyon üzerine olumlu etkileri bilindiğinden NPS'lerin tedavisinde hızla kullanıma girebileceği düşünmekteyiz.

VSU'nun anksiyolitik etkileri insan [224] ve hayvanlarda [225, 226] gösterilmesine rağmen VSU'nun sıçanlarda AH modelinde ve YFMŞ tüketiminde anksiyete üzerine etkileri bilinmemektedir. Bu çalışmamız, VSU'nun AH modeli ve YFMŞ tüketen tüm gruplarda benzer düzeyde anksiyolitik etkili olduğunun gösterildiği ilk çalışmadır. VSU'nun anksiyolitik etkilerinin TrkB üzerinden olduğu ve TrkB inhibisyonu ile anksiyolitik etkilerin ortadan kalktığı gösterilmiştir [227]. Buna göre, VSU Aβ enjeksiyonu [228] ve YFMŞ tüketimi [229] ile azalan TrkB düzeyini artırarak tüm gruplarda benzer düzeyde anksiyolitik etkiye neden olmuş olabilir. Anksiyetenin farmakolojik tedavisinde kullanılan SSRI, SNRI ve benzodiazepin gibi ilaç tedavileri, AH'de görülen NPS'lerden anksiyetenin tedavisinde kognitif bozuklukların hızlanmasına neden olurken VSU kognitif bozukluk yaratmadan anksiyolitik etki göstermektedir.

AH'de sık görülen NPS'lerden biri olan agresyonun kısa süreli tedavisinde tek onaylı tedavi risperidonur [175]. Ancak, risperidonun agresyon üzerine etkilerinin incelendiği bir meta-analizde risperidonun etkilerinin diğer antipsikotiklerden farklı olmadığı ve agresyon üzerine çok zayıf etkili olduğu gösterilmiştir [230]. VSU'nun agresyon üzerine etkilerinin incelendiği herhangi bir çalışma yoktur. Çalışmamızda, VSU'nun tüm gruplarda agresyon skorlarını azalttığı görülmüştür. Bu çalışmamız, literatürde VSU'nun agresyon üzerine etkilerini gösteren bilinen ilk çalışmadır. Agresyonu azaltan farmakolojik tedavilerin etki mekanizmalarına bakıldığında alfa-2



adrenerjik reseptör agonistleri (guanfasin ve klonidin)  $\alpha_2$  presinaptik adrenerjik reseptöre bağlanarak, atomoksetin noradrenalin geri alımını azaltarak, risperidon D2 reseptör antagonizması ve özellikle serotonin üzerinden etki gösterirler [231]. Agresyon tedavisinde kullanılan farmakolojik tedavilere benzer olarak, VSU'nun hipokampüste  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri aracılığı ile noradrenalin düzeyini artırdığı gösterilmiştir [232]. Bu çalışmamızda, VSU'nun agresyonu azaltıcı etkilerinin  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör aktivitesi ve noradrenalin artışı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. VSU ile hem kontrol hem de AH modeli sıçanlarda agresyon skorunun azalması nedeniyle yalnız AH'deki NPS tedavisinde değil, bütün agresyonların tedavilerinde VSU bir tedavi alternatifi olabilir.

AH'de en sık görülen nöropsikiyatrik semptom olan apatinin onaylanmış bir tedavisi yoktur [233]. Çalışmamızda, VSU apatinin en önemli bileşenlerinden akinezinin belirteci olarak değerlendirilen lokomotor aktiveyi, kontrol ve AH modeli gruplarında artırmıştır. Fakat, VSU sonrasında AH modeli uygulanan ve YFMŞ tüketen grupta anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Benzer olarak hipokampal NMDAR2B düzeyleri VSU uygulaması sonrasında kontrol ve AH modeli gruplarında azalmıştır. YFMŞ tüketen ve AH modeli uygulanan grupta ise değişmemiştir. Bu verilerle, VSU'nun lokomotor aktivite artışı etkisi, NMDAR2B düzeyi ile korelidir (Pearson  $r = -0,815$ ;  $p = 0,048$ ). NMDAR2B'nin, lokomotor aktivite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [234]. Fakat, bu tez çalışması literatürde ilk defa VSU'nun lokomotor aktivite üzerine etkilerinin NMDAR2B düzeyinin azalması ile ilişkili olduğunu göstermiştir.

VSU, nöronal plastisiteyi artırır ve bellek fonksiyonlarını düzeltir [235, 236]. Bu çalışmamızda da AH modeli ve YFMŞ tüketimi ile bozulan uzun süreli bellek VSU ile düzelmiştir. VSU'nun kognitif fonksiyon üzerine etkileri, nikotinik kolinerjik etkilerin upregülasyonu ve NMDAR2A artışı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir [235]. Bu tez çalışmasında ilk defa VSU'nun kontrol grubunda NMDAR2A düzeyinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. Fakat, A $\beta$  enjeksiyonu ile azalan NMDAR2A düzeyi, VSU tedavisi ile düzelmeye göstermemiştir. NMDAR2A özellikle kısa süreli bellek fonksiyonlarında önemlidir [237]. VSU'nun kısa süreli bellek performansını da artırdığı gösterilmiş olmasına rağmen [110], AH modelinde kısa süreli bellek üzerine etkileri

bilinmemektedir. Bu tez çalışmasında, kısa süreli bellek fonksiyonları değerlendirilmemekle beraber, AH modelinde NMDAR2A düzeyinde düzelme olmaması kısa süreli bellek bozukluğunun VSU'ya rağmen devam ettiğini işaret etmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Sıçanlarda  $A\beta_{1-42}$  ile indüklenen AH modelinde depresyon benzeri davranış değişikliği görülmüştür ve YFMŞ tüketimi bu değişikliği ortadan kaldırmıştır. Bu etkinin,  $A\beta$  ve YFMŞ'nin su kanal proteinleri üzerine zıt yöndeki etkilerinden dolayı olabileceği düşünülmüştür. Bununla beraber, VSU AH modelinde antidepresan etki göstermiştir.
2. Sıçanlarda  $A\beta$ 'nin 1-42 fragmanı ile indüklenen Alzheimer hastalığı modelinde anksiyete artışı görülmemiştir. YFMŞ adölesan sıçanlarda anksiyolitik etki gösterirken AH modeli uygulanan yetişkin sıçanlarda anksiyete üzerine etkisi bulunmamıştır. VSU tüm gruplarda eşit derecede anksiyolitik etki göstermiştir. Kognitif fonksiyonlar üzerine olumlu etkileri nedeniyle VSU, anksiyete tedavisinde yeni bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir.
3. Sıçanlarda Alzheimer hastalığı modelinde,  $A\beta_{1-42}$  lateral ventriküle enjekte edildiğinde agresyon skorunu azaltmıştır. YFMŞ tüketiminin muhtemelen glutamaterjik aktivite artışına neden olarak agresyon skorunu artırdığı düşünülmektedir. VSU, agresyon skorunu azaltıcı etki göstermiştir ve bu etkisinin  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör aktivitesi ve noradrenalin miktarı artışı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.
4. AH'de depresyon-apati birlikteliği sık olmasına rağmen sıçanlarda AH modelinde apati ile ilişkili olan lokomotor aktivite değişmemiştir. YFMŞ tüketimi adölesan sıçanlarda lokomotor aktivite artışına neden olurken AH modeli yetişkin sıçanlarda lokomotor aktivitede değişiklik olmamıştır. VSU hem kontrol hem de AH modeli sıçanlarda lokomotor aktiviteyi artırmıştır. Fakat YFMŞ tüketen grupta lokomotor aktivite artışı görülmemiştir. VSU'nun bu etkisinin hipokampal NMDAR2B düzeylerindeki azalma arasında ters yönlü bir ilişki bulunmuştur.
5. Sıçanlarda  $A\beta$  ile indüklenen AH modelinde uzun süreli bellekte bozulma görülmüştür. YFMŞ tüketiminin kognitif etkilerinin daha uzun sürelerde ortaya çıkabileceği ve bu nedenle AH modelinde YFMŞ tüketiminin uzun süreli bellekteki bozulmayı şiddetlendirmedeği düşünülmüştür. VSU uzun süreli

bellek bozukluğunu düzeltmiştir. VSU sonrasında kontrol grubunda öğrenme bellek performansı ile ilişkili olduğu bilinen NMDAR2A düzeyinin arttığı fakat AH modeli ve YFMŞ tüketen gruplarda değişmediği bulunmuştur.

6. Sıçanlarda AH modeli sonrasında SOD miktarının azaldığı görülmüştür. Bu etkinin A $\beta$ 'nin direkt SOD üzerine bağlanması nedeniyle olabileceği düşünölmüştür. VSU uygulaması, AH modelinde SOD miktarındaki azalmayı düzeltememiştir.

Bu proje Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi THD-2020-18562 nolu projesi ile desteklenmiştir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Drouin, E. ve G. Drouin, *The First Report of Alzheimer's Disease*. The Lancet Neurology, 2017. **16**(9): p. 687.
2. Glenner, G.G. ve C.W. Wong, *Alzheimer's Disease: Initial Report of the Purification and Characterization of a Novel Cerebrovascular Amyloid Protein*. Biochem Biophys Res Commun, 1984. **120**(3): p. 885-890.
3. Prince, M.J. v.d. , *World Alzheimer Report 2015 - the Global Impact of Dementia. An Analysis of Prevalence, Incidence, Cost and Trends*. 2015, London: Alzheimer's Disease International.
4. *2018 Alzheimer's Disease Facts and Figures*, in *Alzheimer's & Dementia*. 2018, Alzheimer's Association. p. 367-429.
5. Brookmeyer, R. v.d. , *Forecasting the Prevalence of Preclinical and Clinical Alzheimer's Disease in the United States*. Alzheimer's & Dementia, 2018. **14**(2): p. 121-129.
6. Farrer, L.A. v.d. , *Effects of Age, Sex, and Ethnicity on the Association between Apolipoprotein E Genotype and Alzheimer Disease. A Meta-Analysis*. Apoe and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. Jama, 1997. **278**(16): p. 1349-56.
7. Norton, S. v.d. , *Potential for Primary Prevention of Alzheimer's Disease: An Analysis of Population-Based Data*. The Lancet Neurology, 2014. **13**(8): p. 788-794.
8. Janson, J. v.d. , *Increased Risk of Type 2 Diabetes in Alzheimer Disease*. Diabetes, 2004. **53**(2): p. 474-481.
9. Masters, C.L. v.d. , *Alzheimer's Disease*. Nat Rev Dis Primers, 2015. **1**: p. 15056.
10. Tran, M.H. v.d. , *Amyloid B-Peptide Induces Cholinergic Dysfunction and Cognitive Deficits: A Minireview*. Peptides, 2002. **23**(7): p. 1271-1283.
11. Nalivaeva, N.N. ve A.J. Turner, *The Amyloid Precursor Protein: A Biochemical Enigma in Brain Development, Function and Disease*. FEBS Lett, 2013. **587**(13): p. 2046-54.
12. Seubert, P. v.d. , *Isolation and Quantification of Soluble Alzheimer's Beta-Peptide from Biological Fluids*. Nature, 1992. **359**(6393): p. 325-7.
13. Jarrett, J.T. ve P.T. Lansbury, *Seeding "One-Dimensional Crystallization" of Amyloid: A Pathogenic Mechanism in Alzheimer's Disease and Scrapie?* Cell, 1993. **73**(6): p. 1055-1058.
14. Dubois, B. v.d. , *Advancing Research Diagnostic Criteria for Alzheimer's Disease: The Iwg-2 Criteria*. The Lancet. Neurology, 2014. **13**(6): p. 614-29.
15. Weller, R.O. v.d. , *Cerebral Amyloid Angiopathy: Accumulation of a Beta in Interstitial Fluid Drainage Pathways in Alzheimer's Disease*. Ann N Y Acad Sci, 2000. **903**: p. 110-7.
16. Yoon, S.-S. ve S.A. Jo, *Mechanisms of Amyloid-B Peptide Clearance: Potential Therapeutic Targets for Alzheimer's Disease*. Biomolecules & therapeutics, 2012. **20**(3): p. 245-255.
17. Shinohara, M. v.d. , *Role of Lrp1 in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease: Evidence from Clinical and Preclinical Studies*. J Lipid Res, 2017. **58**(7): p. 1267-1281.
18. Jaeger, L.B. v.d. , *Testing the Neurovascular Hypothesis of Alzheimer's*

- Disease: Lrp-1 Antisense Reduces Blood-Brain Barrier Clearance, Increases Brain Levels of Amyloid-Beta Protein, and Impairs Cognition.* Journal of Alzheimer's disease : JAD, 2009. **17**(3): p. 553-570.
19. Bu, G., *Apolipoprotein E and Its Receptors in Alzheimer's Disease: Pathways, Pathogenesis and Therapy.* Nature Reviews Neuroscience, 2009. **10**(5): p. 333-344.
  20. Yasojima, K. v.d. , *Reduced Neprilysin in High Plaque Areas of Alzheimer Brain: A Possible Relationship to Deficient Degradation of Beta-Amyloid Peptide.* Neurosci Lett, 2001. **297**(2): p. 97-100.
  21. Eckman, E.A. v.d. , *Regulation of Steady-State Beta-Amyloid Levels in the Brain by Neprilysin and Endothelin-Converting Enzyme but Not Angiotensin-Converting Enzyme.* J Biol Chem, 2006. **281**(41): p. 30471-8.
  22. Saido, T.C., *Metabolism of Amyloid Beta Peptide and Pathogenesis of Alzheimer's Disease.* Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci, 2013. **89**(7): p. 321-39.
  23. Sehgal, N. v.d. , *Withania Somnifera Reverses Alzheimer's Disease Pathology by Enhancing Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein in Liver.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2012. **109**(9): p. 3510-5.
  24. Liang, K. v.d. , *Estrogen Stimulates Degradation of Beta-Amyloid Peptide by up-Regulating Neprilysin.* J Biol Chem, 2010. **285**(2): p. 935-42.
  25. Saito, T. v.d. , *Somatostatin Regulates Brain Amyloid Beta Peptide Abeta42 through Modulation of Proteolytic Degradation.* Nat Med, 2005. **11**(4): p. 434-9.
  26. Perry, E.K. v.d. , *Neurotransmitter Enzyme Abnormalities in Senile Dementia. Choline Acetyltransferase and Glutamic Acid Decarboxylase Activities in Necropsy Brain Tissue.* Journal of the neurological sciences, 1977. **34**(2): p. 247-65.
  27. Perry, E.K. v.d. , *Changes in Brain Cholinesterases in Senile Dementia of Alzheimer Type.* Neuropathol Appl Neurobiol, 1978. **4**(4): p. 273-7.
  28. Terry, A.V., Jr. ve J.J. Buccafusco, *The Cholinergic Hypothesis of Age and Alzheimer's Disease-Related Cognitive Deficits: Recent Challenges and Their Implications for Novel Drug Development.* The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 2003. **306**(3): p. 821-7.
  29. Contestabile, A., *The History of the Cholinergic Hypothesis.* Behav Brain Res, 2011. **221**(2): p. 334-40.
  30. Nitta, A. v.d. , *Continuous Infusion of Beta-Amyloid Protein into the Rat Cerebral Ventricle Induces Learning Impairment and Neuronal and Morphological Degeneration.* Jpn J Pharmacol, 1997. **73**(1): p. 51-7.
  31. Liu, Q. v.d. , *Beta -Amyloid Peptide Blocks the Response of Alpha 7-Containing Nicotinic Receptors on Hippocampal Neurons.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(8): p. 4734-9.
  32. Walsh, D.M. v.d. , *Naturally Secreted Oligomers of Amyloid Beta Protein Potently Inhibit Hippocampal Long-Term Potentiation in Vivo.* Nature, 2002. **416**(6880): p. 535-9.
  33. Gibbs, M., *Reflections on Glycogen and Beta-Amyloid: Why Does Glycogenolytic Beta2-Adrenoceptor Stimulation Not Rescue Memory after Beta-Amyloid?* Metab Brain Dis, 2015. **30**(1): p. 345-52.
  34. Zhang, D. v.d. , *Peripheral Interventions Enhancing Brain Glutamate*

- Homeostasis Relieve Amyloid Beta- and Tnfalpha- Mediated Synaptic Plasticity Disruption in the Rat Hippocampus*. Cereb Cortex, 2017. **27**(7): p. 3724-3735.
35. Chen, Q.-S. v.d. , *Alzheimer Amyloid B-Peptide Inhibits the Late Phase of Long-Term Potentiation through Calcineurin-Dependent Mechanisms in the Hippocampal Dentate Gyrus*. Neurobiology of Learning and Memory, 2002. **77**(3): p. 354-371.
  36. Parameshwaran, K. v.d. , *Amyloid B-Peptide A $\beta$ 1–42 but Not A $\beta$ 1–40 Attenuates Synaptic Ampa Receptor Function*. Synapse, 2007. **61**(6): p. 367-374.
  37. Petrushanko, I.Y. v.d. , *Direct Interaction of Beta-Amyloid with Na,K-ATPase as a Putative Regulator of the Enzyme Function*. Sci Rep, 2016. **6**: p. 27738.
  38. Chauhan, N.B. v.d. , *Na,K-ATPase Mrna Levels and Plaque Load in Alzheimer's Disease*. Journal of molecular neuroscience : MN, 1997. **9**(3): p. 151-66.
  39. Ohnishi, T. v.d. , *Na, K-ATPase Alpha3 Is a Death Target of Alzheimer Patient Amyloid-Beta Assembly*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015. **112**(32): p. E4465-74.
  40. Smith, W.W. v.d. , *Signaling Mechanisms Underlying Abeta Toxicity: Potential Therapeutic Targets for Alzheimer's Disease*. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2006. **5**(3): p. 355-61.
  41. Hardas, S.S. v.d. , *Oxidative Modification of Lipoic Acid by Hne in Alzheimer Disease Brain*. Redox biology, 2013. **1**: p. 80-5.
  42. Li, J. v.d. , *Hydrogen-Rich Saline Improves Memory Function in a Rat Model of Amyloid-Beta-Induced Alzheimer's Disease by Reduction of Oxidative Stress*. Brain Res, 2010. **1328**: p. 152-61.
  43. Zemlan, F.P. v.d. , *Superoxide Dismutase Activity in Alzheimer's Disease: Possible Mechanism for Paired Helical Filament Formation*. Brain Research, 1989. **476**(1): p. 160-162.
  44. Choi, J. v.d. , *Oxidative Modifications and Aggregation of Cu,Zn-Superoxide Dismutase Associated with Alzheimer and Parkinson Diseases*. The Journal of biological chemistry, 2005. **280**(12): p. 11648-11655.
  45. Serrano-Pozo, A. v.d. , *Reactive Glia Not Only Associates with Plaques but Also Parallels Tangles in Alzheimer's Disease*. The American Journal of Pathology, 2011. **179**(3): p. 1373-1384.
  46. Rao, J.S. v.d. , *Altered Neuroinflammatory, Arachidonic Acid Cascade and Synaptic Markers in Postmortem Alzheimer's Disease Brain*. Translational Psychiatry, 2011. **1**: p. e31.
  47. Cojocaru, I.M. v.d. , *Study of Interleukin-6 Production in Alzheimer's Disease*. Romanian journal of internal medicine = Revue roumaine de medecine interne, 2011. **49**(1): p. 55-8.
  48. Sharma, P. v.d. , *Comprehensive Review of Mechanisms of Pathogenesis Involved in Alzheimer's Disease and Potential Therapeutic Strategies*. Progress in Neurobiology, 2019. **174**: p. 53-89.
  49. Boccardi, V. v.d. , *Short-Term Response Is Not Predictive of Long-Term Response to Acetylcholinesterase Inhibitors in Old Age Subjects with Alzheimer's Disease: A "Real World" Study*. J Alzheimers Dis, 2017. **56**(1): p. 239-248.
  50. Cummings, J. v.d. , *Alzheimer's Disease Drug Development Pipeline: 2018*.

- Alzheimer's & dementia (New York, N. Y.), 2018. **4**: p. 195-214.
51. Chang, C.H. v.d. , *Brain Stimulation in Alzheimer's Disease*. Front Psychiatry, 2018. **9**: p. 201.
  52. Laxton, A.W. v.d. , *A Phase I Trial of Deep Brain Stimulation of Memory Circuits in Alzheimer's Disease*. Annals of Neurology, 2010. **68**(4): p. 521-534.
  53. Cotelli, M. v.d. , *Improved Language Performance in Alzheimer Disease Following Brain Stimulation*. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 2011. **82**(7): p. 794.
  54. Sjögren, M.J.C. v.d. , *Cognition-Enhancing Effect of Vagus Nerve Stimulation in Patients with Alzheimer's Disease: A Pilot Study*. The Journal of Clinical Psychiatry, 2002. **63**(11): p. 972-980.
  55. Lyketsos, C.G. v.d. , *Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease*. Alzheimers Dement, 2011. **7**(5): p. 532-9.
  56. Zhao, Q.F. v.d. , *The Prevalence of Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease: Systematic Review and Meta-Analysis*. J Affect Disord, 2016. **190**: p. 264-271.
  57. Steinberg, M. v.d. , *Vascular Risk Factors and Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease: The Cache County Study*. Int J Geriatr Psychiatry, 2014. **29**(2): p. 153-9.
  58. Ehrenberg, A.J. v.d. , *Neuropathologic Correlates of Psychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease*. J Alzheimers Dis, 2018. **66**(1): p. 115-126.
  59. Lai, M.K. v.d. , *Loss of Serotonin 5-Ht2a Receptors in the Postmortem Temporal Cortex Correlates with Rate of Cognitive Decline in Alzheimer's Disease*. Psychopharmacology (Berl), 2005. **179**(3): p. 673-7.
  60. Hasselbalch, S.G. v.d. , *Reduced 5-Ht2a Receptor Binding in Patients with Mild Cognitive Impairment*. Neurobiol Aging, 2008. **29**(12): p. 1830-8.
  61. Colaianna, M. v.d. , *Soluble Beta Amyloid(1-42): A Critical Player in Producing Behavioural and Biochemical Changes Evoking Depressive-Related State?* Br J Pharmacol, 2010. **159**(8): p. 1704-15.
  62. Braak, H. ve E. Braak, *Neuropathological Stageing of Alzheimer-Related Changes*. Acta Neuropathol, 1991. **82**(4): p. 239-59.
  63. Rosenberg, P.B. v.d. , *The Association of Psychotropic Medication Use with the Cognitive, Functional, and Neuropsychiatric Trajectory of Alzheimer's Disease*. Int J Geriatr Psychiatry, 2012. **27**(12): p. 1248-57.
  64. Rosenberg, P.B. v.d. , *The Association of Psychotropic Medication Use with the Cognitive, Functional, and Neuropsychiatric Trajectory of Alzheimer's Disease*. Int J Geriatr Psychiatry, 2012. **27**(12): p. 1248-1257.
  65. Wang, P.S. v.d. , *Risk of Death in Elderly Users of Conventional Vs. Atypical Antipsychotic Medications*. New England Journal of Medicine, 2005. **353**(22): p. 2335-2341.
  66. Sultzer, D.L. v.d. , *Clinical Symptom Responses to Atypical Antipsychotic Medications in Alzheimer's Disease: Phase I Outcomes from the Catie-Ad Effectiveness Trial*. The American journal of psychiatry, 2008. **165**(7): p. 844-854.
  67. Weintraub, D. v.d. , *Sertraline for the Treatment of Depression in Alzheimer Disease: Week-24 Outcomes*. Am J Geriatr Psychiatry, 2010. **18**(4): p. 332-340.
  68. Trinh, N.-H. v.d. , *Efficacy of Cholinesterase Inhibitors in the Treatment of*



- Neuropsychiatric Symptoms and Functional Impairment in Alzheimer Disease Meta-Analysis*. JAMA, 2003. **289**(2): p. 210-216.
69. Holmes, C. v.d. , *The Efficacy of Donepezil in the Treatment of Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer Disease*. Neurology, 2004. **63**(2): p. 214.
  70. Wang, J. v.d. , *Pharmacological Treatment of Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 2015. **86**(1): p. 101-109.
  71. Lanctot, K.L. v.d. , *Neuropsychiatric Signs and Symptoms of Alzheimer's Disease: New Treatment Paradigms*. Alzheimers Dement (N Y), 2017. **3**(3): p. 440-449.
  72. Niu, Y.-X. v.d. , *Cognitive Stimulation Therapy in the Treatment of Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease: A Randomized Controlled Trial*. Clinical Rehabilitation, 2010. **24**(12): p. 1102-1111.
  73. Aguirre, E. v.d. , *Cognitive Stimulation for Dementia: A Systematic Review of the Evidence of Effectiveness from Randomised Controlled Trials*. Ageing Research Reviews, 2013. **12**(1): p. 253-262.
  74. Hirao, K. v.d. , *Molecular Imaging of Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's and Parkinson's Disease*. Neurosci Biobehav Rev, 2015. **49**: p. 157-70.
  75. Szablewski, L., *Human Gut Microbiota in Health and Alzheimer's Disease*. J Alzheimers Dis, 2018. **62**(2): p. 549-560.
  76. Spielman, L.J. v.d. , *Unhealthy Gut, Unhealthy Brain: The Role of the Intestinal Microbiota in Neurodegenerative Diseases*. Neurochemistry International, 2018. **120**: p. 149-163.
  77. Ambalavanar, R. v.d. , *Glutamate Receptor Subunits in the Nucleus of the Tractus Solitarius and Other Regions of the Medulla Oblongata in the Cat*. J Comp Neurol, 1998. **402**(1): p. 75-92.
  78. Berthoud, H.-R. ve W.L. Neuhuber, *Functional and Chemical Anatomy of the Afferent Vagal System*. Autonomic Neuroscience, 2000. **85**(1): p. 1-17.
  79. Cryan, J.F. v.d. , *The Microbiota-Gut-Brain Axis*. Physiol Rev, 2019. **99**(4): p. 1877-2013.
  80. Prechtel, J.C. ve T.L. Powley, *B-Afferents: A Fundamental Division of the Nervous System Mediating Homeostasis?* Behavioral and Brain Sciences, 1990. **13**(2): p. 289-300.
  81. Breit, S. v.d. , *Vagus Nerve as Modulator of the Brain–Gut Axis in Psychiatric and Inflammatory Disorders*. Frontiers in Psychiatry, 2018. **9**(44).
  82. Mann, D.M. v.d. , *Monoaminergic Neurotransmitter Systems in Presenile Alzheimer's Disease and in Senile Dementia of Alzheimer Type*. Clin Neuropathol, 1984. **3**(5): p. 199-205.
  83. Goehler, L.E. v.d. , *Activation in Vagal Afferents and Central Autonomic Pathways: Early Responses to Intestinal Infection with Campylobacter Jejuni*. Brain, Behavior, and Immunity, 2005. **19**(4): p. 334-344.
  84. Lyte, M. v.d. , *Anxiogenic Effect of Subclinical Bacterial Infection in Mice in the Absence of Overt Immune Activation*. Physiology & behavior, 1998. **65**(1): p. 63-68.
  85. Mönnikes, H. v.d. , *Peripheral Administration of Cholecystokinin Activates C-Fos Expression in the Locus Coeruleus/Subcoeruleus Nucleus, Dorsal Vagal*

- Complex and Paraventricular Nucleus Via Capsaicin-Sensitive Vagal Afferents and Cck-a Receptors in the Rat.* Brain Research, 1997. **770**(1): p. 277-288.
86. Ayabe, T. v.d. , *Matured Hop-Derived Bitter Components in Beer Improve Hippocampus-Dependent Memory through Activation of the Vagus Nerve.* Scientific reports, 2018. **8**(1): p. 15372-15372.
  87. Ano, Y. v.d. , *Iso-A-Acids, the Bitter Components of Beer, Improve Hippocampus-Dependent Memory through Vagus Nerve Activation.* FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 2019. **33**(4): p. 4987-4995.
  88. Polak, T. v.d. , *Vagus Somatosensory Evoked Potentials Are Delayed in Alzheimer's Disease, but Not in Major Depression.* Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 2014. **264**(3): p. 263-7.
  89. Metzger, F.G. v.d. , *Vagus Somatosensory Evoked Potentials – a Possibility for Diagnostic Improvement in Patients with Mild Cognitive Impairment?* Dementia and Geriatric Cognitive Disorders, 2012. **33**(5): p. 289-296.
  90. Toledo, M.A. ve L.F. Junqueira, Jr., *Cardiac Autonomic Modulation and Cognitive Status in Alzheimer's Disease.* Clin Auton Res, 2010. **20**(1): p. 11-7.
  91. Wang, S.-J. v.d. , *Cardiovascular Autonomic Functions in Alzheimer's Disease.* Age and Ageing, 1994. **23**(5): p. 400-404.
  92. Spuck, S. v.d. , *Right-Sided Vagus Nerve Stimulation in Humans: An Effective Therapy?* Epilepsy Res, 2008. **82**(2-3): p. 232-234.
  93. Elliott, R.E. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation for Children with Treatment-Resistant Epilepsy: A Consecutive Series of 141 Cases.* J Neurosurg Pediatr, 2011. **7**(5): p. 491-500.
  94. Ben-Menachem, E., *Vagus-Nerve Stimulation for the Treatment of Epilepsy.* The Lancet Neurology, 2002. **1**(8): p. 477-482.
  95. Houser, M.V. v.d. , *Vagal Nerve Stimulator Use During Pregnancy for Treatment of Refractory Seizure Disorder.* Obstet Gynecol, 2010. **115**(2 Pt 2): p. 417-419.
  96. Bajbouj, M. v.d. , *Two-Year Outcome of Vagus Nerve Stimulation in Treatment-Resistant Depression.* J Clin Psychopharmacol, 2010. **30**(3): p. 273-281.
  97. Krahl, S.E. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation (Vns) Is Effective in a Rat Model of Antidepressant Action.* J Psychiatr Res, 2004. **38**(3): p. 237-40.
  98. Berthoud, H.R., *The Vagus Nerve, Food Intake and Obesity.* Regul Pept, 2008. **149**(1-3): p. 15-25.
  99. Johnson, R.L. ve C.G. Wilson, *A Review of Vagus Nerve Stimulation as a Therapeutic Intervention.* J Inflamm Res, 2018. **11**: p. 203-213.
  100. Boon, P. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation and Cognition.* Seizure, 2006. **15**(4): p. 259-63.
  101. Clark, K.B. v.d. , *Enhanced Recognition Memory Following Vagus Nerve Stimulation in Human Subjects.* Nat Neurosci, 1999. **2**(1): p. 94-98.
  102. Boon, P. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation and Cognition.* Seizure, 2006. **15**(4): p. 259-263.
  103. Vonck, K. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation...25 Years Later! What Do We Know About the Effects on Cognition?* Neuroscience and biobehavioral reviews, 2014. **45**: p. 63-71.

104. Clancy, J.A. v.d. , *The Wonders of the Wanderer*. *Exp Physiol*, 2013. **98**(1): p. 38-45.
105. Ansari, S. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation: Indications and Limitations*. *Acta Neurochir Suppl*, 2007. **97**(Pt 2): p. 281-286.
106. Roosevelt, R.W. v.d. , *Increased Extracellular Concentrations of Norepinephrine in Cortex and Hippocampus Following Vagus Nerve Stimulation in the Rat*. *Brain Res*, 2006. **1119**(1): p. 124-32.
107. Zuo, Y. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation Potentiates Hippocampal Ltp in Freely-Moving Rats*. *Physiol Behav*, 2007. **90**(4): p. 583-9.
108. Ura, H. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation Induced Long-Lasting Enhancement of Synaptic Transmission and Decreased Granule Cell Discharge in the Hippocampal Dentate Gyrus of Urethane-Anesthetized Rats*. *Brain Res*, 2013. **1492**: p. 63-71.
109. Shen, H. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation Enhances Perforant Path-Ca3 Synaptic Transmission Via the Activation of B-Adrenergic Receptors and the Locus Coeruleus*. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2012. **15**(4): p. 523-530.
110. Sun, L. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation Improves Working Memory Performance*. *J Clin Exp Neuropsychol*, 2017. **39**(10): p. 954-964.
111. Broncel, A. v.d. , *Medial Septal Cholinergic Mediation of Hippocampal Theta Rhythm Induced by Vagal Nerve Stimulation*. *PloS one*, 2018. **13**(11): p. e0206532-e0206532.
112. Révész, D. v.d. , *Complications and Safety of Vagus Nerve Stimulation: 25 Years of Experience at a Single Center*. *J Neurosurg Pediatr*, 2016. **18**(1): p. 97-104.
113. Frangos, E. ve B.R. Komisaruk, *Access to Vagal Projections Via Cutaneous Electrical Stimulation of the Neck: Fmri Evidence in Healthy Humans*. *Brain Stimul*, 2017. **10**(1): p. 19-27.
114. Merrill, C.A. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation in Patients with Alzheimer's Disease: Additional Follow-up Results of a Pilot Study through 1 Year*. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 2006. **67**(8): p. 1171-1178.
115. Beekwilder, J.P. ve T. Beems, *Overview of the Clinical Applications of Vagus Nerve Stimulation*. *J Clin Neurophysiol*, 2010. **27**(2): p. 130-138.
116. Bomback, A.S. v.d. , *Sugar-Sweetened Soda Consumption, Hyperuricemia, and Kidney Disease*. *Kidney International*, 2010. **77**(7): p. 609-616.
117. Ford, E.S. v.d. , *Increased Consumption of Refined Carbohydrates and the Epidemic of Type 2 Diabetes in the United States: An Ecologic Assessment*. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004. **79**(5): p. 774-779.
118. Kandimalla, R. v.d. , *Is Alzheimer's Disease a Type 3 Diabetes? A Critical Appraisal*. *Biochim Biophys Acta*, 2017. **1863**(5): p. 1078-1089.
119. Stanhope, K.L. ve P.J. Havel, *Fructose Consumption: Recent Results and Their Potential Implications*. *Ann N Y Acad Sci*, 2010. **1190**: p. 15-24.
120. Cisternas, P. v.d. , *Fructose Consumption Reduces Hippocampal Synaptic Plasticity Underlying Cognitive Performance*. *Biochim Biophys Acta*, 2015. **1852**(11): p. 2379-90.
121. Anderson, R.A. v.d. , *Cinnamon Counteracts the Negative Effects of a High Fat/High Fructose Diet on Behavior, Brain Insulin Signaling and Alzheimer-Associated Changes*. *PLoS One*, 2013. **8**(12): p. e83243.

122. Takeuchi, M. ve S. Yamagishi, *Possible Involvement of Advanced Glycation End-Products (Ages) in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease*. *Curr Pharm Des*, 2008. **14**(10): p. 973-8.
123. Alten, B. v.d. , *High-Fructose Corn Syrup Consumption in Adolescent Rats Causes Bipolar-Like Behavioural Phenotype with Hyperexcitability in Hippocampal Ca<sup>3</sup>-Ca<sup>1</sup> Synapses*. *Br J Pharmacol*, 2018. **175**(24): p. 4450-4463.
124. Harrell, C.S. v.d. , *High-Fructose Diet During Periadolescent Development Increases Depressive-Like Behavior and Remodels the Hypothalamic Transcriptome in Male Rats*. *Psychoneuroendocrinology*, 2015. **62**: p. 252-264.
125. Cigliano, L. v.d. , *Short-Term Fructose Feeding Induces Inflammation and Oxidative Stress in the Hippocampus of Young and Adult Rats*. *Molecular Neurobiology*, 2018. **55**(4): p. 2869-2883.
126. Mastrocola, R. v.d. , *High-Fructose Intake as Risk Factor for Neurodegeneration: Key Role for Carboxy Methyllysine Accumulation in Mice Hippocampal Neurons*. *Neurobiology of Disease*, 2016. **89**: p. 65-75.
127. Ho, L. v.d. , *Diet-Induced Insulin Resistance Promotes Amyloidosis in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease*. *FASEB J*, 2004. **18**(7): p. 902-4.
128. Daly, D.M. v.d. , *Impaired Intestinal Afferent Nerve Satiety Signalling and Vagal Afferent Excitability in Diet Induced Obesity in the Mouse*. *The Journal of Physiology*, 2011. **589**(11): p. 2857-2870.
129. Taylor, M.K. v.d. , *Feasibility and Efficacy Data from a Ketogenic Diet Intervention in Alzheimer's Disease*. *Alzheimers Dement (N Y)*, 2018. **4**: p. 28-36.
130. Lange, K.W. v.d. , *Ketogenic Diets and Alzheimer's Disease*. *Food Science and Human Wellness*, 2017. **6**(1): p. 1-9.
131. Yokota, R. v.d. , *Intra-Renal Angiotensin Levels Are Increased in High-Fructose Fed Rats in the Extracorporeal Renal Perfusion Model*. *Front Physiol*, 2018. **9**: p. 1433.
132. Luo, D. v.d. , *Effect of Pioglitazone on Altered Expression of A $\beta$  Metabolism-Associated Molecules in the Brain of Fructose-Drinking Rats, a Rodent Model of Insulin Resistance*. *European Journal of Pharmacology*, 2011. **664**(1): p. 14-19.
133. Neha v.d. , *Animal Models of Dementia and Cognitive Dysfunction*. *Life Sciences*, 2014. **109**(2): p. 73-86.
134. Erickson, C.A. ve C.A. Barnes, *The Neurobiology of Memory Changes in Normal Aging*. *Experimental Gerontology*, 2003. **38**(1): p. 61-69.
135. Chen, C. v.d. , *7,8-Dihydroxyflavone Ameliorates Scopolamine-Induced Alzheimer-Like Pathologic Dysfunction*. *Rejuvenation Res*, 2014. **17**(3): p. 249-254.
136. Salkovic-Petrisic, M. v.d. , *Long-Term Oral Galactose Treatment Prevents Cognitive Deficits in Male Wistar Rats Treated Intracerebroventricularly with Streptozotocin*. *Neuropharmacology*, 2014. **77**: p. 68-80.
137. Yamada, K. ve T. Nabeshima, *Animal Models of Alzheimer's Disease and Evaluation of Anti-Dementia Drugs*. *Pharmacology & therapeutics*, 2000. **88**(2): p. 93-113.

138. Sain, H. v.d. , *Pharmacological Investigations on Potential of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma Agonists in Hyperhomocysteinemia-Induced Vascular Dementia in Rats*. Neuroscience, 2011. **192**: p. 322-333.
139. Raghavendra, M. v.d. , *Role of Aqueous Extract of Azadirachta Indica Leaves in an Experimental Model of Alzheimer's Disease in Rats*. Int J Appl Basic Med Res, 2013. **3**(1): p. 37-47.
140. Hsiao, K. v.d. , *Correlative Memory Deficits, Abeta Elevation, and Amyloid Plaques in Transgenic Mice*. Science (New York, N.Y.), 1996. **274**(5284): p. 99-102.
141. Oakley, H. v.d. , *Intraneuronal Beta-Amyloid Aggregates, Neurodegeneration, and Neuron Loss in Transgenic Mice with Five Familial Alzheimer's Disease Mutations: Potential Factors in Amyloid Plaque Formation*. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience, 2006. **26**(40): p. 10129-10140.
142. Oddo, S. v.d. , *Triple-Transgenic Model of Alzheimer's Disease with Plaques and Tangles: Intracellular Abeta and Synaptic Dysfunction*. Neuron, 2003. **39**(3): p. 409-421.
143. Esquerda-Canals, G. v.d. , *Mouse Models of Alzheimer's Disease*. Journal of Alzheimer's disease : JAD, 2017. **57**(4): p. 1171-1183.
144. Huang, Y. ve L. Mucke, *Alzheimer Mechanisms and Therapeutic Strategies*. Cell, 2012. **148**(6): p. 1204-1222.
145. Webster, S.J. v.d. , *Using Mice to Model Alzheimer's Dementia: An Overview of the Clinical Disease and the Preclinical Behavioral Changes in 10 Mouse Models*. Frontiers in Genetics, 2014. **5**(88).
146. Byun, K. v.d. , *Induction of Neuronal Death by Microglial Age-Albumin: Implications for Alzheimer's Disease*. PLoS One, 2012. **7**(5): p. e37917.
147. Klein, C.P. v.d. , *Physical Exercise During Pregnancy Prevents Cognitive Impairment Induced by Amyloid-Beta in Adult Offspring Rats*. Mol Neurobiol, 2018.
148. Pena, D.F. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation Enhances Extinction of Conditioned Fear and Modulates Plasticity in the Pathway from the Ventromedial Prefrontal Cortex to the Amygdala*. Front Behav Neurosci, 2014. **8**: p. 327.
149. Ura, H. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation Induced Long-Lasting Enhancement of Synaptic Transmission and Decreased Granule Cell Discharge in the Hippocampal Dentate Gyrus of Urethane-Anesthetized Rats*. Brain Research, 2013. **1492**: p. 63-71.
150. Dedeurwaerdere, S. v.d. , *The Acute and Chronic Effect of Vagus Nerve Stimulation in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (Gaers)*. Epilepsia, 2005. **46**(s5): p. 94-97.
151. Slattery, D.A. ve J.F. Cryan, *Using the Rat Forced Swim Test to Assess Antidepressant-Like Activity in Rodents*. Nature Protocols, 2012. **7**(6): p. 1009-1014.
152. Pellow, S. v.d. , *Validation of Open:Closed Arm Entries in an Elevated Plus-Maze as a Measure of Anxiety in the Rat*. Journal of neuroscience methods, 1985. **14**(3): p. 149-167.
153. Ilchibaeva, T.V. v.d. , *Brain-Derived Neurotrophic Factor (Bdnf) and Its Precursor (Probdnf) in Genetically Defined Fear-Induced Aggression*. Behav Brain Res, 2015. **290**: p. 45-50.

154. Eilam, D., *Open-Field Behavior Withstands Drastic Changes in Arena Size*. Behavioural Brain Research, 2003. **142**(1): p. 53-62.
155. Newman, J.P. ve D.S. Kosson, *Passive Avoidance Learning in Psychopathic and Nonpsychopathic Offenders*. Journal of Abnormal Psychology, 1986. **95**(3): p. 252-256.
156. Foley, A.G. v.d. , *The 5-Ht6 Receptor Antagonist Sb-271046 Reverses Scopolamine-Disrupted Consolidation of a Passive Avoidance Task and Ameliorates Spatial Task Deficits in Aged Rats*. Neuropsychopharmacology, 2004. **29**(1): p. 93-100.
157. Vorhees, C.V. ve M.T. Williams, *Morris Water Maze: Procedures for Assessing Spatial and Related Forms of Learning and Memory*. Nature Protocols, 2006. **1**(2): p. 848-858.
158. von Engelhardt, J. v.d. , *Contribution of Hippocampal and Extra-Hippocampal Nr2b-Containing Nmda Receptors to Performance on Spatial Learning Tasks*. Neuron, 2008. **60**(5): p. 846-860.
159. Masu, M. v.d. , *Molecular Characterization of Nmda and Metabotropic Glutamate Receptors*. Ann N Y Acad Sci, 1993. **707**: p. 153-164.
160. Liu, T.H. v.d. , *Polyethylene Glycol-Conjugated Superoxide Dismutase and Catalase Reduce Ischemic Brain Injury*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 1989. **256**(2): p. H589-H593.
161. Cioanca, O. v.d. , *Anti-Acetylcholinesterase and Antioxidant Activities of Inhaled Juniper Oil on Amyloid Beta (1-42)-Induced Oxidative Stress in the Rat Hippocampus*. Neurochemical research, 2015. **40**(5): p. 952-960.
162. Manta, S. v.d. , *Novel Attempts to Optimize Vagus Nerve Stimulation Parameters on Serotonin Neuronal Firing Activity in the Rat Brain*. Brain stimulation, 2012. **5**(3): p. 422-429.
163. Burke, A.D. v.d. , *Diagnosing and Treating Depression in Patients with Alzheimer's Disease*. Neurol Ther, 2019. **8**(2): p. 325-350.
164. Steffens, D.C. v.d. , *Amnesic Mild Cognitive Impairment and Incident Dementia and Alzheimer's Disease in Geriatric Depression*. Int Psychogeriatr, 2014. **26**(12): p. 2029-2036.
165. Schiavone, S. v.d. , *Antidepressant Drugs for Beta Amyloid-Induced Depression: A New Standpoint? Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 2017. **78**: p. 114-122.
166. Morgese, M.G. v.d. , *Sub-Chronic Celecoxib Prevents Soluble Beta Amyloid-Induced Depressive-Like Behaviour in Rats*. Journal of affective disorders, 2018. **238**: p. 118-121.
167. Tanila, H., *The Role of Bdnf in Alzheimer's Disease*. Neurobiology of Disease, 2017. **97**: p. 114-118.
168. Bierman, E.J.M. v.d. , *Symptoms of Anxiety and Depression in the Course of Cognitive Decline*. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders, 2007. **24**(3): p. 213-219.
169. Pentkowski, N.S. v.d. , *Anxiety-Like Behavior as an Early Endophenotype in the Tgf344-Ad Rat Model of Alzheimer's Disease*. Neurobiology of Aging, 2018. **61**: p. 169-176.
170. Pinz, M.P. v.d. , *Current Advances of Pharmacological Properties of 7-Chloro-4-(Phenylselanyl) Quinoline: Prevention of Cognitive Deficit and Anxiety in Alzheimer's Disease Model*. Biomedicine & Pharmacotherapy,

2018. **105**: p. 1006-1014.
171. Esmaeili, M.H. v.d. , *Atp-Sensitive Potassium-Channel Inhibitor Glibenclamide Attenuates Hpa Axis Hyperactivity, Depression- and Anxiety-Related Symptoms in a Rat Model of Alzheimer's Disease*. Brain Research Bulletin, 2018. **137**: p. 265-276.
  172. Aminyavari, S. v.d. , *Anxiolytic Impact of Apelin-13 in a Rat Model of Alzheimer's Disease: Involvement of Glucocorticoid Receptor and Fkbp5*. Peptides, 2019. **118**: p. 170102-170102.
  173. Pike, C.J. v.d. , *Neurodegeneration Induced by Beta-Amyloid Peptides in Vitro: The Role of Peptide Assembly State*. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience, 1993. **13**(4): p. 1676-1687.
  174. Harkany, T. v.d. , *B-Amyloid(Phe(So3h)24)25–35 in Rat Nucleus Basalis Induces Behavioral Dysfunctions, Impairs Learning and Memory and Disrupts Cortical Cholinergic Innervation*. Behavioural Brain Research, 1998. **90**(2): p. 133-145.
  175. Davies, S.J. v.d. , *Sequential Drug Treatment Algorithm for Agitation and Aggression in Alzheimer's and Mixed Dementia*. J Psychopharmacol, 2018. **32**(5): p. 509-523.
  176. Sekiguchi, K. v.d. , *Effects of Yokukansan and Donepezil on Learning Disturbance and Aggressiveness Induced by Intracerebroventricular Injection of Amyloid B Protein in Mice*. Phytother Res, 2011. **25**(4): p. 501-507.
  177. Popovi, M. v.d. , *Neuroprotective Effect of Chronic Verapamil Treatment on Cognitive and Noncognitive Deficits in an Experimental Alzheimer's Disease in Rats*. International Journal of Neuroscience, 1997. **92**(1-2): p. 79-93.
  178. Jirkof, P. v.d. , *The Effect of Group Size, Age and Handling Frequency on Inter-Male Aggression in Cd 1 Mice*. Scientific reports, 2020. **10**(1): p. 2253-2253.
  179. Falkner, A.L. v.d. , *Hypothalamic Control of Male Aggression-Seeking Behavior*. Nat Neurosci, 2016. **19**(4): p. 596-604.
  180. Bernardis, L.L. ve P.J. Davis, *Aging and the Hypothalamus: Research Perspectives*. Physiology & Behavior, 1996. **59**(3): p. 523-536.
  181. Benoit, M. v.d. , *Apathy and Depression in Mild Alzheimer's Disease: A Cross-Sectional Study Using Diagnostic Criteria*. Journal of Alzheimer's disease : JAD, 2012. **31**(2): p. 325-334.
  182. Sipos, E. v.d. , *Beta-Amyloid Pathology in the Entorhinal Cortex of Rats Induces Memory Deficits: Implications for Alzheimer's Disease*. Neuroscience, 2007. **147**(1): p. 28-36.
  183. Sigurdsson, E.M. v.d. , *Bilateral Injections of Amyloid-Beta 25-35 into the Amygdala of Young Fischer Rats: Behavioral, Neurochemical, and Time Dependent Histopathological Effects*. Neurobiology of aging, 1997. **18**(6): p. 591-608.
  184. Schneider, F. v.d. , *Behavioral and Eeg Changes in Male 5xfad Mice*. Physiology & behavior, 2014. **135**: p. 25-33.
  185. Thomas, P. v.d. , *Family, Alzheimer's Disease and Negative Symptoms*. Int J Geriatr Psychiatry, 2001. **16**(2): p. 192-202.
  186. Bromley-Brits, K. v.d. , *Morris Water Maze Test for Learning and Memory Deficits in Alzheimer's Disease Model Mice*. J Vis Exp, 2011(53): p. 2920.
  187. Yamada, K. v.d. , *Protective Effects of Idebenone and Alpha-Tocopherol on Beta-Amyloid-(1-42)-Induced Learning and Memory Deficits in Rats:*

- Implication of Oxidative Stress in Beta-Amyloid-Induced Neurotoxicity in Vivo.* Eur J Neurosci, 1999. **11**(1): p. 83-90.
188. Yamada, K. v.d. , *Improvement by Nefiracetam of Beta-Amyloid-(1-42)-Induced Learning and Memory Impairments in Rats.* Br J Pharmacol, 1999. **126**(1): p. 235-244.
189. Ham, S. v.d. , *Big Data Analysis of Genes Associated with Neuropsychiatric Disorders in an Alzheimer's Disease Animal Model.* Front Neurosci, 2018. **12**: p. 407-407.
190. Takagi, S. v.d. , *Subchronic Pharmacological and Chronic Genetic Nmda Receptor Hypofunction Differentially Regulate the Akt Signaling Pathway and Arc Expression in Juvenile and Adult Mice.* Schizophr Res, 2015. **162**(1-3): p. 216-221.
191. Hardy, J. ve D.J. Selkoe, *The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics.* Science (New York, N.Y.), 2002. **297**(5580): p. 353-356.
192. Danysz, W. ve C.G. Parsons, *Alzheimer's Disease, B-Amyloid, Glutamate, Nmda Receptors and Memantine--Searching for the Connections.* Br J Pharmacol, 2012. **167**(2): p. 324-352.
193. Sil'kis, I.G., *What Are the Mechanisms Underlying the Involvement of Different Subtypes of Nmda Receptors in Inducing Long-Term Potentiation and Depression in the Hippocampus?* Neurosci Behav Physiol, 2007. **37**(5): p. 477-480.
194. Yang, R.-Y. v.d. , *Dl0410 Can Reverse Cognitive Impairment, Synaptic Loss and Reduce Plaque Load in App/Ps1 Transgenic Mice.* Pharmacol Biochem Behav, 2015. **139**(Pt A): p. 15-26.
195. Wang, K. v.d. , *Oleanolic Acid Ameliorates A $\beta$ 25-35 Injection-Induced Memory Deficit in Alzheimer's Disease Model Rats by Maintaining Synaptic Plasticity.* CNS Neurol Disord Drug Targets, 2018. **17**(5): p. 389-399.
196. Chang, K.-W. v.d. , *Modulation of the Mapks Pathways Affects A $\beta$ -Induced Cognitive Deficits in Alzheimer's Disease Via Activation of A7nachr.* Neurobiology of Learning and Memory, 2020. **168**: p. 107154.
197. Karthick, C. v.d. , *Time-Dependent Effect of Oligomeric Amyloid-B (1-42)-Induced Hippocampal Neurodegeneration in Rat Model of Alzheimer's Disease.* Neurol Res, 2019. **41**(2): p. 139-150.
198. Head, E., *Oxidative Damage and Cognitive Dysfunction: Antioxidant Treatments to Promote Healthy Brain Aging.* Neurochemical research, 2009. **34**(4): p. 670-678.
199. Case, A.J., *On the Origin of Superoxide Dismutase: An Evolutionary Perspective of Superoxide-Mediated Redox Signaling.* Antioxidants (Basel), 2017. **6**(4): p. 82.
200. Vasilaki, A. ve M.J. Jackson, *Role of Reactive Oxygen Species in the Defective Regeneration Seen in Aging Muscle.* Free Radic Biol Med, 2013. **65**: p. 317-323.
201. Oyatsi, F. ve C.G. Whiteley, *Interaction of Superoxide Dismutase with the Glycine Zipper Regions of B-Amyloid Peptides: Is There an Implication Towards Alzheimer's Disease and Oxidative Stress?* J Enzyme Inhib Med Chem, 2013. **28**(4): p. 727-733.
202. Bray, G.A. v.d. , *Consumption of High-Fructose Corn Syrup in Beverages May*



- Play a Role in the Epidemic of Obesity.* Am J Clin Nutr, 2004. **79**(4): p. 537-543.
203. Bray, G.A., *Soft Drink Consumption and Obesity: It Is All About Fructose.* Curr Opin Lipidol, 2010. **21**(1): p. 51-57.
204. Bocarsly, M.E. v.d. , *High-Fructose Corn Syrup Causes Characteristics of Obesity in Rats: Increased Body Weight, Body Fat and Triglyceride Levels.* Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2010. **97**(1): p. 101-106.
205. Meakin, P.J. v.d. , *Bace1-Dependent Amyloid Processing Regulates Hypothalamic Leptin Sensitivity in Obese Mice.* Scientific reports, 2018. **8**(1): p. 55-55.
206. Tamagno, E. v.d. , *The Various Aggregation States of B-Amyloid 1–42 Mediate Different Effects on Oxidative Stress, Neurodegeneration, and Bace-1 Expression.* Free Radical Biology and Medicine, 2006. **41**(2): p. 202-212.
207. Gancheva, S. v.d. , *Diets Rich in Saturated Fat and Fructose Induce Anxiety and Depression-Like Behaviours in the Rat: Is There a Role for Lipid Peroxidation?* Int J Exp Pathol, 2017. **98**(5): p. 296-306.
208. Xia, M. v.d. , *Mechanism of Depression as a Risk Factor in the Development of Alzheimer's Disease: The Function of Aqp4 and the Glymphatic System.* Psychopharmacology, 2017. **234**(3): p. 365-379.
209. Benga, O. ve V.J. Huber, *Brain Water Channel Proteins in Health and Disease.* Molecular Aspects of Medicine, 2012. **33**(5): p. 562-578.
210. Ewida, S.F. ve D.R. Al-Sharaky, *Implication of Renal Aquaporin-3 in Fructose-Induced Metabolic Syndrome and Melatonin Protection.* J Clin Diagn Res, 2016. **10**(4): p. CF06-CF11.
211. McCormick, C.M. ve I.Z. Mathews, *Hpa Function in Adolescence: Role of Sex Hormones in Its Regulation and the Enduring Consequences of Exposure to Stressors.* Pharmacol Biochem Behav, 2007. **86**(2): p. 220-233.
212. Hansen, C.C. v.d. , *Mechanisms Underlying Aggressive Behavior Induced by Antiepileptic Drugs: Focus on Topiramate, Levetiracetam, and Perampanel.* Behav Neurol, 2018. **2018**: p. 2064027-2064027.
213. Comai, S. v.d. , *The Psychopharmacology of Aggressive Behavior: A Translational Approachpart 1 Neurobiology.* J Clin Psychopharmacol, 2012. **32**(1): p. 83-94.
214. Comai, S. v.d. , *The Psychopharmacology of Aggressive Behavior: A Translational Approachpart 2 Clinical Studies Using Atypical Antipsychotics, Anticonvulsants, and Lithium.* J Clin Psychopharmacol, 2012. **32**(2): p. 237-260.
215. Franco-Pérez, J. v.d. , *Chronic Consumption of Fructose Induces Behavioral Alterations by Increasing Orexin and Dopamine Levels in the Rat Brain.* Nutrients, 2018. **10**(11): p. 1722.
216. Ross, A.P. v.d. , *A High Fructose Diet Impairs Spatial Memory in Male Rats.* Neurobiology of learning and memory, 2009. **92**(3): p. 410-416.
217. Ye, X. v.d. , *Habitual Sugar Intake and Cognitive Function among Middle-Aged and Older Puerto Ricans without Diabetes.* Br J Nutr, 2011. **106**(9): p. 1423-1432.
218. Sobocki, J. v.d. , *Influence of Vagal Nerve Stimulation on Food Intake and Body Weight--Results of Experimental Studies.* J Physiol Pharmacol, 2005. **56 Suppl 6**: p. 27-33.

219. Krolczyk, G. v.d. , *Effects of Continuous Microchip (Mc) Vagal Neuromodulation on Gastrointestinal Function in Rats*. J Physiol Pharmacol, 2001. **52**(4 Pt 1): p. 705-715.
220. Swierkosz-Lenart, K. v.d. , *Interventional Psychiatry in the Management of Behavioural and Psychological Symptoms of Dementia: A Qualitative Review*. Swiss Med Wkly, 2019. **149**: p. w20140-w20140.
221. Carreno, F.R. ve A. Frazer, *Activation of Signaling Pathways Downstream of the Brain-Derived Neurotrophic Factor Receptor, Trkb, in the Rat Brain by Vagal Nerve Stimulation and Antidepressant Drugs*. International Journal of Neuropsychopharmacology, 2014. **17**(2): p. 247-258.
222. Barry, J.J. v.d. , *Current Status of the Utilization of Antiepileptic Treatments in Mood, Anxiety and Aggression: Drugs and Devices*. Clinical EEG and Neuroscience, 2004. **35**(1): p. 4-13.
223. Furmaga, H. v.d. , *Serotonergic and Noradrenergic Pathways Are Required for the Anxiolytic-Like and Antidepressant-Like Behavioral Effects of Repeated Vagal Nerve Stimulation in Rats*. Biological psychiatry, 2011. **70**(10): p. 937-945.
224. Chavel, S.M. v.d. , *Long-Term Outcome of Vagus Nerve Stimulation for Refractory Partial Epilepsy*. Epilepsy & Behavior, 2003. **4**(3): p. 302-309.
225. George, M.S. v.d. , *A Pilot Study of Vagus Nerve Stimulation (Vns) for Treatment-Resistant Anxiety Disorders*. Brain Stimulation, 2008. **1**(2): p. 112-121.
226. Noble, L.J. v.d. , *Vagus Nerve Stimulation Promotes Generalization of Conditioned Fear Extinction and Reduces Anxiety in Rats*. Brain stimulation, 2019. **12**(1): p. 9-18.
227. Shah, A.P. v.d. , *Role of Trkb in the Anxiolytic-Like and Antidepressant-Like Effects of Vagal Nerve Stimulation: Comparison with Desipramine*. Neuroscience, 2016. **322**: p. 273-286.
228. Liu, S. v.d. , *Icariside Ii, a Phosphodiesterase-5 Inhibitor, Attenuates Beta-Amyloid-Induced Cognitive Deficits Via Bdnf/Trkb/Creb Signaling*. Cell Physiol Biochem, 2018. **49**(3): p. 985-985.
229. Spagnuolo, M.S. v.d. , *Brain Nrf2 Pathway, Autophagy, and Synaptic Function Proteins Are Modulated by a Short-Term Fructose Feeding in Young and Adult Rats*. Nutr Neurosci, 2018: p. 1-12.
230. Ostinelli, E.G. v.d. , *Risperidone for Psychosis-Induced Aggression or Agitation (Rapid Tranquillisation)*. Cochrane Database Syst Rev, 2018. **4**(4): p. CD009412-CD009412.
231. Magalotti, S.R. v.d. , *Understanding Chronic Aggression and Its Treatment in Children and Adolescents*. Curr Psychiatry Rep, 2019. **21**(12): p. 123-123.
232. Raedt, R. v.d. , *Increased Hippocampal Noradrenaline Is a Biomarker for Efficacy of Vagus Nerve Stimulation in a Limbic Seizure Model*. J Neurochem, 2011. **117**(3): p. 461-9.
233. Theleritis, C. v.d. , *Pharmacological and Nonpharmacological Treatment for Apathy in Alzheimer Disease : A Systematic Review across Modalities*. J Geriatr Psychiatry Neurol, 2017. **30**(1): p. 26-49.
234. Li, M.-H. v.d. , *Amphetamine and Methamphetamine Increase Nmdar-Glun2b Synaptic Currents in Midbrain Dopamine Neurons*. Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of

- Neuropsychopharmacology, 2017. **42**(7): p. 1539-1547.
235. Sanders, T.H. v.d. , *Cognition-Enhancing Vagus Nerve Stimulation Alters the Epigenetic Landscape*. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience, 2019. **39**(18): p. 3454-3469.
  236. Liu, A.-f. v.d. , *Effects of Vagus Nerve Stimulation on Cognitive Functioning in Rats with Cerebral Ischemia Reperfusion*. J Transl Med, 2016. **14**: p. 101-101.
  237. Bannerman, D.M. v.d. , *Hippocampal Synaptic Plasticity, Spatial Memory and Anxiety*. Nature Reviews Neuroscience, 2014. **15**(3): p. 181-192.

## 8. EKLER



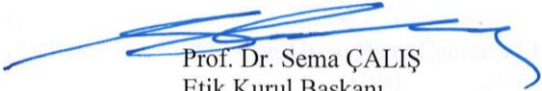
**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 52338575 - 46

**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI**

<b>TOPLANTI TARİHİ</b>	: 12.03.2019 (SALI)
<b>TOPLANTI SAYISI</b>	: 2019/03
<b>DOSYA KAYIT NUMARASI</b>	: 2018/73 (1. Onay Tarihi : 04.12.2018)
<b>KARAR NUMARASI</b>	: 2018/03 – 5
<b>ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ</b>	: Prof. Dr. Yıldırım SARA
<b>HAYVAN DENEYLERİNDE</b>	Dr. Metin YEŞİLTEPE, Prof. Dr. Yıldırım SARA
<b>GÖREVLİ ARAŞTIRMACILAR</b>	:
<b>DİĞER YARDIMCI</b>	:
<b>ARAŞTIRMACILAR</b>	:
<b>ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve</b>	<b>120 Adet Wistar Sıçan (250g)</b>
<b>SAYISI</b>	:

Kurulumuzun 04.12.2018 tarihli toplantısında 2018/73 kayıt numarası ile onaylanmış olan Üniversitemiz Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Yıldırım SARA'nın araştırma yürütücüsü olduğu "*Vagal Sinir Uyarımı ve Fruktoz Tüketiminin Alzheimer Modelinde Öğrenme-Bellek ve Duygudurum Fonksiyonları Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi*" isimli projesi için verilen 07.03.2019 tarihli başlık değişikliği dilekçesi Kurulumuzun 12.03.2019 tarihli toplantısında değerlendirilmiş ve **uygun bulunmuştur**. Araştırmanın başlığı "*Alzheimer Hastalığına Eşlik Eden Nöropsikiyatrik Semptomlara Yeni Yaklaşımlar: Tedavide Vagal Sinir Uyarımı ve Etiyolojide Fruktoz Tüketimi*" olarak değiştirilmiş ve kayıtlarımıza eklenmiştir. Kurul üyesi Prof. Dr. Yıldırım SARA çıkar çatışması nedeniyle tartışma ve oylamaya katılmamıştır.

  
 Prof. Dr. Sema ÇALIŞ  
 Etik Kurul Başkanı