

**MK-801'LE OLUŞTURULAN BEYİN
HASARINA KARŞI DİYETE KATILAN
CEVİZİN KORUYUCU ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

Gizem Gül İNCEOĞLU
HİSTOLOĞİ VE EMBRİYOLOĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Murat Sırrı AKOSMAN

T.C
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MK-801 İLE OLUŞTURULAN BEYİN HASARINA KARŞI DİYETE
KATILAN CEVİZİN KORUYUCU ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Hazırlayan
Gizem Gül İNCEOĞLU

Danışman
Doç. Dr. Murat Sırrı AKOSMAN

Tez No: 2022-009

AFYONKARAHİSAR

**Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Proje Araştırmaları Koordinasyon
Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir. Proje No: "21.SAĞ.BİL.03"**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda** Gizem Gül İNCEOĞLU tarafından hazırlanan "MK-801'LE OLUŞTURULAN BEYİN HASARINA KARŞI DİYETE KATILAN CEVİZİN KORUYUCU ETKİLERİNİN İNCELENMESİ" adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 18/03/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir

Başkan

Prof. Dr. Tolga ERTEKİN

Üye

Dr. Öğr. Üyesi

Hasan Hüseyin DEMİREL

Üye

Doç. Dr.

Murat Sırrı AKOSMAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

..... / / tarih ve

..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

11/04/2022

İmza

Gizem Gül İNCEOĞLU

ÖZET

MK-801'LE OLUŞTURULAN BEYİN HASARINA KARŞI DİYETE KATILAN CEVİZİN KORUYUCU ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Sinir sistemi hastalıkları hastayı olduğu kadar toplumun da yaşam kalitesini etkilemektedir. Yaşam kalitesindeki bozuklukların yanı sıra hastalıkların tedavi süreçleri de, ekonomiye önemli bir yük getirmektedir. Bundan dolayı oluşturulan hayvan modelleri üzerinde çeşitli koruyucu tedavi yöntemleri denenerek hastalıklar daha başlamadan önlenmeye çalışılmaktadır. Sinir sistemi üzerinde son yıllarda yapılan araştırmalar cevizin faydalı etkisinin olabileceğini ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmada MK-801 kimyasalıyla oluşturulan deney modelinde BALB/C farelerde beyin hasarı gerçekleştirilmiştir. Çalışma her grupta 8 erkek BALB/C fare olacak şekilde 5 gruptan oluşmaktadır. Gruplar; kontrol grubu, %9 ceviz grubu, MK-801 grubu, %6 ceviz+MK-801 ve %9 ceviz+MK-801 gruplarından oluşmaktadır. Çalışmada kontrol grubu ile MK-801 grubu normal yemle, %9 ceviz grubu yemine %9 oranında ceviz katılan yemle, %6 ceviz+MK-801 grubu yemine %6 oranında ceviz katılan yemle ve %9 ceviz+MK-801 grubu da yemine %9 oranında ceviz katılan yemle 1 ay boyunca beslenmiştir. Besleme süresi boyunca hayvanlara herhangi bir ilaç uygulaması yapılmamıştır. Bu süre sonunda MK-801, %6 ceviz+MK-801 ve %9 ceviz+MK-801 gruplarına 14 gün boyunca intraperitoneal yolla MK-801 (1mg/kg) uygulanmıştır. Aynı süre boyunca kontrol ve %9'luk ceviz gruplarına da fizyolojik tuzlu su (10 ml/kg) uygulaması yapılmıştır. Deneylemlerden sonra tüm hayvanlar sakrifiye edilip beyin hücrelerinde apoptozis ve demiyelinizasyona bakılmıştır. Hücrelerde apoptozisin gözlenmesi için Tunel boyası,

miyelin tabakası için de Kluver-Barrera ve miyelin temel protein boyaları kullanılmıştır. Değerlendirmelerde ceviz yedirilen gruplarda istatistiksel olarak apoptozis ve demiyelinizasyonun MK-801 grubundan daha iyi olduğu ancak kontroller kadar iyi olmadığı gözlenmiştir. Hayvanların deney başlangıcı ve deney sonunda ki ağırlıkları karşılaştırıldığında ise ceviz yedirilen grupların ağırlıklarının diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak ceviz yemenin beyindeki dejenerasyona karşı nispeten iyi geldiği ancak kilo alımına da sebep olduğu görülmüştür. Gelecekte cevizin oranı azaltılarak farklı antioksidanlarla ya da çeşitli egzersiz uygulamalarıyla kombinasyonlarının yapılarak konunun derinlemesine araştırılmasının faydalı olacağına inanılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, Beyin, Ceviz, Demiyelinizasyon, Fare, MK-801

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECTS OF DIETARY WALNUT AGAINST THE MK-801 INDUCED BRAIN DAMAGE

The nervous system disorders affect the life quality of the society as much as the patient. Nervous system disorders economics has developed rapidly over recent decades. Protection from the disorders become more important recently because of the economic burden. Therefore some animal models were developed, and various treatments were tested. The walnut was administered protective aimed in this study is one of the recent protective treatment method because of its antioxidant and anti-inflammatory ingredients, primarily. The MK-801 preferred model in this study is the important neurotoxic chemical. It causes degeneration in the brain. The aim of this study is to observe the protective effect of the dietary walnut against the brain degeneration induced with the MK-801. The present study consist of the 5 groups of 40 male mice. All the mice were distributed to the groups equally. The groups formed with the control group, 9% dietary walnut group, MK-801 group, 6% dietary walnut+MK-801 group and 9% dietary walnut+MK-801 group. While the control and MK-801 groups were fed with the normal mice diet, the 6% and %9 dietary walnut groups were fed with the walnuts added to the daily diet for 1 month. The MK-801, 6% dietary walnut+MK-801 group and 9% dietary walnut+MK-801 group's were injected 1mg/kg walnut and control and 9% groups were injected 10ml/kg physiological saline during 14 days after the feedings. Apoptosis and demyelination were evaluated after the sacrifice of the animals at the end of the trials. Apoptotic cells were stained with the Tunnel method and the myelin sheet was stained both with the Kluver-Barrera and

myelin basic protein stains. The values of the apoptosis and demyelination were between the control and MK-801 groups, statistically significant. The protective activity of the walnut groups were better than the MK-801 group however, not as good as controls. Besides these findings the walnut adding to the daily diet was gained the animal weights, statistically. In conclusion, the walnut added to the daily diet causes the gain weight whereas relatively protect the brain degeneration. The combination of the lower walnut diet with the other antioxidants or gym training may consider in the following studies.

Keywords: Apoptosis, Brain, Demyelination, Mice, MK-801, Walnut

ÖNSÖZ

Akademik hayatın başlangıcı olan yüksek lisans eğitimim boyunca danışman hocam olarak bana her koşulda desteğini gösteren Doç. Dr. Murat Sırrı AKOSMAN'a, engin bilgi ve yönlendirmeleri ile her zaman yanımda olan Anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Korhan ALTUNBAŞ'a, her daim bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÖZDEN AKKAYA'ya, akademik destekleri ve özverilerini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Hasan Hüseyin DEMİREL'e ve Doç. Dr. Ruhi TÜRKMEN'e, Anabilim dalımızda görevli Arş. Gör. Elif Ece AKGÜN'e, Dr. Tayfun DİKMEN'e, bu süreçte her daim yanımda olan Veteriner Hekim Ali Rıza UZUNAY'a ve bana inanarak bugünlere gelmemi sağlayan aileme çok teşekkür ederim.

Gizem Gül İNCEOĞLU

Afyonkarahisar

2022

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	I
SUMMARY	III
ÖNSÖZ SAYFASI	V
İÇİNDEKİLER	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
RESİMLER	IX
TABLolar	X
1. GİRİŞ	1
1.1. Sinir Sistemi ve Hastalıkları	1
1.2. Sinir Sistemi Anatomi ve Histolojisi	1
1.2.1. Merkezi Sinir Sistemi	3
1.2.1.1. Beyin	3
1.3. MK-801 ve Sinir Sistemi Üzerine Etkileri	5
1.4. Apoptozis	6
1.4.1. Tunel metodu ile apoptozisin belirlenmesi	7
1.5. Ceviz ve sinir sistemine etkileri	7
2. MATERYAL VE METOT	9
2.1. Fareler	9
2.2. Gruplar ve Uygulamalar	9
2.3. Histolojik İncelemeler	10
2.3.1. Kluver-Barrera Boyası	10
2.3.2. Tunel Boyama	11
2.3.3. Miyelin Temel Protein Boyama	12
2.4. İstatistik	12
3. BULGULAR	13
3.1. Ağırlık Sonuçları	13
3.2. Miyelin Tabakasının Boyanması	15
3.2.1. Kluver-Barrera Boyasıyla Boyanma	15
3.2.2. Miyelin Temel Protein Boyasıyla Boyanma	20

3.3. Tunel Metoduyla Beynin Boyanması	24
4. TARTIŞMA	30
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	33
6. KAYNAKLAR	34
7. EKLER	40
7.1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı	40
ÖZGEÇMİŞ	41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%: Yüzde

µm: mikrometre

5-HT: 5-hidroksi triptaminin

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AChE: asetilkolinesteraz

AEC: 3-amino 9-etil karbozol

Ag: Gümüş

ALA: alfa-lineoleik asit

CAPE: caffeic acid phenethyl ester

DNA: Deoxyribonucleic acid

dUTP: Deoxyuridine triphosphate

FTS: fizyolojik tuzlu su

GABA: Gama Aminobütirik Asit

g : gram

i.p: intraperitoneal

kg: kilogram

LA: lineoleik asit

MBP: Miyelin Temel Protein

Mg: Magnezyum

mg: miligram

ml: mlilitre

MS: Multiple Sclerosis

NMDA: N-metil D-aspartat

PBS: Fosfat Tamponlu Salin

Se: Selenyum

sn: saniye

T.C. : Türkiye Cumhuriyeti

Tdt: Terminal deoxynucleotidyl transferase

Zn: Çinko

RESİMLER

	SAYFA
Resim 1.1 Multipolar nöronun yapısı	2
Resim 1.2 Beynin dış kısmını kaplayan gri bölge-korteks	3
Resim 1.3 Miyelinli sinir liflerinin oluşturduğu tabaka	5
Resim 3.1 Beynin longitudinal kesiti-Kontrol grubu	15
Resim 3.2 Beynin longitudinal kesiti-%9'luk ceviz grubu	16
Resim 3.3 Beynin longitudinal kesiti-MK-801 grubu	17
Resim 3.4 Beynin longitudinal kesiti-%6 ceviz ve MK-801 grubu	18
Resim 3.5 Beynin longitudinal kesiti-%9 ceviz ve MK-801 grubu	19
Resim 3.6 Corpus callosum'un (ok) miyelin temel boyasıyla boyanması- Kontrol grubu	20
Resim 3.7 Corpus callosum'un (ok) miyelin temel boyasıyla boyanması- %9'luk ceviz grubu	21
Resim 3.8 Corpus callosum'un (ok) miyelin temel boyasıyla boyanması MK- 801 grubu	22
Resim 3.9 Corpus callosum'un (ok) miyelin temel boyasıyla boyanması-%6 ceviz ve MK-801 grubu	23
Resim 3.10 Corpus callosum'un (ok) miyelin temel boyasıyla boyanması-%9 ceviz ve MK-801 grubu	24
Resim 3.11 Beynin Tunel metoduyla boyanması-Kontrol grubu	25
Resim 3.12 Beynin Tunel metoduyla boyanması-%9'luk ceviz grubu	26
Resim 3.13 Beynin Tunel metoduyla boyanması-MK-801 grubu	27
Resim3.14 Beynin Tunel metoduyla boyanması-%6 ceviz ve MK-801 grubu	28
Resim 3.15 Beynin Tunel metoduyla boyanması-%9 ceviz ve MK-801 grubu	29

TABLÖLAR

	SAYFA
Tablo 3.1 Çalışmaya başlamadan önce hayvanların ağırlıkları ve çalışma bittiği andaki ağırlıkları	13
Tablo 3.2 Sakrifikasyondan sonra hayvanların beyin ağırlıkları	14
Tablo 3.3 Miyelin temel boyasıyla boyanma yoğunluğunun değerlendirilmesi	19
Tablo 3.4 Apoptik hücrelerin değerlendirilmesi	29

1. GİRİŞ

1.1. Sinir Sistemi ve Hastalıkları

Sinir sisteminde oluşan kronik ve şiddetli rahatsızlıklar bireyin anormal davranışlar sergilemesine sebep olur. Hasta da düşünce bozuklukları, sanrılar ve kavramsal eksiklikler ortaya çıkar. Bunların sonucunda da sosyal davranışları altüst olur. Bu sebeple hastanın yaşam kalitesi düşer ve çevresi de bu durumdan olumsuz etkilenir. Depresyondan Şizofreni hastalığına, Alzheimer'den Parkinson'a sinirsel rahatsızlıklar dünya üzerinde oldukça yaygındır. Bu hastalıklar kişinin yaşam kalitesini bozarken tedavi sürecinin maliyeti de inanılmaz boyutlara yükselebilmektedir. Bu boyut dünya çapında milyarlarca dolara kadar ulaşabilmektedir. Dünya sağlık örgütünün araştırmalarına göre sinirsel hastalıkların maliyeti kanser ve dolaşım sistemi rahatsızlıklarının maliyetinden daha fazladır. Bu sebeple topluma bu dereceli yük getiren bu hastalıkların daha başlamadan önce engellenmesi için gerekli araştırmalara yüksek öncelik verilmektedir (Lewis ve Liberman, 2000; Kruk-Slomka vd., 2016; Knapp ve Wong, 2020).

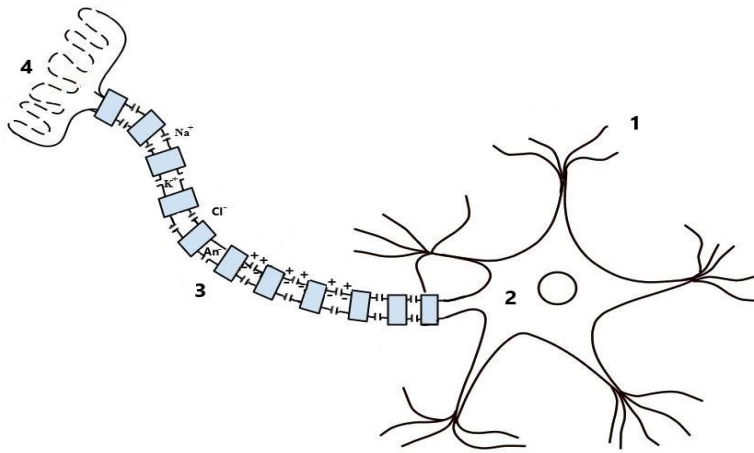
Böylece bilim adamları hastalıklar daha ortaya çıkmadan önleme yollarını araştırmaya başlamışlardır. Bunun içinde çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Bilim adamları çeşitli kimyasalların deney hayvanlarının beyinlerinde çeşitli bölgelerde uygulama yolu ve dozuna bağlı olarak dejenerasyonlara sebep olabileceğini görmüştür. Bu dejenerasyonlar incelendiğinde sinirsel hastalıklara benzer şekilde etki gösteren kimyasallar deney hayvanları üzerinde hastalıkların modellenmesinde kullanılmaya başlanmıştır (Yu vd., 2011; Xiu vd., 2014; Kruk-Slomka vd., 2016).

1.2. Sinir Sistemi Anatomi ve Histolojisi

Sinir sistemi, organizmanın kendi iç ve dış ortamdan gelen etkilere karşı verdiği yanıtın oluşumunu sağlayan, vücudun tüm sistemlerini ve fonksiyonlarını koordine eden ve böylece canlının tek ve bütün bir şekilde yönetilmesini sağlayan bir sistemdir. Sinir sistemi kendi arasında merkezi ve periferik sinir sistemi olmak üzere iki bölüme ayrılır. Merkezi sinir sistemi beyin ve omurilikten oluşurken periferik sinir sistemi ise beyin ve omurilikten köken alarak vücuda dağılan sinir lif ağlarından ve ganglionlardan oluşmaktadır (Boggs, 2006; Matute ve Ransom, 2012).

Yapısal olarak sinir sistemi, sinir hücreleri yani nöronlar ve nöronları destekleyen, beslenmelerini sağlayan, koruyan, beyin omurilik sıvısının ve miyelin kılıfın üretilmesini sağlayan ve glia hücreleri olarak adlandırılan başlıca iki tip hücreden oluşur. Nöronlar karmaşık yapısal özellik gösteren işlevsel birimlerdir. Çevresel uyarılara karşı zarlarının iç ve dış yüzeyleri arasında bulunan elektriksel potansiyel farklarını değiştirerek tepki gösterirler. Uyarıları alıp iletmek, iletirmek, belli hücreler etkileri başlatmak, nörotransmitter veya diğer bilgisel molekülleri salgılamaktan sorumludurlar (Boggs, 2006; Matute ve Ransom, 2012).

Çoğu nöron hücre gövdesi, akson, dentrit ve sinaptik terminaller olmak üzere dört kısımdan oluşur (Resim 1.1). Hücre gövdesi tüm hücrenin beslenmesiyle ve içinde nörotransmitterleri barındıran keseciklerin yapımıyla görevlidir. Dentritler ise diğer nöronlardan gelen sinir uyarılarının hücre gövdesine iletilmesini sağlar. Akson ise tek bir uzantıdır, gelen sinir uyarısını diğer hücrelere iletmek üzere özelleşmiştir. Aksonun uç noktaları dallanır ve buradan diğer nöronlarla sinaps yapar. Nöron, sinaps aracılığıyla hücresel bilgiyi kendinden sonra gelen hücreye aktarır. Nöronların sinaps yaptıkları bölgelerine de sinaptik terminaller denir (Halterman, 2004).



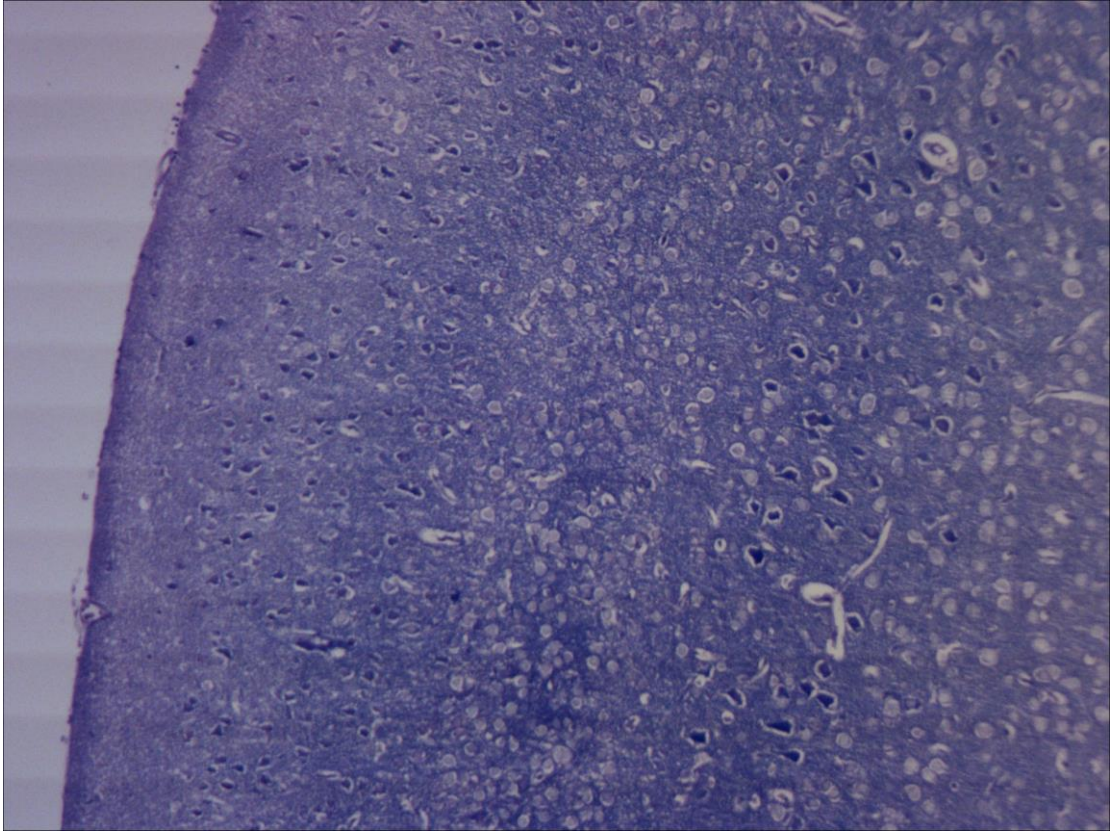
Resim 1.1: Multipolar nöronun yapısı. 1. Dentrit 2. Hücre gövdesi 3. Akson 4. Presinaptik terminaller.

1.2.1. Merkezi Sinir Sistemi

Merkezi sinir sistemi, cavum cranii ve canalis vertebralis içinde bulunur. Beyin bütünüyle cavum cranii içinde yer almıştır (Graaf, 2002).

1.2.1.1. Beyin

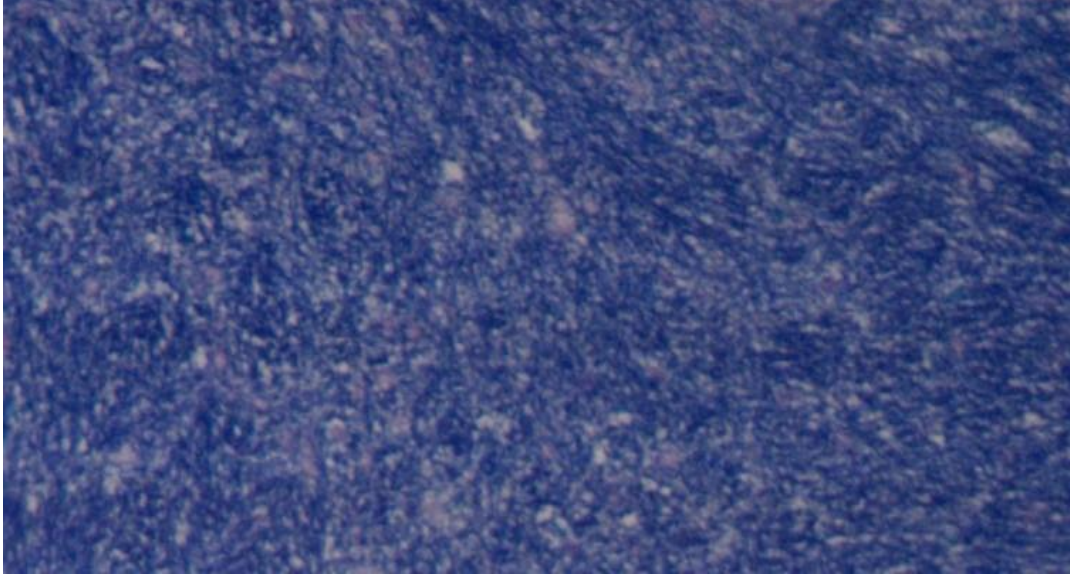
Merkezi sinir sisteminin en önemli komuta noktası olan beyin iki ana bölümden oluşur. Önde beyin isimli büyük bir yapı, onun hemen arkasında da beyinden bir yarıkla ayrılan nispeten daha küçük beyincik yer alır (Graaf, 2002). Beyin incelendiği zaman gri ve beyaz renkli bölgelerden oluştuğu görülür. Gri madde (substantia grisea), beyinde genelde korteks denilen dış kısmı oluştururken beyaz madde (substantia alba) ise iç kısımları oluşturur. Gri maddede hücre gövdeleri ve dentritler, beyaz madde de ise aksonlar ve glial hücreler bulunur (Resim 1.2 ve 1.3), (Graaf, 2002).



Resim 1.2: Beynin dış kısmını kaplayan gri madde.

Beyin derin sagittal bir yarık (fissura longitudinalis cerebri) ile sağ ve sol iki hemisfere ayrılır. Her bir beyin hemisferi ise lobus frontalis, lobus temporalis, lobus parietalis, lobus occipitalis ve lobus limbicus olmak üzere beş bölümden oluşur. Beyin hemisferleri dışarıdan cortex cerebri olarak da adlandırılan gri madde tabakasından oluşur. Onun hemen altında beyaz madde yani beyaz madde yer alır. Beyaz maddenin içerisinde nöron hücre gruplarının oluşturduğu bazal çekirdekler (nuclei basales) bulunur. Cortex cerebri'de nöron gövdeleri yoğun olarak bulunurken aksonlar korteksin derininde beyaz maddede yer almaktadır ve bu nedenle hemisferlerin inspeksiyonunda gri madde dışta, beyaz madde de içte gözlenir. Omurilikte ise bu durum tam tersidir (Graaf, 2002).

Beyaz madde, glialar ve miyelinli sinir liflerinden oluşur (Taner, 2011; Snell, 2017). Bir glial hücre olan oligodentrositler merkezi sinir sisteminde miyelin tabakasının yapımından sorumludur. Miyelin kılıf ise aksonların etrafını sıkıca sararak nöronlar arasında oluşan iletinin akson boyunca hızlı ve kayıpsız şekilde gerekli noktaya ulaşmasını sağlamaktadır (Resim 1.3). Miyelin kılıf beyaz, %70 lipid ve %30 proteinden oluşan yağsı materyaldir. Beyinde miyelin tabakasından en zengin bölgelerden biri olan corpus callosum beynin iki ana hemisferini de birbirine bağlamakta ve veri alışverişine olanak sağlamaktadır. Merkezi sinir sisteminde en sık bulunan ikinci protein olan miyelin temel protein (MBP) miyelin kılıfın toplam proteininin %30'unu ve kuru ağırlığının %10'unu oluşturur. Beyaz madde de yaşanan problemler, aksonlarda ileti bozukluklarına ve sonrasında psikiyatrik hastalıklardan motorik sistemde zafiyete kadar pek çok problemle sonuçlanabilmektedir (Boggs, 2006; Matute ve Ransom, 2012).



Resim 1.3: Miyelinli sinir liflerinin oluşturduğu tabaka-beyaz madde.

Yapılan araştırmalar sinirsel hastalıkların beyin bazı bölgelerinde yaşanan dejenerasyonlar sonucunda ortaya çıktığını göstermiştir. Bu dejenerasyonlara örnek olarak sinir hücrelerinde atrofi, apoptozis, sinir yoğunluklarında değişiklikler, nörotransmitter madde salınımında anormallikler görülür. Mikroskopik incelemelerde, sinaps sorunları, nöronların boyutunda, dentrit diken yoğunluğunda ve dentrit uzunluğunda küçülmeler olduğu saptanmıştır. Beyaz maddede oligodentrosit disfonksiyonu ve buna bağlı olarak miyelin tabakasında küçülmeler gözlenir (Xiu vd., 2014).

1.3. MK-801 ve Sinir Sistemi Üzerine Etkileri

Beyinde nöronlar elektriksel ve kimyasal sinapslarla haberleşirler. Kimyasal sinapslarda asetilkolin, monaminler, glisin, GABA ve glutamik asit gibi nörotransmitter maddeleri kullanırlar (Carey, 2002). Glutamat, beyinde bulunan en büyük uyarıcı nörotransmitterdir (Zhou ve Danbolt, 2014). Reseptörleri, beyin ve omurilikteki nöronlarla, glial hücrelerde oldukça yaygın bir şekilde bulunan glutamat, pek çok fizyolojik fonksiyonun da uygun bir şekilde yönetilmesine aracılık etmektedir. N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörleri ise beyinde glutamatın ana reseptörlerinde birisidir (Institute of Medicine, 2011). Glutamat salınım mekanizmasındaki bozulmalar, glutamaterjik taşıyım ile ilgili olan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin hipofonksiyonuyla yakından ilişkilidir (Javitt, 2007). Bloke olmuş NMDA reseptörleri

beyin kabuğunda aşırı miktarda glutamat salınımına sebep olur (Moghaddam vd., 1997; Javitt, 2007; Kruk-Slomka vd., 2016).

MK-801 isimli kimyasal çeşitli psikiyatrik rahatsızlıkların deney hayvanları üzerindeki modellenmesinde kullanılan merkezi sinir sisteminde glutamat kategorisinde NMDA antagonisti olan kimyasal bir ajandır (Yu vd., 2011; Xiu vd., 2014, 2015; Kruk-Slomka vd., 2016; Akosman vd., 2021). MK-801 kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçmektedir. MK-801 uygulamaları psikotik davranışlarla beraber beyin çeşitli bölgelerinde doza ve kullanım sayısına bağlı olarak beyinde demiyelinizasyon ve nörodejenerasyona yol açabilmektedir (Zhang vd., 1996; Horváth vd., 1997; Kovacic ve Somanathan, 2010; Xiu vd., 2014, 2015). Oligodentrositler beyinde miyelin kılıf yapımından sorumlu hücrelerdir ve yapısında fonksiyonel NMDA reseptörleri bulundurmaktadır. Araştırmalar MK-801 uygulanan fare beyinlerinde oligodentrosit disfonksiyonu ve buna bağlı olarak miyelin kılıf üretim problemleri, aksonların boylarında kısalma ve çaplarında küçülme gibi çeşitli demiyelinizasyon sorunları oluştuğunu göstermiştir (Xiu vd., 2014, 2015; He vd., 2020). Yapılan çalışmalar da MK-801 uygulamalarının MBP salınımında da azalmaya sebep olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, beyin korteksinde de nörodejenerasyona yol açabilmektedir. Bu dejenerasyon beyin korteksinde nöronlarda apoptosis görülmesine kadar gidebilmektedir (Horváth vd., 1997; Kovacic ve Somanathan 2010; Xiu vd., 2014, 2015).

Kluver-Barrera beyinde beyaz maddeyi göstermede kullanılan bir boyadır. İçeriğinde bulunan luxol-fast boyası beyindeki beyaz maddeyi mavi renge boyamaktadır. Günümüzde bu boya beyinde demiyelinizasyonun derecesini göstermek içinde kullanılmaktadır (Xiang vd., 2005; Kipp vd., 2011; Abdel-Aziz vd., 2021). Araştırmacılar çeşitli antioksidanların beyin dejenerasyon modellerinde ki işlevselliğini anlamada Kluver-barrera boyasından faydalanmışlardır (Sun vd., 2005; Abdel-Aziz vd., 2021). Apoptotik hücre saptanması da hayvan modellerinde önemli bir safhadır. Kluver-barrera ve Tunel metodları beyin dejenerasyonunu değerlendirme de kullanılan iki önemli boyama metodudur (Lee vd., 2009; Hesse vd., 2010). Diğer bir immunohistokimya metodu olan miyelin temel protein boyası ise beyin beyaz maddesinde MK-801 ile oluşturulan demiyelinizasyonu araştıran çalışmalarda demiyelinizasyonun varlığını saptamada kullanılmıştır (Xiu vd., 2014).

1.4. Apoptozis

Nekroz ve apoptozis hücreleri ölüme sürükleyen iki farklı süreçtir. Nekroz oksijen azlığı, ısı değişimleri ve zehirlenmeler gibi sadece hücre içi değil hücre dışındaki fiziksel ve kimyasal sebeplerle birlikte travmatik olgulara bağlı olarak da şekillenebilir. Apoptozis ise ömrünü tamamlamış hasara uğramış ve artık metabolizmanın ihtiyacının kalmadığı hücrelerin programlı bir ölümüdür. Nekroz patolojik bir tanımken, apoptozis fizyolojik ya da patolojik dış etkenlere bağlı olarak da görülebilir. Aşırı oranda apoptozis nörodejeneratif hastalıklara zemin hazırlarken azalması da tümör oluşumu ve otoimmün dejenerasyonlara sebep olur. Apoptozis sinirsel hastalık olan Alzheimer, Parkinson ve Şizofreni de sıkça gözlemlenmiştir (Thompson, 1999).

1.4.1. Tunel metodu ile apoptozisin belirlenmesi

İşaretlenmiş nükleotidlerin tek-çift sarmalı olan DNA (deoxyribonucleic acid) kırıklarına bağlanmasıdır. DNA apoptozis görülen hücrede hızlıca parçalara ayrıldığından bir anda hücre içi kromatin bütünlüğü yok olur. Bu aşamadan sonra 3'-OH içeren DNA parçaları sayısı artar. Hücre içindeki Terminal deoxynucleotidyl transferase (Tdt) enzimi, ortama eklenen biotin dUTP'yi, parçalanmış DNA bölümlerinin açıkta kalmış olan 3'-OH uçlarına bağlanır. Biotin ile işaretlenen DNA kırıkları ortama floresans veren bir kimyasal ve avidin ilave edildiğinde artık görünür hale gelir (Hilton vd., 1997).

1.5. Ceviz ve Sinir Sistemine Etkileri

Dünya üzerinde ve Türkiye'de yetiştiriciliği yapılmakta olan kabuğu sert meyve türlerinden olan ceviz (*Juglans Regia L.*) ulaşımı kolay, besleyici, lezzetli ve sağlık açısından önemli bir besin olarak bilinmektedir. İçeriğinde insan sağlığı üzerine faydalı olan altmışa yakın besin öğeleri bulunur. Yüksek miktarda omega-3 ve omega-6 gibi çoklu doymamış yağ asitleri barındırdığı için diğer sert kabuklu meyvelerden öndedir. Beynin yaklaşık %60'ı bu yapısal karakterli yağlardan meydana gelmekte ve beyin korunması için yaklaşık omega-6/omega-3 (4/1) oranında alınması ve bu oranın yaklaşık olarak cevizde bulunması cevizin beyin için gerekli bir gıda olduğunu göstermektedir (Yehuda ve Carasso, 1993). Çoklu doymamış yağ asitleri vücut tarafından sentezlenemediği için diyetle alınması zorunludur. Bu özelliğinden dolayı

ceviz tüketiminin önemi oldukça fazladır. Ceviz 5-hidroksi triptaminin (5-HT) öncüsü olan zengin triptofan kaynağıdır (Young ve Gauthier, 1981; Brufau, Boatella ve Rafecas, 2006). Haider ve diğerleri cevizin hafızayı güçlendirmesini 5-HT'a bağlamışlardır. Ayrıca cevizin içerdikleri yağ asitleri arasında lineoleik asit, oleik asit, alfa-linolenik asitte bulunmaktadır. ABD Tarım Bakanlığı Ulusal Besin Veri Tabanına göre 100 g ceviz yaklaşık 38 g lineoleik asit (LA) ve 9 g alfa-lineoleik asit (ALA) içerir. Cevizlerin içeriğindeki LA ve ALA'nın motor ve bilişsel performansa katkı sağladıkları, diğer bileşenlerden E vitamini, folat ve polifenollerin ise orta derecede etki ettiği bulunmuştur (Colaric vd., 2005; Mora vd., 2007). Ceviz polifenoller bakımından zengindir ve çok sayıda ellagitannin içerir (Li vd., 2006; Ito vd., 2007). Ceviz polifenoller arasında ellagitanninlerin oksidatif stresi engellediği ve hücre sinyalizasyon kaskadını modüle ettiği bulunmuştur (Park vd., 2007). Ceviz polifenolünün sadece antioksidan ve anti-inflamatuar aktiviteyi arttırmayıp aynı zamanda internöronal sinyalizasyonu geliştirerek nörojenezi arttırdığı da bulunmuştur (Joseph vd., 2009; Poulouse vd., 2014). Ceviz bileşiminde yağda çözünen A, E ve suda çözünen B1, B2 ve C vitaminlerini de içermektedir. İçeriğinde bulunan melatonin seviyesi sayesinde tüm kuruyemişler arasında ilk (Pellegrini vd., 2006), antioksidan içerikli tüm diyet bitkileri arasında ise ikinci sırada yer alır (Halvorsen vd., 2002). Bu hormonun üretimi vücut yaşlandıkça azalır ve bu azalma ise antioksidan eksikliği ile ortaya çıkan serbest radikale bağlı hastalıkların da artmasına neden olabilmektedir. Melatoninin insan vücudunun kullanıma hazır formunu ise ceviz içermektedir. Ceviz tüketimi kandaki melatonin seviyesini ve toplam antioksidan kapasitesini artırır (Reiter, Manchester, Tan, 2005; Harandi vd., 2013). Ayrıca ceviz insan sağlığı açısından önemi olan magnezyum (Mg), çinko (Zn), selenyum (Se) ve beyin sağlığının korunması ile öğrenmede etkili olan gümüş (Ag) minerallerini içerir. Meyve türleri içerisinde Ag içeren tek meyve türünün ceviz olması tüketim önemini daha çok arttırmaktadır. Araştırmacılar ceviz ile beynin fiziki yapısının yanı sıra, cevizdeki besinler ile beynin ihtiyacı olan vitaminlerin benzerliği arasındaki ilişkiden dolayı insan beyninin sağlıklı çalışması için cevizin gerekli olduğunu ve çocukların zeka gelişimini olumlu etkilediğini araştırmalar sonucu ortaya koymuştur (Şimşek, 2015). Sunulan bu çalışmada MK-801 kullanılarak beyinde oluşturulan dejenerasyon karşısında günlük diyetin %6 ila %9 oranında katılan diyetin koruyucu etkisi değerlendirilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Fareler

Bu çalışmada 40 adet erkek BALB/C faresi üzerinde gerçekleştirildi. Fareler Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları ünitesinden temin edildi ve aynı ünite de bakıldı. Deneyin yapılabilmesi için gerekli izinler Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (AKUHADYEK-09-21) alındı.

2.2. Gruplar ve Uygulamalar

Çalışmada kullanılan 40 adet fare grup başına 8 fare olmak üzere eş zamanlı olarak 5 gruba bölündü. Gruplar oluşturulurken hayvanlar tek tek tartılarak grupların ağırlık ortalamalarının eşit olmasına dikkat edildi. Oluşturulan gruplar; kontrol grubu, %9 ceviz grubu, MK-801 grubu, %6 ceviz+MK-801 ve %9 ceviz+MK-801 grubuydu. Çalışmada kontrol grubu ile MK-801 grubu normal yemle, %6 ceviz+MK-801 grubu günlük tükettiği yeme %6 oranında ceviz katılan yemle, %9 ceviz+MK-801 grubu günlük tükettiği yeme %9 oranında ceviz katılan yemle, ceviz grubu ise günlük tükettiği yeme %9 oranında ceviz katılan yemle 1 ay boyunca beslendi. Besleme süreci boyunca grupların yemleri günlük olarak hazırlandı ve hayvanların yemler ile çeşme suyuna ad libitum olarak ulaşmaları sağlandı. Hayvanların günlük yem tüketim oranları fare başına 5 g olarak hesaplandı. Yani kafes başına günlük tüketim 40 g olarak hesaplandı. Bu oranın %6'sı yani 2,4 g'ı kadar ceviz eklenerek %6'luk ceviz grubunun yemine, %9'u kadar yani 3,6 g kadar da ceviz %9'luk ceviz gruplarının yemlerine eklendi. Diyete eklenen %6'luk ceviz bir insanın yiyeceği yaklaşık 28 g'a (1 doz), %9'luk ceviz ise 42 g'a (1,5 doz) tekabül etmektedir (Fisher vd., 2017). Besleme sürecinde hayvanlara herhangi bir ilaç enjeksiyonu yapılmadı. Bu süre sonunda MK-801, %6 ceviz+MK-801 ve %9 ceviz+MK-801 gruplarına 14 gün boyunca intraperitoneal yolla MK-801 (1 mg / kg) uygulandı. Bu 14 günlük süre boyunca kontrol ve %9 ceviz gruplarına da intraperitoneal yolla fizyolojik tuzlu su (10 ml/ kg) uygulandı. MK-801'in dozu da Xiu vd., (2014,2015)'na göre belirlendi. Kontrol ve %9'luk ceviz grubuna, MK-801 (Sigma, St. Louis, MO, USA) fizyolojik tuzlu su (FTS)'de çözdürüldüğü için intraperitoneal (i.p.) yolla %0,9'luk FTS 10 ml/kg olarak verildi. Deneylerden sonra tüm hayvanlar tartılıp sakrifiye edildi ve beyin dokuları çıkarıldı.

2.3. Histolojik İncelemeler

Beyinler çıkarıldıktan sonra tartıldı ve iki hemisferin arasından longitudinal kesildi. Doku takibine başlayabilmek için her bir hemisfer doku takip kasetine koyuldu. Hazırlanan bu örnekler %10 nötral tamponlu formaldehit solüsyonunda 5 gün boyunca tespit edildi. Solüsyonlar günlük olarak taze hazırlandı. Bu sürenin sonunda çeşme altında akan suda yarım saat yıkandı ve üzerindeki fazla formaldehitten arınmaları sağlandı. Örnekler artan derişimlerde (%50, 70, 80, 96'lık alkollerde 1 saat, absöüt alkolde 1+1 saat) alkol serilerinden geçirilerek dehidre olmaları sağlandı ve şeffaflaştırma işlemini için ksilen solüsyonundan geçirildi. Önce 30 dakika sonra 1 saat ksilende tutulduktan sonra dokular etüv içinde önce parafin+ksilen ve ardından saf parafin solüsyonundan geçirildi (1'er saat). Daha sonra dokular parafine gömüldü. Parafine gömülen örneklerden mikrotom aracılığıyla 4-6 mikron kalınlığındaki kesitler Kluver-Barrera boyasıyla boyama için normal lamlara, immunohistokimyasal boyamalar için lizinli lamlara çekildi. Apoptotik hücreler için beyin Tunel boyasıyla, miyelin tabakası da Kluver-Barrera ve miyelin temel protein boyasıyla boyanmıştır. Değerlendirmelerde apoptozis ve miyelin dejenerasyonu yok (0), zayıf (1), orta (2) ve şiddetli (3) olacak şekilde skorlandı.

2.3.1. Kluver-Barrera Boyası: Kluver-Barrera sinir sisteminde esas olarak miyelin tabakasını göstermek için kullanılır. Bu boya sayesinde miyelin tabakasının durumu hakkında bilgi sahibi olunur (Sataloğlu 2009; Molbay 2018). Miyelin tabakasında ki lipoproteinlere tuz köprüsü aracılığıyla bağlanan Kluver-barrera boyası içeriğinde bulunan luxol blue boyası aracılığıyla myelin lipoproteinlerindeki baz ile luxol blue boyasındaki baz yer değiştirir. Böylece myelin tabakası mavi görünmeye başlar. Kluver-Barrera boyası Luxol-Fast Blue (ScyTek) solüsyonu, %0.05 Lityum Karbonat (Sigma Aldrich 62470) 0.05 g, dH₂O 100.0 mL), Eosin Y Solüsyonu (Eosin Y-solution 0.5% aqueous-Sigma- 1.09844), %0.25 Krezil Violet- Asetat (Sigma Aldrich C5042-105) 0.35 g, distile su 100.0 mL) solüsyonlarından oluşuyordu. Örnekler öncelikle Ksilen I ve II serilerinden 5'er dakika geçirilerek deparafinize edildi. Deparafinize olan örnekler %100 ve % 95'lik alkollerde 5'şer dakika tutuldu ve rehydrate olması sağlandı. Bu aşamadan sonra Luxol fast blue solüsyonu içerisine alınan örnekler 60°C'da 1 saat etüvde inkübe edildi. Distile su ile hızlıca yıkanıp %95 alkol ile boyanın fazlası

uzaklaştırıldı. Distile su ile hızlıca yıkayıp lityum karbonat solüsyonundan geçirildi. Distile su ile hızlıca yıkandıktan sonra %70 alkolden geçirildi ve distile su ile hızlıca yıkandı. Beyaz madde mavi görünene kadar lityum karbonat ve %70'lik alkolden geçirme işlemine devam edildi. Eosin Y içerisinde oda sıcaklığında 35-40 sn bekletildi. Distile su ile hızlıca yıkandı. Krezil Viyole içerisinde oda sıcaklığında 1 dk bekletildi ve distile su ile hızlıca yıkandı. % 95 alkol ve %100 alkol ile dehydrate edildikten sonra ksilen (I,II ve III) serilerinden geçirilip entellan ile kapatıldı.

2.3.2. Tunel Boyama

Beyin dokularında tunel metoduyla apoptotik hücreler ve miyelin temel boyamasıyla miyelin boyanma yoğunluğu belirlendi. Terminal Deoksinükleotidil Transferaz dUTP Çentik Uç Etiketleme olarak bilinen Tunel metodu, hücrelerde meydana gelen apoptozis oranlarını belirlemede standart yöntemlerden biri olarak kullanılmaktadır. Polilizinli lamlara parafin bloklardan çekilen 5 µm kalınlığında ki kesitler üretici firmanın talimatları doğrultusunda TUNEL assay kit (ABCAM ab206386) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi. Lizinli lamlara alınan beyin kesitleri etüvde (Nüve EN 500) 1 gece kurutuldu. Ksilende deparafinize edilen kesitler 100, 96 ve 80 derecelik alkollerde 5'er dakika rehidre edildi ve daha sonra distile suya alındı. Kesitler, PBS solüsyonunda 5 dk bekletildi. Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizildikten sonra 1:100 oranında proteinaz K solüsyonunda 20 dk bekletildi. Proteinaz K uygulamasından sonra kesitler PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkandı. Beş dakika hidrojen peroksit uygulamasını takiben kesitler yine PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkandı. Sonra equilibration tampon solüsyonunda 30 dk oda ısısında tutuldu. %70 Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme çalışma solüsyonunda 37° C lik etüvde 1,5 saat inkübasyona tabii tutulduktan sonra Stop/Wash Buffer solüsyonunda 5 dk bekletildi. Anti-Digoxigenin-Peroxidase solüsyonunda 30 dk tutulmayı takiben üç kez PBS solüsyonunda yıkandı. DAB Dilution Buffer + DAB Substrate solüsyonunda 8-10 dk tutuldu. DAB Dilution Buffer + DAB Substrate uygulamasını takiben PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkandı. Karşıt boyama kontrollü bir şekilde yapıldıktan sonra dereceli alkol ve sonrasında ksilen serilerinden geçirildi. Metil green'le boyandıktan sonra kapatma medyumu kullanılarak lamel ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda incelenerek değerlendirilip ve fotoğraflandı. Pozitif boyamanın göstergesi apoptoz bitiş noktası, koyu kahverengi

(DAB) olarak görüldü. Daha açık kahverengi tonları ve/veya mavi-yeşil ile yeşil tonları—kahverengi, reaktif olmayan/negatif bir hücreleri işaret etti.

2.3.3. Miyelin Temel Protein Boyama

Çalışmada beyin dokusundan polilizinli lamlara alınan 5 µm kalınlığında ki kesitler Anti-MBP (Santa-Cruz) strepteavidin-biotin peroksidaz yöntemiyle boyandı. Boyamadan önce kesitler gece boyu 60°C'lik etüvde tutulduktan sonra, 30'ar dk üçer kez değişen ksilen ile şeffaflaştırıldı. 100, 96 ve 80 derecelik alkollerde 5'er dakika re-hidre edildi distile suda 10 dk bekletildi. Pap-pen kullanılarak etrafı çizilen kesitler, sitrat buffer (pH: 7,4) solüsyonu içerisine konularak yaklaşık 20-25 dakika olacak şekilde mikrodalga fırında (Vestel MW 25 BX 700 watt) ısıtıldı. Mikrodalgadan alınan kesitlerin 20-30 dakika kadar çeşme suyu altında soğuması sağlandı. Humidity chambera yerleştirilen kesitler Phosphate Buffer Saline-PBS (pH:7.2) ile 3 kez 5'er dakika yıkandı. On dakika hidrojen peroksit uygulamasından sonra kesitler yine PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkandı. Nonspesifik boyanmayı engellemek için serum bloking solüsyonu damlatılarak 30 dakika bekletildikten sonra yıkama yapmadan 1/200 oranında sulandırılmış primer antikora (Anti-MBP) 60 dakika inkübe edildi. PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkanan kesitler, biotinle konjuge edilmiş sekonder antikorda 25 dakika bekletildikten sonra yine aynı şekilde PBS ile yıkandı, strepteavidin-peroksidazla 25 dakika bekletildikten sonra PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkandı. 3-amino-9 etil karbozol (AEC) prosedürüne uygun olarak hazırlandıktan sonra her lama 250 mikrolitre damlatılarak 45 saniye bekletilip 5'er dakika distile su ile yıkandı. Gill's hematoksilen ile karşıt boyama yapıldıktan sonra akan çeşme suyunda yıkanıp su bazlı yapıştırıcı ile kapatılan preparatlar hazır hale getirildi.

2.4. İstatistik

Araştırmada elde edilen veriler SPSS 21.0 for Windows paket programı ile analiz edildi. İstatistiksel analizde önce gruplar arasında normal dağılım olup olmadığını gözlemek için normalite testi uygulandı. Normal dağılımlara sahip olduğu doğrulanan verilerin gruplara göre karşılaştırılmasında parametrik testlerden olan varyans analizi kullanıldı. Grupların ikili karşılaştırılmasında Duncan testi uygulandı. Gruplar arasındaki farklılığa ilişkin istatistiksel anlamlılık 0,05 olarak belirlendi.

3. BULGULAR

3.1. Ağırlık Sonuçları

Hayvanlar deneye başlamadan önce ve başladıktan sonra tartıldıklarında ceviz yedirilen grupların tümünde istatistiksel olarak kilo artışının şekillendiği görülmüştür ($p<0,05$) (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: Çalışmaya başlamadan önce hayvanların ağırlıkları ve çalışma bittiği andaki ağırlıkları. $X \pm SD$, $n=8$. a,b: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistikî fark vardır *($p<0,05$).

Ölçümler	Kontrol	%9 Ceviz	MK-801	%6 Ceviz+MK- 801	%9 Ceviz+MK- 801	P değeri
İlk Ağırlık (gr)	30,3±1,58	30,5±2,14	30,1±3,31	30,8±3,6	30,6±5,3	0,996
Son Ağırlık (gr)	31,2±3,3 ^b	36±4,3 ^a	29,6±1,6 ^b	36,4±2,5 ^a	37±2,9 ^a	0,000*

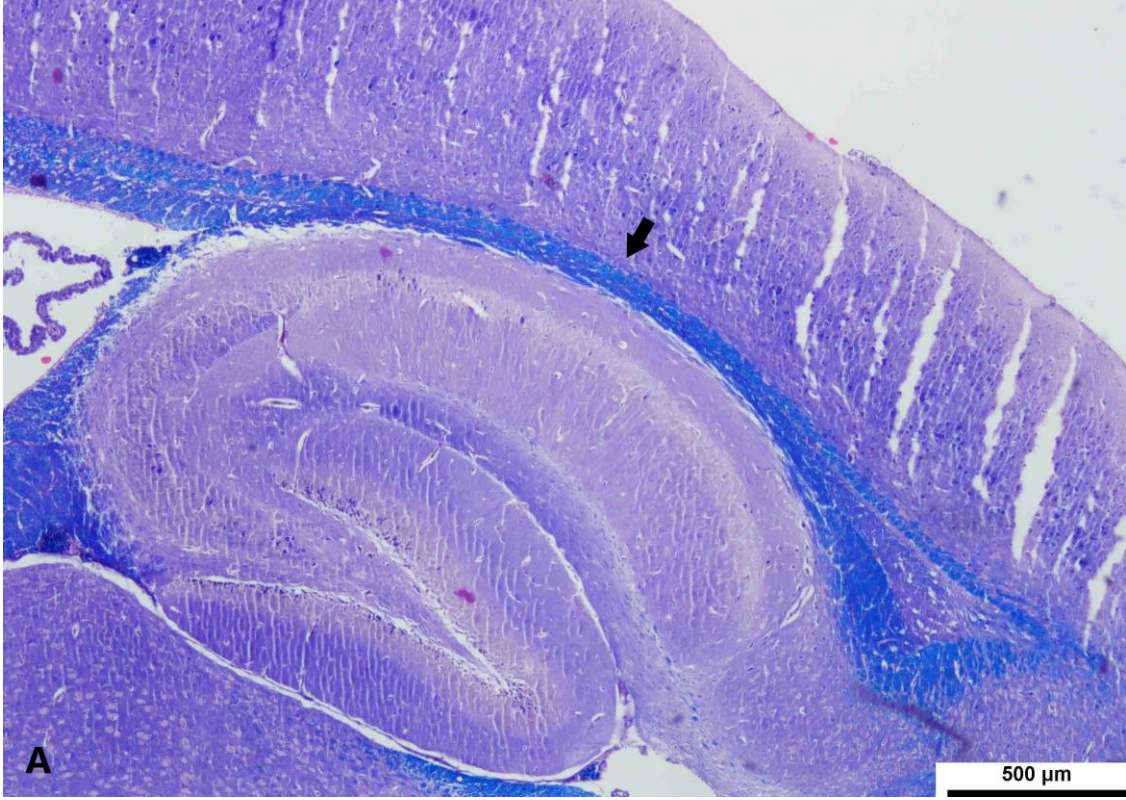
Hayvanların beyin ağırlıkları incelendiğinde istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0,05$).
(Tablo 3.2)

Tablo 3.2: Sakrifikasyondan sonra hayvanların beyin ağırlıkları $X \pm SD$, $n=8$. ($p>0,05$)

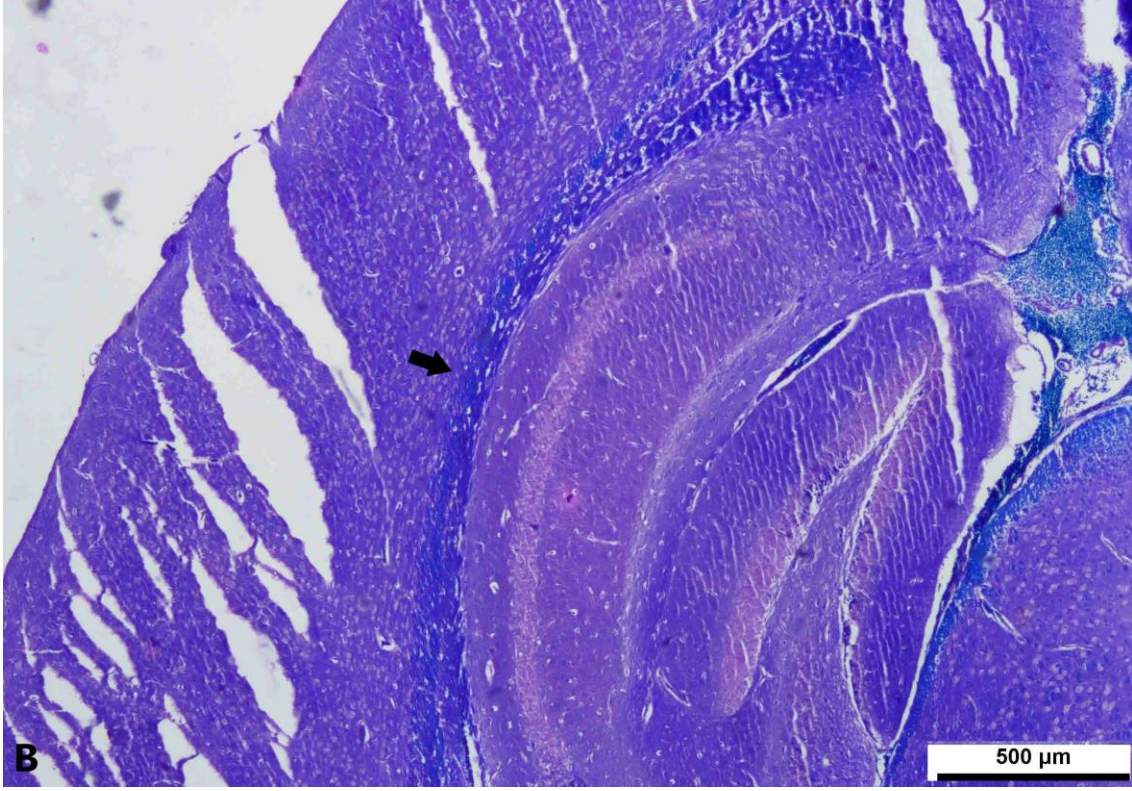
Ölçümler	Kontrol	%9 Ceviz	MK-801	%6 Ceviz+MK- 801	%9 Ceviz+MK- 801	P değeri
Beyin ağırlığı (gr)	0,40±0,21	0,41±0,18	0,40±0,21	0,41±0,11	0,41±0,2	0,434

3.2. Miyelin Tabakasının Boyanması

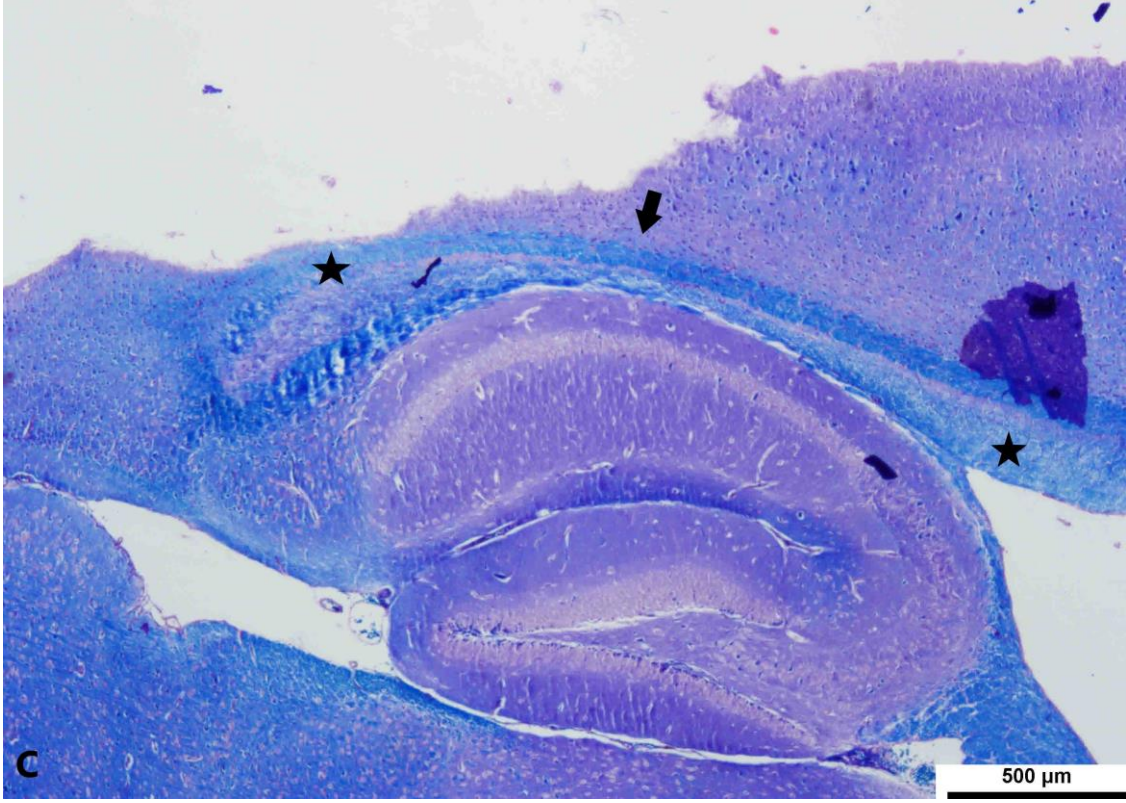
3.2.1. Kluver-Barrera Boyasıyla Boyanma



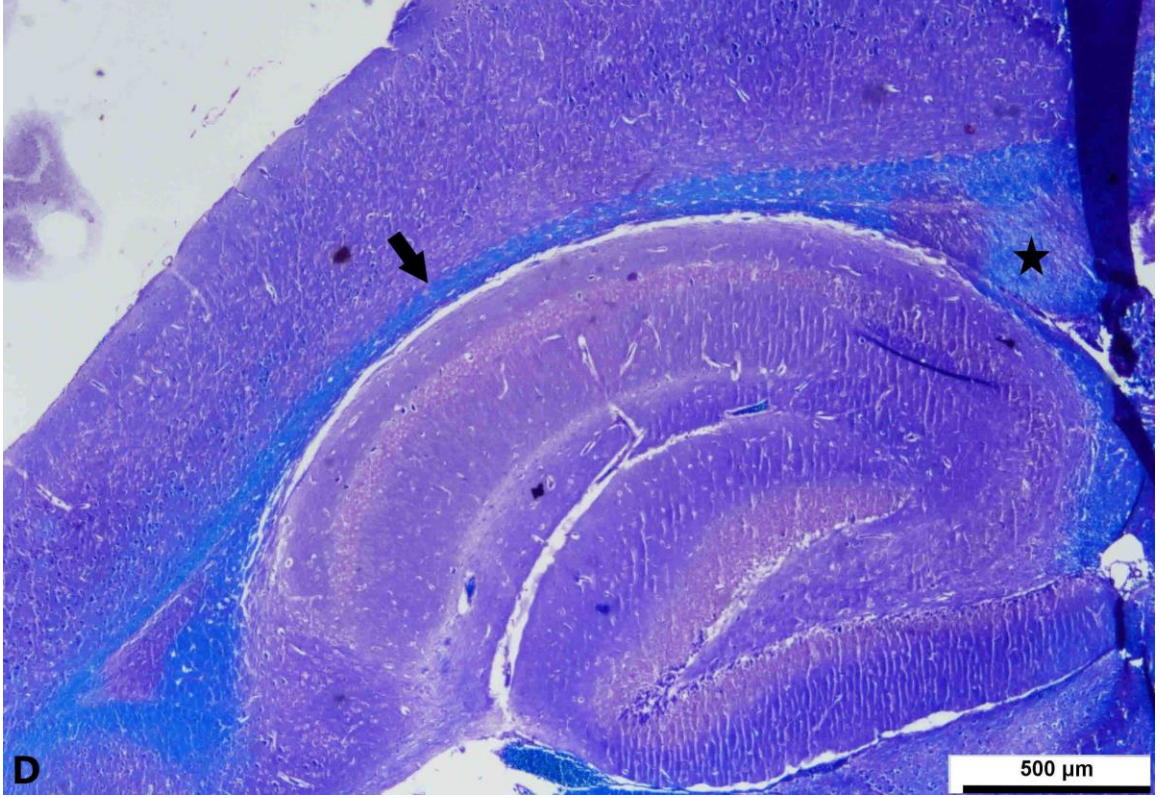
Resim 3.1: Beynin longitudinal kesiti. Dışta korteks, onun hemen altında corpus callosum (ok) ve onun da altında hipokampus görülmektedir. Kontrol grubu. Corpus callosum Kluver-barrera normal boyanma



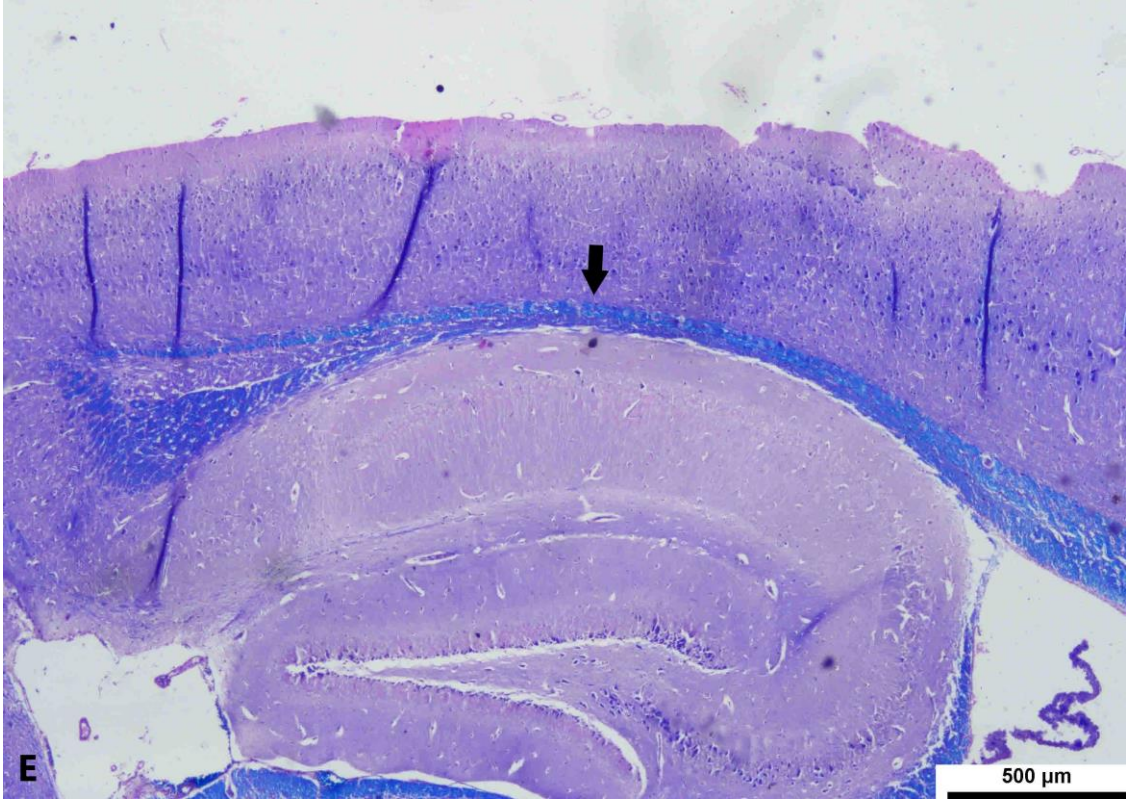
Resim 3.2: Beynin longitudinal kesiti. Dışta korteks, onun hemen altında corpus callosum (ok) ve onun da altında hipokampus görülmektedir. B. %9'luk ceviz grubu. Corpus callosum Kluver-barrera normal boyanma.



Resim 3.3: Beynin longitudinal kesiti. Dışta korteks, onun hemen altında corpus callosum (ok) ve onun da altında hipokampus görülmektedir. C. MK-801 grubu. Kluver-barrera boyası ile zayıf boyanan yerler (*-C)



Resim 3.4: Beynin longitudinal kesiti. Dışta korteks, onun hemen altında corpus callosum (ok) ve onun da altında hipokampus görülmektedir. D. %6'lık ceviz+MK-801 grubu. Kluver-Barrera boyası. Corpus callosum da yer yer görülen hafif renk açılmaları.



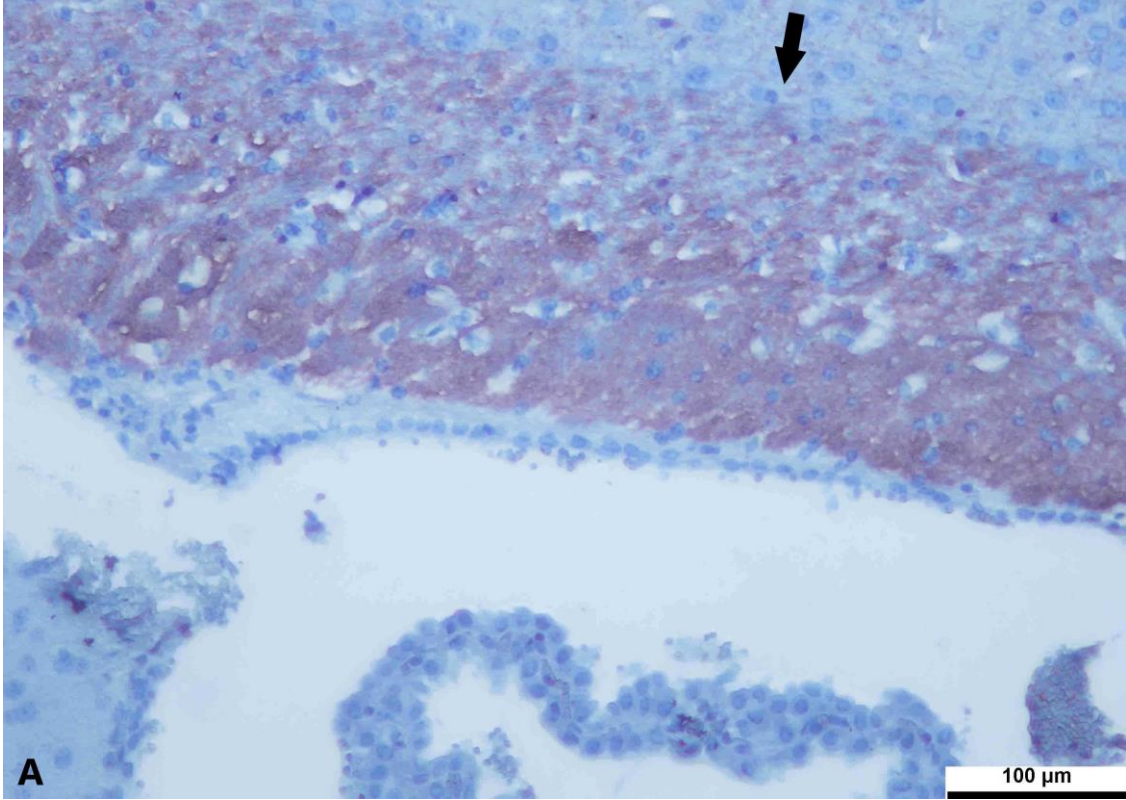
Resim 3.5: Beynin longitudinal kesiti. Dışta korteks, onun hemen altında corpus callosum (ok) ve onun da altında hipokampus görülmektedir. E. %9'luk ceviz+MK-801 grubu. Kluver-barrera boyası normal boyanma.

Beyinde miyelin tabakasını ve miyelin temel proteinini gözlemlemek için yapılan boyamalarda MK-801 verilen gruplarda boyanma yoğunluklarında azalma olan bölgeler bulunmaktaydı. Koruyucu amaçla ceviz yedirilen gruplarda ise değerlerin kontroller ve MK-801 grubu arasında yerleştiği göze çarptı ($p < 0,05$) (Resim 4,5; Tablo 3.3).

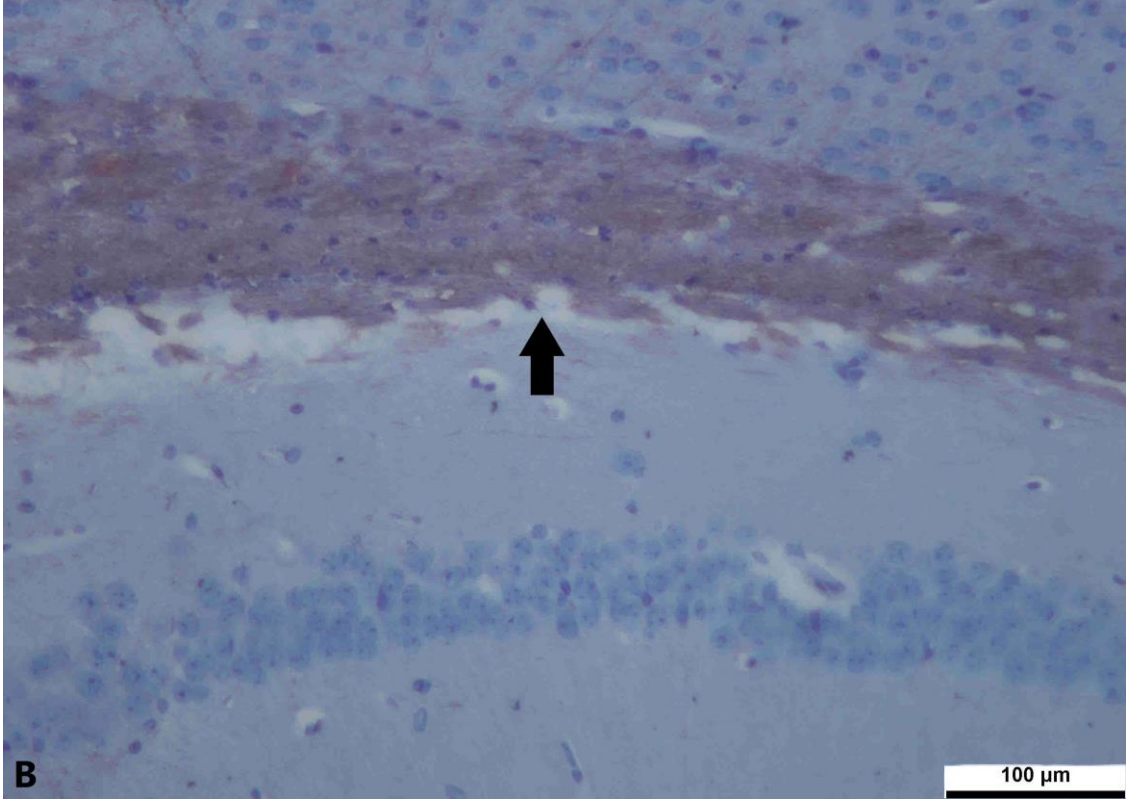
Tablo 3.3: Miyelin temel boyasıyla boyanma yoğunluğunun değerlendirilmesi. $X \pm SD$, $n=8$. ^{a,b,ab}: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiki fark vardır $*(p < 0,05)$.

Ölçümler	Kontrol	%9 Ceviz	MK-801	%6 Ceviz+MK- 801	%9 Ceviz+MK- 801	P değeri
Miyelin dejenerasyonu	$0,0 \pm 0,0^b$	$0,0 \pm 0,0^b$	$1,6 \pm 0,7^a$	$0,9 \pm 1,1^{ab}$	$0,6 \pm 0,7^{ab}$	$0,000^*$

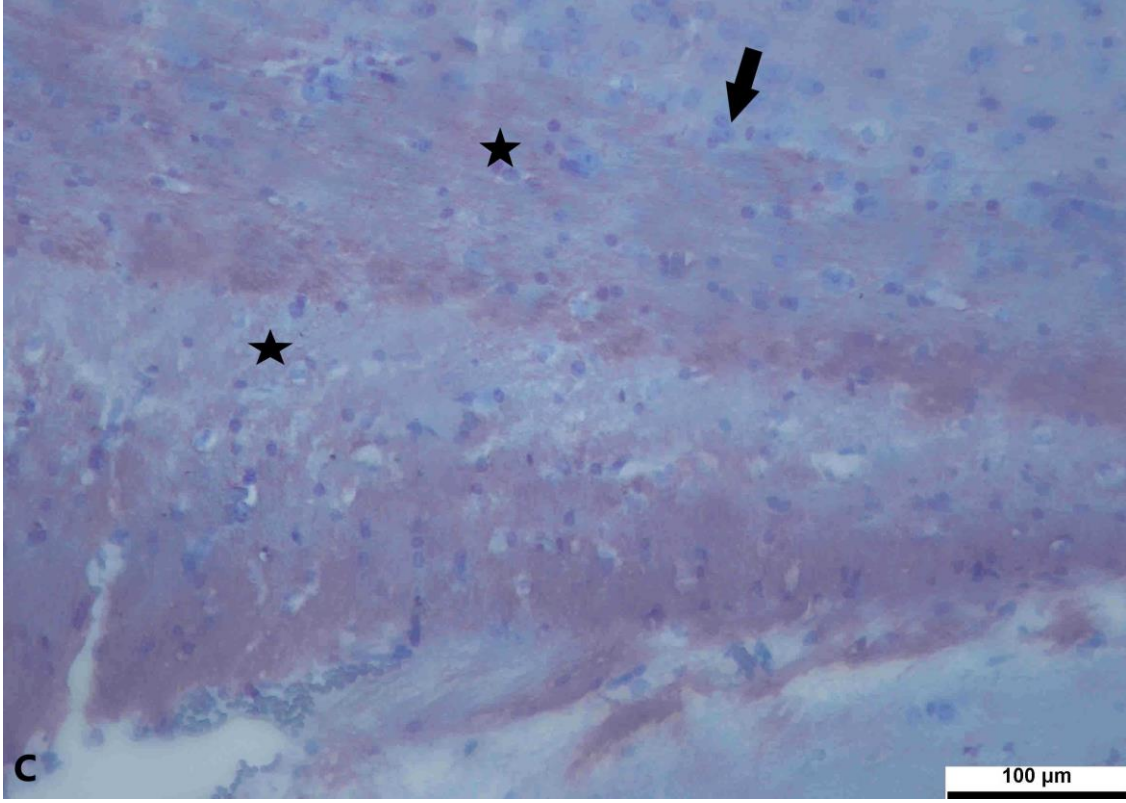
3.2.2. Miyelin Temel Protein Boyasıyla Boyanma



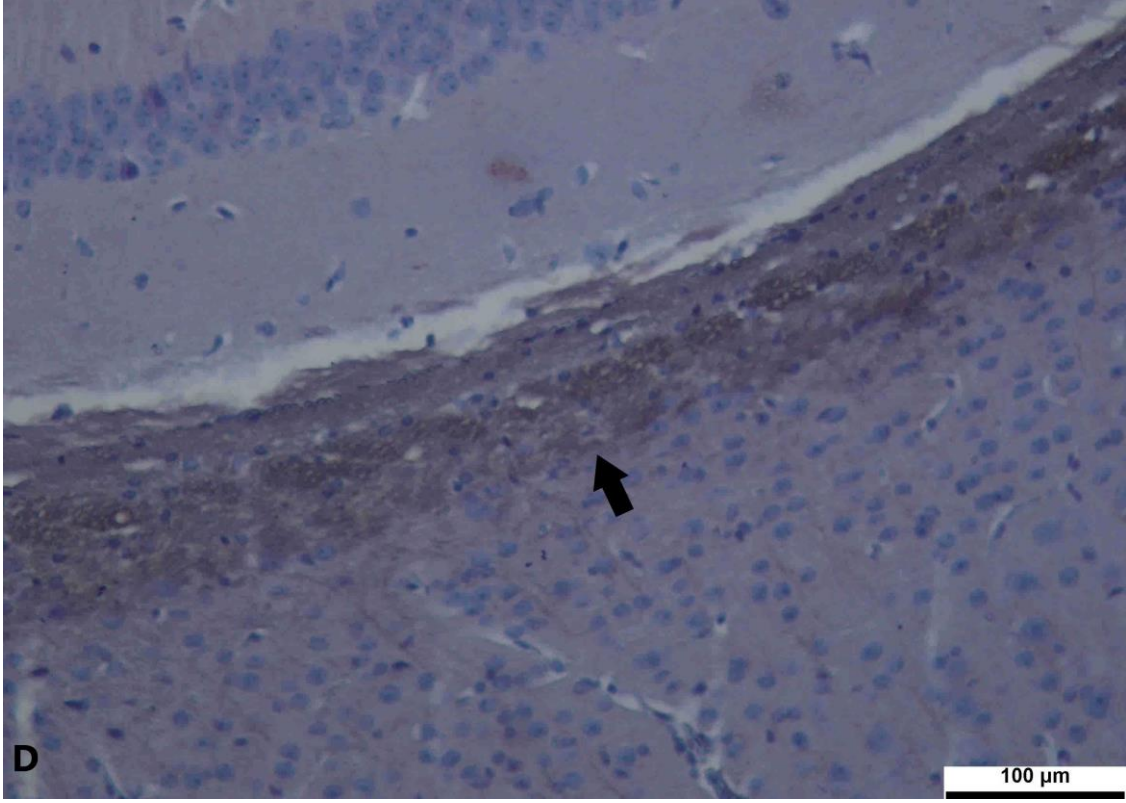
Resim 3.6: Corpus callosum'un (ok) miyelin temel boyasıyla boyanması A. Kontrol grubu



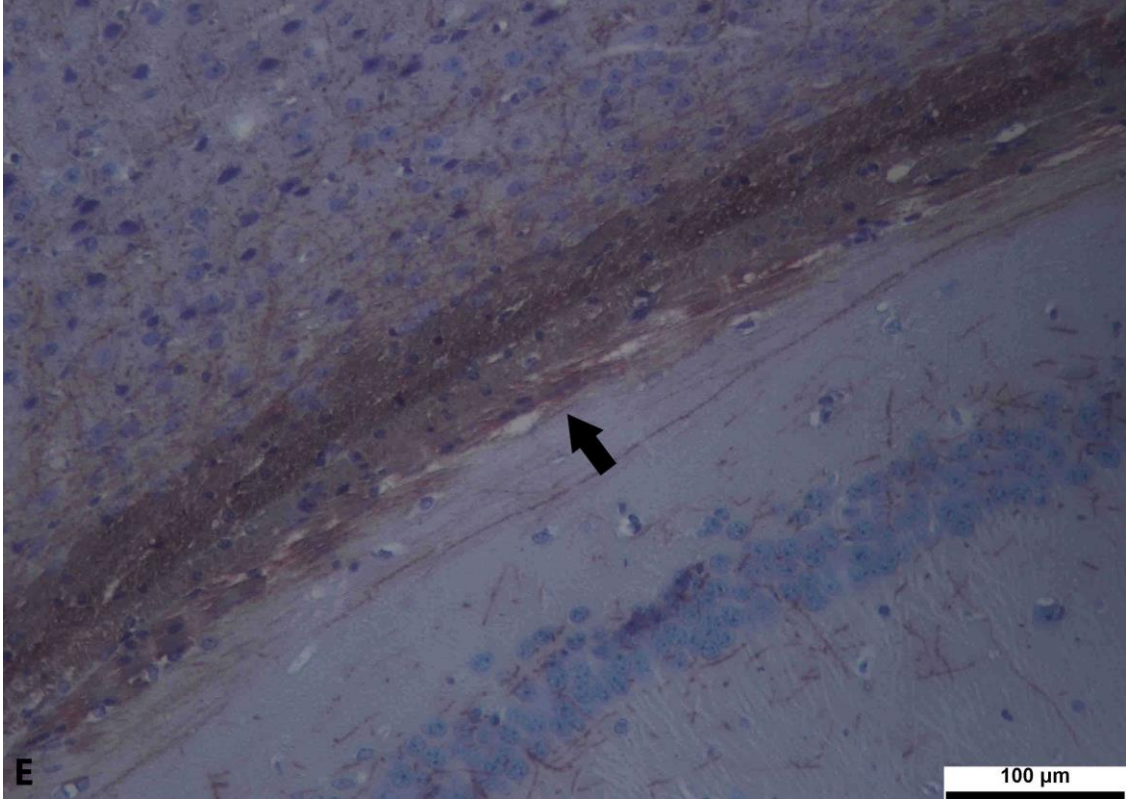
Resim 3.7: Corpus callosum'un (ok) miyelin temel boyasıyla boyanması B. %9'luk ceviz grubu.



Resim 3.8: Corpus callosum'un (ok) miyelin temel boyasıyla boyanması C. MK-801 grubu. Zayıf boyanan yerler (*-C)



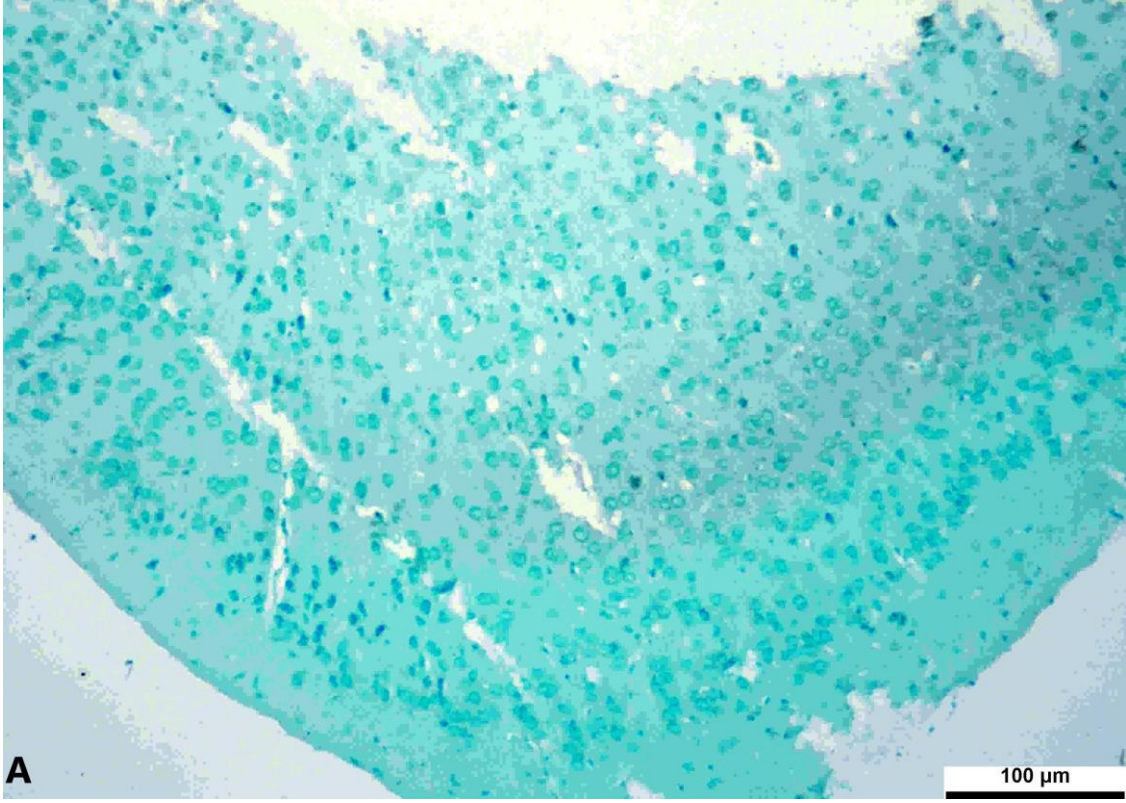
Resim 3.9: Corpus callosum'un (ok) miyelin temel boyasıyla boyanması. D. %6'lık ceviz+MK-801 grubu.



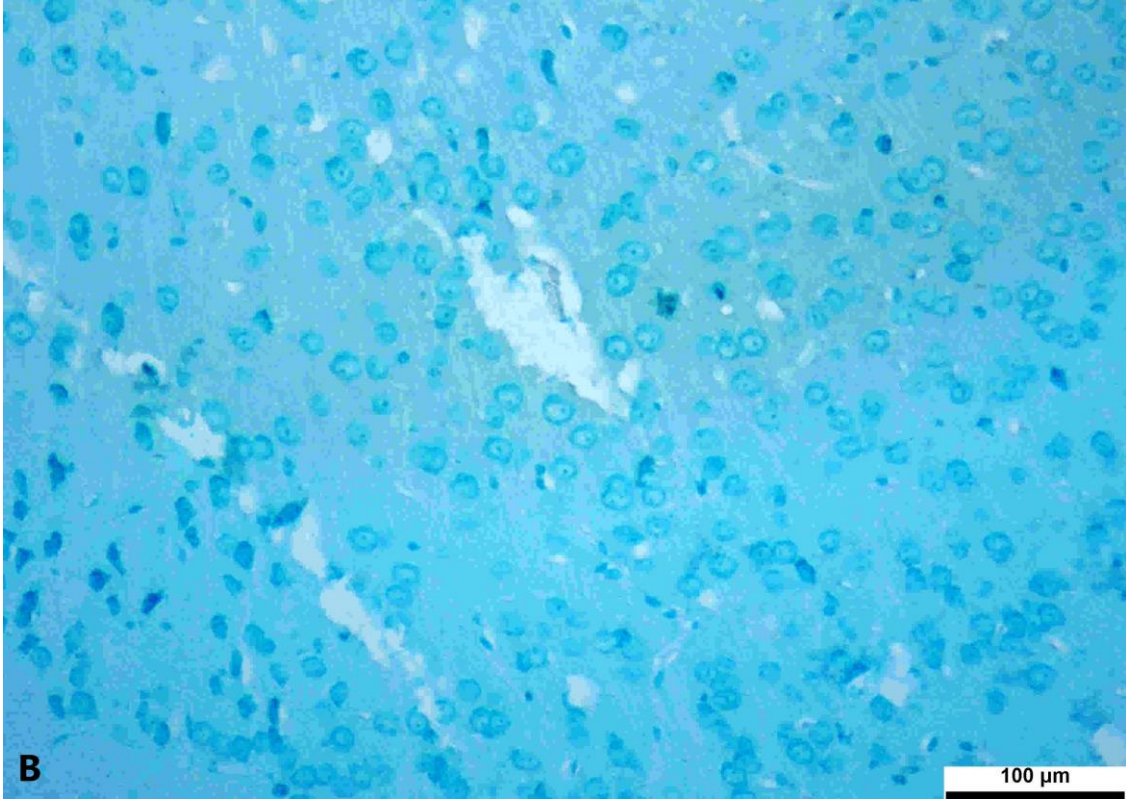
Resim 3.10: Corpus callosum'un (ok) miyelin temel boyasıyla boyanması E. %9'luk ceviz+MK-801 grubu.

3.3. Tunel Metoduyla Beynin Boyanması

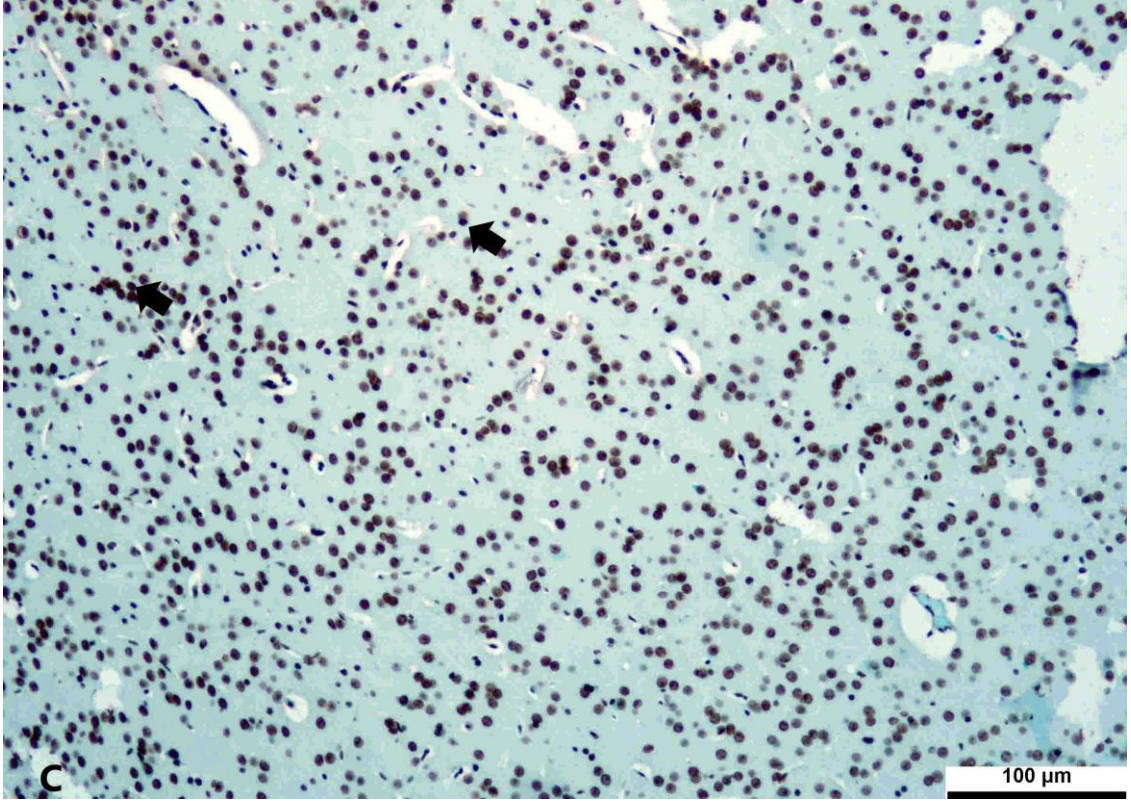
Tunel metoduyla apoptotik hücrelerin varlığını araştırmak için yapılan boyamalar neticesinde MK-801 grubunda apoptotik hücrelerin varlığı göze çarptı. Bununla birlikte ceviz yedirilen hayvanlarda değerler istatistiksel olarak kontroller ve MK-801 grubu arasında yer almaktaydı ($p < 0,05$) (Resim 6;Çizelge 4).



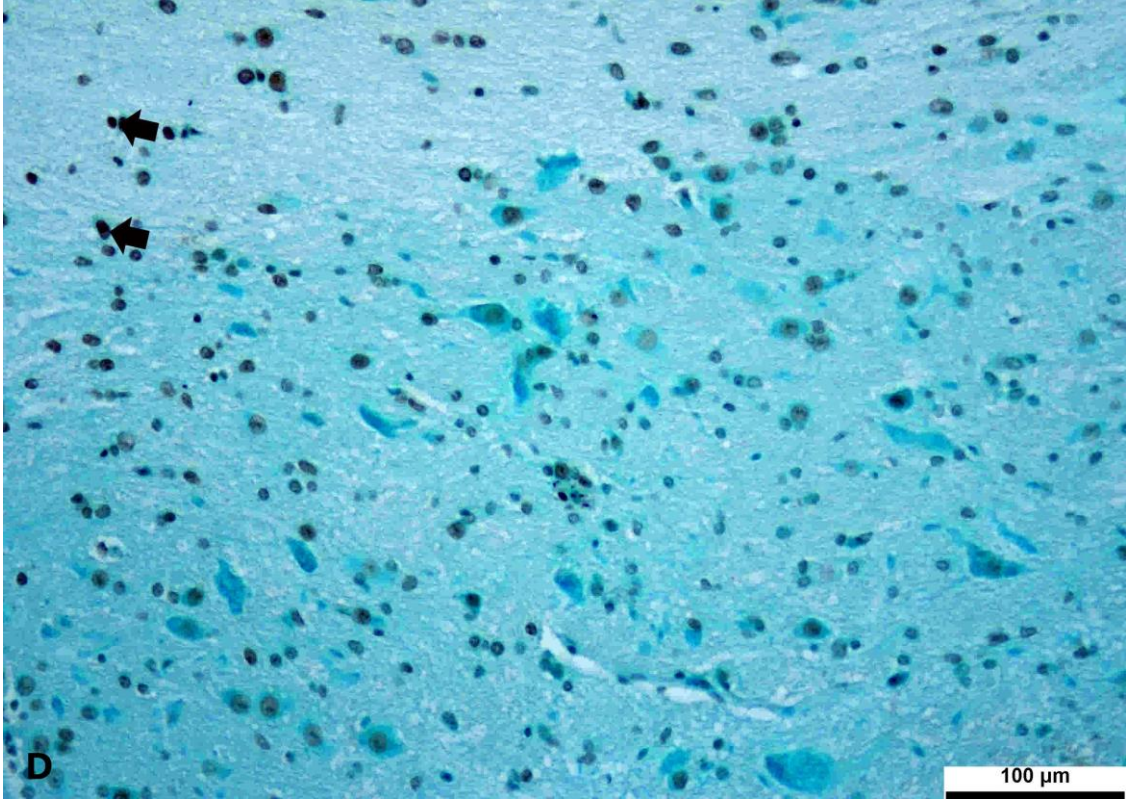
Resim 3.11: Beynin TUNEL metoduyla boyanması. A. Kontrol grubu.



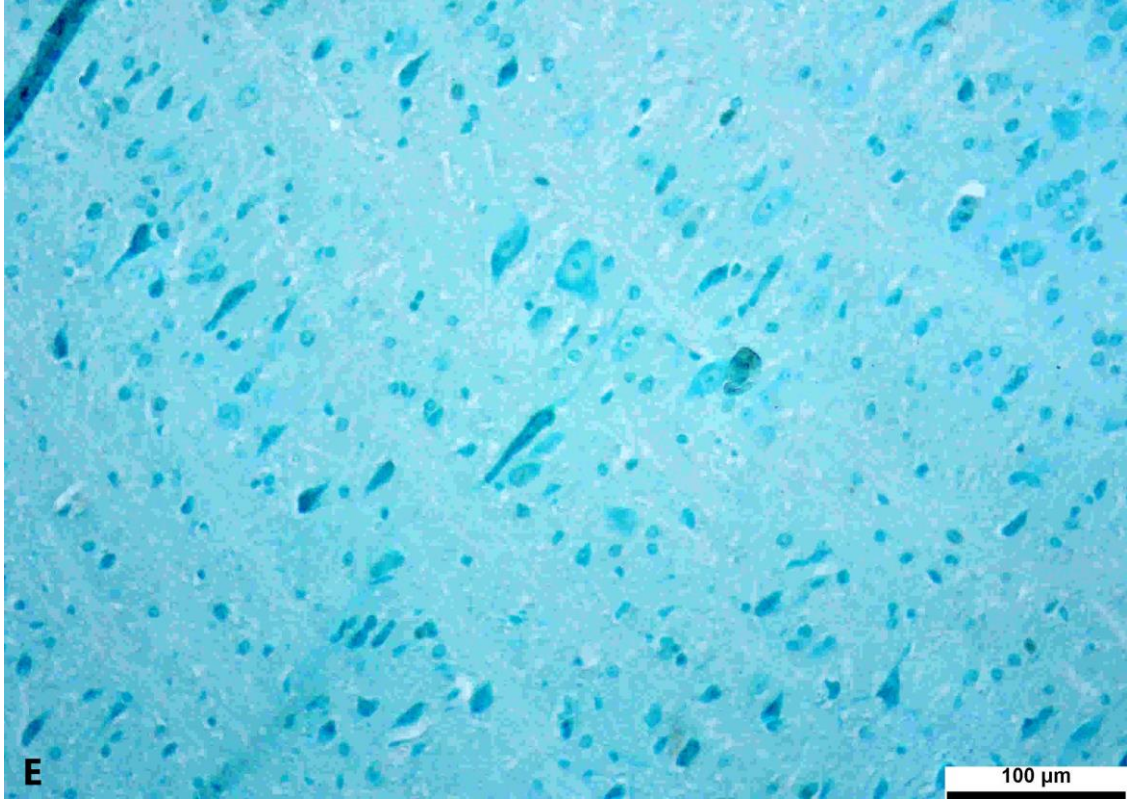
Resim 3.12: Beynin Tunel metoduyla boyanması. B. %9'luk ceviz grubu.



Resim 3.13: Beynin Tunel metoduyla boyanması. C. MK-801 grubu. Tunel (+) hücreler (ok-C)



Resim 3.14: Beynin Tunel metoduyla boyanması. D. %6'lık ceviz+MK-801 grubu. Tunel (+) hücreler (ok: D)



Resim 3.15: Beynin Tunel metoduyla boyanması. E. %9'luk ceviz+MK-801 grubu.

Tablo 3.4: Apoptotik hücrelerin değerlendirilmesi. $X \pm SD$, $n=8$. ^{a,b,c,d}: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasında istatistiki fark vardır $*(p<0,05)$.

Ölçümler	Kontrol	%9 Ceviz	MK-801	%6 Ceviz+MK- 801	%9 Ceviz+MK- 801	P değeri
Apoptosis	$0,1 \pm 0,4^d$	$0,0 \pm 0,0^d$	$2,6 \pm 0,52^a$	$1,6 \pm 0,52^b$	$0,8 \pm 0,46^c$	0,000*

4. TARTIŞMA

Sunulan bu çalışma da farelerin diyetine katılan cevizin beyinde deneysel olarak oluşturulan nörodejenerasyon ve demiyelinizasyon üzerindeki olası koruyucu etkisini incelemek amaçlanmıştır. Çeşitli antioksidanların sinir sistemi üzerinde ki koruyucu etkisi son yıllarda sıkça araştırılmaya başlanmıştır. Çünkü artık günümüzde sinir sistemi hastalıklarını iyileştirmek hem zor hem de maliyetlidir. Bu yüzden araştırmalar genel olarak hastalık başlamadan önce ki safhaya yoğunlaşmıştır. Hastalığın oluşumunu engellemek ya da geciktirmek ana araştırma başlıklarındandır. Bu sebeple önemli bir antioksidan ve anti-enflamatuvar olan cevizinde sinir sistemi üzerinde ki etkileri araştırılmaya başlanmıştır (Lewis ve Lieberman, 2000; Bayazit vd., 2016; Kruk-Slomka vd., 2016; Chauhan ve Chauhan, 2020).

Cevizin koruyucu ya da iyileştirici etkilerini inceleyen bir çalışma da ratlar beyinde nörodejenerasyona sebep olan Scopolamin'e maruz bırakılmışlardır. Yemlerine %2, 6 ve 9'luk ceviz katılan ratlar dört hafta boyunca bu yemlerle beslenmişlerdir. Bu sürenin sonunda da çeşitli hafıza ve öğrenmeyle ilgili testlere tabii tutulmuşlardır. Sonuçta günlük alınan %6 ve 9'luk cevizin öğrenme üzerinde, %9'luk cevizin ise sadece hafıza üzerinde koruyucu etkisinin olduğu ortaya çıkmıştır. Diyete eklenen %2'lik ceviz oranınsa herhangi bir koruyucu etkisinin olduğu gözlenememiştir. Bununla birlikte hayvanların beyinleri biyokimyasal olarak incelendiğinde ise Scopolamin' in artırdığı asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesini %6 ve 9'luk ceviz yedirilen gruplarda azaldığı bulunmuştur (Harandi vd., 2015).

Sinir sisteminde yaşlılığa bağlı olarak zaman içinde dejenerasyonlar ortaya çıkmaktadır. Bu dejenerasyonlar motor hareketleri ve hafızayı olumsuz etkilemektedir. Bu tip yaşlılığa bağlı olarak ortaya çıkan problemler karşısında ceviz %2, 6 ve 9'luk oranlarda yeme katılmış ve etkileri incelenmiştir. 19 aylık yaşlı ratlar 8 hafta boyunca ilgili oranlarda ceviz katılan yemlerle beslenmişlerdir. Yapılan testler bu oranlardan %2 ve 6'lık dozun %9'a göre motor hareketleri düzeltmede ve hafıza üzerinde daha başarılı olduğunu, %9'luk oranın ise etkisinin olmadığı ve hatta olumsuz etkisinin olabileceğini göstermiştir (Willis vd., 2009).

Yukarıda ki çalışmayı gerçekleştiren aynı grubun aynı hayvanlardan elde edilen beyinleri inceledikleri başka bir çalışmada ise, beyinde yaşlanmaya bağlı olarak oksidatif ve yangı stresleri sonucu kümeler halinde görülmeye başlayan ve nörodejeneratif hastalıkların bir belirteci olan ubikuinat protein kümelerinin %6 ve 9'luk ceviz gruplarında temizlendiği gözlenmiştir. Oksidatif stres ve yangı markırlarıyla yapılan immunohistokimyasal boyama da özellikle %9'luk ceviz grubunda ubikuinat proteinlerinin belirgin oranda temizlendiği göze çarpmıştır (Poulose vd., 2012). Aynı çalışmadan elde edilen kan serumları bu sefer mikroglia hücre kültürüne uygulanmıştır. Hücre kültürü besi yerinde kullanılan fetal bovin serum çıkartılarak hayvanlardan elde edilen serum konmuştur. %6 ve 9'luk ceviz gruplarından elde edilen serum metabolitlerinin beyni antioksidan ve anti-enflamatuvar olarak koruyabileceğini ve sinir hücrelerinin membranla ilişkili fonksiyon bozukluklarını düzeltebileceğini göstermiştir (Fisher vd., 2017).

Yaşlı ratlar üzerinde gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise ratlar 1 yaştan itibaren 24 hafta boyunca %6 oranında ceviz katılan yemle beslenmiştir. Hayvanlar yemle beslenmenin yanında zenginleştirilmiş çevre (fiziksel aktiviteler vb.) içerisinde yaşatılmıştır. Sadece cevizle beslenmenin sinaptik plastisite ve sinirsel gelişim üzerinde etkisi yokken, zenginleştirilmiş çevreyle kombinlenen cevizle besleme, beyinde oksilipin profilini değiştirerek sağlıklı yaşlanmayı sağlamış, motor fonksiyonları, biliş ve beyin mitokondri fonksiyonlarının iyileştirmiştir (Esselun vd., 2020). Transjenik – Alzheimer model farelerde yapılmış bir çalışmada cevizin hafıza ve öğrenme becerileri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. 4 aylıktan itibaren 5-10-15 ay boyunca gruplara %6-9'luk ceviz yedirilmiştir. Alzheimerli hayvanlarda oksidatif stres parametreleri artarken ceviz yedirilen ceviz yedirmek bu artışı önlemiştir. Yani uzun dönem ceviz yedirilen hayvanlarda Alzheimer hastalığının başlaması ya da ilerlemesini önleyebilir ya da geciktirebilir (Pandareesh vd., 2018).

Şizofreni deney modeli olarak kullanılan MK-801 enjekte edilen farelerin beyinleri incelendiğinde beyinlerinde nörodejenerasyon ve demiyelinizasyon indüklendiği gözlenmiştir (Özyurt vd., 2007a; b; 2014; Xiu vd., 2014; 2015). Şizofreni hastalığında görülen motor aktivite problemleri oligodentrosit fonksiyon bozuklukları ve buna bağlı olarak ortaya çıkan demiyelinizasyondan dolayı olabileceği düşünülmüştür (Walther ve

Strik, 2012). Miyelin tabakasının dejenerasyonu, bir diğer sinirsel hastalık olan Multiple Sclerosis (MS)'i de düşündürür. MS'te miyelin kılıf dejenerasyonuna bağlı olarak motor aktivite güçlükleri görülmektedir (Karussis, 2014). Önceki çalışmalarda, sunulan bu çalışmaya benzer şekilde MK-801'in 1mg/kg dozunda 14 gün boyunca i.p. yolla uygulanmasının demiyelinizasyona sebep olduğu gözlenmiştir. İlgili çalışmalarda miyelin kılıfta miyelin temel proteinin MK-801 grubunda kontrole göre oldukça düşük oranda yoğunluk gösterdiği tespit edilmiştir (Xiu vd., 2014; 2015). MK-801'in beyin beyaz maddesinde hacimsel olarak küçülmelere, örneğin corpus callosum'un hacimsel kayıplarına sebep olduğu gözlemlenmiş ve bu küçülmelerin miyelin tabakasında ayrılmalara ve demiyelinizasyona bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir. Ayrıca bu bölgedeki miyelinli sinir liflerinin uzunluğunda da azalma saptamışlardır. (Xiu vd., 2014; 2015).

MK-801 etkisiyle ortaya çıkan demiyelinizasyon başka çalışmalarda da rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda 4 gün boyunca 2 mg/kg dozda MK-801 subkutan olarak uygulanmıştır ve ortaya çıkan demiyelinizasyona karşı antipsikotik bir ilaç olan Quetiapine olumlu etkisinin olduğu bildirilmiştir (He vd., 2020). NMDA reseptör antagonisti olan phensiklidin'le indüklenen şizofreni hastalığında da miyelin temel protein boyanmalarında beyinde miyelinleşmenin bozulduğu gözlenmiştir (Zhang vd., 2012). Yukarıda ki çalışmalara ek olarak araştırmacılar MK-801'le oluşturulan nörodejenerasyon karşısında çeşitli antioksidanların koruyuculuğunu araştırmışlardır. Bunlardan başlıcaları caffeic acid phenethyl ester (CAPE) (Özyurt vd., 2007a), omega 3 yağ asidi (Özyurt vd., 2007b), ve melatonin (Özyurt vd., 2014)'dir. Bu antioksidanların MK-801'le oluşturulan nörodejenerasyon üzerinde önemli koruyucu etkisi olduğu bulunmuştur.

Egzersiz yapmanın NMDA reseptörleri üzerinde ki etkilerinin incelendiği başka bir çalışma da egzersiz, sinirsel hastalıklarda ilaç kullanmadan yapılan tedaviye yönelik alternatif bir yaklaşım olarak ele alınmıştır. Bununla ilgili yapılan bir araştırma da araştırmacılar, MK-801 verilen farelerin kafesine de fare tekerleği koymuşlar ve hayvanların istedikleri zaman bu tekerleğe ulaşmalarına olanak sağlamışlardır. Sonuçta fare tekerleğinin NMDA reseptör fonksiyonunu artırdığını ve sinirsel hastalık belirtilerini iyileştirdiğini bulmuşlardır (Kim vd., 2014).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Depresyon, Alzheimer, Şizofreni, Multiple Skleroz gibi ve daha fazla çeşide sahip olan sinirsel hastalıklar hastanın yaşam kalitesini etkilemenin yanında tedavi süreçlerinde ülkelerin ekonomilerine de önemli miktarda bir yük getirmektedir. Bu sebeple günümüzde hastalıkların daha başlamadan önce önlenmesine yönelik çalışmalar ön plana çıkmıştır. Bilim insanları deney hayvanları üzerinde çeşitli modeller geliştirerek hastalıkların süreçlerini incelemeye ve çeşitli tedavi metotları denemeye başlamışlardır. Antioksidan kullanımı da bu tedavi metotlarından biridir. Çeşitli antioksidanların sinirsel hastalıklar üzerinde koruyucu etkileri halen değerlendirilmektedir. Ceviz de antioksidan ve antiinflamatuvarlardan zengin içeriğiyle günümüzde sinirsel hastalıklar üzerinde denemeye başlamıştır. Sunulan bu çalışmada fare beyinlerinde dejenerasyon oluşturulmaya çalışılmış ve cevizin koruyucu etkisi incelenmiştir. Boyama sonuçların da istatistiksel olarak apoptozisin ve demiyelinizasyonun MK-801 grubundan daha iyi olduğu ancak kontroller kadar iyi olmadığı gözlenmiştir. Hayvanların deney başlangıcı ve deney sonunda ki ağırlıkları karşılaştırıldığında ise ceviz yedirilen grupların ağırlıklarının diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ceviz yemek beyinde gelişen dejenerasyona karşı nispeten iyi gelirken kilo alımına da sebep olmuştur. Sonuç olarak ileri de gerçekleştirilecek olan çalışmalarda diyetle eklenen ceviz oranı azaltılarak farklı antioksidanlarla ya da çeşitli egzersiz uygulamalarıyla kombinasyonlarının yapıp araştırılmasının faydalı olacağına inanılmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Akosman, M.S., Türkmen, R., Demirel, H.H. (2021). Investigation of the protective effect of resveratrol in an MK-801-induced mouse model of schizophrenia. *Environ Sci Pollut Res Int*. Dec;28(46):65872-65884.
- Abd El Aziz A.E., Sayed. R.H., Sallam. N.A., El Sayed, N.S. (2021) Neuroprotective Effects of Telmisartan and Nifedipine Against Cuprizone-Induced Demyelination and Behavioral Dysfunction in Mice: Roles of NF- κ B and Nrf2. *Inflammation*. Aug;44(4):1629-1642.
- Bayazit, S., Tefek, H., Çalışkan, O. (2016). Türkiye’de ceviz (*Juglans regia* L.) araştırmaları. *Ziraat Fakültesi Dergisi*. 11(1):169-179.
- Boggs, J.M. (2006). Myelin basic protein: a multifunctional protein. *Cell. Mol. Life Sci*. 63, 1945–1961. <https://doi.org/10.1007/s00018-006-6094-7>
- Brufau, G., Boatella, J., Rafecas, M. (2006). Nuts: source of energy and macronutrients. *British Journal of Nutrition*, 96(Suppl2), 24-28.
- Carey J. (2002). Brain facts- A primer on the brain and nervous system. *The Society for neuroscience*, Washington, DC USA. 39-40.
- Chauhan, A., Chauhan, V. (2020) Beneficial effects of walnuts on cognition and brain health. *Nutrients*. 20;12(2):550.
- Colaric, M., Veberic, R., Solar, A., Hudina, M., Stampar, F. (2005). Phenolic acids, syringaldehyde, and juglone in fruits of different cultivars of *Juglans regia* L. *J Agric Food Chem* 53, 6390–6396.
- Esselun, C., Dilberger, B., Silaidos, C.V., Koch, E., Schebb, N.H., Eckert, G.P. (2020). A walnut diet in combination with enriched environment improves cognitive function and affects lipid metabolites in brain and liver of aged NMRI mice. *Neuromolecular Med*. Dec 26. DOI: 10.1007/s12017-020-08639-7. Epub ahead of print. PMID: 33367957.
- Fisher, D.R., Shibu, M., Poulouse, D.F., Bielinski B.S. (2017). Serum metabolites from walnut-fed aged rats attenuate stress-induced neurotoxicity in BV-2 microglial cells. *Nutritional Neuroscience*, 20:2, 103-109. DOI: 10.1179/1476830514Y.0000000150.
- Halvorsen, B.L.(2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of nutrition*, 132(3), pp.461–71.

Harandi, S., Golchin, L., Ansari, M., Moradi, A., Shabani, M., Sheibani, V. (2015). Antiamnesic effects of walnuts consumption on Scopolamine-induced memory impairments in rats. *Basic Clin Neurosci.* 6(2):91-99.

He J., Zu Q., Wen C., Liu Q., You P., Li X., Wang W.(2020). Quetiapine Attenuates Schizophrenia-Like Behaviors and Demyelination in a MK-801-Induced Mouse Model of Schizophrenia.*Front Psychiatry.* 2020 Aug 19;11:843. DOI: 10.3389/fpsy.2020.00843. PMID: 32973585;PMCID: PMC7466651.

Hesse, A., Wagner, M., Held, J., Brück, W., Salinas-Riester, G., Hao, Z., Waisman, A., Kuhlmann, T. (2010). In toxic demyelination oligodendroglial cell death occurs early and is FAS independent. *Neurobiol Dis.* Feb;37(2):362-9.

Hilton DA, Love S, Barber R. (1997). Demonstration of apoptotic cells in tissue sections by in situ hybridization using digoxigenin-labelled poly-A oligonucleotide probs to detect thymidine-rich DNA sequences. *J Histochem Cytochem*, 1997;42: 13-20

Horváth, Z.C., Czopf, J., Buzsáki, G. (1997). MK-801-induced neuronal damage in rats. *Brain Res.* Apr 11;753(2):181-95.

Human Anatomy 6TH EDITION by Kent M. Van De Graaff. McGraw-HillPublishing Company,2002.

Ikonomidou, C., Bosch, F., Miksa, M., Bittigau, P., Vöckler, J., Dikranian, K., Tenkova, T.I.,Stefovska, V., Turski, L., Olney, J.W. (1999). Blockade of NMDA receptors and apoptoticneurodegeneration in the developing brain. *Science.* 1;283(5398):70-4. DOI:10.1126/science.283.5398.70. PMID: 9872743.

Institute of Medicine (US) (2011). Forum on Neuroscience and Nervous System Disorders. Glutamate-Related Biomarkers in Drug Development for Disorders of the Nervous System: Workshop Summary. National Academies Press; 2. Overview of the Glutamatergic System. Washington (DC): USA. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK62187/>

Ito, H., Okuda, T., Fukuda, T., Hatano, T., Yoshida, T.(2007). Two novel dicarboxylic acid derivatives and a new dimeric hydrolyzable tannin from walnuts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55 (3), 672-679.

Javitt D.C.(2007). Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. *Int Rev Neurobiol.*;78:69-108.

- Joseph, J., Cole, G., Head, E., Ingram, D.(2009). Nutrition, brain aging, and neurodegeneration. *The journal of neuroscience*, 29 (41), 12795-12801.
- Karussis D. (2014). The diagnosis of multiple sclerosis and the various related demyelinating syndromes: a critical review. *J Autoimmun.* Feb-Mar;48-49:134-42. DOI:10.1016/j.jaut.01.022. Epub 2014 Feb 10.
- Kim T.W., Kang H.S., Park J.K., Lee S.J., Baek S.B., Kim C.J. (2014). Voluntary Wheel running ameliorates symptoms of MK-801-induced schizophrenia in mice. *Molecular medicine reports* 10: 2924-2930.
- Kipp, M., Norkus, A., Krauspe, B., Clarner, T., Berger, K., van der Valk, P., Amor, S., Beyer, C. (2011). The hippocampal fimbria of cuprizone-treated animals as a structure for studying neuroprotection in multiple sclerosis. *Inflamm Res.* Aug;60(8):723-6.
- Knapp M, Wong G. (2020). Economics and mental health: the current scenario. *World Psychiatry.* 19(1):3-14. doi:10.1002/wps.20692
- Kovacic, P. Somanathan, R. (2010). Biomechanisms of nanoparticles (toxicants, antioxidants and therapeutics): Electron transfer and reactive oxygen species. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 10, 1-12. doi:10.1166/jnn.2010.3028.
- Kruk-Slomka M, Budzynska B, Slomka T (2016). The influence of the CB1 receptor ligands on the schizophrenia-like effects in mice induced by MK-801. *Neurotox Res*, 30, 658-676.
- Lee, H.J., Kang, J.S., Kim, Y.I. (2009). Citicoline protects against cognitive impairment in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *J Clin Neurol.* Mar;5(1):33-8. doi: 10.3988/jcn.2009.5.1.33. Epub 2008 Mar 31. Erratum in: *J Clin Neurol.* 2009 Jun;5(2):104.
- Lee, T., Heo, H., Kim, K.Y. (2010). Effect of berberine on cell survival in the developing rat brain damaged by MK-801. *Exp Neurobiol.* Dec;19(3):140-5. DOI: 10.5607/en.2010.19.3.140. Epub 2010 Dec 31. PMID: 22110353; PMCID: PMC3214786.
- Lewis, D.A., Lieberman J.A. (2000). Catching up on Schizophrenia: Natural history and neurobiology. *Neuron*, 28, 325-34.
- Li, L., Tsao, R., Yang, R., Liu, C., Zhu, H., Young, J.C.(2006). Polyphenolic profiles and antioxidant activities of heartnut (*Juglans ailanthifolia* var. *cordiformis*) and Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 54 (21), 8033-8040.

Matute ,C., Ransom, B.R. (2012). Roles of white matter in central nervous system pathophysiology. *ASN Neuro*. Mar 22;4(2):e00079. DOI: 10.1042/AN20110060.

Moghaddam B., Adams B., Verma A., Daly D. (1997). Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *J Neurosci*. Apr 15;17(8):2921-7.

Molbay, M. (2018). Sıçanlarda oluşturulan fokal serebral iskemi modelinde insan Trofoblast Progenitör Hücrelerinin anjiyogenez mekanizmasına etkileri. Yüksek lisans tezi. Akdeniz Üniversitesi/ Antalya.

Mora, F., Segovia, G., del Arco, A. (2007). Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. *Brain Res Rev* 55, 78–88.

Muthaiyah, B., Essa, M.M., Lee, M., Chauhan, V., Kaur, K., Chauhan, A. (2014) .Dietary supplementation of walnuts improves memory deficits and learning skills in transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis*. 42:1397-1405.

Neuroscience, 3rd Edition Marc W. Halterman Neurology Feb 2005, 64 (4) 769-769-a; DOI: 10.1212/01.WNL.0000154473.43364.47.

Ozyurt, B., Ozyurt, H., Akpolat, N. (2007a). Oxidative stress in prefrontal cortex of rat exposed to MK-801 and protective effects of CAPE. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 31(4) 832-838. DOI: 10.1016/j.pnpbp. 01.029.

Ozyurt, B., Sarsilmaz, M. Akpolat, N. (2007b). The protective effects of omega - 3 fatty acids against MK-801-induced neurotoxicity in prefrontal cortex of rat. *Neurochemistry International*. 50(1) 196-202. DOI: 10.1016/j.neuint.2006.08.002.

Ozyurt, H., Ozyurt, B., Sarsilmaz, M. (2014). Potential role of some oxidant/antioxidant status parameters in prefrontal cortex of rat brain in an experimental psychosis model and the protective effects of melatonin. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*.18 (15). 2137-2144.

Pandareesh, M.D., Chauhan, V., Chauhan, A. (2018). Walnut supplementation in the diet reduces oxidative damage and improves antioxidant status in transgenic mouse model of

Alzheimer disease. *J Alzheimers Dis.* 64(4):1295-1305. DOI: 10.3233/JAD-180361. PMID: 30040727;PMCID: PMC6087457.

Park, E.K., Kim, M.S., Lee ,S.H. (2004). Furosin, an ellagitannin, suppresses RANKL-induced osteoclast differentiation and function through inhibition of MAP kinase activation and actin ring formation. *Biochem Biophys Res Commun* 325, 1472–1480.

Pellegrini, N., Serafini, M., Salvatore, S., Del Rio, D., Bianchi, M., Brighenti, F. (2006). Total antioxidant capacity of spices, dried fruits, nuts, pulses, cereals and sweets consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(11), 1030-1038. doi: 10.1002/mnfr.200600067.

Poulose, S.M., Bielinski, D.F., Shukitt-Hale, B. (2012). Walnut diet reduces accumulation of polyubiquitinated proteins and inflammation in the brain of aged rats. *J Nutr Biochem*, May;24(5):912-9. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2012.06.009.

Poulose, S.M., Miller, M.G., Shukitt-Hale, B.(2014).Role of walnuts in maintaining brain health with age. *The journal of nutrition*, 144 (4), 561S-566S.

Reiter, R.J., Manchester, L.C. & Tan, D.(2005). Melatonin in walnuts: influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 21(9), pp.920–4.

Sataloğlu H. (2009). Ankaferd Blood Stopper’ın Medulla Spinalis üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi ve kullanılabilirliğinin araştırılması. Uzmanlık tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi/Samsun.

Sun, Y., Ji, J., Zha, .Z, Zhao, H., Xue, B., Jin, L., Wang, L. (2021). Effect and Mechanism of Catalpol on Remyelination via Regulation of the NOTCH1 Signaling Pathway. *Front Pharmacol.* Feb 23;12:628209.

Şimşek, M. (2015). Ceviz ve Beyin. [http:// www.diyarbakirsoz. com/yazarlar/ msimsek/ ceviz-ve-beyin-8474](http://www.diyarbakirsoz.com/yazarlar/msimsek/ceviz-ve-beyin-8474).

Thompson CB. Apoptosis. In: Paul WE, editor. *Fundamental Immunology*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1999.

Walther, S., Strik W. (2012). Motor Symptoms and Schizophrenia. *Neuropsychobiology*. 66:77-92. DOI: 10.1159/000339456.

- Willis, L.M., Shukitt-Hale, B., Cheng, V., Joseph, J.A. (2009). Dose-dependent effects of walnuts on motor and cognitive function in aged rats. *Br. J. Nutr.* 101:1140–1144.
- Xiang, Z., Nesterov, E.E., Skoch, J., Lin, T., Hyman, B.T., Swager, T.M., Bacskai, B.J., Reeves, S.A. (2005). Detection of myelination using a novel histological probe. *J Histochem Cytochem.* Dec;53(12):1511-6.
- Xiu, Y., Kong, X.R., Zhang, L. (2014). White matter injuries induced by MK-801 in a mouse model of schizophrenia based on NMDA antagonism. *The Anatomical Record (Hoboken)*, 297, 1498-1507. DOI: 10.1002/ar.22942. Epub 2014 May 2.
- Xiu, Y., Kong, X.R., Zhang, L., Qiu, X., Gao, Y., Huang, C.X., Chao, F.L., Wang, S.R., Tang, Y. (2015). The myelinated fiber loss in the corpus callosum of Mouse model of schizophrenia induced by MK-801. *J Psychiatr Res.* 63:132-40. doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.02.013. Epub 2015 Feb 25.
- Yehuda, S., Carasso, R.L.(1993). Modulation of learning, pain thresholds, and thermoregulation in the rat by preparations of free purified alpha-linolenic and linoleic acids: determination of the optimal ω 3-to- ω 6 ratio. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(21), pp.10345–9.
- Young, S. N., Gauthier, S. (1981). Tryptophan availability and the control of 5-hydroxytryptamine and tryptamine synthesis in human CNS. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 133, 221-230.
- Yu, J., Qi, D., Xing, M. (2011). MK-801 induces schizophrenic behaviors through downregulating Wnt signaling pathways in male mice. *Brain Res*, 1385, 281-292.
- Zhang, Y.(1996). The effect of humor in advertising: An individual-difference perspective. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6793\(199609\)13:6<531::AID-MAR1>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6793(199609)13:6<531::AID-MAR1>3.0.CO;2-9)
- Zhang H., Links P.H., Ngsee J.K, Tran K., Cui Z., Ko K.W., Yao Z. (2004). Localization of low density lipoprotein receptor-related protein 1 to caveolae in 3T3-L1 adipocytes in response to insulin treatment. *J Biol Chem.*16;279(3):2221-30.
- Zhou, Y., Danbolt, N.C. (2014). Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. *J Neural Transm (Vienna)*. 121(8):799-817. DOI:10.1007/s00702-014-1180-8.