

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Fizyoloji Anabilim Dalı**

**D- GALAKTOZ VE ALÜMİNYUMLA ALZHEİMER HASTALIĞI
MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA VİNPOSETİNİN
ÖĞRENME ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Hazırlayan
Seda GÜNDÜZ**

**Danışman
Prof. Dr. Nazan DOLU**

Yüksek Lisans Tezi

**Temmuz 2014
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Fizyoloji Anabilim Dalı**

**D- GALAKTOZ VE ALÜMİNYUMLA ALZHEİMER HASTALIĞI
MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA VİNPOSETİNİN
ÖĞRENME ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Hazırlayan
Seda GÜNDÜZ**

**Danışman
Prof. Dr. Nazan DOLU**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TYL-203-4227 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Temmuz 2014
KAYSERİ**

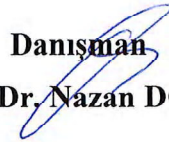
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“D- Galaktoz Ve Alüminyumla Alzheimer Hastalığı Modeli Oluşturulan Ratlarda Vinpocetin Öğrenme Üzerine Etkileri” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Seda GÜNDÜZ



Danışman
Prof. Dr. Nazan DOLU



Anabilim Dalı Başkanı
Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ



Prof. Dr. Nazan DOLU danışmanlığında **Seda GÜNDÜZ** tarafından hazırlanan “**D-Galaktoz Ve Alüminyumla Alzheimer Hastalığı Modeli Oluşturulan Ratlarda Vinpocetin Öğrenme Üzerine Etkileri**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji Anabilim Dalı**’nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

...../...../2014

JÜRİ

İmza

Danışman : Prof. Dr. Nazan DOLU (Fizyoloji Anabilim Dalı)



Üye : Prof. Dr. Meral AŞCIOĞLU (Fizyoloji Anabilim Dalı)

Üye : Doç. Dr. M. Fatih SÖNMEZ (Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı)



ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bilgi, öneri ve deneyimleriyle katkıda bulunan, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam ve tez yöneticim Prof. Dr. Nazan DOLU'ya, ders ve tez döneminde bilgilerini benimle paylaşan Fizyoloji Anabilim Dalındaki değerli hocalarıma, deney aşamasında yardım aldığım DEKAM çalışanlarına, yardımlarını esirgemeyen bölüm arkadaşlarıma ve Bozok Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO'daki öğretim görevlisi meslektaşlarıma, her zaman yanımda olan canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

Seda GÜNDÜZ

Kayseri, Temmuz 2014

D- GALAKTOZ VE ALÜMİNYUMLA ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA VİNPOSETİNİN ÖĞRENME ÜZERİNE ETKİLERİ

Seda GÜNDÜZ

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Fizyoloji Anabilim Dalı**

Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2014

Danışman: Prof. Dr. Nazan DOLU

ÖZET

Alzheimer hastalığı, bilişsel fonksiyonlarda ve davranışlarda ilerleyici bozukluk ile karakterize yaygın nörodejeneratif bir hastalıktır. Alzheimer hastalığına yönelik radikal bir tedavi henüz bulunamadığından bu konuyla ilgili deneysel hayvan modelleriyle yapılan bilimsel araştırmalar daha önemli hale gelmiştir. Çalışmamızda, nöroprotektif ve vazodilatör etkileri olan vinposetin, D-galaktoz ve AlCl₃ ile deneysel Alzheimer modeli oluşturulan sıçanlarda iyileştirici etkisinin olup olmadığı Morris su tankında öğrenme deneyleri ile araştırıldı.

Çalışmamızda 44 adet 14 aylık sıçan rastgele bölüştürülerek (Kontrol (K) = 10, Alzheimer hastalığı oluşturulan (AH) = 20, Alzheimer hastalığı oluşturulan + Vinposetin uygulanan (AH+V) = 7 ve Vinposetin uygulanan (V) = 7) 4 grup oluşturuldu. Kontrol grubuna serum fizyolojik, AH grubuna D-galaktoz: 90 mg/kg/gün ve AlCl₃: 40 mg/kg/gün dozda intraperitoneal (i.p) yolla 6 hafta uygulandı. AH+V grubuna D-galaktoz: 90 mg/kg/gün ve AlCl₃: 40 mg/kg/gün 6 hafta uygulandıktan sonra 17 gün süreyle 5 mg/kg/gün vinposetin, V grubuna ise 17 gün 5 mg/kg/gün i.p yolla vinposetin uygulandı. Enjeksiyon süresi sonrasında sıçanlarda Morris su tankı deneyleri ile öğrenme test edildi. 1.gün alıştırma 2-3-4. gün öğrenme ve 5. gün test aşaması olarak değerlendirildi.

Öğrenmenin değerlendirilmesinde kaçış platformunu bulma süreleri ve hedef kadranda geçirilen süre istatistiksel olarak analiz edildiğinde, ilk 4 gün gruplar arasında anlamlı fark bulunamazken, hedef kadranda geçirilen sürenin test edildiği 5. günde AH, AH+V ve V grubunun hedef kadranda geçirdikleri süre kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p<0.006, p<0.034, p<0.043). AH+V ve V grupları arasında öğrenme parametrelerinde istatistiksel farklılık gözlenmedi.

Deney sonunda sıçanların beyin dokuları çıkarılarak histolojik açıdan incelendi. Deney grubunda senil plakların görülmesi kurulan modeli desteklemiştir. Sonuç olarak, çalışmamızda kullanılan vinposetin dozunun Alzheimerlı sıçanların öğrenme fonksiyonlarında iyileştirici etkisinin olmadığı ve daha yüksek vinposetin dozlarında ileri çalışmalara ihtiyaç bulunduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Alzheimer hastalığı, Morris su tankı, Vinposetin, Sıçan

THE EFFECT OF VINPOCETINE ON LEARNING IN D-GALACTOSE AND ALUMINIUM INDUCED ALZHEIMER DISEASE MODEL IN RATS

Seda GÜNDÜZ

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Physiology

Master Thesis, July 2014

Supervisor: Prof. Dr. Nazan DOLU

ABSTRACT

Alzheimer's disease is a disease of widespread neurodegenerative characterized in cognitive functions and behaviors with progressive disorder. For the reason that a radical treatment for Alzheimer's disease can not be found yet, the scientific researches with animal models have become more important on this issue. In our study, vinpocetine which has neuroprotective and vasodilatory effects was investigated on rats with experimental Alzheimer's model whether it has curative effect or not in Morris water maze learning experiments with D-galactose and $AlCl_3$.

In our study, 44 of 14 month rats were partitioned randomly and generated 4 groups (Control (C) = 10, Alzheimer's disease (AD) = 20, Alzheimer's disease + Vinpocetine (AD + V) = 7 and Vinpocetine (V) = 7). Physiological saline was injected to C group and intraperitoneally (i.p) to AD group with D-galactose:90 mg / kg / day and $AlCl_3$: 40 mg / kg /day for 6 weeks. 5 mg / kg / day vinpocetine was injected V and AD+V groups for 17 days after injection of D-galactose: 90 mg / kg / day and $AlCl_3$: 40 mg / kg / day for 6 weeks as i.p. The learning of rats were tested with Morris water maze learning experiments end of the injection period. 1st day was rated training, 2nd, 3th and 4th days learning and 5th day test phase.

There was no significant difference between the groups at the first 4 days when finding of escape platform duration and the time spent in the target quadrant was analyzed statistically on the evaluation of learning. But, the time spent in the target quadrant of AD, AD+V and groups was discovered less than the control group significantly in the target quadrant of time spent tested on day 5 ($p < 0.006$, $p < 0.034$, $p < 0.043$). The statistical difference was observed on learning parameters between AD+V and V groups.

Rats brain tissues were extracted and examined histologically at the end of experiment. The created model was supported with senile plaques seen in the experimental group. In conclusion, dose of vinpocetine used in the study there is no healing effect on the learning function of the rats with Alzheimer's. Higher doses of vinpocetine are needed in further studies.

Key Words: Alzheimer's disease, Morris water maze, Vinpocetine, Rat

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLO ŞEKİL VE GRAFİK LİSTESİ	x
KISALTMALAR	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. ALZHEİMER HASTALIĞI	3
2.1.1. Alzheimer Hastalığının Tanımı.....	3
2.1.2. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi	4
2.1.3. Alzheimer Hastalığının Belirtileri ve Evreleri	4
2.1.4. Alzheimer Hastalığının Patolojisi	6
2.1.5. Alzheimer Hastalığının Tanı ve Tedavisi	9
2.1.5.1. Alzheimer Tedavisinde Kullanılan Antikolinergik İlaçlar	9
2.1.5.2. Alzheimer Tedavisinde Kullanılan Glutamat Antagonistleri.10	
2.1.5.3. Alzheimer Hastalığında Kullanılan Diğer Tedaviler.....	10
2.1.5.4. Psikolojik Semptomların Tedavisi	11
2.2. ALZHEİMER HAYVAN MODELLERİ	11
2.2.1. Alüminyum İntoksikasyonu ile Oluşturulan Alzheimer Modeli	12
2.2.2. Transgenik Alzheimer Modelleri.....	12
2.2.3. Amiloid Beta ile İlişkili Alzheimer Modelleri	12
2.2.4. Streptozotosin ile Oluşturulan Alzheimer Modelleri.....	13
2.2.5. D-Galaktoz ile Oluşturulan Alzheimer Modelleri	13
2.2.6. NFY ile İlişkili Alzheimer Modelleri	13
2.2.7. Alüminyum ve D-Galaktoz ile Oluşturulan Alzheimer Modelleri.....	14
2.3. VİNPOSETİN	14

2.4. ÖĞRENME HAYVAN MODELLERİ	15
2.4.1. T Labirent Testi.....	16
2.4.2. Y Labirent Testi.....	16
2.4.3. Açık Alan Testi	16
2.4.4. Barnes Labirenti.	17
2.4.5. Morris Su Tankı.....	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.	19
3.1. Deney Hayvanları Ve Laboratuar Şartları	19
3.2. Çalışma Dizaynı Ve Deney Protokolü.....	19
3.3. Deney Grupları Ve Uygulanan Maddeler	20
3.4. Mwm İle Öğrenme Parametrelerinin Tayini	22
3.5. Histolojik Değerlendirme.....	23
3.6. İstatiksel Değerlendirme	23
4.BULGULAR	24
4.1. Genel Görünüm.....	24
4.2. Ağırlık Değişimi	24
4.3. Morris Water Maze Testi Sonuçları.....	25
4.4. Histolojik Değerlendirme Sonuçları	34
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	36
6.KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO, ŞEKİL VE RESİMLER LİSTESİ

Tablo 2.1. Alzheimer Hastalığının Klinik Evreleri	5
Tablo 3.1. Gruplar ve Uygulanan maddeler.....	20
Tablo 4.1. Kontrol ve deney grubu hayvanların haftalık ağırlık değişimleri.....	25
Tablo 4.2. Grupların platformu bulma ortalamaları ve istatistiksel karşılaştırmaları ...	26
Tablo 4.3. Grupların 5. günde hedef kadranda geçirdikleri süre ve istatistiksel karşılaştırmaları	27
Şekil 2.1. Amiloid Plaklar.....	7
Şekil 2.2. Nörofibriler Yumaklar	8
Şekil 2.3. Vinposetin Kimyasal Yapısı.....	14
Şekil 2.4. T labirenti	15
Şekil 2.5. Y labirenti.....	16
Şekil 2.6. Açık alan testi	17
Şekil 2.7. Barnes labirenti	18
Şekil 2.8. Morris su tankı.....	18
Şekil 3.1. Morris su tankının genel bir görünümü.....	22
Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait histolojik sonuçlar	28
Şekil 4.2. AH grubuna ait histolojik sonuçlar	29
Şekil 4.3. AH+V grubuna ait histolojik sonuçlar	30
Şekil 4.4. Sadece vinposetin alan gruba ait histolojik sonuçlar	30
Şekil 4.5. Kontrol grubuna ait beyin dokusu	31
Şekil 4.6. AH grubuna ait beyin dokusu.....	32
Şekil 4.7. AH+V grubuna ait beyin dokusu.....	32
Şekil 4.8. V grubuna ait beyin dokusu.....	33
Resim 3.1. İntraperitoneal enjeksiyon uygulamasının yakından görünümü.....	21

KISALTMALAR

AH	: Alzheimer hastalığı
NFY	: Nörofibriler yumaklar
AP	: Amiloid plaklar
NFs	: Nörofil iplikçikleri
A α	: Amiloid alfa
A β	: Amiloid beta
ACh	: Asetilkolin
CAT	: Kolinasetiltransferaz
BT	: Bilgisayarlı tomografi
MR	: Manyetik rezonans
PET	: Pozitron emisyon tomografi
SPECT	: Foton emisyon tomografi
Ca ⁺²	: Kalsiyum
NMDA	: N-metil-D-aspartik asit
SSRI	: Selektif serotonin geri alım inhibitörü
Apo-E	: Apolipoprotein E
CA1	: CA1 piramidal hücreleri
STZ	: Streptozotosin
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
D-gal	: D-Galaktoz
i.p	: İntraperitoneal
i.c.v	: İntraserebroventriküler
AlCl ₃	: Alüminyum klorür
Na	: Sodyum
MWM	: Morris su tankı
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NFT	: Nörofilament kümeleri
Al	: Alüminyum
ROS	: Reaktif oksijen türleri
cAMP	: Siklik Adenozin Mono Fosfat
cGMP	: Siklik Guanin Mono Fosfat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer hastalığı nöron hasarına neden olarak bellek, konuşma ve davranış bozukluklarına yol açan bir hastalıktır. Özellikle yaşlı nüfusun artmasıyla birlikte Alzheimer hastası sayısının artması hastalığı, toplumsal bir sorun haline getirmiştir. Tanının geç konulması, hastalığı iyileştirici bir tedavinin olmaması, bakımının yük oluşturması ve maliyetinin yüksek olması da konuya önem kazandırmaktadır.

Alzheimer hastalığına yönelik radikal bir tedavi henüz bulunamadığından bu konuyla ilgili deneysel hayvan modelleriyle yapılan bilimsel araştırmalar da daha önemli hale gelmiştir (1).

Alzheimer hastalığıyla ilgili birçok model olmakla birlikte bu modellerin hiçbirisi hastalıkta gözlenen histolojik, biyokimyasal, kognitif bozuklukları tam anlamıyla yansıtamamaktadır. Bu nedenle tedavi denemelerinden önce ideal bir Alzheimer hastalığı modeli geliştirilmesi çok büyük öneme sahiptir.

Çalışmamızda öncelikle yakın tarihlerde yapılmış olan D-galaktoz ve $AlCl_3$ 'ün birlikte uygulanarak oluşturulduğu Alzheimer modelini farklı doz, gün ve veriliş yollarıyla deneyerek ideal bir Alzheimer modeli oluşturmak amaçlanmıştır. Ayrıca sonrasında oluşan nöron hasarına yönelik, bu hasarı tedavi edebilmek için vinposetin kullanılmıştır. Vinposetin; antioksidan, nöroprotektif ve vazodilatör etkileri olan güçlü bir fosfodiesteraz enzim inhibitörüdür. Vinposetin Alzheimer hastalığını iyileştirici etkisi, etkili doz ve uygulama süresi konusunda yapılan çalışmalar incelendiğinde, sonuçlar çelişkilidir. Çalışmamızda vinposetin Alzheimer hastalığına yönelik iyileştirici etkisi olup olmadığı Morris su tankında öğrenme deneyleri ile araştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ALZHEİMER HASTALIĞI

2.1.1. Alzheimer Hastalığının Tanımı

Alzheimer hastalığı bilişsel fonksiyonlarda ve davranışlarda ilerleyici bozukluk ile karakterize, en yaygın demans türüdür (1). “Demans”, etimolojik olarak Latince zihin anlamına gelen “mens” kelimesinden türemiş olan zihnin yitirilmesi anlamındaki “demens” sözcüğünden kaynaklanır. Latince’deki kullanım biçimiyle “varolan, edinilmiş ve yerleşmiş olan zihnin, sonradan yitirilmesi” anlamını taşımaktadır (2). Alzheimer Hastalığı (AH), tüm demansların % 50-70’ini oluşturmaktadır Özellikle yaşlı nüfusun artmasıyla birlikte tüm dünya da toplumsal bir sağlık sorunu haline gelmiş bir hastalıktır.

Alzheimer hastalığı, ilk kez 1907 yılında Alman psikiyatrist ve nöropatolog Dr. Alois Alzheimer tarafından tanımlanmıştır. İlerleyici demansla 4,5 yıl takip ettiği 51 yaşındaki bayan hastanın otopsi materyalinde şu anda senil plaklar olarak bilinen gümüş pozitif nörofibriler yumak, serebral kortikal nöron kaybı şeklindeki değişiklikleri göstermiştir (3).

Bununla birlikte AH; öğrenme, bellek, oryantasyon, dil fonksiyonları ile kişilik fonksiyonları gibi mental fonksiyonların bozulmasını kapsayan, sosyal hayatı ve iş hayatını etkileyen, merkezi sinir sisteminin progresif nörodejeneratif bir hastalıktır (4).

2.1.2. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi

Altmış beş yaş üzerindeki kişilerdeki AH prevalansı %10 civarındadır. Prevalans, yaş arttıkça yükselmekte ve 85 yaş üzerindekilerde %45'e ulaşmaktadır (5). Yaş en önemli risk faktörü olup hastalığın prevalansı, 65-85 yaşları arasında her beş sene bir iki katına çıkmaktadır. Aile öyküsünde hastalığın olması durumunda özellikle birinci derece akrabalarda risk dört kat artmaktadır (6).

AH görülme sıklığının, ülkeden ülkeye değişmekle birlikte, tüm dünyada arttığı bir gerçektir. Önümüzdeki 30-40 yıl içerisinde AH olan hasta sayısının 3 katına çıkacağı tahmin edilmektedir. ABD'de ölüm nedenleri arasında 4. sırada, yüksek maliyeti nedeniyle de 3. sırada yer almaktadır. ABD'de 4 milyon AH hastası olduğu tahmin edilmektedir (4, 7).

Ortalama yaşam süresinin uzamasına bağlı olarak AH'li hasta sayısının giderek artacağı bir gerçektir. ABD'de 2050 yılında 50 milyon AH'li hasta olacağı öngörülmektedir (8). İstanbul'un Kadıköy ilçesinde gerçekleştirilen Türkiye Alzheimer Hastalığı Prevalansı Çalışması'nda 70 yaş üzerindeki kişiler arasında AH prevalansının %11 olduğu saptanmıştır. Türkiye de prevalansla ilgili yapılmış çok fazla bir çalışma bulunmamaktadır ancak bu prevalans değerine göre Türkiye'de 250-300 bin AH'li hasta olduğu varsayılmaktadır (9).

2.1.3. Alzheimer Hastalığının Belirtileri ve Evreleri

AH kliniğinin en önemli özelliği sinsi başlayıp yavaş seyirli olmasıdır. İlk belirtiler ilgisizlik, isteksizlik ve unutkanlıktır (10). AH vakaların çoğunda yakın bellek bozukluğu ile başlar. Hastalığın ilerlemesi ile birlikte lisan, görsel-uzaysal fonksiyonlar, dikkat, yürütücü işlevler ve praksi (düşünsel/konseptüel bölüm) gibi kognitif fonksiyon bozuklukları ile günlük yaşam aktivitelerinde bozukluklar kliniğe eklenmektedir (11).

Hastalığın başlangıç evreleri de göz önüne alındığında AH klinik olarak presemptomatik dönem, preklinik dönem, erken şüpheli AH, hafif Alzheimer hastalığı, orta dönem AH, ağır dönem AH olarak altı gruba ayrılabilir (10). Başlangıç döneminden sonra AH'da klinik belirtilerin başında amnezi, afazi, apraksi ve agnozi gelmektedir. Klasik olarak AH, hafif, orta ve şiddetli olmak üzere üç evreye ayrılmaktadır (12-14). Tablo 2.1'de AH'nin klinik evreleri gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Alzheimer Hastalığının Klinik Evreleri

Fonksiyon	Evre I - Hafif	Evre II - Orta	Evre III - İleri
Dil	İsim bulmada güçlük	Duyusal afazi	İleri derecede bozukluk
Bellek	Unutkanlık	Uzak/Yakın	İleri Bozukluk
Soyut Düşünce	Bozuk	Bozuk	İleri Bozukluk
Vizio-spesiyal Algı	Hafif/Orta Bozukluk	Bozuk	İleri Bozukluk
Davranış	Aldırmazlık Yanılsamalar	Aldırmazlık Yanılsamalar	Agresyon Delüzyonlar Uykuya Meyil
Yürüyüş	Normal	Hafif dengesiz	Bozuk
Postür	Normal	Normal	Öne eğik/Yatalak

1- Erken evre

- İlerleyici günlük hayatı etkileyen unutkanlık
- Kelime bulmada güçlük, afazi
- Kişilik değişikliği
- Hesaplama zorlukları
- Eşyaları kaybetme, yerini karıştırma, uygunsuz yerlere koyma
- Soruların veya cümlelerin tekrarlanması
- Hafif oryantasyon bozukluğu

2- Orta evre

- Unutkanlıkta artış
- Afazide artış, uygunsuz kelimeler kullanma
- Temel günlük yaşam aktivitelerinde, öz bakımda bozulma
- Kişilik değişikliği
- Akrabaları, arkadaşları hatırlayamama
- İletişim kurmakta zorluklar
- Davranışsal ve psikiyatrik bozukluklar; ajitasyon, anlamsız gezinme, halüsinasyon gibi

3-İleri evre

- Beslenmede bağımlılık
- Üriner ve fekal inkontinans
- Mobilite problemleri, yatağa bağımlılık
- Konuşamama

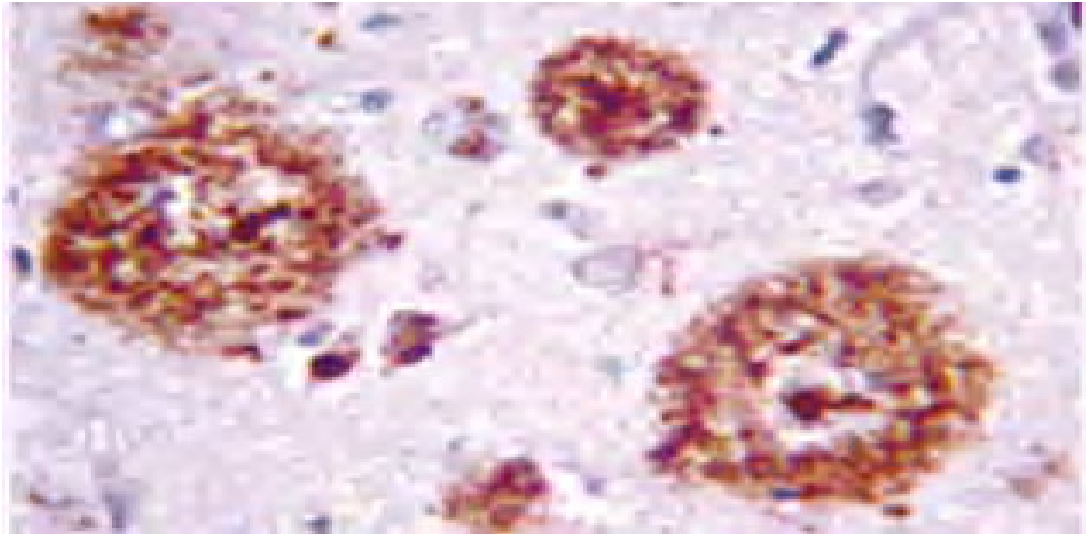
Hastalığın seyri 5-20 yıl, ortalama 9-10 yıl arasındadır (15). Hastalar bu süre içerisinde tüm bilişsel işlevlerini kaybederek, yatağa bağımlı, inkontinan ve çevreye cevapsız hale gelir (11). Yatak yarası enfeksiyonları, akciğer embolisi veya enfeksiyonu, üriner enfeksiyon, beslenme bozukluklarının yarattığı komplikasyonlar başlıca ölüm nedenlerini oluşturur (16).

2.1.4. Alzheimer Hastalığının Patolojisi

AH'nda makroskobik olarak; beyin atrofiye uğrayarak küçülmüş, sulkuslar genişlemiş, giruslar daralmıştır (15). Nöron içerisinde birikim gösteren **nörofibriler yumaklar (NFY)**, ekstraselüler birikim gösteren **amiloid plaklar (AP)** ve nöron kayıpları da hastalığın temel mikroskobik değişiklikleri olarak kabul edilmektedir (17).

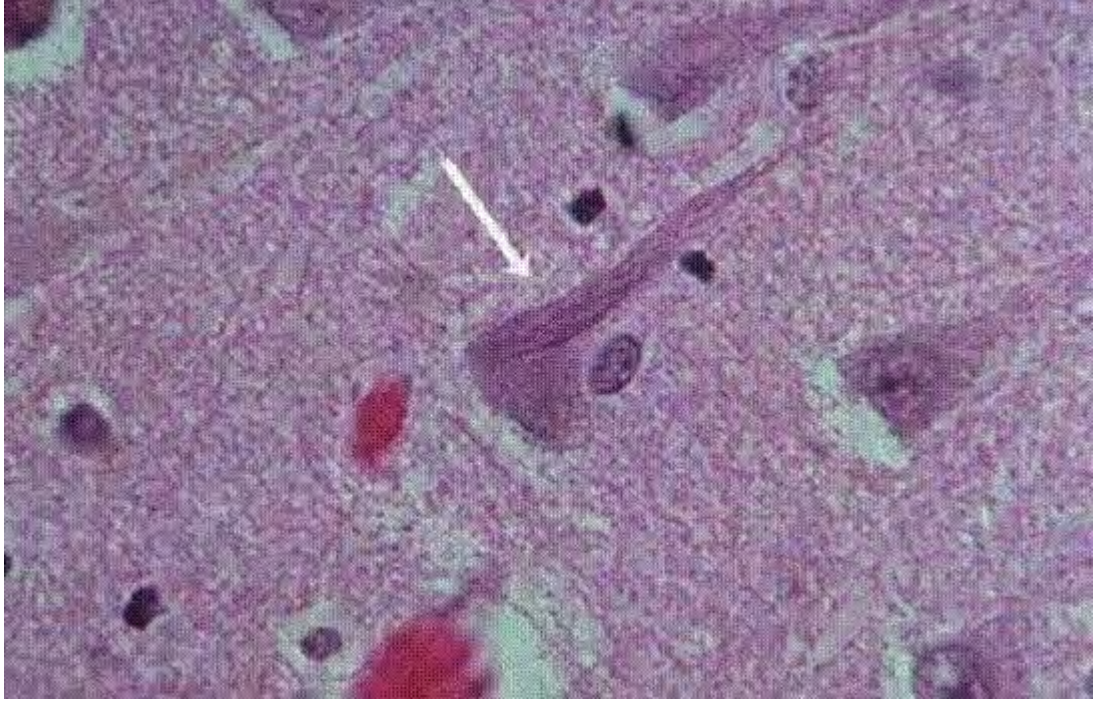
Amiloid plaklar (AP): Bu normal bir nöronal membran proteini olan amiloid prekürsör proteininden proteolitik yıkımla meydana gelen amiloid alfa (A α peptid) yapısında bir amiloiddir (18). Amiloid plakların, içerdikleri amiloid beta (A β) peptidinin yapısı ve toksisite potansiyeline göre bazı türleri vardır: diffüz, kompakt ve nöritik plak. Diffüz plaklar, toksik etkisi çok sınırlı olan ya da olmayan plaklardır. Pre-amiloid plaklar olarak kabul edilirler ve demansı olmayan yaşlı bireyler de sıklıkla bulunurlar. Diffüz plaklar çeşitli nedenlerle (inflamasyon, serbest radikallerin etkisi, oksidatif stres vs.)

kompakt plaklara dönüşebilirler. Kompakt plaklar toksik etkilidir ve nöron dejenerasyonuna yol açarlar. Nöritik plaklar, dejenere olmuş A β peptid içeren dentrit ve akson parçalarından oluşan ve çoğu nörofibriller yumak da içeren oluşumlardır. Hem kompakt hem de nöritik plaklar AH'li hastalarda yaygın olarak bulunur (12, 19). Plaklar (amiloid birikim ve/veya nörotik plaklar) hastalığın son evresinde bulunur. İlk amiloid birikimleri bazal neokorteksin myelinizasyonu az olan bölgelerinde oluşur. İntranöronal lezyonlar ilk olarak transentorhinal bölgede oluşur ve sıralı olarak diğer alanlara yayılır (20). Şekil 2.1'de amiloid plaklar gösterilmiştir (16).



Şekil 2.1. Alzheimer hastalığında beyin dokusunda oluşan amiloid plaklar

Nörofibriler yumaklar (NFY): NFY'lerin temel yapısını fosforilize tau proteinleri oluşturmaktadır. Tau, mikrotübüllere bağlıdır ve mikrotübüllerin stabilizasyonunda, hücre iskeletinin bütünlüğünün korunmasında, aksonal transportta önemli rol oynar (12, 19). Taunun hiperfosforilasyonunun, fosforilasyonu düzenleyen çeşitli kinazların ve fosfatazların aktiviteleri arasındaki dengesizlik sonucu gerçekleşebileceği ileri sürülmüştür (21). Hiperfosforile olan tau proteininin mikrotübüllerle etkileşiminin azalacağı ve hücre işlevlerinde bozukluk meydana gelebileceği bildirilmiştir (22). Elektron mikroskopik çalışmalarda; nörofibriler yumakların maksimum 20 nm çapında periyodik olarak her 80 nm'de 10 nm'ye daralan çiftli heliksel filamentlerden oluştuğu gösterilmiştir (18). Şekil 2.2' de nörofibriler yumak gösterilmiştir (16).



Şekil 2.2. Alzheimer hastalığında beyin dokusunda biriken nörofibriler yumak

Üçüncü major değişiklik distrofik nöritler ve nörofil iplikçikleri (NTs) olarak adlandırılan nöronal yapıların distorsiyonudur. Bu yapılar da benzer şekilde tau proteini içerir. Bir diğer major değişiklik serebral kortekste önce sinaps kaybı, daha sonraki aşamalarda ise nöron kaybıdır. Çoğu vakada leptomeninks, serebral ve serebellar kortekste arter ve arteriyol duvarlarında çeşitli derecelerde A β peptid yapısında amiloid birikimi ile karakterize kongofilik arteriyopati gözlenebilir (23).

Alzheimer hastalarında bazı nöromedyatörlerin ve özellikle normal fizyolojik koşullarda dikkati arttıran ve öğrenmeye yardım eden asetilkolinin (ACh) seviyelerinde değişiklikler meydana gelmektedir (24). Diğer nöromedyatörlerin düzeylerinde gözlenen farklılığın ACh düzeyindeki değişikliğe göre daha az olduğu bildirilmiştir (25).

Alzheimer hastalarında ACh sentezinde meydana gelen düşüşün kolinasetiltransferaz (CAT) enziminin miktar ve işlevlerinin ve kolin geri alımının azalmasına, kolinerjik nöron ve aksonlarda oluşan hasarlara, korteks ve hipokampusa projekte olan kolinerjik nöronlarda meydana gelen kayıplara bağlı olduğu rapor edilmiştir.

2.1.5. Alzheimer Hastalığının Tanı ve Tedavisi

Kesin tanı ancak ilerleyici demans bulguları olan vakalarda biyopsi ya da otopsi ile AH'na özgü patolojik bulguların saptanması ile konulabilmesine rağmen; klinik kriterler ve laboratuvar teknikleri ile olası AH tanısına varılabilmektedir (10). Ancak otopsi veya beyin biyopsisi olmadan tanı konma zorunluluğu olması kliniklerde tanıyı zorlaştırmaktadır. Bu sebeple hastalık için tanı kriterleri geliştirilmiştir.

Diagnostic and Statical Manual of Mental Disorder – IV kriterlerine göre Alzheimer tipi demans:

1. Birden çok alanda kognitif kayıp gelişmesi

a. Bellek bozuklukları

b. Aşağıdakilerden en az birinin bulunması:

Afazi - apraksi - agnozi - planlama, organizasyon, sıralama gibi yönetsel fonksiyonlarda bozulma

2. Yavaş, ilerleyici kognitif ve fonksiyonel gerileme ile giden seyir

3. Hastanın sosyal ve mesleki yaşantısını etkileyecek ve eski yaşantısında gerilemeye yol açacak kayıp

4. Diğer demans nedenleri ekarte edilmiş olmalı (tıbbi, nörolojik, psikiyatrik) (26).

Başka olası nedenleri dışlayabilmek ve Alzheimer tipi demansı diğer beyin patolojilerinden ayırabilmek amacıyla bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans (MR) görüntüleme, pozitron emisyon tomografi (PET) ya da tek foton emisyon tomografi(SPECT) gibi çeşitli görüntüleme yöntemlerinden yararlanılmaktadır (27).

AH'nin kesin tedavisi yoktur. Günümüzde kullanılan tedaviler hastalığın belirtilerini ortadan kaldırmaya yöneliktir. NFY ve AP oluşumunu engelleyen ya da var olanları ortadan kaldıran tedavi uygulaması bulunmamaktadır (28). Günümüzde Alzheimer hastalığına ilişkin bilişsel işlev bozukluğunun tedavisi için kullanılan ilaçlar iki temel mekanizma ile etki göstermektedirler. Bu ilaçlar ya Alzheimer hastalarının beyinlerinde zayıflamış olan kolinerjik nörotransmisyonu güçlendirmekte ya da artmış olan glutaminerjik nörotransmisyonu zayıflatmaktadır (29, 30).

2.1.5.1. Alzheimer Tedavisinde Kullanılan Antikolinerjik ilaçlar

Güncel tedavi, hastalık sürecinde kolinerjik innervasyon kaybı olması gerçeğinden hareket ederek, kolinerjik rezervin desteklenmesine dayanmaktadır. Bu amaca yönelik

olarak asetilkolinesteraz inhibitörleri (donepezil, rivastigmin ve galantamin) tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır (28).

Donepezil: Reversibl, non-kovalent kolinesteraz inhibitörü olan donepezil, nöronal asetilkolinesteraza selektiftir. Donepezil'in oral yararlanımı %100'e yakın, eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 70 saattir. Bu nedenle günde tek doz verilebilmektedir. İlaça bağlı yan etkiler bulantı, kusma, iştahsızlık, ishal, uyku düzensizlikleri, kas krampları ve yorgunluk olup hafif ya da orta derecede ve geçicidir. İlacın tek doz kullanımı, doz titrasyonu gerektirmemesi avantajını oluşturmaktadır. Donepezil'e 5 mg/gün dozu ile başlayıp 4-6 hafta sonra yapılacak kontrolden sonra gerekiyorsa 10 mg/gün dozuna çıkılması önerilir. İlacın MMSE skoru 10'un üzerinde olan hafif ve orta derecede Alzheimerlı hastalarda kullanılması önerilir (11).

Rivastigmine: Karbamaz selektif, psödoirreversibl kolinesteraz inhibitörüdür. Asetil kolinesteraz inhibisyonunun özellikle kortikal ve hipokampal nöronlarda olduğu öne sürülmektedir. Asetilkolinesteraz yanısıra bütirikolinesteraz enzimini de inhibe eder. Etki süresi uzun olup (yaklaşık 10 saat), günde iki kez verilmektedir. Hastanın hangi dozda tedaviye yanıt vereceği önceden bilinemeyeceği için, hafif ve orta şiddetli Alzheimer'lilerde dozun tedricen artırılması önerilir. Rivastigmine için önerilen başlangıç dozu 2x1,5 mg olup, 2 haftada bir doz 2x3 mg; 2x4,5 mg şeklinde artırılarak 2x6 mg'a kadar çıkılabilir. Klinik çalışmalar ilacın 6-12 mg/gün dozunda etkili olduğunu göstermiştir (11).

2.1.5.2. Alzheimer Tedavisinde Kullanılan Glutamat Antagonistleri

Alzheimer hastalığında glutaminerjik sistemin kronik olarak uyarılmasının ve intraselüler Ca^{+2} konsantrasyonunun artışının nöronal eksitotoksisteye, nöron kaybına ve buna bağlı olarak nöronal disfonksiyona neden olduğu bildirilmiştir (31, 32). Alzheimer hastalığında ortaya çıkan aşırı glutamenerjik etkinliğin azaltılması amacı ile geliştirilen ve FDA tarafından onaylanan N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptör antagonisti **memantin** AH'nin tedavisinde kullanılmaktadır (33).

2.1.5.3. Alzheimer Hastalığında Kullanılan Diğer Tedaviler

Selegilin gerek monoaminooksidaz- β enzimini inhibe ederek, gerekse antioksidan özelliği nedeniyle yararlı olmaktadır. Antioksidan tedavi önerilmektedir (örn. Selegilin, E vitamini). Antiinflamatuvar ilaçlar nöritik plaklar, bir dizi protein ve akut faz reaktanı,

mikroglia, kompleman aktivasyonu ile ilgili olabilir ve AH patolojisinin hızını yavaşlatabilir (34, 35).

2.1.5.4. Psikolojik Semptomların Tedavisi

Alzheimer hastalığının psikolojik ve davranışsal semptomlarının tedavisi oldukça problemlidir. Trisiklik antidepresanların kognisyon üzerindeki negatif etkileri nedeniyle, depresyon ve duygulanım bozukluklarının tedavisinde selektif serotonin geri alım inhibitörü (SSRI) kullanımı tercih edilmelidir. Davranış problemlerinin tedavisinde nöroleptikler ve kısa etkili benzodiazepinler en sık kullanılan ajanlardır. Psikolojik ve davranışsal sorunları olan Alzheimer hastalarının diğer tıbbi sorunları nedeni ile kullanmakta olduğu ilaçlarla etkileşim riski unutulmamalıdır. Tüm psikotropik farmakolojik ajanların, özellikle de geriatric popülasyonda, en düşük etkin dozda kullanımı esastır. Klasik nöroleptiklerle birlikte antikolinergik ajanları kullanmaktan özellikle kaçınmak gerekir (11).

2.2. ALZHEİMER HAYVAN MODELLERİ

Son yıllarda deney hayvanlarında Alzheimer hastalığının kökten tedavisine yönelik daha özgün ilaçlar geliştirmek, hastalığın fizyopatolojisi ile ilişkili genlerin daha kapsamlı araştırılması ve Alzheimer hastalığı esnasında ortaya çıkan davranışsal değişiklikler ile beyindeki nörokimyasal veya nöropatolojik değişiklikler arasındaki ilişkiyi daha yakından incelemeye yönelik olarak deney hayvanlarında Alzheimer hastalığının bazı nörolojik, genetik ve biyokimyasal özelliklerini taklit eden modeller oluşturulmuştur. Alzheimer hastalığı ile ilişkili tüm patolojik ve biyokimyasal değişimlerin hepsi birden oluşmadığı için bu modellerin hiçbiri tam olarak kabul edilmemiştir. Ancak her bir model hastalığın spesifik bir durumunu araştırmak için faydalıdır. Bu hayvan modellerinde, AH'na benzer genetik patolojiler kısmen taklit edilmekte, beyin korteks, hipokampus ve ön beyin Meynert bazal nükleus gibi bölgelerinde stereotaksik cerrahi yöntemlerle lezyon oluşturulmakta ve nörotoksik ajanlarla AH'na benzer nitelikte nöron harabiyeti oluşturulmaktadır (36).

2.2.1. Alüminyum İntoksikasyonu ile Oluşturulan Alzheimer Modeli

Alzheimer hastalarının beyinde alüminyum seviyesinin aynı yaştaki kontrollere göre daha yüksek bulunması AH hastalığının etiolojisinde alüminyumun önemli rolü olabileceğini ortaya koymuştur (13, 37, 38). Bu gözlemden hareketle alüminyumun toksik konsantrasyonlarda diyetle eklenmesi ile Alzheimer hastalığının nöropatolojik bulgularını taklit eden hayvan modelleri oluşturulmaya çalışılmıştır. Alüminyum farelerin, sıçanların ve tavşanların içme sularına veya yemlerine ilave edilerek belirli süre ile verildiğinde Alzheimer hastalığının bazı nöropatolojik ve davranışsal semptomları (öğrenme güçlüğü gibi) ortaya çıkabilmektedir (39). Yapılan bir çalışmada diyetle eklenen alüminyumla (L:9mg/kg, H: 20mg/kg) Alzheimer modeli oluşturulmuştur (40). Başka bir araştırmada da 4 hafta süreyle 17mg/kg AlCl₃ oral verilerek AH modeli oluşturulmuştur (41).

2.2.2. Transgenik Alzheimer Modelleri

AH'na benzer nöropatoloji sergileyen çeşitli transgenik hayvan modelleri oluşturulmaktadır. AH ile ilişkili APP V717F mutasyonu şifreleyen bir insan APP mini geni taşıyan fareler (42), apolipoprotein E (Apo-E) geni ortadan kaldırılmış Apo-E knockout fareler (43), çift mutasyon geçirmiş insan APP695 ekspresyonu yapılmış Tg2576 fareler (44), insan FTDP- 17 mutant tau transgenik fareler, insan vahşi tip tau transgenik fareler (36), transgenik farelerin insan mutant PS1 veya PS2 geni ile ileri ekspresyonu sonucu PS'lerdeki bozukluklara bağlı AH belirtilerinin bir kısmını sergileyen fareler AH'na yönelik çalışmalarda kullanılan hayvan modelleri arasında yer almaktadır (33).

2.2.3. Amiloid Beta ile İlişkili Alzheimer Modelleri

Amiloid β 40, A β 42 yada A β 25-35 peptidlerinin beyin çeşitli kısımlarında oluşturduğu etkiyi incelemek amacıyla bu peptidler mikroenjeksiyon yoluyla beyne enjekte edilerek model oluşturulmaktadır. Yapılması planlanan araştırmanın niteliğine göre beyin çeşitli bölgeleri seçilmektedir (38). Bunlar arasında sol nükleus bazalis, entorhinal korteks, bilateral intraserebroventriküler bölge, hipokampusün CA1 bölgesi ve lateral ventriküller yer alır. Bu yolla A β peptidlerinin toksik etkileri ve bu peptidlerin etkilediği sinyal yolları incelenebilmektedir (38, 45).

2.2.4. Streptozotosin (STZ) ile Oluşturulan Alzheimer Modelleri

Beyin ventrikülü içine STZ nörodejenerasyon modeli oksidatif stresin yol açtığı beyin hasarından farklıdır, çünkü mitokondrial DNA hasarı ve metabolik disfonksiyona ek olarak belirgin şekilde beyinde insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) sinyalizasyonunda bozulmaya yol açmaktadır. Gerçek AH'lı insan beyinlerinde oksidatif stres, DNA hasarı ve mitokondrial disfonksiyon kanıtları şüphelidir (46, 47).

2.2.5. D-Galaktoz ile Oluşturulan Alzheimer Modelleri

D-Galaktoz (D-gal) vücudumuzda normal olarak bulunan indirgeyici şekerlerden biridir. Normal koşullarda galaktokinaz (Galk) ile galaktoz-1-fosfata sonrada galaktoz-1-fosfat üridil transferaz (Galt) ile glukoz-1-fosfata dönüştürülür. D-galaktozun 100 mg/kg dozunda 7 hafta kullanımı uzaysal hafızayı bozmuş, hipokampustaki nöronlarda apoptozisi, karyopiknozu ve kaspas-3 enzim seviyesini arttırmış, dentat gyrus'daki subgranüler bölgedeki yeni doğan nöronların sayısını düşürmüştür, nöronal progenitör hücrelerin göçünü azaltmış ve granüler hücre katmanında yeni doğan nöronlarda ölüm oranını arttırmıştır (48). Altı ila on hafta boyunca 60 mg/kg dozunda D-galaktoz uygulanan sıçanların öğrenme ve hafıza kapasitelerinde ilerleyen bir bozulmanın olduğu izlenirken, beyinde serbest radikallerin arttığı, aynı zamanda bazal forebrain ve hipokampusdeki kolinerjik nöronların azaldığı tespit edilmiştir (49). Bunlara ek olarak, D-galaktozun kalsiyum homeostazisinin bozulmasına ve mitokondri disfonksiyonuna sebep olduğu gözlenmiştir (50, 51).

Yine başka bir çalışmada da 20mg/kg D-galaktoz intraperitoneal (i.p) 5 hafta uygulanarak AH modeli kurulmuştur (52).

2.2.6. NFY ile İlişkili Alzheimer Modelleri

NFY'lara benzer nöropatolojiler gösteren hayvan modelleri oluşturmak amacıyla fosfataz 1/2A inhibitörü olan okadaik asidin i.c.v. enjeksiyon yöntemi kullanılmaktadır (53).

2.2.7. Alüminyum ve D-Galaktoz ile Oluşturulan Alzheimer Modelleri

Yapılan çeşitli araştırmalarda alüminyum ve D-galaktozun birlikte uygulanması da Alzheimer hastalığının bazı patolojik özelliklerini taklit ettiği saptanmıştır (54-56).

Salima Douichene ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada farelere alüminyum klorür ($AlCl_3$) oral yoldan 100 mg/kg ve D-galaktoz da 200 mg/kg i.p olarak 11 hafta uygulanmış ve AH modeli oluşturulmuştur (54).

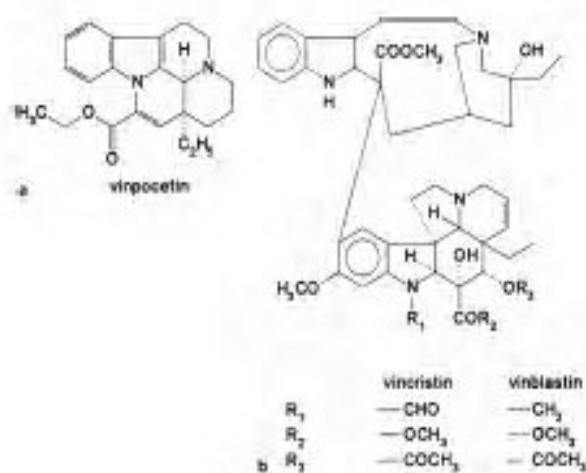
Pan R ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise farelere $AlCl_3$ oral yoldan 10 mg/kg dozunda ve D-galaktoz da 120 mg/kg i.p olarak 90 gün boyunca uygulanmış ve AH modeli oluşturulmuştur (55).

Zong-Zheng Sun ve arkadaşlarının çalışmasında da $AlCl_3$ 40 mg/ kg ve D-gal 90 mg/ kg i.p 90 gün uygulanarak AH modeli oluşturulmuştur (56).

Bizde çalışmamızda beyin dokusuna daha az hasar vermek için, verilecek maddenin intraperitoneal olarak, gavaj yoluyla ya da besinlere ekleyerek verildiği AH modelleri üzerinde araştırma yaparak deneyimizde model olarak bu yöntem seçilmiştir.

2.3. VİNPOSETİN

Bir vinkamin derivativesi olan vinpocetin, 1978 yılından beri serebrovasküler hastalıklarda kullanılan antioksidan, vasodilatatör ve nöroprotektif bir ilaçtır. Şekil 2.3' te vinpocetin kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Vinpocetin Kimyasal Yapısı

Serebral iskemide Ca antagonist etkisine bağlı nöroprotektif ve antikonvülsan etkisi vardır. Hipoksik hücrelerde adenosinin nöroprotektif etkisini artırır. Hayvan modellerinde beyin iskemisinde nöronal hücre kaybını ve orta serebral arter oklüzyonuna bağlı enfarktleri azalttığı bildirilmiştir. İnsan çalışmalarında ise daha önce iskemiyeye uğramış serebral bölgelerdeki kan akımını arttırdığı, trombosit agregasyonunu azalttığı ve eritrosit deformabilitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Bu farmakolojik çalışmalar ışığında Avrupa'da (Macaristan, Polonya, Almanya ve Rusya) ve Japonya'da felç tedavisinde uygulanan bir ilaçtır (57).

Voltaj bağımlı Na kanal inhibisyonu yaparak Na'nın nöron içerisinde birikimini engeller ve anoksi sonucu gelişen oksidatif stresin toksik etkileri ile reperfüzyon hasarını azaltır (58).

Ca-Calmodulin bağımlı Fosfodiesteraz-1 inhibisyonu ile serebral dolaşımı artırır ve trombosit agregasyonunu azaltır (59, 60). Yapılan çalışmalarda da bu gibi özelliklerin doğrulanması vinpocetinin fosfodiesteraz enzim inhibitörü olarak nörolojik hastalıklarda klinik kullanımını açıklamaktadır (61).

2.4. ÖĞRENME HAYVAN MODELLERİ

Öğrenme ve hafıza deneylerinde tercih edilen ve en çok kullanılanlar aşağıda sırasıyla özetlenmiştir.

2.4.1. T Labirent Testi

T labirenti uzun süreli uzaysal hafızanın ve öğrenmenin ölçüldüğü deneylerde kullanılır. T labirent aynı ebatta (50x12 cm) yerden 50 cm yüksekte 3 plastik koldan oluşmaktadır. Bu kollardan biri 40 cm yüksekliğinde plastik yan duvarlarla kapalıdır ve birbirine ters yönde duran iki açık kola dik olarak yerleştirilmiştir (62). Hayvanlar hafızalarını kullanarak ödül olan kolu ya da bir önce girdiği kolu hatırlayarak diğer kolu tercih etmeyi öğrenmek zorundadır. Şekil 2.4'de T labirent gösterilmiştir.



Şekil 2.4. T labirenti

2.4.2. Y Labirent Testi

Y labirenti T labirenti gibi üç eş kolda oluşur ancak keskin dönüşler yoktur. Bu yumuşak dönüşler öğrenme süresinin azalmasını sağlamaktadır. Y labirent testi 1976 yılında deney hayvanlarının uzaysal hafıza performanslarını ölçmek için geliştirilmiş ve daha sonra sıçanlarda ve diğer kemirgenlerde uzaysal öğrenme çalışmalarında popüler hale gelmiş bir davranış testidir. Şekil (2.5). (63).



Şekil 2.5. Y labirenti

2.4.3. Açık Alan Testi

İlk olarak 1934 yılında hayvanların emosyonel durumlarını test etmek için Hall ve arkadaşları tarafından yuvarlak formu tanımlanmıştır. Açık alan hayvanın büyüklüğüne göre değişmekle birlikte genellikle plastikten yapılmış, 100x100 cm ebatlarında, 16 eşit

kareye ayrılmış ve kenarları 30 cm yüksekliğinde yine plastik ile kapatılmış, üzeri açık bir araçtır. Rat açık alanın bir köşesine bırakılarak bu alanı araştırmalarına izin verilir. Hayvanın aktivite seviyesi (lokomotor yanıt) 5 dakika süre içerisinde de geçtiği kare sayısı ile, araştırma aktivitesi yine aynı sürede iki arka ayağı üzerine kalkarak etrafı inceleme hareketi (rearing) sayısı ile ölçülür. Korku seviyesi 5 dakika içerisinde bu alan içerisinde yaptığı defekasyon sayısı ile değerlendirilir (64-66). Şekil 2.6'da açık alan testi gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Açık alan testi

2.4.4. Barnes Labirenti

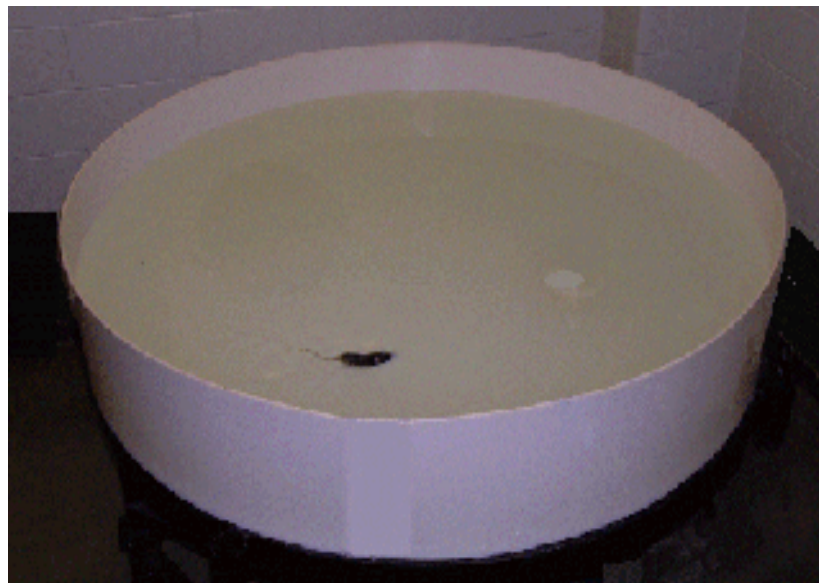
Barnes labirenti de uzaysal öğrenme ve hafızanın test edilmesi için geliştirilmiştir. Bir platformdan ibaret olan labirentte birçok delik bulunmakta olup, sadece bir tanesi kafese giden yola bağlıdır. Hayvanlar parlak ışıkla aydınlatılmış platformdan daha güvenli olan küçük karanlık deliklere kaçmak ve kafese ulaşmak eğilimi içindedirler. Dolayısıyla doğru deliği bulmak için platform üzerindeki ve odadaki görsel işaretleri kullanmaları gerekir. Bu da uzaysal öğrenmenin ölçülmesine olanak sağlamaktadır. (Şekil 2.7). (67).



Şekil 2.7. Barnes labirenti

2.4.5. Morris Su Tankı (MWM)

Richard Morris tarafından geliştirilen Morris su labirenti, uzamsal hafızayı test etmek için tasarlanmış bir davranış deneyidir. Deney birkaç defa tekrar edildiği zaman, platforma ulaşmak için harcanan süredeki (gecikme süresi) ve uzaklıktaki (yol) değişiklikler sıçandaki öğrenme ve hafıza yeteneğinin göstergesidir (68). Şekil 2.8’de Morris su tankı gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Morris su tankı

Morris su labirenti, içerisinde gizli bir platformu bulunduran, içi su dolu, geniş, sirküler bir tanktır. Gizli platform suyun altında görülmeyecek şekilde bulunur ve deneyden deneye bu platformun yeri sabittir (69, 70). Bazı çalışmalarda Morris su tankındaki su, süt tozu ile beyazlatılmış (68), bazılarında ise tankın içi toksik olmayan siyah boya ile boyanmıştır (71).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Laboratuvar Şartları

Çalışma, Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde Etik Kurul ilkelerine uygun olarak gerçekleştirildi. Deney de 14 aylık ortalama 300-350 g ağırlığında 44 adet erkek Wistar sıçan kullanılmıştır.

Deneylerde, sıçanlar ısı ve nemi standardize edilmiş (22 ± 3 °C, % 62 ± 7 nem oranı), iyi havalandırılan odalarda, 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde ve ayrı kafeslerde bulundurulmuşlardır.

3.2. Çalışma Dizaynı ve Deney Protokolü

Çalışmamızda 44 adet 14 aylık Wistar erkek sıçan rastgele bölüştürülerek (K= 10, AH= 20, AH+V= 7 ve V= 7) 4 grup oluşturulmuştur.

6 haftalık deney süreci içerisinde hayvanlar, ticari sıçan yemi ve musluk suyu ile beslenmiş olup deney süresince hayvanlara su ya da yem kısıtlaması yapılmamıştır. Ağırlık değişimleri ise haftada bir kez ölçülerek takip edilmiştir.

3.3. Deney Grupları ve Uygulanan Maddeler

Tablo 3.1’de deney gruplarına ait sınıflandırma, intraperitoneal (i.p) olarak uygulanan maddeler 6 hafta ve dozları gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Gruplar ve Uygulanan maddeler

Gruplar	n	Uygulanan madde	Doz	Uygulama süresi
Kontrol Grubu (K)	10	Serum Fizyolojik (SF)	1 ml/kg/gün	6 hafta
Alzheimer Grubu (AH)	20	D-Galaktoz AlCl ₃	90 mg/kg/gün 40 mg/kg/gün	6 hafta
Alzheimer + Vinpoşetin Grubu (AH+V)	7	D-Galaktoz AlCl ₃	90 mg/kg/gün 40 mg/kg/gün	6 hafta
		Vinpoşetin	5 mg/kg/gün	17 gün*
Vinpoşetin Grubu (V)	7	Vinpoşetin	5 mg/kg/gün	17 gün

* Alzheimer modeli oluşturulduktan (6hafta) sonra 17 gün süreyle vinpoşetin uygulanmıştır.



Resim 3.1. İnteraperitoneal enjeksiyon uygulamasının yakından görünümü

Deneylerde;

- D-Galaktoz ve $AlCl_3$: Nöronlarda hasar oluşturmak için nörotoksik ajan olarak kullanılmıştır (Distile su ile çözülmüştür).
- Vinpocetin: oluşan nöron hasarını tedavi edici ajan olarak kullanılmıştır (Serum fizyolojik ile çözülmüştür).

Öğrenme deneylerini takiben, ürethan anestezisi altında sıçanların beyin dokuları çıkarılmıştır. Çıkarılan dokular hızlıca %10'luk formaldehit içine alınarak histolojik değerlendirme için hazırlanmıştır.

3.4. MWM ile Öğrenme Parametrelerinin Tayini

Öğrenmeyi test etmek amacıyla, laboratuvarımız da bulunan Morris su tankı kullanıldı ve kaçış platformunu bulma süreleri ve hedef kadranda geçirilen süre kayıt edilerek karşılaştırıldı. Şekil 3.1’de morris su tankı gösterilmektedir.



Şekil 3.1 Morris su tankının genel bir görünümü

Deney de 130 cm çapında ve 45 cm derinliğinde toksik olmayan mavi boya ile boyanan su yüksekliği 25 cm olan tank kullanıldı. Suyun sıcaklığı 25 ± 1 °C olarak ayarlandı. Tank içerisine su seviyesinin 2 cm altında kalacak şekilde ve kadrarlardan birinin merkeze yakın bölümüne, 10 cm çapında silindir bir platform yerleştirildi. Platformun üstü sıçanların tutunabilmesi için lifli bir kumaşla örtüldü.

Deney aşaması; öğrenme deneyleri 9:00-12:00 saatleri arasında 1. gün alıştırma 2-3-4. gün öğrenme ve 5. gün test aşaması olarak değerlendirildi. Sıçanlar ilk gün suya bırakılmadan önce kaçış platformunu tanımaları için platform üzerinde 30 sn bekletildi. Sonra her bir sıçan platforma en uzak noktadan tanka bırakıldı 60 sn içinde platformu bulmaları beklendi, bulamayan sıçanlar destekle platforma doğru yönlendirildi ve platformu bulmaları sağlandı. Sıçanlar 20 sn platformda tutuldu ve kurulandıktan sonra kafese alındı. 4 gün boyunca bu işlem sıçanların başı tanka bakacak şekilde her bir

sıçana 20 dakika aralıklarla 4 farklı yönden 4 deneme yaptırıldı. Her bir sıçan için platformu bulma süreleri dijital bir kronometre ile kayıt edildi.

Test aşaması; 5. gün ise platform kaldırılarak hayvanlar tek yönden suya bırakıldı ve 60 sn süre içinde platformun bulunduğu hedef kadranda geçirdikleri süre kayıt edildi.

3.5. Histolojik Değerlendirme

Deney sonunda tüm denekler dekapite edilerek beyin dokuları çıkarılmıştır. Çıkarılan dokular hızlıca %10'luk formaldehit içine alındı. Tespitten sonra doku blokları dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi, ksilende şeffaflandırılarak ve parafin bloklar içine gömüldü. Doku bloklarından 5-6 µm'lik kesitler alınarak beyin histolojisini değerlendirmek için Bielschowsky'nin gümüş nitrat boyası ile boyanarak fotomikroskopta incelendi.

3.6. İstatiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme SPSS paket programı kullanılarak yapılmıştır. Veriler tüm grupların ortalama±SD olarak gösterildi. Karşılaştırmaları ANOVA ile, grupların birbiri ile karşılaştırması ise post hoc Scheffe testi ile yapıldı. $P < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Genel Görünüm

Deney süresi boyunca AH grubu dışındaki hayvanlarda genel görünüm ve davranışlarında değişiklik gözlenmemiştir. AH grubunun ise diğer gruplara göre daha hareketsiz olduğu saptanmıştır.

AH grubunda 11, AH+V grubunda 1, K grubunda 3 hayvan ilaç komplikasyonları, enfeksiyon, anestezi vs nedeniyle ölmüştür. Bu hayvanların 11 tanesi MWM testinden önce 4 tanesi de histolojik inceleme öncesi ölmüştür. MWM testi; 33 hayvan ile histolojik inceleme; 29 hayvan ile tamamlanmıştır.

4.2. Ağırlık Değişimi

Deney gruplarının haftalara göre ağırlık değişimleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Alzheimer grubu 6 haftaya doğru gittikçe zayıflamıştır ($p<0.05$). AH+V grubuna bakıldığında ise vinpocetin tedavisi hayvanların kilo kaybını önlemiştir. Gruplar arasında haftalar arası fark istatistiksel olarak saptanmamıştır.

Tablo 4.1. Kontrol ve deney grubu hayvanların haftalık ağırlık değişimleri

Gruplar	1.hafta (g)	2.hafta (g)	3.hafta (g)	4.hafta (g)	5.hafta (g)	6.hafta (g)
K	351,4 ± 10	343,2 ± 8	351 ± 9	345,6 ± 11	340,4 ± 4	345 ± 14
AH	329,5 ± 15	319,2 ± 9	314,8 ± 12	308,1 ± 6	302,5 ± 7	300,2 ± 13
AH+V	309,7 ± 12	290,1 ± 13	306,8 ± 17	306 ± 9	295,7 ± 9	300,7 ± 11
V	354,4 ± 14	353,5 ± 5				

4.3. Morris Water Maze Testi Sonuçları

Morris Water Maze testinin platformu bulma sürelerine yönelik sonuçları aşağıda Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Bulguların istatistiksel analizi sonucunda, öğrenme deneylerinin yapıldığı ilk 4 günün ortalamaları verilmiş olup hedef kadranı bulma açısından 4.gün kontrol grubuyla Alzheimer grubu arasında çok anlamlı fark olmamakla birlikte AH, AH+V ve V grubu kontrol grubuna göre daha uzun sürede platformu bulmuştur. Ancak hedef kadranda geçirilen sürenin test edildiği 5. gün de ise kontrol grubuyla diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır.

Tablo 4.2. Grupların platformu bulma süresi ortalamaları ve istatistiksel karşılaştırmaları

Gruplar	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
K (n= 9)	42,89 ± 18,33	36,92 ± 17,85	32,02 ± 17,09	29,03 ± 12,90
AH (n= 11)	53,02 ± 6,47	45,67 ± 8,71	33,35 ± 11,04	39,67 ± 9,66
AH+V (n= 6)	48,45 ± 7,94	46,09 ± 8,88	35,72 ± 12,74	39,49 ± 9,35
V (n=7)	50,91 ± 6,45	40,47 ± 17,50	41,60 ± 11,03	40,70 ± 14,68
f	1,42	0,86	0,79	1,89
p	0,25	0,47	0,50	0,15

5. günde ise grupların hedef kadranda geçirdikleri süreleri ve istatistiksel karşılaştırmaları Tablo 4.3’de sunulmuştur. Buna göre, 5. günde AH, AH+V ve V grubunun hedef kadranda geçirdikleri süre kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.006$, $p<0.034$, $p<0.043$).

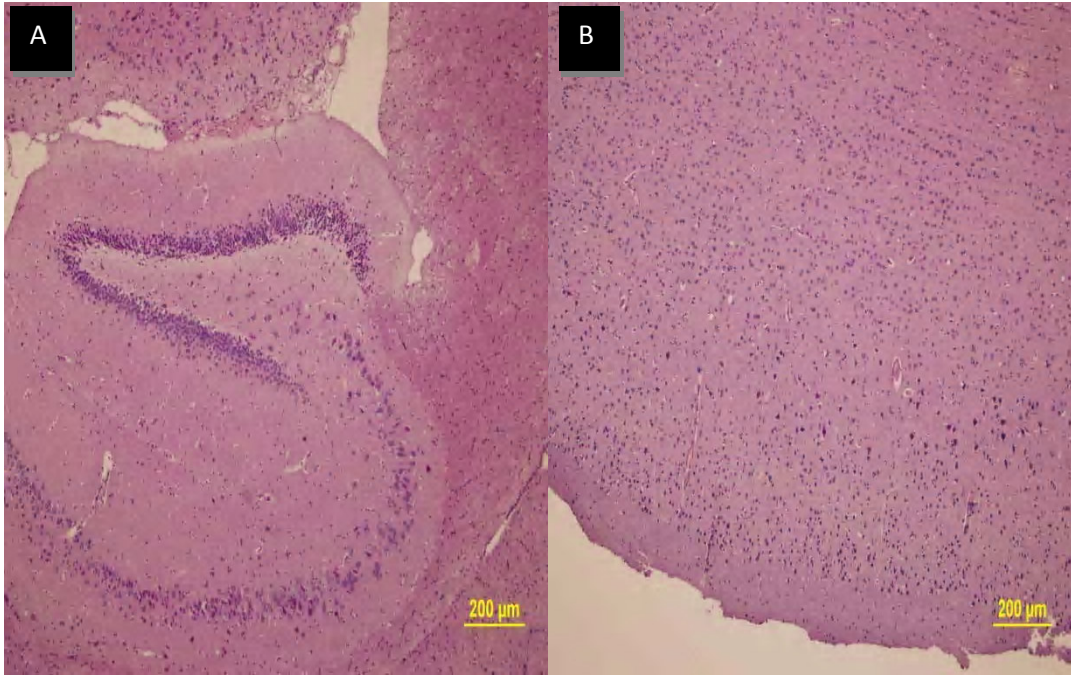
Tablo 4.3. Grupların 5. günde hedef kadranda geçirdikleri süre ve istatistiksel karşılaştırmaları

5.gün	
Gruplar	Hedef Kadranda Geçirilen Süre
K (n= 9)	18,21 ± 6,85
AH (n= 11)	9,15 ± 4,30*
AH+V (n= 6)	10,53 ± 5,82*
V (n=7)	10,36 ± 4,24*
f	5,38
p	0,005

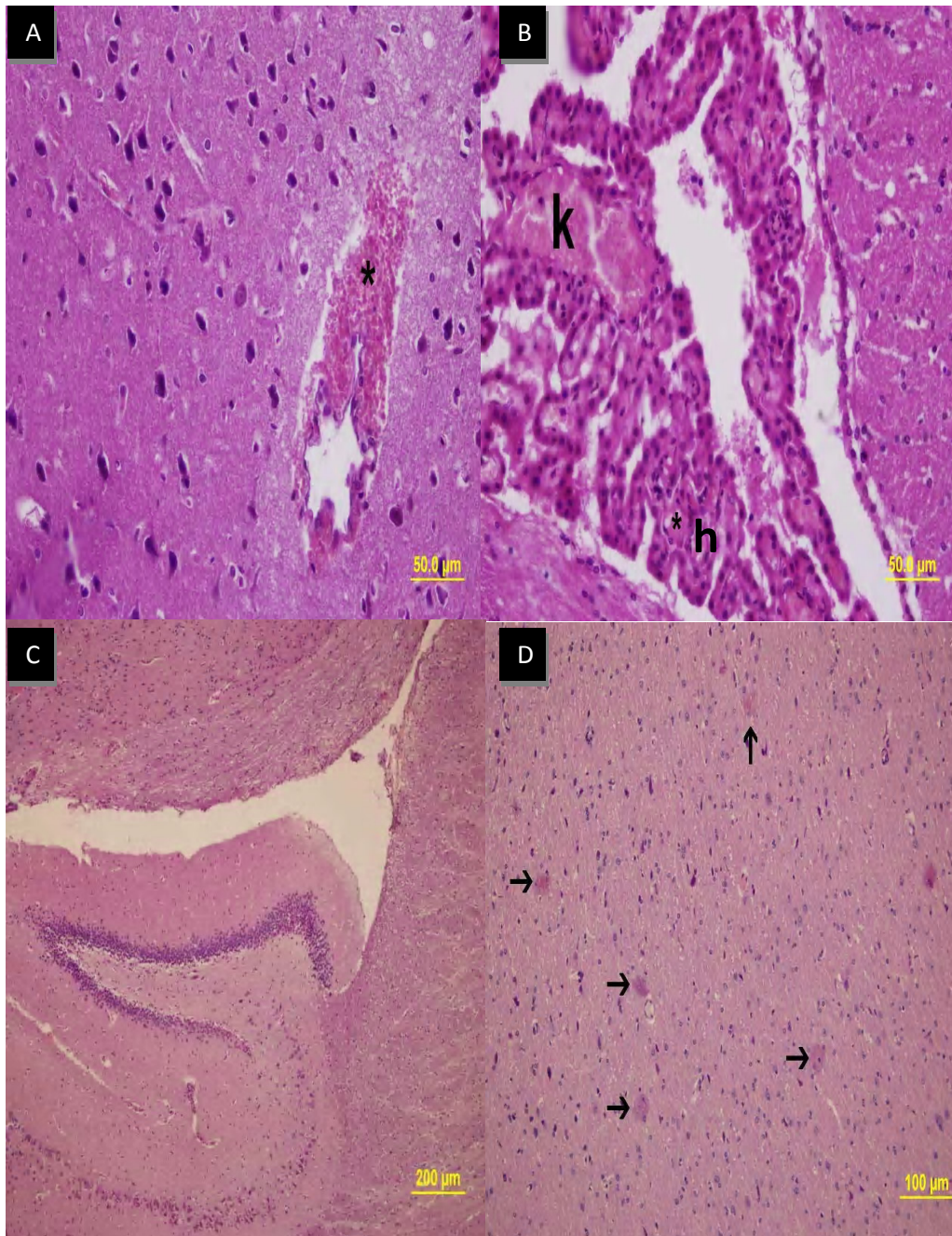
*Kontrolden farklı

4.4. Histolojik Değerlendirme Sonuçları

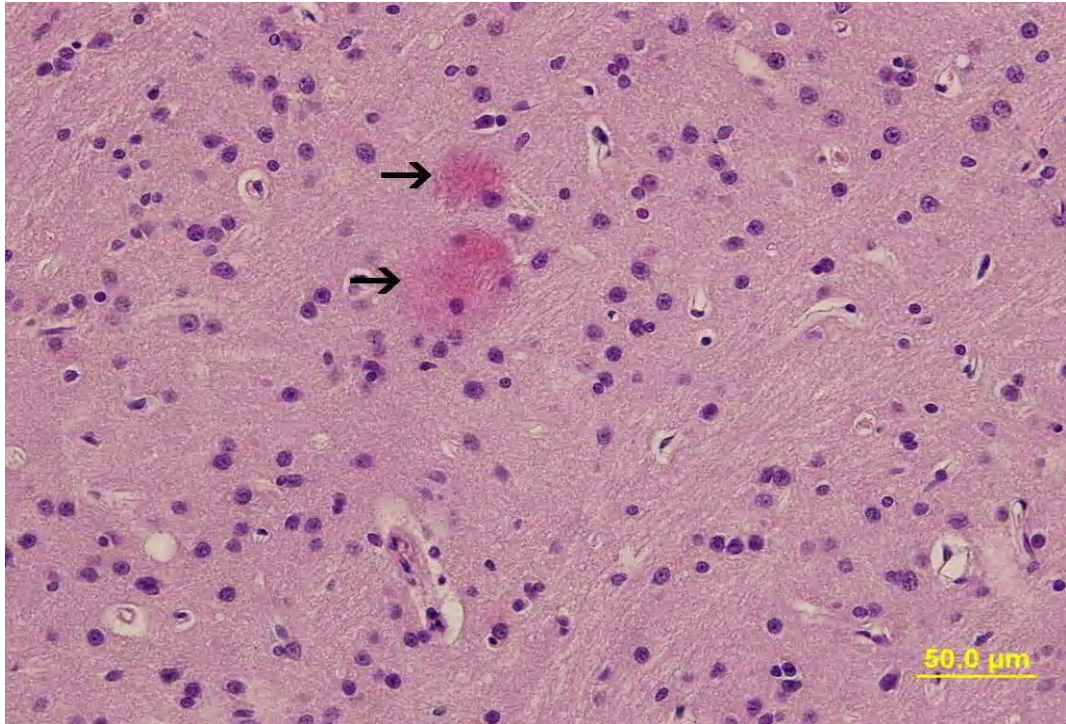
Yapılan ışık mikroskopik incelemede H&E boyamada kontrol grubuna ait beyin dokuları normal olarak gözlendi. Şekil 4.1’de kontrol grubuna ait histolojik sonuçlar gösterilmiştir. AH grubuna ait beyin dokularında ise damarlarda konjesyon ve hemorajiye, koroid pleksus damarlarında konjesyon ve hiyalin madde birikimine rastlanmıştır. Ayrıca AH grubuna ait beyin dokularının hipokampus bölgeleri normal görünümde iken korteks tabakasında senil plak ile uyumlu eozinofilik boyanan alanlar gözlendi. Şekil 4.2’de AH grubunun histolojik sonuçları gösterilmiştir. Senil plak alanları tedavi grubundaki (AH+V) beyin dokularında da ayırt edildi (Şekil 4.3). Sadece vinposetin alan deneklerin korteks tabakasında yer yer mononuklear hücre alanlarına rastlandı (Şekil 4.4).



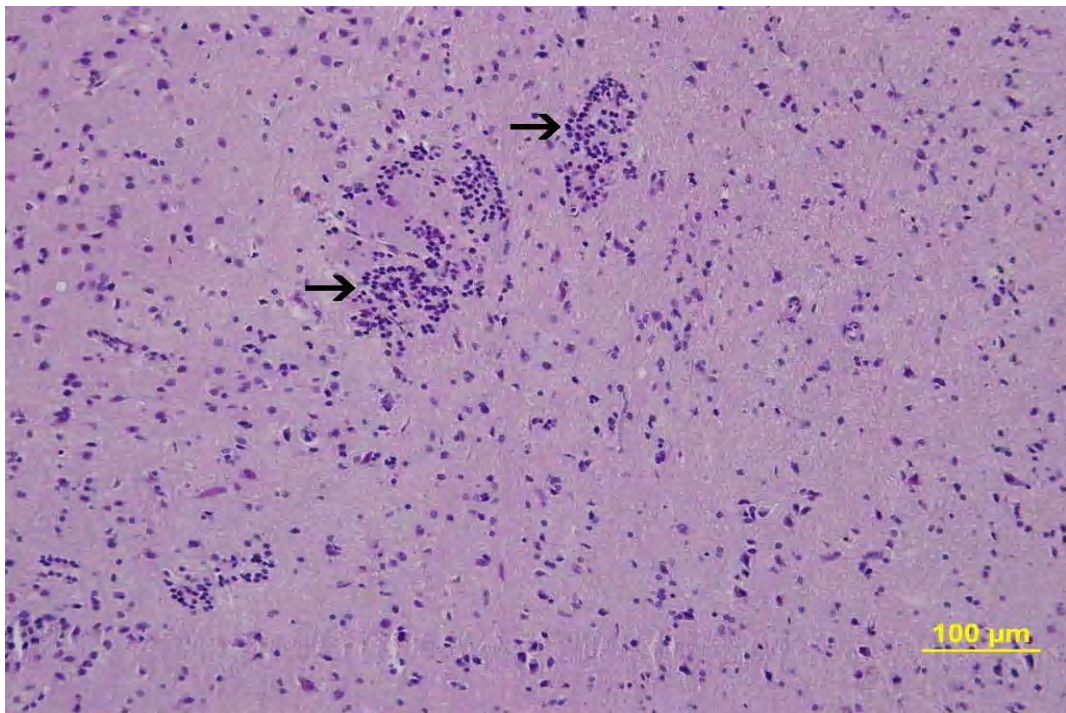
Şekil 4.1 Kontrol grubundan bir sıçana ait histolojik sonuçlar. (A) hipokampus, (B) korteks ve medulla normal olarak gözlenmekte. H&E.



Şekil 4.2. AH grubundan bir sıçana ait histolojik sonuçlar. (A) korteks tabakasında hemoraji (*), (B) koroid pleksus damarlarında konjesyon (k) ve hiyalin madde birikimi (h) ayırt edilmekte. (C) hipokampus normal görünümde iken, (D) korteks tabakasında senil plak iyi uyumlu eozinofilik boyanan alanlar (ok) ayırt edilmekte. H&E.

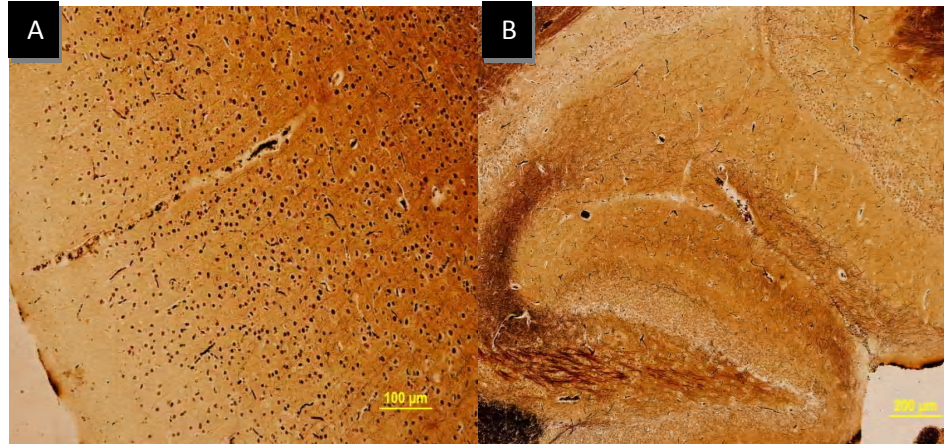


Şekil 4.3. AH+V grubundan bir sıçana ait histolojik sonuçlar. Beyin dokusunun korteks tabakasında senil plak ile uyumlu eozinofilik boyanan alanlar (ok) gözlenmekte. H&E

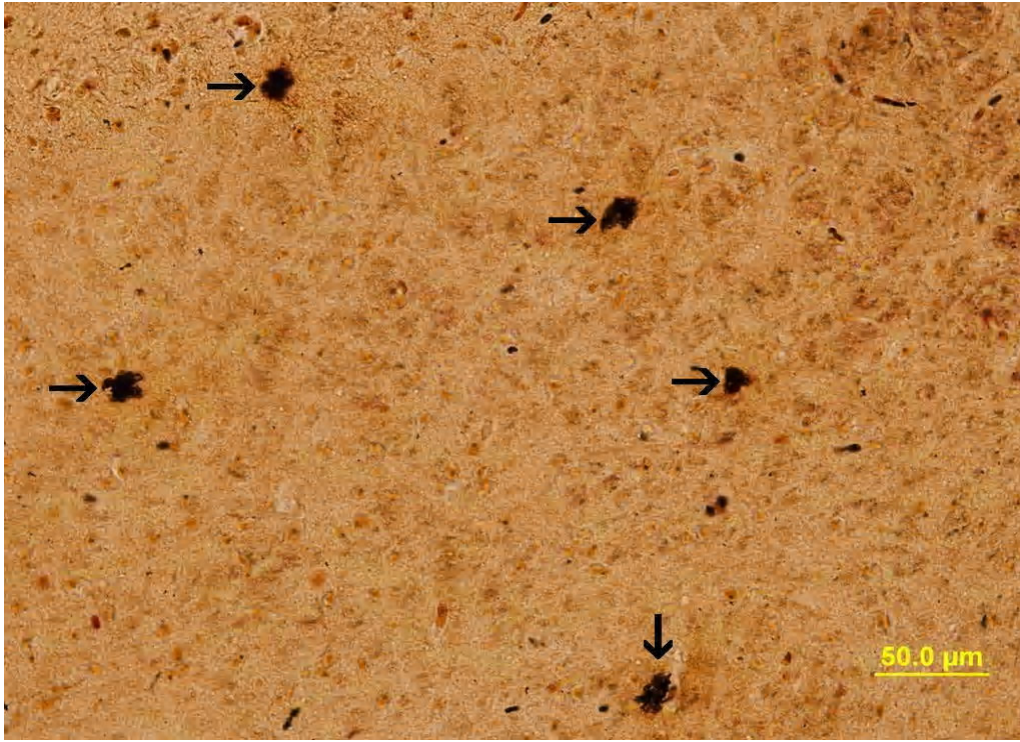


Şekil 4.4. Sadece vinpocetin alan gruptan bir sıçana ait histolojik sonuçlar. Beyin dokusunun korteks tabakasında mononükleer hücre infiltrasyon alanları (ok) ayırt edilmekte. H&E

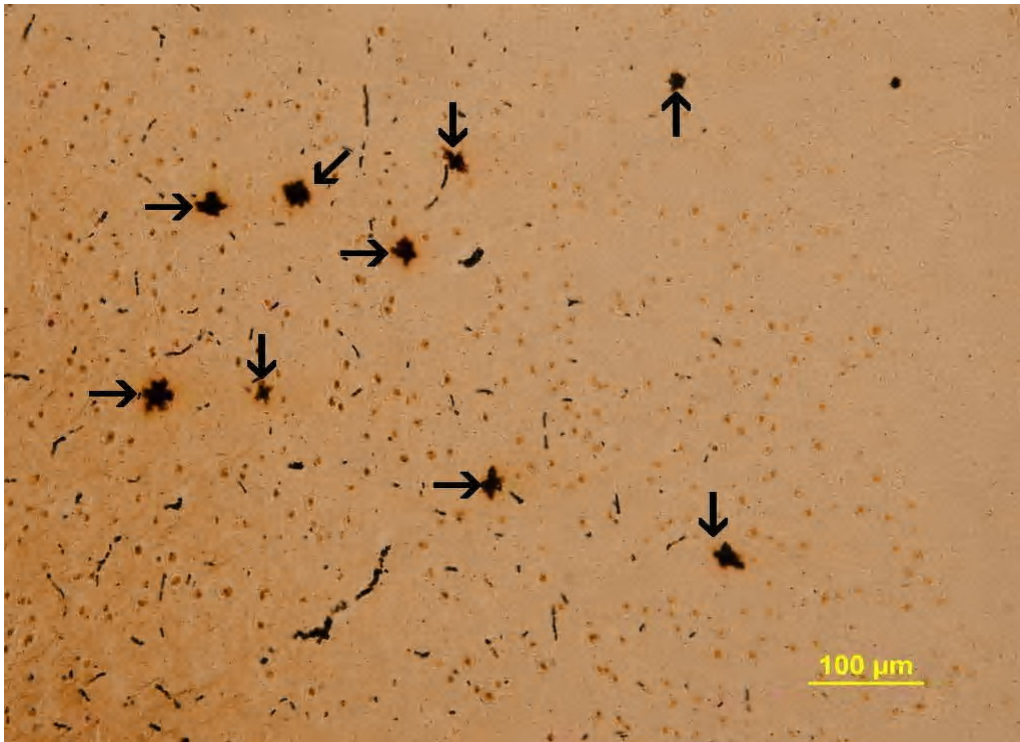
Özel bir boyama yöntemi olan ve beyin dokusundaki amiloid plakları ve nörofibriler düğümleri gösteren Bielschowsky'nin gümüş nitrat boyası ile boyanan beyin dokularında kontrol grubu deneklerin hem korteks tabakasında hem de hipokampus alanlarında herhangi bir pozitif boyanma gözlenmedi (Şekil 4.5). Ancak hem Alzheimer grubu (Şekil 4.6) , hem de tedavi grubunun (Şekil 4.7) korteks tabakasında senil plak ile uyumlu pozitif boyanan alanlara rastlandı. İlginç olarak sadece vinpocetin alan grupta da korteks tabakasında pozitif boyanan alanlar belirgindi (Şekil 4.8). Bütün gruplarda hipokampus bölgesinde herhangi bir pozitif boyanmaya rastlanmadı.



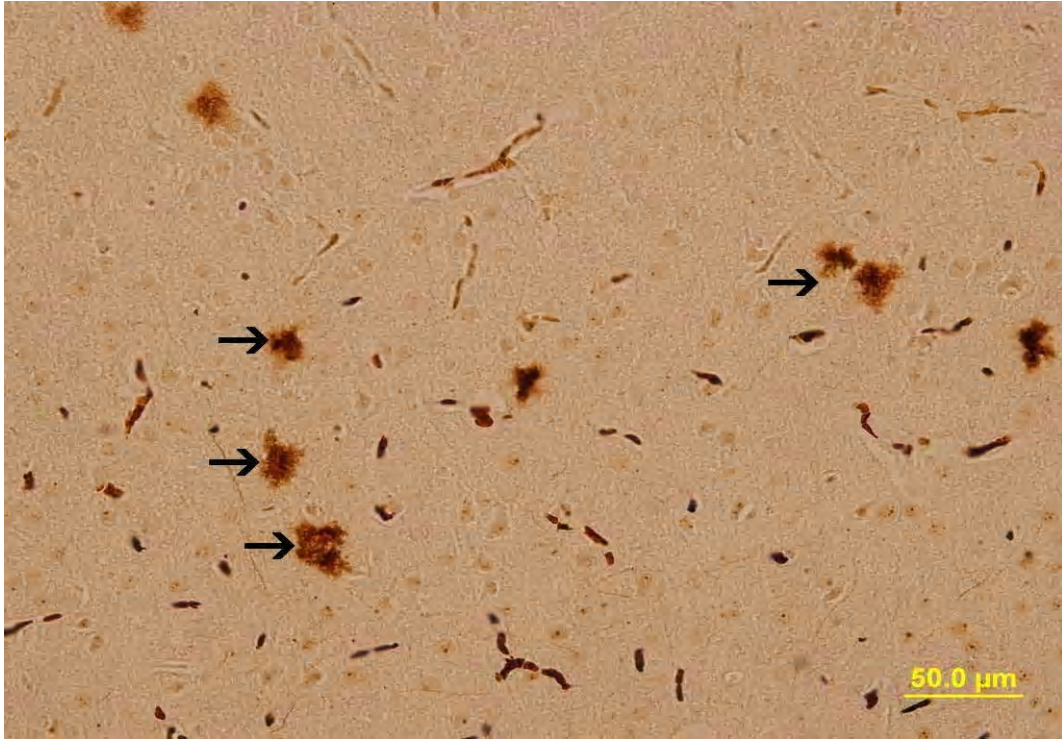
Şekil 4.5. Kontrol grubuna ait bir sıçanın beyin dokusu. (A) korteks ve (B) hipokampus bölgesinde nörofibriller düğüm ve amiloid plak için boyanma gözlenmemekte. Bielschowsky'nin gümüş nitrat boyası



Şekil 4.6. AH grubuna ait bir sıçanın beyin dokusu. Korteks bölgesinde amiloid plak için boyanma gözlenmekte (ok). Bielschowsky'nin gümüş nitrat boyası.



Şekil 4.7. AH+V grubuna ait bir sıçanın beyin dokusu. Korteks bölgesinde amiloid plak için boyanma gözlenmekte (ok). Bielschowsky'nin gümüş nitrat boyası.



Şekil 4.8. V grubuna ait bir sıçanın beyin dokusu. Korteks bölgesinde amiloid plak için boyanma gözlenmekte (ok). Bielschowsky'nin gümüş nitrat boyası.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Alzheimer hastalığı (AH); merkezi sinir sisteminin (MSS) çeşitli kısımlarında nöron ve sinaps kayıpları nedeni ile ortaya çıkan; bilişsel işlevlerde azalma, öz bakım yetersizlikleri, çeşitli nöropsikiyatrik ve davranışsal bozukluklar ile karakterize progresif nörodejeneratif bir hastalıktır (29,72).

Yaş en önemli risk faktörü olup hastalığın prevalansı, 65-85 yaşları arasında her beş senede bir iki katına çıkmaktadır (6).

Alzheimer hastalığında gözlenen öğrenme ve hafıza bozukluğunun yanı sıra, bu hastalığın patolojisinde yer alan A β ve NFT birikimleri gibi histopatolojik anormallikleri taklit etmek için çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Ancak bu hayvan modellerinin hiçbiri hastalıkta gözlenen bilişsel bozukluğu ya da biyokimyasal ve patolojik değişiklikleri tam olarak temsil etmemektedir (73). Bu nedenle uygun bir AH modeli oluşturmak hem hastalığın patolojisini anlamak hem de tedavisine ışık tutmak için son derece önemlidir.

Çalışmamızda D-galaktoz 90 mg/kg ve AlCl₃ 40 mg/kg i.p olarak 6 hafta süreyle her gün uygulanarak AH modeli oluşturulmuştur. Sonrasında oluşan hasarı tedavi etmek amacıyla vinpocetin 17 gün boyunca 5 mg/kg i.p olarak uygulanmıştır. Morris su tankında hayvanlara öğrenme deneyleri uygulanmış olup, ilk 4 gün istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. 5. günde ise hedef kadranda geçirilen süre kontrol grubuna göre diğer gruplarda anlamlı derecede azalmıştır. Öğrenme deneylerinden

sonra AH'nin oluşup oluşmadığını tespit etmek amacıyla hayvanların beyin dokuları çıkarılarak histolojik olarak ta inceleme yapılmıştır. Bulgularda AH grubunda korteks tabakasında senil plaklar görülmüştür. İlginç olarak vinpocetin grubunda da histolojik değerlendirmede senil plaklara rastlanmıştır.

Çalışmamızda öğrenme test edileceği için beyin hasarını en aza indirmek amacıyla intraserebrovasküler uygulamalar tercih edilmeyip, maddenin intraperitoneal olarak, gavaj yoluyla ya da besinlere ekleyerek verildiği AH modelleri araştırılmıştır. Yapılan bir çalışmada, sıçanlara 5 hafta boyunca günde bir kez 20 mg/kg i.p D-galaktoz uygulanmış olup, deney sonunda incelenen beyin dokusunda protein örneklerinde asetilkolinesteraz aktivitesi ve apoptoz değerlendirilmiştir (52). Diğer bir çalışmada 60 günlük deney sürecinde overektomi yapılmış sıçanlara 80 mg/kg dozunda D-galaktoz i.p uygulanarak AH modeli oluşturulmuştur (74).

Pan R ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise farelere $AlCl_3$ oral yoldan 10 mg/kg dozunda ve D-galaktoz da 120 mg/kg i.p olarak 90 gün boyunca uygulanmış ve AH modeli oluşturulmuştur (55). Bu çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde, hem $AlCl_3$ hem de D-galaktoz birlikte uygulanmıştır.

Başka bir çalışmada da diyete eklenen alüminyumla Alzheimer modeli oluşturulmuştur. (L:9 mg/kg, H: 20 mg/kg) (40). Ancak biz çalışmamızda doz kaybı yaşanmaması için diyete eklemeyi ve aspirasyona bağlı ölümleri önlemek adına gavajı tercih etmeyip, i.p yolla $AlCl_3$ uygulamasını tercih ettik.

Literatür taramalarına bakıldığında D-galaktozun 100 mg/kg dozunda 7 hafta kullanımı uzaysal hafızayı bozmuş, hipokampustaki nöronlarda apoptozisi, karyopiknozu ve kaspas-3 enzim seviyesini arttırmış, dentat gyrus'daki subgranüler bölgedeki yeni doğan nöronların sayısını düşürmüş, nöronal progenitör hücrelerin göçünü azaltmış ve granüler hücre katmanında yeni doğan nöronlarda ölüm oranını arttırmıştır (48).

Alüminyum (Al) çevrede bulunan yaygın bir metaldir. İnsanların alüminyuma maruziyeti son on yılda artmıştır (75). Epidemiyolojik çalışmalar içme sularındaki Al ile Alzheimer hastalığı arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir ki insan ve hayvan çalışmalarında da alüminyuma maruziyetten sonra öğrenme ve hafızada yetersizlikler oluşmuştur (76,77).

Bizim çalışmamızda kullandığımız dozlar Zong-Zheng Sun ve arkadaşlarının çalışmasında kullandığı ($AlCl_3$ 40 mg/kg ve D-gal 90 mg/kg i.p 90 gün) dozlarla oluşturdukları AH modeline benzemektedir (56). Ancak bizim çalışmamızda uygulama süreci ratların yaşı da düşünülerek 6 hafta olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmalar ışığında bizim çalışmamızda kurulan hayvan modeli ise i.p yolla her gün D-galaktoz: 90 mg/kg ve $AlCl_3$: 40 mg/kg 6 hafta boyunca uygulanarak oluşturulmuştur.

D-Galaktozun hipokampus bölgesinde öğrenme ile ilişkili protein biyosentezini, transportunu, sinyal iletimini etkileyen genlerin regülasyonunu azaltarak sinaptik bozukluğa neden olduğu ve LTP'yi azaltarak uzaysal öğrenme ve hafızada olumsuz etkiler oluşturduğu saptanmıştır (78). Çalışmamızda da bu yönde bir bulgu saptanmıştır. AH olan gruptaki ratların Morris su tankındaki öğrenme deneyinde platformu bulma süresi kontrol grubuna göre daha yavaştır ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir, hedef kadranda geçirilen sürede ise anlamlı bir farklılık saptanmıştır.

Zong-Zheng Sun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da öğrenme deneyi olarak MWM testi kullanılmıştır ve sonuçlarında $AlCl_3$ ve D-gal olan grubun kontrol grubuna göre platformu bulma süresi uzamıştır (56).

Ayrıca Salima Douichene ve arkadaşlarının $AlCl_3$ ve D-gal ile kurduğu AH modelinde de öğrenme deneyi olarak MWM kullanılmış olup Alzheimer grubunun kontrol grubuna göre platformu bulma süresi daha uzundur (54). Bu araştırma da çalışmamızla paralellik göstermiştir.

Çalışmamızda AH+V ve V grubunun da AH grubuna benzer şekilde platformu bulma süreleri uzundur. Araştırmamızda vinposetin öğrenme üzerine herhangi bir olumlu etkisi görülmemektedir. Bir vinkamin derivativesi olan vinposetin, 1978 yılından beri serebrovasküler hastalıklarda kullanılan antioksidan, vasodilatör ve nöroprotektif bir ilaçtır (57).

Ca-Calmodulin bağımlı Fosfodiesteraz-1 inhibisyonu ile serebral dolaşımı artırır ve trombosit agregasyonunu azaltır (59,60). Yapılan literatür taramalarında ratlarda streptozotosin ile oluşturulan AH modelinde vinposetin tedavisinden sonra uygulanan MWM testinde, performansın yeniden iyileştirildiği saptanmıştır. Bu çalışmada 5,10,20 mg olmak üzere vinpocetin üç farklı doz 21 gün süreyle denenmiştir. Bu

dozlar içinde streptozotosin kaynaklı hafıza açığını en iyi düzelten vinposetin dozunun 10 mg/kg olduğu bulunmuştur (61).

Bizim çalışmamızda ise 17 gün boyunca 5 mg/kg vinposetin i.p. uygulanmış olup MWM testinde istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Bu bulgulara bakıldığında çalışmada kullandığımız tedavi dozu yetersiz kalmış olabilir.

Histolojik olarak değerlendirilmesine bakıldığında AH'nın en belirgin iki patolojik bulgusundan biri olan amiloid plaklar deney grubunda saptanabilmiştir. Kullanılan bu maddelerin doz ve uygulama süresine bakıldığında kurulan ilk modeldir. Bu nedenle bundan sonraki çalışmalarımızda da deneysel hayvan modeli olarak bu yöntemin kullanılması önemli bir basamak teşkil etmektedir.

Salima Douichene ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada histolojik sonuçlara bakıldığında kontrol grubunda nöron kaybı olmazken, deney gruplarında nöronların sitoplazmaları çökmüş, çekirdeklerinde koyu lekeler saptanmış, nörofibriler dejenerasyonla birlikte nöron ve hipokampus kaybı saptanmıştır (54). Bizim çalışmamızda kurulan modelin de histolojik parametrelerle desteklenmesi için elektron mikroskopunda incelemeler yapılmış ve deney grubuna ait beyin dokularında konjesyon ve hemoraji oluşmuş olup, hipokampus bölgesi ise normal görünümündedir. Bununla birlikte korteks alanında ise senil plaklarla uyumlu alanlar saptanmıştır. Ancak bizim çalışmamız da model oluşturmak için uygulanan ilaç süresi 6 hafta olduğu için hipokampusa ilişkin bulgulara rastlanılamamış olabilir.

Çünkü literatüre bakıldığında alt ila on hafta boyunca 60 mg/kg dozunda D-galaktoz uygulanan sıçanların öğrenme ve hafıza kapasitelerinde ilerleyen bir bozulmanın olduğu izlenirken, beyinde serbest radikallerin arttığı, aynı zamanda bazal ön beyin ve hipokampusdaki kolinerjik nöronların azaldığı tespit edilmiştir (49).

D-galaktoz normal koşullarda glukoz-1-fosfata dönüşürken yüksek seviyede serbest D-galaktoz birikimi ikincil bir yolak ile galaktitol (aldoz redüktaz) ya da galaktonat (oksidasyon) oluşmasına sebep olur. Galaktoz-1-fosfat, galaktitol ve galaktonat gibi zararlı bileşiklerin seviyesinin yükselmesi süperoksit anyonu ve ROS oluşumuna neden olmaktadır (79).

Ayrıca histolojik incelemede vinposetin ile tedavi edilen grupta da senil plak ile uyumlu alanlara rastlanılmıştır. Kaynaklar incelendiğinde, ikincil haberci kaynaklı sinyalizasyon ve sonuç olarak hafıza ve öğrenmeyi de kapsayan yolları etkilemenin

yollarından biri fosfodiesteraz enzim inhibitörünü arttırmaktır. Vinposetin, rat beyinde cAMP (80,81,82) ve cGMP (83,84) seviyelerini önemli oranda arttıran güçlü bir fosfodiesteraz enzim inhibitörüdür. Yapılan çalışmalarda da bu gibi özelliklerin doğrulanması vinposetinin fosfodiesteraz enzim inhibitörü olarak nörolojik hastalıklarda klinik kullanımını açıklamaktadır (61). Vinposetinin klinik kullanımı kesin kanıtlara dayanmamakla birlikte AH'de faydaları olacağı açıklanan çalışmalar olmuştur. Vinposetinin klinik deneylerde en fazla 60 mg dozunun tolere edilebildiği rapor edilmiştir (85).

Ancak bizim çalışmamızda ilginç olan bulgu ise sadece vinposetin alan grubun da korteks tabakasında pozitif boyanan alanlar belirlenmiştir.

Thal ve arkadaşlarının geçmişte yapmış olduğu çalışmada vinposetin AH olan insanlar üzerinde klinik deneyim olarak sadece 15 hasta üzerinde artan tedavi dozları ile (30-45-60 mg) 1 yıl süreyle pilot çalışma olarak yapılmıştır. Ancak bu dozların hiçbirinde klinik olarak izlenen bilişsel, nöropsikolojik testler ve genel izleyiş üzerinde pozitif bir etki görülmemiştir (86). Yine yapılan bir çalışmada 1990 öncesi kötü durumda olan demans hastaları tespit edilmiş, ancak hastalardan çok az bir kısmı 6 ay veya daha uzun süreyle takip edilebilmiştir. Klinik olarak faydası görülse de popülasyonun yetersiz olması ve vinposetinin yararlı etkileri için kanıtların yetersiz olması nedeniyle klinik kullanımı desteklenmemiştir (87).

Sonuç olarak çalışmamızda; Alzheimer modeli başarılı olarak oluşturuldu. Histolojik inceleme de senil plakların görülmesi bunu doğruladı. Vinposetinin 17 gün süreyle 5 mg/kg dozu tedavide etkili olmadı. Daha yüksek dozlarda uygulama için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Vinposetin uygulanan hayvanların korteks tabakasında görülen senil plakların yaşa bağlı mı yoksa başka bir nedenle mi oluşup oluşmadığını tespit etmek için de ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

1. Kawas CH. Epidemiology of Alzheimer's Disease. In: Dementia Update. American Academy of Neurology Press, USA, 1997: 23-38
2. Ferri CP, Prince M, Brayne C, et al. Global prevalence of dementia: A Delphi consensus study. Lancet 2005; 9503: 2112-2117
3. Alzheimer A, Stelzmann RA, Schnitzlein HN, Murtagh FR. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkankung der Hirnrinde". Clin Anat 1995; 8: 429-431
4. Perkins P, Annegers JF, Doody RS, et al. Incidence and prevalence of dementia in a multiethnic cohort of municipal retirees. Neurology 1997; 49: 44-50
5. Gürvit Hİ. Demans Sendromu, Alzheimer Hastalığı ve Alzheimer Dışı Demanslar (1. baskı) , Bahar SZ ve Öge AE (Edt) , Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2004: 367-415
6. Hofman A, Schulte W, Tanja TA, et al. History of dementia and Parkinson's disease in 1st-degree relatives of patients with Alzheimer's disease. Neurology 1989; 39 : 1589-1592
7. Skoog I, Nilsson L, Palmertz B, et al. A population-based study of dementia in 85-year-olds. N Engl J Med 1993; 328: 153-158
8. Bickel H, Kurz A. Education, occupation, and dementia: the Bavarian school sisters study. Dement Geriatr Cogn Disord 2009; 27: 548-556
9. Gurvit H, Emre M, Tinaz S, et al. The prevalence of dementia in an urban Turkish population. Am J Alzheimers Dis Other Demen 2008; 23: 67-76
10. Topçuoğlu ES, Selekler K. Alzheimer Hastalığı. Turkish Journal of Geriatrics 1998; 1: 63-67
11. Selekler K. Aloıs Alzheimer and Alzheimer's Disease. Turkish Journal of Geriatrics-Turk Geriatri Dergisi 2010; 13: 9-14
12. Mesulam M. Brain, mind, and the evolution of connectivity. Brain Cogn 2000; 42: 4-6

13. Terry RD, Davies P. Dementia of the Alzheimer type. *Annu Rev Neurosci* 1980; 3: 77-95
14. Tournoy KG, Rintoul RC, van Meerbeeck JP, et al. EBUS-TBNA for the diagnosis of central parenchymal lung lesions not visible at routine bronchoscopy. *Lung Cancer* 2009; 63: 45-49
15. Baysal Aİ, Yeşilbudak Z. Alzheimer Hastalığı'nın Klinik Bulguları. *Nöroloji. Türkiye Klinikleri* 2003; 1: 1-5
16. Şahin HA. Alzheimer hastalığının klinik belirtileri ve seyri. *Türkiye Klinikleri* 2009; 2: 31-35
17. Lopes JP, Oliveira CR, Agostinho P. Cell cycle re-entry in Alzheimer's disease: a major neuropathological characteristic? *Curr Alzheimer Res* 2009; 6: 205-212
18. Ellison A, Walsh V. Perceptual learning in visual search: some evidence of specificities. *Vision Res* 1998; 38: 333-345
19. Selkoe DJ. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron* 1991; 6: 487-98
20. Braak H, Braak E. Diagnostic criteria for neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1997; 18: 85-88
21. Chung SH. Aberrant phosphorylation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *BMB Rep* 2009; 42: 467-74
22. Mohandas E, Rajmohan V, Raghunath B. Neurobiology of Alzheimer's disease. *Indian J Psychiatry* 2009; 51: 55-61
23. Miyakawa T, Kimura T, Hirata S, et al. Role of blood vessels in producing pathological changes in the brain with Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 903: 46-54
24. Fisher A. Cholinergic treatments with emphasis on m1 muscarinic agonists as potential disease-modifying agents for Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics* 2008; 5: 433-42
25. Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature* 2004; 430: 631-639
26. Americano J. [Some problems of the Universidade de Sao Paulo]. *Arq Fac Hig Saude Publica Univ Sao Paulo* 1959; 13: 13-16
27. Kelley BJ, Petersen RC. Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurol Clin* 2007; 25: 577-609
28. Waldemar G, Dubois B, Emre M, et al. Recommendations for the diagnosis and management of Alzheimer's disease and other disorders associated with dementia: EFNS guideline. *Eur J Neurol* 2007; 14: 26

29. Bassil N, Grossberg GT. Novel regimens and delivery systems in the pharmacological treatment of Alzheimer's disease. *CNS Drugs* 2009; 23: 293-307
30. Lleo A, Greenberg SM, Growdon JH. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annu Rev Med* 2006; 57: 513-533
31. Didier F. A new upper bound on the block error probability after decoding over the erasure channel. *Ieee Transactions on Information Theory* 2006; 52: 4496-4503
32. Michaelis ML. Ion transport systems and Ca²⁺ regulation in aging neurons. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 747: 407-418
33. Reisberg B, Doody B, Stoffler A, et al. Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2003; 348: 1333-1341.
34. Cagnin A, Brooks DJ, Kennedy AM, et al. In-vivo measurement of activated microglia in dementia. *Lancet* 2001; 358: 461-467
35. Firuzi O, Pratico D. Coxibs and Alzheimer's disease: should they stay or should they go? *Ann Neurol* 2006; 59: 219-228
36. Yamada K, Nabeshima T. Animal models of Alzheimer's disease and evaluation of anti-dementia drugs. *Pharmacol Ther* 2000; 88: 93-113
37. Pendlebury WW, Beal MF, Kowall NW, Solomon PR. Neuropathologic, neurochemical and immunocytochemical characteristics of aluminum-induced neurofilamentous degeneration. *Neurotoxicology* 1988; 9: 503-510
38. Stepanichev MY, Onufriev MV, Yakovlev AA, et al. Amyloid-beta (25-35) increases activity of neuronal NO-synthase in rat brain. *Neurochem Int* 2008; 52: 1114-1124
39. Yokel RA. Aluminum chelation: chemistry, clinical, and experimental studies and the search for alternatives to desferrioxamine. *J Toxicol Environ Health* 1994; 41: 131-74
40. Walton, J.R., An aluminum-based rat model for Alzheimer's disease exhibits oxidative damage, inhibition of PP2A activity, hyperphosphorylated tau, and granulovacuolar degeneration. *J Inorg Biochem* 2007; 101: 1275-1284
41. Yassin N, El-Shenawy S, Mahdy K, et al. Effect of *Boswellia serrata* on Alzheimer's disease induced in rats. *Journal of the Arab Society for Medical Research* 2013; 8: 1-11
42. Games D, Adams D, Alessandrini R, et al. Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein. *Nature* 1995; 373: 523-527
43. Bales KR, Verina T, Dodel RC, et al. Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid beta-peptide deposition. *Nat Genet* 1997; 17: 263-264

44. Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, et al. Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* 1996; 274: 99-102
45. Giovannini MG, Scali C, Prosperi P, et al. Beta-amyloid-induced inflammation and cholinergic hypofunction in the rat brain in vivo: involvement of the p38MAPK pathway. *Neurobiol Dis* 2002; 11: 257-274
46. Chen GJ, Xu J, Lahousse SA, et al. Transient hypoxia causes Alzheimer-type molecular and biochemical abnormalities in cortical neurons: potential strategies for neuroprotection. *J Alzheimers Dis* 2003; 5: 209-228
47. de la Monte SM, Neely TR, Cannon J, Wands JR. Oxidative stress and hypoxia-like injury cause Alzheimer-type molecular abnormalities in central nervous system neurons. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57: 1471-1481
48. Cui X, Zuo P, Zhang Q, et al. Chronic systemic D-galactose exposure induces memory loss, neurodegeneration, and oxidative damage in mice: protective effects of R-alpha-lipoic acid. *J Neurosci Res* 2006; 84: 647-654
49. Hua X, Lei M, Zhang Y, et al. Long-term D-galactose injection combined with ovariectomy serves as a new rodent model for Alzheimer's disease. *Life Sci* 2007; 80: 1897-1905
50. Long J, Wang X, Gao H, et al. D-galactose toxicity in mice is associated with mitochondrial dysfunction: protecting effects of mitochondrial nutrient R-alpha-lipoic acid. *Biogerontology* 2007; 8: 373-381
51. Lu J, Zheng YL, Luo L, et al. Quercetin reverses D-galactose induced neurotoxicity in mouse brain. *Behav Brain Res* 2006; 171: 251-260
52. Şahin Ö, Vurgun U, Yılmaz O, Sönmez A, Dayı A, Yener G, Genç Ş. D- Galaktoz Enjeksiyonu İle İn-Vivo Olarak Oluşturulan Deneysel Alzheimer Hayvan Modelinde Eritropoetin'in Terapötik Etkisi. *Turkish Journal of Geriatrics* 2010; 13: 145-149
53. Arendt T, Holzer M, Grossmann A, et al. Increased expression and subcellular translocation of the mitogen activated protein kinase kinase and mitogen-activated protein kinase in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1995; 68: 5-18
54. Douichene S, Djebli N, Zerrouki K. Neuroprotective effect of curcumin with a fixator of absorption against both aluminium neurotoxicity and alzheimer's disease (Experimental Studies In Mice). *IJPSR* 2012; 3: 4514-4519
55. Pan R, Qui S, Lu DX, Dong J, et al. Curcumin improves learning and memory ability and its neuroprotective mechanism in mice. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121: 832-839

56. Sun ZZ, Chen ZB, Jiang H, et al. Alteration of Abeta metabolism-related molecules in predementia induced by AlCl₃ and D-galactose. *Age (Dordr)* 2009; 31: 277-284
57. Bereczki D, Fekete I. A systematic review of vinpocetine therapy in acute ischaemic stroke. *Eur J Clin Pharmacol* 1999; 55: 349-352
58. Molnar P, Erdo SL. Vinpocetine is as potent as phenytoin to block voltage-gated Na⁺ channels in rat cortical neurons. *Eur J Pharmacol* 1995; 273: 303-306
59. Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev* 1995; 75: 725-748
60. Chiu PJ, Tetzloff G, Ahn HS, et al. Comparative effects of vinpocetine and 8-Br-cyclic GMP on the contraction and ⁴⁵Ca-fluxes in the rabbit aorta. *Am J Hypertens* 1988; 1: 262-268
61. Deshmukh R, Sharma V, Mehan S, et al. Amelioration of intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive dysfunction and oxidative stress by vinpocetine -- a PDE1 inhibitor. *Eur J Pharmacol* 2009; 620 : 49-56
62. Conde CA, Costa V, Tomaz C. Measuring emotional memory in the elevated T-maze using a training-to-criterion procedure. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 63: 63-69
63. Dellu F, Fauchey F, Le Moal M, Simon H. Extension of a new two-trial memory task in the rat: influence of environmental context on recognition processes. *Neurobiol Learn Mem* 1997; 67: 112-120
64. Harro J, Haidkind R, Harro M, et al. Chronic mild unpredictable stress after noradrenergic denervation: attenuation of behavioural and biochemical effects of DSP-4 treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999; 10: 5-16
65. Huang LT, Yang SN, Liou CW, et al. Pentylentetrazol-induced recurrent seizures in rat pups: time course on spatial learning and long-term effects. *Epilepsia* 2002; 43: 567-573
66. Stafstrom CE, Choropoulos A, Thurber S, et al. Age-dependent cognitive and behavioral deficits after kainic acid seizures. *Epilepsia* 1993; 34: 420-432
67. Gortz N, Lewejohann L, Tomm M, et al. Effects of environmental enrichment on exploration, anxiety, and memory in female TgCRND8 Alzheimer mice. *Behav Brain Res* 2008; 191: 43-48
68. Gallagher M, Burwell R, Burchinal M. Severity of spatial learning impairment in aging: development of a learning index for performance in the Morris water maze. *Behav Neurosci* 1993; 107: 618-626

69. Faes C, Aerts M, Geys H, et al. Modeling spatial learning in rats based on Morris water maze experiments. *Pharm Stat* 2010; 9: 10-20
70. Morris RGM, Tarassenko L. *Cognitive system : information processing meets brain science*, Elsevier (Edt), Amsterdam, 2006: 310
71. Sharma VK. Morris Water Maze- A versatile Cognitive Tool. *J Biosci Tech* 2009; 1: 15-19
72. Gilman S. Alzheimer's disease. *Perspect Biol Med* 1997; 40: 230-245
73. van Groen T, Kadish I. Transgenic AD model mice, effects of potential anti-AD treatments on inflammation and pathology. *Brain Res Brain Res Rev* 2005; 48: 370-378
74. Kantar D. Deneysel Alzheimer Modelinde Oluşan Komplikasyonlara Rosmanirik Asidin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Antalya 2009: 35
75. Silva VS, Cordeiro JM, Matos MJ, et al. Aluminum accumulation and membrane fluidity alteration in synaptosomes isolated from rat brain cortex following aluminum ingestion: effect of cholesterol. *Neurosci Res* 2002; 44: 181-93
76. Rondeau V, Iron A, Letenneur L, et al. Analysis of the effect of aluminum in drinking water and transferrin C2 allele on Alzheimer's disease. *Eur J Neurol* 2006; 13: 1022-1025
77. Wu TY, Chen CP, Jinn TR, Traditional Chinese medicines and Alzheimer's disease. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2011; 50: 131-135
78. Crouch PJ, Hung LW, Adlard PA, et al. Increasing Cu bioavailability inhibits Abeta oligomers and tau phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci* 2009; 106: 381-386
79. Gibson JB, Gonadal function in galactosemics and in galactose-intoxicated animals. *Eur J Pediatr* 1995; 154: 14-20
80. Kiss A, Borsosova D. Morphological study on the central subdivision of the rat hypothalamic ventromedial nucleus. *Anat Anz* 1982; 152: 113-124
81. Rosdy B, Balazs M, Szporny L. Biochemical effects of ethyl apovincamate. *Arzneimittelforschung* 1976; 26: 1923-1926
82. van Staveren WC, Markerink-van Ittersum M, Steinbusc HW, et al. The effects of phosphodiesterase inhibition on cyclic GMP and cyclic AMP accumulation in the hippocampus of the rat. *Brain Res* 2001; 888: 275-286
83. Hagiwara M, Endo T, Hidaka H. Effects of vinpocetine on cyclic nucleotide metabolism in vascular smooth muscle. *Biochem Pharmacol* 1984; 33: 453-457

- 84.** Marte A, Pepicelli O, Cavallero A, et al. In vivo effects of phosphodiesterase inhibition on basal cyclic guanosine monophosphate levels in the prefrontal cortex, hippocampus and cerebellum of freely moving rats. *J Neurosci Res* 2008; 86: 3338-3347
- 85.** Kelley BJ, Knopman DS. Alternative medicine and Alzheimer disease. *Neurologist* 2008; 14: 299-306
- 86.** Thal LJ, Salmon DP, Lasker B, et al. The safety and lack of efficacy of vinpocetine in Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc* 1989; 37: 515-520
- 87.** Szatmari SZ, Whitehouse PJ. Vinpocetine for cognitive impairment and dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2003: 24-32

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

ETİK KURULUN ADRESİ : Erc.Üni. Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi

Tarih: 15.08.2012

Toplantı Sayısı: 08

Karar No: 12/85

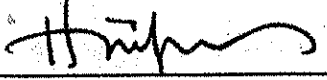
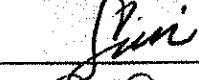
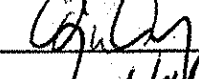
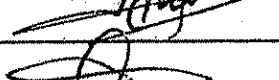

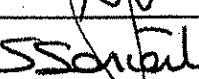
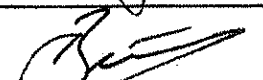

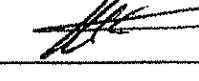
Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul

15.08.2012

tarihinde

Prof.Dr.Harun ÜLGER

Başkanlığı'nda toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Unvanı	Bölümü	İmza
Harun Ülger	Prof. Dr	Tıp Fakültesi	
Abdullah İnci	Prof. Dr.	Vet. Fakültesi	
Özlem Canöz	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Hatice Özbilge	Prof. Dr.	Ecz. Fakültesi	
Coşkun Tez	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Fusun F. Erdoğan	Doç. Dr	Tıp Fakültesi	
Serpil Sarıözkan	Doç. Dr.	DEKAM	
M. Betül Aycan	Yrd. Doç. Dr.	Ecz. Fakültesi	
Servet Kesim	Yrd. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	Katılmadı
Ahmet Öztürk	Yrd. Doç. Dr	Tıp Fakültesi	
Asiye Gökbelen	Yar. Sevenler Der. Baş.	Sivil top. kuruluşu temsilcisi	Katılmadı
Serap A. Eroğlu	Avukat	Kurumla ilişkisi olmayan üye	Katılmadı

Üniversitemiz Tıp Fakültesinden Prof.Dr.Nazan DOLU tarafından sunulan "D-GALAKTOZ VE ALÜMİNYUMLA ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA VİNPOSETİNİN ÖĞRENME ÜZERİNE ETKİLERİ" adlı araştırma projesi incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi.


Tarih : 15.08.2012

Etik Kurul Başkanı : Prof.Dr.Harun ÜLGER

İmzası



ASLININ AYNI DİR



Prof. Dr. Harun ÜLGER
Erciyes Üniversitesi
Hayvan Deneyleri
Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Seda GÜNDÜZ

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 28.08.1989, SİVAS

Medeni Durumu: Bekar

Tel: +905308842460

email: seda.gunduz@bozok.edu.tr

Yazışma Adresi: Bozok Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO- YOZGAT

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üni. Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD	2014
Lisans	Gazi Osman Paşa Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu	2011
Lise	Sağlık Meslek Lisesi Sivas	2007

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2011-Halen	Bozok Üniversitesi SHMYO	Öğretim Görevlisi
2009-2011	Sivas Yıldızeli Devlet Hastanesi	Ebe- Hemşire

YABANCI DİL

İngilizce