



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALZHEİMER HASTALARINDA SERUM LEPTİN
DÜZEYİ VE LEPTİN GEN c.-2548 G>A
POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI**

İBRAHİM SEYFETTİN ÇELİK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2016

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

ALZHEİMER HASTALARINDA SERUM LEPTİN
DÜZEYİ VE LEPTİN GEN c.-2548 G>A
POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI

İBRAHİM SEYFETTİN ÇELİK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Ramazan GÜNEŞAÇAR

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Seyithan TAYSI

KAHRAMANMARAŞ-2016

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi İBRAHİM SEYFETTİN ÇELİK tarafından hazırlanan “ALZHEİMER HASTALARINDA SERUM LEPTİN DÜZEYİ VE LEPTİN GEN c.-2548G>A POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı bu tez, jürimiz tarafından 15/01/2016 tarihinde oy birliği ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN (Danışman)

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı KSÜ

Prof. Dr. Ramazan GÜNEŞAÇAR (Üye)

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı KSÜ

Prof. Dr. Seyithan TAYSI (Üye)

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Gaziantep Üni.

Yukarıdaki imzaları adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Doç. Dr. Mehmet BOŞNAK

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İBRAHİM SEYFETTİN ÇELİK

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Kurulu tarafından desteklenmiştir.

Proje No:2014/4-2YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN' a,

Her türlü katkı ve desteklerinden dolayı KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Metin KILINÇ' a, KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ' a, ve KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ahmet ÇELİK' e,

Labaratuvar çalışmalarım sırasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ramazan GÜNEŞAÇAR' a, KSÜ Doku Tipleme ve Genetik Laboratuvarı Sorumlu Yardımcısı Doç. Dr. Emel ŞAHİN' e,

Tezimin her aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen KSÜ Nöroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Deniz TUNCEL' e, ve Necip Fazıl Kısakürek Devlet Hastanesi Nöroloji Doktoru Buket TUGAN YILDIZ' a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda bana destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli dostlarım Araş. Gör. Nuray ÜREMİŞ'e, Araş. Gör. Muhammed ÜREMİŞ'e ve Araş. Gör. Ferit CAN YAZDIÇ'a,

Eğitimim boyunca labaratuvar çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm KSÜ Doku Tipleme ve Genetik Labarotuvarı çalışanlarına,

Çalışmalarım boyunca bana rahat ve huzurlu bir çalışma ortamı sağlayan, her zaman sevgi ve desteklerini yanımda hissettiğim sevgili aileme teşekkür ederim.

Bu araştırma, 2014/4-2 YLS kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Tarafından desteklenmiştir.

OCAK 2016

İbrahim Seyfettin ÇELİK

**ALZHEİMER HASTALARINDA SERUM LEPTİN DÜZEYİ VE LEPTİN GEN c.-
2548 G>A POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

İBRAHİM SEYFETTİN ÇELİK

ÖZET

Alzheimer hastalığı, hafif-orta-ağır bellek bozukluğu ile beraber dil, idarecilik, karar verme işlevlerinde, dikkatte, oryantasyonda ve kişilikte bozukluklar, edinilmiş entelektüel becerilerde progresif bir kayıp ile kendini gösteren ilerleyici ve fatal nörodejeneratif bir hastalıktır. Yapılan son çalışmalarda Alzheimer hastalığının fizyopatolojisinde leptin hormonunun önemli rolü olduğuna ilişkin bilgiler mevcuttur.

Leptin adipöz dokudan salınan peptit yapısında bir hormondur. Leptinin beyin üzerinde kavrama ve yaşlılıkla ilişkili çok çeşitli etkisi bulunmaktadır. Son çalışmalarda hipokampal gelişimi ve fonksiyonu üzerinde öğrenme ve hafıza süreçleri gibi leptinin etkisinin belirleyici olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yapılan diğer çalışmalarda plazma leptin seviyesinin kognitif bozukluklarla ilişkisi bulunmuştur. Yüksek leptin seviyesiyle demans riskinin azalması arasında ilişki belirtilmiştir.

Yapılan çalışmalarda kan yağlarının Alzheimer hastalığı için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada Alzheimer hastalığında serum leptin düzeyi ve leptin gen c.-2548 G>A polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmak amaçlanmıştır. Bunun için Alzheimer tanısı konmuş 61 hasta ve nörodejeneratif hastalığı olmayan 60 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Total kolesterol, HDL, LDL, VLDL ve Trigliserit değerleri ölçülerek kan yağ değerlerinin serum leptin düzeyi ve leptin gen c.-2548 G>A ilişkisi incelenmiştir.

Araştırmamıza göre kontrol ve hasta grupları arasında genotipler bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Hasta ve kontrol grupları arasında serum leptin düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,0001$). Kan yağ değerleri düzeyleri kontrol ve hasta gruplarının karşılaştırılmasında LDL, Trigliserit, Total Kolesterol ve VLDL ölçüm değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Anahtar Kelimeler: Alzheimer Hastalığı, Leptin

Sayfa Adedi: 44

Danışman: Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN

STUDY OF CORRELATION BETWEEN ALZHEIMER PATIENT SERUM LEPTIN LEVEL AND LEPTIN GENE -2548 G/A POLYMORPHISM.

(M.Sc. THESIS)

İBRAHİM SEYFETTİN ÇELİK

SUMMARY

Alzheimer's disease is a progressive neurodegenerative condition with mild to severe memory deficiency which effects the language, cognitive decision making capacity, concentration, orientation and characteristic changes with the lost of intellectual abilities of an individual. From the latest physiopathological studies, leptin hormone was seen to be involved in important aspect of Alzheimer's disease.

Leptin is a peptide hormone that is secreted from the adipose tissues. Leptin plays an important role on the brane and has many effects on the aging process. Latest studies show the leptin effect on hippocampal growth and function which effect the memory process. Other studies have also portrayed correlation between plasma leptin levels with cognitive disorders. High levels of leptin have shown demans risk to be lowered.

In the studies conducted, fat levels in the blood have depicted a risk factor for Alzheimer's disease. The objective of this study was to show the relationship between serum leptin levels and leptin gene -2548 G/A polymorphism on alzheimer patients. 61 alzheimer patients and 60 healthy individuals without neurogenerative disease have been included in this study. Using centrifuge to separate the plasma for leptin serum levels from 8 ml blood collected in EDTA tubes from fasting individuals, ELISA method was used. The remaining cell blood elements was used in salting out to extract DNA for leptin gen -2548 G>A polymorphism study. After modifying the RCR-RFLP method to meet our laboratory requirements used by Gotoda and friends, leptin gene promoter area was depicted for c.-2548G/A polymorphism. Total cholesterol, HDL, LDL, VLDL and triglyceride levels were used to determine the relationship between serum fat levels in the blood to leptin gene -2548 G>A.

In studies conducted between the patient and control group, there has been no correlation of the genotypical or allele gene frequency that was found to be statistically significant. Statistical significance was found between serum leptin levels in terms of patient and control groups ($p=0,0001$) The control and AD group blood fat levels of LDL, triglyceride, total colesterol and VLDL levels were statisticly significant. ($p<0.05$)

Key Words: Leptin, Alzheimer's Disease

Page Number : 44

Supervisor : Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	I
ÖZET	II
SUMMARY	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Alzheimer Hastalığı.....	3
2.1.1. Alzheimer hastalığı için olası risk faktörleri.....	5
2.1.1.1. Yaş	5
2.1.1.2.Cinsiyet.....	5
2.1.1.3. Genetik.....	6
2.1.1.4. Down sendromu	6
2.1.1.5. Diğer risk faktörleri.....	6
2.2. Leptin.....	9
2.2.1. Leptinin fonksiyonları	10
2.2.2. Leptin, inflamasyon ve immün sistem.....	10
2.2.3. Leptin cinsiyet ilişkisi.....	11
2.2.4.Leptin Sekresyonunun Regülasyonu	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM	12
3.1. Gereç.....	12
3.1.1. Vaka seçimi	12
3.2.Deneylerde Kullanılan Cihazlar.....	12
3.3. Deneylerde kullanılan kimyasallar	13
3.4. Yöntem	14
3.4.1. Serum leptin düzeyinin ölçümü	14
3.4.2. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü.....	14
3.4.3. Deneylerde kullanılan solüsyonların hazırlanması	14
3.4.3.1.Stok solüsyonlar	14
3.4.3.2. DNA ekstraksiyon solüsyonları	15
3.4.3.3. Elektroforetik analiz solüsyonları.....	16

3.4.4. DNA ekstraksiyonu.....	16
3.4.5. DNA konsantrasyonunun belirlenmesi.....	18
3.4.6. PCR-RFLP (polimer zincir reaksiyonu-restriksiyon parçacık uzunluk polimorfizmi) yöntemi ile leptin geninin (LEP) promoter bölgesindeki -2548 G>A polimorfizminin belirlenmesi	18
3.4.7. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi.....	19
3.4.8. Leptin geni promoter bölgesindeki -2548 G/A polimorfizminin PCR-RFLP tekniği ile saptanmasında kullanılan primer dizileri	20
3.4.9. PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi.....	20
3.5. İstatistiksel Analiz.....	21
4. BULGULAR.....	22
5. TARTIŞMA.....	30
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	33
7. KAYNAKLAR	35
8. ŞEKİLLER RESİMLER DİZİNİ.....	41
9. TABLOLAR LİSTESİ.....	42
10. EKLER	43
11. ÖZ GEÇMİŞ	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

AH	:	Alzheimer Hastalığı
BKİ	:	Beden Kitle İndeksi
HDL	:	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
LDL	:	Düşük Dansiteli Lipoprotein
PCR	:	Polimer Zincir Reaksiyonu
RFLP	:	Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi
TG	:	Trigliserit
VLDL	:	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer hastalığı hafızada ve kognitif fonksiyonlarda bozukluk, günlük yaşam aktivitelerinde ilerleyici gerileme, çeşitli nöropsikiyatrik semptomlar ve davranış bozukluklarıyla karakterize olan ve gerek kişide neden olduğu ciddi morbidite, artmış mortalite ve gerekse hastaya bakan kişilere yüklediği ağır yük ve sigorta sistemlerine getirdiği ekonomik yük nedeniyle önemli bir halk sağlığı problemidir (1, 2, 3).

Alzheimer hastalığı, kalp hastalıkları ve kanserden sonra sağlık hizmetlerinde maliyeti en yüksek 3. sırada olan hastalıktır(4). Gelişmiş ülkelerde ortalama yaşam süresinin artması sonucunda, yaşlı populasyon ile ilişkili hastalıkların sıklığında da artış gözlenmiştir. Tüm nörodejeneratif hastalıklarda, özellikle de demansta, yaş önemli faktördür. Demansın Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ekonomisine maliyeti yılda 100 milyar doların üzerindedir. Gelecek 20 yıl içinde demans insidansının iki katına çıkacağı ve maliyetin yılda 380 milyar doları geçeceği ön görülmektedir. Bu yüzden AH'nın fizyopatolojisini ve etkin tedavi stratejilerini bulmaya yönelik önemli çalışmalar vardır (5,6).

Leptinin beyin üzerinde kavrama ve yaşlılıkla ilişkili çok çeşitli etkisi bulunmaktadır. Son çalışmalarda leptinin hipokampal gelişimi ve fonksiyonu üzerinde öğrenme ve hafıza süreçleri gibi etkisinin belirleyici olduğu gösterilmiştir (7).

Leptin, hipokampüste nöronal morfolojinin zenginleştirilmesini de içeren, hipokampal sinaptik esnekliğin yönlendirilmesinin kontrolünde ve nörogenesis ve sinaptik geçirgenliğin artışında rol oynar (8).

Folch ve ark.2012 de yaşlanma üzerine düzenlenen hayvan model çalışmalarında ve Alzheimer hastalığında, leptinin; adipoz dokuda enerjinin dengelenmesinde, beslenme, ekzersiz sırasında kognitif fonksiyonun gelişebileceğini ve yaşla ilgili öğrenmede düşüşü önlemede rol aldığını göstermişlerdir. Bununla birlikte leptinin, amilodojenik sürecin önlenmesiyle nöro koruyucu aktiviteler ortaya çıkarabileceğini ayrıca tau protein fosforilasyonunun seviyesinin azalması ve kavrama fonksiyonunun yükselmesini de ileri sürmüşlerdir (9).

İndirgenmiş leptin sinyalizasyonunda olduğu gibi leptin direnci kan-beyin bariyerinden leptinin taşınmasını tehlikeye sokabilir (10). Bu düşünceye benzer olarak

Bonda ve ark.2014 de serebrofinal sıvıda leptin konsantrasyonunu gözlemlemiştirlerdir (11).

Bu sonuçlar Alzheimer hastalığında nöronalleptin direncinin var olduğunu söyler. Bununla birlikte Rajogapalan ve ark.(2013) kronik olarak yükselmiş plazma leptin seviyeleriyle beyin hacminin küçülmesi arasında leptin direncine göre ilişki kurmuşlardır (12). Ayrıca Khemka 2014 göre serum leptin düzeyi Alzheimer hastalarında demans derecesiyle ters orantılıdır (13).

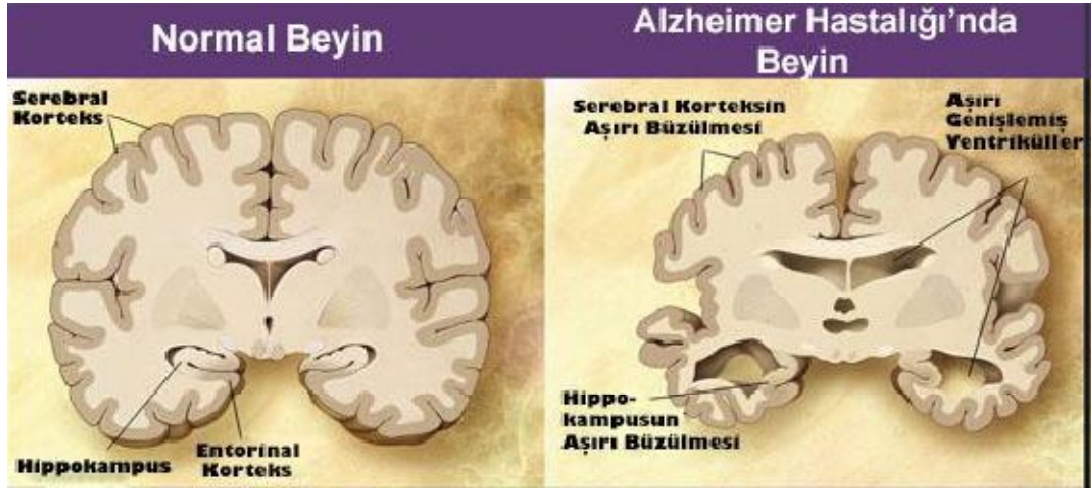
Kolesterol Alzheimer hastalığındaki amiloid plaklarının formasyonu ile yakından ilgilidir. Kolesterol seviyesi ile APP prosesi ve AB-40 toksitesisi arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (13, 14, 15) APP oluşturan enzimlerin yüksek kolesterollü bir ortamda daha aktif çalıştıkları gösterilmiştir. Bu da kolesterolün Alzheimer hastalığında tetikleyen bir faktör olduğu görüşünü desteklemektedir (16).

Bu çalışmada sağlıklı bireyler ile Alzheimerlı hastalardan alınan kan örneklerindeki yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL), Trigliserit ve Total Kolesterol seviyeleri analiz edilmiş, her örnekten alınan kandan leptin geni promotör bölgesindeki c.-2548 G>A polimorfizmi belirlenerek bunun serum leptin düzeyi ve kan lipid parametreleri ile ilişkisinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

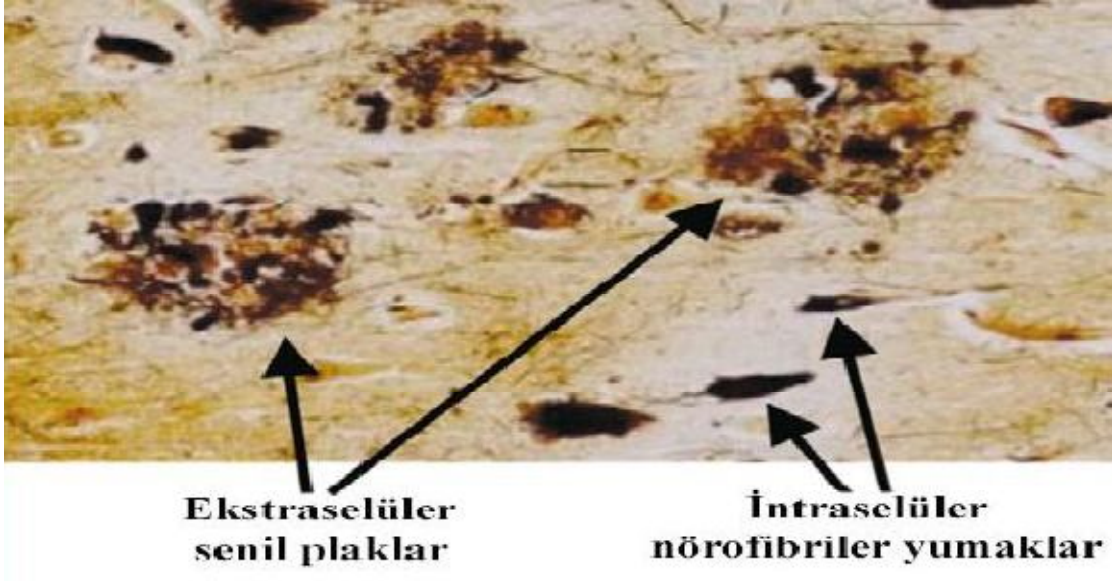
2.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı (AH), hafif-orta-ağır bellek bozukluğu ile beraber dil, idarecilik, karar verme işlevlerinde, dikkatte, oryantasyonda ve kişilikte bozukluklar, edinilmiş entelektüel becerilerde progresif bir kayıp ile kendini gösteren ilerleyici ve fatal nörodejeneratif bir hastalıktır (17).



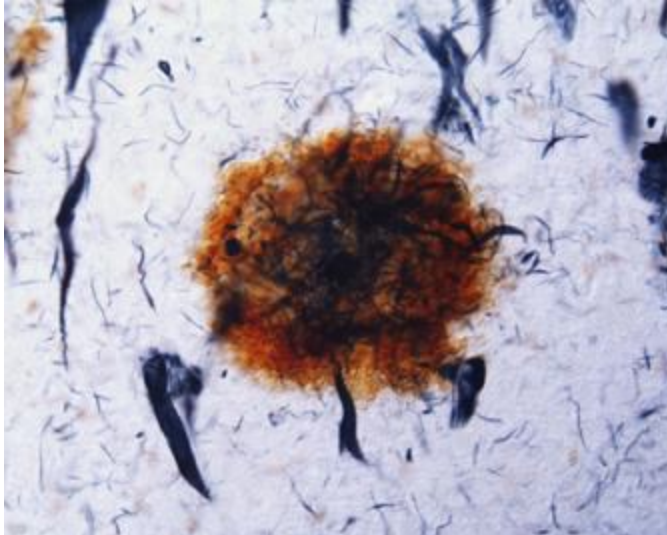
Şekil 1: AH'da beyinde görülen anormallikler (<http://www.wholehealthinsider.com/newsletter/alzheimers-type-3-diabetes/>)

Alzheimer hastalığı, anatomik olarak; neokorteks, entorinal alan, hipokampus, amigdala, nükleusbazalis, anterior talamustaki anormallikler ile (Şekil 1), nöropatolojik olarak ise; nöron kaybıyla birlikte, amiloid β proteininin ($A\beta$) birikiminden oluşan, intraselüler nörofibril yumakları (Şekil 2) ile tanımlanır (18, 19, 20, 21).



Şekil 2: Alzheimer hastalığının patolojik bileşenleri (Blennow ve ark. 2006)

Hafızada ve kognitif fonksiyonlarda bozukluk, günlük yaşam aktivitelerinde ilerleyici gerileme, çeşitli nöropsikiyatrik semptomlar ve davranış bozukluklarıyla karakterize olan alzheimer hastalığı, erken evrede tedavi alanlarda kognitif fonksiyonların ve hayat kalitesinin daha uzun süre korunuyor olması nedeniyle erken evrede tanınması önem arz eden önlenebilen, seyri ve klinik semptomların ortaya çıkması yavaşlatılabilen bir hastalıktır (13, 14, 22).



Şekil 3: AB antikoru ile immün işaretleme yöntemi kullanılarak senil plakların gösterilmesi.

(http://www.usc.edu/programs/neuroscience/faculty/img/52_PikeADhimag.jpg)

AH, ilk kez 1907 yılında Alman nöropatolog ve psikiyatrist Dr. Alois Alzheimer tarafından tanımlanmıştır. Dr. Alois Alzheimer, 4 yıllık ilerleyici bir demans geçmişi olan ve 55 yaşında ölen Auguste Deter isimli hastanın serabral korteksinde hastalığın patolojik özellikleri olan plakları ve nörofibril yumakları gözlemlemiştir. Hastalığın ismi,1910 yılında Dr. Alois Alzheimer'in çalışma arkadaşı olan Emil Kraepelin tarafından verilmiştir (23,24).

2.1.1. Alzheimer hastalığı için olası risk faktörleri

Yaş, kadın cinsiyet, ve aile öyküsü dışında kesinleşmiş risk faktörü yoktur. Yaşlanmayla kognitif kapasitenin nasıl bozulmaya başladığı ile ilgili yapılan "Oregon Brain Aging" çalışmasında yaş, hipokampal volüm, mantıksal düşünme kapasitesi, eğitim seviyesi, Apo-E4 varlığı, yürüme zamanının gecikmesi kognitif kapasite üzerine etkili risk faktörleri olarak saptanmıştır.(22,13)

2.1.1.1. Yaş

Alzheimer hastalığı için değiştirilmesi mümkün olmayan yaş, genetik faktör ile en çok kabul edilen ve çalışmalarla ispatlanmış risk faktörüdür. Alzheimer hastalığı için yaş kesin bir belirleyici olmamakla birlikte yaşın ilerlemesi ile birlikte Alzheimer hastalığının prevalansı ve insidansının çok arttığı gözlemlenmiştir. Bütün yaşlılarda görülmemesi yaşın tek faktör olmadığını göstermektedir. Yaş artıka Alzheimer hastalığına yakalanma olasılığı artmaktadır. 60-65 yaş sonrası her beş yılda bir AH prevalansı iki katına çıkmaktadır (15, 25, 26, 27). 65-70 yaş arasında %5-10 sıklığında bulunan bu hastalık 75-85 arasında %20, 85 yaş üzerinde %40-50 seviyelerine yükselmektedir (13, 14, 15, 26). Doksanlı yaşlardan sonra Alzheimer hastalığı prevalansının plato çizdiği ileri sürülmekte ise de hastalığın görülme sıklığının artmaya devam ettiğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (28,29).

2.1.1.2.Cinsiyet

Cinsiyetin Alzheimer hastalığı riski arasındaki ilişki tartışmalı bir konudur. Çoğu çalışmada Alzheimer hastalığının kadınlarda erkeklere göre iki kat fazla görüldüğü gösterilmişse de, bu, her prevalans ve insidans çalışmasının ulaştığı bir sonuç değildir (28,30).

Alzheimer hastalığının kadınlarda daha sık görülmesinin, kadınların daha uzun yaşamasına bağlı olduğu düşünülmüştür. Yine hastalığın kadınlarda daha sık görülmesinin göreceli olarak kadınlarda eğitim seviyesinin daha düşük olmasına da bağlayan yayınlar vardır (30).

Kadınlar daha uzun yaşadıkları için prevalans yerine insidans rakamlarının daha geçerli olması beklenmektedir. Kadınlarda yıllık demans insidansı erkeklerden daha fazla olarak birçok çalışmada saptanmıştır (31,32).

2.1.1.3. Genetik

Birinci dereceden akraba, anne-baba ya da kardeşte Alzheimer hastalığı varlığının demans riskini 3 kat arttırdığını bildirilmiştir (22,13). Alzheimer hastalığının %2'sini ailevi Alzheimer hastalığı oluşturur. Literatürde otozomal dominant geçişli Alzheimer hastalığı olan ailelerin olduğu bildirilmiştir (33). Ancak tek yumurta ikizlerinde Alzheimer hastalığı konkordansının %100'den az olması, hastalıkta genetik faktörlerin tek başına rol oynamadığı; çevresel faktörlerin ve başka risk faktörlerinin de önemli olduğunu göstermektedir.

Amiloid öncül protein (APP) ve presenilin (PS) genlerinde mutasyonların saptanması ile hastalığın patofizyolojisi anlaşılmaya başlanmıştır. En sık görülen genetik anormallik 21. kromozomdadır (13,22). 21, 14, ve 1. kromozomlarda Apo-E geni için yatkınlık faktörü bulunmaktadır (34).

2.1.1.4. Down sendromu

Amiloid öncül protein (APP) proteinin ve Down sendromunda ki defektin 21. kromozomda bulunması ilginç beraberliktir (13, 22). Down sendromlu hastaların çoğunluğu 40 yaşlarına geldiklerinde Alzheimer hastalığının tüm klinik ve nöropatolojik özelliklerine sahip olmaktadır. Down sendromu ile hem erken hem de geç başlangıçlı Alzheimer hastalığının ailesel birikim gösterdiğini bildiren çalışmalar vardır (13, 15, 22).

2.1.1.5. Diğer risk faktörleri

Apolipoprotein E (Apo-E), senil plağın ortasında bulunur ve inflamatuvar proseslerden etkilenir, polimorfik bir gendir, beyinde özellikle glial hücrelerden izole edilmektedir. Apo-E ile ilişkili nörofibriller de dejenerasyon gelişmektedir. Apo-E4 antioksidan aktiviteyi azaltmaktadır(28). Apo-E2 ve E3 kan beyin bariyerini geçemezken,

E4 senil plakta-beyin omurilik sıvısında (BOS) ve nörofibriller yumakta saptanmıştır. Apo-E4 amiloid birikimini arttırır, aynı zamanda amiloid oluşturan ve izoenzimleri ve öncü maddeleri de arttırır, senil plakların oluşumunu hızlandırır (37).

Geç başlangıçlı sporodik veya ailesel Alzheimer olgularında %99 oranında Apo E4 allelinin bulunduğunu bildiren yayınlar vardır (28,38,39). Apo-E4 alleli bulunan ve bulunmayan demanslı hastalar arasında patolojik farklılıklar bulunmazken, demans başlangıç yaşları arasında belirgin farklar vardır. Apo-E4 artmış AH riski ile ilişkili iken, Apo-E2 azalmış risk ile ilişkilidir (41). Apo-E2 genotipi en az risk taşıırken, Apo-E4 tipi en fazla risk taşımaktadır (22).

Apo-E4 amiloid plakta gösterilmiş ve beyinde amiloid birikimini arttırdığı saptanmıştır. ApoE-4 için tek allel taşınması AH riskini 3.5 kat arttırırken, iki allele sahip olunması riski 9-34 kat arttırmaktadır (25,26).

Kardiyovasküler hastalıklar, çok sayıdaki araştırma vasküler sistemi bozan hastalıkların Alzheimer hastalığı gelişim riskini arttırdığını ortaya koymuştur (28,30).

Alzheimer hastalığında hipokampal atrofi ve kortikal atrofi dışında çok sayıda mikrovasküler yapıda, kan beyin bariyerinde ve serebral kan akımında vasküler değişiklikler gösterilmiştir. Ayrıca Alzheimer hastalarında serebral amyloid anjiyopatisi sık görülmektedir (44).

Öz geçmişinde depresyon öyküsü bulunanlarda AH gelişme riski, depresyon etkisi olmayanlara göre daha fazladır (29,30).

Yaşlılıkta ortaya çıkan depresyon AH için risk faktörüdür. Özellikle demans semptomlarının başlangıcından itibaren 10 yıl içinde tedavi edilmiş depresyon, AH için risk faktörü olarak kabul edilirken, 10 yıldan daha önce ortaya çıkmış depresyon bir risk faktörü olarak kabul edilmemektedir (48).

Çalışmaların çoğu, kafa travmasının AH riskini arttırdığını göstermektedir. Kafa travmasının hangi yolla AH' ye yol açtığı biyolojik mekanizma kesin olarak bilinmemektedir. Ancak travmanın nöronal hasara yol açtığı, bunun β amiloid birikimini arttırdığı, bunların da daha sonra amiloid plaklara dönüştüğü, gerek hayvan gerekse de insan çalışmalarında gösterilmiştir (28,30).

Alzheimer hastalarının beyinlerinde serbest oksijen radikal oluşumunu kolaylaştıran, antioksidan eksikliğine yol açan ve amiloid beta agresyonunu arttıran metallere demir, alüminyum, bakır ve çinko düzeyleri yüksek bulunmuştur (13, 15, 25).

Çinko, amiloid beta'nın stabilizasyonunu bozar ve fibrin oluşumunu arttırır. Senil plaklarda ve nörofibriller yumaklarda çinko artışı gösterilmiştir (41). APP bu metallere bağlanarak serbest radikaller açığa çıkarmaktadır. Bu metallere primer bir sebepten çok, süreci hızlandırıcı faktörler olarak değerlendirilmektedir (42).

IL-1 ve IL-6 Alzheimer progresyonunda rol oynayan önemli stokinlerdir ve Alzheimer hastalarının kortekslerinde IL-6 aşırı ekspresyonu gösterilmiştir (46).

AH patogenezi incelendiğinde mikroglialar tarafından üretilen akut faz proteinlerinde artış dikkati çekmektedir (46). Bu akut faz proteinlerinin tetikleyicisi olan IL-6 ekspresyonunun senil plaklar içerisinde arttığı bildirilmiştir. IL-6 özellikle erken plak formasyonu döneminde etkili bir stokindir. Hastalığın progresyonunda plak etrafındaki immunoreaktiviteyi düzenlediği düşünülmektedir (13,22).

IL-1 ve IL-6 Alzheimer progresyonunda rol oynayan önemli stokinlerdir ve Alzheimer hastalarının kortekslerinde IL-6 aşırı ekspresyonu gösterilmiştir (46).

AH patogenezi incelendiğinde mikroglialar tarafından üretilen akut faz proteinlerinde artış dikkati çekmektedir (46). Bu akut faz proteinlerinin tetikleyicisi olan IL-6 ekspresyonunun senil plaklar içerisinde arttığı bildirilmiştir. IL-6 özellikle erken plak formasyonu döneminde etkili bir stokindir. Hastalığın progresyonunda plak etrafındaki immunoreaktiviteyi düzenlediği düşünülmektedir (13,22).

IL-1 ve IL-6 Alzheimer progresyonunda rol oynayan önemli stokinlerdir ve Alzheimer hastalarının kortekslerinde IL-6 aşırı ekspresyonu gösterilmiştir (46).

AH patogenezi incelendiğinde mikroglialar tarafından üretilen akut faz proteinlerinde artış dikkati çekmektedir (46). Bu akut faz proteinlerinin tetikleyicisi olan IL-6 ekspresyonunun senil plaklar içerisinde arttığı bildirilmiştir. IL-6 özellikle erken plak formasyonu döneminde etkili bir stokindir. Hastalığın progresyonunda plak etrafındaki immunoreaktiviteyi düzenlediği düşünülmektedir (13,22).

Kolesterol AH'ndaki amiloid plaklarının formasyonu ile yakından ilgilidir. Kolesterol seviyesi ile APP prosesi ve AB-40 toksitesi arasında ilişki olduğu

gösterilmiştir (5,6,1). Kolesterol seviyelerinin statinlerle düşürülmesi AH gelişim riskini %70 azalttığını bildiren çalışmalar vardır (13, 15, 26).

Yüksek düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), düşük yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), yüksek Lipoprotein-a (Lip-a) vasküler demans için risk faktörü olarak bilinmektedir ve bu faktörlerin Alzheimer hastalarında da risk faktörü olabileceği konusunda çalışmalar vardır (15).

Framingham çalışmasında 5290 kişi 8 sene takip edilmiş ve 77 kişide demans geliştiği saptanmış ve AH gelişiminde total kolesterol seviyesinin bir risk faktörü olmadığı saptanmıştır (48).

HDL kolesterol seviyesinin yaş, eğitim, ateroskleroz varlığı ve stroke varlığından bağımsız olarak AH ve kognitif kapasitede bozulma için bir risk faktörü olduğu ispat edilmiştir (49).

Trigliserid yüksekliği aterosklerotik kalp hastalığı olmayan demans hastalarında risk faktörü olarak aynı çalışmada gösterilememiştir (49).

Çalışmaların çoğunda düşük eğitim düzeyi Alzheimer hastalığı için bir risk faktörü olarak bildirilmiştir (35). Ayrıca eğitim düzeyi fark etmeksizin fazla bilişsel aktivite gerektirmeyen işlerde çalışan düşük kognitif fonksiyonlu kişiler Alzheimer hastalığı için risk taşırlar (36).

2.2. Leptin

Leptin, ob geni tarafından kodlanan, 16 kDa ağırlığında, çoğunlukla yağ dokusunda, sentezlenen yağ dokusu ile orantılı olarak miktarı artan, protein yapılı bir peptid hormondur (50, 51, 52).

Adını Yunanca leptos kelimesinden alan leptin, sitokinlere benzeyen ve 167 aminoasit içeren protein yapısında bir hormondur. Adipoz dokudan salınan leptin vücudun bir çok alanında görev yaptığı tespit edilmiştir (50,53).

İnsanlarda 7. kromozomun uzun kolunda bulunan (7q31) ob/ob geninde kodlanmıştır. İlk defa ob/ob mutant farelerde bir mutajenik gen ürünü olarak belirlenmiştir (53,54).

Ob geni 3 ekzon ve 2 introndan oluşmuştur ve glukokortikoid yanıt elemanı ile birkaç cAMP yanıt elemanı içerir (53).

Leptin, kanda iki formda bulunur, serbest ve proteine bağlı halde. Leptinin aktivisinden serbest formun sorumlu olduğu düşünülmektedir (55,56).

Leptinin dolaşımdaki yarı ömrü yaklaşık 30 dakikadır ve pulsatif olarak yemeklerden 2-3 saat sonra salgılanır. Diüurnal bir ritmi vardır ve sabah erken saatlerde pik yaparken öğleden sonra en düşük düzeylere iner (57).

2.2.1. Leptinin fonksiyonları

Leptinin, insan ve memelilerde tespit edilen fonksiyonları şunlardır;

- Beslenme davranışının düzenlenmesi
- Metabolizma hızının ayarlanması
- Sempatik sinir sisteminin aktive edilmesi
- Anjiyogenezin uyarılması
- Termoregülasyon
- Büyüme ve gelişmeye etkisi (59).

Bunun yanı sıra leptinin pleiotropik etkileri söz konusudur. Örneğin; endokrin ve metabolik sistemde önemli etkilere sahiptir ve organizma için enerji dengesinin düzenlenmesinde son derece önemlidir. Sitokin sentezinde, monosit-makrofaj aktivasyonunda, yara iyileşmesinde, hematopoezde, üreme sisteminde, hipotalamo-hipofizer aksın işlevinde önemli görevleri vardır (59).

2.2.2. Leptin, inflamasyon ve immün sistem

Leptinin doğal ve edinsel immünette önemli rol oynadığı bilinmektedir. İnfeksiyon/ inflamasyon esnasında leptin düzeyinin artması konağın inflamasyona verdiği yanıtta önemli bir faktör olduğunu düşündürmektedir. Enfeksiyonların seyri sırasında görülen anoreksinin konağın akut faz yanıtı olduğuna inanılmaktadır. Bakteri/virüs ürünleri de proinflamatuvar sitokinlerin interlökinler (IL, tümör nekroz faktörü-alfa-(TNF α), interferonlar) yapımını uyarır. Sitokinler de yağ dokusunda leptin ekspresyonunu artırır. Hem mikrobik ürünler, hem de oluşan sitokinler ve leptin gıda alımını azaltır. Bu nedenle,

inflamasyon sırasında gelişen anoreksiden özellikle TNF- α , IL-1ve IL-6'nın sorulu olduğu ve sitokinlerin bu etkilerinde kısmen leptinin aracılık ettiği düşünülmektedir (60).

2.2.3. Leptin cinsiyet ilişkisi

Kadın ve erkeklerde leptin düzeylerinin farklı olduğu tespit edilmiştir. Kadınlardaki leptin konsantrasyonu genellikle erkeklerden daha fazladır (61,62). Subkutanöz depolar abdominal depolara göre daha fazla leptin eksprese etme ve salgılama kapasitesine sahiptir (63,64).

Kadınlardaki leptin seviyeleri menstrüal siklus esnasında değişim göstermektedir. Leptin seviyeleri ovülasyonda en yüksek seviyelere çıkmakta, luteal fazda yüksek kalmakta ve menstrüasyondan önce düşmektedir (65,66)

Erkeklerde plazma leptin seviyeleri, kan testosteron seviyeleri ile ters orantılıdır, bu da leptin ekspresyonuna testosteronun negatif etkisi olarak düşünülmektedir (67,68).

Yaşlanmayla birlikte erkeklerde testeoteronun azalmasına bağlı olarak leptin seviyesinde artma olur, kadınlarda ise menapoz sonrası leptin seviyelerinde azalma meydana gelir (69).

2.2.4. Leptin Sekresyonunun Regülasyonu

Leptin düzeyinin ana belirleyicisi vücut yağ kitlesi olsa da (70,71) bir çok faktör leptin regülasyonunda rol almaktadır. İnsülin (72), glukokortikoidler (73) ve prolaktin leptin sentezini stümüle ederken, troid hormonları (74) büyüme hormonu (75) somatostatin(76), serbest yağ asitleri (77) uzun süre soğuğa maruz kalma (78) ve katekolaminler (79) leptin üzerinde inhibitör etki gösterirler.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Vaka seçimi

Araştırmaya aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan ve başka nörodejeneratif rahatsızlığı olmayan 61 Alzheimer hastası ile aynı yaş grubuna ait 60 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran hasta ve kontrol gruplarına araştırma hakkında bilgi verildikten ve yazılı onay alındıktan sonra araştırmaya katılmak isteyenlerden sabah aç karnına EDTA'lı ve sarı kapaklı jelli tüplere 10 ar ml kan alınmıştır. Sarı kapaklı jelli tüpler santrifüj edilerek serum kısmı ayrıştırılıp analizler yapılana kadar -20 °C de saklanmıştır. Leptin gen polimorfizmi çalışması için ise EDTA'lı tüplere alınan kanlar çalışma gününe kadar -20 de muhafaza edilmiştir. Araştırma kapsamına alınan Alzheimer ve sağlıklı kontrol gruplarının obez olmamasına dikkat edilmiştir.

3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Tablo 1. Deneylerde kullanılan cihazlar

Cihaz	Marka	Model	Üretim Tarihi	
Thermomixer	Eppendorf AG	Thermostat plus	2009	Almanya
Pipet	Eppendorf	Research Plus 10 µl	2012	Almanya
Pipet	Eppendorf	Research Plus 100 µl	2012	Almanya
Pipet	Eppendorf	Research Plus 1000 µl	2012	Almanya
Pipet	Eppendorf	Research Plus 10 µl (8kanallı)	2012	Almanya
pH metre	Thermo Scientific	Orion Star A211	2013	ABD
Su Banyosu	Wisd	WiseBath WSB-30	2013	G. Kore
Vorteks	Wisd	WiseMix VM-10	2013	G. Kore
Manyetik Karıştırıcı	Fisher Scientific	11-102-50SH	2013	ABD
Hassas Terazi	OHAUS	Adventurer Pro AV264C	2013	İsviçre
Biogüvenlik Kabini	ESCO	Class II BSC/AC2-4E8	2013	Singapur
Termal cycler	Applied Biosystem	Veriti 96-Well Thermal Cycler	2012	ABD

Jel Görüntüleme Sistemi	Uvitec Cambridge	FireReader XS D56-20M AUTO	2011	İngiltere
Santrifüj	Sigma	3-16 KL	2013	Almanya
Santrifüj	Sigma	1-14 K	2013	Almanya
Derin Dondurucu	Uğur	UCF 410 SSL	2012	Türkiye
Buzdolabı	Vestel	BZP-L2303 WCP	2012	Türkiye
Mikrodalga Fırın	Vestel	MW 20-W	2012	Türkiye
Elektroforez Sistemi	Cleaver	MultiSUB Maxi	2013	İngiltere
Güç Kaynağı	Cleaver	omniPAC MIDI CS-300	2013	İngiltere
Spektrofotometre	NanoDrop	2000	2009	ABD

3.3. Deneylerde kullanılan kimyasallar

- Tri-base (sigma)
- BoricAcid (sigma)
- Proteinaz-K
- SDS (sodiumdodecylsulfate) (sigma)
- Etil alkol (sigma)
- İzoamil alkol sigma)
- Sükroz (sigma)
- NaoH (sigma)
- 10X PCR buffer (Vivantis)
- Taq DNA polimeraz enzimi (Vivantis)
- PCR Primerleri (Biomer)
- Rekstriksiyon enzimleri (Biolab)
- Ethidiumbromide (sigma)
- Triton X-100(sigma)
- Agaroza (Vivantis)
- EDTA, sodium salt (sigma)
- dNTP (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) ((Vivantis)
- Chloroform (sigma)

3.4. Yöntem

3.4.1. Serum leptin düzeyinin ölçümü

Serum leptin düzeyinin ölçümü ÜSKİM’de yapılmıştır. Serum leptin düzeyinin ölçümü için serumlar çözdürülerek oda sıcaklığına getirildi. Leptin düzeylerinin tayini için ise MICROELISA esasına dayalı ticari kit (Leptin-EASIA Kap 2281 DIAsource Immuno ASSays S.A. Belgium) kullanılmıştır.

3.4.2. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü

Kan yağları ölçümü Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı’nda yapılmıştır. Serum total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserit, VLDL-kolesterol ölçümleri Siemens Advia Chemistry (U.S.A) kiti ile ölçülmüştür.

3.4.3. Denevlerde kullanılan solüsyonların hazırlanması

3.4.3.1. Stok solüsyonlar

6M NaCl

- 35.06 g NaCl
 - 80 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
 - Volüm bidistile H₂O ile 100 ml’ye tamamlandı
 - Otoklavda steril edildi
 - Oda ısısında saklandı
- a) **1M MgCl₂ .6H₂O**
- 10.16 g MgCl₂ .6H₂O
 - 40 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
 - Volüm bidistile H₂O ile 50 ml’ye tamamlandı
 - Otoklavda steril edildi
 - Oda ısısında saklandı

b) 1M Tris-HCL, pH7.5

- 12.11 g Tris-base
- 80 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
- pH'lar HCl ile 7.5; 8.3; 8.6' ya ayarlandı
- Volümler bidistile H₂O ile 100 ml'ye tamamlandı
- Otoklavda steril edildi
- Oda ısısında saklandı

c) 0.5M EDTA, pH8.0

- 18.61 g disodyum EDTA
- 80 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
- İçine 2 g NaOH tableti atarak eritildi
- PH 8 yapıldı (2 g NaOH pH'ı 8 yapmaya yeterli)
- Volüm bidistile H₂O ile 100 ml'ye tamamlandı
- Otoklavda steril edildi
- Oda ısısında saklandı

3.4.3.2. DNA ekstraksiyon solüsyonları

a) 5 X Red Cell LysisBuffer (Eritrosit lizis tamponu)

- 2.5 ml 1M MgCl₂ .6H₂O (final kons. 25 mM)
- 5 ml Triton X-100 (final kons. %5 v/v)
- 6 ml 1M Tris-HCl, pH 7.5 (final kons. 60 mM)
- Sükroz 50 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
- Volüm bidistile H₂O ile 100 ml'ye tamamlandı
- Buzdolabında muhafaza edildi.

b) Proteinaz-K (20 mg/ml)

- 100 mg proteinaz-K
- 5 ml bidistile H₂O ilave edildi
- 0.5 ml'lik porsiyonlara ayrıldı
- -20 °C'de muhafaza edildi

c) %70 Etil alkol

- 70 ml %99.5 etil alkol'e
- 30 ml bidistile H₂O eklendi

- -20 °C'de muhafaza edildi

d) 24:1 Kloroform: İzoamil alkol

- 24 ml kloroform + 1 ml izoamil alkol karıştırıldı
- Buzdolabında muhafaza edildi.

3.4.3.3. Elektroforetik analiz solüsyonları

a)10X TBE (Stok solüsyon)

- 55 g Boric acid (0.9M)
- 40 ml 0.5M EDTA, pH8.0 (20 mM)
- 108 g Tris-base (0.9M)
- Tris-base ve borik asit 700 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
- EDTA eklendi
- Volüm bidistile H₂O ile 1000 ml'ye tamamlandı
- Oda ısısında, şişe içinde muhafaza edildi

b) 0.5X TBE (çalışma solüsyon)

- 50 ml 10X TBE
- 950 ml bidistile H₂O eklendi
- Elektroforez tankına konularak kullanıldı

c) Ethidiumbromide solüsyonu (10 mg/ml)

- Ethidiumbromide
- 10 ml bidistile H₂O içinde çözüldü
- Işık almayan bir cam şişe içinde buzdolabında muhafaza edildi

3.4.4. DNA ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu için salting out yöntemi modifiye edilerek uygulandı (81).

1- 10 ml'lik steril bir tüpe 1ml 5X lysisbuffer, üzerine 3 ml bidistile H₂O konup pipetle homojen hale getirildikten sonra bu karışıma 1ml EDTA'lı -20 °C derecede bekleyen kan örnekleri ilave edilerek tüpün kapağı kapatıldı ve tüp alt-üst edilerek homojen karışım sağlandı.

2- Buz içinde 10 dk. inkübe edildi.

- 3- +4 °C'de 4000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi ve üst sıvı uzaklaştırıldı.
- 4- Dipte kalan pellet üzerine 2 ml bidistile H₂O ve 0.5 ml 5X lysisbuffer konulup, pipetleme yapılarak tüpün dibindeki pellet tamamen dağıtılarak homojen hale getirildi.
- 5- +4 °C'de 4000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi ve üst sıvı uzaklaştırıldı.
- 6- Pellet üzerine 1 ml %10 SDS ve 20 mg/ml'lik proteinaz-K'dan 2.5 µl konulup köpük oluşturmada iyice pipetleme yapılarak pellet tamamen dağıtıldı.
- 7- 65 °C ye ayarlı etüvde, arada bir hafifçe karıştırarak 15 dk. inkübe edildi.
- 8- Karışım 10 ml'lik tüpten 2 ml'lik ependorf tüpe aktarılarak buz içinde 5 dk. inkübe edildi.
- 9- Bu süre sonunda 300 µl sature (6 N) NaCl ilave ettikten sonra tüp bir vorteks yardımıyla iyice çalkalanarak beyaz görünümlü içerik homojen hale getirildi.
- 10- Buz içinde 5 dk bekletildi.
- 11- +4 °C'de 13.000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.
- 12- Üst sıvı 2 ml'lik steril bir ependorf tüpe aktarıldı.
- 13- Bu tüpe 0.5 ml, 24:1 kloroform/izoamil alkol karışımı kondu ve tüp iyice çalkalanarak karışım homojen hale getirildi.
- 14- +4 °C'de 13.000 rpm'de 2 dk. santrifüj edildi.
- 15- Üst sıvı dikkatli bir şekilde 2 ml'lik steril bir ependorf tüpe aktarıldı.
- 16- Tüpe 1 ml %99.5'lik etil alkol konularak tüp 8-10 kez yavaşça baş-aşağı çevrilerek DNA'nın presipite olması sağlandı. Bu aşamada DNA yumak şeklinde görüldü.
- 17- +4 °C'de 13.000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek presipite olmuş DNA çöktürüldü.
- 18- Tüp ters çevrilerek alkol uzaklaştırıldı.
- 19- Tüpe 1 ml %70 etil alkol konulup, tüp alt-üst edildi.
- 20- +4 °C'de 13.000 rpm'de 5 dk. santrifüj edildikten sonra tüp ters çevrilerek alkol uzaklaştırıldı ve tüpün ağzı baş aşağı gelecek şekilde bir kurutma kağıdı üzerine konularak alkolün tamamen uzaklaşması için 15 dk. bekletildi.

21- Tüpe 200 µl steril bidistile H₂O konuldu ve DNA'nın tamamen çözünmesi ve DNaz aktivitesinin ortadan kaldırılması için 75 °C'de 10 dk. bekletildi.

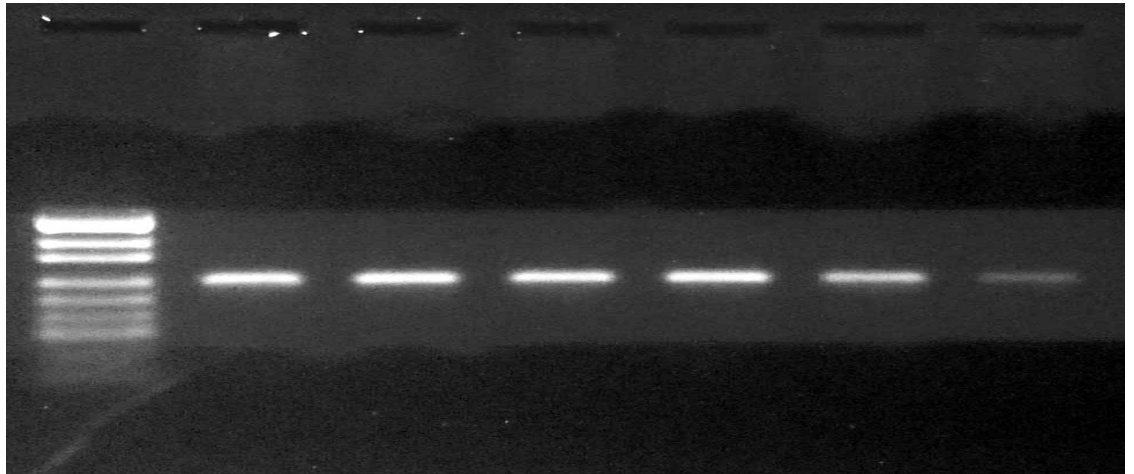
3.4.5. DNA konsantrasyonunun belirlenmesi

DNA saflığı NanoDrop cihazı kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplanan aralık 1.8-2.0 dir. Konsantrasyonu hesaplanan DNA örnekleri 50 ng/ul olacak şekilde ayarlandıktan sonra 3 epondorf tüpüne bölünerek -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.4.6. PCR-RFLP (polimer zincir reaksiyonu-restriksiyon parçacık uzunluk polimorfizmi) yöntemi ile leptin geninin (LEP) promoter bölgesindeki -2548 G>A polimorfizminin belirlenmesi

LEP promoter bölgesindeki -2548 G>A polimorfizminin belirlenmesi için Gotoda ve arkadaşlarının uyguladıkları PCR-RFLP tekniği laboratuvar şartlarımıza göre modifiye edilerek uygulanmıştır (82)

M 52 °C 54 °C 56 °C 58 °C 60 °C 62 °C



Şekil 4: LEP promoter bölgesindeki c.-2548 G>A polimorfizmi için amplifikasyonun gerçekleştirileceği sıcaklığın gradiyent ile tespiti.

PCR' da optimizasyon için gradiyent uygulanarak uygun annealing sıcaklığı 54 °C olarak tespit edilmiştir.

Tablo 2. LEP promoter bölgesindeki -2548 G>A polimorfizmi için amplifikasyonun gerçekleştirileceği reaksiyon karışımı

Reaksiyon Karışımı	Kullanılacak Miktar(ul)	Final Konsantrasyon
10X PCR tamponu	2.5	1X
Forwardprimer (5 pmol/μl)	1	5 pmol
Reverseprimer (5 pmol/μl)	1	5 pmol
DeoksiNTPs (25 mM)	0.5	0.25 mM
MgCl ₂ (50 mM)	1.5	1.5 mM
Genomik DNA (50 ng/μl)	1	50 ng
Taq DNA polimeraz (5 U/μl)	0.2	1U
Steril bidistile su	17.3	
Total Hacim	25ul	

PCR optimizasyonu için öncelikle Tablo 1 ve Tablo 2’de verilen PCR miksi ve amplifikasyon döngüleri kullanılmıştır. Agaroz jel elektroforezinde doğru ve keskin PCR bantları elde edilene kadar gerek PCR miksi ve gerekse de amplifikasyon döngüleri değiştirilerek optimizasyon sağlanmıştır.

Tablo 3. Lep promoter bölgesindeki c.-2548G>A polimorfizmi için PCR programı

Basamak I	Basamak II			Basamak III	Basamak IV
(1 defa)	(35 defa)			(1 defa)	(1 defa)
95 °C	94 °C	56 °C	72 °C	72 °C	4 °C
5:00dk	0:45dk	0:45dk	0:30dk	7:00dk	sonsuz

3.4.7. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi Manniatis ve arkadaşlarının yöntemine göre yapılacaktır,

1- 2.1 g agaroz tartılarak 250 ml’lik bir erlenmayere konulup ve 140 ml 1X TBE tamponu eklenip (%1.5 lik agaroz) ve 25 mg/ml’lik ethidiumbromid’den 4 μl ilave edilir.

2- Hotplate (ısıtıcı) üzerinde kaynatılır.

3- Elektroforez tarakları jel dökme kabına, tabanda 1mm boşluk kalacak şekilde ayarlanarak yerleştirilir.

4- Yaklaşık 60 °C'ye kadar soğutulan agaroz jeli, jel kabına dökülüp donması için oda sıcaklığında 30 dk. bekletilir.

5- Taraklar dikkatlice çıkartılarak jel kabı elektroforez tankına yerleştirilir.

6- Jeldeki açılmış olan kuyucuklara 10'ar µl miktarlarda sırasıyla DNA marker (pUC19/Hae III) ve PCR ürünleri applike edilir.

7- Jele elektrik akımı (5Volt/cm) verilerek 15 dk. elektroforez yapılır.

8- Oluşan bantlar jel görüntüleme sisteminde incelenir.

PCR amplifikasyonunun istenilen şekilde gerçekleşmemesi halinde optimizasyon sağlanıncaya kadar yukarıdaki işlemler tekrarlanır. Amplifikasyon işlemi istenilen şekilde gerçekleşirse kesim işlemine geçilir.

3.4.8. Leptin geni promoter bölgesindeki -2548 G/A polimorfizminin PCR-RFLP tekniği ile saptanmasında kullanılan primer dizileri

Forward: 5' _TTT CTG TAA TTT TCC CGT GAG_3'

Reverse: 5' _AAA GCA AAG ACA GGC ATA AAA A_3'

3.4.9. PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi

LEP promoter bölgesindeki -2548 G>A polimorfizminin belirlenmesi için Hha I restriksiyon enzimi kullanılacaktır. Kesim işlemi Tablo 3.2.3'deki çizelgeye göre yapılacaktır.

Tablo 4. Lep promoter bölgesindeki -2548G/A polimorfizminin gösterilmesi için kesim reaksiyonu karışımı

Reaksiyon Karışımı	Miktar(ul)
Amplifiye ürün (PCR ürünü)	15
Steril bidistile su	2.8
10x Tampon	2
Restriksiyon enzimi (10U/ul)	0.2

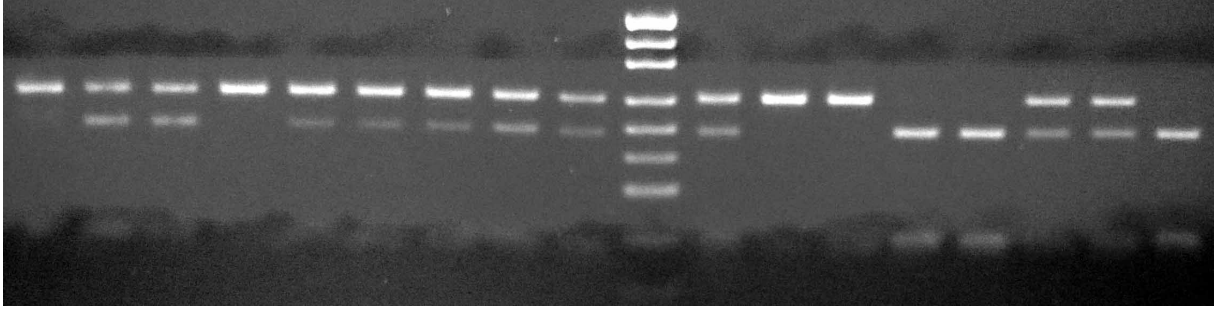
3.5. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak gösterilmiştir. Araştırmanın istatistiksel analizleri için SPSS programında Independent Sample T Test kullanılmıştır, grupların parametreleri arasındaki korelasyon yine SPSS programı kullanılarak yapılmıştır. $p < 0,05$ değeri istatistiksel anlamlılık göstergesi olarak kabul edilmiştir. Örneklerdeki gen frekansları hesaplanırken ise KI kare testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Araştırmamıza gönüllü olarak katılan bireylerin biyokimyasal parametreleri ve leptin gen polimorfik özellikleri, genotip ve allel frekansların kontrol ve hasta grupları arasındaki dağılımları tablolarla gösterilmiştir. Genotip dağılımında GG normal genotipi, GA heterozigot genotipi ve AA ise homozigot genotipi göstermektedir.

AA GA GA AA GA GA GAGA GA M GA AA AA GG GG GAGA GG



Şekil 5: PCR-RFLP yöntemi ile çalışılan Leptin Geni-2548 G>A genotiplerinin %3' lük agaroz jel elektroforezi görüntüsü (Marker: Herbir bant 100 bç.).

Tablo 4'de görüldüğü gibi, hasta ve kontrol grupları arasında LEP geni c.-2548 G>A genotip dağılımları ve allel frekansları incelendiğinde, 61 alzheimerlı bireyin 36'sının AA genotipine %59, 21'inin GA genotipine %34,4, 4'ünün de GG genotipine %6,6 sahip olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubuna dahil edilen 60 bireyin ise, 28'inin AA genotipine %46,7, 22'sinin GA genotipine %36,7, 10'unun GG genotipine %16,7 sahip olduğu gözlenmiştir. G ve A allel frekansları ise sırasıyla alzheimerlı bireylerde % 40,9 ve %93,4, kontrol grubunda %53,3 ve %83,3 olarak bulunmuştur. Alzheimer ve kontrol grupları arasında LEP geni -2548G>A polimorfizminde GA ve AA genotipleri A alleli frekansları yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Tablo 5. Alzheimer ve kontrol grubu arasında Leptin Geni c.-2548G>A genotip ve allel frekanslarının karşılaştırılması

Genotip/Allel	Alzheimerlı Birey n=61	Kontrol Birey n=60	X ²	OR-GA	p (<0,05)
GG	4 (%6,6)	10 (% 16,7)	3,021	0,351 (0,104-1,189)	0,096
GA	21 (%34,4)	22 (%36,7)	0,066	0,907 (0,431-1,910)	0,851
AA	36 (% 59)	28 (% 46,7)	1,852	1,646 (0,801-3,379)	0,204
G (GG+GA)	25 (%40,9)	32 (%53,3)	3,680	0,579 (0,331-1,015)	0,067
A (AA+GA)	57 (%93,4)	50 (%83,3)	3,680	1,727 (0,986-3,025)	0,067

Tablo 6. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyete bağlı olarak serum leptin düzeyleri

SERUM LEPTİN DÜZEYİ		
	ORTALAMA	p <0,05
HASTA	2,59±2,12	0,0001
KONTROL	8,33±8,01	
HASTA ERKEK	1,88±1,12	0,03
HASTA KADIN	3,56±2,72	
KONTROL ERKEK	7,34±6,71	0,681
KONTROL KADIN	9,25±8,87	

Hasta ve kontrol grupları arasında serum leptin düzeyi karşılaştırıldığında hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmuştur (p=0,0001).

Tablo 7. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyete bağlı olarak genotip ve allel genlerin serum leptin düzeylerinin karşılaştırılması

	GG	p	GA	p	AA	p	G(GG+GA)	p	A(AA+GA)	p
HASTA ERKEK	4,21±2,10	0,121	2,05±1,20	0,284	1,6±0,76	0,020	2,41±1,52	0,650	1,74±0,919	0,008
HASTA KADIN	1,48±1,14		3,84±2,94		3,64±2,71		3,47±2,85		3,73±2,35	
KONT. ERKEK	6,07±4,82	0,831	7,27±8,61	1	7,84±5,65	0,719	7,35±6,72	0,681	7,56±7,05	0,616
KONT. KADIN	9,23±8,59		8±8,02		10,18±9,98		9,25±8,87		9,25±9,09	
HASTA	2,84±2,10	0,322	2,98±2,41	0,010	2,34±1,96	0,001	2,96±2,32	0,006	2,57±2,14	0,001
KONT.	7,97±7,17		7,63±8,13		9,14±8,28		7,74±7,73		8,46±8,16	

Araştırmamıza katılan hasta ve kontrol gruplarının serum leptin düzeyi genotip ve allel genler açısından karşılaştırıldığında homozigot AA alleleline sahip bireylerin serum leptin düzeyleri hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,001). G (GG+GA) allelini taşıyan hasta ve kontrol grubundaki bireylerin serum leptin düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,006). Hasta ve kontrol grubunda polimorfik A (AA+GA) allelini taşıyan bireylerin serum leptin düzeyleri karşılaştırılarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,001)

Tablo 8. Hasta ve kontrol grupları arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması

	KONTROL GRUBU n=60	HASTA GRUBU n=61	p Değeri
HDL	50 $\bar{\pm}$ 11,34	47,66 $\bar{\pm}$ 11,44	0,264
LDL	133,80 $\bar{\pm}$ 39,53	120,61 $\bar{\pm}$ 36,30	0,024
TRİGLİSERİT	146,79 $\bar{\pm}$ 93,55	109,56 $\bar{\pm}$ 57,84	0,013
TOTAL KOLESTEROL	188,10 $\bar{\pm}$ 39,12	172,77 $\bar{\pm}$ 38,98	0,034
VLDL	29,35 $\bar{\pm}$ 18,71	21,85 $\bar{\pm}$ 11,5	0,012
BKİ	25,40 $\bar{\pm}$ 3,14	23,65 $\bar{\pm}$ 3,90	0,055
MMT		11,95 $\bar{\pm}$ 8,83	

Tabloya göre araştırmamıza katılan hasta ve kontrol grubu bireylerin biyokimyasal parametre düzeyleri ve BKİ düzeyleri karşılaştırıldığında BKİ ve HDL düzeyleri hariç istatistiksel olarak $p<0,05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Tablo 9. Hasta grubuna ait biyokimyasal parametrelerin korelasyonu

HASTA	LEPTİN	HDL	LDL	VLDL	TRİGLİSERİT	T.KOLESTEROL
LEPTİN	1,000(r)	0,203(r)	0,389(r)	0,337(r)	0,333(r)	0,477(r)
p<0,05		0,059	0,001	0,004	0,004	0,0001
HDL	0,203(r)	1,000(r)	0,042(r)	-0,173(r)	-0,177(r)	0,288(r)
p<0,05	0,059		0,374	0,092	0,087	0,012
LDL	0,389(r)	0,042(r)	1,000(r)	0,558(r)	0,558(r)	0,878(r)
p<0,05	0,001	0,374		0,0001	0,0001	0,0001
VLDL	0,337(r)	-0,173(r)	0,558(r)	1,000(r)	0,999(r)	0,498(r)
p<0,05	0,004	0,092	0,0001		0,0001	0,0001
TRİGLİSERİT	0,333(r)	-0,177(r)	0,558(r)	0,999(r)	1,000(r)	0,496(r)
p<0,05	0,004	0,087	0,0001	0,0001		0,0001
T.KOLESTEROL	0,477(r)	0,288(r)	0,878(r)	0,498(r)	0,496(r)	1,000(r)
p<0,05	0,0001	0,012	0,0001	0,0001	0,0001	

r: Korelasyon değeri

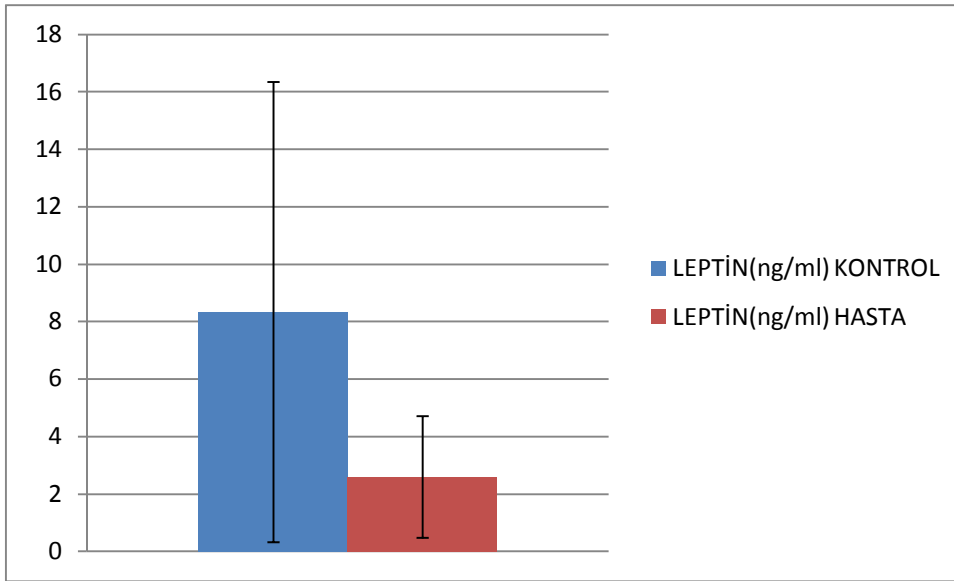
Hasta grubuna ait bireylerin serum leptin düzeyinin kan yağlarından LDL hariç tümünde korelasyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 10. Kontrol grubuna ait biyokimyasal parametrelerin korelasyonu

KONTROL	LEPTİN	HDL	LDL	VLDL	TRİGLİSERİT	T.KOLESTEROL
LEPTİN	1,000®	0,080®	-0,192®	-0,321®	-0,321®	-0,203®
p<0,05		0,548	0,148	0,014	0,014	0,127
HDL	0,080®	1,000®	0,127®	-0,303®	-0,303®	0,304®
p<0,05	0,548		0,338	0,020	0,020	0,019
LDL	-0,192®	0,127®	1,000®	0,354®	0,353®	0,947®
p<0,05	0,148	0,338		0,006	0,006	0,0001
VLDL	-0,321®	-0,303®	0,354®	1,000®	1,000®	0,461®
p<0,05	0,014	0,020	0,006		0,0001	0,0001
TRİGLİSERİT	-0,321®	-0,303®	0,353®	1,000®	1®	0,461®
p<0,05	0,014	0,020	0,006	0,0001		0,0001
T.KOLESTEROL	-0,203®	0,304®	0,947®	0,461®	0,461®	1®
p<0,05	0,127	0,019	0,0001	0,0001	0,0001	

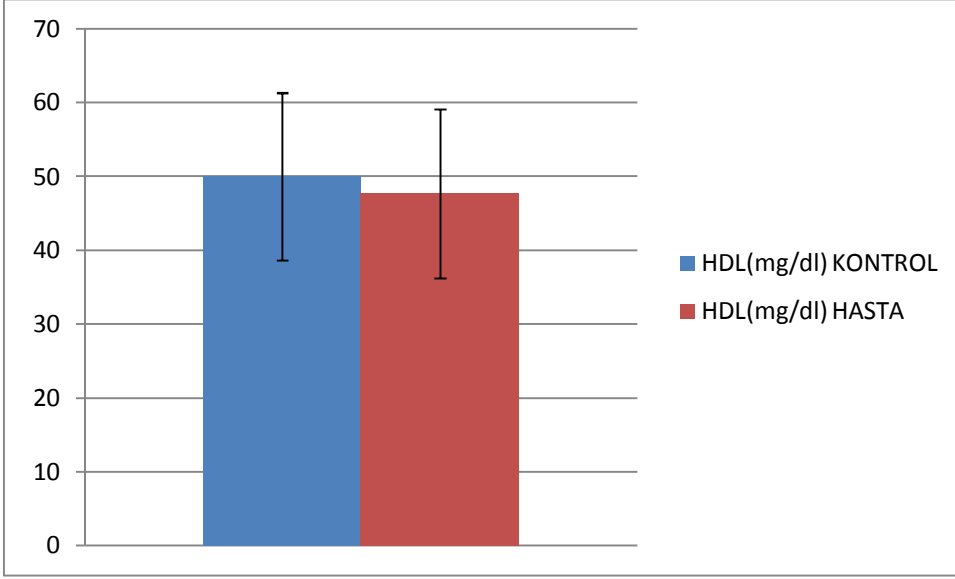
r: Korelasyon değeri

Kontrol grubuna ait bireylerin serum leptin düzeyinin kan yağlarından VLDL ve Trigliserit düzeyleriyle korelasyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05).



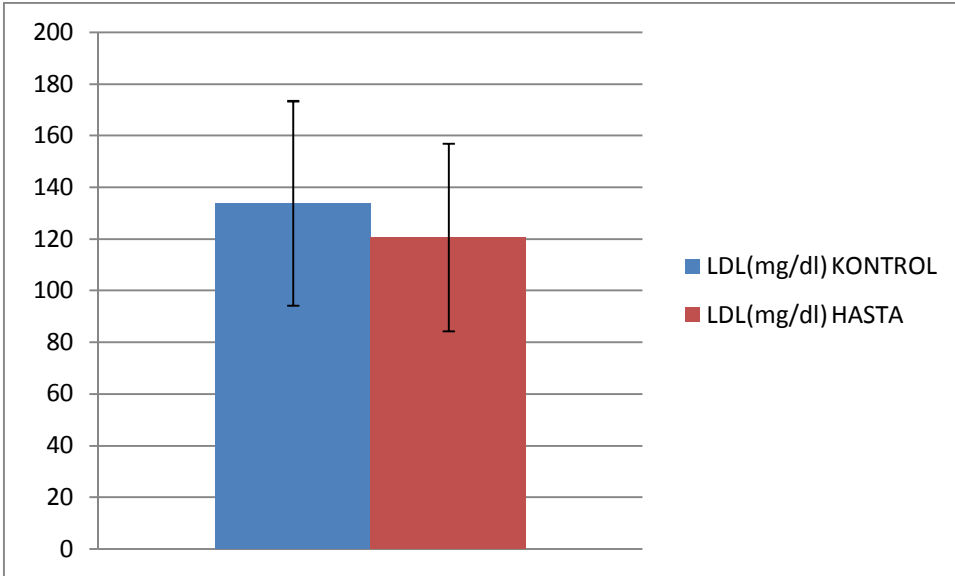
Şekil 6: Hasta ve kontrol gruplarında serum leptin düzeyleri

Kontrol ve Alzheimer grupları arasındaki leptin düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol ve Alzheimer grupları arasındaki leptin seviyeleri istatistiksel olarak p<0,0001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur. (Şekil – Tablo)



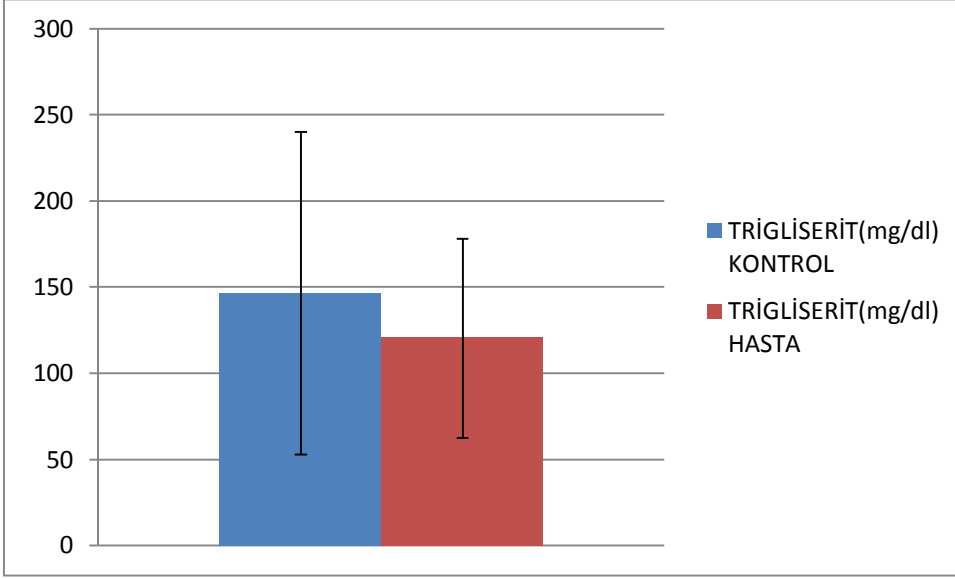
Şekil 7: Hasta ve kontrol gruplarında HDL ölçüm düzeyleri

Kontrol ve Alzheimer gruplar arasındaki HDL düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol ve Alzheimer gruplar arasındaki HDL seviyeleri istatistiksel olarak herhangi bir farklılık göstermemiştir.



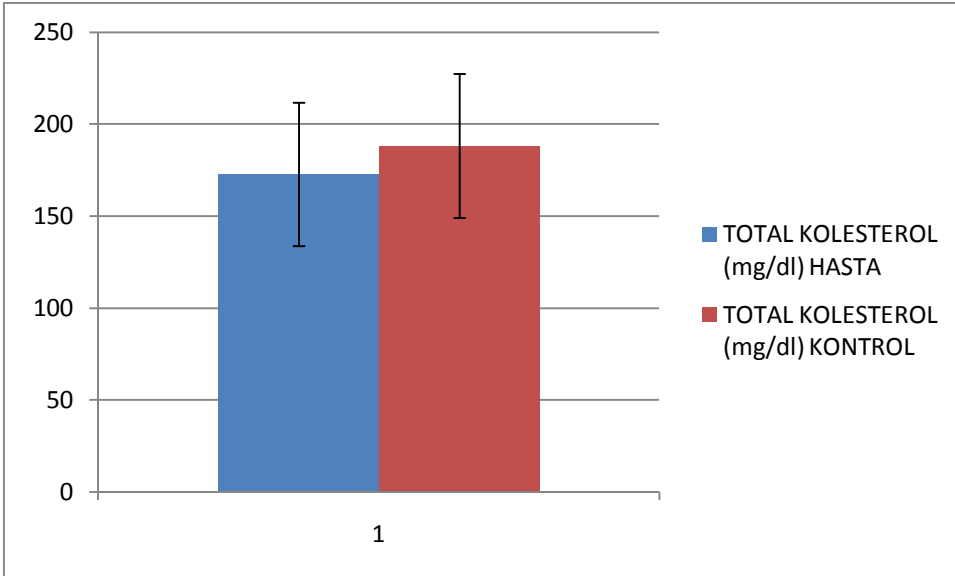
Şekil 8: Hasta ve kontrol gruplarında LDL ölçüm değerleri

Kontrol ve Alzheimer gruplar arasındaki LDL düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol ve Alzheimer gruplar arasındaki LDL seviyeleri istatistiksel olarak $p < 0,024$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



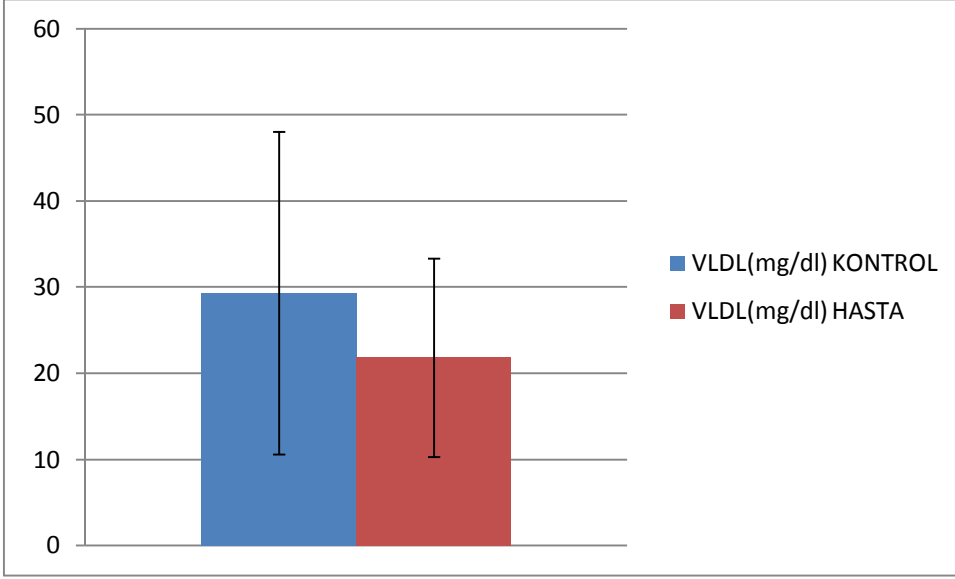
Şekil 9: Hasta ve kontrol gruplarında Trigliserit ölçüm değerleri

Kontrol ve Alzheimer gruplar arasındaki Trigliserit düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol ve Alzheimer gruplar arasındaki Trigliserit seviyeleri istatistiksel olarak $p < 0,013$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



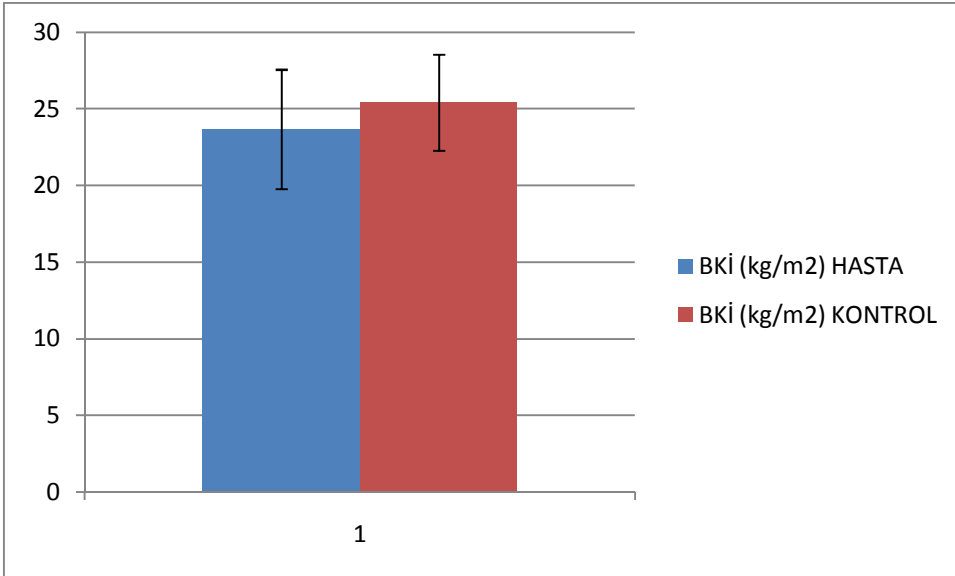
Şekil 10: Hasta ve kontrol gruplarında Total Kolesterol ölçüm değerleri

Kontrol ve Alzheimer gruplar arasındaki Total Kolesterol düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol ve Alzheimer gruplar arasındaki Total Kolesterol seviyeleri istatistiksel olarak $p < 0,034$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



Şekil 11: Hasta ve kontrol gruplarında VLDL ölçüm değerleri

Kontrol ve Alzheimer grupları arasındaki VLDL düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol ve Alzheimer grupları arasındaki VLDL düzeyleri istatistiksel olarak $p < 0,012$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. (Şekil – Tablo)



Şekil 12: Hasta ve kontrol gruplarında BKİ ölçüm değerleri

Kontrol ve Alzheimer grupları arasındaki BKİ düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol ve Alzheimer grupları arasındaki BKİ seviyeleri istatistiksel olarak herhangi bir farklılık göstermemiştir.

5. TARTIŞMA

Beklenen yaşam süresinin uzaması yaşlı populasyonda görülen kronik hastalıkların artışını beraberinde getirmiştir. Yaşlı populasyonunda görülen kronik hastalıkların başında gelen Alzheimer hastalığı yaş arttıkça görülme yüzdesi artan hayatı ciddi oranda etkileyen nörodejeneratif bir beyin hastalığıdır.

Hafızada ve kognitif fonksiyonlarda bozukluk, günlük yaşam aktivitelerinde ilerleyici gerileme, çeşitli nöropsikiyatrik semptomlar ve davranış bozukluklarıyla karakterize olan alzheimer hastalığı, erken evrede tedavi alanlarda kognitif fonksiyonların ve hayat kalitesinin daha uzun süre korunuyor olması nedeniyle erken evrede tanınması önem arz eden önlenilebilir, seyri ve klinik semptomların ortaya çıkması yavaşlatılabilen bir hastalıktır (22, 13, 14). Bu yüzden Alzheimer hastalığının patofizyolojisini ve etkin tedavi stratejilerini bulmaya yönelik önemli çalışmalar yapılmaktadır.

Alzheimer hastalığı için değiştirilmesi mümkün olmayan yaş ve genetik faktör en çok kabul edilen ve çalışmalarla ispatlanmış risk faktörleridir. Yaşlanmaya bağlı hafıza ve kognitif fonksiyonlarda meydana gelebilecek bozuklukların önceden önlenilebilir olması, beynin hafıza ve kognitif bölgeleriyle ilgili yapılan çalışmaların sayısını artırmıştır. Folch ve ark. (9) Alzheimer hastalığı üzerinde yapılan çalışmada adipoz dokudan salınan leptin hormonunun beslenme ve egzersiz esnasında kognitif fonksiyonu geliştirebileceğini ve yaşa bağlı öğrenmede düşüşü önlemede rol aldığını göstermişlerdir. Bununla birlikte leptinin, amiloidojenik sürecin önlenmesiyle nöro-koruyucu aktiviteler ortaya çıkarabileceğini, ayrıca tau protein fosforilasyonunun seviyesinin azalması ve kavrama fonksiyonunun yükselmesini de ileri sürmüşlerdir.

Theodoropoulou ve ark. (7) yapmış olduğu çalışmada leptinin hipokampal gelişimi ve fonksiyonu üzerinde öğrenme ve hafıza süreçleri gibi etkisinin belirleyici olduğunu göstermişler. Fadel ve ark. (8) ise leptinin, hipokampüste nöronal morfolojinin zenginleştirilmesini de içeren, hipokampal sinaptik esnekliğin yönlendirilmesinin kontrolünde ve nörogenesis ve sinaptik geçirgenliğin artışında rol oynadığını göstermişlerdir.

Azalmış leptin sinyalizasyonunda olduğu gibi leptin direnci kan-beyin bariyerinden leptinin taşınmasını tehlikeye sokabilir (Hazzourie ve ark.2013) (10). Bu düşünceye benzer olarak Bonda ve ark. (11) serebrospinal sıvıda leptin konsantrasyonunun yüksek olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda serobrospinal sıvıda leptin düzeyleri ölçülmemiş olmakla

birlikte, bizim hastalarımızda da serobrospinal sıvıda leptin düzeyleri yüksek olabilir. Bu konuda kesin bir kanıya varabilmek için aynı hasta grubunda serobrospinal leptin düzeylerinin çalışılması gerekmektedir. Bu sonuçlar Alzheimer hastalığında nöronal leptin direncinin olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte Rajogapalan ve ark. (12) kronik olarak yükselmiş plazma leptin seviyeleriyle beyin hacminin küçülmesi arasında leptin direncine göre ilişki kurmuşlardır. Ayrıca Khemka (13) serum leptin düzeyinin Alzheimer hastalarında demans derecesiyle ters orantılı olduğu göstermiştir. Hastalarımızın tamamında ileri derecede demans mevcut olup, leptin düzeyleri kontrol grubuna göre oldukça düşük bulunmuştur. Bu da sonuçlarımızın Khemka'nın bulgularıyla uyum içinde olduğunu göstermektedir. Leptin üzerine yapılan moleküler düzeydeki önceki çalışmalarda serum leptin düzeyinin genotipler açısından farklı olduğu gösterilmiştir. Mammes ve ark. obezlerde leptin gen c.-2548G>A polimorfizmi ve serum leptin düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada AA genotipine sahip bireylerde serum leptin seviyelerinin yüksek olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında AA genotipini taşıyan bireyler arasında serum leptin düzeylerinin istatistiksel olarak $p=0,001$ düzeyinde anlamlı olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmadan farklı olarak, çalışmamızda Alzheimer grubunda serum leptin düzeyleri kontrol grubuna göre oldukça düşük bulunmuştur, bunun sebebi de bütün hastalarımızın BKİ düzeylerinin normale yakın (BKİ ortalaması $23,65\pm 3,90$) olmasından kaynaklanabilir. Hasta ve kontrol grupları kendi içerisinde cinsiyet ayrımı yapılmaksızın GG genotipine sahip bireylerin serum leptin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken GG genotipine sahip olmayan (GA+AA) hasta ve kontrol gruplarına ait bireylerin serum leptin düzeyleri istatistiksel olarak $p=0.001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Genotipler ve allel genler bakımından ise hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Yapılan çeşitli çalışmalarda Alzheimer hastalığı ile kan yağ düzeyleri arasında ilişki olup olmadığı araştırılmıştır. Reitz ve ark. HDL kolesterol seviyesinin yaş, eğitim, ateroskleroz varlığı ve inme varlığından bağımsız olarak AH ve kognitif kapasitede bozulma için bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir (49). Ancak çalışmamızda HDL düzeylerinin hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlenmiştir. HDL kolesterol seviyesinin bir risk faktörü olarak çalışma grubumuzda istatistiksel olarak anlamlı olmamasını çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubu bireylerin bazılarının öykülerinde ateroskleroz varlığının olmasına bağlamaktayız. LDL,

HDL ve yüksek Lipoprotein-a (Lip-a) Vasküler demans için risk faktörü olarak bilinmektedir ve bu faktörlerin Alzheimer hastalarında da risk faktörü olabileceği konusunda çalışmalar vardır(15). Bizim çalışmamızda da HDL ve LDL ölçüm değerleri hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Trigliserid yüksekliği aterosklerotik kalp hastalığı olmayan demans hastalarında risk faktörü olarak gösterilmemiştir (49). Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında trigliserit ölçüm değerleri farkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Trigliserit ölçüm değerlerinin hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı olmasını hasta ve kontrol grubuna ait bireylerin bazılarının öyküsünde ateroskleroz varlığının olmasına bağlamaktayız.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Küresel bir halk sağlığı sorunu haline gelen Alzheimer hastalığının hasta bireylere ve onlara bakan kişi ve kurumlara yüklediği vicdani ve ekonomik sorumluluk bu hastalık hakkında yapılan çalışmaların sayısını arttırmıştır. Yapılan çalışmaların hastalığın fizyopatolojisinde yüz yıl önceki bulguları desteklemekten ileri gidememesi hastalığın moleküler düzeyde incelenmesini gerekli kılmıştır. Bu yüzden çalışmamızda son zamanlarda Alzheimer hastalığı ile ilişkisi tespit edilen vücut yağ hücrelerinden salgılanan leptin hormonunun serum leptin düzeyi ve bu hormonun salgılanmasını kontrol eden leptin geninin promotör bölgesindeki c.-2548G>A polimorfizminin Alzheimer ile ilişkisi araştırılmıştır. Obez gen ürünü olarak bilinen leptin hormonunun kan yağ değerleri ile ilişkisi bilindiği ve kan yağ değerlerinin vasküler demans başta olmak üzere Alzheimer hastalığı ile ilişkisi tespit edildiği için çalışmamızda kan yağ değerleri de araştırılmıştır.

Sonuç olarak genotip ve allel genler bakımından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak bir anlam bulunmamıştır. Hasta ve kontrol grupları arasında serum leptin düzeyi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak $p=0,0001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları arasında GG genotipine sahip bireylerin serum leptin düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı ancak GG genotipine sahip olmayan bireylerin (AA+GA) serum leptin düzeyleri hasta ve kontrol grupları arasında $p=0,001$ düzeyinde anlamlı olduğu gözlemlenmiştir. Hasta ve kontrol grupları arasında polimorfik AA genotipine sahip bireylerin serum leptin düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak $p=0,001$ düzeyinde anlamlı olduğu gözlemlenmiştir.

Kan yağ değerlerinden trigliserit, total kolesterol, LDL ve VLDL ölçüm değerleri hasta ve kontrol grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). HDL ölçüm değerleri hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak farklılık göstermemektedir.

Hasta grubunda serum leptin seviyesi ile LDL, VLDL, trigliserit ve total kolesterol arasında $p<0,05$ 'e göre yapılan korelasyon pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Kontrol grubunda serum leptin seviyesi ile VLDL ve trigliserit arasında $p<0,05$ 'e göre yapılan korelasyon pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Araştırmamızın serum leptin düzeyi ve leptin gen c.-2548 G>A promotör bölge polimorfizminin Alzheimer hastalığı ilişkisinin Kahramanmaraş ili kapsamında Türk popülasyonundaki ilk verilerini oluşturmaktadır. Çalışmamızın Alzheimer hastalarında serum leptin düzeyi ve leptin gen c.-2548G>A polimorfizminin; kan yağ değerleri ve serum leptin seviyesinin bu polimorfizmden hangi ölçüde değişebileceğini göstermesi açısından önemlidir. Ayrıca Alzheimer hastalığında serum leptin düzeyinin leptin gen c.-2548 G>A polimorfizmine göre nasıl değişebileceği daha önce çalışılmamış olması nedeniyle elde edilen verilerin literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz

7. KAYNAKLAR

1. Yavuz BB, Arıoğul S. Yaslıda demans, risk faktorleri ve tedavisi. Cep Tıp Geriatri serisi Noropsikiyatri, 2005, basım aşamasında
2. Yaslı hastada demans değerlendirmesi ve onemi Dede SD, Arıoğul S. Turkiye Tıp Dergisi Geriatri özel Sayısı, 2005, basım aşamasında
3. Ulger Z, Arıoğul S. Demans ve tedavisi. Turkiye Tıp Dergisi Geriatri özel Sayısı, 2005, basım aşamasında
4. Katzman R. Alzheimer's disease is a degenerative disorder. *Neurobiology of aging* 1989;10:581-2; discussion 588-90.
5. Mueller SG, Weiner MW, Thal LJ et al. The Alzheimer's disease neuroimaging initiative. *Neuroimaging clinics of North America* 2005;15:869-77, xi-xii.
6. Dickson D. Neurodegeneration: the molecular pathology of dementia and movement disorders. *Neuropath*, 2003.
7. A.Theodoropoulou, I.C. Metallinos, A. Psyrogiannis, G.A. Vagenakis, V. Kyriazopoulou, Ghrelin and leptin secretion in patients with moderate Alzheimer's disease, *J. Nutr. Health Aging* 16 (2012) 472–477.
8. J.R. Fadel, C.G. Jolivalt, L.P. Fau-Reagan, Food for thought: the role of appetitive peptides in age-related cognitive decline, *Ageing Res. Rev.* 12 (2013) 764–776.
9. J. Folch, I. Pedrós, I. Patraca, N. Martínez, F. Sureda, A. Camins, Neuroprotective and anti-ageing role of leptin, *J. Mol. Endocrinol.* 49 (2012) 149–156.
10. A.Z.A. Hazzouri, K.L. Stone, M.N. Haan, K. Yaffe, Leptin, mild cognitive impairment, and dementia among elderly women, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 68 (2013) 175–180.
11. D.J. Bonda, J.G. Stone, S.L. Torres, S.L. Siedlak, G. Perry, R. Kryscio, G. Jicha, M.A. Smith, G. Casadesus, X. Zhu, H.G. Lee, Dysregulation of leptin signaling in Alzheimer disease: evidence for neuronal leptin resistance, *J. Neurochem.* 128 (2014) 162–172.
12. V.K. Khemka, Altered Serum Levels of Adipokines and Insulin in Probable Alzheimer's Disease, *J. Alzheimers Dis.* 41 (2014) 525–533.
13. Karaman Y. Alzheimer hastalığı ve diğer demanslar. 1.baskı. Ankara, Lebib Yalkın Matbaası, 2002.
14. Souder E, Beck C. Overview of Alzheimer's disease. *Nurs Clin North Am* 2004; 39(3):545-559.

15. Cankurtaran M, Arioğul S. Alzheimer hastalığı ve vaskuler demansta risk faktorleri. Hacettepe Universitesi Đc Hastalıkları AD Geriatri Unitesi Yan dal uzmanlık tezi, 2004.
16. Van Dujin CM. Risk factors for Alzheimer's disease. Overview of EURODEM. *Int J Epidemiol* 1991; 20(2): 4-11.
17. Cankurtaran M, Yavuz BB, Halil M, Daglı N, Cankurtaran ES, Ariogul S. Are serum lipid and lipoprotein levels related to dementia? *Arch Gerontol Geriatr.* 2005 Jul-Aug;41(1):31-9.
18. Gezen-Ak, D. (2009). Vitamin D'nin Nöron Yaşamı ve Nörodejenerasyon Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, 13-17.
19. Price, D.L., Albert, M., Troncoso, J., Borchelt, D.R. ve Wong, P.C. (2009). Aging of the brain and Alzheimer's disease. *Encyclopedia of Neuroscience*, 197-201.
20. Kauwe, J.S.K., Cruchaga, C., Karch, C.M., Sadler, B., Lee, M., Mayo, K. ve ark. (2011). Fine mapping of genetic variants in BIN1, CLU, CR1 and PICALM for association with cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease. *PLoS One*, 6(2): e15918.
21. Alzheimer's Association. (2013). Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 9(2), 208-245.
22. Terry RD, Katzman R, Bick KL, Sisodia SS. Alzheimer hastalığı. Ceviri editörü Đ Hakan Gurvit. Yelkovan yayıncılık, İstanbul, 2001.
23. Mott, R.T. ve Hulette, C.M. (2005). Neuropathology of Alzheimer's disease. *Neuroimaging Clinics of North America*, 15(4),755-765.
24. Hardy, J. (2006). A hundred years of Alzheimer's disease research. *Neuron*, 52(1), 3-13.
25. Mocerı V. Early risk factors and development of Alzheimers disease. *Neurology* 2000; 54: 415-420.
26. Arioğul S. Alzheimer tip demansta risk faktorleri. 5. Ulusal Đc hastalıkları Kongresi kitabı 2003; 102-105.
27. Yamada M. Association between mid life risk factors and dementia. *JAGS* 2003; 51: 410- 414.
28. Gürvit H, Emre M, Tinaz S, ve ark. The prevalence of dementia in an urban Turkish population. *Am J Alzheimers Dis Other Demen.* 2008; 23(1): 67-76.
29. Bickel H, Kurz A , Education, occupation, and dementia: the Bavarian school sisters study *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2009; 27(6): 548-556.

30. Rocca WA, Hofman A, Brayne C ve ark. The prevalence of vascular dementia in Europe: facts and fragments from 1980-1990 studies. EURODEM-Prevalence Research Group Ann Neurol. 1991; 30(6): 817-824
31. Alva G, Potkin SG. Alzheimer disease and other dementias. Clin Ger Med 2003; 19(4): 763-776.
32. Clare L. Awareness in early stage Alzheimer's disease, a review of methods and evidence. Br J Clin Psychol 2004; 43(2): 177-196.
33. Knopman DS et al: Practice parameter: Diagnosis of dementia(an evidence-based review) Report of the Quality Standarts Subcommittee of the American Academy of Neurology. 2001;56:1143.
34. Kawas CH. Clinical practice. Early Alzheimer's disease. N Eng J Med 2003; 349(11):1056-1063.
35. Marquia BS, Moore M, Diane B, et al. Independent predictors of cognitive decline in healthy elderly persons. Arch Neurol 2002;59:601-606
36. Clare L. Awareness in early stage Alzheimer's disease, a review of methods and evidence. Br J Clin Psychol 2004; 43(2): 177-196.
37. Clarfield AM. The decreasing prevalence of reversible dementias; an update meta analysis. Arch Int Med 2003; 163(18): 2219-2229.
38. Park HL, O'Connell JE, Thomson RG. A systematic review of cognitive decline in the general elderly population. Int J Geriatr Psychiatry 2004; 18(12):1121-1134.
39. Kaycee M. Sink; Kristine Yaffe: Cognitive Impairment and Dementia. Current geriatrics,2005.60-73.
40. Kocer B. Alzheimer hastalığında genetik faktorler. Turkiye Klinikleri Noroloji Dergisi 2003; 181):32-38.
41. Bowirrat A. Genetic and enviromental risk factors for Alzheimer's disease in Israeli arabs. J Mol Neuroscience 2002; 19: 239-245.
42. Cankurtaran M, Arıoğul S. Demans ve Alzheimer Hastalığı
43. Snowdan DA, Greiner LH, Mortimer JA, et al. Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease. The NUN study. J Am Med Assoc 1997; 277: 813-817.
44. Van Dujin CM. Risk factors for Alzheimer's disease. Overview of EURODEM. Int J Epidemiol 1991; 20(2): 4-11.

45. Religa D, Styczynska M., Peplonska B et al. Homocysteine, apolipoprotein E and metylenetetrahydrofolate reductase in AD and mild cognitive impairment. *Dement Geriatr Cogn* 2003; 16: 64-70.
46. Drkec C. Alzheimer hastalığında immun sistem değişiklikleri. *Türkiye Klinikleri Noroloji Dergisi* 2003; 181): 44-49.
47. Gauthier S. Clinical diagnosis and management of Alzheimer's disease. Martin Dunits Ltd, 1999.
48. Cankurtaran M, Arioğul S. Demans ve Alzheimer Hastalığı
49. Reitz C, Tang MX, Luchsinger J, et al. Relation between plasma lipids to Alzheimer's disease and vascular dementia. *Arch Neurol* 2004; 61(5): 705-714.
50. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*,1994; 372:425-432.
51. Flier JS. The adipocyte: storage depot or node on the energy information superhighway?. *Cell* 1995; 80: 15-8.
52. Filier JS. Leptin expression and action: new experimental pradigms. *Proc Nat Acad Sci* 1997, s. 94: 4242-4245.
53. Friedman JM. Role of leptin and its receptors in the control of body weight. In: (Blum WF, Kiess W & Rascher W eds.) *Leptin-the voice of adipose tissue*. Johann Ambrosius Barth Verlag, Germany; 1997:3-22.
54. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse ob protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 1995; 269: 546 –9.
55. Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, Kolaczynski JW, Heiman ML, Hale J. Evidence of free and bound leptin in human circulation. *J Clin Invest* 1996; 98:1277–82.
56. Brabant G, Horn R, Mayr M, Wurster U, Schnabel D, Heidenreich F. Free and protein bound leptin are distinct and independently controlled factors in energy regulation. *Diabetologia* 2000; 43; 438-42.
57. Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Endorinol Metab* 1996; 81: 3419- 23.
58. Zhang Y , Gottardo L, Mlynarski W, Frazier W , Nolan D, Duffy J, Marescotti M, Gervino E , Johnstone M, Mantzoros C. Genetic variability at the leptin receptor (LEPR) locus is a determinant of plasma fibrinogen and C-reactive protein levels. *Atherosclerosis* 2007, s. 191: 121-127.

59. Lee GH, Proenza R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadch JG, Lee JL et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 1996; 39: 632-635.
60. Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J Leukoc Biol.* 2000;68:437-446.
61. Casabiell X, Pineiro V, Vega F, et al. Leptin, reproduction and sex steroids. *Pituitary.* 2001; 4:93-99.
62. Licinio J, Negrão AB, Mantzoros C, et al. Sex differences in circulating human leptin pulse amplitude: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4140–4147.
63. Van Harmelen V, Reynisdottir S, Eriksson P, et al. Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. *Diabetes* 1998; 47: 913–917.
64. Montague CT, Prins JB, Sanders L, et al. Depot- and sex-specific differences in human leptin mRNA expression. Implications for the control of regional fat distribution. *Diabetes* 1997; 46: 342–347.
65. Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, et al. Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *Clin Endocrinol* 1997; 47: 101–106.
66. Quinton ND, Laird SM, Okon MA, et al. Serum leptin levels during the menstrual cycle of healthy fertile women. *Br J Biomed Sci* 1999; 56: 16–19.
67. Paolisso G, Rizzo MR, Mone CM, et al. Plasma sex hormones are significantly associated with plasma leptin concentration in healthy subjects. *Clin Endocrinol* 1998; 48: 291–297.
68. Nyström F, Ekman B, Österlund M, et al. Serum leptin concentrations in a normal population and in GH deficiency: negative correlation with testosterone in men and effects of GH treatment. *Clin Endocrinol* 1997; 47: 191–198.
69. Baumgartner RN, Waters DL, Morley JE, et al. Age-related changes in sex hormones affect the sex difference in serum leptin independently of changes in body fat. *Metabolism* 1999; 48: 378–384.
70. Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Löllmann B, Lowell BB, Flier JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med* 1995;1:1311- 4.
71. Ma Z, Gingerich RL, Santiago JV, Klein S, Smith CH, Landt M. Radioimmunoassay of leptin in human plasma. *Clin Chem* 1996; 42: 942- 6.

72. Cusin I, Sainsbury A, Doyle P, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. The ob gene and insulin, a relationship leading to clues to the understanding of obesity. *Diabetes* 1995; 44: 1467-70.
73. Sliker LJ, Sloop KW, Surface PL, Kriauciunas A, LaQuier F, Manetta J, Bue-Valleskey J, Stephens TW. Regulation of expression of ob mRNA and protein by glucocorticoids and cAMP. *J Biol Chem* 1996; 271: 5301-4.
74. Gualillo O, Lago F, García M, Menéndez C, Señarís R, Casanueva FF, Diéguez C. Prolactin stimulates leptin secretion by rat white adipose tissue. *Endocrinology* 1999; 140: 5149- 53.
75. Escobar-Morreale HF, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G. Thyroid hormones influence serum leptin concentrations in the rat. *Endocrinology* 1997;138: 4485- 8.
76. Florkowski CM, Collier GR, Zimmet PZ, Livesey JH, Espiner EA, Donald RA. Low-dose growth hormone replacement lowers plasma leptin and fat stores without affecting body mass index in adults with growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol* 1996;45: 769- 73.
77. Donahoo WT, Jensen DR, Yost TJ, Eckel RH. Isoproterenol and somatostatin decrease plasma leptin in humans: a novel mechanism regulating leptin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 4139- 43.
78. Rentsch J, Chiesi M. Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes. *FEBS Lett* 1996; 379: 55-9.
79. Trayhurn P, Duncan JS, Rayner DV. Acute cold-induced suppression of ob (obese) gene expression in white adipose tissue of mice: mediation by the sympathetic system. *Biochem J* 1995; 311: 729- 33.
80. Scriba D, Aprath-Husmann I, Blum WF, Hauner H. Catecholamines suppress leptin release from in vitro differentiated subcutaneous human adipocytes in primary culture via β 1- and β 2-adrenergic receptors. *Eur J Endocrinol* 2000; 143: 439- 45.
81. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 1988, s. 16(3): 1215.
82. Gotoda T, Manning BS, Goldstone AP, Imrie H, Evans AL, Strosberg AD, McKeigue PM, Scott J, Aitman TJ. Leptin receptor gene variation and obesity; lack of association in a white British male population. *Hum Mol Genet* 1997, s. 6: 869-876.

8. ŞEKİLLER RESİMLER DİZİNİ

Şekil 1: AH'da beyinde görülen anormallikler	3
Şekil 2: Alzheimer hastalığının patolojik bileşenleri	4
Şekil 3: AB antikorları ile immn işaretleme yöntemi kullanılarak senil plakların gösterilmesi	4
Şekil 4: LEP promoter bölgesindeki c.-2548 G>A polimorfizmi için amplifikasyonun gerçekleştirileceği sıcaklığın gradiyent ile tespiti	18
Şekil 5: PCR-RFLP yöntemi ile çalışılan Leptin Geni-2548 G>A genotiplerinin %3' lk agaroz jel elektroforezi görüntüsü (Marker: Herbir bant 100 b.)	22
Şekil 6: Hasta ve kontrol gruplarında serum leptin düzeyleri	26
Şekil 7: Hasta ve kontrol gruplarında HDL lm düzeyleri	27
Şekil 8: Hasta ve kontrol gruplarında LDL lm değerleri	27
Şekil 9: Hasta ve kontrol gruplarında Trigliserit lm değerleri	28
Şekil 10: Hasta ve kontrol gruplarında Total Kolesterol lm değerleri	28
Şekil 11: Hasta ve kontrol gruplarında VLDL lm değerleri	29
Şekil 12: Hasta ve kontrol gruplarında BKİ lm değerleri	29

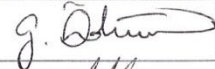

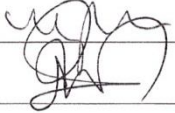
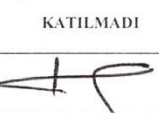
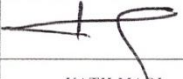
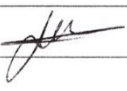
9. TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Deneyleerde kullanılan cihazlar.....	12
Tablo 2. LEP promotör bölgesindeki -2548 G>A polimorfizmi için amplifikasyonun gerçekleştirileceği reaksiyon karışımı.....	19
Tablo 3. Lep promotör bölgesindeki c.-2548G>A polimorfizmi için PCR programı.....	19
Tablo 4. Lep promotör bölgesindeki -2548G/A polimorfizminin gösterilmesi için kesim reaksiyonu karışımı	20
Tablo 5. Alzheimer ve kontrol grubu arasında Leptin Geni c.-2548G>A genotip ve allel frekanslarının karşılaştırılması.....	23
Tablo 6. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyete bağlı olarak serum leptin düzeyleri	23
Tablo 7. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyete bağlı olarak genotip ve allel genlerin serum leptin düzeylerinin karşılaştırılması.....	24
Tablo 8. Hasta ve kontrol grupları arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması	25
Tablo 9. Hasta grubuna ait biyokimyasal parametrelerin korelasyonu	25
Tablo 10. Kontrol grubuna ait biyokimyasal parametrelerin korelasyonu	26

10. EKLER

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı	Alzheimer Hastalarında Serum Leptin Düzeyleri İle Leptin Genindeki c.-2548 G>A Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması		
	Sorumlu Araştırmacı	Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN		
	Başvuru Tarihi	12.05.2014		
	Protokol No	80		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle tetkik, tahlil ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyalleriyle yapılacak araştırmalar, Gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan ve tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalle yapılacak araştırmalar.			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>
KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2014/08		Karar No: 04	Tarih: 16.06.2014
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası ve ilgili belgeler; araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel YÖNDEN sakınca bulunmadığına toplantıya katılan ÜYELERİN oy birliği ile karar verilmiştir.			

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI		Prof. Dr. Gökhan ÖZDEMİR					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Araştırma ile ilişki		Katılım	İmza	
Prof. Dr. Gökhan ÖZDEMİR Başkan	Göz Hastalıkları	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Metin KILINÇ Üye	Tıbbi Biyokimya	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ertan BÜLBÜĞLÜ Üye	Genel Cerrahi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	KATILMADI
Prof. Dr. Mustafa GÖKÇE Üye	Nöroloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Perihan ÖZTÜRK Üye	Dermatoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mustafa ÇELİK Üye	Tıbbi Biyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	KATILMADI
Doç. Dr. Kamile GÜL Üye	Endokrinoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ekrem KIREÇCI Üye	Tıbbi Mikrobiyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	KATILMADI
Yrd. Doç. Dr. Hamide SAYAR Üye	Patoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
ŞERH (VARSA)							

11. ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : İbrahim Seyfettin ÇELİK
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : 22/12/1986 OSMANIYE
Medeni Hali : Bekar
Telefon : 05424960827
e-posta : seyfeddin06celik80@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	K.S.Ü. Tıbbi Biyokimya ABD (Kahramanmaraş)	15.01.2016
Lisans	K.S.Ü. Biyoloji Bölümü (Kahramanmaraş)	19.09.2012
Lise	Ankara Gazi Lisesi (Ankara)	18.06.2004

İş Denevimi

Yıl	Yer	Mezuniyet Tarihi
-----	-----	------------------

Yabancı Diller

İngilizce, Almanca

İlgi Alanları

Bilim, Kitap Okuma, Spor