



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**5XFAD ALZHEİMER HAYVAN MODELİNDE PRENATAL VE
LAKTASYON DÖNEMİNDE VERİLEN NÖRONAL MEMBRAN
PREKÜRSÖRLERİNİN İSKELET KASI ÜZERİNE ETKİLERİ**

MUKADDES ÜÇKARIŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANATOMİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Elif Nedret Keskinöz

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mustafa Aktekin

İSTANBUL-2025



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**5XFAD ALZHEİMER HAYVAN MODELİNDE PRENATAL VE
LAKTASYON DÖNEMİNDE VERİLEN NÖRONAL MEMBRAN
PREKÜRSÖRLERİNİN İSKELET KASI ÜZERİNE ETKİLERİ**

MUKADDES ÜÇKARIŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANATOMİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Elif Nedret Keskinöz

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mustafa Aktekin

İSTANBUL-2025

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

25.06.2025

Mukaddes Üçkarış

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez sürecim boyunca, akademik bilgi ve araştırma becerilerimi geliştirme imkânı bulduğum bu dönemde bana destek veren tüm kişi ve kurumlara teşekkür ederim.

Öncelikle, yüksek lisans eğitimim süresince bilgi birikimi, sabrı ve yönlendirmeleriyle her zaman yanımda olan, çalışmalarına sağladığı değerli katkılar ve kariyer hedeflerim doğrultusunda beni destekleyici yaklaşımıyla ilham kaynağım olan çok değerli tez danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Elif Nedret Keskinöz'e,

Bu süreçte kıymetli bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yol gösterici olan ikinci tez danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mustafa Aktekin'e,

Bu proje süresince engin bilgi ve deneyimleriyle çalışmama değer katan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Serap Arbak'a ve Doç. Dr. Devrim Öz Arslan'a,

Çalışmaya başladığım süreçten itibaren desteğini esirgemeyen ve tecrübesiyle yol gösteren kıymetli hocam Prof. Dr. Aptullah Haholu'na,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca deneyimlerini büyük bir içtenlikle paylaşan, değerli Gökçen Özgün'e ve sevgili Zeynep Öztürk'e,

Yüksek lisans sürecim boyunca her türlü zorluğu birlikte göğüslediğimiz, samimi dostluğu ve desteğiyle yanımda olan kıymetli arkadaşım Cemre Savaşan'a,

Koşulsuz desteklerini ve sevgilerini her zaman hissettiğim, yaşadığım zorluklarda pes etmeme asla izin vermeyen Üsküdar Üniversitesi'ndeki ailem Kübra Kayıkçı, Tayyip Albaş ve Ece Dereagzı'na en içten teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak yüksek lisans eğitimim süresince 2210-A ve 3501 kapsamında maddi olarak destek veren TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Bu tez projesi Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Bilimsel Araştırmaları Projesi Komisyonu (ABAPKO) tarafından (Proje No:2229) desteklenmiştir.



İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
RESİMLER LİSTESİ.....	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiii
ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2 GENEL BİLGİLER	5
2.1 Alzheimer Hastalığı.....	5
2.1.1 Alzheimer hastalığı tarihçesi	5
2.1.2 Alzheimer hastalığı epidemiyolojisi	6
2.1.3 Alzheimer hastalığı etiyolojisi	7
2.1.3.1 Aβ öncü proteini (APP).....	8
2.1.3.2 Presenilinler	9
2.1.3.3 İnflamasyon ve değiştirilebilir risk faktörleri.....	9
2.1.4 Alzheimer hastalığı patofizyolojisi.....	11
2.1.4.1 Kolinergik hipotez.....	12
2.1.4.2 Amiloid hipotezi.....	13
2.2 İskelet Kasının Histolojik Yapısı ve Hücresel Özellikleri.....	15
2.3 AH ve Sarkopeni.....	17
2.4 AH’de İskelet Kasında Glikojen Metabolizması Değişiklikleri	21
2.5 AH’de Mitokondriyal Fonksiyon ve Oksidatif Stres.....	24
2.5.1 Mitokondriyal disfonksiyon ve sarkopeni.....	29
2.6 AH ve Nöronal Membran Prekürsörleri	31
2.6.1 Fosfolipid biyosentezi ve Kennedy döngüsü	31
2.7 Alzheimer Hastalığında Kennedy Döngüsünün Bozulması.....	32
2.7.1 DHA ve membran fosfolipid bileşimi	34
2.7.2 Üridin monofosfat (UMP) ve Kennedy Döngüsü.....	35
2.7.3 Alzheimer hastalığında fosfolipid sentez bozukluğu, iskelet kası ve sarkopeni ilişkisi.....	35
3 GEREÇ VE YÖNTEM	37

3.1	Araştırma Şekli, Yeri ve Zamanı	37
3.2	Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları, Gruplandırılması ve Beslenmesi.....	37
3.3	Araştırmada Kullanılan Veri Toplama Araçları.....	39
3.3.1	Çalışmada kullanılan demirbaş malzemeler.....	39
3.3.2	Çalışmada kullanılan sarf malzemeler	40
3.4	Araştırmada Kullanılan Yöntemler	40
3.4.1	DeneySEL prosedür	40
3.4.1.1	Işık mikroskopisi hazırlığı	40
3.4.1.2	Hematoksilen-eozin (H&E) boyama yöntemi	41
3.4.1.3	Periyodik asit-schiff (PAS) reaksiyonu.....	42
3.4.1.4	Sitokrom c oksidaz IV (COXIV) boyaması.....	43
3.5	İstatistiksel Analiz.....	44
4	BULGULAR	45
4.1	İskelet Kasında Morfolojik Bulgular	45
4.2	İskelet Kaslarının Histopatolojik Değerlendirmesi	52
4.3	İskelet Kaslarının Morfometrik Değerlendirmesi	54
4.4	PAS Reaksiyonu Yoğunluğu Değerlendirmesi.....	61
4.5	COXIV İmmünohistokimya Bulguları	64
4.6	COXIV İmmünreaktivite Analizi.....	68
5	TARTIŞMA.....	76
6	SONUÇ	85
7	KAYNAKLAR.....	87
8	EKLER	98
EK 1.	Etik Kurul Onayı.....	98
9	ÖZGEÇMİŞ	100

KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

Ach	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
AH	Alzheimer Hastalığı
AMPK	AMP-aktive protein kinaz
APP	Amiloid Prekürsör Proteini
ATP	Adenozin Trifosfat
AU	Arbitrary unit
Aβ	Amiloid β
BMH	Bazal Metabolizma Hızı
5xFAD	Beş Mutasyonlu Alzheimer Fare Modeli
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
CCT	Fosfokolin sitidililtransferaz
ChAT	Kolin Asetiltransferaz
COXIV	Sitokrom c oksidaz
CTP	Sitidin trifosfat
DAG	Diacylglycerol (Diacilgliserol)
DHA	Dokosahekzaenoik Asit
DNTR	Deney Non-Transgenik
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DTR	Deney Transgenik
EBAH	Erken Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı
ECM	Hücre dışı matriks
EPA	Eikosapentaenoik Asit
ETZ	Elektron Taşıma Zinciri
fAH	Familial Alzheimer Hastalığı
FK	Fosfatidilkolin
GAG	Glikozaminoglikan
GBAH	Geç Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı
GP	Gliserofosfat
GS	Glikojen Sentaz

H&E	Hematoksilen-Eozin
H2O2	Hidrojen Peroksit
HBB	Hafif Bilişsel Bozukluk
HO•	Hidroksil radikali
IL-6	İnterlökin-6
KBB	Kan Beyin Bariyeri
KNTR	Kontrol Non-Transgenik
KTR	Kontrol Transgenik
KVH	Kardiyovasküler Hastalık
m.	musculus
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NFY	Nörofibriler Yumak
NMK	Nöromuskuler Kavşak
O₂^{-•}	Süperoksit anyonu
OXPHOS	Oksidatif Fosforilasyon
PAS	Periyodik Asit-Schiff
PEMT	Fosfatidiletanolamin N-metiltransferaz
PFA	Paraformaldehit
PSEN1	Presenilin 1
PSEN2	Presenilin 2
ROS	Reaktif oksijen türleri
SA	Sarkopeni
UMP	Uridin Monofosfat

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Auguste D.'ye ait histolojik preparat çizimleri (20)	6
Şekil 2. AH patofizyolojisinin şematik gösterimi.	11
Şekil 3. Ach'nin presinaptik ve postsinaptik sinir terminalleri arasındaki sentez ve taşıma yolu (61).....	13
Şekil 4. Aβ plaklarının oluşum modeli (64).....	14
Şekil 5. İskelet kası sarkomeri görüntüsü (65).....	16
Şekil 6. Yaşlanmayla ilişkili kas dokusundaki değişimlerin şematik temsili.	18
Şekil 7. Sarkopeni ve mitokondriyal fonksiyon arasındaki ilişkinin şematik gösterimi.....	27
Şekil 8. Mitokondriyal disfonksiyon sonucu oluşabilecek hasarın şematik gösterimi.....	28
Şekil 9. Kas-iskelet sistemi yaşlanması ve AH arasındaki bozulmuş kas-beyin etkileşiminin bir belirtici olarak mitokondriyal disfonksiyon (9).	30
Şekil 10. Oluşturulan deney grupları.	38
Şekil 11. 3 aylık gruplarda iskelet kasının histopatolojik skor grafiği.....	52
Şekil 12. 6 aylık gruplarda iskelet kasının histopatolojik skor grafiği.....	53
Şekil 13. 9 aylık gruplarda iskelet kasının histopatolojik skor grafiği.....	54
Şekil 14. 3 aylık gruplarda iskelet kaslarının minferet değerleri grafiği.....	55
Şekil 15. 6 aylık gruplarda iskelet kaslarının minferet değerleri grafiği.....	56
Şekil 16. 9 aylık gruplarda iskelet kaslarının minferet değerleri grafiği.....	57
Şekil 17. KNTR gruplarında iskelet kaslarının minferet değerlerinin yaşa göre grafiği.	58
Şekil 18. KTR gruplarında iskelet kaslarının minferet değerlerinin yaşa göre grafiği.	59
Şekil 19. DNTR gruplarında iskelet kaslarının minferet değerlerinin yaşa göre grafiği.	60
Şekil 20. DTR gruplarında iskelet kaslarının minferet değerlerinin yaşa göre grafiği.	61

Şekil 21. 3 aylık gruplarda PAS reaksiyonu yoğunluğu grafiği.....	62
Şekil 22. 6 aylık gruplarda PAS reaksiyonu yoğunluğu grafiği.....	63
Şekil 23. 9 aylık gruplarda PAS reaksiyonu yoğunluğu grafiği.....	64
Şekil 24. 3 aylık gruplarda COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.	69
Şekil 25. 6 aylık gruplarda COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.	70
Şekil 26. 9 aylık gruplarda COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.	71
Şekil 27. KNTR gruplarında COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.	72
Şekil 28. KTR gruplarında COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.	73
Şekil 29. DNTR gruplarında COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.	74
Şekil 30. DTR gruplarında COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.	75

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. 9 aylık KNTR gruplarına ait doku örneklerinin ışık mikroskobu altında görünümü.	45
Resim 2. 9 aylık KTR gruplarına ait doku örneklerinin ışık mikroskobu altında görünümü.	46
Resim 3. 9 aylık DNTR gruplarına ait doku örneklerinin ışık mikroskobu altında görünümü.	46
Resim 4. 9 aylık DTR gruplarına ait doku örneklerinin ışık mikroskobu altında görünümü.	47
Resim 5. 9 aylık KNTR gruplarına ait transverse doku örneği.	47
Resim 6. 9 aylık KTR gruplarına ait transverse doku örneği.	48
Resim 7. 9 aylık DTR gruplarına ait transverse doku örneği.	48
Resim 8. 3 aylık gruplara ait PAS reaksiyonu.	49
Resim 9. 6 aylık gruplara ait PAS reaksiyonu.	50
Resim 10. 9 aylık gruplara ait PAS reaksiyonu.	51
Resim 11. 3 ve 9 aylık KNTR gruplarına ait doku örneğinin COXIV immünohistokimya boyaması.	65
Resim 12. 3 ve 9 aylık KTR gruplarına ait doku örneğinin COXIV immünohistokimya boyaması.	66
Resim 13. 3 ve 9 aylık DNTR gruplarına ait doku örneğinin COXIV immünohistokimya boyaması.	67
Resim 14. 3 ve 9 aylık DTR gruplarına ait doku örneğinin COXIV immünohistokimya boyaması.	68

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Çalışmada kullanılan demirbaş cihazlar	39
Tablo 2. Doku takibi basamakları	41



ÖZET

5XFAD Alzheimer Hayvan Modelinde Prenatal ve Laktasyon Döneminde Verilen Nöronal Membran Prekürsörlerinin İskelet Kası Üzerine Etkileri

Bu çalışmada, Alzheimer hastalığında (AH) destekleyici diyetin iskelet kası dokusundaki yapısal ve metabolik değişikliklerin histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Prenatal ve laktasyon döneminde UMP, kolin ve balık yağı kombine diyetle beslenen 5xHAD Alzheimer modeli fareler (toplam n=36) 3, 6, 9 aylık olacak şekilde 4 gruba ayrıldı: KNTR (kontrol non-transgenik, n=9), KTR (kontrol transgenik, n=9), DTR (Deney non-transgenik, n=9) ve DTR (Deney transgenik, n=9) ayrıldı. Deney sonucunda farelerden elde edilen musculus gastrocnemius (m. gastrocnemius) dokuları, Hematoksilen- eosin (H&E) ve Periyodik Asit Schiff (PAS) boyamaları ile histopatolojik, Sitokrom c oksidaz (COXIV) antikoruna ile immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. KTR gruplarında kas dejenerasyonu ve atrofi kaynaklı histopatolojik skor en yüksek bulunurken kas lifi çapları diğer gruplara kıyasla en düşük olarak ölçülmüştür. Destekleyici diyetin uygulandığı deney gruplarında ise kas lifi çapında artış gözlenmiştir. PAS reaksiyonlarıyla değerlendirilen glikojen içeriği açısından tüm yaş gruplarında destekleyici diyet uygulanan gruplarda glikojen birikimi kontrol gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur. Mitokondriyal aktivite ve yoğunluğu yansıtan COXIV ekspresyonu, KTR grubunda yaşlanmayla birlikte azalma; destekleyici diyet uygulanan DNTR ve DTR gruplarında ise artış göstermiştir. Özellikle DTR grubunda, artan yaş ve Alzheimer patolojisine rağmen COXIV düzeyleri yüksek seyretmiştir. Bu çalışma ile destekleyici diyetin, AH sürecinde iskelet kasında meydana gelen yapısal ve metabolik bozulmaları hafifletici, koruyucu ve iyileştirici etkilere sahip olabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Alzheimer hastalığı (AH), Mitokondriyal fonksiyon, İskelet kası, Nöronal membran prekürsörleri, İskelet kası morfolojisi

ABSTRACT

Effects of Neuronal Membrane Precursors Administered During Prenatal and Lactation Periods on Skeletal Muscle in the 5XFAD Alzheimer's Animal Model

This study aimed to evaluate the structural and metabolic alterations in skeletal muscle tissue in Alzheimer's disease (AD) using histopathological and immunohistochemical methods, and to assess the potential effects of a supportive diet. A total of 36 5xFAD transgenic mice, an established AD model, were fed a combined diet containing uridine monophosphate (UMP), choline, and fish oil during the prenatal and lactation periods. The animals were divided into four groups at 3, 6, and 9 months of age: KNTR (control non-transgenic, n=9), KTR (control transgenic, n=9), DNTR (diet non-transgenic, n=9), and DTR (diet transgenic, n=9). Histological analysis of m. gastrocnemius tissues (H&E and PAS staining) and COXIV immunohistochemistry revealed that KTR mice showed the most severe muscle degeneration and atrophy, with the smallest fiber diameters. In contrast, diet-treated groups showed increased fiber diameter and glycogen content. COXIV expression decreased with age in the KTR group but increased in DNTR and DTR groups, remaining high in DTR mice despite aging and AD pathology. These findings suggest that a supportive diet may exert protective, restorative, and mitigating effects against structural and metabolic impairments in skeletal muscle associated with AD.

Keywords: Alzheimer's disease (AD), Mitochondrial function, Skeletal muscle, Neuronal membrane precursors, Morphology of skeletal muscle

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer hastalığı (AH), amiloid β ($A\beta$) birikimi, nörofibriler yumak (NFY) oluşumu ve progresif sinaptik dejenerasyon ile karakterize, yaygın görülen bir nörodejeneratif hastalıktır (1). AH'nin patofizyolojisi uzun süredir yalnızca merkezi sinir sistemi (MSS) ile ilişkilendirilse de, son yıllarda yapılan çalışmalar, hastalığın iskelet kası gibi periferik dokularda da metabolik ve yapısal değişikliklere yol açtığını ortaya koymuştur (2).

İskelet kası yaşlanma süreciyle birlikte kütle, güç ve fonksiyon kaybına uğrayabilir. Bu durum sarkopeni olarak tanımlanmakta ve 2016 yılından itibaren Dünya Sağlık Örgütü tarafından ICD-10 (M62.84) kodu ile tıbbi hastalık olarak kabul edilmektedir (3). Sarkopeni yalnızca fiziksel kapasiteyi azaltmakla kalmaz, aynı zamanda bilişsel işlevlerle de yakından ilişkilidir. Nitekim son yıllarda yapılan klinik ve deneysel çalışmalar, sarkopeni ile bilişsel gerileme ve AH arasında çift yönlü bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir (4–6).

Yaşlanmayla birlikte mitokondriyal biyogenez, mitofaji ve mitokondriyal dinamiklerde (füzyon-fisyon) meydana gelen işlev kaybı, hücresel enerji dengesini bozarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimine ve oksidatif stresin artmasına neden olur (7). Bu süreç, hem iskelet kası hücrelerinde hem de motor nöronlarda apoptoza yol açarak kas dejenerasyonu ve fonksiyon kaybı ile sonuçlanabilir. Bu bağlamda, mitokondriyal disfonksiyonun sarkopeninin patogenezinde merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir (8,9)

AH'nin erken evrelerinden itibaren tanımlanan mitokondriyal bozulmalar, enerji metabolizmasındaki aksaklıklar ve sinaptik zar sentezindeki yetersizliklerin, yalnızca nörolojik değil, aynı zamanda periferik doku fonksiyonlarını da etkilediği gösterilmiştir (9,10). İskelet kası, hem glikojen metabolizmasında hem de mitokondriyal aktivitede temel rol oynayan bir dokudur. Bu metabolik süreçlerdeki bozulmalar, kas hücresinin enerji üretim kapasitesini azaltarak atrofi ve disfonksiyona yol açmaktadır.

Kennedy döngüsü aracılığıyla fosfolipid sentezinde görev alan kolin, DHA ve uridin monofosfat (UMP) gibi moleküller, sinaptik zar bütünlüğünün korunmasında ve yeni sinaps oluşumunda önemli rol oynamaktadır (11). Bu bileşiklerin yalnızca sinir sistemi üzerinde değil, aynı zamanda iskelet kası dokusunda da hücrel bütünlük, protein sentezi ve enerji metabolizmasını destekleyici etkileri olduğu gösterilmiştir (12–14). Literatürde, bu nöronal membran prekürsörlerinin iskelet kası üzerindeki yapısal ve metabolik etkilerine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmakta olup, özellikle glikojen metabolizması üzerindeki etkileri büyük ölçüde açıklığa kavuşturulmamıştır. Glikojenin sentez ve yıkımında görevli enzimlerin regülasyonundaki bozulmalar, kas hücresinin enerji dengesini doğrudan etkilemektedir (15).

Bu bilgiler kapsamında bu çalışma, sarkopeni ile AH arasındaki ilişkiyi ve bu ilişkinin iskelet kası üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamaktadır. Bu doğrultuda, prenatal ve laktasyon döneminde UMP, kolin ve balık yağı ile beslenen 5xFAD farelerde uygulanan diyetin m. gastrocnemius üzerindeki etkileri histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilecektir.

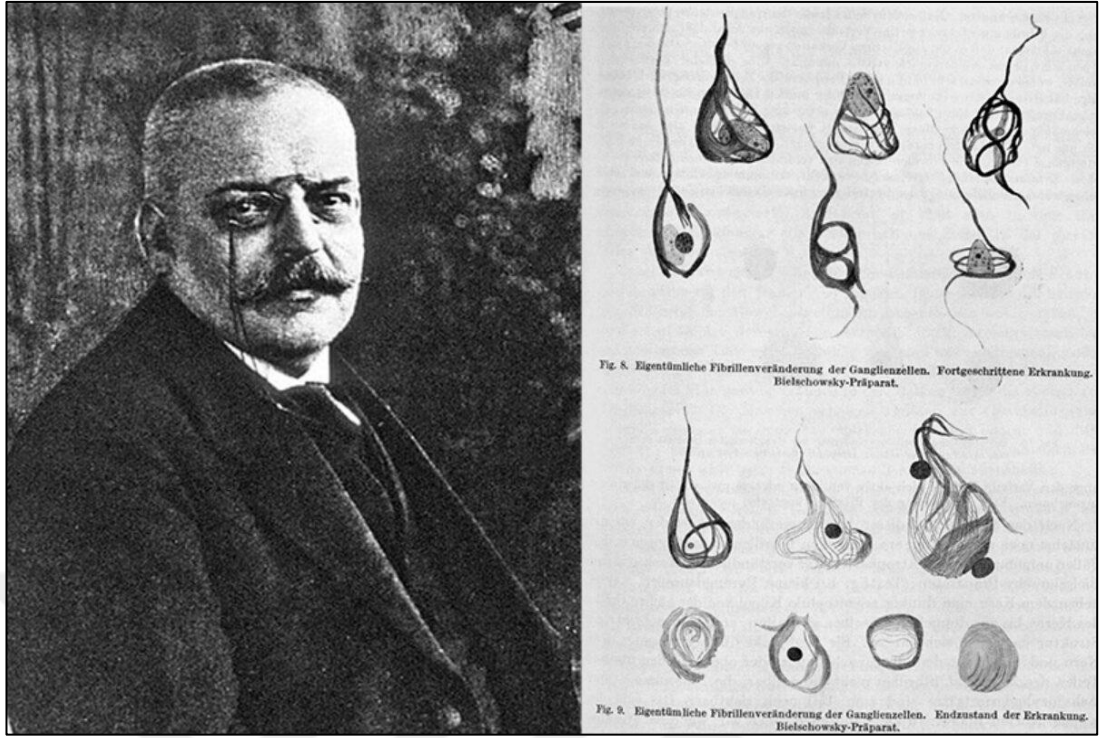
2 GENEL BİLGİLER

2.1 Alzheimer Hastalığı

Demans, günlük yaşam aktivitelerini etkileyen bilişsel yetilerde belirgin bir düşüşü tanımlamak için kullanılan genel bir terimdir. 65 yaş üstü bireylerde görülen demans vakalarının en az üçte ikisi Alzheimer hastalığına bağlıdır. AH, özellikle hipokampus ve korteks bölgelerinde geri dönüşü olmayan nöronal kayıpla karakterize, sinsli başlangıçlı nörodejeneratif bir hastalıktır. Bu süreç, bilişsel işlevlerde ilerleyici bozulmalara yol açarak hafıza, anlama, düşünme, dil, dikkat, akıl yürütme, yargılama ve günlük yaşam aktivitelerinde belirgin kayıplara neden olur. AH doğrudan ölüme neden olmasa da, bireyleri diğer tıbbi komplikasyonlara karşı önemli ölçüde savunmasız hale getirerek ölüm riskini artırmaktadır (16,17).

2.1.1 Alzheimer hastalığı tarihçesi

Demans, insanlık tarihinde kavramsallaştırılmadan çok önce var olan bir durumdur. M.Ö. 2000'li yıllarda yaşamış eski Mısırlılar, yaşlanma ile birlikte bireylerin hafızalarında zayıflama meydana geldiğini gözlemlemiş ve bu durumu ilk kez yazılı kaynaklarına yansıtmışlardır (18). Ancak bu bilişsel gerileme hali, modern tıpta ancak 20. yüzyılın başlarında bilimsel olarak tanımlanmıştır. Alois Alzheimer, 1901 yılında diğer hastalarından farklı semptomatolojiye sahip olan hafıza kaybı, dil problemleri, kafa karışıklığı ve davranış bozuklukları gibi belirtiler gösteren bir hastası üzerinde çalışmaya başlamıştır. Hastanın ölümünden sonra beyin otopsisini yapmış, nöritik plaklar ve nörofibriler yumakları tespit etmiştir (Şekil 1). 1906 yılında Alman psikiyatrist ve nöropatolog Alzheimer, 51 yaşındaki Auguste Deter isimli hastasının ölümünden sonra beyinde yaptığı histopatolojik incelemeler sonucunda, günümüzde AH olarak bilinen nörodejeneratif bir bozukluğu tanımlamıştır. AH, adını Alman psikiyatrist ve nöropatolog Alois Alzheimer'dan almıştır (1,19).



Şekil 1. Auguste D.'ye ait histolojik preparat çizimleri (20)

Bu görseller, hastalığın ileri evresi (8. evre) ve terminal dönemini (9. evre) temsil etmektedir.

2.1.2 Alzheimer hastalığı epidemiyolojisi

Dünya genelinde demans hastalarının sayısının yüzyılın ortasına kadar 152 milyona ulaşması öngörülmektedir ve en büyük artışın düşük ve orta gelirli ülkelerde gerçekleşmesi beklenmektedir (21). 2020 AH ile ilgili veriler doğrultusunda, 65 yaş ve üzeri AH sayısının Amerika'da 5.8 milyondan 13.8 milyona çıkabileceği öngörülmektedir (22). Son birkaç on yılda Japonya ve Çin'de gerçekleştirilen toplum temelli araştırmalarda AH prevalansında belirgin bir artış gözlemlenmiştir (23,24). Özellikle, kadınlarda yaşa özgü küresel prevalansın erkeklerden 1.17 kat daha fazla olduğu ve kadınların yaşa göre düzeltilmiş ölüm oranının da erkeklerden yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum, kadınların daha uzun yaşam süresine sahip olmasının tek belirleyici faktör olmadığını düşündürmektedir. Buna ek olarak, 2000 yılından 2018 yılına kadar AH'ye bağlı ölümler %146.2 oranında artmış ve Alzheimer,

Amerika'daki yaşlı nüfus arasında beşinci en büyük ölüm nedeni haline gelmiştir (22). Türkiye'de ise AH'nin yaygınlığına ilişkin ulusal düzeyde yapılan çalışmalar sınırlıdır. Ancak, mevcut tahminler yaklaşık 600 bin kişinin bu hastalıktan etkilendiğini göstermektedir (25).

AH'ye bağlı ölüm oranları, 2000 yılından bu yana belirgin bir artış göstermektedir. Özellikle 65 yaş ve üzerindeki bireylerde, AH'ye bağlı mortalite oranlarının yaşla birlikte çarpıcı biçimde yükseldiği bildirilmiştir (26). Yapılan araştırmalara göre, 65 yaş ve üzerindeki bireyler, AH tanısı aldıktan sonra ortalama olarak 4 ila 8 yıl arasında yaşamlarını sürdürebilmektedir. Ancak bazı bireylerde bu süre 20 yıla kadar uzayabilmektedir (27). Bu durum, hastalığın genellikle yavaş seyreden, sinsi başlangıçlı ve uzun süreli bir ilerleyiş gösterdiğini ortaya koymaktadır. Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri verilerine göre, 2017 yılında 121.404 kişi AH nedeniyle hayatını kaybetmiştir (26).

2.1.3 Alzheimer hastalığı etiyolojisi

AH, birçok bilinen risk faktörü ile ilişkili multifaktöriyel bir hastalıktır. En önemli risk faktörü yaştır ve ilerleyen yaş, hastalığın en temel belirleyicisi olarak kabul edilmektedir. AH'nin prevalansı, 65 yaşından itibaren her 5 yılda bir yaklaşık iki kat artmaktadır. 65 yaş altındaki bireylerde AH insidansı daha belirsiz olmakla birlikte, mevcut tahminler bu yaş grubunun tüm Alzheimer vakalarının yalnızca yaklaşık %3'ünü oluşturduğunu göstermektedir (28). Toplam vaka sayısı yaşlanan nüfusla birlikte artış gösterse de, bazı ülkelerde belirli yaş gruplarındaki hastalık insidansında azalma eğilimi gözlemlenmiştir (29,30).

AH, başlangıç yaşına ve kalıtsal olup olmamasına göre sınıflandırılabilir.

- Erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı (EBAH), 65 yaşından önce ortaya çıkar.
- Geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı (GBAH) ise tüm vakaların %95'inden fazlasını oluşturur ve 65 yaşından sonra görülür (31).

Ailesel Alzheimer hastalığı (fAH), genellikle otozomal dominant şekilde aktarılan Mendeliyen kalıtım gösterir. Buna karşın, sporadik AH belirgin bir ailesel bağlantı göstermez (32). EBAH vakalarının neredeyse tamamı ailesel kökenlidir ve sıklıkla amiloid prekürsör protein (APP), presenilin 1 (PSEN1) veya presenilin 2 (PSEN2) genlerindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Öte yandan, GBAH vakalarının büyük çoğunluğu sporadiktir. Ancak hem EBAH hem de GBAH'da genetik faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir. Örneğin, Trizomi 21 (Down sendromu), EBAH ile ilişkili bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (33).

Son yıllarda yapılan genom çapında ilişkilendirme çalışmaları ve genetik dizileme analizleri, toplamda 20'den fazla risk lokusu tanımlamış ve bu lokusların sporadik vakaların gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir. Ancak bu ilerlemelere rağmen, sporadik Alzheimer vakalarının büyük kısmında hâlâ net bir genetik neden belirlenememiştir (34).

2.1.3.1 Aβ öncü proteini (APP)

APP, otozomal dominant mutasyonların AH'ye neden olduğu gösterilen ilk gendir. APP, beyinde biriken amiloid plakların ana bileşeni olan Aβ peptidinin öncüsüdür. 1991 yılında John Hardy ve ekibi tarafından APP genindeki mutasyonların tanımlanması, amiloid kaskadı hipotezi'nin ortaya atılmasına zemin hazırlamıştır (35). Bu hipoteze göre, Aβ'nin patolojik birikimi nöronal disfonksiyona ve hücre ölümüne yol açan zincirleme olayları tetiklemekte, bu da hastalığın gelişimini başlatmaktadır (36).

Günümüzde APP geninde tanımlanmış 50'den fazla patojenik mutasyon bulunmaktadır. Bu mutasyonlar, fAH vakalarının yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır. Çoğu mutasyonun, özellikle Aβ42 üretimini artırarak veya Aβ42: Aβ40 oranını bozarak amiloid agregasyonunu tetiklediği bildirilmiştir. Buna ek olarak, oldukça nadir durumlarda APP geninin duplikasyonu veya promotör bölgesindeki mutasyonlar da AH ile ilişkilendirilmiştir (37).

2.1.3.2 Presenilinler

PSEN1 ve PSEN2 genleri, APP'nin parçalanmasında görev alan γ -sekretaz enzim kompleksinin katalitik alt birimlerini kodlamaktadır (38). Bu genlerdeki mutasyonlar, otozomal dominant kalıtımla aktarılan AH'ye neden olmaktadır. Özellikle PSEN1 mutasyonları, EBAH'ın en yaygın Mendelyan genetik nedenlerinden biri olarak kabul edilmekte ve bu varyantların EBAH vakalarının yaklaşık %30–50'sini oluşturduğu tahmin edilmektedir (39). PSEN1 mutasyonları, genellikle 30 ila 50 yaş arasında başlayan, hızlı ilerleyici bir klinik tablo ile ilişkilidir. Bu mutasyonlara sahip bireylerde penetrans oldukça yüksektir ve semptom başlangıç yaşı çoğunlukla ailesel öykü ile paralellik göstermektedir. Ayrıca bazı PSEN1 mutasyonlarının, konvülsiyonlar, spastisite ve serebellar belirtiler gibi atipik klinik bulgular ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir (40,41). Buna karşılık, PSEN2 mutasyonları daha nadir görülür ve genellikle daha ileri yaşta başlayan, daha yavaş ilerleyen ve klinik olarak daha değişken seyreden EBAH vakalarıyla ilişkilidir. PSEN2 mutasyonlarının penetransı PSEN1'e kıyasla düşüktür ve aynı aile içinde dahi belirgin fenotipik farklılıklar gözlenebilmektedir (42). Her iki genin mutasyonları da A β 42 üretiminde artışa yol açarak, A β birikimini tetikler ve AH patogeneğinde merkezi rol oynar. Ancak PSEN1 mutasyonları genellikle daha agresif ve erken başlangıçlı bir hastalık süreci ile ilişkilidir (43,44).

2.1.3.3 İnflamasyon ve değiştirilebilir risk faktörleri

Sporadik AH, genetik yatkınlık ve çevresel etmenlerin karmaşık etkileşiminden kaynaklanmaktadır. Bu bağlamda, beyin hipoperfüzyonu ve nöroinflamasyon, hastalığın gelişiminde rol oynayan en yaygın mekanizmalar arasında yer almaktadır (45,46). Travma, sepsis ve sistemik enfeksiyonlar gibi durumlar, merkezi sinir sisteminde (MSS) inflamatuvar yanıtları tetikleyerek hem kısa hem de uzun vadede bilişsel bozulmalara neden olabilmektedir (47,48). Travmatik beyin hasarları ve hatta yaşlı bireylerde görülen kalça kırıkları gibi periferik travmaların dahi demans gelişimiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (49,50).

İnflamatuvar süreçlerin AH patogenezindeki rolü, son yıllarda özellikle sitokin düzeyleri üzerinden detaylı olarak araştırılmıştır. İnterlökin-6 (IL-6) gibi proinflamatuvar belirteçlerin yüksek düzeyde bulunması, hem Alzheimer hem de vasküler demans riskiyle anlamlı düzeyde ilişkilidir (51). Alzheimer hastalarının beyin dokularında, aktifleşmiş mikrogliya ve astrogliya hücrelerinin amiloid plaklar ve nörofibriller yumakların çevresinde yoğunlaştığı gözlemlenmektedir. Bu durum, nöroenflamasyonun hastalık patogenezindeki belirgin rolünü ortaya koymaktadır (52). Ayrıca bu inflamasyon belirteçlerinin yüksek düzeyleri, daha hızlı bilişsel gerileme ile ilişkilendirilmiştir (53).

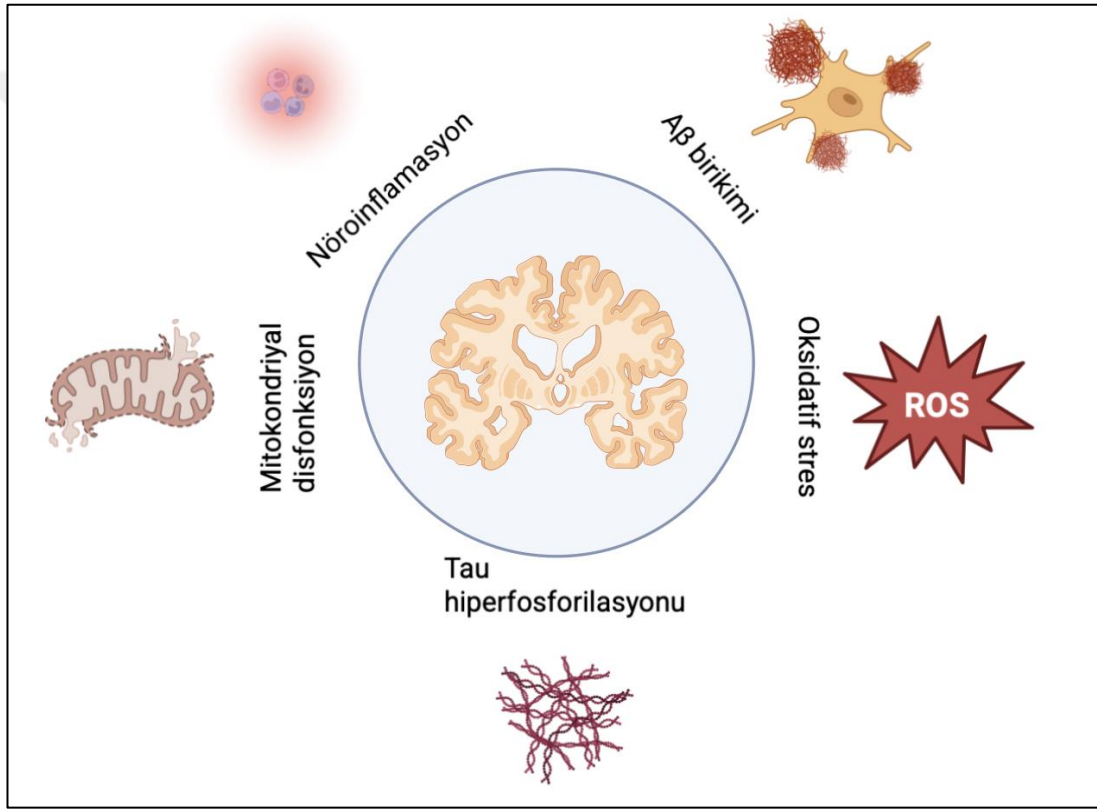
Buna paralel olarak, değiştirilebilir risk faktörleri üzerine yapılan çalışmalar da dikkat çekicidir. Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), yalnızca vasküler demansa değil, aynı zamanda AH'ye de zemin hazırlayan önemli bir risk faktörüdür. Hipertansiyon, ateroskleroz ve inme gibi KVH bileşenleri, beyin kan akımını etkileyerek nörodejeneratif süreçleri hızlandırabilir. Bu nedenle, KVH günümüzde önlenabilir bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (54).

Obezite ve tip 2 diyabet de AH açısından güçlü birer risk etmeni olarak tanımlanmaktadır. Obezite, insülin direncini artırarak glukoz metabolizmasını bozar ve bu durum kronik hiperglisemiye neden olur. Uzun süreli hiperglisemi, A β birikimini ve nöroenflamasyonu teşvik ederek bilişsel bozulmaları hızlandırabilir. Ayrıca obezite, proinflamatuvar sitokinlerin salınımını uyarak AH riskini daha da artırmaktadır (55). Bunlara ek olarak, AH ile ilişkilendirilen diğer potansiyel risk faktörleri arasında: Travmatik beyin yaralanmaları, depresyon, serebrovasküler hastalıklar, ileri ebeveyn yaşı, sigara kullanımı, yüksek homosistein düzeyleri, ailede demans öyküsü ve APOE ϵ 4 aleli taşıyıcılığı yer almaktadır. Özellikle birinci derece akrabasında AH bulunan bireylerde, hastalık riski genel popülasyona göre %10–30 oranında artmaktadır. İki veya daha fazla kardeşi geç başlangıçlı AH tanısı almış bireylerde ise bu risk yaklaşık 3 katına çıkmaktadır (56).

2.1.4 Alzheimer hastalığı patofizyolojisi

AH patofizyolojisi, mikroskopik düzeyde üç temel nöropatolojik bulgu ile karakterize edilir:

- A β proteininden oluşan hücre dışı plaklar,
- Hücre içi nörofibriler yumaklar (NFY),
- İlerlemiş nöronal dejenerasyon.



Şekil 2. AH patofizyolojisinin şematik gösterimi.

(Görsel BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)

Plaklar ve NFY'ler normal yaşlanma sürecinde veya bazı diğer nörodejeneratif hastalıklarda da gözlemlenmektedir. Dolayısıyla bu yapılar yalnızca Alzheimer hastalığına özgü olmamakla birlikte, hastalığın tanısall sürecinde karakteristik patolojik bulgular arasında yer alırlar. Güncel teoriler, AH gelişimini esas olarak amiloid öncül

proteini (APP) ve tau proteini metabolizmasındaki bozukluklara dayandırmaktadır (57). Patofizyolojik süreçte öne çıkan mekanizmalar arasında:

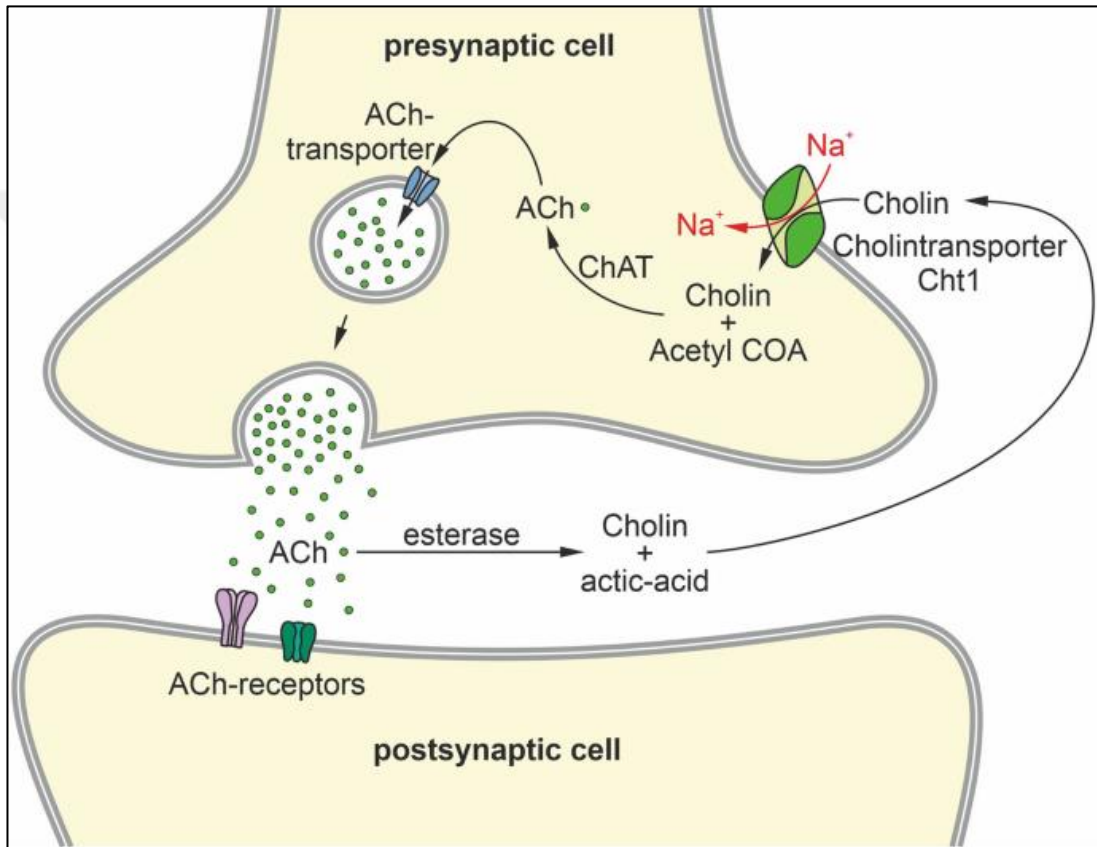
- A β plaklarının hücre dışı birikimi,
- Tau proteinine bağlı NFY'lerin hücre içinde birikmesi,
- Oksidatif stres kaynaklı nöronal hasar,
- Glial aktivasyon ve enflamatuvar yanıtlar gibi çeşitli biyolojik olaylar yer almaktadır (Şekil 2).

Amiloid plaklar, APP'nin β - ve γ -sekretazlar tarafından parçalanması sonucu oluşan 40 veya 42 amino asit uzunluğundaki A β peptidlerinden oluşur. Özellikle A β 42, daha agregatif ve toksik özellik göstererek ilerleyici birikim ve plak oluşumuna neden olur (58). Bu birikimler, beyinde sinaptik iletimi bozarak nöronal fonksiyonları etkiler. Alzheimer hastalarında bu patolojik değişiklikler sıklıkla bazal ön beyin ve neokorteks bölgelerinde yoğunlaşmakta ve kolinerjik nöronların kaybı ile birlikte ilerlemektedir (33,59). Bu patolojik bulgulara dayanarak iki önemli patofizyolojik hipotez önerilmiştir:

2.1.4.1 Kolinerjik hipotez

1970'li yıllarda, neokortikal ve presinaptik kolinerjik işlev bozukluklarının, asetilkolin (ACh) sentezinden sorumlu olan kolin asetiltransferaz (ChAT) enzimiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir. ACh'nin öğrenme ve hafıza gibi bilişsel işlevlerdeki kritik rolü nedeniyle, AH için kolinerjik hipotez geliştirilmiştir. ACh, kolin ve asetilkoenzim A'dan ChAT enzimi aracılığıyla sentezlenir ve sinaptik veziküllere taşınarak salınır (Şekil 3). Beyinde ACh; hafıza, dikkat, duyuşsal bilgi işleme ve öğrenme gibi işlevlerde önemli rol oynar. Kolinerjik nöronların hasarı, AH'de bilişsel bozulma ve hafıza kaybına yol açar. A β birikimi, kolin alımını ve ACh salınımını azaltarak kolinerjik iletişimi bozar. Ayrıca, A β oligomerlerinin nörotoksitesi ve AChE ile A β arasındaki etkileşimlerin sinaps kaybına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (60).

Bununla birlikte, nikotinik ve muskarinik ACh reseptörlerinin azalması ve eksitator amino asit sistemindeki bozulmalar da hastalığın ilerlemesini etkiler. Özellikle glutamat düzeyinin ve D-aspartat alımının AH beyinlerinde azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, skopolamin gibi kolinerjik reseptör antagonistlerinin amneziye neden olduğu ve bu etkinin ACh üretimini artıran maddelerle geri çevrilebildiği gösterilmiştir (61).

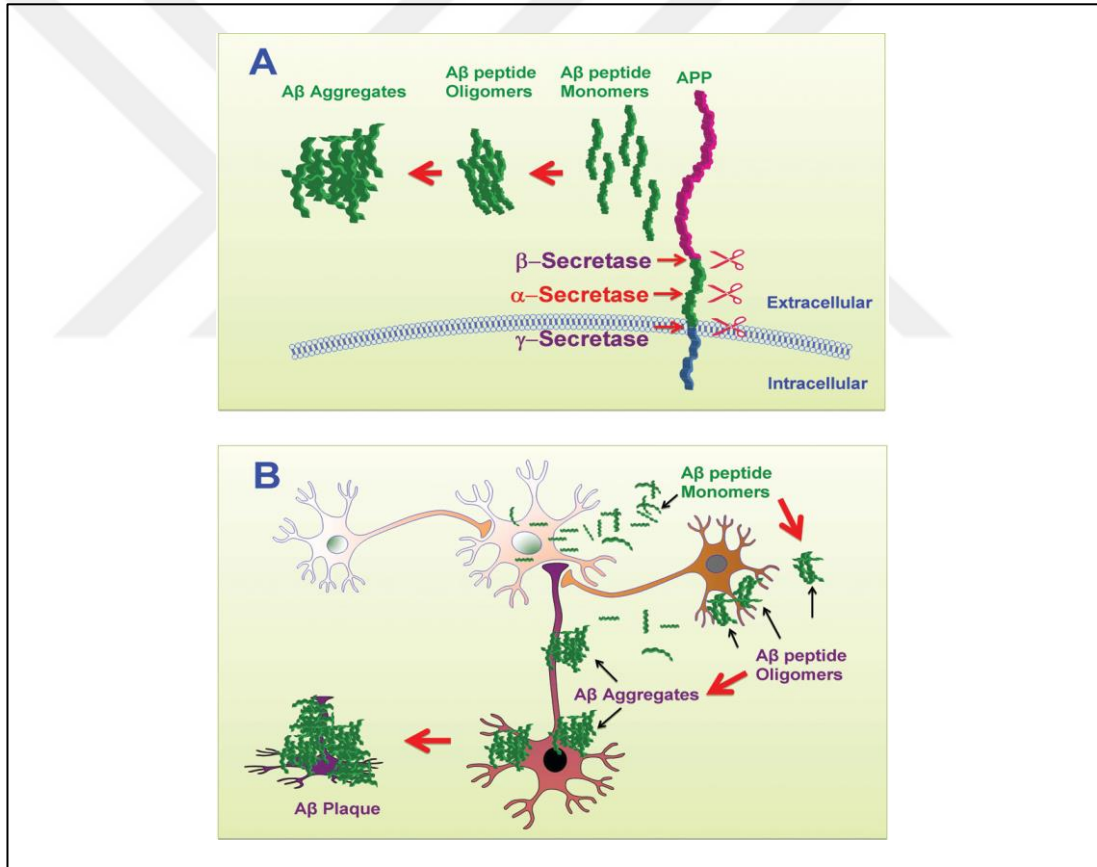


Şekil 3. Ach'nin presinaptik ve postsinaptik sinir terminalleri arasındaki sentez ve taşıma yolu (61)

2.1.4.2 Amiloid hipotezi

Uzun süredir, MSS'de anormal A β birikiminin demans ile güçlü şekilde ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu durum, amiloid hipotezinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Günümüzde özellikle kalıtsal AH vakalarında en çok kabul gören açıklamalardan biri bu hipotezdir.

Amiloid hipotezine göre, APP, β - ve γ -sekretaz enzimleriyle parçalanır (Şekil 4). Bu parçalanma sonucunda oluşan A β peptitleri, normalde zararsızdır; ancak özellikle A β 42 formunun yıkımı yaşla birlikte azalır ve bu peptit beyinde birikmeye başlar. A β 42, amiloid fibrillerinin oluşumuna ve nöronlara toksik etki gelişmesine daha yatkındır. A β 42 seviyesindeki artış, A β 40 ile birlikte birikerek A β 42/A β 40 oranını yükseltir ve bu da amiloid agregasyonu ve plak oluşumunu hızlandırır (62). Bu süreç, nörotoksiteyi artırır, tau proteinlerinin patolojik değişimine yol açar ve sonunda nöronal hücre ölümü ile nörodejenerasyon gelişir. Ayrıca, APP, PSEN1 ve PSEN2 genlerindeki mutasyonlar ve diğer risk faktörleri de A β metabolizmasını bozarak, A β birikimini artırmakta ve hastalığın ilerlemesini hızlandırmaktadır (63,64).

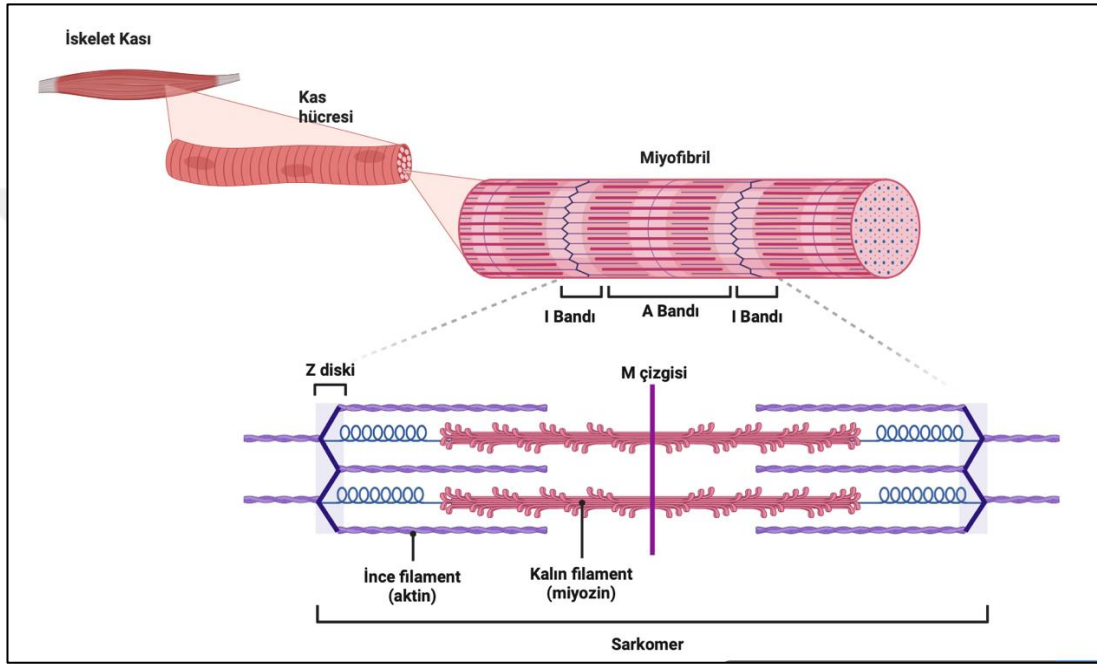


Şekil 4. A β plaklarının oluşum modeli (64)

2.2 İskelet Kasının Histolojik Yapısı ve Hücresel Özellikleri

İskelet kası, silindirik biçimli kas liflerinden oluşur. Her bir kas lifi aslında tek bir hücre olup alışılmadık derecede büyük boyutlara ulaşır (çapı ~10–100 µm, uzunluğu bazı kaslarda 30 cm'ye kadar) ve birden çok çekirdek içerir. Embriyonik dönemde çok sayıda miyoblastın birleşmesi ile oluştuğundan bu hücreler çok çekirdekli senkisyum yapıdadır (65). Çekirdekler olgun iskelet kası liflerinde hücrenin periferinde, hemen sarkolemma altında dizilirler. Kas liflerinin etrafı bağ dokusu katmanları ile sarılıdır: Her bir lifi ince gevşek bağ dokusu olan endomisyum kuşatırken, lif demetleri (fasiküller) daha kalın bir bağ doku kılıfı olan perimisyum ile çevrilidir; tüm kas ise dışta sağlam kollajen liflerden zengin bir epimisyum tabakası ile sarılır. Bu bağ doku tabakaları, kas içindeki kılcal damarlar ve sinir liflerini de içererek kas liflerine destek ve beslenme sağlar. Ayrıca, tendon kollajenleriyle bütünleşerek kas tarafından üretilen gerimin (kasılma kuvvetinin) tendona ve oradan kemiğe iletilmesini mümkün kılarlar. Böylece kas içi mikroskobik kuvvet, makroskopik hareketlere dönüştürülür. Kas lifinin sitoplazması (sarkoplazma), lif boyunca uzanan yüzlerce miyofibril içerir; miyofibrillerin düzenli ve tekrar eden dizilimi, ışık mikroskobunda kas hücresinin enine bantlı (çizgili) görünümünü oluşturur. Her bir miyofibril, uç uca eklenmiş binlerce kontraktıl alt birimden yani sarkomerlerden oluşur. Sarkomer, bir miyofibril içinde iki komşu Z çizgisi arasındaki segment olarak tanımlanır. Sarkomer yapısı, kalın ve ince miyofilamentlerin özel diziliminden kaynaklanan karakteristik bantlaşma ile ayırt edilir. Z çizgileri, sarkomerin her iki sınırında yer alır ve ince filamentlerin (aktin filamanlarının) bağlanma bölgesidir; bu bölgede aktin filamanları α -aktinin proteini aracılığıyla Z çizgisine tutunur. İnce filamentler esas olarak aktin proteininden oluşur ve üzerlerinde düzenleyici proteinler olan tropomyozin ve troponin komplekslerini taşır. Kalın filamentler ise çok sayıda miyozin molekülünün demetlenmesiyle oluşur ve sarkomerin merkezinde yer alır. Kalın filamentlerin ortasında, sarkomerin tam merkezinde M çizgisi bulunur; burada miyozin filamanları myomezin gibi proteinler aracılığıyla birbirine bağlanarak sabitlenir. A bandı (anizotropik bant) sarkomerin koyu bandıdır ve kalın miyozin filamentlerinin tam boyunu içerir; bu bölgede kalın ve ince filamentler kısmen üst üste binmiştir. I bandı (izotropik bant) ise açık renkli band olup yalnızca ince aktin filamentlerini içerir; bir I

bandı, iki komşu sarkomere ait aktin filamentlerinin Z çizgisine kadar uzanan uç kısımlarını kapsar. H bandı, A bandının ortasında yer alan ve sadece kalın filamentlerin bulunduğu daha açık bir bölgedir. I bandının ortasındaki Z çizgisi ve A bandının ortasındaki M çizgisi, elektron mikroskopik düzeyde ayırt edilebilir özel yapılardır (Şekil 5). Miyofibrillerdeki bu bantlı düzen, kas lifi boyunca bütün miyofibrillerin hizalanması sayesinde ışık mikroskopunda da enine çizgilenme olarak görünür (66).



Şekil 5. İskelet kası sarkomeri görüntüsü (65)

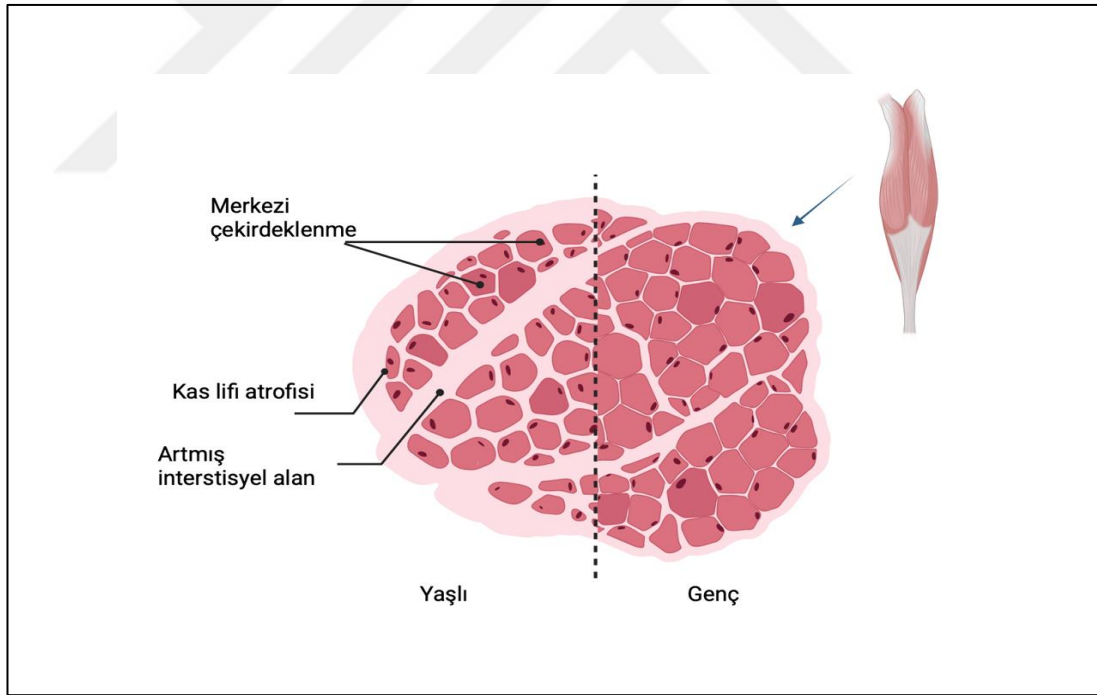
Tüm iskelet kası lifleri aynı yapıdaki sarkomer ve miyofibrilleri içermekle birlikte, kasılma hızları ve metabolik özellikleri bakımından farklı lif tiplerine ayrılır. Temel olarak yavaş ve hızlı olmak üzere iki ana kategori vardır. Tip I lifler (yavaş seğiren yavaş- oksidatif lifler) düşük kasılma hızı fakat yüksek dirençli (geç yorulan) liflerdir. Küçük çaplı olup azami kuvvetleri daha düşüktür ancak uzun süreli kasılmaları sürdürebilirler. Tip I lifler bol miktarda mitokondri ve kapiller damar içerir, miyogloblin düzeyleri yüksektir ve başlıca enerji kaynağı olarak aerobik oksidatif metabolizmaya dayanırlar. Bu nedenle kırmızı renkte görünürler (yüksek miyogloblin nedeniyle) ve yağ asitlerinin oksidasyonu ile adenosin trifosfat (ATP) üretmekte etkindirler. Yorgunluğa en dayanıklı kas lifleri bunlardır; örneğin postürün korunmasını sağlayan derin sırt kaslarında ve maraton koşusu gibi dayanıklılık

gerektiren aktivitelerde baskın olarak Tip I lifler kullanılır. Tip II lifler ise hızlı seğiren motor üniteleri oluştururlar ve daha hızlı/kuvvetli kasılabilirler ancak çabuk yorulma eğilimindedirler. Tip II lifler kendi içinde enzimatik ve fizyolojik özelliklerine göre alt gruplara ayrılır: Tip IIa ve Tip IIb lif tipleri en iyi tanımlanmış olanlarıdır. Tip IIa lifler, hızlı kasılan ancak Tip IIb'ye göre daha fazla dayanıklılık gösteren orta büyüklükte liflerdir. Bu lifler, hem oksidatif hem de glikolitik metabolik yolları kullanabilme kapasitesine sahiptir. Görece yüksek miyoglobin ve mitokondri içerikleri sayesinde oksijenli solunumu etkin bir şekilde gerçekleştirebilirken, aynı zamanda belirgin düzeyde glikojen depolayarak anaerobik enerji üretimine de katkıda bulunurlar. Bu nedenle orta düzeyde kuvvet ve dayanıklılık gerektiren aktivitelerde (ör. yürüme, hızlanmalı koşu veya bisiklet sürme) önemli rol oynarlar. Tip IIb lifler ise en hızlı ve en yüksek kuvvet üreten lif tipidir. Çapları büyük olup çok sayıda miyofibril içerirler; buna karşın mitokondri ve kapiller yoğunluğu düşüktür. Enerji üretimini ağırlıklı olarak anaerobik glikolizden sağlarlar, bu yüzden bol miktarda glikojen depolarlar ve glikolitik enzim aktiviteleri yüksektir. Miyoglobin düzeyleri düşük olduğundan mikroskopta daha soluk (beyaz) görünürler. Hızla yorulan liflerdir; kısa süreli fakat yüksek güç gerektiren aktivitelerde (sprint koşusu, ağırlık kaldırma) devreye girerler. Tip IIb lifler, hızlı ATP hidrolizi yapabilen miyozin izoformlarına sahip olduğundan hızlı bir kasılma döngüsü sağlar, ancak laktik asit birikimi ve enerji rezervlerinin tükenmesi ile çabuk güç kaybeder. İnsan iskelet kaslarının çoğu, bu üç lif tipini değişen oranlarda bir arada bulundurur. Histokimyasal olarak, Tip I ve Tip IIa lifler yüksek oksidatif enzim kapasitesine sahip oldukları için mitokondri yoğunlukları daha fazladır; buna karşın Tip IIb lifler az mitokondri içerir (67).

2.3 AH ve Sarkopeni

Sarkopeni, yaşlanmaya bağlı iskelet kası kütlesi ve gücünde azalma ile karakterize edilen, fiziksel zayıflığın önemli bir bileşenidir (68). Kas kütlesindeki bu kayıp, fonksiyonel yetersizlik, düşme riski artışı ve mobilite azalması gibi sonuçlara yol açmaktadır (69). Sarkopeni terimi, Yunanca “sarx” (et) ve “penia” (yoksulluk) sözcüklerinden türetilmiş olup, ilk kez Rosenberg tarafından yaşla ilişkili kas kaybını tanımlamak üzere kullanılmıştır (70). Yakın zamanda yeni bir ICD-10-MC kodu ile

resmi olarak bir hastalık olarak da tanımlanmıştır (3). Sarkopeni genellikle iki alt gruba ayrılır: Primer sarkopeni, herhangi belirgin bir neden olmaksızın yaşlanmaya bağlı olarak gelişir; sekonder sarkopeni ise inflamatuvar hastalıklar, organ yetmezliği, yetersiz beslenme veya fiziksel aktivite azlığı gibi nedenlerle ortaya çıkar (71). Sarkopeninin prevalansı çalışmalara göre değişkenlik göstermektedir: Toplumda yaşayan yaşlı bireylerde %1–29, uzun süreli bakım tesislerinde %14–33 ve hastane ortamında %10 civarındadır (72,73). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 2050 yılına kadar dünya genelinde 60 yaş üzeri birey sayısının 2,1 milyara ulaşacağını öngörmektedir. Bu durum, önümüzdeki birkaç on yıl içinde sarkopeni ile yaşayan bireylerin sayısında dramatik bir artış olacağını göstermektedir (73). Artan yaşla birlikte görülen kas fonksiyon kaybı yalnızca fiziksel sağlıkla değil, bilişsel işlevlerle de ilişkilidir. Son yıllarda yapılan klinik ve deneysel araştırmalar, sarkopeninin AH ve bilişsel gerileme ile bağlantılı olabileceğini göstermektedir (4–6,74).



Şekil 6. Yaşlanmayla ilişkili kas dokusundaki değişimlerin şematik temsili.
(Görsel BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)

Yaşlanma, iskelet kası fonksiyonunda azalmaya yol açarak kas kütlesi, kalitesi ve gücünde ilerleyici bir kayba neden olur (Şekil 6). Zayıf rejenerasyon kapasitesi, yaşlı

bireylerde disfonksiyonel iskelet kasının önemli nedenlerinden biridir. Ekstraselüler matriks (ECM), iskelet kasında doku çerçeve yapısını korur. Genellikle, iskelet kasında üç ECM katmanı bulunur: endomysium, perimysium ve epimysium (75,76). ECM, kas ağırlığının %10'una kadarını oluşturur ve kolajenler, lamininler, fibronektin ve proteoglikanları oluşturan glikozaminoglikanlar (GAG'ler) gibi glikoproteinlerden meydana gelir. Kolajen ve proteoglikanlar arasındaki etkileşimler, ECM yapısının ve organizasyonunun korunmasını sağlar (77,78). Çalışmalardan elde edilen veriler ECM bileşenlerinin gen ekspresyonunun yaşla birlikte azaldığını, ancak kolajen birikiminin iskelet kasında önemli ölçüde arttığını göstermiştir (79).

AH'nin klinik belirtileri ortaya çıkmadan önceki dönemde, hastalığın gelişmediği bireylerle kıyaslandığında, kilo kaybı sürecinin daha erken başladığı ve daha hızlı seyrettiği bildirilmiştir. Bu durum AH'nin prelinik aşamasında yalnızca MSS ile sınırlı kalmayıp periferik sistemlerde de belirti verebileceğini düşündürmektedir (80). AH teşhisi konulmadan önce bireylerde görülen kilo kaybının, yağsız kütle kaybından kaynaklandığı ve bu kaybın beyin hacmindeki küçülme ile ilişkili olduğu kanıtlarla desteklenmiştir (81). Sarkopeni, yaşla birlikte görülen yaygın bir kas kütlesi kaybı olgusu olarak yaşlanmanın tipik bir belirtisidir. Ancak bazı çalışmalar, AH tanısı almış bireylerde bu kas kaybının, sarkopeni yaşayan ancak bilişsel olarak sağlıklı kalan bireylerden daha erken başladığını ve daha şiddetli seyrettiğini ortaya koymuştur (82,83). Buna ek olarak, kas gücünde azalma, yürüme bozuklukları ve postural instabilite gibi anormal motor fonksiyonların, AH gelişimi için öngörücü birer biyobelirteç olabileceği ileri sürülmektedir (68,84). Kas gücü ve kas kütlesi yaşla birlikte doğal olarak azalır. Yapılan çalışmalar, 40 yaş civarında kas gücünün zirve seviyesinin yaklaşık %16'sına düştüğünü, bu oranın 60 yaş ve üzeri bireylerde %40'ı aştığını göstermektedir (84). Benzer şekilde, kas kütlesi 30 yaşından itibaren her on yılda yaklaşık %3–8 oranında azalmakta ve bu süreç 60 yaş sonrası belirgin şekilde hızlanmaktadır (85,86).

Sarkopeniye bağlı fiziksel yetersizliklerin bilişsel performansla bağlantısı, son yıllarda dikkat çekici biçimde araştırılmaktadır. Literatürde, düşük kas gücü ve azalmış yürüme hızı gibi fiziksel belirteçlerin, bilişsel bozulma ve demans gelişimi ile

ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Ancak iskelet kası fonksiyonlarındaki bozulmanın doğrudan bilişsel performans üzerindeki etkisi hâlâ tam olarak aydınlatılamamıştır. Bilişsel gerilemenin altında yatan nedenler arasında kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, böbrek hastalıkları, uyku bozuklukları, kronik inflamasyon, immünoşenescans ve obezite yer almaktadır (86). Bu faktörlerin çoğu aynı zamanda sarkopeni ile de ilişkilidir. Oksidatif stres, insülin direnci ve sistemik inflamasyon gibi ortak patofizyolojik mekanizmalar, sarkopeni ile bilişsel bozukluk arasında çift yönlü bir ilişki kurulabileceğini düşündürmektedir. Karmaşık bir istemli davranış olan motor fonksiyonun bozulması, yaşlı bireylerde bilişsel gerilemenin, hafif bilişsel bozukluğun (HBB) ve AH'ye bağlı demansın erken belirtilerinden biri olabilir (87–89). Bu nedenle, kas sağlığı yalnızca fiziksel kapasite açısından değil, aynı zamanda bilişsel durumun izlenmesi açısından da önemli bir biyobelirteç olarak değerlendirilmelidir.

İstemli motor kontrol, hem motor hem de bilişsel sistemler tarafından desteklenen, ortak nöronal ağlara dayanan bir süreçtir. Özellikle prefrontal korteks, bazal ganglionlar ve serebellum gibi yapılar hem yürütücü işlevler hem de motor kontrol açısından kritik öneme sahiptir. 2021 yılında 1175 yaşlı bireyin yer aldığı prospektif gözlemsel bir çalışmada, başlangıçta bilişsel bozukluğu olmayan 914 katılımcının 121'inde, HBB bulunan 261 katılımcının ise 122'sinde takip sürecinde AH gelişmiştir. Bu bulgular, HBB'nin AH'ye dönüşme açısından yüksek risk taşıdığını ortaya koymaktadır. Ayrıca AH tanısı alan katılımcıların, daha ileri yaşta olmalarının yanı sıra, belirgin düzeyde sarkopeniye sahip oldukları tespit edilmiştir (90). Kas kasılmasının bilişsel işlevler üzerindeki etkisi uzun süredir araştırılmaktadır. Egzersizin, bellek ve bilişle ilişkili iki beyin bölgesi olan prefrontal korteks ve hipokampusta aktivite artışına neden olduğu gösterilmiştir (91–93). Nitekim, fiziksel olarak aktif yaşlı bireylerde bilişsel gerileme ve demans riskinin daha düşük olduğu bildirilmiştir (94). Nörogörüntüleme çalışmaları da bilişsel performans ile yürüyüş kontrolü arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bilişsel terapilerin düşmeleri önlemede etkili olduğu, yürüme temelli müdahalelerin ise demans gelişme riskini azaltabileceği belirtilmiştir. Bu kapsamda, bilişsel bozukluğu olan bireylerin kontrol grubuna kıyasla daha yavaş yürüyüş hızına sahip olduğu gözlemlenmiştir (95,96). 8000'den fazla yaşlı bireyi içeren geniş çaplı bir kohort çalışmasında, düşük

kas kütlesine sahip bireylerde 3 yıllık takip süresince bilişsel gerilemenin daha hızlı seyrettiği gösterilmiştir (96). Sarkopeniye özgü iskelet kası kütlesi ve fonksiyon kaybı, merkezi sinir sistemi üzerinde olumsuz etkiler yaratabilmekte ve bu durum bilişsel performansın azalmasına neden olabilmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, sarkopeni ve bilişsel bozulma arasında ortak patofizyolojik yolların etkili olabileceğini göstermektedir (68,97). Bu tür ortak mekanizmaların anlaşılması, kas disfonksiyonu ile bilişsel gerileme arasındaki ilişkiyi aydınlatmak ve farmakolojik olmayan müdahale stratejilerini geliştirmek açısından büyük önem taşımaktadır.

2.4 AH'de İskelet Kasında Glikojen Metabolizması Değişiklikleri

Son çalışmalar, sarkopenideki patolojik değişikliklerin başlıca nedeninin iskelet kası metabolizmasındaki değişiklikler olduğunu ve bu değişikliklerin doğrudan protein ve glikojenin sentez ve yıkımını ile enerji kullanımını etkilediğini, bunun da kas lifi atrofisine, iskelet kası gücünde azalmaya ve rejenerasyon bozukluğuna yol açtığını öne sürmektedir (98). AH başlıca MSS'yi etkileyen bir nörodejeneratif bozukluk olsa da, son yıllarda yapılan çalışmalar hastalığın sistemik etkileri de olduğunu göstermiştir (15,99). Bunların arasında iskelet kası metabolizmasındaki bozulmalar önemli bir yer tutar. AH'li bireylerde iskelet kası kütlesinde azalma, enerji metabolizmasında düzensizlikler ve glikojen gibi yakıt depolarının kullanımında değişiklikler gözlenmiştir (15). İskelet kasında glikojen metabolizması, glikojenin sentezini ve yıkımını düzenleyen enzimlerin dengeli çalışmasına dayanır. Bu enzimler arasında özellikle glikojen sentaz (GS) ve glikojen fosforilaz (GP) kritik rol oynar. AH'de bu enzimlerin aktivitesini etkileyebilecek birkaç dolaylı mekanizma tanımlanmıştır:

Glikojen Sentaz: GS, insülin sinyali ile aktif hale gelerek glikozun glikojene depolanmasını sağlar. AH'li bireylerde sık görülen periferik insülin direnci, GS aktivasyonunu bozabilir (100). İnsülin direnci durumunda kas hücreleri insüline gerektiği gibi yanıt veremez ve bu da GS'nin fosforilasyon durumunu etkileyerek aktivitesini azaltır. Ayrıca AH patogeneğinde merkezi bir rol oynayan Glikojen Sentaz Kinaz-3 β (GSK-3 β) enzimi hiperaktif olabilmektedir. GSK-3 β , adından da

anlaşılacağı üzere glikojen sentazı inhibe eden bir kinazdır; AH'de artan GSK-3 β aktivitesi, kas dokusunda GS'nin aktif formunu azaltarak glikojen sentezinin düşmesine yol açabilir. Bu durum kasın glikojen depolama kapasitesini olumsuz etkiler (100,101).

Glikojen Fosforilaz: GP, kas aktivitesi sırasında glikojeni glikoz-1-fosfata parçalayarak enerji üretimine katkı sağlar. AH'de glikojen fosforilazın durumu doğrudan araştırılmamış olsa da, kas dejenerasyonu ve enerji krizleri ortamında glikojen yıkımının düzeninin bozulabileceği düşünülmektedir. Özellikle AH'ye eşlik eden kronik stres yanıtları ve katekolamin düzeylerindeki değişimler GP aktivitesini etkileyebilir. Örneğin, yüksek düzeydeki stres hormonları kas glikojenolizini tetikleyebilirken, uzun süreli kullanılmama (inaktivite) kasın glikojen yıkım kapasitesini azaltabilir. Dolayısıyla AH'lı bireylerde glikojen mobilizasyonunun uygun zamanda gerçekleşmemesi ya da gereksiz yıkımı gibi iki uçlu problemler ortaya çıkabilir.

İskelet kası, vücudun en büyük glikojen deposu olması nedeniyle glikoz homeostazında kritik bir rol oynar. Normal koşullarda kas, glikojeni fiziksel aktivite sırasında enerji kaynağı olarak kullanır ve beslenme sonrası insülin etkisiyle yeniden depolar. AH'de ise bu birikim ve mobilizasyon dengesi çeşitli sinyallerin bozulmasıyla etkilenir:

Glikojen Birikimi (Depolanması): AH'li bireylerde insülin sinyalinin zayıflaması, kasın yemek sonrasında glikojen depolama yeteneğini kısıtlar. Sağlıklı genç bireylere kıyasla yaşlı insanlarda dinlenik kas glikojen depolarının ~%60 daha düşük olduğu bildirilmektedir (102). Yaşlanma ile ortaya çıkan bu azalma, AH'de daha da belirgin olabilmektedir; çünkü AH'li hastaların çoğu ileri yaşta olup ek risk faktörlerine sahiptir. İnsülin, glikojen sentezini tetikleyen başlıca hormondur ve AH'li hastaların %80'inden fazlasında anormal glikoz toleransı veya Tip 2 diyabet bulunması, kasın glikojen depolarının sürekli düşük seviyede kalmasına yol açabilir (103). Sonuç olarak, AH'li kaslarda glikojen birikimi yetersiz olabilir. Nitekim, Alzheimer'ı olan transgenik fare modellerinde (3xTg-AD gibi) genç yaşlardan itibaren periferik glikoz

metabolizmasında bozukluklar saptanmış; 3 aylık 3xTg-AD farelerin açlık kan şekeri yüksek, glukoz tolerans testinde kan şekeri eğrisi kontrol farelere göre belirgin şekilde bozulmuş bulunmuştur (103). Bu durum, kas ve diğer dokuların glikozu depolama/işleme kapasitesinin düşük olduğuna işaret eder.

Glikojen Mobilizasyonu (Yıkımı): Egzersiz veya açlık gibi durumlarda kas glikojenini glikoza parçalayarak kullanır. AH'li hastaların bir kısmı fiziksel olarak inaktif olduğundan, kas glikojeninin mobilizasyonu da normalden farklı seyredebilir. Sedanter yaşam tarzı, kas glikojeninin uzun süre yüksek kalmasına yol açabilir gibi görünse de paradoksal olarak insülin direnci nedeniyle bu glikojenin kullanımı verimli olmaz. Diğer yandan, ileri evre AH'li bireylerde görülen kilo kaybı ve kas erimesi (kaşeksi), kas glikojen depolarının da tükenmesine yol açabilir (99). Hayvan modelleri, bu ikilemi anlamada yardımcı olmaktadır: 3xTg-AD farelerinde yaş ilerledikçe kaslarda A β birikimi ve nöromusküler hasar görülürken, istirahat durumunda mitokondriyal ROS üretiminde kayda değer bir artış olmamıştır (104). Bu, kasın hareketsizken belki de glikojenini çok yakmadığını ancak yapısal olarak bozulduğunu gösterir. Yani AH bağlamında kas glikojeni, “kullanılamayan bir enerji rezervi” haline de gelebilir.

İnsülin: Glikojen metabolizmasının başlıca düzenleyici hormonu olan insülin, AH'de hem merkezi sinir sistemi hem de periferik dokularda dirençle karşılaşır. İnsülin direnci, kas hücrelerinde sinyal yollarını (IRS-1, PI3K/Akt) zayıflatarak glikojen sentezini engeller. Sonuç olarak, aynı beslenme düzeyinde AH'li bir kişinin kası, sağlıklı birine kıyasla daha az glikojen depolar. İnsülin ayrıca protein sentezi ve kas kütlesi için de anabolik bir hormondur; sinyalinin bozulması, kasların hem yakıt depolama hem de onarım süreçlerini negatif etkiler. Klinik veriler, AH ile insülin direnci arasındaki örtüşmeye dikkat çekmektedir: AH'li bireylerin %80'inden fazlasında Tip 2 diyabet veya pre-diyabet bulunmaktadır (100,101). Bu birliktelik, insülinin rolünü vurgular niteliktedir. İnsülin direncinin beyinde amiloid birikimini ve tau fosforilasyonunu artırdığı; periferde ise kas ve karaciğerde glikojen dengesini bozduğu gösterilmiştir (101).

AMP-aktive protein kinaz (AMPK): AMPK, hücrel enerji sensörüdür ve aktif hale geçtiğinde glikoz alımını artırıp glikojen sentezini baskılar. Egzersiz esnasında kas AMPK'sı aktive olarak glikojen yıkımını ve glikoz alımını kolaylaştırır. AH'li bireylerde ise genellikle fiziksel aktivite azalmıştır, dolayısıyla fizyolojik AMPK aktivasyonu da daha seyrek gerçekleşir. İlginç bir şekilde, AH patolojisinde beyin AMPK aktivitesinin anormal olduğu (çoğunlukla azalmış bulunduğu) rapor edilmiştir. Kas özelinde net veriler olmasa da, eğer kas hücresi sürekli düşük enerji seviyesinde kalırsa, kronik AMPK aktivasyonu gerçekleşebilir. Kronik AMPK aktivitesi, glikojen sentaz üzerinde fren etkisi yaparak glikojen depolanmasını sınırlayacaktır. Öte yandan, AH'li birey egzersiz yapamadığı için AMPK'nın periyodik aktivasyonu (ki bu faydalıdır ve insülin duyarlılığını artırır) gerçekleşmez. Sonuç olarak, AMPK sinyali ya yetersiz (inaktivite nedeniyle) ya da aşırı (enerji açlığı nedeniyle) olabilir; her iki durumda da glikojen metabolizmasının ince ayarı bozulur (104).

Bu mekanizmaların tümü, AH'de iskelet kası metabolizmasının birbiriyle bağlantılı halkalar halinde bozulduğunu ve bir kısır döngü oluşturduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, insülin direnci, AMPK düzensizliği, mitokondriyal fonksiyon kaybı ve glikojen metabolizması bozukluğu birbirini tetikleyerek kaslarda ilerleyici bir güçsüzlüğe ve metabolik çöküşe yol açar. Bu döngüyü kırmak için erken dönemde metabolik sağlığın iyileştirilmesi son derece önemlidir. Aksi takdirde, hem kas fonksiyonları hem de bilişsel fonksiyonlar bu karşılıklı etkileşimli bozulmalardan olumsuz etkilenmeye devam edecektir.

2.5 AH'de Mitokondriyal Fonksiyon ve Oksidatif Stres

AH'de etkilenen biyolojik süreçlerin başında mitokondriyal fonksiyon bozuklukları yer almaktadır. AH'de mitokondri sayısı ve morfolojisinde bozulmalar, mitokondriyal taşımanın aksaması, sitokrom oksidaz aktivitesinde azalma, metabolik proteinlerin eksikliği, mitokondriyal zar potansiyelinde değişiklikler ve artmış oksidatif stres yaygın olarak gözlemlenmektedir (105,106).

Mitokondri, çift zar yapısına sahip, hücrenin enerji ihtiyacını karşılayan temel organelidir. Dış zar ve iç zar tarafından çevrelenen bu yapı, iç kısmında matriks adı verilen bir ortam barındırır. Mitokondriler, hücrelerin yaşamlarını sürdürebilmeleri için gerekli olan enerjiyi üretir; bu nedenle genellikle "hücrenin enerji santrali" olarak tanımlanır. Mitokondriyal enerji üretimi, oksidatif fosforilasyon adı verilen bir süreçle gerçekleşir. Bu süreçte, iç mitokondriyal zar üzerinde bulunan elektron taşıma zinciri (ETZ) aktif hâle gelir ve zar boyunca bir elektrokimyasal potansiyel farkı oluşur (107). Bu potansiyel farkı, ATP sentaz enzimi aracılığıyla enerji molekülü olan ATP'nin sentezlenmesini sağlar. Bu süreç, Krebs döngüsü veya β -oksidasyon gibi metabolik yollarla elde edilen indirgenmiş eşdeğerlerin (örneğin NADH, FADH_2) mitokondriye ulaşmasına ve solunum zincirine katılmasına bağlıdır (108). Mitokondriyal bozulmalar sonucunda bu enerji üretim süreci aksar ve oksidatif stres artarak nöronal hasarı tetikleyebilir. Bu durum da AH'nin ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır.

Nöronlar, enerji ihtiyaçlarını karşılamak için öncelikli olarak mitokondrilere bağımlıdır ve bu organeller, yüksek metabolik talebi karşılamak üzere sinapslarda yoğunlaşır ve sinaptik iletimin sürdürülebilmesi için gerekli olan ATP'yi sağlar. Ancak bu bölgelerdeki mitokondrilere gerçekleşen yoğun metabolik faaliyetler, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini artırabilir. ROS, oksijen metabolizmasının doğal yan ürünleri olan, son derece reaktif moleküllerdir. Fizyolojik düzeylerde hücresel sinyal iletimine katkı sağlasalar da, ROS üretimi arttığında ve antioksidan savunma sistemleri yetersiz kaldığında, hücrede oksidatif stres oluşur. Bu durum, nöronal hasarın artmasına ve AH gibi nörodejeneratif süreçlerin ilerlemesine sebep olabilir (105).

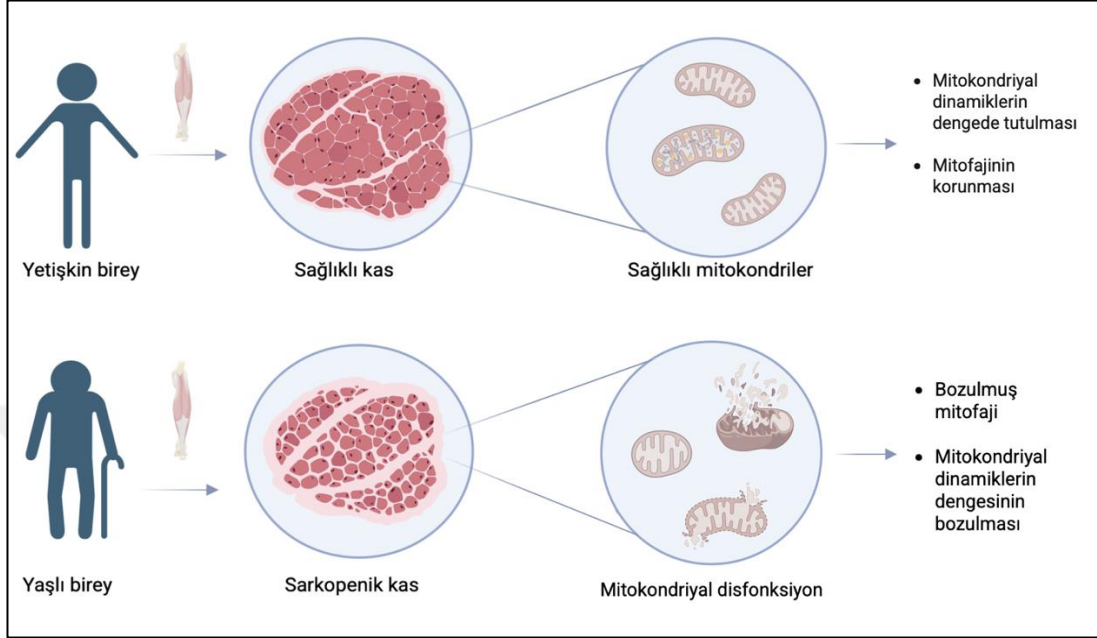
Mitokondriler, metabolik olarak aktif hücresel organellerdir ve hücrelerin enerji ihtiyacını karşılamak üzere oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) yoluyla ATP üretirler. Bu süreç, mitokondrinin iç zarında yer alan ETZ kompleksleri aracılığıyla gerçekleşir. Elektronlar NADH ve FADH_2 gibi indirgenmiş koenzimlerden alınarak sırasıyla kompleks I'den kompleks IV'e aktarılır; son olarak moleküler oksijene bağlanarak su oluşumu sağlanır. Bu taşıma sırasında açığa çıkan enerji, kompleks V (ATP sentaz) tarafından kullanılarak ADP'nin ATP'ye fosforilasyonu gerçekleştirilir. OXPHOS

sırasında ayrıca ROS adı verilen moleküller de üretilir. Süperoksit ($O_2^- \bullet$), hidroksil radikali ($HO\bullet$) ve hidrojen peroksit ($H_2 O_2$) gibi ROS'lar, fizyolojik düzeylerde hücrel sinyal iletiminde rol oynarken, aşırı birikimleri ve yetersiz antioksidan savunma durumlarında oksidatif strese neden olabilir (106). Özellikle yüksek enerji ihtiyacına sahip olan nöronlar, sınırlı glikoliz kapasiteleri nedeniyle OXPHOS'a büyük ölçüde bağımlıdır. Bu nedenle, mitokondriyal enerji üretimi nöronal işlevlerin sürdürülmesi açısından kritik öneme sahiptir. AD'nda, mitokondriyal disfonksiyonun hastalık gelişiminde erken ve belirgin bir rol oynadığı gösterilmiştir. Aβ birikiminin, mitokondriyal membran yapısına zarar verdiği ve özellikle kompleks IV üzerinde bağlanarak elektron transfer verimliliğini düşürdüğü; bunun da ATP üretiminde azalmaya neden olduğu bilinmektedir (109).

Kompleks IV, elektron taşıma zincirinin son halkası olan sitokrom c oksidaz (COX) kompleksidir. Bu kompleks, elektronları sitokrom c'den alarak oksijene aktarır ve su oluşumunu sağlar. COX hem mitokondriyal hem de nükleer genom tarafından kodlanan çok sayıda alt birimden oluşan bir enzim kompleksidir. Bu alt birimlerden biri olan COXIV, enzimin hem yapısal bütünlüğünün korunmasında hem de aktivitesinin düzenlenmesinde görev alır. COXIV'in düzenleyici özelliği sayesinde, hücrenin enerji ihtiyacına göre kompleksin aktivitesi ayarlanabilir. Deneysel çalışmalarda, COXIV ekspresyonunun azalmasının ATP düzeyinde düşüşe, mitokondriyal membran potansiyelinde azalmaya ve oksidatif stres artışına yol açtığı gösterilmiştir (110,111).

Alzheimer hastalarının postmortem beyin analizlerinde; piruvat dehidrojenaz, ATP sitrat liyaz ve α -ketoglutarat dehidrojenaz gibi metabolik enzimlerin seviyelerinde azalma olduğu; ayrıca kompleks IV aktivitesinde düşüş gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu bozulmalar yalnızca beyinde değil, Alzheimer hastalarının periferik dokularında da tespit edilmiştir (112). Bu bulgular, hastalığın sistemik bir enerji metabolizması bozukluğu ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle iskelet kası gibi yüksek enerji gereksinimi olan dokularda COXIV düzeylerinin belirlenmesi, mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu değerlendirmek açısından önemlidir.

COXIV'in immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi, AH modelinde hem merkezi hem de periferik enerji metabolizmasına dair bilgi sunmaktadır.



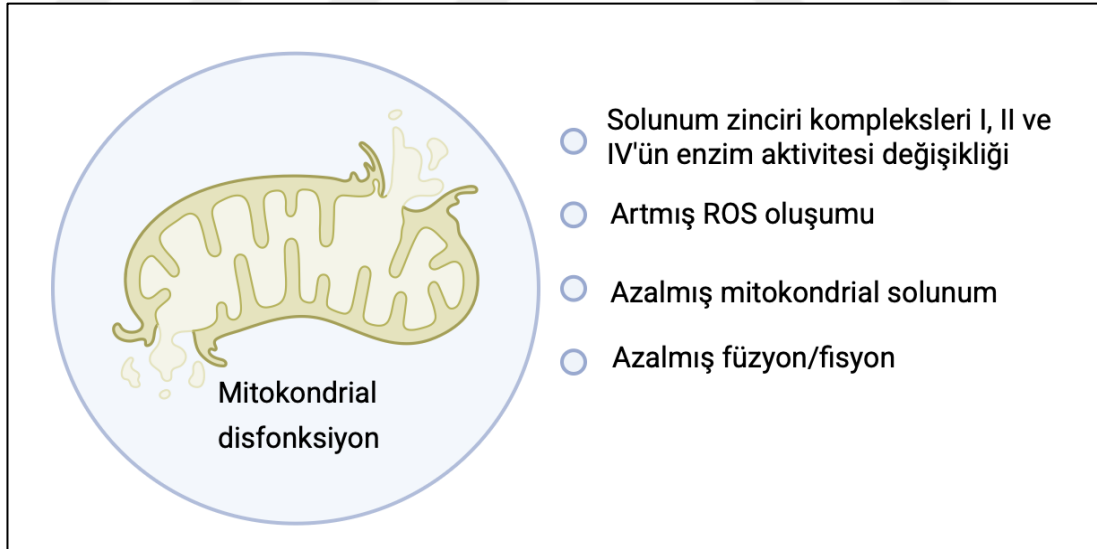
Şekil 7. Sarkopeni ve mitokondriyal fonksiyon arasındaki ilişkinin şematik gösterimi. (Görsel BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)

Beyin, kolesterol ve diğer membran lipitleri bakımından zengin bir yapıya sahiptir ve bu lipidler oksidatif hasara karşı hassasiyet göstermektedir (26). Bu nedenle, beyin yüksek enerji ihtiyacı ve lipid açısından zengin yapısı, oksidatif hasara karşı doğal bir yatkınlık yaratmaktadır. Yaşlanmanın amiloid patolojisini tetiklediğini öne süren amiloid hipotezinin aksine, mitokondriyal kaskad hipotezi, genetik ve çevresel faktörlerin mitokondriyal dejenerasyon hızını belirlediğini, bunun da yaşlanma hızını ve dolayısıyla AH gelişimini etkilediğini öne sürmektedir (105).

2004 yılında Swerdlow ve Khan tarafından ortaya atılan Mitokondriyal Kaskad Hipotezi, mitokondriyal temel aktivitenin büyük ölçüde genetik olarak belirlendiğini, ancak çevresel faktörlerin de bu süreci etkileyebileceğini öne sürmektedir. Bu modele göre mitokondriler zamanla yapısal ve işlevsel açıdan hasar biriktirir ve bu hasar, AH'nda gözlemlenen semptomların ve nöropatolojik değişimlerin temelini oluşturabilir. Hipotez, mitokondriyal disfonksiyonun, A β plakları ve tau düğümleri oluşmadan önce ortaya çıktığını ve hastalığın diğer moleküler süreçlerini

tetikleyebileceğini savunmaktadır. Bu yönüyle, mitokondriyal bozulmanın AH'nin erken evrelerinde rol oynadığına dair artan sayıda bilimsel kanıt bulunmaktadır (113,114). Dolayısıyla bu hipotez, mitokondriyal disfonksiyonun AH patogenezinde sadece eşlik eden bir olay değil, aynı zamanda hastalığın başlatıcı mekanizmalarından biri olabileceği düşüncesini desteklemektedir.

Mitokondriyal Kaskad Hipotezi kapsamında değerlendirildiğinde, her bireyin genetik yatkınlıkla belirlenen kendine özgü bir mitokondriyal işlev seviyesi bulunmaktadır. Ancak bu işlev, yaşam boyu çevresel faktörlerin etkisiyle şekillenebilir ve zamanla değişebilir. Hipotez, A β birikiminin yaşlanmanın bir göstergesi olduğunu, ancak AH'nın birincil nedeni olarak değerlendirilmemesi gerektiğini savunur. Mitokondriyal fonksiyonun, A β birikimi ve depolanmasından etkilendiği bilinmekle birlikte, A β patolojisinin başlangıcının da mitokondriyal disfonksiyonla eş zamanlı olarak gelişebileceği öne sürülmektedir. Bu nedenle, mitokondriyal işlevin düzenlenmesi ve biyoenerjetik eksikliklerin daha iyi anlaşılması, AH'nın ilerleyişini durdurmada potansiyel bir strateji olarak değerlendirilmektedir.



Şekil 8. Mitokondriyal disfonksiyon sonucu oluşabilecek hasarın şematik gösterimi. (Görsel BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)

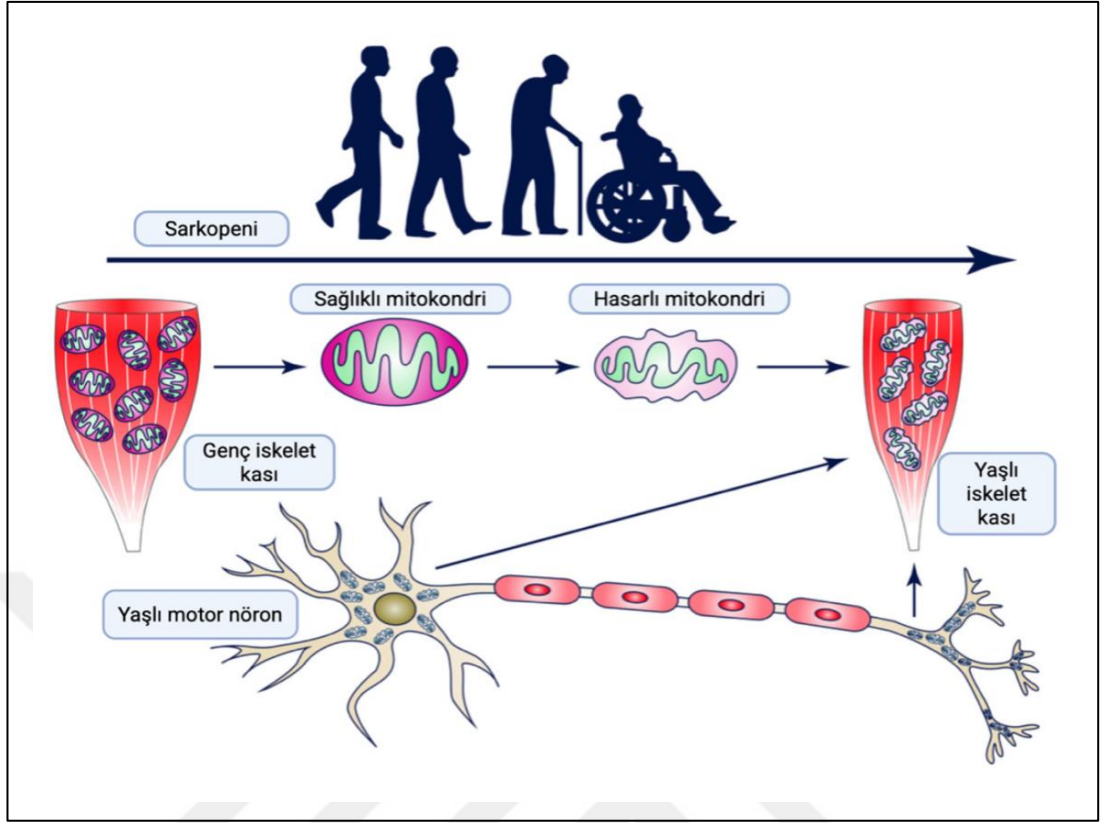
AH'de, A β plakları ve tau düğümleri oluşmadan önce başlayan mitokondriyal disfonksiyon, hastalığın erken evrelerinden itibaren çeşitli hücresel süreçleri olumsuz

etkilemektedir. Glikoz metabolizmasında azalma, mitokondriyal enzim aktivitesinde bozulmalar ve ROS artışı bu disfonksiyonun temel göstergeleri arasındadır (115–117). Özellikle mitokondriyal dinamikler, füzyon ve fisyon dengesinin bozulması, mitokondri morfolojisinde değişiklikler ve aksonal taşınmada azalma, AH’de erken dönemde saptanan yapısal değişikliklerdendir (118–120).

Mitokondriler yalnızca enerji üretiminde değil, aynı zamanda apoptoz, kalsiyum dengesi, redoks homeostazı ve sinaptik plastisite gibi temel hücresel süreçlerin düzenlenmesinde de rol oynar (121). Nöronlar, sınırlı glikoliz kapasiteleri nedeniyle enerji üretimi için mitokondriyal fonksiyona büyük ölçüde bağımlıdır (122). Bu nedenle, mitokondri kaynaklı oksidatif stres sadece enerji üretimini değil, aynı zamanda sinaptik bütünlüğü ve nöronal yaşamı da tehdit eder. ROS birikimi, mitokondriyal DNA, lipitler ve proteinlerde hasara neden olarak sinaptik iletimde bozulma, apoptoz ve nörodejenerasyon süreçlerini tetikler (123,124).

2.5.1 Mitokondriyal disfonksiyon ve sarkopeni

Yaşlanma ile birlikte iskelet kasında meydana gelen kütle ve fonksiyon kaybı, sarkopeni olarak tanımlanır ve bu sürecin temelinde çeşitli hücresel ve moleküler mekanizmalar yer almaktadır. Yaşa bağlı kas kaybı sürecinde kas liflerinin sayısında ve boyutunda azalma gözlenir; bu süreç Lynch ve arkadaşları tarafından “yaşa bağlı motor ünite yeniden şekillenmesi” olarak tanımlanmıştır (125). Kas liflerinin atrofi, azalmış protein sentezi, uydu hücresi aktivitesindeki düşüş ve kas rejenerasyonunun yetersizliği gibi mekanizmalarla ilişkilidir (126,127). Ayrıca, nöromüsküler kavşak (NMK) bütünlüğünün bozulması, motor nöron sayısında azalma, kas içinde yağ dokusu infiltrasyonu, kronik inflamasyon, insülin direnci, artan oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyon gibi faktörler de yaşa bağlı kas kaybında önemli rol oynamaktadır (10,128).



Şekil 9. Kas-iskelet sistemi yaşlanması ve AH arasındaki bozulmuş kas-beyin etkileşiminin bir belirtici olarak mitokondriyal disfonksiyon (9).

Sarkopeninin gelişiminde yer alan mekanizmalar hâlen tam olarak aydınlatılamamış olsa da, son yıllarda mitokondriyal disfonksiyon, bu sürecin merkezinde yer alan kritik bir patojenetik unsur olarak öne çıkmaktadır (9). Mitokondriler, hücre içi enerji üretiminin yanı sıra; kalsiyum homeostazının korunması, apoptoz sinyal yollarının düzenlenmesi ve oksidatif stres yanıtlarının kontrolü gibi hayati süreçlerde görev alır (10). Mitokondriyal kalite kontrol sistemlerinin (örneğin mitofaji, biyogenez ve füzyon-fisyon dengesi) yaşla birlikte etkinliğini yitirmesi, hücre içi enerji dengesinin bozulmasına, ROS birikimine ve kas dejenerasyonuna neden olabilir (7). Nitekim, hasar görmüş mitokondrilerin hücre içinde birikmesiyle ATP üretimi azalır, oksidatif hasar artar ve bu durum hem kas liflerinde hem de motor nöronlarda apoptozu tetikleyebilir. Bu da, mitokondriyal disfonksiyonun sarkopeninin gelişimi ve ilerlemesindeki temel rolünü açık biçimde ortaya koymaktadır (8).

2.6 AH ve Nöronal Membran Prekürsörleri

AH, yaygın bir nörodejeneratif demans olup bilişsel fonksiyonlarda ilerleyici kayıplar ile karakterizedir. Hastalığın patolojisinde A β plakları ve NFY yer tutsa da, sinaps kaybı ve nöronal membran yıkımı gibi yapısal değişiklikler bilişsel gerilemeyle daha güçlü ilişki gösterir. Klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce dahi, beyinde mevcut sinapsların artan yıkımı ve yeni sinaps oluşumunun azalması sonucunda net sinaps kaybı başladığı bilinmektedir. Sinapsların azalması, hafıza ve öğrenme becerilerindeki kötüleşme ile korelasyon göstermekte olup AH'nin erken döneminde dahi gözlenir (129) Bu nedenle, erken evrede sinaptik dejenerasyonu yavaşlatmak ve yeni sinaps oluşumunu (nörojenerasyon) teşvik etmek önemli bir hedef haline gelmiştir (130,131). Bu bağlamda, Kennedy döngüsü olarak bilinen fosfatidilkolin sentez yolunun AH'deki rolü önemlidir. Kennedy döngüsü, hücre zarlarının temel fosfolipidi olan fosfatidilkolinin (FK) sıfırdan üretilmesini sağlayan biyokimyasal yoldur. AH'de bu yolun işlevinin bozulduğu ve membran fosfolipid seviyelerinde değişiklikler oluştuğuna dair kanıtlar artmaktadır (132,133). Örneğin, lipidomik analizler AH'li bireylerin kan plazmasında özellikle DHA ve EPA içeren belirli FK türlerinin kontrollere kıyasla anlamlı ölçüde azaldığını göstermiştir (134). Bu değişikliklerin, sinaptik bütünlük, nöroinflamasyon ve bilişsel işlevler üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

2.6.1 Fosfolipid biyosentezi ve Kennedy döngüsü

Fosfolipidler, hücre zarlarının temel bileşenleridir ve nöronların yapısal bütünlüğü ile işlevselliği için hayati öneme sahiptir. FK, memeli beyin dokusundaki en bol fosfolipiddir. FK molekülünün baş grubunda kolin bulunur ve bu molekül nöronal plazma zarının özellikle dış tabakasında yoğunlaşmıştır. Beyinde FK sentezi başlıca iki yol üzerinden gerçekleşir: doğrudan fosfatidiletanolaminin metilasyonu (PEMT yolu) veya CDP-kolin yolu olarak da bilinen Kennedy döngüsü üzerinden (135). Nöronlar ve diğer çoğu dokuda esas yol, Kennedy döngüsüdür; karaciğerde ise PEMT yolu da katkıda bulunabilir. Kennedy döngüsü, 1950'lerde Eugene Kennedy tarafından

tanımlanan ve kolinin fosfolipidlere entegrasyonunu sağlayan üç basamaklı bir yolaktır:

Kolin öncülünün hücre içine alınması ve kolin kinaz enzimi ile fosforlanarak fosfokolin oluşumu: Bu adım, kolinin ATP kullanılarak kolin fosfatına dönüştürüldüğü reaksiyondur (136).

Fosfokolin, sitidin trifosfat (CTP) kullanılarak CTP: fosfokolin sitidililtransferaz (CCT) enzimi ile CDP-kolin ara ürününe dönüştürülür (137). Bu adım Kennedy yolunun hız kısıtlayıcı (düzenleyici) basamağı olup, CCT enziminin aktivitesi hücre içi lipid ihtiyaçlarına göre kontrol edilir. CTP molekülü, pirimidin nükleotit metabolizmasının bir ürünü olup beyinde uridin aracılığıyla sağlanabilir (138).

CDP-kolin, endoplazmik retikulum membranında kolin fosfotransferaz enzimi katalizörlüğünde bir diasilgliserol (DAG) ile birleşerek FK oluşturur. Oluşan FK, hücre zarlarına dahil edilir veya lipoproteinler yoluyla hücreler arası taşınır (135). Kennedy döngüsü yoluyla sentezlenen FK, nöronal membran bütünlüğünün sağlanmasında ve yeni membran üretiminde kritik rol oynar. Gelişmekte olan beyinde veya sinaptik plastisite sırasında, FK sentezinin arttığı gösterilmiştir; bu da aktif nöroenez ve sinaptik yeniden şekillenme dönemlerinde fosfolipid üretiminin önemini vurgulamaktadır. Ayrıca FK ve metabolitlerinin hücre kaderini ve nöronal plastisiteyi etkileyebilen nörotrofik benzeri sinyaller taşıyabileceği öne sürülmüştür (139).

2.7 Alzheimer Hastalığında Kennedy Döngüsünün Bozulması

AH'de fosfolipid dengesinin bozulduğu, özellikle de fosfatidilkolin sentez ve yıkımındaki anormalliklerin meydana geldiği pek çok çalışma ile ortaya konmuştur (133,140,141). Kennedy döngüsünün temel bileşenleri olan kolin, DHA ve uridin gibi besin/öncül maddelerin AH'de eksikliği dikkat çekmektedir. Bu eksiklikler, nöronal membran sentezinin azalmasına ve sonuçta sinaptik yapıların bütünlüğünün zedelenmesine neden olmaktadır

AH'de FK düzeylerinde azalma ve kolin metabolizmasında düzensizlikler tespit edilmiştir. Plazma lipidomik analizlerde, Alzheimer hastalarının kanında belirli FK moleküllerinin (özellikle 16:0/20:5 EPA içeren, 16:0/22:6 DHA içeren ve 18:0/22:6 DHA içeren PC türleri) sağlıklı kontrollere göre anlamlı ölçüde düşük olduğu gösterilmiştir. Bu spesifik fosfolipid türlerinin azalması, kontrol > hafif bilişsel bozukluk > AH şeklindeki bir gradienteye uyarak kognisyon düzeyi ile ilişkili bulunmuştur (134). Dahası, iki farklı kohort ve yöntemle doğrulanan bu azalma, AH'nin erken evrelerinden itibaren fosfolipid profilindeki değişikliklerin başladığını düşündürmektedir. Beyin omurilik sıvısı (BOS) ve postmortem beyin dokusu çalışmalarında da kolin içeren lipidlerin seviyelerinin AH'de daha düşük olabildiği raporlanmıştır (133). Kolin metabolizmasının AH'deki durumu da önemlidir. Kolin, hem fosfatidilkolin sentezi için zorunlu bir substrat, hem de bilişsel işlevler için kritik olan nörotransmitter ACh öncüsüdür. AH'nin "kolinerjik hipotezi", özellikle bazal önbeyin kolinerjik nöronlarında kayıp ve ACh eksikliğinin bellekteki bozulmaya katkısını öne sürer. Kolin eksikliği, bir yandan ACh sentezini sınırlandırırken diğer yandan fosfolipid sentezini de kısıtlayabilir. Beyin, kolini sentezleyemediğinden plazmadan almak zorundadır, ancak ileri yaşla birlikte plazma kolininden beyne geçiş verimi düşmektedir. Bu durum, yaşlı bireylerde ve AH'de beyin kolin düzeylerini kısıtlayarak Kennedy döngüsünü sekteye uğratabilir. Nitekim, yaşlı bireylerde yapılan bir çalışmada düşük plazma kolin seviyelerinin zayıf kognitif performans ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (142). Benzer şekilde, ileri yaşta yetersiz kolin alımı, çalışma belleği performansının düşüklüğüyle anlamlı bulunmuştur (143). AH'de plazma kolin düzeyleri her zaman belirgin düşmeyebilir; ancak hastalık ilerledikçe BOS'ta kolin seviyelerinde azalma rapor edilmiş ve daha ileri evre AH'de, sağlıklı kontrollere kıyasla plazma kolinin de düşük olabileceği bildirilmiştir (141). Yüksek homosistein düzeyleri de AH'de sık görülen bir biyokimyasal değişiklik olup kolin metabolizmasını dolaylı yoldan etkileyebilir. Homosistein, metilasyon döngüsündeki dengesizliklerin göstergesidir ve PEMT yolunun etkinliğini azaltarak FK sentezini engelleyebilir. AH'li bireylerde plazma homosisteinin yüksek olması, alternatif PEMT yolunun zayıflamasına ve dolayısıyla toplam fosfatidilkolin üretiminin azalmasına yol açarak hem membran fosfolipidi hem de asetilkolin sentezini olumsuz etkileyebilir (144).

Özetlendiğinde, AH, nörodejeneratif bir hastalık olup, sinaptik kayıp ve nöronal hücre zarlarının bütünlüğünde bozulmalarla karakterizedir. Nöronal membranlar, hücresel bütünlüğün sağlanması, sinaptik iletim, reseptör fonksiyonları ve hücreler arası iletişim açısından kritik öneme sahiptir. Bu membranların temel yapısal bileşenleri fosfolipidler, kolesterol, gliserofosfolipidler ve sfingolipidlerdir. Nöronal hücre zarlarının bütünlüğü, bu lipidlerin sentezlenmesini sağlayan prekürsör moleküller aracılığıyla sürdürülür. En önemli nöronal membran prekürsörleri arasında kolin, etanolamin, serin, inositol ve dokosaheksaenoik asit (DHA) gibi maddeler yer alır. Bu moleküller, hücre zarı fosfolipidlerinin sentezinde kullanılır ve zarın yapısal stabilitesini destekler. Nöronal membran lipidlerinin sentezlenmesi için UMP, kolin ve DHA gibi bileşiklere ihtiyaç duyulur (145).

2.7.1 DHA ve membran fosfolipid bileşimi

DHA, omega-3 uzun zincirli bir poliansatüre yağ asidi olup, nöronal membranların özellikle sinaptik bölgelerinde yüksek oranda bulunur. DHA, fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin gibi fosfolipidlerin sn-2 pozisyonunda sıkça yer alarak membran akışkanlığını ve fonksiyonunu sağlar. AH'de DHA seviyelerinin ve DHA içeren fosfolipidlerin azaldığına dair pek çok bulgu mevcuttur. Yukarıda değinildiği gibi, AH'li bireylerin plazmasında DHA içeren fosfatidilkolin türleri belirgin biçimde düşüktür. Ayrıca bazı çalışmalarda AH'li hastaların beyin membranlarında omega-3 yağ asitlerinin (DHA, EPA) konsantrasyonunun azaldığı, buna karşın omega-6/omega-3 oranının arttığı rapor edilmiştir. Klinik gözlemler de DHA eksikliğinin bilişsel gerilemeye katkısı olabileceğini düşündürmektedir. Çok erken evre AH'de DHA takviyesinin bilişi iyileştirebildiğine dair bulgular vardır. Bununla uyumlu olarak, yaşam boyu yüksek balık tüketimi (DHA/EPA alımı) yapan popülasyonlarda AH riskinin daha düşük olduğunu bildiren epidemiyolojik veriler mevcuttur (146).

2.7.2 Üridin monofosfat (UMP) ve Kennedy Döngüsü

Üridin, pirimidin nükleotit metabolizmasının önemli bir bileşenidir ve beyinde nükleik asit sentezinin yanı sıra membran fosfolipidlerinin üretimi için gereklidir. Diyetle alınan veya karaciğerde sentezlenen uridin, kan-beyin bariyerini geçerek beyne ulaşır ve burada UMP, UTP ve son olarak CTP formlarına fosforilasyon basamaklarıyla dönüştürülebilir. CTP, Kennedy döngüsünün ikinci basamağında fosfokolin ile birleşerek CDP-kolin oluşturmak için zorunlu bir substrattır. Bu nedenle uridinin beyindeki düzeyleri, CDP-kolin ve dolayısıyla FK sentezinin kapasitesini doğrudan etkileyebilir (137,147). Üridin düzeylerindeki azalmanın fonksiyonel sonuçları, fosfolipid sentezinin yavaşlaması şeklinde ortaya çıkar. Kennedy döngüsündeki CTP üretimi düşük olunca CDP-kolin oluşumu yetersiz kalır ve nihai olarak fosfatidilkolin sentezi kısıtlanır. Preklinik çalışmalar, uridin takviyesiyle bu sürecin hızlandırılabilirliğini göstermiştir. Normal yetişkin kemirgenlere DHA ve kolin ile birlikte UMP verilmesi, beyin fosfatidilkolin düzeylerini belirgin şekilde artırmış ve sinaptik proteinlerin ekspresyonunu yükseltmiştir (148,149). Üridin tek başına değil, diğer substratlarla birlikte verildiğinde en güçlü etkiyi göstermektedir. Örneğin, üridin + kolin + DHA içeren bir besin takviyesinin, deneysel çalışmalarda Aβ kaynaklı sinaptik toksisiteyi azalttığı, kolinerjik nöronları koruduğu ve transgenik AH modellerinde amiloid plaklarının oluşumunu azalttığı ifade edilmiştir. Bu bulgular, üridin eksikliğinin giderilmesinin ancak diğer fosfolipid prekürsörleriyle sinerjik bir şekilde mümkün olabileceğini ve bunun nöroprotektif sonuçlar doğurabileceğini ortaya koymaktadır (150).

2.7.3 Alzheimer hastalığında fosfolipid sentez bozukluğu, iskelet kısı ve sarkopeni ilişkisi

AH, ilerleyici bilişsel bozulma ve sinaptik kayıplarla karakterize bir nörodejeneratif hastalık olup, sadece MSS'yi değil, sistemik düzeyde kas iskelet sistemi dahil olmak üzere birçok yapıyı etkileyen karmaşık bir patofizyolojiye sahiptir. AH'nin erken dönemlerinden itibaren enerji metabolizmasındaki bozukluklar, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres ve sinaptik zar sentezinde aksaklıklar

tanımlanmıştır. Bu süreçlerin bir diğer önemli etkisi, iskelet kası bütünlüğü ve fonksiyonu üzerindeki bozucu etkileriyle ortaya çıkan sarkopeni ile ilişkilidir. Kennedy döngüsü olarak bilinen yolda fosfolipid sentezi için gerekli olan başlıca öncüller kolin, DHA ve UMP gibi bileşenlerdir. Bu moleküller, sinaptik zarların temel yapısını oluşturan FK ve benzeri fosfolipidlerin sentezinde görev alarak, nöronlar arasındaki iletişimin sürdürülmesi ve yeni sinaps oluşumu için gereklidir. DHA, nöron zarlarının esnekliğini artırırken; kolin, FK sentezi için gereklidir; uridin ise UTP ve CTP üreterek fosfolipid sentezinin devamını sağlar. Bu öncüllerin eksikliği, AH hastalarında sinaptik zar biyogenezi bozukluklarına ve sinaps kaybına yol açabilir (151). Diğer yandan, AH ile birlikte seyreden mitokondriyal disfonksiyon sadece nöronlarda değil, iskelet kasında da enerji üretiminde aksamalara neden olur. Bu durum ATP üretiminin azalması, ROS birikimine ve oksidatif hasara yol açar. Oksidatif stres, hem nöronlarda hem de kas hücrelerinde membran bütünlüğünü bozarak hücresel fonksiyonları olumsuz etkiler. Bu bozulma kas kütlesi kaybı, kas içi yağlanma, kas liflerinde zayıflama gibi sarkopenik değişikliklere zemin hazırlar. Özellikle mitokondri fonksiyonunun yetersizliği, hem kas hem de sinir sisteminde ortak bir patofizyolojik mekanizma olarak ortaya çıkar. Bu nedenle, DHA, kolin ve UMP gibi nöronal membran prekürsörlerinin eksik olması, AH'deki sinaptik kayıplar kadar, periferik kas yapısındaki hasarı da arttırabilir. Bu durum, AH ile sarkopeni arasındaki olası moleküler bağlantıyı ortaya koymakta ve bu üç bileşenin terapötik potansiyelini hem bilişsel hem de fiziksel gerilemeyi yavaşlatmak açısından değerlendirmeyi gündeme getirmektedir (14)

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Araştırma Şekli, Yeri ve Zamanı

Araştırmamız deneysel bir çalışmadır. Tezde kullanılan dokular Dr. Öğr. Üyesi Elif Nedret Keskinöz'ün 219S307 numaralı Tübitak projesinde kullanılan hayvanların dokularıdır. Tezin ön çalışmalarına Haziran 2023'te literatür taraması ile başlanmıştır. Hayvan deneylerinin gerçekleştirebilmesi için Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ACU-HADYЕК) 'nden onay alındı (ACU-HADYЕК 2023/67). Çalışmanın deneysel bölümü Acıbadem Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Histolojik ve immünohistokimyasal analizler Acıbadem Üniversitesi Histoloji Laboratuvarında yapılmıştır.

3.2 Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları, Gruplandırılması ve Beslenmesi

Çalışmada, ağırlıkları 36 adet 5 mutasyonlu AH transgenik fare modeli (5XFAD) cinsi fare kullanılmıştır. 5XFAD beş kombinatoryal mutasyon içerir (hAPP'de İsveç K670N/M671I, Londra V717I ve Florida I716V, PS1'de M146I ve L286V). Bu sinerjistik mutasyonlar hastalığın hızlı ilerlemesine yol açar. 5XFAD fareleri 1,5 aylık yaştan sonra serebral A β 42'nin yüksek ekspresyonunu gösterir ve amiloid birikimi ve gliosis 2 aydan sonra belirginleşir. 9 aylık yaşta amiloid birikimi nörodejenerasyon ve nöronal kayba neden olur (144). Deney süresince kullanılacak deney ve kontrol yemleri Research Diets firmasından temin edilmiştir. Deneysel yem, %19,9 protein, % 64,8 karbonhidrat, %5,8 yağdan oluşan modifiye edilen AIN 76 (ResearchDiets #19022605) yeminden meydana gelmektedir. Spesifik olarak bu diyet (kg başına) kazein (200g), DL-metionin (3 g), mısır nişastası (150g), şeker (500g), selüloz (50g), mısır yağı (48,99g), mineral karışımı S10001 (35g), vitamin karışımı V10001 (10 g), balık yağı (0,3 mg %, Nutra BioGenesis), üridin monofosfat (% 0,5, Nootropicsdeport, %100) ve kolin klorid (5000 mg/kg) içerir. Kontrol yemi ise standart AIN76 diyetine (Research Diets Inc.,2019) ek 1100 mg/kg kolin klorid (ResearchDiets #D19022603)

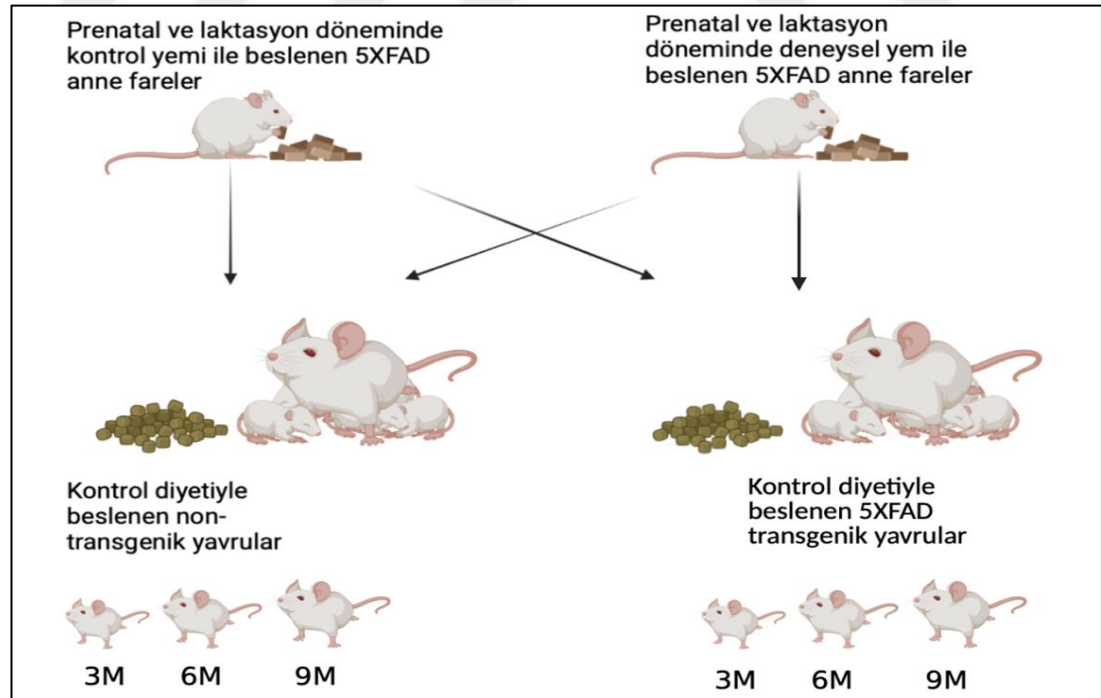
içermektedir. Diyet yemleri -20'C'de vakumlu poşetlerde saklanmıştır ve oksidasyonu önlemek için günlük olarak taze olarak verilmiştir (145,146). Çalışmamız toplam 4 grup ve her grupta 3, 6 ve 9 aylık 3'er hayvan olacak şekilde planlanmıştır (Şekil 10). Oluşturulan deney grupları;

Kontrol Transgenik Grubu (KTR): Bu gruptaki 5XFAD alzheimer fareler (n=9) sakrifiye edilecekleri döneme kadar kontrol yemi ile ad-libitum beslenmiştir.

Kontrol Non-transgenik Grubu (KNTR): Bu gruptaki fareler (n=9) sakrifiye edilecekleri döneme kadar kontrol yemi ile ad-libitum beslenmiştir.

Deney Transgenik Grubu (DTR): Bu gruptaki 5XFAD alzheimer fareler (n=9) sakrifiye edilecekleri döneme kadar kontrol yemi ile ad-libitum yemi ile beslenmiştir.

Deney Non-transgenik Grubu (DNTR): Bu gruptaki fareler (n=9) sakrifiye edilecekleri döneme kadar kontrol yemi ile ad-libitum beslenmiştir.



Şekil 10. Oluşturulan deney grupları.

(Görsel BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)

3.3 Araştırmada Kullanılan Veri Toplama Araçları

3.3.1 Çalışmada kullanılan demirbaş malzemeler

Çalışmamızdaki demirbaş malzemeler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan demirbaş cihazlar

Cihazlar	Marka-Kod	Kullanım Amacı
Hassas terazi	ISOLAB, kapasite: 200 g, hassasiyet: 0.001 g; ISOLAB Laborgeräte GmbH, Almanya)	Çalışmada kullanılan malzemelerin ölçümü için kullanıldı.
60°C inkübatör	Thermo Scientific™ Heratherm IMC18; sıcaklık aralığı: +5 °C – 105 °C; Thermo Fisher Scientific Inc., ABD	Parafinden arındırma işlemi için kullanıldı.
Mikrodalga cihazı	Siemens- HF12G240	Dokuları belirli solüsyonlar içinde ısıtmak için kullanıldı.
+4°C buzdolabı		Dokuların, antikorların, kitlerin ve bazı stok solüsyonların muhafaza edilmesi için kullanıldı.
-20°C buzdolabı		Antikorların ve stok solüsyonların muhafaza edilmesi için kullanıldı.
Işık Mikroskobu	Zeiss A1 Axio Scope, Germany	Histokimyasal analizler için kullanıldı.
Pipet seti	Eppendorf Research® Plus; 0.1–2 µl, 2–20 µl, 20–200 µl, 100–1000 µl; Eppendorf SE, Hamburg, Almanya)	Antikorların uygun derişimde hazırlanması için kullanıldı.
Rotary mikrotom	Thermo- Shandon™ Finesse™ ME+, Massachusetts, U.S.A.	Parafin bloğa alınmış dokulardan kesit almak için kullanıldı.
Su banyosu	Thermo Scientific, Runcorn, Cheshire, UK	Kesit alınan dokuların lama alınması için kullanıldı.
Doku gömme cihazı	Thermo Histostar, Massachusetts, U.S.A.	Dokuların parafin bloğa gömülmesi için kullanıldı.
Santrifüj	Labnet International, Inc. SF-133	Hazırlanan solüsyonların karıştırılması için kullanıldı.

3.3.2 Çalışmada kullanılan sarf malzemeler

Çalışmamızda şırınga, pastör pipet, lam, lamel, kağıt havlu, entellan, çelik ve plastik doku takip\parafin bloğu, beher, erlenmeyer, ölçü kabı, deney tüpü, cam balon, balon joje, huni, parafin, parafilm, petri kabı, manyetik karıştırıcı çubuk, bistüri ve ucu, cerrahi takım, mikropipet ucu, eppendorf tüpü, tartım kabı, alüminyum folyo, asetat kalem, kurşun kalem, lam taşıma ve saklama kutusu, filtre kağıdı, mikroplak ve pappen kullanılmıştır.

3.4 Araştırmada Kullanılan Yöntemler

3.4.1 Deneysel prosedür

Çalışmada, 5xFAD transgenik fareler 3, 6 ve 9 aylık yaşlara ulaştıklarında, vücut ağırlıklarına uygun dozda izofluran anestezisi uygulanarak transkardiyal perfüzyon yöntemiyle dekapite edilmiştir. Ardından çıkarılan m. gastrocnemius dokuları, rutin histolojik doku takibi protokolü uygulanarak parafin bloklara gömülmüştür.

3.4.1.1 Işık mikroskobisi hazırlığı

Histolojik incelemeler için alınan m. gastrocnemius dokuları, %10'luk nötral tamponlu formalin (Katalog No: HT501128, Sigma Aldrich, Burlington, MA, U.S.A.) solüsyonu ile; immünhistokimyasal incelemeler için ise %4'lük paraformaldehit (PFA) ile 72 saat süreyle fikse edildi.

Fiksasyon sonrasında dokular bir gece akar su altında bekletildi. Bunun ardından aşağıdaki tabloda belirtilen basamaklar esas alınarak doku takip işlemi gerçekleştirildi (Thermo Eprexia Citadel 2000, Massachusetts, U.S.A.) (Tablo 2).

Tablo 2. Doku takibi basamakları

Uygulama	Amaç	Madde	Süre
Tespit işlemi	Dokunun otolizini (çözünmesini) ve bozulmasını önlemek, yapıyı korumak.	%10 nötral tamponlu formalin	1 gün
Dehidrasyon (Su giderme)	Dokudaki suyun uzaklaştırılarak parafin ile infiltrasyona hazırlanması.	Artan konsantrasyonlarda etanol serileri (%70, %80, %90, %100)	1'er saat
Saydamlaştırma	Dokuyu ışık geçirgen hale getirerek parafinle uyumlu hale getirmek.	Ksilen I- II	2'şer dakika
İnfiltrasyon	Dokuyu parafin ile doyurmak	Erimiş parafin	2-4 saat
Bloklama	Doku örneğini sertleştirerek kesit alınabilir hale getirmek.	Parafin- Doku kalıbı	

Takip sonrasında kas dokuları bloklama işlemine alındı. Kas dokuları plastik parafin bloklar içerisine uygun şekilde yerleştirilerek 58-60°C sıvı parafin ile bloklandı (Thermo Histostar, Massachusetts, U.S.A.). Parafinin donması beklendi ve bloklar kesit alınma işlemine kadar oda sıcaklığında saklandı. Histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler için buzlu soğuk yüzeyde soğutulan bloklardan mikrotom (Thermo- Shandon™ Finesse™ ME+, Massachusetts, U.S.A.) ile 2-3 µm'lik alınan kesitlerin lama iyice yapışması için ısıtılmış su banyosuna (42-45°C) sonrasında da pozitif yüklü lamlara aktarıldı. Dokular parafinden uzaklaştırmak için 60°C inkübatörde 1 saat bekletildi. Kalan parafini uzaklaştırmak için kesitler 20 dk ksilen solüsyonunda bekletildi. Ardından dokular %100, 95, 70 ve 50 olmak üzere sırasıyla 2'şer dk etanol serilerinden geçirilip distile su ile yıkandı ve rehidrasyon işlemi yapıldı. Deneylerde histokimyasal olarak Hematoksilen-Eozin (H&E); immünohistokimyasal hücre içinde mitokondrilerin yerini ve yoğunluğunu belirlemek için COXIV antikoru kullanılmıştır.

3.4.1.2 Hematoksilen-eozin (H&E) boyama yöntemi

H&E boyası hücre çekirdeği, sitoplazma ve diğer yapıların morfolojik incelemesi için kullanılmıştır. Lama alınan dokular 60 dakika 60°C'de etüvde deparafinizasyon

için bekletilip ardından 20 dakika ksilende tutulmuştur. Sırasıyla alkol serilerinden geçirilen kesitler 2 dk distile suda yıkanmıştır. Kesitlere 6-7 dakika hematoksilin solüsyonu (Bio Optica, Milano, Italy) uygulanıp üzerindeki fazla boya 2 dakika akar çeşme altında bekletilerek uzaklaştırılmıştır. Kesitler daha sonra eosin (HST-EOA-0500, Histoplus, Istanbul, Türkiye) solüsyonunda 2 dakika tutulmuştur. Boyama adımları tamamlandıktan sonra dehidratasyon (sırasıyla %50, 70, 95 ve 100) ve saydamlaştırma (ksilen I-II) işlemlerinden geçirilmiştir. Lam üzerine entellan damlatılarak (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) lamel yardımıyla kapatılıp mikroskopik incelemeye hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan H&E boyalı örnekleri incelemek ve görüntülemek için ışık mikroskobu (Zeiss A1 Axio Scope, Germany) kullanıldı. Boyanmış olan kesitler doku hasar derecesini belirlemeye yönelik olarak “kas lifi dejenerasyonu, rejenerasyonu ve atrofisi” bazında her bir parametre 0 ile 3 arasında (0: hasar yok, 1: hafif derecede hasar, 2: orta derecede hasar, 3: şiddetli hasar) maksimum skor 9 olacak şekilde skorlandı (61). Kesitler, kas lifi düzensizliği ve dejenerasyonu kapsamında düzensiz şekilli kas lifleri, kas liflerinde kırılmalar, anormal çekirdek yerleşimi ve karakteristik çizgilenme parametreleri değerlendirilerek skorlandı (152).

Buna ek olarak Image J (1.44 software, National Institutes of Health) programı kullanılarak gruptaki tüm hayvanların 4'er adet 40x büyütme görüntülerindeki tüm kas lifi çapları ölçülerek feret-min değerleri saptandı.

3.4.1.3 Periyodik asit-schiff (PAS) reaksiyonu

İskelet kaslarındaki glikojen içeriğini tespit etmek amacıyla, lamlardaki kas dokusu kesitleri önce etüvde, ardından ise 30 dakika süreyle ksilende deparafinizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra azalan derişimlerdeki etil alkol serilerinde (%100, %90, %70) her birinde 5 dakika süreyle bekletilmiştir. Kesitler distile suda çalkalandıktan sonra, 20 dakika boyunca periyodik asit ile muamele edilmiştir. Ardından, 5 dakika süreyle akar çeşme suyu altında yıkanmıştır. Distile suda yeniden çalkalanan kesitler, 20 dakika süreyle Schiff reaktifi ile boyandı ve ardından 12 dakika boyunca sülfüroz asit solüsyonunda (Merck, New York, U.S.A.) tutulmuştur.

Ardından kesitler 5 dakika akar çeşmede tutulup distile su ile yıkanmıştır. Dokulara dehidrate olması amacıyla artan alkol serilerine (%70, %90, %100) alınmıştır. 3 dakika ksilende bekletilen dokular hemen ardından entellan ile kapatılmıştır. Her örnekten 4 fotoğraf çekilmiştir. Fotoğrafları çekilen kesitlerdeki glikojen içeriği kantitatif olarak Image J (1.44 software, National Institutes of Health) programı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.4.1.4 Sitokrom c oksidaz IV (COXIV) boyaması

İskelet kasındaki COXIV seviyesini belirlenmesi için kullanılmıştır. Lama alınan dokular 60 dakika 60°C’de etüvde deparafinizasyon için bekletilip ardından 20 dakika ksilende tutulmuştur. Sırasıyla alkol serilerinden geçirilen kesitler 2 dakika distile suda yıkanmıştır. Kesitlerdeki antijenik bölgeleri açığa çıkararak antikor bağlanmasını kolaylaştırmak için ısı kaynaklı epitop geri alınımı adımı uygulanmıştır. Bunun için kesitler sitrik asit tamponunda (pH 6.0) 10 dakika 600W’lık mikrodalgaya bırakılmıştır. Ardından oda sıcaklığında 20 dakika soğutulmuştur. Bu adımdan sonra dokuların etrafı pappen ile çizilmiştir. Görüntülerde oluşabilecek yüksek arka plan lekelenmesini engellemek için kesitler hidrojen peroksit (H_2O_2) (E-IR-R213B, Elabscience) çözeltisinde oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilip PBS ile 3*5 dakika yıkanmıştır. Yıkanan kesitler emici kağıtlar yardımıyla kurulanmış ve primer/sekonder antikorların hedef dışı proteinlere bağlanmasını önlemek için normal keçi bloklama tamponu (E-IR-R213) ile 37°C’de 30 dakika inkübe edilmiştir. Kesitlere yıkama yapılmadan PBS ile 1:100 dilüsyonda hazırlanan primer antikor (Katalog No:sc-517553, Santa cruz) solüsyonu ile 37°C’de 2 saat inkübe edilmiştir ve 3*2 dakika PBS ile yıkanmıştır. Sinyal güçlendirmeyi arttırmak için E-IR-R213B (Polymer Helper) solüsyonu kesitlere uygulanmış ve 30 dakika süreyle oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. PBS ile üç kez yıkama işleminden sonra, E-IR-R213C (Poly-HRP konjugatlı anti-Mouse/Rabbit IgG) sekonder antikorunu uygulanmış ve 20 dakika süreyle inkübe edilmiştir. DAB boyama için E-IR-R213E2 (DAB Substrat) ile E-IR-R213F (DAB Konsantre) 1:50 oranında karıştırılarak taze DAB Çalışma Solüsyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyon kesitlere uygulanmış ve 5–10 dakika boyunca inkübe edilerek renk değişimi gözlenmiştir. Pozitif boyanma kahverengi

olarak değerlendirilmiştir. Reaksiyonun ardından kesitler saf su ile yıkanarak DAB reaksiyonu durdurulmuştur. Kesitler daha sonra hematoksilen ile kontrast boyamaya tabi tutulmuş, ardından seri alkol ve ksilen serisinde tutulup entellan ile kapatılmıştır. Örnekler ışık mikroskobu (Zeiss A1 Axio Scope, Germany) ile incelenerek görüntülenmiştir. Fotoęraflanan kesitlerdeki COXIV yoğunluğu (integrated density) her örnekten 4 kesit alınarak Image J (1.44 software, National Institutes of Health) programı kullanılarak hesaplanmıştır.

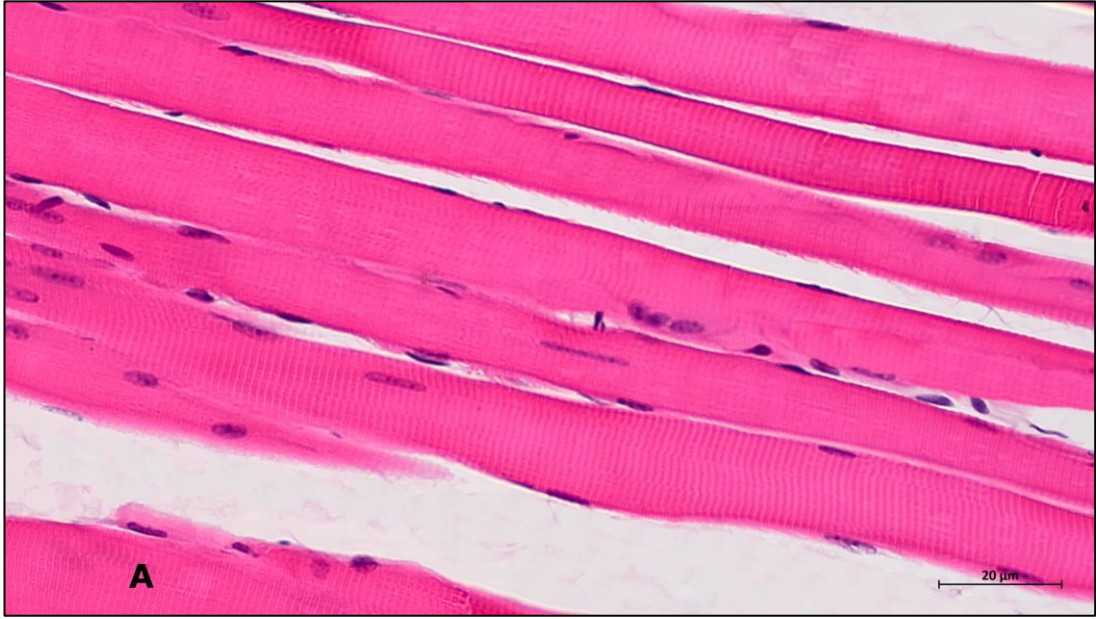
3.5 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler Graph-Pad Prism 10 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) programıyla yapıldı. Verilerin analizinde parametrik dağılım gösteren gruplar için tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ve anlamlı bulunan sonuçlar için Tukey post-hoc testi kullanılmıştır. Parametrik olmayan dağılıma sahip verilerde ise Kruskal-Wallis testi uygulanmış ve anlamlı farklılık saptanan durumlarda grup içi karşılaştırmalar Dunn-Bonferroni post-hoc testi ile değerlendirilmiştir. Tüm analizlerde $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4 BULGULAR

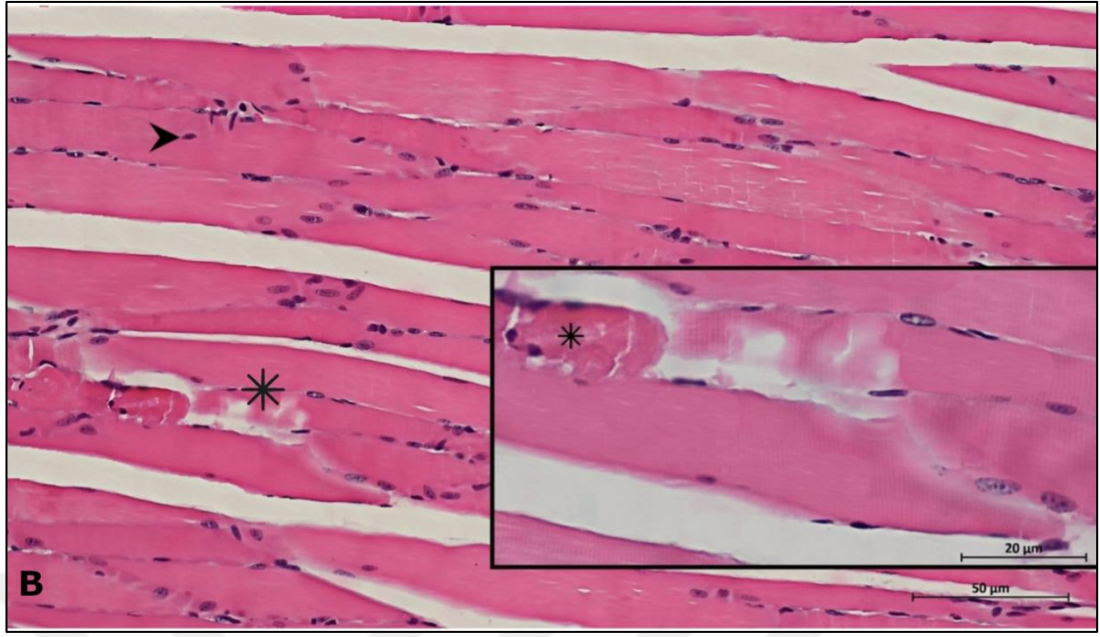
4.1 İskelet Kasında Morfolojik Bulgular

Bu çalışmada m. gastrocnemius'un morfolojik özellikleri, ışık mikroskobu düzeyinde değerlendirilmiştir. 3, 6 ve 9 aylık KNTR ve DNTR gruplarında, kas lifleri çoğunlukla normal morfolojide izlendi. H&E boyaması ile hazırlanan kesitlerde, çizgili kas liflerine ait karakteristik enine çizgilenme belirgin bir şekilde izlendi. Kas liflerinin longitudinal düzende uzandığı ve çok çekirdekli yapılarının periferal yerleşim gösterdiği görüldü. (Resim 1, Resim 3). KTR grubunda, dejenere kas lifleri, enine çizgilenmenin kaybı ve anormal yerleşimli çekirdekler gözlemlendi (Resim 2). DTR grubunda, karakteristik enine çizgilenme yer yer korunmuş olup, çekirdeklerin çoğunlukla periferal yerleşimli olduğu, ancak bazı bölgelerde hafif santralizasyon eğilimleri gözlemlendi (Resim 4).



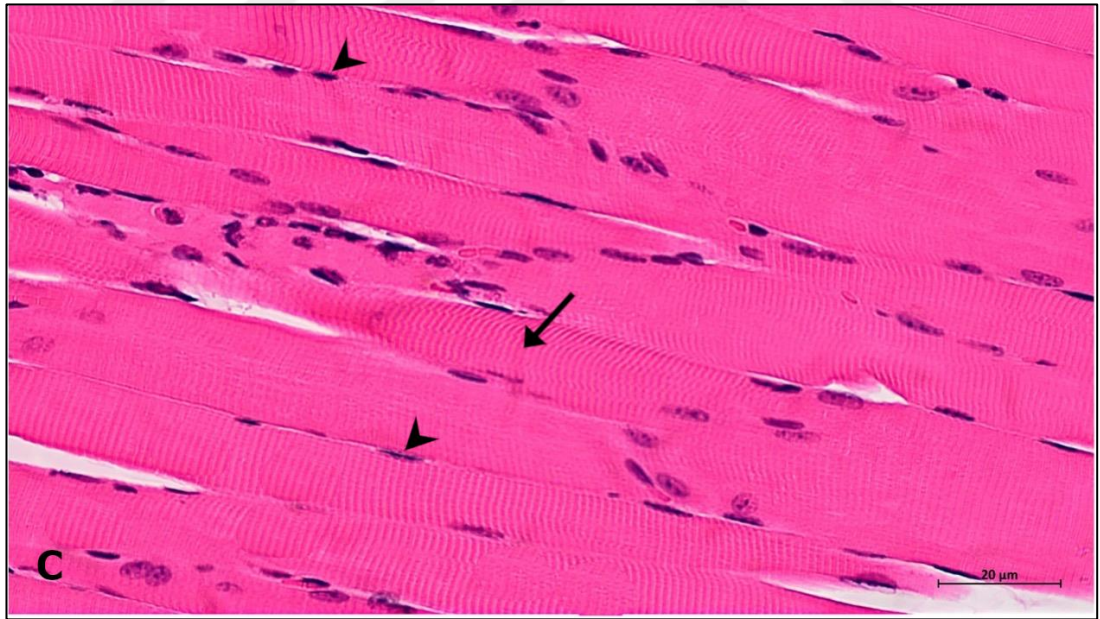
Resim 1. 9 aylık KNTR gruplarına ait doku örneklerinin ışık mikroskobu altında görünümü.

9 aylık KNTR grubuna ait kesitlerde ise genel olarak normal kas lifi yapısı korunmuş olup, çekirdekler normal yerleşimini sürdürmektedir (20x). H&E boyaması.



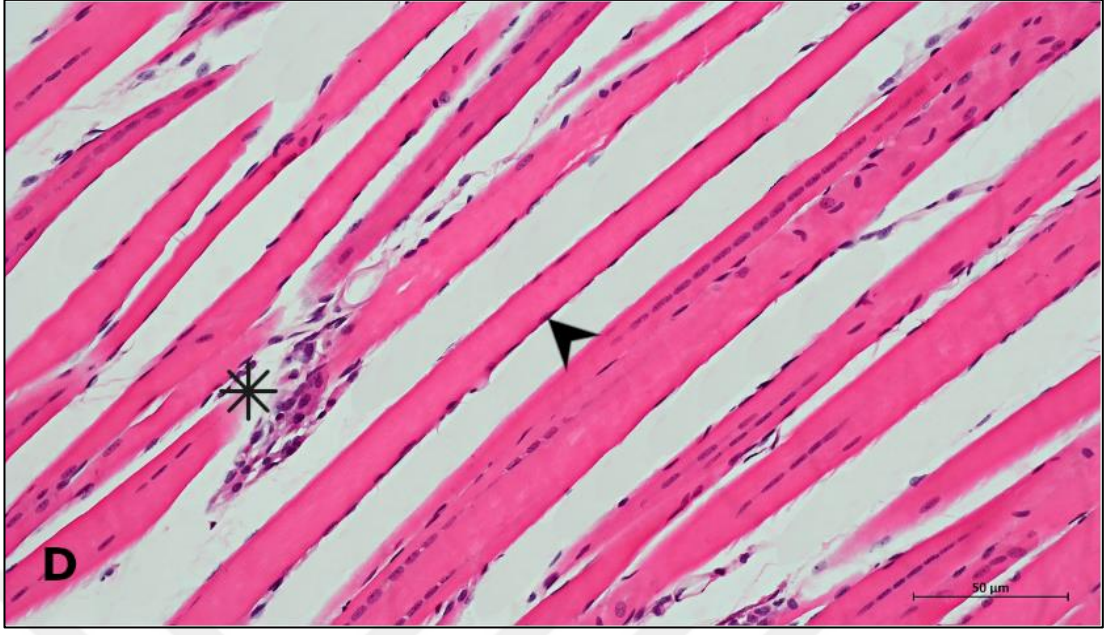
Resim 2. 9 aylık KTR gruplarına ait doku örneklerinin ışık mikroskobu altında görünümü.

9 aylık KTR grubuna ait m. gastrocnemius kesitlerinde dejenere kas lifleri (yıldız), anormal çekirdek yerleşimi (ok başı) (20x). İnset: Kas lifi morfolojisinde dejenerasyonlar (*) (40x). H&E boyaması.



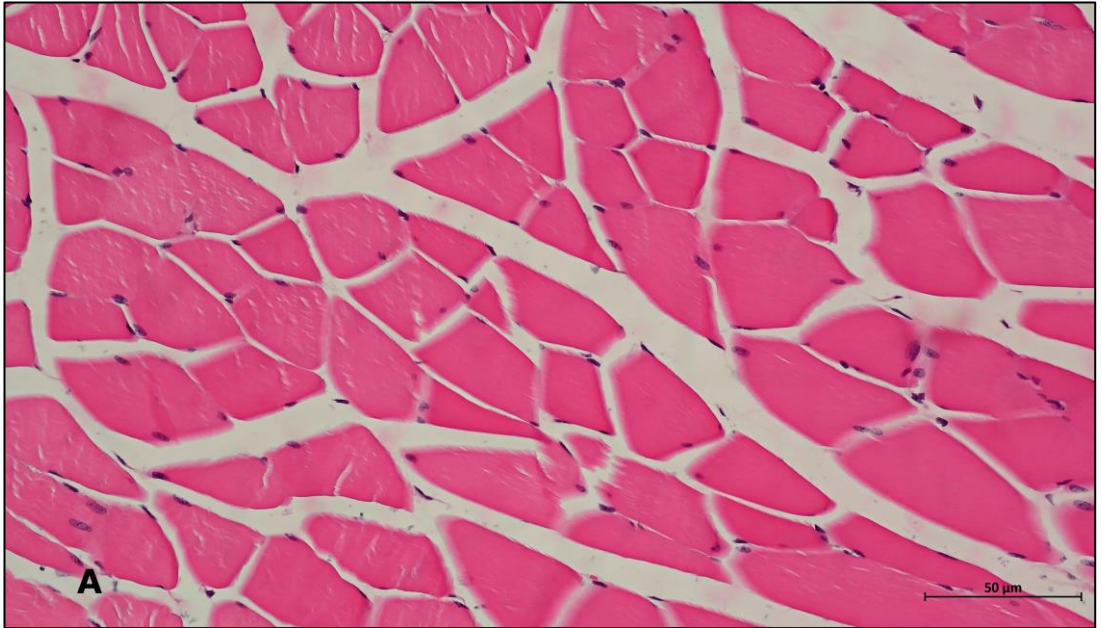
Resim 3. 9 aylık DNTR gruplarına ait doku örneklerinin ışık mikroskobu altında görünümü.

9 aylık DNTR grubuna ait m. gastrocnemius kesitlerinde normal enine çizgilenme (siyah ok) ve çekirdeklerin normal seyri (ok başı) (20x). H&E boyaması.



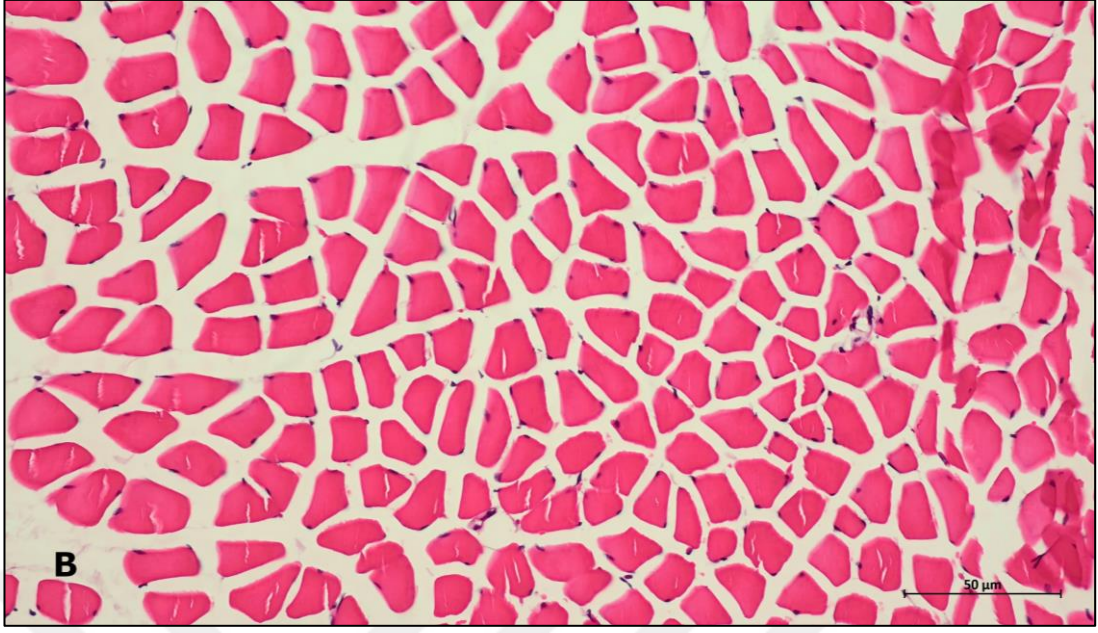
Resim 4. 9 aylık DTR gruplarına ait doku örneklerinin ışık mikroskobu altında görünümü.

9 aylık DTR grubuna ait m. gastrocnemius kesitlerinde normal çekirdek lokalizasyonu (ok başı), bölgesel bazofilik hücreler (yıldız) (20x). H&E boyaması.



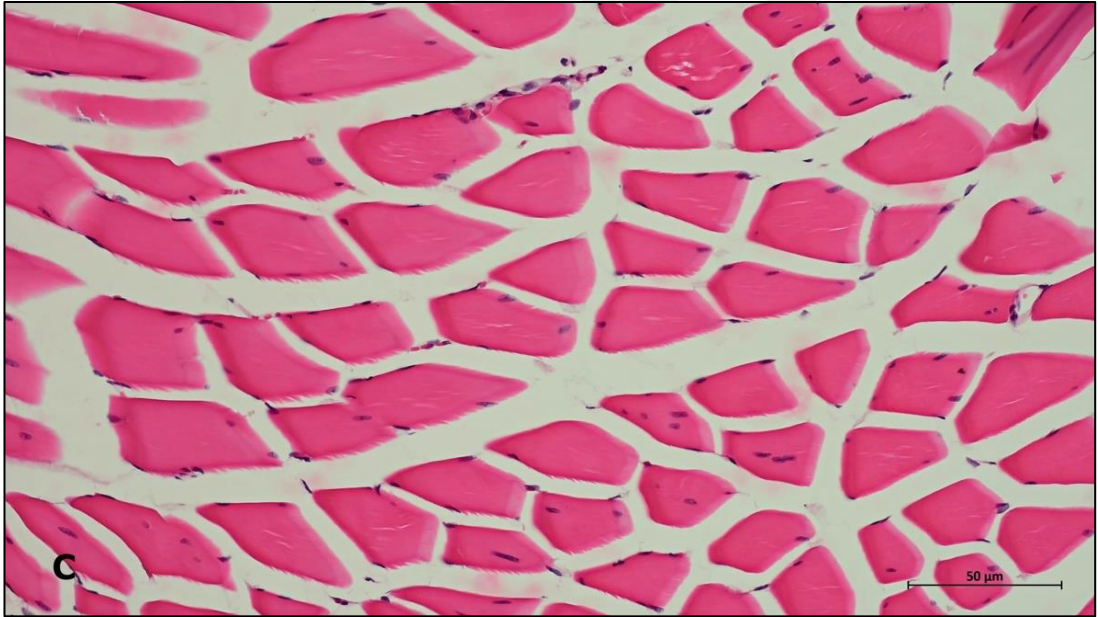
Resim 5. 9 aylık KNTR gruplarına ait transverse doku örneği.

9 aylık KNTR grubuna ait H&E görüntüsüne ait normal boyutta kas lifleri (20x). H&E boyaması.



Resim 6. 9 aylık KTR gruplarına ait transverse doku örneği.

9 aylık KTR grubuna ait H&E görüntüsüne ait atrofik kas lifleri (20x). H&E boyaması.

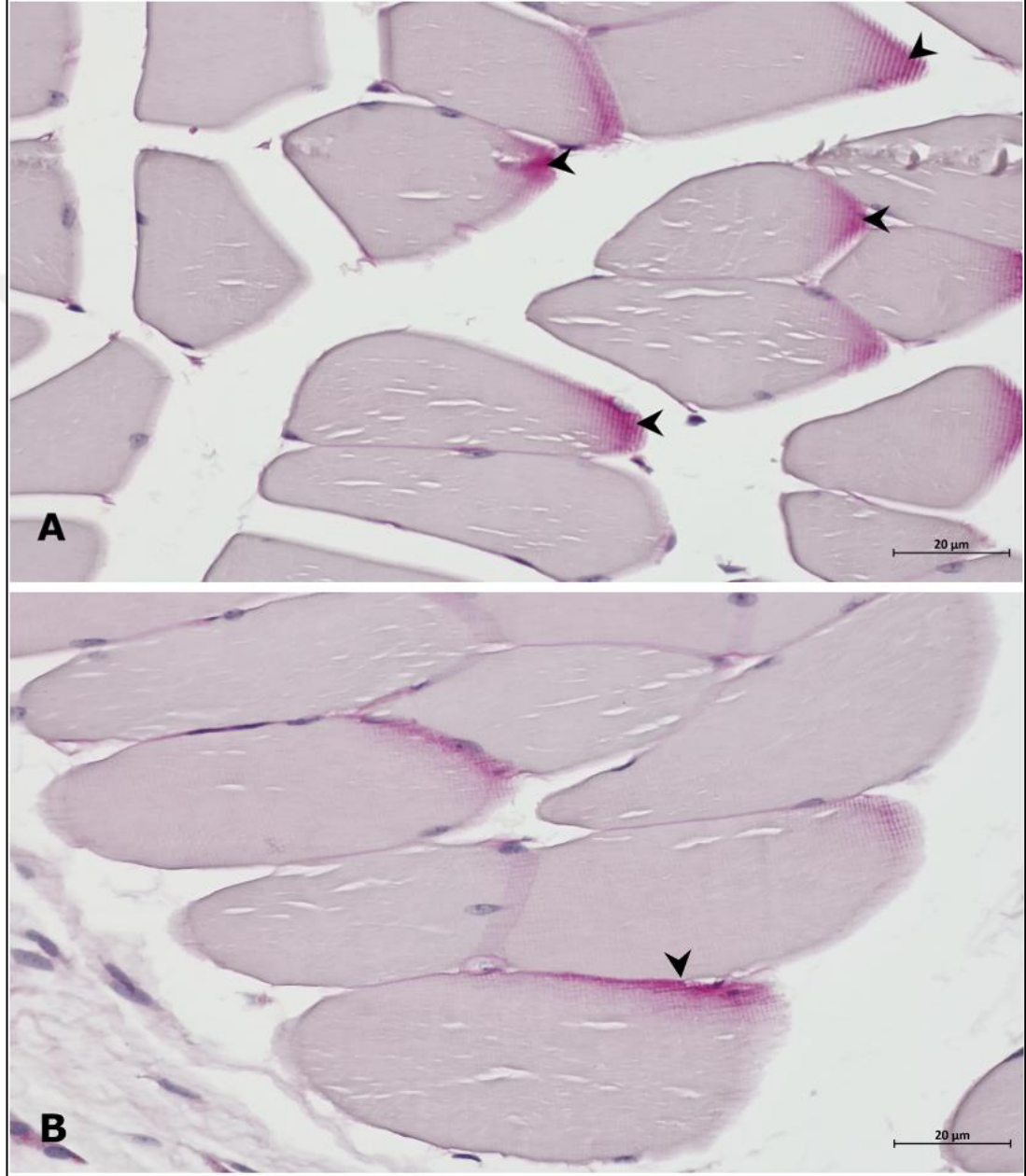


Resim 7. 9 aylık DTR gruplarına ait transverse doku örneği.

9 aylık DTR grubuna ait H&E görüntüsüne ait normal boyutta kas lifleri (20x). H&E boyaması.

Kas dokusu kesitlerine uygulanan PAS reaksiyonu sonucunda, kas liflerinin sarkoplazmalarında 3 aylık KNTR grubunda, 3 aylık KTR grubuna göre yoğun PAS-pozitif reaksiyon (koyu pembe) alanları (Resim 8A, Resim 8B), 6 aylık KTR grubunda

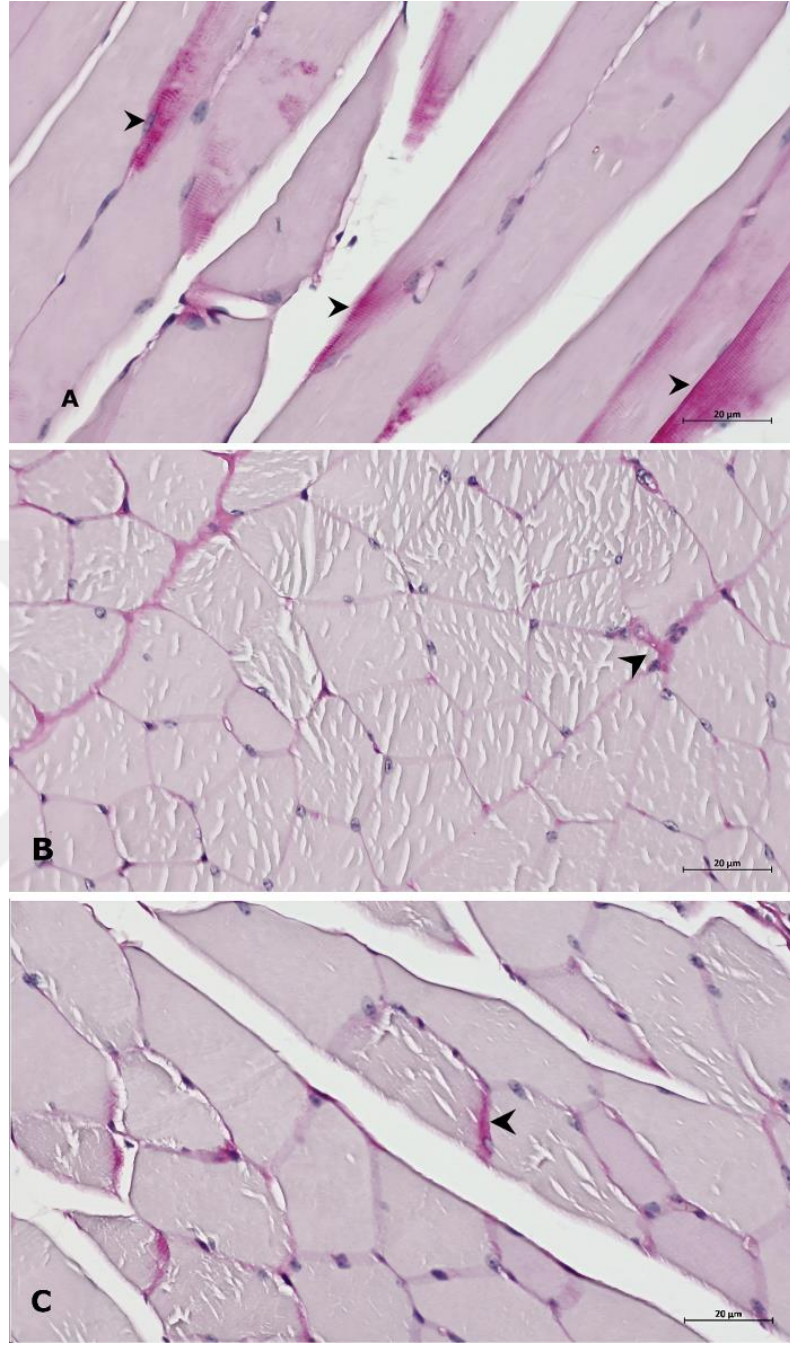
yaş uyumlu KNTR ve DTR gruplarına göre daha az yoğunlukta PAS-pozitif reaksiyon alanları (Resim 9A, Resim 9B, Resim 9C), 9 aylık KTR grubunda yaş uyumlu KNTR ve DTR gruplarına göre daha az yoğunlukta PAS-pozitif reaksiyon alanları (Resim 10A, Resim 10B, Resim 10C) gözlemlendi.



Resim 8. 3 aylık gruplara ait PAS reaksiyonu.

(A) 3 aylık KNTR grubuna ait gastrocnemius kasında PAS reaksiyonu,

(B) 3 aylık KTR grubuna ait gastrocnemius kasında PAS reaksiyonu (ok başı) (40x).

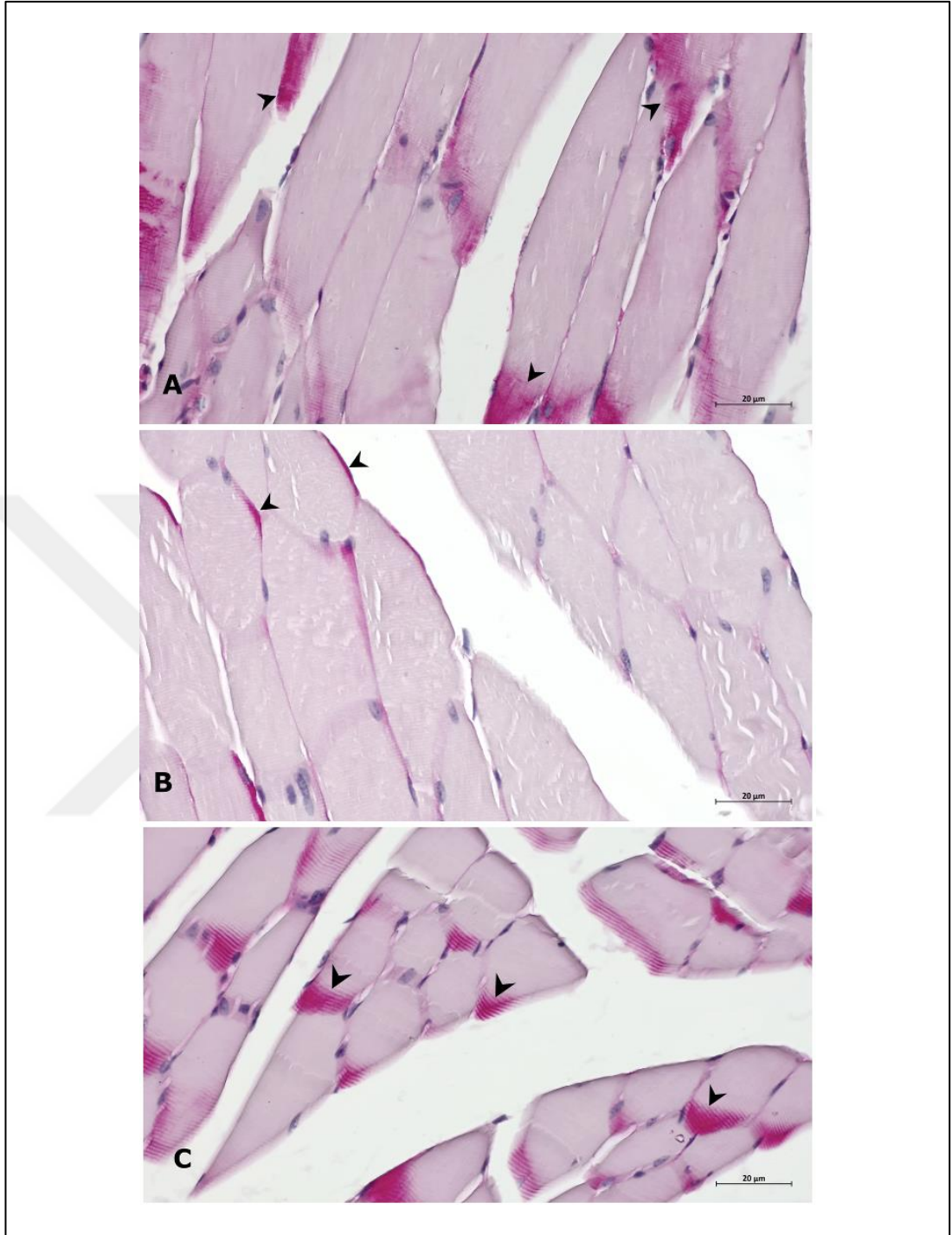


Resim 9. 6 aylık gruplara ait PAS reaksiyonu.

(A) 6 aylık KNTR grubuna ait gastrocnemius kasında PAS reaksiyonu,

(B) 6 aylık KTR grubuna ait gastrocnemius kasında PAS reaksiyonu,

(C) 6 aylık DTR grubuna ait gastrocnemius kasında PAS reaksiyonu (ok başı) (40x).



Resim 10. 9 aylık gruplara ait PAS reaksiyonu.

(A) 9 aylık KNTR grubuna ait gastrocnemius kasında PAS reaksiyonu,

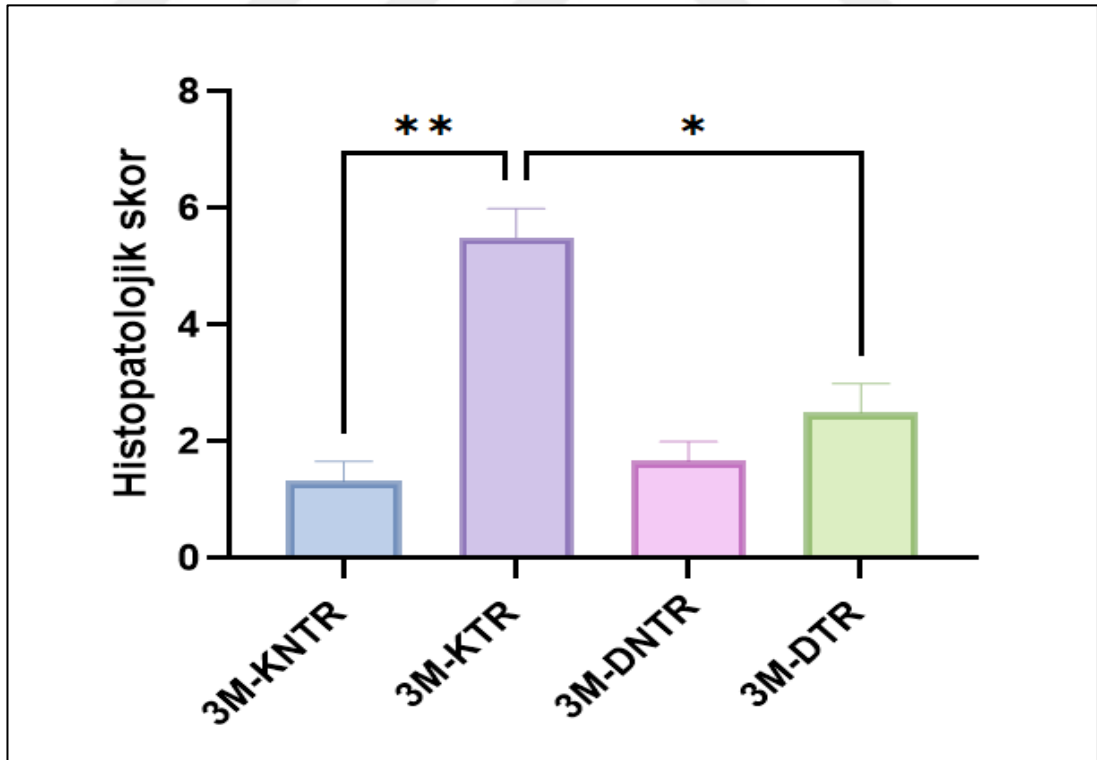
(B) 9 aylık KTR grubuna ait gastrocnemius kasında PAS reaksiyonu,

(C) 9 aylık DTR grubuna ait gastrocnemius kasında PAS reaksiyonu (ok başı) (40x).

4.2 İskelet Kaslarının Histopatolojik Değerlendirmesi

3 aylık hayvanların m.gastrocnemius dokusunda yapılan kas lifi düzensizliği ve dejenerasyonu, rejenerasyon ve atrofi baz alınarak yapılan histopatolojik skorlamanın sonucunda elde edilen skorlama değerleri; 3 aylık KNTR grubunda $1,33 \pm 0,58$, 3 aylık KTR grubunda $5,50 \pm 0,58$, 3 aylık DNTR grubunda $1,67 \pm 0,58$ ve 3 aylık DTR grubunda $2,33 \pm 0,58$ 'dir. 6 aylık hayvanlarda histopatolojik skorlama sonucunda; KNTR grubunda $1,00 \pm 0,82$, KTR grubunda $5,67 \pm 1,53$, DNTR grubunda $0,67 \pm 1,15$ ve DTR grubunda $1,67 \pm 1,53$ 'tür. 9 aylık hayvanlarda histopatolojik skorlama sonucunda; KNTR grubunda $1,5 \pm 0,71$, KTR grubunda $5,5 \pm 0,71$, DNTR grubunda $1,33 \pm 0,58$ ve DTR grubunda $2,0 \pm 1,41$ histopatolojik skor değerleri elde edilmiştir.

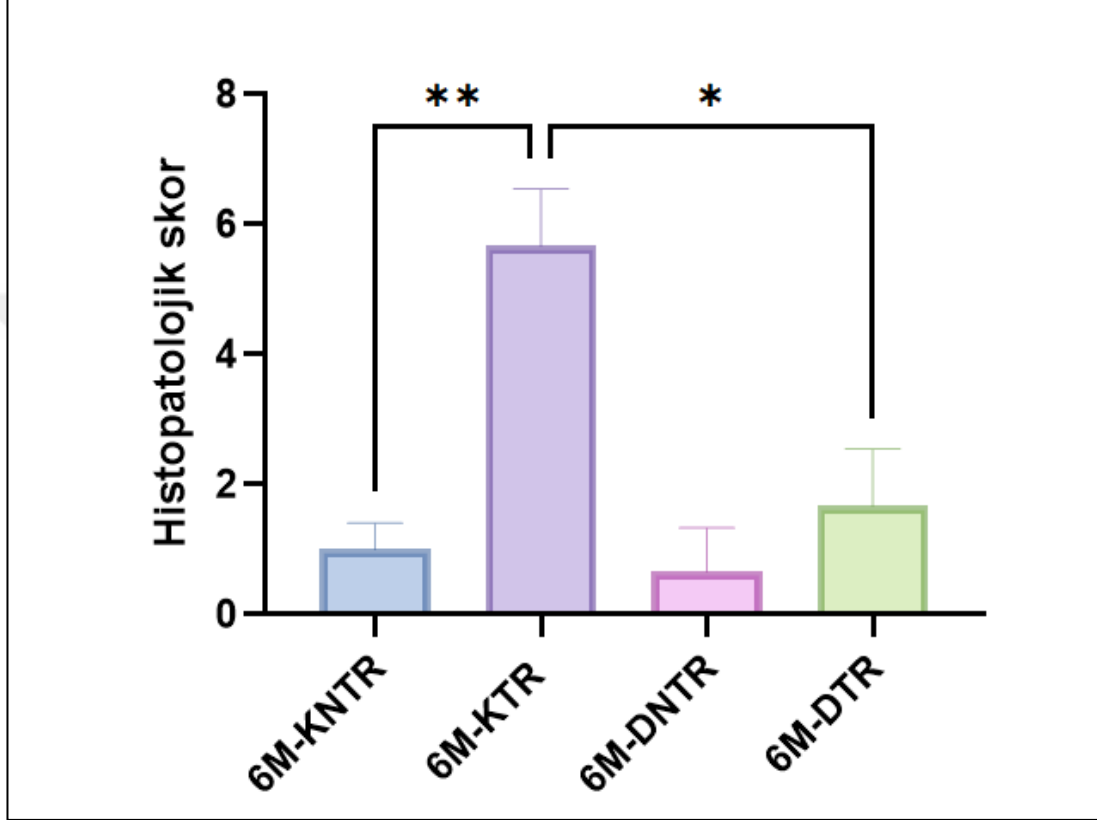
3 aylık hayvanların histopatolojik skorlama analizine göre, KTR grubunun KNTR ve DTR gruplarına kıyasla histopatolojik skoru anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Şekil 11).



Şekil 11. 3 aylık gruplarda iskelet kasının histopatolojik skor grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One-way ANOVA kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,005$.

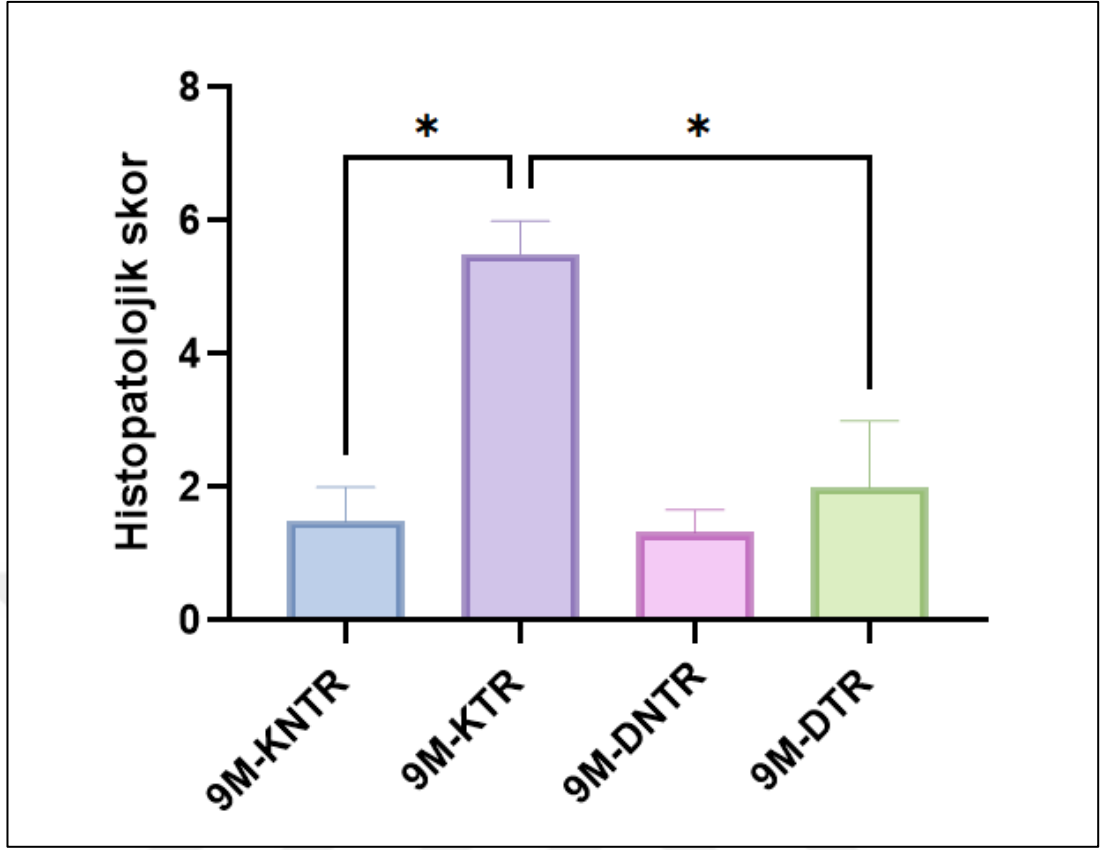
6 aylık hayvanlarda yapılan histopatolojik skrolama analizine göre, KTR grubunun KNTR ve DTR gruplarına kıyasla histopatolojik skoru anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. DNTR ve DTR gruplarında skorlar düşük düzeyde hesaplanmıştır (Şekil 12).



Şekil 12. 6 aylık gruplarda iskelet kasının histopatolojik skor grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One-way ANOVA kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,005$.

9 aylık hayvanlarda yapılan histopatolojik skrolama analizine göre: KTR grubunun KNTR ve DTR gruplarına kıyasla histopatolojik skoru anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. DTR grubunda histopatolojik skor hafifçe artmasına rağmen, bu artış KTR grubundaki belirgin artışa kıyasla daha azdır. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 13). Bu bulgular, KTR grubunda kas dokusundaki yapısal hasarın hem KNTR hem de DTR gruplarına kıyasla belirgin şekilde arttığını göstermektedir.



Şekil 13. 9 aylık gruplarda iskelet kasının histopatolojik skor grafiği.

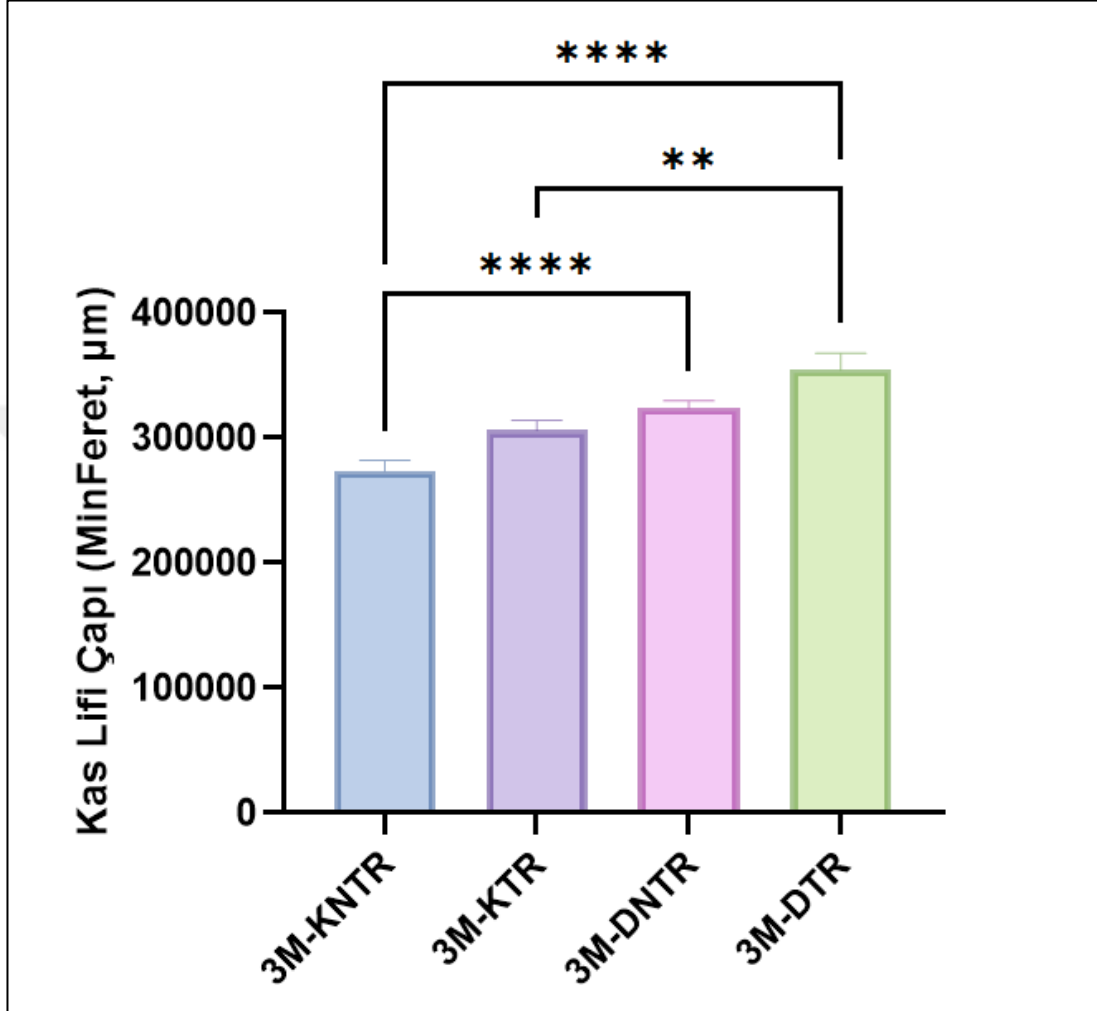
Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One-way ANOVA kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: * $p < 0,05$.

4.3 İskelet Kaslarının Morfometrik Değerlendirmesi

3 aylık deney gruplarında kas lifi çapı (MinFeret, μm) ölçümleri değerlendirildiğinde; KNTR’de ortalama kas lifi çapı $273.953,5 \pm 8.113,8 \mu\text{m}$ olarak hesaplanmıştır. KTR grubunda bu değer $361.269,6 \pm 10.276,8 \mu\text{m}$, DNTR grubunda $358.307,3 \pm 6.619,3 \mu\text{m}$ ve DTR grubunda ise $357.102,3 \pm 13.125,0 \mu\text{m}$ olarak belirlenmiştir. Kas lifi çapı, MinFeret (Feret minimum çap) yöntemiyle ölçülmüş olup, en kısa lif eksenine karşılık gelen değeri temsil etmektedir.

3 aylık hayvan gruplarında kas lifi çapı (MinFeret) ölçümleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir. KNTR grubunun kas lifi çapı, hem DTR hem de DNTR gruplarına kıyasla anlamlı şekilde daha düşük

bulunmuştur. Ayrıca KTR grubunun kas lifi çapı, DTR grubuna göre anlamlı derecede daha düşüktür (Şekil 14).

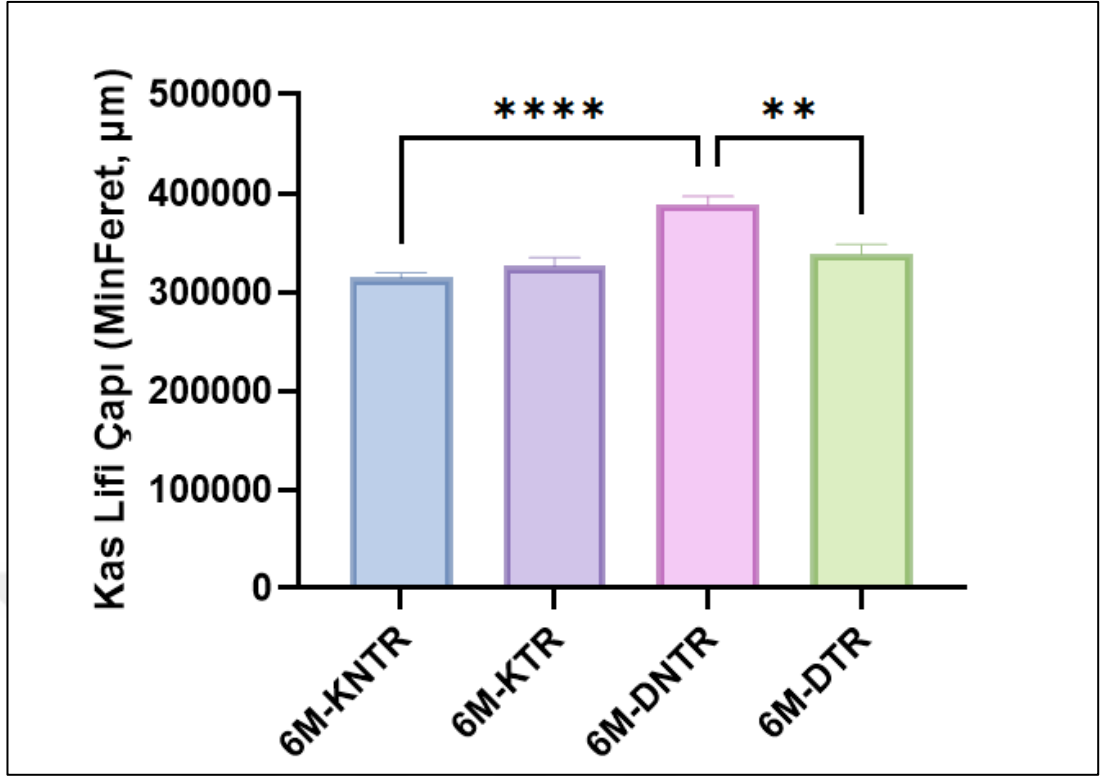


Şekil 14. 3 aylık gruplarda iskelet kaslarının minferet değerleri grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: ** $p < 0,005$ ve **** $p < 0,0001$.

6 aylık hayvan gruplarında ölçülen kas lifi çapı (MinFeret, µm) değerleri incelendiğinde; KNTR grubunda ortalama çap $303.854,0 \pm 4.587,4$ µm, KTR grubunda $325.976,7 \pm 8.865,7$ µm, DNTR grubunda $388.598,8 \pm 8.229,8$ µm ve DTR grubunda ise $338.410,5 \pm 9.670,9$ µm olarak hesaplanmıştır.

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda; DNTR grubunun, KNTR ve DTR gruplarına göre kas lifi çapının anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir (Şekil 15).

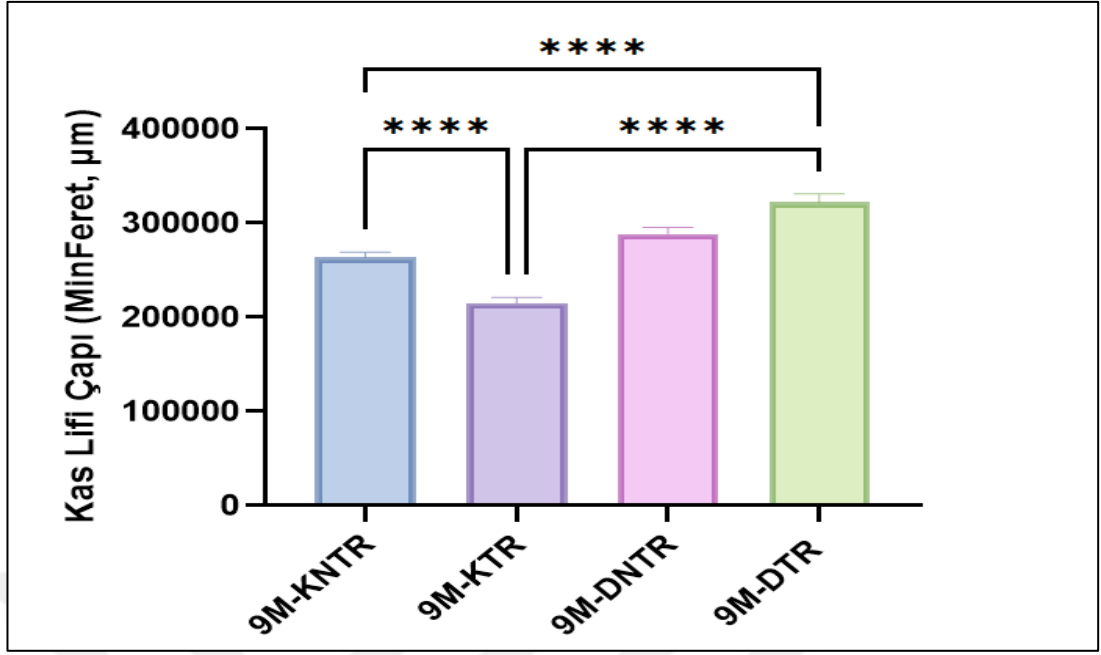


Şekil 15. 6 aylık gruplarda iskelet kaslarının minferet değerleri grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: ** $p < 0,005$ ve **** $p < 0,0001$.

9 aylık hayvan gruplarında ölçülen kas lifi çapı (MinFeret, μm) değerleri değerlendirildiğinde; KNTR’de ortalama çap $263.750,9 \pm 5.440,4 \mu\text{m}$, KTR grubunda $207.931,9 \pm 6.701,5 \mu\text{m}$, DNTR grubunda $288.617,7 \pm 6.917,7 \mu\text{m}$ ve DTR grubunda ise $322.297,3 \pm 8.781,6 \mu\text{m}$ olarak hesaplanmıştır.

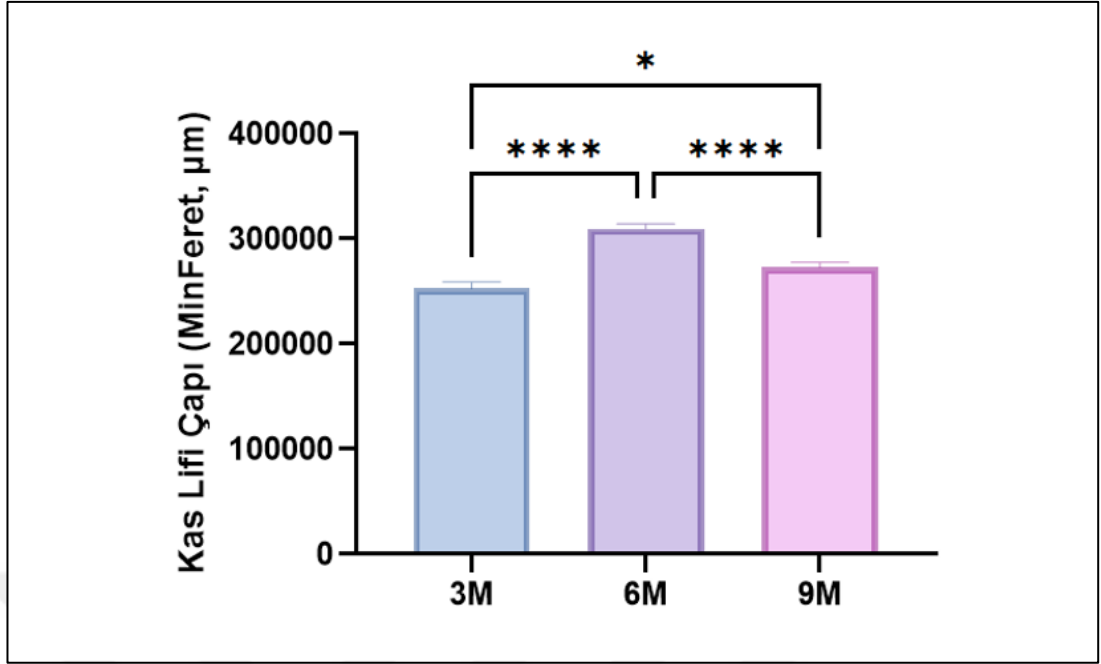
İstatistiksel analizler sonucunda; kas lifi çapı açısından değerlendirildiğinde, KTR grubunda KNTR ve DTR gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. Öte yandan, DTR grubunda kas lifi çapının KNTR grubuna göre anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir (Şekil 16). Bu bulgular, özellikle DTR grubunda kas lifi çapında belirgin bir artış olduğunu, KTR grubunda ise atrofiye işaret eden anlamlı bir azalma yaşandığını göstermektedir.



Şekil 16. 9 aylık gruplarda iskelet kaslarının minferet değerleri grafiği.

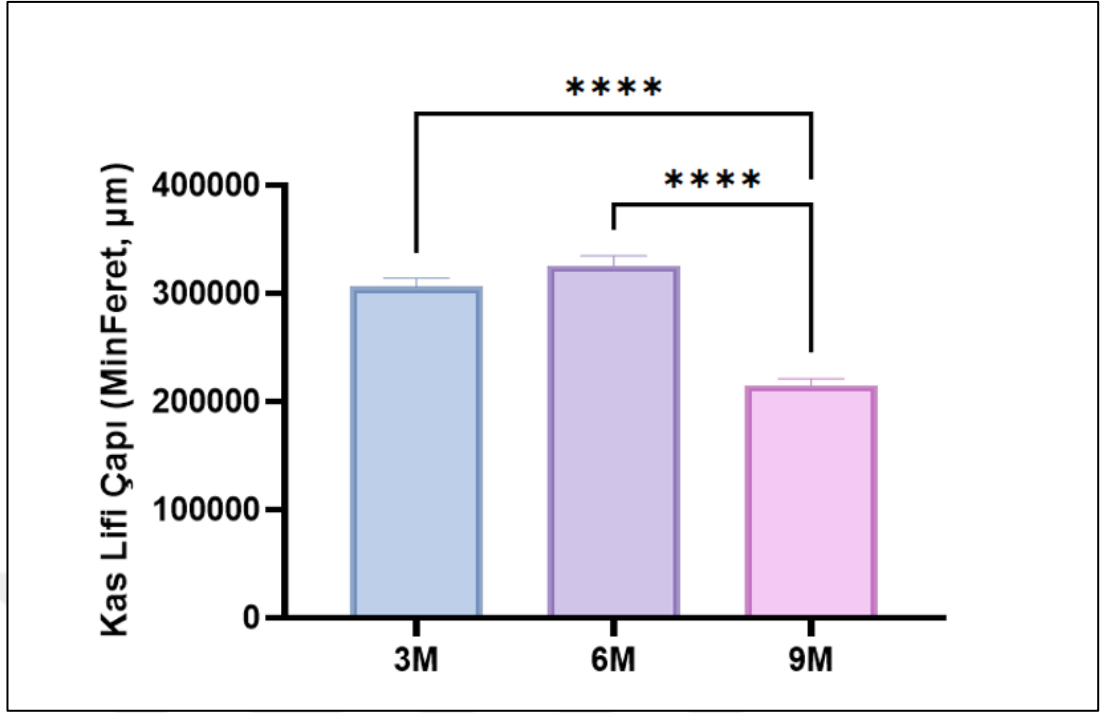
Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: **** $p < 0,0001$.

KNTR grubuna ait farklı yaş dönemlerinde (3, 6 ve 9 ay) kas lifi çapı değerleri karşılaştırıldığında; 6 aylık KNTR grubunda ölçülen kas lifi çapı, 3 ve 9 aylık gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, 9 aylık gruptaki kas lifi çapı da 3 aylık gruba göre anlamlı düzeyde artış göstermiştir (Şekil 17.)



Şekil 17. KNTR gruplarında iskelet kaslarının minferet değerlerinin yaşa göre grafiği. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: * $p < 0,05$ ve **** $p < 0,0001$.

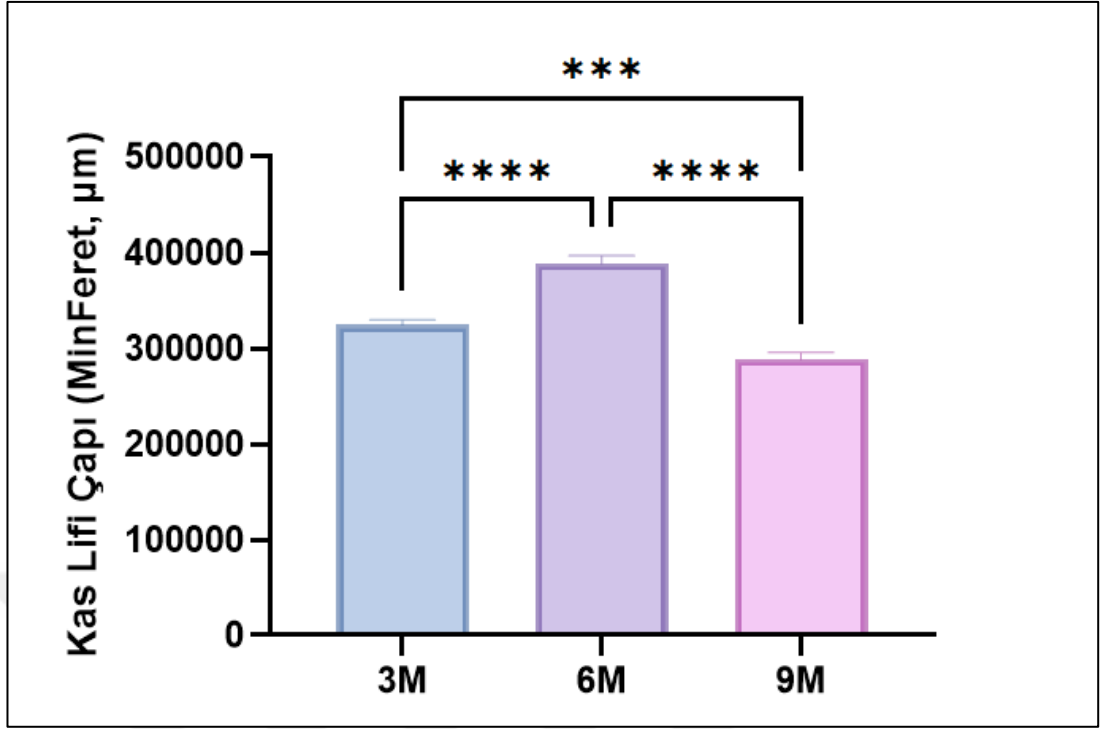
KTR grubuna farklı yaş dönemlerinde (3, 6 ve 9 ay) ölçülen kas lifi çapı değerleri karşılaştırıldığında; 9 aylık gruptaki hayvanlar, hem 3 aylık hem de 6 aylık gruplara kıyasla anlamlı şekilde daha düşük kas lifi çapı değerlerine sahiptir (Şekil 18). Bu bulgular, KTR grubunda kas lifi çapının 6. aya kadar artış gösterdiğini, ancak 9. ayda belirgin şekilde azaldığını ortaya koymaktadır.



Şekil 18. KTR gruplarında iskelet kaslarının minferet değerlerinin yaşı göre grafiği.

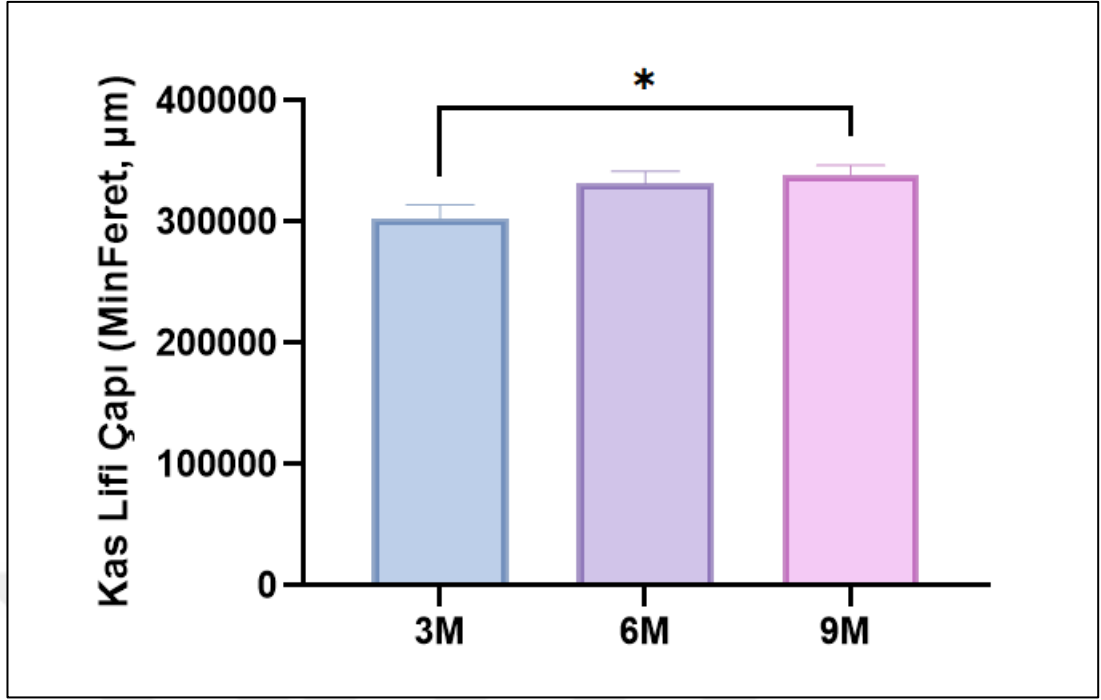
Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: ****p<0,0001.

DNTR grubuna ait farklı yaş dönemlerinde (3, 6 ve 9 ay) ölçülen kas lifi çapı değerleri karşılaştırıldığında; 6 aylık grup, 3 ve 9 aylık gruplara kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek kas lifi çapı değerine sahiptir. Bununla birlikte, 3 aylık grup ile 9 aylık grup karşılaştırıldığında da çap değerlerinin 9. ayda anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür (Şekil 19).



Şekil 19. DNTR gruplarında iskelet kaslarının minferet değerlerinin yaşa göre grafiği. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: *** $p < 0,0005$ **** $p < 0,0001$.

DTR grubuna ait farklı yaş dönemlerinde (3, 6 ve 9 ay) ölçülen kas lifi çapı (MinFeret, μm) değerleri karşılaştırıldığında; 9 aylık grupta ölçülen kas lifi çapı değerlerinin 3 aylık gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ancak 6 ve 9 aylık gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 20). Bu sonuçlar, DTR grubunda yaşla birlikte kas lifi çapında artış eğilimi olduğunu, ancak bu artışın yalnızca erken dönemle karşılaştırıldığında anlamlı hale geldiğini göstermektedir.



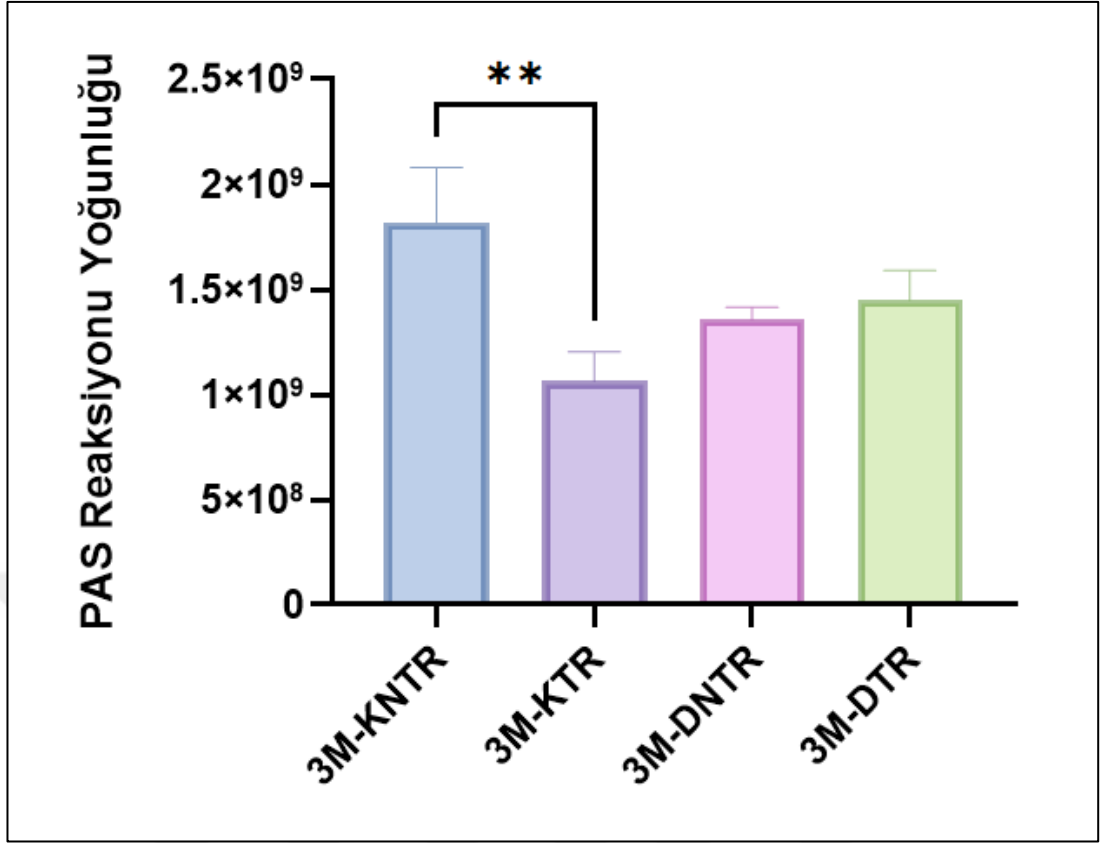
Şekil 20. DTR gruplarında iskelet kaslarının minferet değerlerinin yaşa göre grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: * $p < 0,05$.

4.4 PAS Reaksiyonu Yoğunluğu Değerlendirmesi

3 aylık hayvan gruplarında kas dokularında PAS reaksiyon yoğunluğu ölçümleri değerlendirildiğinde; KNTR grubunda ortalama PAS yoğunluğu $261,3 \times 10^6 \pm 114,5 \times 10^6$ AU olarak belirlenmiştir. KTR grubunda bu değer $1.189,3 \times 10^6 \pm 326,5 \times 10^6$ AU, DNTR grubunda $1.318,4 \times 10^6 \pm 172,6 \times 10^6$ AU ve DTR grubunda ise $1.576,1 \times 10^6 \pm 386,7 \times 10^6$ AU olarak hesaplanmıştır.

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, 3 aylık hayvan gruplarındaki PAS reaksiyon yoğunluğu değerleri arasında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. KTR grubunda ortalama PAS yoğunluğu en düşük seviyede tespit edilmiştir. KNTR grubunun PAS reaksiyon yoğunluğu, KTR grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek bulunmuştur. Ayrıca, DTR grubu kontrol grubuna (KNTR) yakın sonuçlar göstermiştir (Şekil 21).

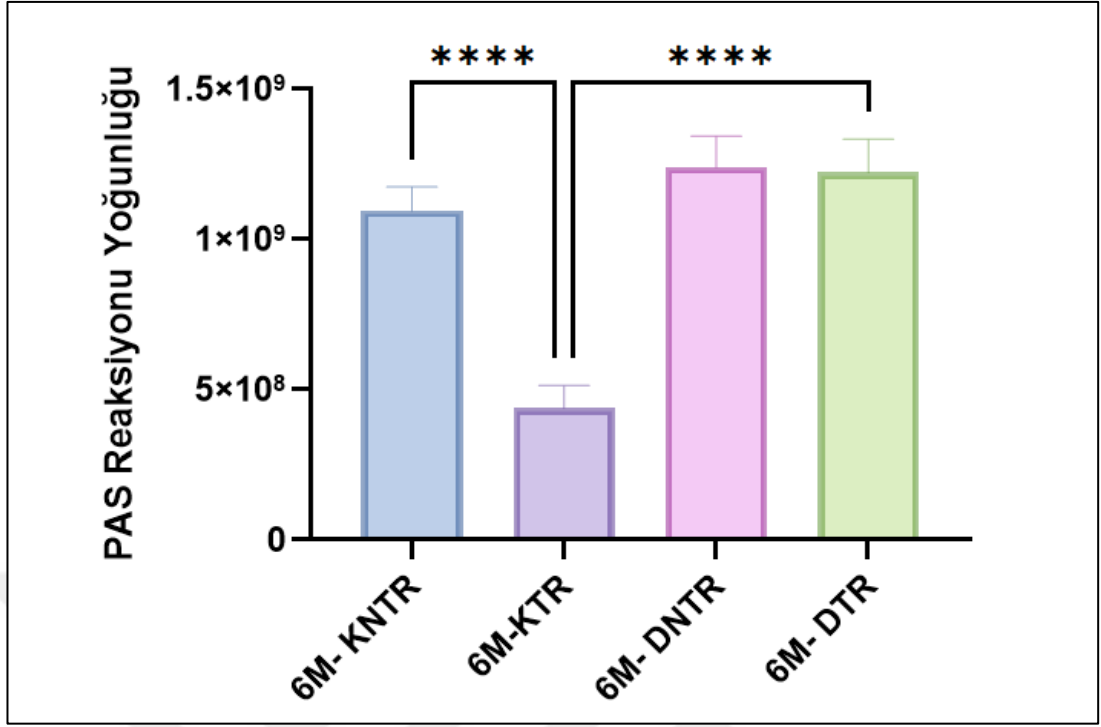


Şekil 21. 3 aylık gruplarda PAS reaksiyonu yoğunluğu grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One-way ANOVA kullanılmıştır. İstatiksel anlamlılık düzeyleri: ****p<0,0001.

6 aylık hayvan gruplarında kas dokularında PAS reaksiyon yoğunluğu ölçümleri değerlendirildiğinde; KNTR grubunda ortalama PAS yoğunluğu $1,10 \times 10^9 \pm 2,53 \times 10^8$ AU olarak belirlenmiştir. KTR grubunda bu değer $4,39 \times 10^8 \pm 2,63 \times 10^8$ AU, DNTR grubunda $1,24 \times 10^9 \pm 3,62 \times 10^8$ AU ve DTR grubunda ise $1,22 \times 10^9 \pm 3,51 \times 10^8$ AU olarak hesaplanmıştır.

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, 6 aylık hayvan gruplarında PAS reaksiyon yoğunluğu gruplar arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. KTR grubunda gözlenen PAS yoğunluğu, KNTR ve DTR gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur (Şekil 22).

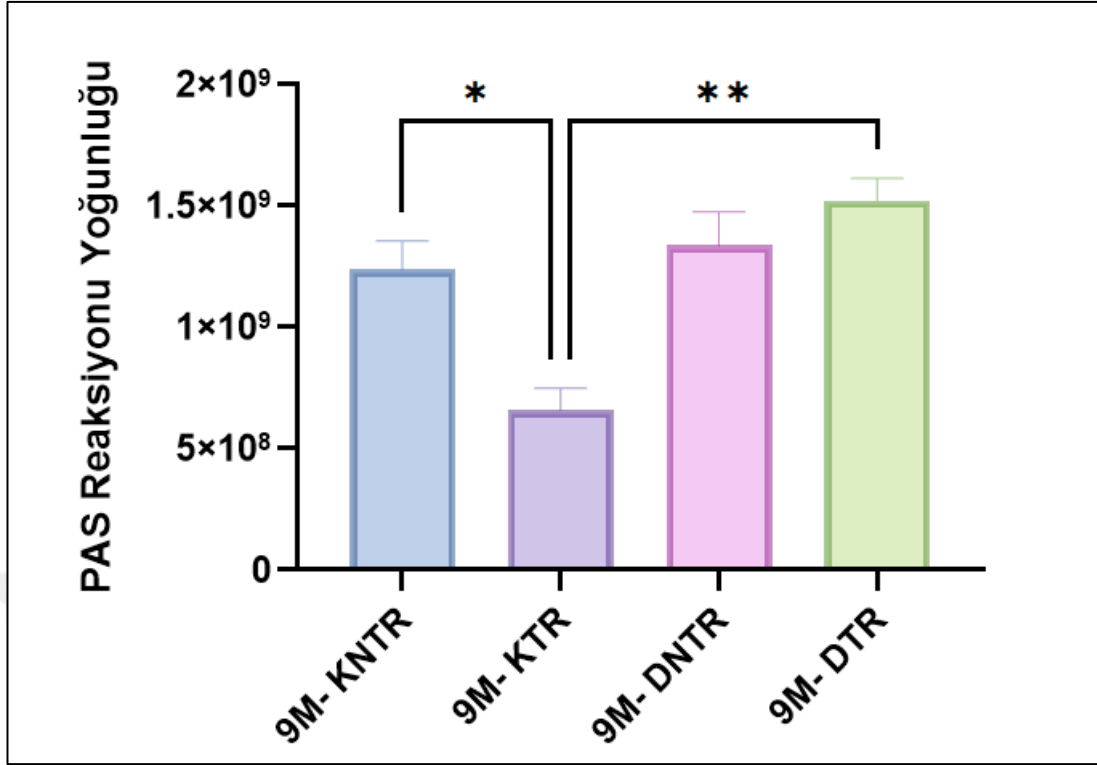


Şekil 22. 6 aylık gruplarda PAS reaksiyonu yoğunluğu grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One-way ANOVA kullanılmıştır. İstatiksel anlamlılık düzeyleri: ****p<0,0001.

9 aylık hayvan gruplarında kas dokularında PAS reaksiyon yoğunluğu ölçümleri değerlendirildiğinde; KNTR grubunda ortalama PAS yoğunluğu $1,24 \times 10^9 \pm 3,08 \times 10^8$ AU olarak hesaplanmıştır. KTR grubunda bu değer $6,60 \times 10^8 \pm 1,78 \times 10^8$ AU, DNTR grubunda $1,34 \times 10^9 \pm 2,77 \times 10^8$ AU ve DTR grubunda ise $1,52 \times 10^9 \pm 1,82 \times 10^8$ AU olarak belirlenmiştir.

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, KTR grubunda ölçülen PAS reaktivite yoğunluğu, KNTR ve DTR gruplarına göre anlamlı derecede düşüktür (Şekil 23).



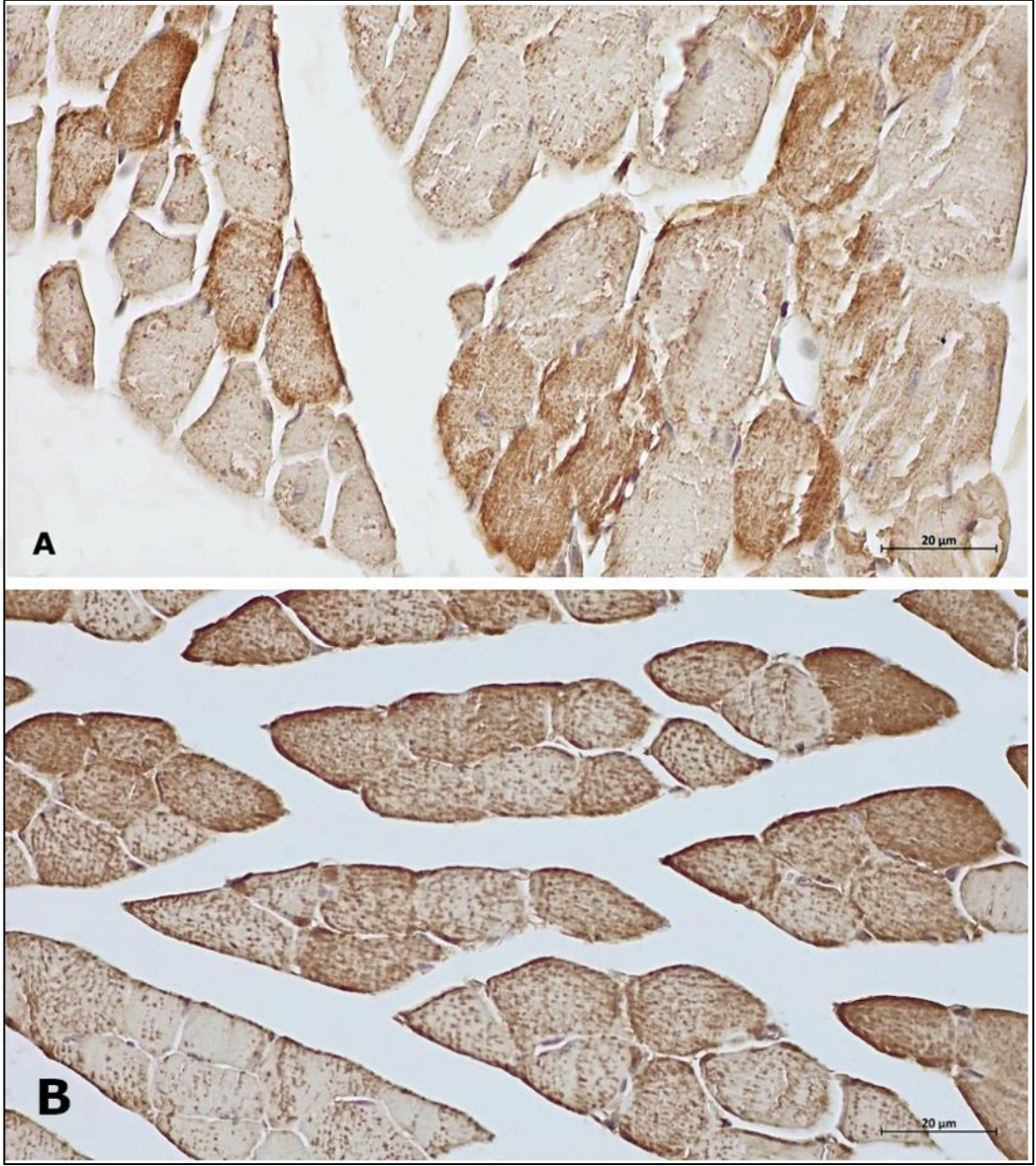
Şekil 23. 9 aylık gruplarda PAS reaksiyonu yoğunluğu grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One-way ANOVA kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,005$.

4.5 COXIV İmmünohistokimya Bulguları

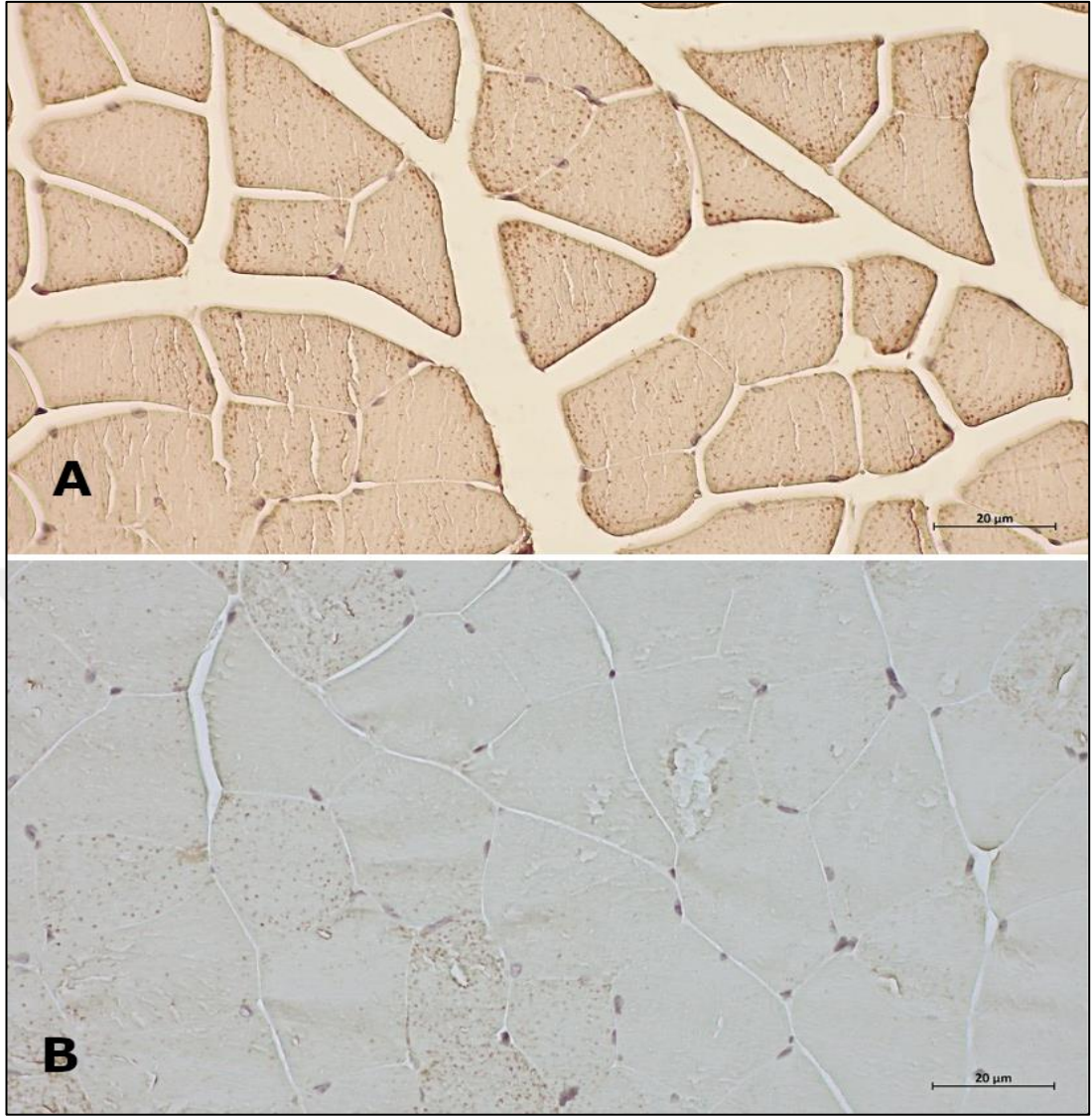
COXIV immünohistokimyasal boyama sonucunda, sitoplazmik yerleşimli ve granüler karakterde pozitif sinyal gözlenmiştir. Boyanma, özellikle subsarkolemmal bölgelerde ve intermyofibriler mitokondri lokalizasyonlarına karşılık gelen alanlarda belirgin olup lif boyunca diffüz, pozitif kahverengi dağılım göstermektedir. DAB kromojeni ile geliştirilen reaksiyon, hematoksilen karşı boyası ile birlikte değerlendirilmiştir. COXIV immünreaktivite dağılımı ve yoğunluğu;

3 aylık KNTR grubunda, 9 aylık KNTR grubuna göre daha az sayıda lifte ve yoğunlukta (Resim 11), 3 aylık KTR grubunda, 9 aylık KTR grubuna göre daha fazla sayıda lifte (Resim 12), 3 aylık DNTR grubunda, 9 aylık DNTR grubuna göre daha az yoğunlukta (Resim 13), 3 aylık DTR grubunda heterojen ve daha az yoğunlukta, 9 aylık DTR grubunda homojene daha yakın ve yoğunluğu daha yüksek (Resim 14) COXIV immünreaktivitesi ölçülmüştür.



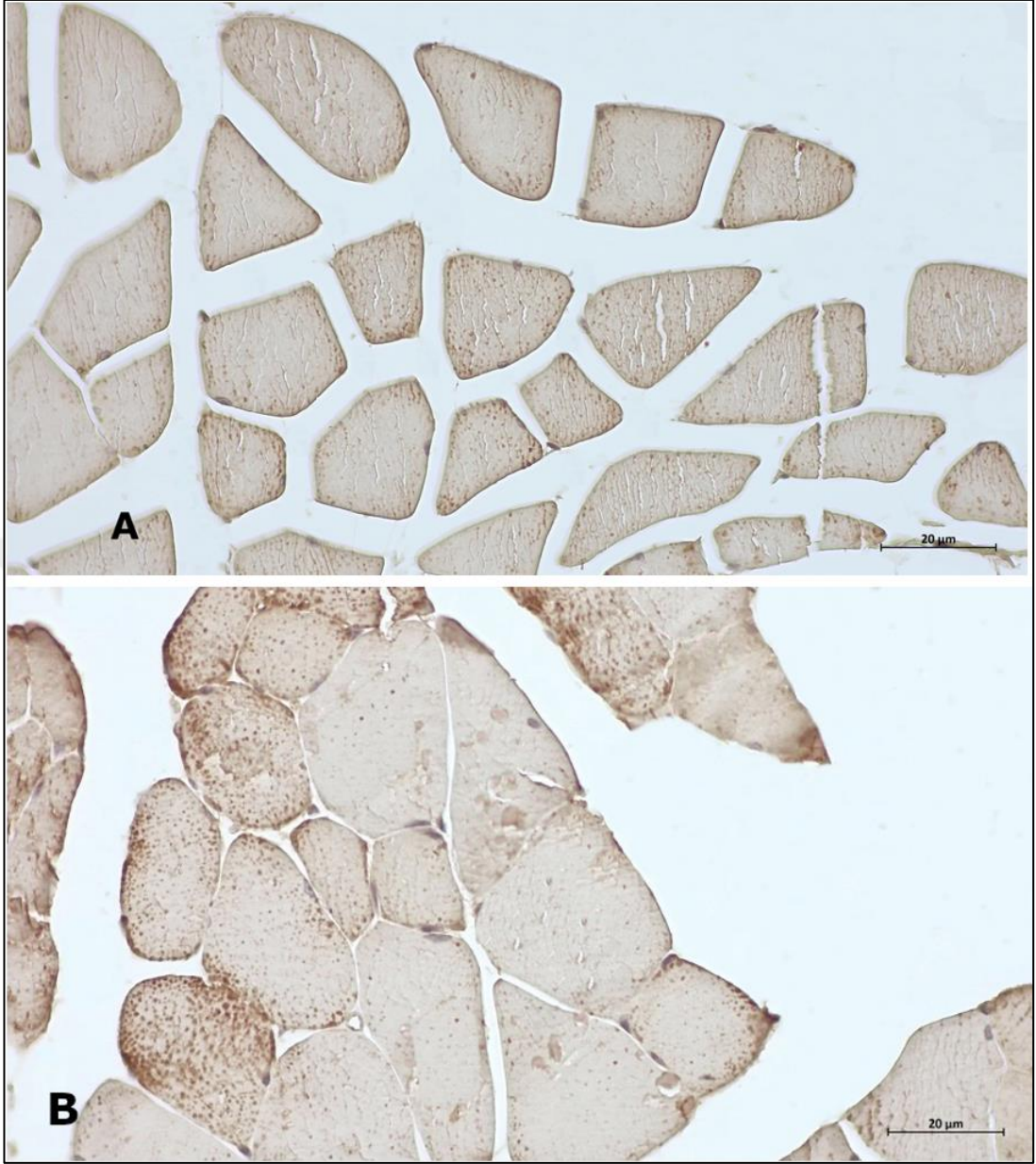
Resim 11. 3 ve 9 aylık KNTR gruplarına ait doku örneğinin COXIV immünohistokimya boyaması.

(A) 3 aylık KNTR grubunda COXIV immünreaktivitesi. 9 aylık KNTR grubuna göre daha az sayıda lifte ve yoğunlukta COXIV immünreaktivitesi (40x). (B) 9 aylık KNTR grubunda COX immünreaktivitesi, kas lifleri boyunca homojen kahverengi boyanma, mitokondriyal aktivitenin düzenli dağılımı (40x).



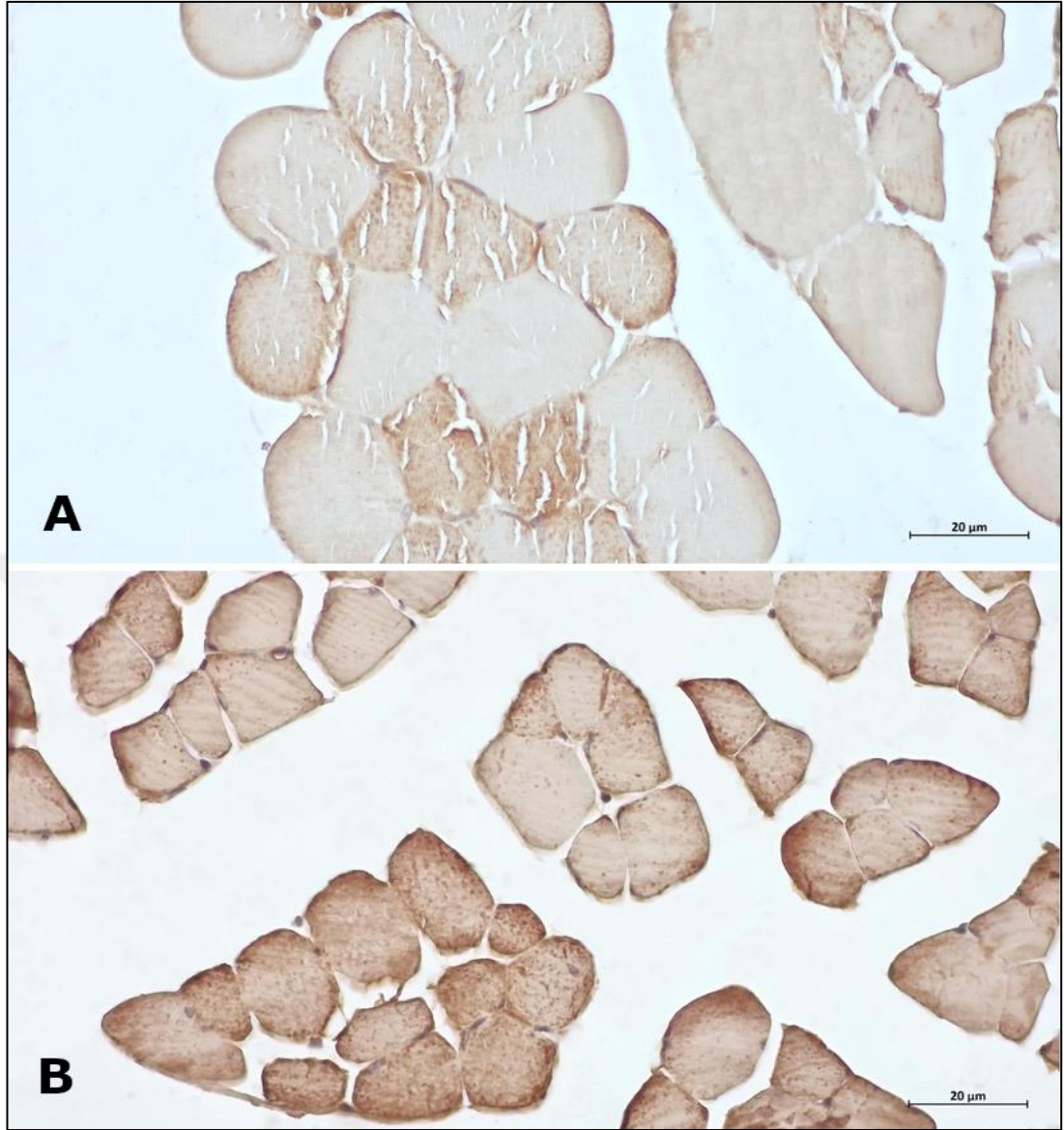
Resim 12. 3 ve 9 aylık KTR gruplarına ait doku örneğinin COXIV immünohistokimya boyaması.

(A) 3 aylık KTR grubunda COXIV immünreaktivitesi. 9 aylık KTR grubuna göre daha fazla lifte COXIV immünreaktivitesi (40x). (B) 9 aylık KTR grubunda liflerin büyük çoğunluğunda COXIV pozitifliği saptanmamış, yalnızca sınırlı sayıda lifte subsarkolemmal bölgelerde düzensiz ve zayıf granüler boyanma görüntüsü (40x).



Resim 13. 3 ve 9 aylık DNTR gruplarına ait doku örneğinin COXIV immünohistokimya boyaması.

(A) 3 aylık DNTR grubunda COXIV immünreaktivitesi. Kahverengi DAB sinyalleri, çoğunlukla subsarkolemmal bölgelerde sınırlı kalmakta olup intermyofibriler bölgelerde granüler boyanma belirgindir (40x). (B) 9 aylık DNTR grubunda subsarkolemmal ve intermyofibriler bölgelerde granüler dağılım gösteren kahverengi DAB sinyalleri, COXIV protein ekspresyonunun artmış ve mitokondriyal aktivitenin lif içi dağılımı (40x).



Resim 14. 3 ve 9 aylık DTR gruplarına ait doku örneğinin COXIV immünohistokimya boyaması.

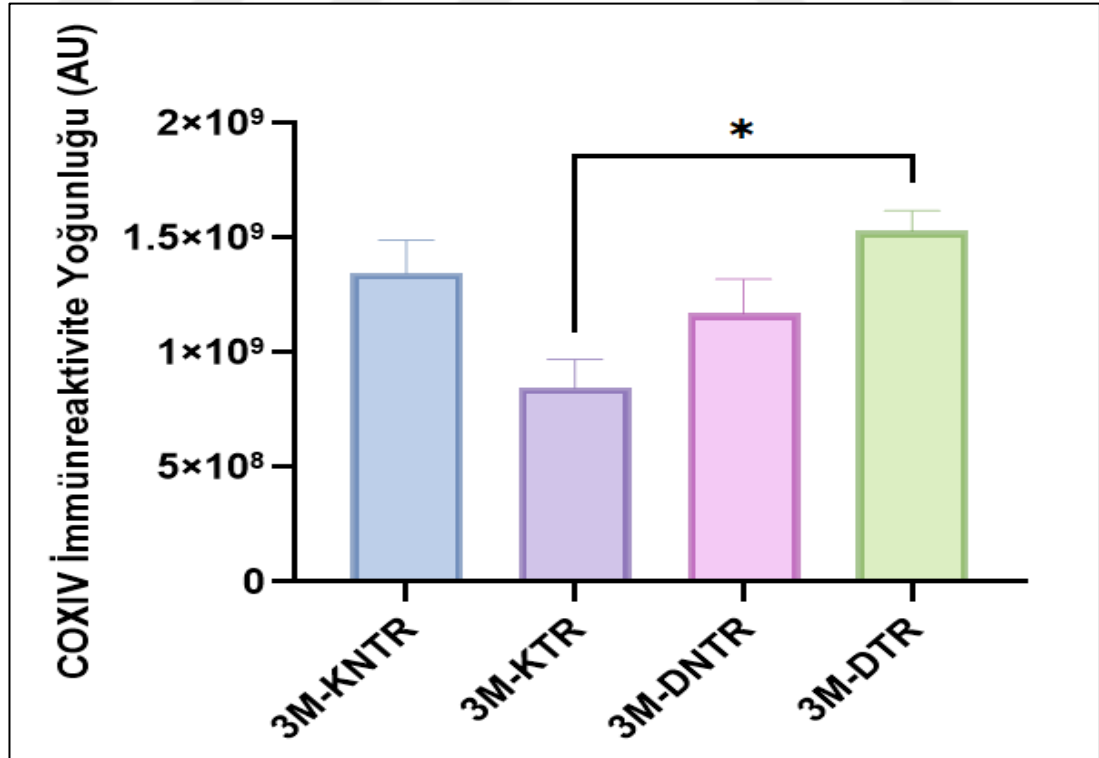
(A) 3 aylık DTR grubunda COXIV immünreaktivitesi. 3 aylık DTR grubunda 9 aylık DTR grubuna göre daha az sayıda COXIV ekspresyonunun heterojen bir dağılımı (40x). (B) 9 aylık DTR grubunda homojene daha yakın COXIV pozitifliği (40x).

4.6 COXIV İmmünreaktivite Analizi

COXIV immünreaktivite yoğunluğu analizi yapıldığında 3 aylık hayvanların kas dokusunda yapılan COXIV immünohistokimyasal boyama sonucunda; KNTR grubunda ortalama COXIV immünreaktivite yoğunluğu $1,35 \times 10^9 \pm 5,01 \times 10^8$ AU, KTR grubunda $8,48 \times 10^8 \pm 3,48 \times 10^8$ AU, DNTR grubunda $1,17 \times 10^9 \pm 5,11 \times$

10^8 AU, DTR grubunda ise $1,53 \times 10^9 \pm 2,52 \times 10^8$ AU olarak ölçülmüştür. 6 aylık hayvanlarda COXIV immünohistokimyasal boyama sonucunda elde edilen ortalama immünreaktivite yoğunluğu değerleri şu şekildedir: KNTR grubunda $1,93 \times 10^9 \pm 1,76 \times 10^8$ AU, KTR grubunda $1,01 \times 10^9 \pm 3,93 \times 10^8$ AU, DNTR grubunda $1,85 \times 10^9 \pm 4,27 \times 10^8$ AU, DTR grubunda $1,57 \times 10^9 \pm 2,69 \times 10^8$ AU ölçülmüştür. 9 aylık hayvanlarda ise immünohistokimyasal boyama sonucunda ölçülen immünreaktivite yoğunlukları incelendiğinde; KNTR grubunda $1,96 \times 10^9 \pm 3,12 \times 10^8$ AU, KTR grubunda $1,18 \times 10^9 \pm 3,68 \times 10^8$ AU, DNTR grubunda $1,70 \times 10^9 \pm 4,02 \times 10^8$ AU ve DTR grubunda ise $1,56 \times 10^9 \pm 1,96 \times 10^8$ AU olarak ölçülmüştür.

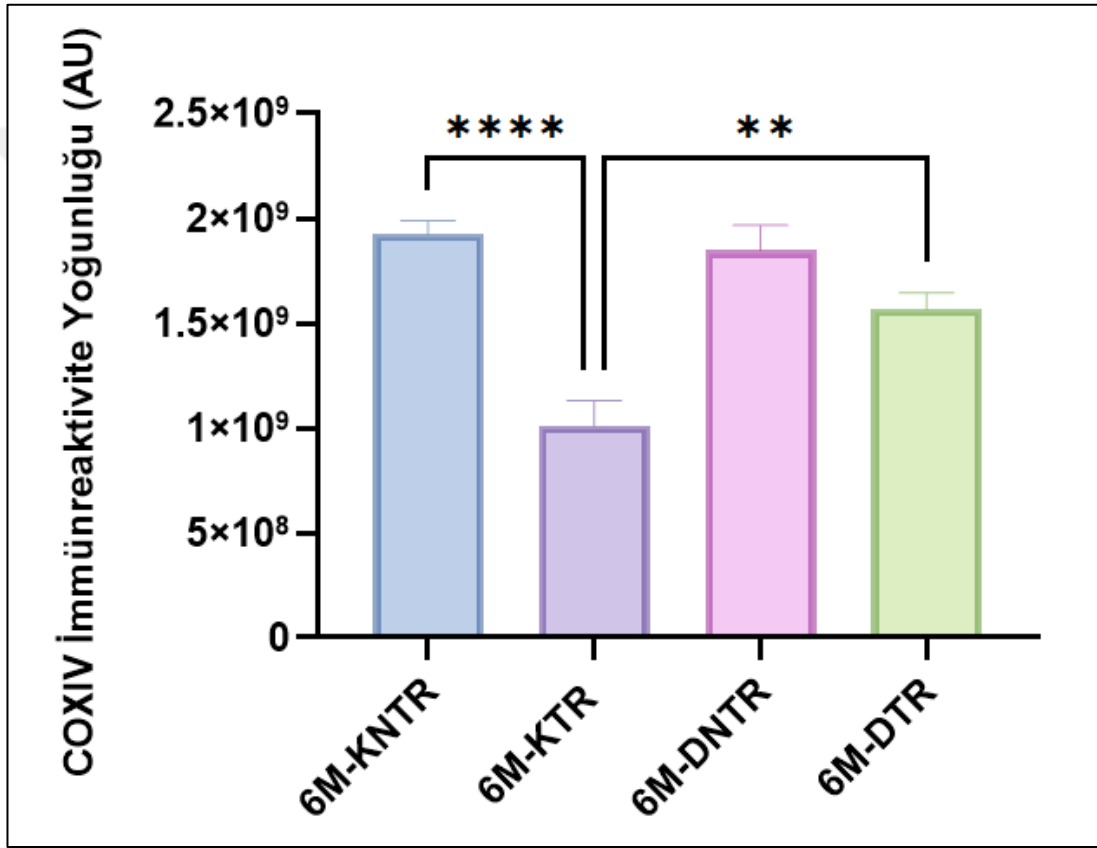
3 aylık hayvan grupları kendi grupları arasında kıyaslandığında KTR grubunda COXIV seviyesinin diğer gruplara göre daha düşük olduğu gözlemlendi. DTR grubunda ise COXIV immünreaktivite yoğunluğu anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. İstatistiksel analiz sonucunda, DTR grubunda ölçülen COXIV yoğunluğu, KTR grubuna kıyasla anlamlı şekilde artmıştır (Şekil 24).



Şekil 24. 3 aylık gruplarda COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis kullanılmıştır. İstatiksel anlamlılık düzeyleri: * $p < 0,05$.

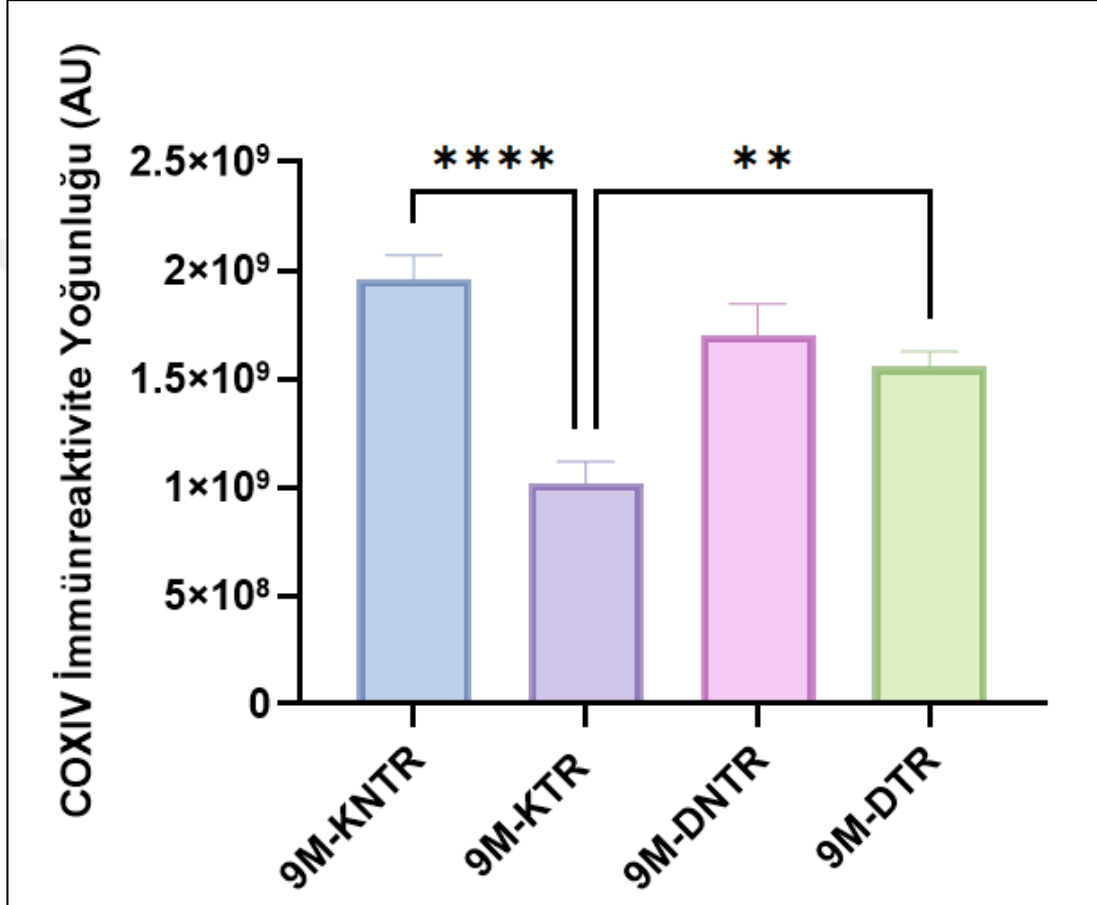
6 aylık hayvanlar kendi grupları arasında kıyaslandığında KTR grubunda COXIV seviyesinin anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi. KNTR grubunda ölçülen COXIV yoğunluğu, KTR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti. Ayrıca DTR grubunun COXIV yoğunluğu, KTR grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu (Şekil 25). Bu bulgular, destekleyici diyet uygulamasının COXIV ekspresyonu üzerindeki etkilerini ortaya koymaktadır.



Şekil 25. 6 aylık gruplarda COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One-way ANOVA kullanılmıştır. İstatiksel anlamlılık düzeyleri: ** $p < 0,005$ ve **** $p < 0,0001$.

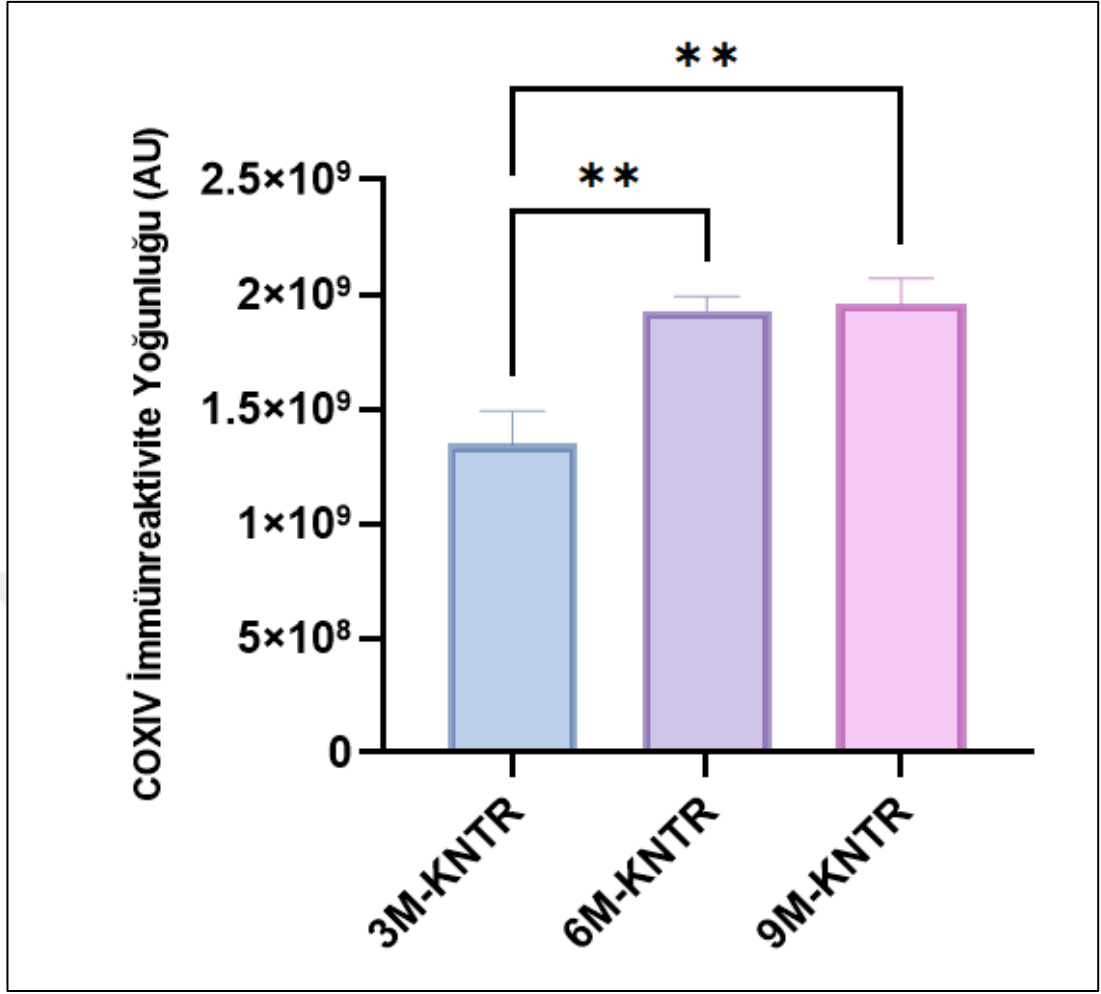
9 aylık gruplar arasında yapılan COXIV immünreaktivite yoğunluğu analizinde, KTR grubunda ölçülen COXIV seviyeleri, KNTR ve DTR gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür. DTR ve KNTR gruplarını benzer sonuçlar göstermiştir. Bu sonuçlar, KNTR, DTR ve DNTR gruplarında COXIV ekspresyonunun korunduğunu, KTR grubunda ise anlamlı bir azalma olduğunu göstermektedir (Şekil 26).



Şekil 26. 9 aylık gruplarda COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One-way ANOVA kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: ** $p < 0,005$ ve **** $p < 0,0001$.

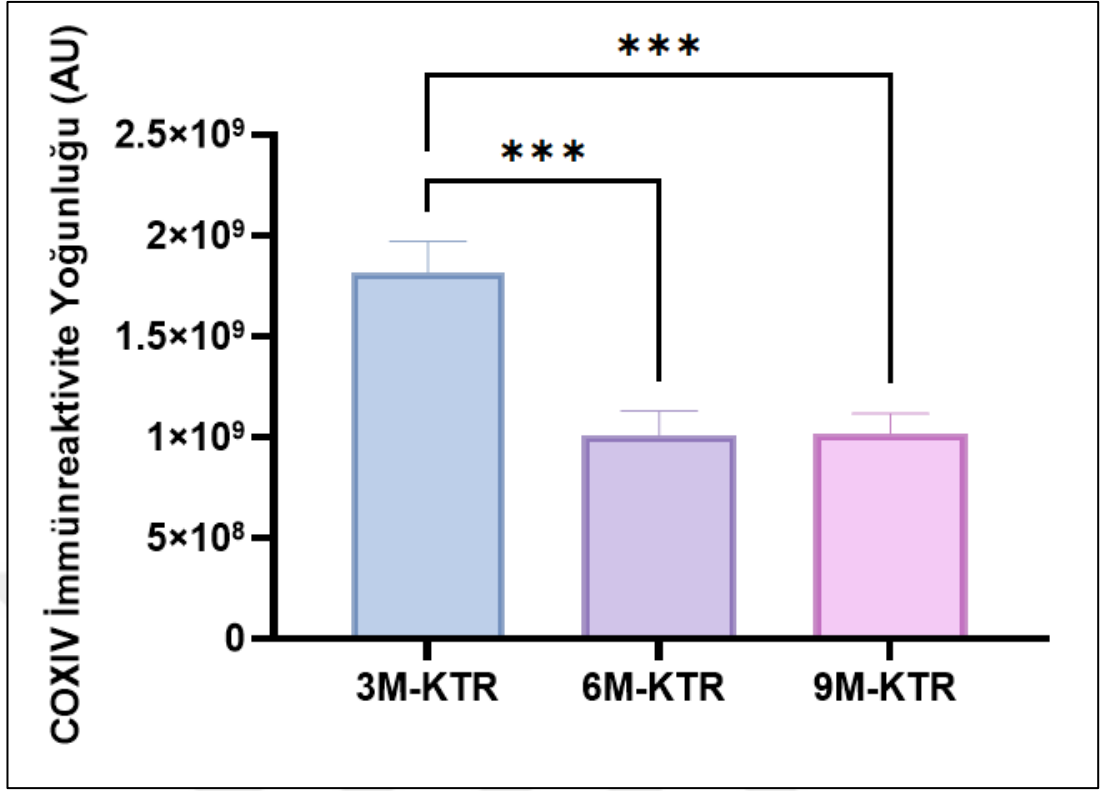
KNTR grupları arasında zamanla meydana gelen değişimin incelendiği COXIV immünreaktivite yoğunluğu analizinde, 6 ve 9 aylık gruplarda COXIV seviyelerinin 3 aylık gruba kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi. Bu sonuçlar, kontrol grubunda yaş ilerledikçe iskelet kasında COXIV immünreaktivite yoğunluğunun arttığını ve korunduğunu göstermektedir (Şekil 27).



Şekil 27. KNTR gruplarında COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One- way ANOVA kullanılmıştır. İstatiksel anlamlılık düzeyleri: ** $p < 0,005$.

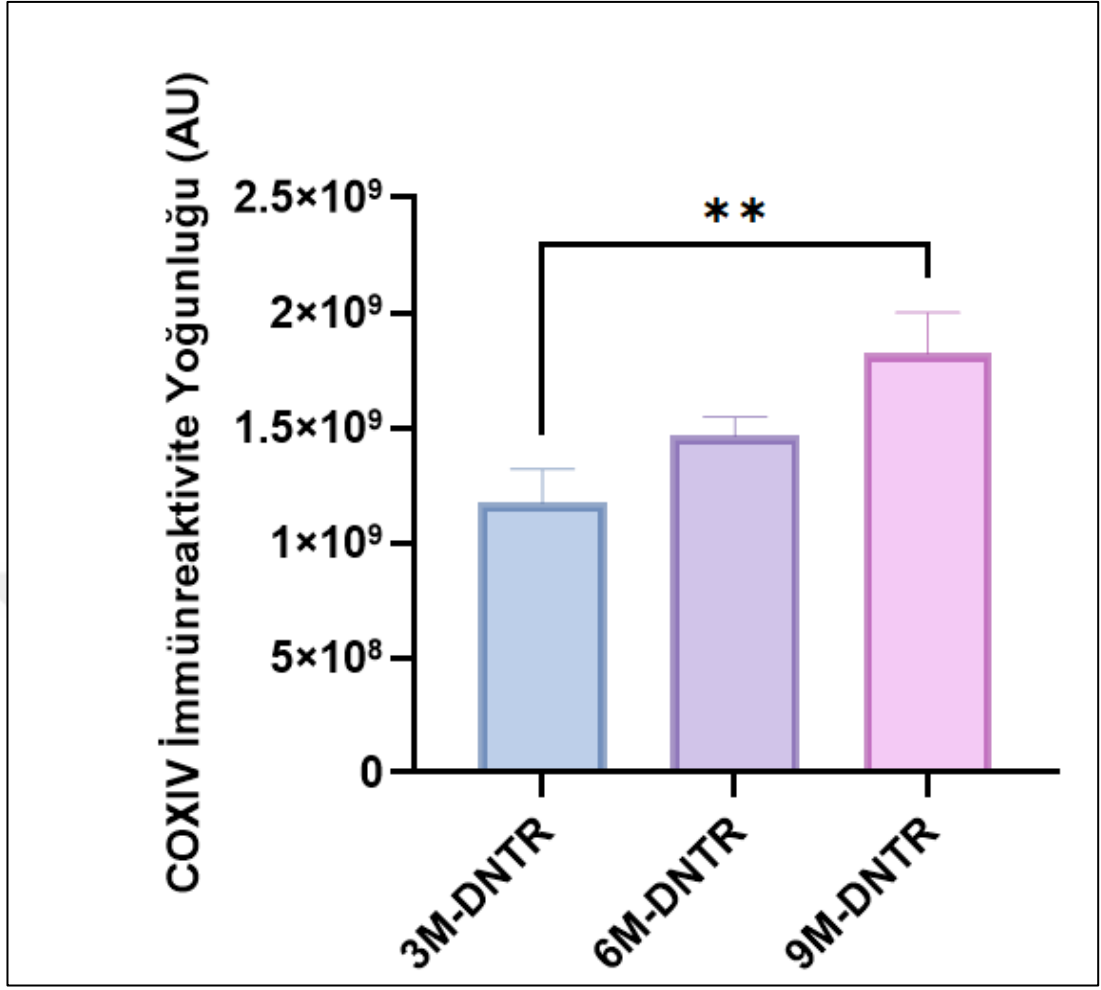
KTR grupları arasında zamanla meydana gelen değişimi değerlendirmek amacıyla yapılan COXIV immünreaktivite yoğunluğu analizinde, yaş ilerledikçe COXIV düzeyinde belirgin bir azalma olduğu tespit edildi. 6 ve 9 aylık gruplarda 3 aylık gruba göre COXIV immünreaktivite yoğunluğunda anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 28). Bu bulgular, yaşlanmanın COXIV ekspresyonu üzerinde olumsuz etkiler oluşturduğunu ve mitokondriyal fonksiyonun yaşla birlikte azaldığını göstermektedir.



Şekil 28. KTR gruplarında COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One-way ANOVA kullanılmıştır. İstatiksel anlamlılık düzeyleri: *** $p < 0,0005$.

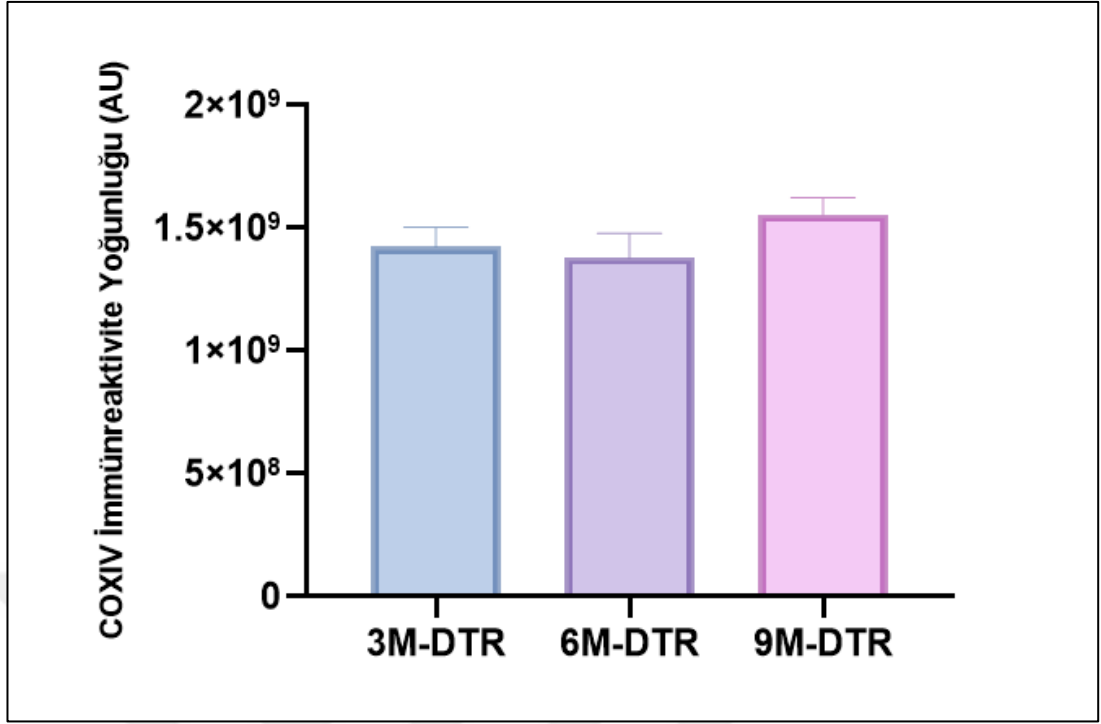
DNTR gruplarında zamanla meydana gelen değişimin değerlendirildiği COXIV immünreaktivite yoğunluğu analizinde, 9 aylık grupta ölçülen COXIV düzeylerinin 3 aylık gruba kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi. Bu bulgular, DNTR grubunda yaş ilerledikçe COXIV ekspresyonunun arttığını ve bu artışın 9. ayda istatistiksel olarak anlam kazandığını göstermektedir (Şekil 29).



Şekil 29. DNTR gruplarında COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One- way ANOVA kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri: ** $p < 0,005$.

DTR gruplarında zamanla meydana gelen değişimin değerlendirildiği COXIV immünreaktivite yoğunluğu analizinde, birbirleriyle kıyaslandığında aralarında anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen 9 aylık hayvanlarda AH etkisine rağmen destekleyici diyetin koruyuculuğu gözlemlenmiştir (Şekil 30).



Şekil 30. DTR gruplarında COXIV immünreaktivite yoğunluğu grafiği.

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar için One- way ANOVA kullanılmıştır.

5 TARTIŞMA

Çalışmamız kapsamında, prenatal ve laktasyon döneminde UMP, kolin ve balık yağı ile desteklenen diyetin, 5XFAD Alzheimer modeli farelerde iskelet kası üzerindeki etkileri histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir. Özellikle glikojen metabolizması, mitokondriyal fonksiyon ve kas lifi morfolojisi gibi parametreler incelenmiştir. Bulgularımız, destekleyici diyetin Alzheimer patolojisine sahip bireylerde sıklıkla gözlenen kas dejenerasyonu, mitokondriyal disfonksiyon ve enerji metabolizması bozukluklarına karşı koruyucu olabileceğini düşündürmektedir.

AH genellikle MSS üzerinden açıklansa da, son yıllarda periferik dokuların da hastalığın gelişiminde rol oynayabileceğine dair kanıtlar artmaktadır. Literatürde hayvan modeli üzerinde gerçekleşen çalışmalar incelendiğinde, APPswe genini sadece iskelet kaslarında ifade eden bir transgenik Alzheimer fare modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada, periferik APP ekspresyonunun kas fizyolojisi üzerindeki etkilerini ortaya koymaktadır. Elde edilen bulgular, bu mutant farelerde yaşa ve kas tipi özelliklerine bağlı olarak sarkopeni benzeri bir fenotipin geliştiğini göstermektedir. Özellikle, hızlı kasılan kas tiplerinden biri olan m. tibialis anterior ve m. quadriceps'te, 6 aylık dönemde kas lifi boyutunda azalma ve merkezi çekirdekli lif sayısında artış gözlenmiştir. Bu değişiklikler, kas rejenerasyonunun bozulduğunu ve dejeneratif süreçlerin aktive olduğunu düşündürmektedir (152). 3xTg-AD fare modeli kullanılarak yapılan başka bir çalışmada, yaşlanma sürecinde ortaya çıkan motor fonksiyon bozuklukları, yürüme bozuklukları ve iskelet kası patolojilerini incelemeyi amaçlamıştır. Araştırmacılar 6, 12 ve 16 aylık erkek 3xTg-fAD farelerini, yaş ve cinsiyet eşleştirilmiş vahşi tip non-transgenik (NTg) kontrol fareleriyle karşılaştırmıştır. Histolojik analizler, 3xTg-AD farelerinde kas liflerinde dejenerasyon, merkezi çekirdekli lif sayısında artış ve intramüsküler yağ birikimi gibi sarkopeni belirtilerinin bulunduğunu ortaya koymuştur (153). Çalışmamızda elde edilen veriler, literatürde bildirilen bulgularla uyumlu olarak, kas lifi dejenerasyonu, rejenerasyonu ve atrofi düzeylerini yansıtan histopatolojik skorun 3 aylık KTR grubunda, aynı yaştaki KNTR grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğunu

göstermiştir. Benzer şekilde, 6 ve 9 aylık hayvanlarda da KTR gruplarının histopatolojik skorları, yaşa denk KNTR gruplarına oranla daha yüksek bulunmuştur.

Araştırmacılar, APPswe genini sadece iskelet kaslarında ifade eden bir transgenik Alzheimer fare modelinde, hastalığın yaşa ve kas lifi tipine bağlı olarak ilerleyici bir kas dejenerasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. m.tibialis anterior'da yapılan H&E boyamaları, 3 aylık dönemde kontrol gruplarına benzer normal morfolojik yapı gözlenmesine rağmen, 6 aylık dönemde belirgin kas lifi çapı azalması ile karakterize bir sarkopeni benzeri tablo ortaya koymuştur. Benzer şekilde, m.quadriceps (proksimal, hızlı kasılan tip) de m.tibialis anterior ile benzer şekilde yaşa bağlı yapısal bozulmalar göstermiştir. Öte yandan, m. soleus'ta ise 3 aylık gibi erken bir dönemde kas lifi çapında azalmaya bağlı dejeneratif değişiklikler saptanmıştır (152). Bu bulgular, AH'de sarkopeni benzeri patolojilerin, kas lifi tipi (yavaş ya da hızlı kasılan) ve yaş gibi faktörlere bağlı olarak değişen şiddet ve zamanda ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

Başka bir çalışma, AH patolojisinin periferik motor nöronlar ve iskelet kası üzerindeki etkilerini yaşa bağlı olarak incelemeyi amaçlamıştır. 3xTg-AD fare modelinde NMK morfolojisi, kas kütlesi ve kas kuvveti değerlendirilmiştir. Çalışmada genç (2–4 aylık) ve yaşlı (18–20 aylık) dişi 3xTg-AD ve kontrol fareleri kullanılmıştır. Yaşlı 3xTg-AD farelerinde m. gastrocnemius kütlesinde %30 azalma gözlemlenmiştir. Yaşlı 3xTg-AD farelerinin kaslarında TGF- β /Smad2/3/MuRF1 yolunun aktivasyonu tespit edilmiştir. Bu yol, kas atrofisi ile ilişkili olup, kas kütlesindeki azalmanın moleküler mekanizmasını açıklamaktadır. Bu bulgular, AH'nin sistemik bir hastalık olduğunu ve kas-beyin ekseninin önemini vurgulamaktadır (104). Çalışmamızda 5xFAD Alzheimer modeli farelerde yaptığımız morfometrik ölçümlerde 3 ve 6 aylık hayvanların KTR ve KNTR grupları yaş uyumlu olarak kıyaslandığında ise gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ancak 9 aylık hayvanların KTR ve KNTR grupları kendi arasında kıyaslandığında KTR grubunda KNTR'ye göre istatistiksel anlamlı olacak şekilde kas lifi çapı azalmıştır. Bu sonuç AH'nin 9 aylık döneme gelindiğinde iskelet kası atrofisi üzerinde belirgin bir etkisi olabileceğini göstermektedir. 3 ve 6 aylık hayvanlarda bu etkinin görülmemesi, ilerleyen yaş

etkisinin de iskelet kası atrofisine neden olabileceği ihtimalini doğurmuştur. Bu iki etkinin birbirinden kesin olarak ayrılması için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. KNTR grubunda 6 aylık hayvanların kas lifi çapı en yüksek bulunmuştur. Bu durumun gelişimsel süreç ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. 9 aylık gruptaki kas lifi çapı artışı 6 aylık hayvanlara göre düşük ancak 3 aylık hayvanlara göre yine de yüksek ölçülmüştür. Bu durumun hayvanların henüz yaşlı sayılmadığı 9 aylık yetişkin dönemde olmalarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. KTR grubunda ise literatür ile uyumlu olarak AH etkisi ile 9 aylık hayvanların kas lifi çapı 3 ve 6 aylık hayvanlara göre daha az ölçülmüştür. Bu durumun 9 aylık dönemde AH etkilerinin görülmeye başlaması ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

DHA, kolin ve UMP; sinaptik plastisitenin sürdürülmesi ve iskelet kası bütünlüğünün korunmasında önemli görevler üstlenmektedir. Bu süreçlerle ilişkili mekanizmaların bozulması, hem sinir sistemi hem de kas dokusunda yapısal ve işlevsel değişikliklere yol açabilmektedir. Bu nedenle, DHA, kolin ve UMP gibi nöronal membran prekürsörlerinin eksik olması, AH'deki sinaptik kayıplar kadar, periferik kas yapısındaki kayıplara da neden olabilir. Bu durum, AH ile sarkopeni arasındaki olası bağlantıyı ortaya koymakta ve bu üç bileşenin terapötik potansiyelini hem bilişsel hem de fiziksel gerilemeyi yavaşlatmak açısından değerlendirmeyi gündeme getirmektedir (12–14). Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde, 2 aylık (genç) ve 18 aylık (yaşlı) erkek C57BL/6J farelerin kullanıldığı bir çalışmada omega-3 yağ asitlerinden EPA ve DHA'nın yaşlanmaya bağlı sarkopeni üzerindeki etkileri ve altta yatan mekanizmaları incelenmiştir. EPA ve DHA takviyeleri, yaşlı farelerde kas kuvveti, kas kütlesi ve kas lifi kesit alanındaki düşüşü hafifletmiştir (12). Yapılan başka bir deneysel çalışmada, 24 günlük erkek sıçan yavrularının prenatal ve erken postnatal dönemlerinde kolin eksikliğinin, doğan yavruların iskelet kas dokusunda gen ekspresyon profiline (transkriptom) etkisini incelenmiştir. Kolin eksikliği olan gruplarda iskelet kası dokularında yağ birikimi gözlenmiştir. Bu bulgular, maternal beslenmenin yavru kas gelişimi üzerindeki uzun vadeli etkilerini vurgulamakta ve prenatal dönemdeki beslenme stratejilerinin önemini ortaya koymaktadır (154). Kolin, genellikle nörolojik gelişim ile ilişkilendirilmiştir; ancak bu çalışmada, iskelet kası gibi periferik dokuların da kolin eksikliğine karşı

oldukça hassas olduğu ortaya konulmuştur. Bu durum, kolinin hücresel düzeyde çok yönlü rolüne (özellikle hücre zarı bütünlüğü, sinyal iletimi ve epigenetik regülasyon) işaret etmektedir. Fareler üzerine yapılan başka bir çalışmada siyatik sinir denervasyonu ile indüklenen kas atrofisi modelinde, balık yağı tüketiminin ubiquitin ligaz ekspresyonu üzerindeki etkilerini incelenmiştir. Çalışmanın sonuçları, balık yağı tüketiminin, siyatik sinir denervasyonu ile indüklenen kas atrofisi sırasında MuRF1 ekspresyonunu baskıladığını böylece kas atrofisini hafiflettiği öne sürülmüştür (155).

Bu kapsamda yapılan insan deneyleri incelendiğinde 65 yaş ve üzeri bireylerde günde 4-gram balık yağı kaynaklı omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin (n-3 PUFA) sarkopeni, vücut kompozisyonu, kas gücü ve fiziksel performans üzerindeki etkilerini incelenmiştir. İskelet kası kütlesi, n-3 PUFA takviyesi alan grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştır (151). Yaşlanmaya bağlı kas kütlesi ve fonksiyon kaybını yavaşlatmak için balık yağı kaynaklı n-3 PUFA takviyesinin etkinliğini değerlendirmeyi amaçlayan başka bir çalışmaya 60-85 yaş aralığında sağlıklı 60 yetişkin katılmıştır. Katılımcılar, 6 ay boyunca günde 1.86 g EPA ve 1.50 g DHA içeren n-3 PUFA takviyesi (n=40) veya mısır yağı (n=20) alacak şekilde rastgele iki gruba ayrılmıştır. 6 aylık n-3 PUFA takviyesi sonucunda, kontrol grubuna kıyasla uyluk kas hacminde %3.6 artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar, n-3 PUFA takviyesinin yaşlı bireylerde kas kütlesi ve gücünü artırabileceğini göstermektedir.

n-3 PUFA takviyesinin kas gücü ve kütlesi üzerindeki olumlu etkileri tüm araştırmalar tarafından desteklenmemektedir. Örneğin, yapılan bir araştırmada, yaş ortalaması 74 olan 53 yaşlı birey, omega-3 takviyesi alan grup ve plasebo grubu olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Omega-3 grubuna günlük 660 mg EPA ve 440 mg DHA içeren balık yağı verilmiştir. 12 haftalık omega-3 takviyesinin yaşlı bireylerde vücut kompozisyonu, kas gücü ve kütlesinde anlamlı bir etkisi olmadığı ifade edilmiştir (14).

Diğer yandan, 65 ila 85 yaş aralığındaki 1050 katılımcı ile gerçekleştirilen bir başka çalışmada, HBB ile sarkopeni (SA) arasındaki ilişki incelenmiş ve bu bağlantıda lipit profili ile bazal metabolik hızın (BMH) potansiyel aracılık rolü değerlendirilmiştir. Çalışmada diyetle alınan lipitler ve kolin düzeyleri analiz

edildiğinde, HBB+SA grubunda diyetle alınan fosfolipitlerin belirgin şekilde düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca, tekli (MUFA), çoklu (PUFA) ve doymuş (SFA) yağ asitleri alımının, hem HBB grubunda hem de sarkopenik bireylerde düşük olduğu belirlenmiştir. Kolin alımı ise, HBB ve HBB+SA gruplarında anlamlı düzeyde azalmıştır. Bu durum, PC türevi kolin ve yağ asitlerinin hem bilişsel hem de kas sağlığı için temel besinler olduğunu düşündürmektedir. Bilişsel durumu ve kas fonksiyonları bakımından değerlendirildiğinde HBB, sarkopeni ve HBB+sarkopeni gruplarının tamamında Montreal Bilişsel Değerlendirme (MoCA) skorları kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Aynı şekilde, bireyin kas kütlesinin boy uzunluğuna göre oranlanmasıyla hesaplanan iskelet kas indeksi (SMI) de vaka gruplarında düşük bulunmuştur. MoCA skoru ile SMI arasında pozitif bir korelasyon saptanmış ve bu durum çoklu doğrusal regresyon analizleriyle de desteklenmiştir (156). Bu bulgular, yaşlı bireylerde HBB ve SA gelişimini önlemede veya erken tespit etmede beslenme temelli parametrelerin önemli rol oynayabileceğini göstermektedir. Yaşlı bireylerde yetersiz fosfolipit ve kolin alımı ile düşük BMH hem HBB hem de SA gelişme riskini arttırmaktadır. Bu iki durum arasında lipid metabolizması üzerinden güçlü bir bağlantı vardır. Bu bilgilerden yola çıkarak, UMP, kolin ve omega-3 diyeti içeren hayvan ve insan çalışmaları, bu bileşenin iskelet kasında fibrozisi azaltma, mitokondriyal kalite kontrolünü (mitofaji) iyileştirme ve hasar durumunda rejenerasyonu hızlandırma potansiyeline işaret etmektedir. Ancak AH'li bireylerde kombine beslenme takviyesi (UMP + DHA + kolin) daha çok bilişsel faydalara odaklanmıştır (11,140,146)Bu kombine takviyenin AH'de iskelet kası üzerindeki etkilerine literatürde rastlanmamıştır. Çalışmamız, ilgili alanda sınırlı sayıda çalışma bulunması nedeniyle bilimsel açıdan özgün bir çalışma olma özelliği taşımaktadır.

Bizim çalışmamızda, destekleyici diyetin uygulanmadığı KTR gruplarında, düzensiz kas lifi konturları, merkezi yerleşimli çekirdekler ve yaygın dejenerasyon odakları gözlemlenirken; destekleyici diyetin uygulandığı deney gruplarında bu bozulmaların daha az belirgin olduğu dikkati çekmiştir. 3, 6 ve 9 aylık DTR gruplarının histopatolojik skoru, yaş uyumlu KTR gruplarına göre anlamlı düzeyde azalırken, yaş uyumlu KNTR grubuyla benzer sonuçlara sahiptir. Bu durum, prenatal ve laktasyon dönemindeki destekleyici diyetin erken yaşlardan itibaren istikrarlı bir

şekilde AH'nin iskelet kası üzerinde histopatolojik açıdan olumsuz etkilerini iyileştirmeye yönelik katkısı olabileceğini göstermiştir.

Yapılan morfometrik ölçümler sonucunda, m. gastrocnemius'ta 3 ve 6 aylık hayvanlarda Alzheimer etkisi henüz görülmeye başlamamasına rağmen diyet takviyesi alan gruplarda, kontrol gruplarına kıyasla kas lifi çapında bir artış olduğu gözlenmiştir. Bu durum literatür ile uyumludur. Alzheimer etkisinin görülmeye başlandığı 9 aylık dönemde DTR gruplarındaki kas lifi çaplarının yaş uyumlu KTR ve KNTR gruplarına kıyasla istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durum literatür ile uyumlu olarak beslenmenin koruyucu etkisi olabileceğini göstermektedir.

Yaşa bağlı olarak yapılan karşılaştırmalarda, destekleyici diyet takviyesi uygulanan DTR gruplarında, Alzheimer etkisinin varlığına rağmen, 9 aylık hayvanlarda kas lifi çaplarının 3 aylık hayvanlara kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum destekleyici diyetin, koruyucu etkisine ek olarak kas lifi çapını arttırıcı etkisi olabileceğini de düşündürmüştür. DNTR gruplarında da kontrol grubu ile benzer sonuçlar görülmüştür.

Nöronal membran prekürsörlerinin iskelet kası glikojen metabolizmasına etkisinin deneysel hayvan modellerinde araştırıldığı yakın zamanda yapılan bir çalışmada, farelerde iskelet kasına özgü GDE5 eksikliği (Gde5 skKO) modeli oluşturulmuştur. GDE5 eksikliği, iskelet kasında gliserofosfokolin birikimine yol açmıştır. Bu birikim, glikolitik metabolitlerde ve glikojen seviyelerinde artışa neden olmuştur. Ayrıca, PUFA fosfolipidlerin düzeylerinde azalma gözlemlenmiştir. Gde5 skKO farelerine 8 hafta boyunca DHA açısından zengin diyet verildiğinde: kas kasılma kuvveti kontrol grubuna göre yaklaşık %15 artmıştır. Yorgunluk direnci normalize edilmiştir. PC bileşiminde DHA içeren formlarının artışı gözlemlenmiştir (PC-DHA formlarında yaklaşık %25 geri kazanım) (157,158). Araştırmada, kas glikojen düzeyi için spesifik bir artış ya da azalma rapor edilmemiştir ancak glikojen yıkımı yavaş olan Gde5 skKO farelerinde, DHA diyeti sonrası kas fonksiyonunun düzeldiği gösterilmiştir. Bu, DHA'nın glikojen kullanımı ve enerji metabolizmasına dolaylı olarak olumlu katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Başka bir çalışmada, 8-10 aylık fareler, üç gruba ayrılmıştır: Pcyt2+/- kolinle tedavi edilen grup (Pcyt2+/- CHO), kolin verilmemiş Pcyt2+/- grubu, kontrol grubu (Pcyt2+/+). Kolin tedavisi, Pcyt2+/- kasındaki glikojen düzeylerinin geri kazandırılması açısından olumlu bir etki göstermiştir. Pcyt2+/- kasında, Pcyt2+/+ (yabanil tip) kasa göre glikojen düzeyi %50 oranında azalmıştır. Kolin takviyesi, Pcyt2+/- grubu farelerin kasında glikojen metabolizmasını belirgin şekilde yeniden düzenlemiş ve bu metabolik profili, Pcyt2+/+ farelerin daha zayıf olan fenotipine benzer hale getirmiştir (158)

İskelet kasında kas atrofisi ve glikojen seviyesinin incelendiği bir çalışmada 6 haftalık C57BL/6 fareleri, 8 hafta boyunca DHA ile zenginleştirilmiş veya kontrol diyetiyle beslenmiştir. Ardından fareler 48 saat aç bırakılmıştır. DHA takviyesi, açlık öncesi kas glikojen içeriğini artırmıştır. Bu çalışmada, DHA takviyesinin, açlık süresince oluşan iskelet kası atrofisini önlemedeki potansiyel etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, DHA takviyesinin kas kaybını önleyici etkilerinin oldukça belirgin olduğunu ve bunun hem enerji metabolizması hem de katabolik süreçlerin regülasyonu üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir. DHA takviyesiyle beslenen farelerde, açlık süresince m. gastrocnemius'ta gözlenen kütle kaybı %13 düzeyindeyken, bu oran DHA almayan kontrol grubunda %27'ye ulaşmıştır. Bu sonuç, DHA'nın kas kaybını yaklaşık %52 oranında engellediğini ortaya koymaktadır. Bu koruyucu etki, büyük ölçüde kas hücrelerinde artan glikojen rezervlerine bağlanabilir. Nitekim DHA grubunda kas glikojen içeriği 12.4 ± 1.9 $\mu\text{mol/g}$ düzeyine ulaşırken, kontrol grubunda bu değer yalnızca 5.6 ± 1.2 $\mu\text{mol/g}$ olarak tespit edilmiştir. Bu da glikojen seviyelerinde %121 oranında bir artışa işaret etmektedir (159).

Çalışmamızda farklı yaş gruplarına uygulanan destekleyici diyetin iskelet kasında glikojen içeriğini yansıtan PAS reaksiyon yoğunluğu üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, hayvan grupları arasında glikojen seviyeleri belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Literatür ile uyumlu olarak 6 ve 9 aylık hayvanlarda DTR gruplarındaki kas glikojen seviyesi, yaş ile uyumlu KTR gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla ölçülmüştür. Bu durum AH'de

destekleyici diyetin, glikojen seviyesinin korunmasında etkili olabileceğini ortaya koymuştur.

3-18 aylık erkek AH ile ilişkili APP/PS1 transgenik fare modelinin kullanıldığı bir çalışmada iskelet kası mitokondrilerinde belirgin enerji metabolizması bozuklukları olduğunu ortaya koymuştur. Mitokondriyal oksijen tüketim oranları, kontrol grubuna kıyasla Alzheimer modelinde anlamlı derecede azalmıştır. Ayrıca, iskelet kasındaki mitokondriyal disfonksiyonun, hastalığın ilerlemesiyle birlikte bilişsel bozulmalarla ilişkili olabileceği ve bu nedenle iskelet kası mitokondriyal fonksiyonlarının, AH'nin erken teşhisi ve takibinde potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmektedir (160).

Araştırmacılar, APPswe genini sadece iskelet kaslarında ifade eden bir transgenik Alzheimer fare modelinde, hem TA hem de soleus kaslarında COX pozitif liflerin sayısında azalma tespit edilmiştir. Bu bulgu, APPswe ekspresyonunun iskelet kaslarında mitokondriyal fonksiyonu bozduğunu ve buna bağlı olarak enerji metabolizmasında yetersizlik geliştiğini göstermektedir. COX enzimi, mitokondriyal solunum zincirinin son basamağında yer alır ve ATP üretiminde kritik bir rol oynar. COX+ liflerin azalması, hücrelerin oksidatif kapasitesinin düştüğünü ve oksijen kullanımının bozulduğunu ortaya koyar. Bu durum, kas yorgunluğu, atrofi ve dejeneratif süreçlerin hızlanmasıyla doğrudan ilişkilidir. Mitokondriyal disfonksiyon, sadece lokal kas hasarıyla sınırlı kalmayıp, aynı zamanda sistemik inflamasyon ve nöroinflamasyon gibi merkezi etkileri de tetikleyebilir. Bu nedenle, iskelet kasındaki APPswe ekspresyonuna bağlı olarak gelişen COX+ lifi kaybı, AH bağlamında kas-beyin eksenini destekleyen önemli bir patolojik göstergedir. Aynı zamanda bu bulgu, periferik mitokondriyal sağlığın korunmasının yalnızca kas fonksiyonu için değil, nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi açısından da kritik olduğunu göstermektedir (152).

Başka bir çalışmada araştırmacılar, yaşlı bireylerden elde edilen iskelet kası biyopsileri ile mitokondriyal solunum kapasitelerini değerlendirmiş ve bu verileri bireylerin bilişsel durumları ve Alzheimer biyobelirteçleri ile karşılaştırmıştır.

Çalışma, hem bilişsel olarak sağlıklı bireyleri hem de HBB yaşayan kişileri kapsayan bir katılımcı grubuyla gerçekleştirilmiştir. Katılımcıların m.vastus lateralisinden biyopsisi alınmış ve yüksek çözünürlüklü respirometri tekniği ile mitokondriyal fonksiyonlar analiz edilmiştir. Aynı zamanda, bireylerin bilişsel performansları nöropsikolojik testlerle değerlendirilmiş ve Alzheimer ile ilişkili biyobelirteçler özellikle BOS'taki beta-amiloid (A β 42), fosfo-tau (p-tau), total tau proteinleri ve PET görüntülemeye glukoz metabolizması ölçülmüştür. Elde edilen bulgular, iskelet kası mitokondriyal fonksiyonlarının bilişsel performansla güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu göstermiştir. Daha düşük mitokondriyal solunum kapasitesine sahip bireylerde, bilişsel test skorları da daha düşüktür (161). Çalışmamızda kas dokusundaki mitokondri yoğunluğunu ve dağılımını tespit eden COXIV reaktivitesi incelendiğinde KTR gruplarında yaşlanma ile birlikte COXIV reaktivitesi azalmış, DNTR ve KNTR gruplarında reaktivite artmış ve DTR gruplarında ise AH'nin olumsuz etkilerine rağmen destekleyici diyetin mitokondriyal aktivite üzerinde koruyucu etkisi gözlenmiştir. Bu sonuçlar literatür ile uyumlu bir tablo sergilemektedir. Gruplar yaş uyumlu olarak kendi arasında kıyaslandığında 3 ve 6 aylık hayvanlarda DTR gruplarında COXIV seviyeleri KTR gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunurken bu anlamlılık 9 aylık hayvanlarda ortadan kalkmıştır. Bu durum AH'de mitokondriyal aktivitede değişikliğin, iskelet kasındaki morfolojik değişikliklerden önce ortaya çıktığını göstermektedir. 6 ve 9 aylık KNTR gruplarında, yaşa uyumlu KTR gruplarına kıyasla COXIV ekspresyonu daha yüksek düzeyde ölçülmüştür. Bu sonuç literatür ile uyumlu olarak AH'nin mitokondriyal aktivite üzerindeki olumsuz etkilerini göstermektedir.

6 SONUÇ

Bu çalışmada, 5xFAD Alzheimer modeli farelerde iskelet kası üzerine Alzheimer patofizyolojisinin ve destekleyici diyet uygulamasının histopatolojik, morfolojik ve immünohistokimyasal etkileri araştırılmıştır. KTR gruplarında kas dokusundaki dejenerasyon, rejenerasyon ve atrofi düzeylerini yansıtan histopatolojik skorların, aynı yaştaki KNTR gruplarına kıyasla 3, 6 ve 9 aylık dönemlerde anlamlı şekilde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Destekleyici diyet ile birlikte AH'nin kas dokusu üzerindeki olumsuz etkilerinin azaldığı görülmüştür.

Morfometrik analizler, KNTR gruplarında kas lifi çapının fizyolojik gelişim sürecine paralel olarak arttığı izlenirken, KTR gruplarında ise özellikle 9 aylık hayvanlarda belirgin bir kas atrofisine dönüştüğü saptanmıştır. Bu bulgular, literatürde AH ile ilişkili kas kaybı ve atrofiye dair verilerle uyumludur. 9 aylık DTR gruplarında, hastalık etkisinin belirginleştiği bu dönemde dahi kas lifi çapının KTR ve KNTR gruplarına kıyasla daha yüksek olması, destekleyici diyetin yalnızca koruyucu değil, aynı zamanda yapısal destek sağlayıcı bir rol üstlenebileceğini ortaya koymuştur.

İskelet kasındaki glikojen içeriğini yansıtan PAS reaksiyon yoğunluğu incelendiğinde, tüm yaş gruplarında KTR gruplarında bu seviye en az ölçülmüştür. Destekleyici diyet uygulanan deney gruplarında (DNTR ve DTR) 6 ve 9 aylık dönemlerde kontrol gruplarına göre daha yüksek glikojen düzeyleri tespit edilmiştir. Bu artış, destekleyici diyetin glikojen metabolizması üzerinde uyarıcı bir etkisi olduğunu göstermektedir.

Mitokondriyal yoğunluğun ve dağılımın göstergesi olan COXIV reaktivitesine yönelik analizlerde, KTR grubunda yaş ilerledikçe COXIV ekspresyonunun azaldığı; buna karşın KNTR ve DNTR gruplarında COXIV reaktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Mitokondriyal aktivitedeki bozulmanın 3. aydan itibaren gözlenmesi, AH'nin iskelet kasında yapısal bozulmalar ortaya çıkmadan önce mitokondriyal fonksiyonları etkilediğini göstermektedir. Bu durum, beslenme müdahalesi ile erken dönemde başlayan bu sürecin yavaşlatılabileceğini ortaya koymaktadır.

Bu bulgular, AH'nin kas yapısı ve metabolizmasını olumsuz etkilediğini ancak uygun beslenme yaklaşımlarının bu etkileri azaltılabileceğini göstermektedir. Çalışmamız kombine besin takviyesinin 5xFAD Alzheimer modelinde iskelet kasının yapısal etkilerini inceleyen ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. İleri çalışmalarda farklı yaş grupları ve egzersiz/diyet müdahaleleriyle kombinasyonlu analizlerin yapılmasının, bu alandaki bilgi birikimini katkı sağlayacağına inanmaktayız.



7 KAYNAKLAR

1. Ciurea VA, Covache-Busuioc RA, Mohan AG, Costin HP, Voicu V. Alzheimer's disease: 120 years of research and progress. *J Med Life*. 2023;16(2):173.
2. Brisendine MH, Drake JC. Early-stage Alzheimer's disease: are skeletal muscle and exercise the key? *J Appl Physiol*. 2023;134(3):515-20.
3. Vellas B, Fielding RA, Bens C, Bernabei R, Cawthon PM, Cederholm T, vd. Implications of ICD-10 for sarcopenia clinical practice and clinical trials: report by the international conference on frailty and sarcopenia research task force. *J Frailty Aging*. 2018;7:2-9.
4. Salinas- Rodríguez A, Palazuelos- González R, Rivera- Almaraz A, Manrique- Espinoza B. Longitudinal association of sarcopenia and mild cognitive impairment among older Mexican adults. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2021;12(6):1848-59.
5. Lian D, Chen MM, Wu H, Deng S, Hu X. The role of oxidative stress in skeletal muscle myogenesis and muscle disease. *Antioxidants*. 2022;11(4):755.
6. Ramoo K, Hairi NN, Yahya A, Choo WY, Hairi FM, Peramalah D, vd. Longitudinal association between sarcopenia and cognitive impairment among older adults in rural Malaysia. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(8):4723.
7. Calvani R, Joseph AM, Adhietty PJ, Miccheli A, Bossola M, Leeuwenburgh C, vd. Mitochondrial pathways in sarcopenia of aging and disuse muscle atrophy. *Biol Chem*. 2013;394(3):393-414.
8. Alway SE, Mohamed JS, Myers MJ. Mitochondria initiate and regulate sarcopenia. *Exerc Sport Sci Rev*. 2017;45(2):58-69.
9. Rygiel KA, Picard M, Turnbull DM. The ageing neuromuscular system and sarcopenia: a mitochondrial perspective. *J Physiol*. 2016;594(16):4499-512.
10. Picca A, Calvani R, Bossola M, Allocca E, Menghi A, Pesce V, vd. Update on mitochondria and muscle aging: all wrong roads lead to sarcopenia. *Biol Chem*. 2018;399(5):421-36.
11. Cansev M, Wurtman RJ, Sakamoto T, Ulus IH. Oral administration of circulating precursors for membrane phosphatides can promote the synthesis of new brain synapses. *Alzheimer's & Dementia*. 2008;4(1):S153-68.
12. Wu ZJ, Li YC, Zheng Y, Zhou MQ, Li H, Wu SX, vd. Differential effects of EPA and DHA on aging-related sarcopenia in mice and possible mechanisms involved. *Food Funct*. 2025;16(2):601-16.
13. Dubinin M V, Starinets VS, Belosludtseva N V, Mikheeva IB, Chelyadnikova YA, Penkina DK, vd. The effect of uridine on the state of skeletal muscles and the functioning of mitochondria in Duchenne dystrophy. *Int J Mol Sci*. 2022;23(18):10660.
14. Krzysińska-Siemaszko R, Czepulis N, Lewandowicz M, Zasadzka E, Suwalska A, Witowski J, vd. The effect of a 12-week omega-3 supplementation on body composition, muscle strength and physical performance in elderly individuals with decreased muscle mass. *Int J Environ Res Public Health*. 2015;12(9):10558-74.

15. Duranti E, Villa C. From Brain to Muscle: The Role of Muscle Tissue in Neurodegenerative Disorders. *Biology (Basel)*. 2024;13(9):719.
16. Martin B, Brenneman R, Becker KG, Gucek M, Cole RN, Maudsley S. iTRAQ analysis of complex proteome alterations in 3xTgAD Alzheimer's mice: understanding the interface between physiology and disease. *PLoS One*. 2008;3(7):e2750.
17. Nussbaum RL, Ellis CE. Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *New england journal of medicine*. 2003;348(14):1356-64.
18. Signoret JL, Hauw JJ. *Maladie d'Alzheimer et autres démences*. Flammarion médecine-sciences; 1991.
19. Bermejo-Pareja F, Del Ser T. Controversial past, splendid present, unpredictable future: a brief review of Alzheimer disease history. *J Clin Med*. 2024;13(2):536.
20. Alzheimer A. Über eigenartige Krankheitsfälle des späteren Alters. *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie*. 1911;4(1):356-85.
21. Patterson C. World alzheimer report 2018. 2018;
22. Alzheimer's Association. 2020 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's and Dementia*. 01 Mart 2020;16(3):391-460.
23. Ohara T, Hata J, Yoshida D, Mukai N, Nagata M, Iwaki T, vd. Trends in dementia prevalence, incidence, and survival rate in a Japanese community. *Neurology*. 2017;88(20):1925-32.
24. Chan KY, Wang W, Wu JJ, Liu L, Theodoratou E, Car J, vd. Epidemiology of Alzheimer's disease and other forms of dementia in China, 1990–2010: a systematic review and analysis. *The Lancet*. 2013;381(9882):2016-23.
25. Özbabalık D, Hussein S. Demans Bakım Modeli Raporu. Ankara: Aile ve Sosyal Politikalar Bakanlığı; 2017.
26. U.S. Department of Health, Human Services C for DC, Prevention NC for HS. CDC WONDER online database: About Underlying Cause of Death, 1999-2017. 2018.
27. Tom SE, Hubbard RA, Crane PK, Haneuse SJ, Bowen J, McCormick WC, vd. Characterization of dementia and Alzheimer's disease in an older population: updated incidence and life expectancy with and without dementia. *Am J Public Health*. 2015;105(2):408-13.
28. Association A. 2019 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia*. 2019;15(3):321-87.
29. Matthews FE, Stephan BCM, Robinson L, Jagger C, Barnes LE, Arthur A, vd. A two decade dementia incidence comparison from the Cognitive Function and Ageing Studies I and II. *Nat Commun*. 2016;7(1):11398.
30. Schrijvers EMC, Verhaaren BFJ, Koudstaal PJ, Hofman A, Ikram MA, Breteler MMB. Is dementia incidence declining? Trends in dementia incidence since 1990 in the Rotterdam Study. *Neurology*. 2012;78(19):1456-63.
31. Masters CL, Bateman R, Blennow K, Rowe CC, Sperling RA, Cummings JL. Alzheimer's disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1(1):1-18.

32. Talwar P, Sinha J, Grover S, Rawat C, Kushwaha S, Agarwal R, vd. Dissecting complex and multifactorial nature of Alzheimer's disease pathogenesis: a clinical, genomic, and systems biology perspective. *Mol Neurobiol*. 2016;53:4833-64.
33. Kumar A, Sidhu J, Lui F, Tsao JW. Alzheimer disease. İçinde: StatPearls [internet]. StatPearls Publishing; 2024.
34. Cuyvers E, Sleegers K. Genetic variations underlying Alzheimer's disease: evidence from genome-wide association studies and beyond. *Lancet Neurol*. 2016;15(8):857-68.
35. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, vd. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*. 1991;349(6311):704-6.
36. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* (1979). 1992;256(5054):184-5.
37. McNaughton D, Knight W, Guerreiro R, Ryan N, Lowe J, Poulter M, vd. Duplication of amyloid precursor protein (APP), but not prion protein (PRNP) gene is a significant cause of early onset dementia in a large UK series. *Neurobiol Aging*. 2012;33(2):426-e13.
38. Brunkan AL, Goate AM. Presenilin function and γ -secretase activity. *J Neurochem*. 2005;93(4):769-92.
39. Singleton AB, Hall R, Ballard CG, Perry RH, Xuereb JH, Rubinsztein DC, vd. Pathology of early-onset Alzheimer's disease cases bearing the Thr113–114ins presenilin-1 mutation. *Brain*. 2000;123(12):2467-74.
40. Yang Y, Bagyinszky E, An SSA. Presenilin-1 (PSEN1) mutations: clinical phenotypes beyond Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci*. 2023;24(9):8417.
41. Ryan NS, Rossor MN. Correlating familial Alzheimer's disease gene mutations with clinical phenotype. *Biomark Med*. 2010;4(1):99-112.
42. Jayadev S, Leverenz JB, Steinbart E, Stahl J, Klunk W, Yu CE, vd. Alzheimer's disease phenotypes and genotypes associated with mutations in presenilin 2. *Brain*. 2010;133(4):1143-54.
43. Shen J, Kelleher III RJ. The presenilin hypothesis of Alzheimer's disease: evidence for a loss-of-function pathogenic mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(2):403-9.
44. Kelleher III RJ, Shen J. Presenilin-1 mutations and Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(4):629-31.
45. Duncombe J, Kitamura A, Hase Y, Ihara M, Kalaria RN, Horsburgh K. Chronic cerebral hypoperfusion: a key mechanism leading to vascular cognitive impairment and dementia. Closing the translational gap between rodent models and human vascular cognitive impairment and dementia. *Clin Sci*. 2017;131(19):2451-68.
46. Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, Leisgang AM, Salazar AM, Lamb BT. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*. 2018;4:575-90.

47. Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM. Long-term cognitive impairment and functional disability among survivors of severe sepsis. *JAMA*. 2010;304(16):1787-94.
48. Benros ME, Sørensen HJ, Nielsen PR, Nordentoft M, Mortensen PB, Petersen L. The association between infections and general cognitive ability in young men—a nationwide study. *PLoS One*. 2015;10(5):e0124005.
49. Fann JR, Ribe AR, Pedersen HS, Fenger-Grøn M, Christensen J, Benros ME, vd. Long-term risk of dementia among people with traumatic brain injury in Denmark: a population-based observational cohort study. *Lancet Psychiatry*. 2018;5(5):424-31.
50. Tsai CH, Chuang CS, Hung CH, Lin CL, Sung FC, Tang CH, vd. Fracture as an independent risk factor of dementia: a nationwide population-based cohort study. *Medicine*. 2014;93(26):e188.
51. Engelhart MJ, Geerlings MI, Meijer J, Kiliaan A, Ruitenberg A, Van Swieten JC, vd. Inflammatory proteins in plasma and the risk of dementia: the rotterdam study. *Arch Neurol*. 2004;61(5):668-72.
52. Navarro V, Sanchez-Mejias E, Jimenez S, Muñoz-Castro C, Sanchez-Varo R, Davila JC, vd. Microglia in Alzheimer's disease: activated, dysfunctional or degenerative. *Front Aging Neurosci*. 2018;10:140.
53. Passamonti L, Tsvetanov KA, Jones PS, Bevan-Jones WR, Arnold R, Borchert RJ, vd. Neuroinflammation and functional connectivity in Alzheimer's disease: interactive influences on cognitive performance. *Journal of Neuroscience*. 2019;39(36):7218-26.
54. Santos CY, Snyder PJ, Wu WC, Zhang M, Echeverria A, Alber J. Pathophysiologic relationship between Alzheimer's disease, cerebrovascular disease, and cardiovascular risk: a review and synthesis. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2017;7:69-87.
55. Anjum I, Fayyaz M, Wajid A, Sohail W, Ali A. Does obesity increase the risk of dementia: a literature review. *Cureus*. 2018;10(5).
56. Nicolas G, Acuña- Hidalgo R, Keogh MJ, Quenez O, Stehouwer M, Lelieveld S, vd. Somatic variants in autosomal dominant genes are a rare cause of sporadic Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 2018;14(12):1632-9.
57. Chouliaras L, Rutten BPF, Kenis G, Peerbooms O, Visser PJ, Verhey F, vd. Epigenetic regulation in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*. 2010;90(4):498-510.
58. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*. 2001;
59. Bao Z, Cui C, Chow SKH, Qin L, Wong RMY, Cheung WH. AChRs degeneration at NMJ in aging-associated sarcopenia—a systematic review. *Front Aging Neurosci*. 2020;12:597811.
60. H Ferreira-Vieira T, M Guimaraes I, R Silva F, M Ribeiro F. Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. *Curr Neuropharmacol*. 2016;14(1):101-15.
61. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment. *Molecules*. 2020;25(24):5789.
62. Paroni G, Bisceglia P, Seripa D. Understanding the amyloid hypothesis in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2019;68(2):493-510.
63. Kametani F, Hasegawa M. Reconsideration of amyloid hypothesis and tau hypothesis in Alzheimer's disease. *Front Neurosci*. 2018;12:328460.

64. Kung HF. The β -amyloid hypothesis in Alzheimer's disease: seeing is believing. C. 3, ACS medicinal chemistry letters. ACS Publications; 2012. s. 265-7.
65. McCuller C, Jessu R, Callahan AL. Physiology, Skeletal Muscle. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. (StatPearls [Internet]).
66. Schiaffino S, Reggiani C. Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiol Rev.* 2011;91(4):1447-531.
67. Hall JE. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 14th bs. Philadelphia: Elsevier; 2021.
68. Sui SX, Williams LJ, Holloway-Kew KL, Hyde NK, Pasco JA. Skeletal muscle health and cognitive function: a narrative review. *Int J Mol Sci.* 2020;22(1):255.
69. Lo JH tung, Yiu T, Ong MT yun, Lee WY wai. Sarcopenia: Current treatments and new regenerative therapeutic approaches. *J Orthop Translat.* 2020;23:38.
70. Morais JA. Sarcopenia—definitions and epidemiology. *Oxford Textbook of Geriatric Medicine.* 2017;409.
71. Avgerinou C. Sarcopenia: why it matters in general practice. *British Journal of General Practice.* 2020;70(693):200-1.
72. Delmonico MJ, Beck DT. The current understanding of sarcopenia: Emerging tools and interventional possibilities. *Am J Lifestyle Med.* 2017;11(2):167-81.
73. Santilli V, Bernetti A, Mangone M, Paoloni M. Clinical definition of sarcopenia. *Clinical cases in mineral and bone metabolism.* 2014;11(3):177.
74. Nagase T, Tohda C. Skeletal muscle atrophy- induced hemopexin accelerates onset of cognitive impairment in Alzheimer's disease. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2021;12(6):2199-210.
75. Gillies AR, Lieber RL. Structure and function of the skeletal muscle extracellular matrix. *Muscle Nerve.* 2011;44(3):318-31.
76. Kragstrup TW, Kjaer M, Mackey AL. Structural, biochemical, cellular, and functional changes in skeletal muscle extracellular matrix with aging. *Scand J Med Sci Sports.* 2011;21(6):749-57.
77. Frantz C, Stewart KM, Weaver VM. The extracellular matrix at a glance. *J Cell Sci.* 2010;123(24):4195-200.
78. Thomas K, Engler AJ, Meyer GA. Extracellular matrix regulation in the muscle satellite cell niche. *Connect Tissue Res.* 2015;56(1):1-8.
79. Chen WJ, Lin IH, Lee CW, Chen YF. Aged skeletal muscle retains the ability to remodel extracellular matrix for degradation of collagen deposition after muscle injury. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):2123.
80. Johnson DK, Wilkins CH, Morris JC. Accelerated weight loss may precede diagnosis in Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2006;63(9):1312-7.
81. Burns JM, Johnson DK, Watts A, Swerdlow RH, Brooks WM. Reduced lean mass in early Alzheimer disease and its association with brain atrophy. *Arch Neurol.* 2010;67(4):428-33.
82. Ogawa Y, Kaneko Y, Sato T, Shimizu S, Kanetaka H, Hanyu H. Sarcopenia and muscle functions at various stages of Alzheimer disease. *Front Neurol.* 2018;9:710.

83. Soto ME, Secher M, Gillette-Guyonnet S, van Kan GA, Andrieu S, Nourhashemi F, vd. Weight loss and rapid cognitive decline in community-dwelling patients with Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease*. 2012;28(3):647-54.
84. Keller K, Engelhardt M. Strength and muscle mass loss with aging process. Age and strength loss. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2014;3(4):346.
85. Volpi E, Nazemi R, Fujita S. Muscle tissue changes with aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2004;7(4):405-10.
86. Searle SD, Rockwood K. Frailty and the risk of cognitive impairment. *Alzheimers Res Ther*. 2015;7:1-6.
87. Ganmore I, Elkayam I, Ravona-Springer R, Lin HM, Liu X, Plotnik M, vd. Deterioration in motor function over time in older adults with type 2 diabetes is associated with accelerated cognitive decline. *Endocrine Practice*. 2020;26(10):1143-52.
88. Yu L, Boyle PA, Leurgans SE, Wilson RS, Bennett DA, Buchman AS. Incident mobility disability, mild cognitive impairment, and mortality in community-dwelling older adults. *Neuroepidemiology*. 2019;53(1-2):55-62.
89. Boyle PA, Buchman AS, Wilson RS, Leurgans SE, Bennett DA. Association of muscle strength with the risk of Alzheimer disease and the rate of cognitive decline in community-dwelling older persons. *Arch Neurol*. 2009;66(11):1339-44.
90. Scisciola L, Fontanella RA, Surina, Cataldo V, Paolisso G, Barbieri M. Sarcopenia and cognitive function: role of myokines in muscle brain cross-talk. *Life*. 2021;11(2):173.
91. Kim S, Choi JY, Moon S, Park DH, Kwak HB, Kang JH. Roles of myokines in exercise-induced improvement of neuropsychiatric function. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2019;471:491-505.
92. Voss MW, Weng TB, Burzynska AZ, Wong CN, Cooke GE, Clark R, vd. Fitness, but not physical activity, is related to functional integrity of brain networks associated with aging. *Neuroimage*. 2016;131:113-25.
93. Voss MW, Erickson KI, Prakash RS, Chaddock L, Kim JS, Alves H, vd. Neurobiological markers of exercise-related brain plasticity in older adults. *Brain Behav Immun*. 2013;28:90-9.
94. Plassman BL, Williams Jr JW, Burke JR, Holsinger T, Benjamin S. Systematic review: factors associated with risk for and possible prevention of cognitive decline in later life. *Ann Intern Med*. 2010;153(3):182-93.
95. Persad CC, Jones JL, Ashton-Miller JA, Alexander NB, Giordani B. Executive function and gait in older adults with cognitive impairment. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008;63(12):1350-5.
96. Tessier AJ, Wing SS, Rahme E, Morais JA, Chevalier S. Association of low muscle mass with cognitive function during a 3-year follow-up among adults aged 65 to 86 years in the Canadian longitudinal study on aging. *JAMA Netw Open*. 2022;5(7):e2219926-e2219926.
97. Beeri MS, Leurgans SE, Delbono O, Bennett DA, Buchman AS. Sarcopenia is associated with incident Alzheimer's dementia, mild cognitive impairment, and cognitive decline. *J Am Geriatr Soc*. 2021;69(7):1826-35.

98. Hunter GR, Singh H, Carter SJ, Bryan DR, Fisher G. Sarcopenia and its implications for metabolic health. *J Obes.* 2019;2019(1):8031705.
99. F Monteiro-Cardoso V, Castro M, Oliveira MM, I Moreira P, Peixoto F, A Videira R. Age-dependent biochemical dysfunction in skeletal muscle of triple-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.* 2015;12(2):100-15.
100. Wei Z, Koya J, Reznik SE. Insulin resistance exacerbates Alzheimer disease via multiple mechanisms. *Front Neurosci.* 2021;15:687157.
101. Llorens-Maritín M, Jurado J, Hernández F, Ávila J. GSK-3 β , a pivotal kinase in Alzheimer disease. *Front Mol Neurosci.* 2014;7:46.
102. Consitt LA, Dudley C, Saxena G. Impact of endurance and resistance training on skeletal muscle glucose metabolism in older adults. *Nutrients.* 2019;11(11):2636.
103. Hamilton LK, M'Bra PEH, Mailloux S, Galoppin M, Aumont A, Fernandes KJL. Central inhibition of stearyl-CoA desaturase has minimal effects on the peripheral metabolic symptoms of the 3xTg Alzheimer's disease mouse model. *Sci Rep.* 2024;14(1):7742.
104. Xu H, Bhaskaran S, Piekarz KM, Ranjit R, Bian J, Kneis P, vd. Age related changes in muscle mass and force generation in the triple transgenic (3xTgAD) mouse model of Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci.* 2022;14:876816.
105. Swerdlow RH, Burns JM, Khan SM. The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2010;20(s2):S265-79.
106. Cenini G, Voos W. Mitochondria as potential targets in Alzheimer disease therapy: an update. *Front Pharmacol.* 2019;10:902.
107. Misrani A, Tabassum S, Yang L. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci.* 2021;13:617588.
108. Stock D, Gibbons C, Arechaga I, Leslie AGW, Walker JE. The rotary mechanism of ATP synthase. *Curr Opin Struct Biol.* 2000;10(6):672-9.
109. Wei W, Jiang Y, Hu G, He Y, Chen H. Recent advances of mitochondrial alterations in Alzheimer's disease: a perspective of mitochondrial basic events. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2024;101(2):379-96.
110. Yadav M, Dahiya M, Dagar J, Singh N, Sharma N, Rawat N, vd. Role of mitochondria in brain functions and related disorders. *Explor Med.* 2022;3(5):494-515.
111. Kim DK, Mook-Jung I. The role of cell type-specific mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *BMB Rep.* 2019;52(12):679.
112. Peng Y, Gao P, Shi L, Chen L, Liu J, Long J. Central and peripheral metabolic defects contribute to the pathogenesis of Alzheimer's disease: targeting mitochondria for diagnosis and prevention. *Antioxid Redox Signal.* 2020;32(16):1188-236.
113. Swerdlow RH, Burns JM, Khan SM. The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis: progress and perspectives. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease.* 2014;1842(8):1219-31.

114. Swerdlow RH, Khan SM. A “mitochondrial cascade hypothesis” for sporadic Alzheimer’s disease. *Med Hypotheses*. 2004;63(1):8-20.
115. Rhein V, Song X, Wiesner A, Ittner LM, Baysang G, Meier F, vd. Amyloid- β and tau synergistically impair the oxidative phosphorylation system in triple transgenic Alzheimer’s disease mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(47):20057-62.
116. Moreira PI, Santos MS, Oliveira CR. Alzheimer’s disease: a lesson from mitochondrial dysfunction. *Antioxid Redox Signal*. 2007;9(10):1621-30.
117. Hauptmann S, Scherping I, Dröse S, Brandt U, Schulz KL, Jendrach M, vd. Mitochondrial dysfunction: an early event in Alzheimer pathology accumulates with age in AD transgenic mice. *Neurobiol Aging*. 2009;30(10):1574-86.
118. Nicholls DG. Mitochondria and calcium signaling. *Cell Calcium*. 2005;38(3-4):311-7.
119. Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*. 2006;443(7113):787-95.
120. Zhu X, Perry G, Smith MA, Wang X. Abnormal mitochondrial dynamics in the pathogenesis of Alzheimer’s disease. *Journal of Alzheimer’s disease*. 2012;33(s1):S253-62.
121. Mattson MP, Gleichmann M, Cheng A. Mitochondria in neuroplasticity and neurological disorders. *Neuron*. 2008;60(5):748-66.
122. Reddy PH. Mitochondrial dysfunction in aging and Alzheimer’s disease: strategies to protect neurons. *Antioxid Redox Signal*. 2007;9(10):1647-58.
123. Caspersen C, Wang N, Yao J, Sosunov A, Chen X, Lustbader JW, vd. Mitochondrial A β : a potential focal point for neuronal metabolic dysfunction in Alzheimer’s disease. *The FASEB Journal*. 2005;19(14):2040-1.
124. Santos RX, Correia SC, Wang X, Perry G, Smith MA, Moreira PI, vd. Alzheimer’s disease: diverse aspects of mitochondrial malfunctioning. *Int J Clin Exp Pathol*. 2010;3(6):570.
125. Lynch GS, Schertzer JD, Ryall JG. Therapeutic approaches for muscle wasting disorders. *Pharmacol Ther*. 2007;113(3):461-87.
126. Combaret L, Dardevet D, Béchet D, Taillandier D, Mosoni L, Attaix D. Skeletal muscle proteolysis in aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2009;12(1):37-41.
127. Conboy IM, Conboy MJ, Smythe GM, Rando TA. Notch-mediated restoration of regenerative potential to aged muscle. *Science (1979)*. 2003;302(5650):1575-7.
128. Walrand S, Zangarelli A, Guillet C, Salles J, Soulier K, Giraudet C, vd. Effect of fast dietary proteins on muscle protein synthesis rate and muscle strength in ad libitum-fed and energy-restricted old rats. *British journal of nutrition*. 2011;106(11):1683-90.
129. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, vd. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer’s disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer’s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer’s disease. *Alzheimer’s & dementia*. 2011;7(3):280-92.
130. Petersen RC, Lopez O, Armstrong MJ, Getchius TSD, Ganguli M, Gloss D, vd. Practice guideline update summary: Mild cognitive impairment: Report of the Guideline Development,

- Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2018;90(3):126.
131. De Wilde MC, Overk CR, Sijben JW, Masliah E. Meta-analysis of synaptic pathology in Alzheimer's disease reveals selective molecular vesicular machinery vulnerability. *Alzheimer's & dementia*. 2016;12(6):633-44.
 132. Czech C, Berndt P, Busch K, Schmitz O, Wiemer J, Most V, vd. Metabolite profiling of Alzheimer's disease cerebrospinal fluid. *PLoS One*. 2012;7(2):e31501.
 133. de Wilde MC, Vellas B, Girault E, Yavuz AC, Sijben JW. Lower brain and blood nutrient status in Alzheimer's disease: Results from meta-analyses. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*. 2017;3(3):416-31.
 134. Whiley L, Sen A, Heaton J, Proitsi P, García-Gómez D, Leung R, vd. Evidence of altered phosphatidylcholine metabolism in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2014;35(2):271-8.
 135. Javaid S, Farooq T, Rehman Z, Afzal A, Ashraf W, Rasool MF, vd. Dynamics of choline-containing phospholipids in traumatic brain injury and associated comorbidities. *Int J Mol Sci*. 2021;22(21):11313.
 136. Fagone P, Jackowski S. Phosphatidylcholine and the CDP-choline cycle. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2013;1831(3):523-32.
 137. Wurtman RJ. Synapse formation in the brain can be enhanced by co-administering three specific nutrients. *Eur J Pharmacol*. 2017;817:20-1.
 138. Cieślak M, Wojtczak A. Role of purinergic receptors in the Alzheimer's disease. *Purinergic Signal*. 2018;14(4):331-44.
 139. Marcucci H, Paoletti L, Jackowski S, Banchio C. Phosphatidylcholine biosynthesis during neuronal differentiation and its role in cell fate determination. *Journal of biological chemistry*. 2010;285(33):25382-93.
 140. da Silva SL, Vellas B, Elemans S, Luchsinger J, Kamphuis P, Yaffe K, vd. Plasma nutrient status of patients with Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis. *Alzheimer's & Dementia*. 2014;10(4):485-502.
 141. Olde Rikkert MGM, Verhey FR, Sijben JWC, Bouwman FH, Dautzenberg PLJ, Lansink M, vd. Differences in nutritional status between very mild Alzheimer's disease patients and healthy controls. *Journal of Alzheimer's disease*. 2014;41(1):261-71.
 142. Nurk E, Refsum H, Bjelland I, Drevon CA, Tell GS, Ueland PM, vd. Plasma free choline, betaine and cognitive performance: the Hordaland Health Study. *British Journal of Nutrition*. 2013;109(3):511-9.
 143. van Wijk N, Slot RER, Duits FH, Strik M, Biesheuvel E, Sijben JWC, vd. Nutrients required for phospholipid synthesis are lower in blood and cerebrospinal fluid in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease dementia. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2017;8:139-46.
 144. Selley ML. A metabolic link between S-adenosylhomocysteine and polyunsaturated fatty acid metabolism in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2007;28(12):1834-9.

145. Sastry PS. Lipids of nervous tissue: composition and metabolism. *Prog Lipid Res.* 1985;24(2):69-176.
146. Heras-Sandoval D, Pedraza-Chaverri J, Pérez-Rojas JM. Role of docosahexaenoic acid in the modulation of glial cells in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation.* 2016;13:1-13.
147. Wurtman RJ, Cansev M, Sakamoto T, Ulus IH. Use of phosphatide precursors to promote synaptogenesis. *Annu Rev Nutr.* 2009;29(1):59-87.
148. van Wijk N, Broersen LM, de Wilde MC, Hageman RJJ, Groenendijk M, Sijben JWC, vd. Targeting synaptic dysfunction in Alzheimer's disease by administering a specific nutrient combination. *Journal of Alzheimer's disease.* 2013;38(3):459-79.
149. Savelkoul P, Merkes M, Kuipers A, Hageman R, Broersen L, Kamphuis P. Multi-nutrient supplementation induces changes in synaptic protein expression. *Alzheimer's and Dementia.* 2011;7(4):7.
150. de Wilde MC, Penke B, van der Beek EM, Kuipers AAM, Kamphuis PJ, Broersen LM. Neuroprotective effects of a specific multi-nutrient intervention against A β 42-induced toxicity in rats. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2011;27(2):327-39.
151. Xu D, Lu Y, Yang X, Pan D, Wang Y, Yin S, vd. Effects of fish oil-derived n-3 polyunsaturated fatty acid on body composition, muscle strength and physical performance in older people: a secondary analysis of a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Age Ageing.* 2022;51(12):afac274.
152. Pan JX, Lee D, Sun D, Zhao K, Xiong L, Guo HH, vd. Muscular Swedish mutant APP-to-Brain axis in the development of Alzheimer's disease. *Cell Death Dis.* 2022;13(11):952.
153. Castillo-Mariqueo L, Pérez-García MJ, Giménez-Llort L. Modeling functional limitations, gait impairments, and muscle pathology in alzheimer's disease: Studies in the 3xtg-ad mice. *Biomedicines.* 2021;9(10):1365.
154. Mikołajczyk-Stecyna J, Zuk E, Chmurzynska A, Błatkiewicz M, Jopek K, Rucinski M. The effects of exposure to and timing of a choline-deficient diet during pregnancy and early postnatal life on the skeletal muscle transcriptome of the offspring. *Clinical Nutrition.* 2024;43(6):1503-15.
155. Komiya Y, Kobayashi C, Uchida N, Otsu S, Tanio T, Yokoyama I, vd. Effect of dietary fish oil intake on ubiquitin ligase expression during muscle atrophy induced by sciatic nerve denervation in mice. *Animal Science Journal.* 2019;90(8):1018-25.
156. Wang X, Xiao R, Li H, Li T, Guan L, Ding H, vd. Correlation between mild cognitive impairment and sarcopenia: the prospective role of lipids and basal metabolic rate in the link. *Nutrients.* 2022;14(24):5321.
157. Aisyah R, Ohshima N, Watanabe D, Nakagawa Y, Sakuma T, Nitschke F, vd. GDE5/Gpcpd1 activity determines phosphatidylcholine composition in skeletal muscle and regulates contractile force in mice. *Commun Biol.* 2024;7(1):604.
158. Taylor A, Schenkel LC, Yokich M, Bakovic M. Adaptations to excess choline in insulin resistant and Pcyt2 deficient skeletal muscle. *Biochemistry and Cell Biology.* 2017;95(2):223-31.

159. Deval C, Capel F, Laillet B, Polge C, Béchet D, Taillandier D, vd. Docosahexaenoic acid-supplementation prior to fasting prevents muscle atrophy in mice. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2016;7(5):587-603.
160. Schuh RA, Jackson KC, Schlappal AE, Spangenburg EE, Ward CW, Park JH, vd. Mitochondrial oxygen consumption deficits in skeletal muscle isolated from an Alzheimer's disease-relevant murine model. *BMC Neurosci*. 2014;15:1-12.
161. Tian Q, Bilgel M, Walker KA, Moghekar AR, Fishbein KW, Spencer RG, vd. Skeletal muscle mitochondrial function predicts cognitive impairment and is associated with biomarkers of Alzheimer's disease and neurodegeneration. *Alzheimer's & Dementia*. 2023;19(10):4436-45.



8 EKLER

EK 1. Etik Kurul Onayı



EK 1. Etik Kurul Onayı (devam)



9 ÖZGEÇMİŞ



