



**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BETA AMİLOİD 1-40 İLE İNDÜKLENEN SIÇAN ALZHEİMER
MODELİNDE ANJİOTENSİN 1-7'NİN NİKOTİNİK VE
GLUTAMATERJİK RESEPTÖR EKSPRESYONUNA ETKİSİ**

**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Ecz. Aslı BEK

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İzzettin HATİP

Haziran 2019

DENİZLİ

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BETA AMİLOİD 1-40 İLE İNDÜKLENEN SIÇAN ALZHEİMER
MODELİNDE ANJİOTENSİN 1-7'NİN NİKOTİNİK VE
GLUTAMATERJİK RESEPTÖR EKSPRESYONUNA ETKİSİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aslı BEK

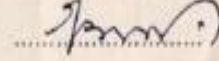
Tez Danışmanı: Prof. Dr. İzzettin HATİP

Denizli, 2019

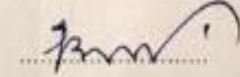
YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU

Aslı BEK tarafından Prof. Dr. İzzettin HATİP yönetiminde hazırlanan "Beta Amlıoid 1-40 ile İndüklenen sıçan Alzheimer modelinde Anjiotensin1-7'nin Nikotirik ve Glutamaterjik Reseptör Ekspresyonuna Etkisi" başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

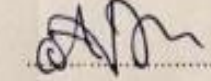
Jüri Başkanı: Prof. Dr. İzzettin HATİP
Pamukkale Üniversitesi



Danışman: Prof. Dr. İzzettin HATİP
Pamukkale Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Funda F. BÖLÜKBAŞI HATİP
Pamukkale Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Turhan DOST
Adnan Menderes Üniversitesi



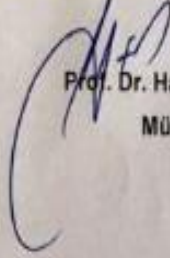
Üye: Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ
Pamukkale Üniversitesi



Üye: Dr. Öğr. Üyesi M. Fatih DOĞAN
Pamukkale Üniversitesi



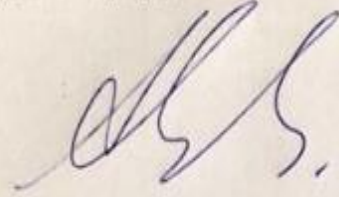
Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 06/08/2019
ve 25/10 sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Hakan AKÇA
Müdür

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Oğrenci Adı Soyadı : Aslı BEK

İmza



ÖZET

BETA AMİLOİD 1-40 İLE İNDÜKLENEN SIÇAN ALZHEİMER MODELİNDE ANJİOTENSİN 1-7'NİN NİKOTİNİK VE GLUTAMATERJİK RESEPTÖR EKSPRESYONUNA ETKİSİ

Aslı BEK
Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Farmakoloji AD
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. İzzettin HATİP
Temmuz 2019, 67 sayfa

Alzheimer hastalığı(AH) beyinde temporal, frontal ve subkortikal bölgeleri tutan, devamlı ilerleyici karakterde nörodejeneratif bir hastalıktır. Senil amiloid plaklar, nörofibriler yumak (NFY) oluşumu, sinaps, nöron kaybı, beyinde belirgin olarak atrofi, bellek kaybı ve demans hastalığının ana özellikleridir. Öğrenme ve bellek fonksiyon bozukluğunda glutamat seviyeleri artarken, asetilkolin (ACh) seviyeleri anlamlı ölçüde azalmaktadır. Sağlıklı durumda beyin Renin Anjiotensin Sistemi (RAS) komponentlerinden biri olan Anjiotensin (1-7) vazodilatasyon, anti-inflamatuvar ve anti-proliferatif etkileri ile nöroprotektif etkilere sahiptir. AH de RAS dengesi bozulur: regülatör kol azalırken klasik Ang-II/III artar.

Bu çalışmada bileteral intraamigdaloid yolla verilen toplam 6 microL amiloid beta 1-40 peptid (A β 40) peptidlerle sıçanlarda AH modeli oluşturuldu. Osmatik pompa aracılığı ile 7 gün boyunca Ang-(1-7) 11.1 nmol/ 0.25 microL/ saat dozda intraserebroventriküler olarak verildi. Öğrenme ve bellek fonksiyon değerlendirmesi için 8-arm radyal maze yöntemi ile davranış testleri uygulandı. Nikotinik asetilkolin reseptör (nAChR) alt üniteleri olan α 7, α 4 ve β 2 ile metabotropik glutamat reseptör (mGluR) alt üniteleri olan mGluR5 ve mGluR1'in amigdala ve hipokampusteki ekspresyonu western-blot yöntemi ile analiz edildi.

A β 40 peptid grubu genel olarak RAM bitirme süresini önemli derecede uzatmıştır (p<0,006). Doğru seçimde A β 40 grubunda 10. ve 14. günlerde anlamlı bir azalma tespit edildi. Öte yandan A β 40, α 7nAChR ve mGluR5 alt ünitelerinin ekspresyonunu anlamlı olarak amygdalada azalttı. Ang-(1-7), AH'lı sıçanlarda azalan doğru seçimi anlamlı olarak engellerken, β 2nAChR ekspresyonunu hipokampusta, mGluR1'i ise amigdalada arttırmıştır.

Sonuç olarak; Ang-(1-7) A β 40 ile indüklenen AH'lı sıçanlarda hem reseptör düzeyinde hem de bellek ve öğrenme üzerinde anlamlı olan iyileştirici etkiler göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, Angiotensin 1-7, Nikotinik reseptör, Metabotropik glutamat reseptör

Proje Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2017SABE008 nolu proje olarak desteklenmiştir.



ABSTRACT**EFFECT OF ANGIOTENSIN 1-7 ON EXPRESSION OF NICOTINIC AND METABOTROPIC GLUTAMATE RECEPTORS AND RADIAL MAZE PERFORMANCE OF RAT IN A MODEL OF ALZHEIMER'S DISEASE INDUCED BY AMYLOID BETA1-40**

Aslı BEK

Postgraduate MSc. Thesis, Department of Medical Pharmacology

Thesis advisor: Prof. Dr. İzzettin HATİP

July 2019, 67 pages

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disease affecting the Temporal, frontal and subcortical areas in brain. The senile amyloid plaques, neurofibrillary tangles, synaptic/neuronal loss, marked atrophy in the brain, loss of memory and dementia are the hallmark characteristics of the disease. Dysfunction of the glutamatergic system and decreased acetylcholine levels take place in the learning and memory impairment. Angiotensin (1-7) (Ang-(1-7)) is the regulator component of the renin-angiotensin system (RAS), and possesses vazodilatör, anti-inflammatory, anti-proliferator and neuroprotective activities. In AD, the balance of RAS is disturbed so that the regulator arm is decreased whereas the classic Ang-II/III arm is elevated.

In this study, the AD model was induced by bilateral intraamygdaloid injection of 6 microL amyloid beta peptid 1-40 (A β 40). Ang-(1-7) at 11.1 nmol / 0.25 microL/saat was injected i.c.v for 7 days. Memory was evaluated using 8-arm radial maze test. The α 7, α 4 and β 2subuites of the nicotinic receptor (nAChR) and the metabotropic glutamate receptors (mGluR) subunits mGluR1 and mGluR5 expression in both amygdala and hippocampus were analyzed by Western-blot method.

A β 40 increased the time required to complete the RAM test, and decreased the correct choices on days 10 and 14. On the other hand, Ang-(1-7) decreased the reduction in the correct choices, increased expression of β 2nAChR in hippocampus, and mGluR1 in amygdala.

In conclusion: Ang-(1-7) improved the A β 40-induced impairment of learning/memory, and mGluR/nAChR changes

Key words: Alzheimer's disease, Angiotensin 1-7, Nicotinic receptor, Metabotropic glutamate receptor.

This Project was supported by Pamukkale University-Scientific Research projects No: 2017SABE008.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı ve danışman hocam Prof. Dr. İzzettin HATİP'e, tezimin tüm aşamalarında bilgi ve yardımlarını benimle paylaşan Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Funda F. BÖLÜKBAŞI HATİP'e, deneysel çalışmalarımda destek ve yardımlarını gördüğüm Uzm. Klinik Psikolog Zeynep Mine ALTUNAY'a ve Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Muhammed Fatih DOĞAN'a teşekkür ederim.

Eğitim sürem ve tez çalışmam boyunca beni destekleyerek bana güç veren sevgili eşim Fatih BEK'e, her koşulda yanımda olan canım annem Gülten EROLAN'a, bana olan desteğini esirgemeyen sevgili babam Selahattin EROLAN'a, eczacılık mesleğimdeki en büyük destekçilerim olan sevgili Aslı Eczanesi çalışanlarına ve her sıkıntıya düştüğümde hep yanımda olan ve gülen gözleriyle bana her zaman güç veren canım evlatlarım Taha Kerem BEK'e ve Talu Eren BEK'e çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	v-vi
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	ix-x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii-xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç.....	2
2.KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI	3
2.1. Demans.....	3
2.2. Alzheimer Hastalığı(AH).....	3
2.2.1. Tanımı ve Tarihçesi.....	3
2.2.2. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi.....	4
2.2.3. Alzheimer Hastalığının Etiyolojisi.....	5
2.2.3.1. Alzheimer Hastalığı Risk Faktörleri.....	5
2.2.4. Alzheimer Hastalığının Çeşitleri.....	6
2.2.4.1. Erken Başlangıçlı-Ailesel Tip AH (Family Alzheimer Disease (FAD))....	6
2.2.4.2. Geç Başlangıçlı-Sporadik Tip AH (SAD).....	8
2.2.5. Alzheimer Hastalığının Klinik Özellikleri.....	9
2.2.6. Alzheimer Hastalığı Patolojisi.....	12
2.2.6.1. Amiloid Kaskad Hipotezi.....	13
2.2.6.2. Tau Hipotezi- Nörofibriler Yumak Oluşumu.....	15
2.2.6.3. Kolinejik Sistem ve Kolinerjik Hasar Hipotezi.....	17
2.2.6.3.1. Asetilkolin Reseptörleri.....	20
2.2.6.4. Oksidatif Hasar Hipotezi.....	21
2.2.6.5. Glutamateryjik Sistem, Bellek ve Alzheimer Hastalığı ilişkisi.....	22
2.2.6.5.1. Glutamat Reseptörleri.....	22
2.2.6.5.2. Eksitotoksosite Kavramı.....	24
2.2.6.5.3. Bellek oluşum mekanizması ve Alzheimer hastalığında bellek fonksiyonları.....	24
2.3. Renin Anjiotensin Sistemi	28
2.3.1. Beyin Renin Anjiotensin Sistem.....	29
2.4. Hipotez.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	33
3.1. Deney Protokolü	33
3.1.1. Kimyasal Maddeler ve İlaçlar.....	34
3.2. 8-kollu radyal arm maze(RAM).....	35
3.3. Cerrahi İşlem	38
3.4. Sıçan Beyin Lizatı Hazırlanması ve Western Blot Yöntemi.....	40
3.5. İstatistiksel Analiz.....	41
4. BULGULAR	42
4.1. RAM Performansına Etkiler.....	42
4.1.1. Doğru Seçim.....	42
4.1.2. Yanlış Seçim.....	43
4.1.3. Performans Süresi.....	44

4.2. Western Blot	44
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇLAR	54
7. KAYNAKLAR	55
8. ÖZGEÇMİŞ	67



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Alzheimer Hastalığı risk faktörleri.....	6
Şekil 2.2. APP'nin metabolize yolları ve Alzheimer hastalığı ilişkisi.....	14
Şekil 2.3. Kolinerjik iletim.....	17
Şekil 2.4. Glutamat reseptör sınıflandırılması.....	22
Şekil 2.5. Alzheimer hastalığında A β oligomerlerinin ve mGluR'ler arasındaki ilişki.....	27
Şekil 2.6. Beyindeki renin anjiyotensin sistem komponentleri.....	29
Şekil 3.1. Çalışma protokolü ve zaman çizelgesinin şematik gösterimi.....	32
Şekil 3.2. Paü Tıp Fakültesi Farmakoloji ABD laboratuvarı- 8 kollu radyal maze.....	36
Şekil 3.3. Deney hayvanının kafasının dış kulak yolundan sterotaksi cihazına yerleştirilmesi.....	37
Şekil 3.4. Sterotaksik cerrahi ile kanül ve osmatik pompanın yerleştirilmesi.....	38
Şekil 4.1. A β 40 peptid enjeksiyonu ile oluşturulan Alzheimer modelinde Ang-(1-7)'nin bellek testindeki doğru seçim üzerine etkisi.....	41
Şekil 4.2. A β 40 enjeksiyonu ile RAM testinde yanlış seçimlere Ang-(1-7)'nin etkisi...42	42
Şekil 4.3. A β 40 peptid enjeksiyonu ile RAM testinde toplam bitirme süresine Ang-(1-7)'nin etkisi.....	43
Şekil 4.4. Sıçan amigdala bölgesine verilen A β 40 peptid ve i.c.v. verilen Ang-(1-7) sonrası elde edilen amigdala ve hipokampuse ait beyin homojenizatlarında primer β -actin, mGluR1 ve mGluR5'e ait görüntüler ve primer mGluR1 ve mGluR5'e ait grafikler.....	44
Şekil 4.5. Sıçan amigdala bölgesine verilen A β 40 peptid ve i.c.v. verilen Ang-(1-7) sonrası elde edilen amigdala ve hipokampuse ait beyin homojenizatlarında primer β -actin, α 7nAChR, α 4nAChR ve β 2nAChR'e ait görüntüler ve primer α 7nAChR, α 4nAChR ve β 2nAChR'e ait grafikler.....	45

TABLULAR DİZİNİ**Sayfa**

Tablo 2.1. Alzheimer hastalık tiplerindeki genetik etkiler.....	9
--	---



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A β	Amiloid beta
ACE.....	Anjiotensin dönüştürücü enzim
ACh.....	Asetilkolin
AChE.....	Asetilkolinesteraz enzimi
AH.....	Alzheimer hastalığı
NFY.....	Nörofibriler yumak
AMPA.....	α -Amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonikasit
Ang-(1-7).....	Anjiotensin 1-7
Ang-(1-9).....	Anjiotensin 1-9
Ang I.....	Anjiotensin I
Ang II.....	Anjiotensin II
Ang III.....	Anjiotensin III
Ang IV.....	Anjiotensin IV
APP.....	Amiloid prokürsör protein
APOE.....	Apolipoprotein E
Asetil KoA.....	Asetil Koenzim A
cAMP.....	Siklik amp
ChAT.....	Kolin Asetiltransferaz
DS.....	Down Sendromu
DSM.....	Tanısal ve sayımsal el kitabı
FAD.....	Ailesel Alzheimer hastalığı
GABA.....	γ -aminobutirik asit
GPCR.....	G protein bağlı reseptör
iGluR.....	İyonotropik glutamat reseptörü
LDP.....	Long term depression
LTP.....	Long term potentiation
mAChR.....	Muskarinik asetilkolin reseptörü
MAP.....	Mikrotübül asosiye protein
MasR.....	Mas reseptörü
mGluR.....	Metabotropik glutamat reseptörü
MRF.....	Mezensefalik retiküler formasyon
MSS.....	Merkezi sinir sistemi
nACh.....	Nikotinik asetilkolin reseptörü
NINCDS-ADRD.....	Ulusal nörolojik ve iletişim hastalıkları enstitüsü ve inme- Alzheimer hastalığı ve ilişkili hastalıklar derneği
NMDA.....	N-metil-D-aspartat
NOS.....	Nitrik oksit sentetaz
oA β	oligomerik amiloid beta
P38 MAPK.....	P38 mitogen-activated protein kinaz
PrPc.....	Prion protein
PS-1.....	Presenilin 1
PS-2.....	Presenilin 2
RAAS.....	Renin Anjiotensin-Aldosteron Sistemi
RAS.....	Renin Anjiotensin Sistemi
ROS.....	Reaktif oksijen ürünleri
SAD.....	Sporadik Alzheimer hastalığı

Sap.....	Senil amiloid plak
SSS.....	Santral sinir sistemi
STAP.....	Striatal triozin fosfataz
TÜİK.....	Türkiye istatistik kurumu
WB.....	western blot



1. GİRİŞ

Teknoloji ve sağlık hizmeti alanlarındaki ilerlemelerin ışığında ölüm oranlarının önemli ölçüde azalmış olması yaşlı popülasyonunda artışa neden olmuştur. Bu artışa paralel olarak ileri yaşlarda karşımıza çıkan kronik hastalıkların sayılarında da meydana gelen artışlar sağlık kaynaklarını hızla tüketen önemli bir sorun halini almıştır. Yaşa bağlı ortaya çıkan en önemli kronik hastalıkların sorunlarından biri olarak ilk sıralarda karşımıza Demans (bunama) olgusu çıkmaktadır.

Demans kendi içinde gruplara ayrılrsa da en yaygın türü %70-80 oranında Alzheimer tipi demansdır (Sandra vd 2013). Alzheimer hastalığı (AH) başta bellek olmak üzere günlük işlevler ve davranışlarda bozulma ile karakterize ilerleyici tipte nörodejeneratif bir hastalıktır (Goodman & Gilman 2009, Parihar MS vd 2004). Yaşlı popülasyonunun artışıyla birlikte her yıl yaklaşık olarak 4-5 milyon yeni AH vakasının oluştuğu düşünölmektedir (Ferri CP vd 2005). Yapılan istatikselsel çalışmalarda vaka sayılarının her 3 dakikada bir değiştiiği belirtilmektedir (World Alzheimer report 2018).

AH gibi nörodejeneratif hastalıkların hızlı artışı ile birlikte, tedavi maliyetleri de aynı oranda arttığı için birçok toplumda hastalığın tedavisine yönelik çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmektedir (Allegri RF vd 2006, Dubois B vd 2016, Latimer CS vd 2017, Lemche E 2018, Park S vd 2019). Fakat bu çalışmalar sonucunda AH mekanizması gizemini hala korumaktadır ve yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

AH nöropatolojisinde meydana gelen en önemli değişiklik, hipokampus, amigdala ve kortekste oluşan Aβ merkezli senil amiloid plak (SAP)'lardır. Bu plakların toksik etkileri sonucunda çevre beyin dokularında ve damarlarda nörovasküler bozukluklar ve kronik nörodejenerasyonlar meydana gelmektedir (Murakami T vd 2006). Bu plak oluşumlarının yanı sıra; nörofibriler yumak (NFY)'lar, hücre membranı ve organellerinde oluşan oksidatif stres, inflamasyon, gliozis, hücre içi aşırı Ca²⁺ artışına bağlı oluşan eksitotoksitate, membran katyon kanallarında meydana gelen

bozulmalar gibi birbirini tetikleyen birçok mekanizma ile nöron ölümleri karşımıza çıkmaktadır (Akiyama H vd 2000, Kumar A vd 2015).

AH'da inflamatuvar süreçlerin patolojik oluşuma dahil olduğu ya da hastalığı ilerletici katkılar sağladığı yapılan çalışmaların sonuçlarında bulunmuştur. Anti-inflamatuvar tedavi seçeneklerinin AH'de kısmi destek sağlaması, tedaviye yönelik çalışmalarda farklı anti-inflamatuvar yapıları da akla getirmektedir (Akiyama H vd 2000).

Renin Anjiotensin - Aldosteron Sistemi (RAAS), vücudun elektrolit dengesini ve kan basıncını ayarlayarak vücut homeostazını koruyan önemli bir sistemdir. Periferdeki RAAS'dan ayrı çeşitli organların kendine ait olan Renin Anjiotensin Sistemleri (RAS)'nin de bulunmasından sonra, her birinin organ içindeki etkileri birer araştırma konusu olmuştur. Beynin kendine ait RAS mekanizmasının anlaşılabilmesinin birçok nörodejeneratif hastalığa ışık tutacağı düşünülmektedir. Beyin RAS ürünlerinden biri olan Ang-(1-7) peptidi, Mas reseptör (MasR) agonistidir (Mascolo A vd 2016). MasR'leri beyinde bellek ile ilgili alanlarda çokca bulunmaktadır ve Ang-(1-7) ile birlikte hipokampal Long Term Potansiyalizasyonunu (LTP) hızlandırmaktadır. Ayrıca diğer bir RAS ürünü olan Anjiotensin II (Ang-II)'nin sahip olduğu nöroinflamatuvar etkilerin bilişsel bozukluklara katkı sağladığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda Ang-(1-7)'nin anti-inflamatuvar, anti-fibrotik, vazodilatör ve anti-proliferatif biyolojik etkileriyle Ang-II'nin biyolojik etkilerini tersine çevirerek; bellek ve öğrenmeyi desteklediği bulunmuştur. Bu etkileri göz önünde bulundurulduğunda Ang-(1-7), AH tedavisi için yeni bir araştırma alanı olarak düşünülmüştür (Simoes vd 2013).

1.1. Amaç

Bu çalışmanın amacı; Ang-II'nin biyolojik etkilerinin tersi etkilere sahip olduğu bilinen Ang-(1-7)'nin, *in-vivo* intraamigdaloïd yolla A β peptidleri verilerek AH modeli oluşturulan sıçanlarda AH patolojisinde azalan nikotinik asetilkolin reseptör alt üniteleri olan α 4, β 2, ve α 7 ile, artan metabotropik glutamaterjik reseptör alt üniteleri mGluR1 ve mGluR5 üzerinde oluşabilecek protektif etkisinin araştırılmasıdır. Bu amaçla 8-arm radial maze (RAM) yöntemi uygulanmıştır. Ang-(1-7)'nin bu reseptörler üzerindeki etkisi Western Blot (WB) yöntemi ile araştırılmıştır. Bu çalışma için Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (PAUHDEK-2017/08).

2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI

2.1. Demans

Beynin zihinsel ve davranışsal işlevlerinin bozulmasıyla karakterize olan ve çoğu nörodejeneratif hastalıklarda ortaya çıkan bir olgudur. Bellek, düşünme, yargılama, öğrenme, hesaplama, dil gibi birçok işlevsel yapı bozulmaktadır. Bütün semptomlar her hastada farklı hızda oluşmaktadır ve beyindeki patolojik değişimler fark edildiği zamandan çok önce gelişmektedir. Demans oluşum mekanizmaları kendi içinde gruplara ayrılmaktadır. AH'de ortaya çıkan demans, tüm demans vakalarının %60-70'ini kapsamaktadır. Ayrıca Vasküler Demans, Parkinson Demansı, Frontal-Temporal Demans, Lewy Body Demansı gibi farklı demans türleri de literatüre girmiştir. Kafa travması, stres, enfeksiyon, hipotiroid, multiple skleroz, serebral tümörler, Cruetzfeld-Jakob hastalığı gibi pek çok durum da demans oluşumuna neden olmaktadır (Dementia, WHO 2012).

2.2. Alzheimer Hastalığı

2.2.1. Tanımı ve Tarihçesi

AH merkezi sinir sistemi (MSS)'deki farklı bölgelerde nöron ve sinaps kayıplarının yaşandığı, yavaş ortaya çıkan, geri dönüşümsüz ve devamlı ilerleyici nörodejeneratif bir rahatsızlıktır. Bellek kaybı, kişilik değişiklikleri, sıra dışı davranışlar, düşünme yeteneklerindeki bozulmalarla karakterizedir (Parihari MS vd 2004).

AH tanısı literatüre girmeden önce, Fransız Hekim Phillipe Pinel, takip ettiği 34 yaşındaki kadın hastasının her şeyi yavaş yavaş unutmaya başladığını ve bir iki yıl içinde bütün hafızasını kaybetmesinin yanı sıra; konuşma, yürüme gibi günlük ihtiyaçlarını da gerçekleştiremediğini gözlemlemiştir. Hasta hayatını kaybettiğinde yaptığı otopsi sonucunda; beyin boyut ve ağırlığının normal boyutunun 2/3 oranına

gerilediği ve sıvı miktarının arttığını tespit etmiştir. Bu hasta hekim Phillipe Pinel tarafından ilk defa 'zihinsel melekelerin tutarsızlığı' anlamına gelen Latince kökenli bir kelime olan demans (dementia) tanımı kullanılarak literatüre giren ilk demans vakası olmuştur (Özlen F 2019).

20. yüzyılın hemen başında 1901 yılında, Auguste Deter adında 51 yaşındaki bir kadın; paranoya tarzı takıntılı düşünceler, agresif davranışlar, bellek kaybı ve konuşma bozukluğu ile akıl hastanesine götürülmüştür. Dr. Alois Alzheimer kontrolündeki hastada belirtiler gittikçe ilerlemiştir ve bunlara halüsinasyon ve bilişsel bozukluklar da eklenmiştir. 1906 yılında hasta öldüğünde otopsi raporuna senil demansın ağır bulgularının yanı sıra (küçülmüş ve sıvı dolu bir beyin), korteksin incelmış olduğunu ve korteks hücrelerinin 1/3 oranında kaybolduğunu, bunların yerinde dejenerasyon hücre kalıntısı olduğu düşünülen lifsi yapıların (nörofibriller) yer aldığını ve beyin içinde kemiksi yapıların (plaklar) oluştuğunu kaydetmiştir. Bu yeni bulunduğu bulguları 1907 yılında bir dergide yayınladıktan sonra, birlikte çalıştığı Dr. Emil Krapelin'in Klinik Psikiyatri (1910) kitabında bu hastalığa ilk defa 'Alzheimer Hastalığı' adı verilmiştir. 20. YY ortalarından itibaren de 'Alzheimer tip senil demans' artık toplumun en önemli sorunlarından biri olmuştur (Chen XQ ve Mobley WC 2019).

2.2.2. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi

AH, demansın en bilinen alt tiplerinden biridir ve çoğunlukla yaşlı popülasyonda ortaya çıkan nörodejeneratif bir hastalık türüdür. AH tüm dünyada, tüm ırklarda ve tüm etnik gruplarda karşımıza çıkmaktadır. Fakat AH oluşumunda etkili olan risk faktörlerinin çeşitliliği epidemiyolojik dağılımı da etkilemektedir (World Alzheimer Report, 2018- Dementia WHO).

Dünya genelinde 2015 yılında Demans olgusunun tanımlandığı 46,8 milyon insan sayısının 2030'da 74,7 milyona, 2050'de 131,5 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (World Alzheimer Report, 2018). Demans tablosunun her 3 saniyede değişimi sonucunda 2018 yılında 1 trilyon dolar olan harcamaların 2030 yılına gelindiğinde 2 katına çıkacağı belirtilmektedir (The World Alzheimer Report 2015). Demansın en çok görülen türü olan AH vakalarına da her yıl 4,6 milyon kişinin katılacağı tahmin edilmektedir (Ferri CP vd 2005). AH'nin 65-74 yaş grubunda görülme sıklığı %3-5 oranındayken, 75-84 yaş grubunda bu oran %20-30, 85-95 yaş grubunda ise %30-50 oranındadır. Genel olarak AH'nin 65 yaş sonrasında ortaya çıktığı kabul

edilse de, yapılan çalışmalar AH ve Demans çeşitlerinin daha erken yaşlarda da meydana gelebildiği rapor edilmiştir (Kalaria vd. 2008).

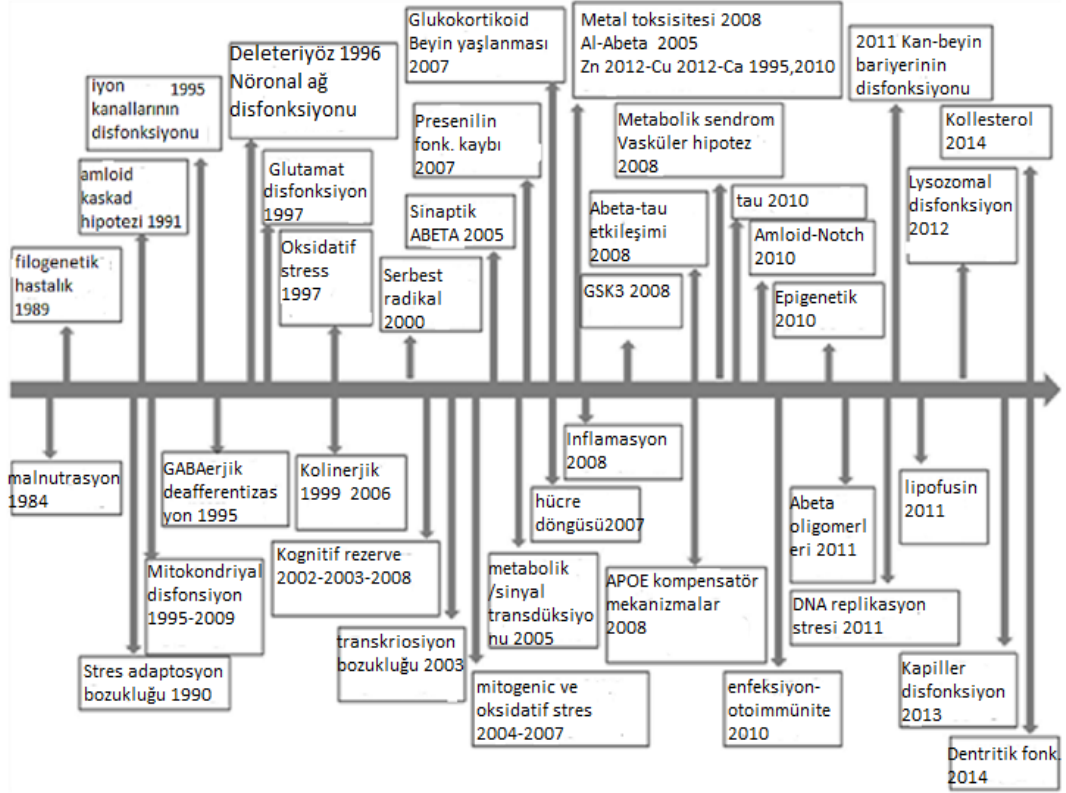
Ülkemizde ise Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2018 verilerine göre yaşlı nüfus oranının son beş yılda %16 arttığı görülmektedir. Yaşlı nüfusu 2014 yılında nüfusun 6 milyon 192 bin 962 kişi iken, son beş yılda bu sayı %16 artarak 2018 yılında yaşlı nüfus 7 milyon 186 bin 204 kişi olmuştur. Kayıt altına alınabilen AH nedeniyle hayatını kaybeden yaşlıların sayısı ise 2016 yılında 11 bin 997 kişiyken, 2017 yılında 13 bin 601 kişiye yükselmiştir. Bunların 5 bin 23'i erkek, 8 bin 366'sı kadındır (TÜİK 2018).

2.2.3. Alzheimer Hastalığının Etiyolojisi

Hastalığın etiyolojisi bilinmemektedir. AH oluşumunu aydınlatmaya çalıştığımızda hem genetik, hem de çevresel birçok faktörün kompleks etkisi ile karşılaşmaktayız. Genetik faktörleri açıklayabilmek için tek yumurta ve çift yumurta ikizleri ile birçok çalışma yürütülmüştür. Çift yumurta ikizleri yaklaşık %50 oranında aynı gen paylaşımına sahipken, tek yumurta ikizleri bütün genleri paylaşmaktadır. Tek yumurta ikizleri üzerinde yapılan çalışmaları incelediğimizde AH oluşumu için çok sayıda gen faktörü bulunmuştur fakat tek bir genle hastalık mekanizmasını açıklamak imkansızdır. Bu nedenle genetik yatkınlık çok önemli bir faktör olsa da, çevresel faktörler hastalığın oluşum evresi ve hızı için önemli belirleyicilerdir (Gatz M vd 2006).

2.2.3.1. Alzheimer Hastalığı Risk Faktörleri

Yaş, cinsiyet, aile öyküsü, düşük eğitim seviyesi, hipertansiyon, diabetes mellitus, obezite, uzun süreli alkol kullanımı, stres, depresyon, kafa travmaları, Down Sendromu, östrojen eksikliği, menapoz, inflamasyon, arteroskleroz, felç, hiperlipidemi, kalp hastalıkları gibi birçok risk faktörü genetik etkenlerle birlikte AH oluşumuna katkıda bulunmaktadır. En önemli risk faktörü olarak yaş kabul edilse bile, bütün bu sayılan risk faktörlerinin patolojiye katkıları kişiye özel olarak önem kazanmaktadır. Aydınlatmaya çalıştığımız AH mekanizmasını tek bir nedene bağlamaksızın, çoklu faktörlerin bir araya gelmesi olarak düşünmemiz gerekmektedir (Seleker K vd 1998, Kawas C vd 2000, Guo Z vd 2000, Tyas SL vd 2001, Grammas P vd 2011, Wilcock DM vd 2013, Xing Y vd 2013, Fargo K vd 2014, Nelson I vd 2014, Türk Nöroloji Derneği 2019).



Şekil 2.1. Alzheimer risk faktörleri (Talwar P vd 2015).

2.2.4. Alzheimer Hastalığının Çeşitleri

Bütün bu faktörlerin etkisini patolojide belirlemeye çalışırken, genetik faktörler ve yaş birlikte değerlendirildiğinde AH kendi içinde 'erken başlangıçlı-ailesel tip AH (Family Alzheimer Disease (FAD)) ve 'geç başlangıçlı-sporadik tip AH (SAD)' olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Sá F vd 2012).

2.2.4.1. Erken başlangıçlı-Ailesel tip Alzheimer Hastalığı

Hastalığın bu tipi %5-10 gibi az bir oranla karşımıza çıkmaktadır. 30-60 yaş aralığında görülen kalıtsal olarak ortaya çıkan AH grubudur (Ricardo B vd 2001). Bu grubun patogenezi için 3 gen mutasyonu ele alınmaktadır.

Bunlar;

- * 21. kromozomdaki APP(Amiloid Prokürsör Protein),
- * 14. kromozomdaki presenilin 1 (PS1),
- * 1. Kromozomdaki presenilin 2 (PS2) gen mutasyonlarıdır (Selkoe D 2008, Bettens K vd 2010, Maltsev AV vd 2011).

21. kromozomdaki APP bir transmembran proteindir ve santral sistem içindeki birçok nöronda bulunmaktadır. AH için karakteristik olan amiloid fibriller APP'nin proteolitik yollarla oluşan metabolik ürünleridir ve bu gende oluşabilecek mutasyonlar polimerize yapıdaki A β peptid oluşumunu arttırmaktadır. Sayıları artan polimerize A β peptidler birikerek, amiloid plakları oluştururlar. Bu plakların AH dışında da yaşa bağlı olarak oluştuğu bilinmektedir fakat FAD vakalarındaki plak oluşumları bu gendeki mutasyonla ilişkilidir. Yapılan moleküler, genetik, biyokimyasal birçok çalışma sonucunda; APP üretimi, metabolizması, agregasyonu, depolanması ve toksisitesi ile ilgili birbirini etkileyen birçok nörodejeneratif süreçten ve gen mutasyonundan bahsedilmektedir (Goate A vd 1991, Hardy JA vd 1992, Kim DH vd 2014).

1. ve 14. kromozomlarda kodlanan PS1 ve PS2 proteinleri endoplazmik retikulum ve golgi aygıtında bulunan birbiri ile yakın kodlanmış çoklu transmembran proteinlerindedir. PS1 nörojenez ve hücrelerin hayatta kalmasına yardım ederek, PS1 ve PS2 ise birlikte apoptozu da kontrol ederek hücre ekselinin korunmasını sağlamaktadırlar. Ayrıca bu iki protein gama(γ) sekretaz kofaktörüdür ve APP'nin proteolitik mekanizmasındaki γ sekretaz bölünmesinden sorumlu merkezi bileşenlerdendirler. PS1 ve PS2 genlerinde gerçekleşen mutasyonlar A β 42/A β 40 oranını arttırarak AH oluşumunu desteklemektedir. FAD'a neden olan 40'dan fazla PS1 gen mutasyonu tespit edilmiştir. Tam olarak işlevleri anlaşılamamış olsa da son yıllarda yapılan çalışmalar PS genlerinin kinazlar, glukojen sentez kinaz 3 β , filamin, β -catenin, G0 protein kalsenilin, μ -calpain gibi proteinlerle bağlantılı olduğu bulunmuştur (Parihar MS vd 2004).

FAD'da farklı protein kinaz ve fosfatazların devreye girmesi tau proteinin hiperfosforilasyonuna neden olarak NFY oluşumlarını tetiklemektedir. Bu etkinin de PS1 geninde meydana gelen mutasyonlarla oluştuğu düşünülmektedir (Maccioni RB vd 2001).

FAD oluşumları sırasıyla % 70-80 oranında PS1 gen mutasyonu,%20 oranında PS2 gen mutasyonu %2-3 oranında APP gen mutasyonu ile meydana gelmektedir (Özkay ÜD vd 2011).

2.2.4.2. Geç Başlangıçlı-Sporadik Tip Alzheimer Hastalığı

SAD 65 yaş sonrası gerçekleşen ve yaşa bağlı görülme sıklığı artan Alzheimer vakalarını ifade eder ve hastalık popülasyonunda daha büyük bir orana sahiptir. Bu grup için spesifik bir gen mutasyonu bildirilmese de, yapılan çalışmalar sonucunda 19. kromozomda bulunan apolipoprotein E (APOE) gen mutasyonları ile SAD oluşumu arasında ilişki bulunmuştur.

19. Kromozomda kodlanan ApoE 299 aminoasitlik bir glikoproteindir ve beynin oligodendroglia, astrosit ve mikroglialarında bulunmaktadır. Kolesterol ve diğer lipidleri nöronlara taşıyan lipoprotein partikülleriyle bağlantılıdır (Sery vd 2013, Fargo vd 2014).

Yapılan *in-vitro* çalışmalarda ApoE'nin glutamat eksitotoksitesine bağlı oksidatif hasara karşı glial hücreleri koruduğu bulunmuştur. Genel olarak bakıldığında bu protein, beyin için bir antioksidan görevi üstlenmektedir.

Bu gene ait 3 tane polimorfik $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ allel vardır. $\epsilon 3$ allelinin A β toksitesine karşı koruyucu etkisiyle AH oluşum riskini azalttığı fakat $\epsilon 4$ allelinin amiloid plak ve NFY oluşumlarına sağladığı katkılarla riski arttırdığı bilinmektedir. Bu gene ait mutasyonlar SAD vakalarının % 60-80 oranlık büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Bu oluşumlarda otozomal dominant bir geçiş olmasa da ailevi yatkınlıktan söz edilebilmektedir (Kosunen vd 1995, Jordan J vd 1998, Lee Y vd 2004, Özkay ÜD vd 2011).

Erken ya da geç yaşta oluşan AH vakalarında mutasyona uğramış genlerin hepsi birer transmembran proteindir ve işlevleri tam olarak bilinmemektedir. AH tanısı için başka gen mutasyonları veya gen mutasyon geçişlerinin olabileceği düşünülse de gizemini hala korumaktadır (Ertekin-Taner N 2007, Bettens K vd 2010).

Tablo 2.1. Alzheimer hastalık tiplerindeki genetik etkiler

Kromozom	Gen türü	AH tipi	Etki
21	APP mutasyonu	FAD	A β üretiminde artış
14	PS1 mutasyonu	FAD	A β üretiminde artış
1	PS2 mutasyonu	FAD	A β üretiminde artış
9	Apo ϵ 4 mutasyonu	SAD	A β klirensinde bozulma Tau hiperfosforilasyon Nöral plastisitede bozulma

2.2.5. Alzheimer Hastalığı Klinik Özellikleri

Başlangıç döneminden sonra AH'da klinik belirtilerin başında amnezi, afazi, apraksi ve agnozi gelmektedir.

Amnezi:

Yeni bilgileri öğrenme yeteneğinin kaybıdır. AH vakalarında ilk önce bireyin hatıralarını ve anılarını içeren epizodik bellek kaybı görülür. Hasta başlangıçta unutkan olur ve aynı şeyleri tekrarlar, eşyalarını kaybeder. Hastalık ilerledikçe kişinin çevresi ile ilgili genel bilgileri, kavram, kural ve olguları depoladığı semantik bellekte de bozulmalar başlar. Semantik bellek özellikle sol anterior temporal neokorteksin fonksiyon yapmamasına bağlıdır. AH vakalarında özellikle bu alanda belirgin patolojik değişiklikler oluşmaktadır.

Afazi:

Spontan konuşmada, kelime bulmada ve objeleri isimlendirme yeteneğinde bozukluktur. AH vakalarında en sık karşılaşılan sorundur.

Apraksi:

Sonradan öğrenilen, pratik olarak yapılan ve motor beceri gerektiren hareketleri uygulama becerisinin bozulmasıdır. Hastadan bir şekli kopya etmesi, bir işi sırasıyla yapması istendiğinde ortaya çıkmaktadır. Hastalık başlangıcında yeni adresleri bulmak

gibi yeni öğrenilmiş bilgi gerektiren karmaşık beceriler bozulmaktadır. Hastalık ilerledikçe çatal-bıçak kullanma gibi sıradan günlük aktiviteler bozulur.

Agnozi:

Hastanın bedeninin çeşitli bölümlerini tanıyamamasıdır. Yazı yazamama, basit hesapları yapamama, yüzleri tanıyamama gibi sorunlar ortaya çıkar.

Hastalığı kendi içinde hafif, orta ve ileri evre AH olarak 3 döneme ayırabiliriz.

Hafif evre Alzheimer Hastalığı (süre 2-4 yıl)

- *Kısa süreli bellekte bozulmalar gerçekleşirken uzak bellek etkilenmemiştir.
- *Nesneleri yanlış konumlandırma vardır.
- *Daha önce öğrendiği isimleri unuttur.
- *Bildik nesnelerin isimlerini unuttur (çatal, kalem).
- *Daha önce öğrendiği yerleri bulamama vardır.
- *Çevreye karşı ilgi kaybı; mesleksi, sosyal aktivitelerden uzaklaşma oluşur.
- *Havaya uygun şekilde giyinemez.
- *Konuşma yeteneklerinin bozulur.
- *Soyut düşüncede bozukluk gerçekleşir.
- *Zaman ve yerle ilgili oryantasyon bozukluğu, ancak kişileri tanıma vardır.
- *Mini Mental Skor genellikle 20-25 arasında değişir. BBT veya MRI genellikle normaldir.

Orta evre Alzheimer Hastalığı (süre 2-5 sene)

- *Belleğin bozulması belirgindir.
- *Lisan kusurları (afazi), muhakeme, alan oryantasyon, yürütücü işlevlerde bozukluklar belirginleşir.
- *Davranış sorunları (çabuk irrite olma, tartışma) oluşur.
- *Hezeyanlar ve hallüsinasyonlar oluşur.

*Uyku-uyanıklık döngüsünde bozukluk, akşamüstleri kognitif ve davranışsal belirtilerde kötüleşme (gün batımı sendromu) vardır.

*Bir aşağı yukarı dolaşma görülür.

*Enkontinans

*Hastaya çoğu kez günlük aktivitesi (banyo yapma, elbise giyme, yemek yeme vs.) için yardım etmek gerekir.

*Kendisine bakacak kişilere gittikçe bağımlı olma vardır.

*Mini Mental Skor 12-20 arasında değişir.

*BBT veya MRI normal veya hafif atrofi gösterir.

İleri evre Alzheimer Hastalığı (süre 2-4 sene)

*Aile bireylerini emosyonel olarak tanıyabilir, ama kişiliğin kesin olarak belirlenmesi ve isimlerinin söylenmesi mümkün değildir.

*Konfüzyon / ajitasyon artar.

*Hezeyanlar, halüsinasyonlar vardır.

*Enkontinans şiddetlenmesi görülür.

*Hareket yeteneğinin azalır.

*İletişim kurulamama, konuşma kısa cümleler veya kelimelerin tekrarı şeklinde kısıtlanır.

*Myoklani, rijidite (dişli çark belirtisi), bradikinezi (hareketlerde yavaşlama) ve dengesizlik gibi ekstrapiramidal belirtiler oluşur.

*Günlük yaşam aktiviteleri için tamamen yardımın gerekir.

*Hastanın sürekli bakım için bir kuruma yerleştirilmesi gerekir.

*Mini Mental Skor 12'den aşağıdır.

*BBT veya MRI atrofi (Eker E 2008).

AH için standart tanı kriterleri ve değerlendirme metodları 2001 Yılında Amerikan Nöroloji Akademisi'nin yayınladığı rehberde belirtilmiştir. Bu rehberde, Ulusal Nörolojik ve İletişim Hastalıkları Enstitüsü ve İnme - Alzheimer Hastalığı ve İlişkili Hastalıklar Derneği (NINCDS-ADRDA)'nin geliştirdiği tanı kriterleri ile Tanısal ve Sayımsal El Kitabı (DSM) kriterleri 2 tanı ölçütü olarak kabul edilmiştir.

2.2.6. Alzheimer Hastalığı Patolojisi

AH oluşumunda birçok mekanizmanın değiştiğini ve birçok nöron-sinaps etkileşiminin bozulduğunu biliyoruz. AH patolojik bulguları incelendiğinde beyinde atrofi, giruslarda daralma, sulkuslarda ve ventrikülde genişleme görülmektedir (Baysal Aİ vd 2003). Mikroskopik boyutta yapılan incelemeler sonucunda ise; nöron içinde biriken NFY'ler, ekstrasellüler biriken senil amiloid plak(SAP)'lar, kortikal ve subkortikal sinaps nöron kayıpları ve serebral kortekste belirgin bir atrofi karşımıza çıkmaktadır (Katzman vd 1991, Lopes JP vd 2009).

Normal yaşlanma sürecinde beyin dokularını histolojik olarak incelediğimizde; nöroanatomik dağılıma göre NFY'lerin limbik sistemde, SAP'ların neokortekste bulunduğunu görebiliriz. Ancak AH tanısı koyulan dokularda NFY'lerin limbik sistemde birikip neokortekse geçtiği ve SAP'ların da limbik sistemde plaklar oluşturduğu bulunmuştur. Bu AH ile normal yaşlanmadaki hafif kognitif bozukluk tanısını ayırmak için önemli bir parametredir (Gürvit H 2004).

AH'da, hipokampus, serebral korteks, entorhinal korteks ve ventriyal striatum gibi beyinde bilişsel faaliyetlerin gerçekleştiği bölgelerde belirgin nöron ve sinaps kayıpları karşımıza çıkmaktadır (Mann DM1985).

Bu elde edilen veriler ışığında birçok mekanizmada gerçekleşen değişim AH patolojisini anlamak için detaylı incelenmiştir. Bu incelemeler sonucunda da ortaya birçok hipotez öne sürülmüştür.

Öne sürülen en önemli hipotezler;

- 1- Amiloid kaskad hipotezi
- 2- Tau hipotezi, Nörofibriler yumak oluşumu
- 3- Kolinergik hasar hipotezi
- 4- Oksidatif stres hipotezidir (Hardy JA ve Higgins GA 1992, Chen XQ vd 2019, Bennett JP 2019, Bi C vd 2019).

Bu hipotezlerden ayrı AH'da gözlemlenen glutamat eksitotoksitesisi ve glutamaterjik aktivitenin, bilişsel fonksiyondaki rolü nedeniyle de hastalığın bir nedeni mi ya da bir sonucu mu olduğu araştırma konusudur.

2.2.6.1. Amiloid Kaskad Hipotezi

Virchow (1854) ilk defa amiloid proteinindeki karbonhidratların genelinin glukoaminoglikan yapıda olmasından dolayı nişasta gibi anlamında amiloz ya da amilon kelimelerinden türetilen amiloid terimini kullanmıştır (Virchow R 1854).

Amiloid ekstrasellüler sıvıda depolanan fibriller proteinin genel tanımıdır, en az 20 tane amiloid prekürsörü olarak bilinen fakat ilişkilendirilememiş fibriller yapıda olmayan protein bilinmektedir (Westermarck P 1997).

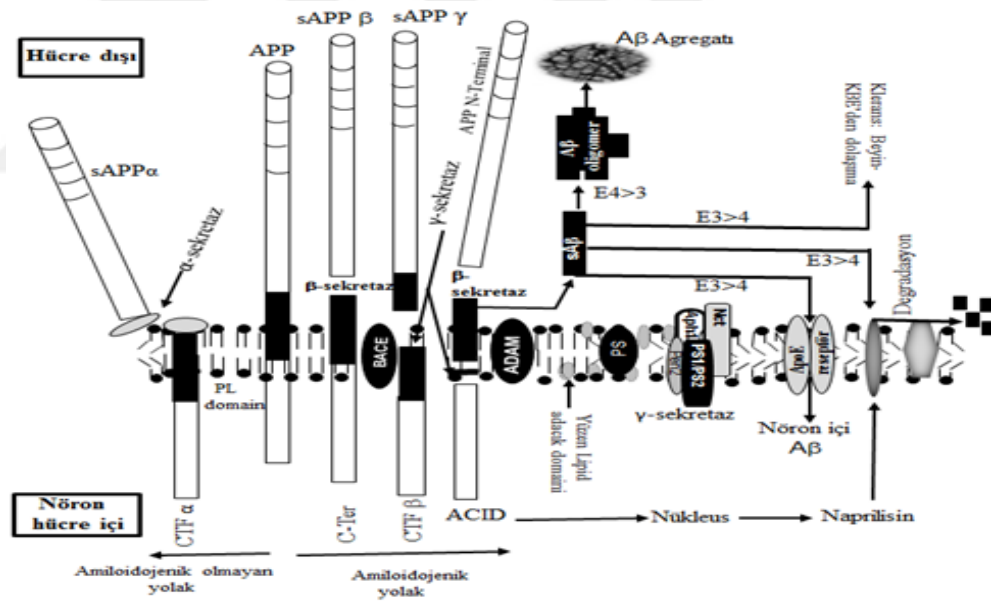
Glennner ve Wong, Down sendrom (DS)'lu hastalarda yaptıkları çalışmalarla amiloid hipotezi için ilk adımı atmışlardır (Glennner and Wong 1984). DS'li hastalar ile yapılan çalışmalarda erken yaşlarda AH nöropatolojisinin gelişmekte olduğu ve diffüz amiloid depozitlerinin olduğu bulunmuştur. Bu hastaların sahip olduğu APP proteininin ekstra iki kopyasının olması AH ile A β arasındaki bağlantıyı kurmamızı sağlamıştır (Tanzi vd 1987, Frances K vd 2015, Carmona-Iragui M vd 2017).

Ayrıca APP geninin ailesel AH ilişkili olması da hastalığın patolojisinde amiloidin önemini vurgulamaktadır (Hardy ve Selkoe 2002, Steinunn T vd 2017).

John A. Hardy ve Gerald A. Higgins tarafından AH nöropatolojisine ışık tutacak amiloid kaskad hipotezi net şekilde ifade edilmiştir. Hipotezlerine göre; plakların ana bileşeni olan A β , AH için birincil nedendir. Bu plaklar beynin belli bölgelerinde birikerek çözünmeyen fibriller yapıda SAP'ları oluşturur ve bu plaklara bağlı olarak vasküler hasar, NFY, nöron kaybı ve demans gibi AH'nın diğer patolojik olayları gerçekleşir (Hardy JA ve Higgins GA 1992).

Amiloid proteinleri 770 aminoasitlik glukolize edilmiş transmembran proteini olan, 21. kromozomda kodlanan ve işlevi tam olarak aydınlatılamasa da nöron gelişimi ve nöronal aktiviteler için önemli role sahip APP'den proteolitik yollarla meydana gelir (Turner PR vd 2003).

APP'nin hücre içi karboksı ucu, membran içinde 28 aminoasitlik kısmı ve hücre dışında amino ucu vardır. A β ise membrandaki 28. aminoasitin içindedir ve APP'den bir takım proteolitik enzimlerle kesilerek iki yol ile metabolize olmaktadır. Bu proteolitik enzimler α , β ve γ sekretaz enzimleridir. Bu yollardan birincisi amiloidojenik olmayan yoldur ve bu yolda APP 'yi parçalayan α ve γ sekretaz enzimleri yer alır. α -sekretaz APP'yi yaklaşık olarak ortasından keser ve oluşan ürünler α -APPs ya da sAPP- α adında nörotropik olumlu etkileri olan, çözünebilir yapıdadır ve amiloid plak oluşturacak özellikte değildir. Amiloidojenik yolda ise APP'yi β sekretaz amino ucundan ve γ sekretaz karboksı ucundan böler. Bu yolda A β 40 ve A β 42 ürünleri oluşur. Bu ürünler AH patolojisi için oldukça önemlidir. Çünkü izole edilen amiloid fibriller, negatif boyama ve yüksek çözünürlüklü elektron mikroskobu ile incelediklerinde çoklu filamentlerin ya da protofibrillerin birbiriyle sarmal yaparak bükülebilir çapraz beta levha konformasyonları oluşturdukları görülmüştür (Iwatsubo T vd 1994, Inoue S vd 1998, Cummings JL 2004, Hooper NM 2005, Kolev MV vd 2009, Öztürk GB 2009, Özkay ÜD 2011).



Şekil 2.2. APP'nin metabolize yolları ve AH ile ilişkisi. APP'nin metabolize yollarından amiloidojenik yolak sonucu sAPP α , amiloidojenik olmayan yolak sonucu oluşan sA β 'lerden hücre dışı A β agregat oluşumu, nöron içine alınan sA β , Naprisilin etkisinde sA β ve dolaşıma katılan sA β gösterilmiştir. APP: Amiloid prokürsör protein, sAPP α : çözünebilir APP α (İzzettin Hatip Paü Tibbi Farmakoloji ABD)

AH oluşumlarına bakıldığında en önemli nöropatolojik değişiklik olarak beyin korteksve hipokampus bölgelerinde SAP olarak ifade edilen yapılar bulunmuştur. Bu plakların ana bileşeni A β peptid olsa da farklı morfolojik yapılara sahip olabilir (Öztürk GB 2009). APP metabolizması incelendiğinde birçok gen, enzim ve protein varlığında gerçekleştiği ve bunların hepsinin plak oluşumlarını farklı yönde etkilediği bilinmektedir. AH vakalarında ve demansı olmayan yaşlı bireylerde yapılan çalışmalarda da farklı yapıda A β oluşumlarının meydana gelerek farklı toksisiteye sahip olan plaklar oluştuğu kanıtlanmıştır. Bu plaklar toksik etkilerinden bağımsız genel olarak serebral korteksin neokortikal bölgelerinde bulunmaktadır ve kendi içinde *diffüz*, *kompakt* ve *nöritik* olarak 3 e ayrılmaktadır. *Diffüz* plaklar demans bulgusu olmayan yaşlı bireylerde bulunur ve toksisitesi sınırlıdır. Bu plakların akson ve dentritlerdeki değişiklikler başlangıçta oldukça azdır, aktive halde mikroglia ve astrositler yoktur ve amloid kısım beta kıvrımlı transforme olmuş yapıda değildir. Bu nedenle bu plaklar pre-amiloid plaklar olarak kabul edilirler. Fakat bu diffüz gevşek yapıdaki plaklarda bulunan nöronlarda Ca⁺² homeostazının bozulması, eksitotoksosite, serbest radikal üretimi ve inflamasyon gibi çoğu nörotoksik olan süreçlerin harekete geçmesiyle daha toksik yapıda *kompakt* plaklar oluşmaktadır. *Nöritik* plakların yapısını incelediğimizde ise, amloid merkezli çözünmeyen fibriler beta kıvrımlı yapılar ile birlikte dejenere olmuş akson ve dentritler yer alır. Bu plakların sınırları keskin ve oldukça toksik yapıdadır. AH tanısı için de kompakt ve nöritik plaklar önemli risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (Solko DJ 1991, Braak H vd 1991, Eker E 2008, Kumar A vd 2014).

Yapılan çalışmalar sonucu biliyoruz ki; A β 'nin aktivasyonu akson ve dentritlerde kimyasal olarak indüklenen hücrel plastisiteyi bozar ve hipokampal omurga kaybını 1-3 gün içinde başlatır (Wei W vd 2010).

2.2.6.2. Tau hipotezi ve Nörofibriler yumak oluşumu

NFY'ların temel bileşeni hiperfosforile tau proteindir. Tau 17. kromozom tarafından kodlanan mikrotübül asosiye protein (MAP)'ler ailesinden bir proteindir ve 15 exon içerir. Yetişkin insan beyinde mRNA tarafından Exon 2,3 ve 10'nun kendi içinde alternatif birleşimleriyle altı tau izoformu üretilir. Bu izoformlar arasındaki fark amino terminal kısmında olan ya da olmayan bir ya da iki kısa bağlantı (0N,1N ve 2N gibi) ve karboksil kısmında da üç ya da dört mikrotübül bağlanma noktasının tekrarlanmış olmasıdır. Bu altı tau izoformu da, AH beyin dokusundaki NFY'larda mevcuttur (Goedert vd 1992).

Son dönem yapılan çalışmalar sonucunda tau proteini golgi aparatında, endoplazmik retikulumda, nöronal plazma membranında tespit edilmiştir. Ayrıca nöron iletişimini direkt sorumlu olarak presinaptik, postsinaptik ya da her iki kısımda da yerleşmiş halde bulunmaktadır (Pooler AM vd 2014).

Bulunduğu noktalardan yola çıkarak tau proteinin fonksiyonlarını; mikrotübüllere bağlanarak onların stabilizasyonunu sağlamak, hücre iskelet bütünlüğünün korunmasında görev almak ve aksonal transportta yer alması olarak belirtebiliriz. Fakat AH patolojisinde hiperfosforile tau izoformları kendi içinde dimerler oluşturarak NFY denilen yapıları oluştururlar. Bu NFY formlar da mikrotübüllerin yapısını bozar ve böylece nöron transportu da bozularak hücre ölümlerine neden olurlar (Hanger DP vd 2014).

AH olan bireylerde hiperaktif kinazlar ve/veya hipoaktif fosfatazlar tau proteinin hiperfosforilasyonuna neden olarak tau proteininin mikrotübüllere bağlanma yeteneğini bozarlar. Bağlanamayan hiperfosforile tau proteini zaman içinde iki alt hücre havuzunda bulunur;

- (i) Düz filamentlerle çift sarmal filamentlerin birleşerek oluşturduğu nörofibriller formda:

AH'da normal tau ve fosforile tau glikolizasyon sonucunda nörofibriller yapı oluşturur. İntranöronal nörofibriller yapılar nonlizozomal ubiquitin yolağında parçalanmak için ubiquisyona uğrarlar fakat bu parçalanma çok az düzeyde gerçekleşir. Hastalık ilerledikçe NFY'lar büyür ve hücre iskelet bütünlüğünü, aksonal transportu bozarak hücre ölümlerine neden olur. Hücre ölümünün ardından yumak ekstrasellüler ortama çıkar ve bu yapıya da 'hayalet yumak ' adı verilir

- (ii) Sitolde fibrillenmemiş formda:

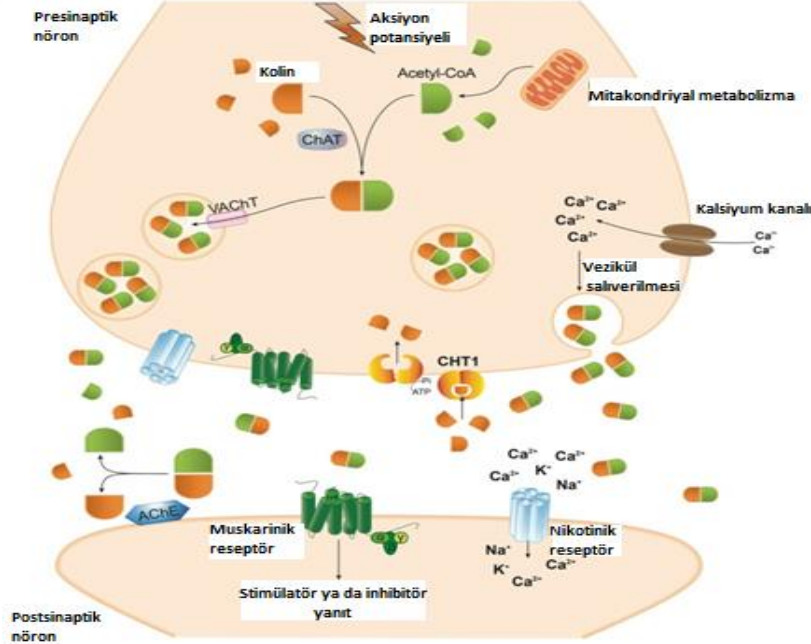
Sitolde anormal hiperfosforile tau ise AH vakalarındaki beyinlerinde toplam anormal hiperfosforile tau miktarının % 40'ını oluşturmaktadır ve tübül/mikrotübüllerle etkileşime girmeden normal tau ve mitojen aktiviteli proteinler MAP1A/ MAP1B ve MAP2 mikrotübüllerin invitro inhibisyonuna ve sökülmesine neden olur. Bu etkileşimler sonucu filament oluşumları gözlenmez fakat mikrotübül ağının stabilizasyonu için gerekli tau proteinin olmaması aksonal transportun bozulmasına, sinaps kayıplarına ve nöron ölümlerine neden olmaktadır (Iqbal K 2005).

AH'de demans oluşum yoğunluğu ve süresiyle paralel olarak NFY'lar entorhinal korteksten önce paralimbik alanlara, sonra heteromodal neokortikal alanlara yayılırlar. Bu patolojik yayılma klinikte, normal yaşlanmadaki hafif kognitif bozukluk, hafif ve ağır demans evrelerine karşılık gelmektedir (Öztürk GB 2009).

AH dışında birçok hastalığın patolojisinde tau depozitleri olsa da sadece AH'de tau ve A β depozitleri birlikte. Nöronların akut olarak A β 'ya maruz kaldığı deneylerde, A β 'nın tau fosforilasyonunu artırarak tau toksisitesini arttırdığı görülmektedir. Ayrıca A β 'nın neden olduğu nöronal disfonksiyonların tau varlığıyla bağlantılı olduğu bulunmuştur (Morris M vd 2011).

2.2.6.3. Kolinerjik sistem ve Kolinerjik hasar hipotezi

AH patolojilerinden bir diğeri de, beyinde öğrenme ve bellek ile ilgili kolinerjik yollardaki meydana gelen tahribatlardır. Kolinerjik sistem sempatik ve parasempatik sistemin birinci sıra nöronlarından ve parasempatik sistemin ikinci sıra nöronlarından oluşmaktadır.



Şekil 2.3. Kolinerjik iletim. Aksiyon potansiyeli sonucunda hücre içinde kolin ve Asetilko-A'dan kolinasetiltransferaz (ChAT) enzimi ile Asetilkolinin (ACh) sentezlenmesi, veziküllerde depolanması ve hücre içi Ca²⁺ artışı ile ACh sinaptik kavşağa salınımı gösterilmektedir. Sinaptik kavşaktaki ACh muskarinik ve nikotinik

reseptörleri aktive ederek hücrel yanıt oluşturmaktadır. AChE enzimi ile ACh kolin ve Asetil-KoA'ya parçalanır (Ferreira-Vieira TH vd 2016).

Kolinerjik nöronların akson uçlarından salınan ve sinaptik aşırımdan sorumlu olan nörotransmitter asetilkolin(ACh)dir. ACh, kolinerjik sinir ucundaki kolinin enzimatik asetilasyonu ile meydana gelir. Bu olaydaki asetil kaynağı sinir ucundaki mitokondriler tarafından sentezlenen Asetilkoenzim A (Asetil KoA)'dır. Kolin kaynağı ise daha önce sinaps aralığında yıkılan ACh'den oluşan kolin, diyetle alınan ekzojen kolin ve vücutta yıkılan fosfolipitlerden oluşan kolindir. Sinaps aralığında bulunan kolin iki transport sistemi ile sinaps içine taşınır. Bunlardan yüksek afiniteli olan $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ 'a bağımlı kolin pompası kolinerjik sinirlerin sinaps uçlarında yerleşiktir. Aktif transport yardımı ile aralıktaki kolini tekrar sinaps içine taşır. Diğer transportör sistem ise bu pompadan bağımsızdır ve düşük afinitelidir. Ekstrasellüler ortamda kolin miktarı arttığı durumlarda sinaps içine taşınmaktadır. Sinaps içinde bulunan Asetil KoA ve Kolin'in enzimatik reaksiyonu ise Kolin Asetiltransferaz(ChAT) tarafından katalizlenir. Oluşan ACh ise sinaps içinde bulunan veziküllere veziküller pompa yardımı ile alınarak depolanır. Sinir ucunda meydana gelen depolarizasyon sonucunda parsiyel ekzositoz yoluyla ACh kavşak aralığına salınır. Presinaptik bölgedeki kendine özgü reseptörlerle etkileşime girerek sinir iletimini sağlar. Kavşakta bulunan asetilkolinesteraz enzimi (AChE) sayesinde ACh asetik asit ve koline parçalanarak inaktive olur. AChE'nin G1, G2 ve G4 olarak ifade edilen 3 farklı moleküler şekli vardır. Korteks ve hipokampusta %70-80 oranında presinaptik yerleşimli G4 bulunur. Bu bölgedeki diğer AChE'ler ise G1 formundadır ve postsinaptik yerleşimlidir. Beynin dışındaki nöromusküler kavşaklarda ise G2 ve G4'ler bulunmaktadır. AH çalışmalarında ise en fazla azalmanın G4 formunda olduğu ve önbeynin bazal kısmındaki nöritik plaklarda asetilkolinesterazlar ve bütirikolinesterazların birlikte olduğu bulunmuştur (Kayaalp SO 2012).

Kolinerjik nöronlar santral sinir sistemi (SSS)'nin her bölgesinde yer alsa da öncelikli olarak fazla miktarda buldukları yerler; spinal cord, arka beyin, medial habeluna, mesopontine bölgesi, basal önbeyin, olfactory tubercle cajella adası olarak belirtilmiştir (Armstrong DM vd 1983, Woolf NJ 1991, Woolf NJ vd 2011).

Beyinde bu kadar geniş alana yayılan kolinerjik nöronların bazıları bir bölgeden başka bölgeye uzanan yolaklar halindeyken, diğer bir kısmı ise beyin korteksi ve bazal ganglionlarda bulunan lokalize, intrisik nöron topluluğu şeklindedir. Beyinde beş tane kolinerjik yoldan bahsedilir.

Bunlar;

1)*Dorsal ve ventral tegmental yolak*: Mezensefalik retiküler formasyon (MRF) ve pontadaki retiküler formasyona dahil olan pedükulopontin çekirdeklerdeki kolinerjik nöronların aksonları dorsal ve ventral tegmental yolaklar içinde tektum, pretektal bölge, n.geniculatus'lar, striatum ve talamusta sonlanır. Bu yolak bazal ön beyindeki kolinerjik nöronları innerve ettiği zaman buradan çıkan aksonlar da beynin korteksinin her tarafını ve olfaktor bulbus'u innerve etmektedir. Bu sistemin talamus ötesindeki devamında talamustaki kolinerjik ve glutamaterjik nöron aksonlarından oluşan talamokortikal projeksiyon adlı yolak bütün kortek bölgesini innerve eder. Bu iki yolak beyin sapından kortekse uzanan asandan retiküle aktive edici sistem (ARAS)'in ögesidir.

2)*Nucleus basalis (meynert nukleusu ve substantia innominata)'den ve medial septal nukleus arasındaki bazal önbeyin bölgesinde üç ayrı grup halinde yerleşmiş kolinerjik nöronlardan başlayan, beyin korteksine giden ve kortekse yaygın dağılım gösteren kolinerjik yolak*: Beyin korteksinin ve hipokampus, olfaktor bulbus gibi limbik sistem yapılarının kolinerjik innervasyonundan önemli ölçüde sorumludur. Bu yolağı oluşturan kolinerjik aksonlar korteksten başka hipokampus ve amigdalayı da innerve eder. Bu yolağın kortekste akson uçlarında kolinerjik nikotinic reseptörler bulunmaktadır ve bu reseptörlerin uyarılması ile kognitif fonksiyonlar gerçekleştirilir. Bu yolda meydana gelen dejenerasyonlar ile AH nöritik plakları arasında ilişki bulunmaktadır.

3)*Limbik sistemde, septumdan hipokampustaki piramidal hücrelere giden septohipokampal yolak*.

4)*Rostral-bazal telensefalik kolinerjik nöron toplulukları ile medyal habenula'dan nucleus interpedicularis'e giden kolinerjik yolak*.

5)*Medula oblongata'daki kolinerjik nöronların aksonlarından oluşan, orta beyin ve beyin sapının çeşitli yerlerine giden kolinerjik yolak*.

Bu yolaklardan dışında Bulbustaki retiküler formasyondan ayrı omuriliğin ön boynuzundaki motor nöronlara inen inhibitör kolinerjik bulbospinal bir yoldan daha bahsedilir (Kayaalp SO 2012).

Fizyolojik olarak kolinerjik nöronların görevlerini ise; Öğrenme ve bellek ilgili fonksiyonlarda bulunmak, duygudurumun dengeli şekilde sürdürülmesi, uyanıklılık

halinin sürdürülmesi, uykunun REM döneminin başlatılması, ön-arka hipofizin endokrin faaliyetlerinin düzenlenmesi ve antinosiseptif etkinin oluşumu olarak sıralayabiliriz.

2.2.6.3.1.Asetilkolin reseptörleri

Fizyolojik etkilerini gerçekleştirebilmek için SSS'de ve periferde 2 ana tip kolinerjik reseptör yer alır. Bu reseptörler;

1)*Muskarinik Reseptörler (mAChR)*: G proteinine kenetli reseptörlerdir. Kendi içinde M1, M2, M3, M4 ve M5 olmak üzere 5 alt gruba ayrılırlar. M1, M3 ve M5 Gq/11 proteini ile birleşerek fosfolipaz C 'yi uyararak inositoltrifosfat (IP3) ve Diaçilgliserol (DAG)'ın aktive olmasını sağlar. M2 ve M4 ise G_i ve G_o proteinleri ile birleşerek adenilil siklaz inhibisyonu ve siklik AMP(cAMP)'nin azalmasını sağlar. Böylelikle hücre içine doğru K⁺ kanalları aktive olurken Ca²⁺ kanalları inhibe olarak hiperpolarizasyon ve membran inhibisyonu gerçekleşir.

2)*Nikotinik Reseptörler (nAChR)*: Ligant kapılı iyon kanallarının bir üyesidir ve K⁺, Na⁺ ve Ca²⁺ katyonlarına karşı seçicidir. nAChR proteini beş polipeptid alt üniteden oluşan pentamerik bir yapıdadır. Altüniteleri α , β , δ ve γ (fetal) ya da ϵ (yetişkin) 'dur. Merkezinde iyon kanalı olmak üzere çevresinde bu alt üniteler çevrili halde bulunmaktadır. ACh ile aktivasyonu sonucu kanallar açılır ve depolarizasyon gerçekleşir. nAChR'ler SSS, ganglionlar ve kaslarda farklı alt ünitelerin farklı kombinasyonları ile bulunurlar. Ganglion ve kaslarda 2 α alt ünitesi diğer 3 alt ünite ile farklı kombinasyonlarda bulunurken nöronal nAChR'lerde sadece α 2-10 ve β 2-4 altünitelerinin kombinasyonları mevcuttur. Bu kombinasyonlardan ilk olarak α 4 β 2 tanımlanmıştır. SSS'nin predominant kombinasyonudur, çok miktarda yer alır ve düşük Ca²⁺ geçirgenliğine sahiptir. Diğer major alt tip olarak α 7 yoğun bir dağılım göstermektedir. Hipokampus ve kortekste bulunan presinaptik α 7'lerin stimülasyonu sonucunda sinaptik glutamat artışının sağladığı ve hipokampal CA1 nöronlarında bu artışa bağlı olarak LTP'yi destekledikleri bilinmektedir (Kabani 2018). Bu her biri farklı kombinasyonlar farklı özelliklere ve farklı fonksiyonlara sahiptir (Ferreira-Vieira TH vd 2016). Memeli beyinlerinde presinaptik, perisinaptik ve ekstrasinaptik bölgelerde nAChR'ler bulunmaktadır ve glutamaterjik, dopaminerjik, serotonerjik ve kolinerjik yollardaki iletimler üzerinde etkileri vardır (Ferreira-Vieira TH vd 2016, Touqeer Ahmed vd 2017, Kabani 2018).

Nikotinik etkiler hücrelerin uyarılabilirliğini arttırarak dikkat tonusunun sağlanmasında görev alırken, muskarinik etkiler ise daha kalıcı sinaptik değişikliklerle yeni bilginin depolanmasını sağlamaktadır. Aβ oluşumu ve toksisitesi ile; ACh sentezi, salınımı ve postsinaptik etkinliği arasında ters ilişki vardır (Öztürk GB 2009). AH'da bazal ön beyindeki kolinerjik nöron kaybı %70-80 gibi büyük bir orana çıkmaktadır. Bu nedenle, ACh üretiminde önemli ölçüde azalma gözlenir. Serebral korteks ve hipokampusta ChAT ve AChE aktiviteleri de azalmaktadır. Frontal ve parietal korteksde azalan AChE miktarı ile kognitif fonksiyon kaybı, amiloid plak ve NFY oluşumları arasında paralel ilerleme mevcuttur. Ayrıca tau proteininin anormal hiperfosforile yapıya dönüşerek NFY'leri oluşturduğu ve nöron kayıplarına en çok neden olduğu ilk yerin Meynert nukleusu olduğu bulunmuştur (Auld DS vd 2002). Erken evre AH vakalarında yapılan incelemede ön beyin hacminin, nöron kayıpları ve beyin büzülmesiyle azaldığı gözlenmiştir (Grothe M vd 2013). Yapılan incelemeler sonucunda kortikal kalınlığın azalması ile kognitif fonksiyonların gerilemesi arasında anlamlı bir ilişki mevcuttur. Kolinerjik kayıplara bağlı kognitif gerilemeden ayrı, kolinerjik iletimin düzenlediği diğer sinaps iletimleri de bozularak AH patolojisinin diğer oluşumlarına da katkı sağlamaktadır.

2.2.6.4. Oksidatif Hasar Hipotezi

Oksijen radikalleri (ROS=Reaktif Oksijen Ürünleri) hücre ve dokulardaki aerobik metabolizma sırasında üretilen elektron transport sisteminin ürünüdür. Mitokondrilerde oksijenin indirgenmesi sırasında yan ürün olarak da süperoksid formunda serbest radikaller oluşur. Elektron transportundaki bozulma ROS üretimini artırarak proteinler, lipitler ve nükleik asitlerde hasarlar oluşur. Hücre ve dokularda meydana gelen bu hasarlar oksidatif stres olarak adlandırılır ve yaşlanma ile karşımıza çıkan fizyolojik ve fiziksel değişikliklerin nedeni olarak kabul edilmektedir (Bulut S 2003).

Yapılan *invitro* çalışmalarda Aβ peptidin endotel hücrelerde O₂ radikal üretimini tetikleyip, oksidatif ve peroksidatif reaksiyonları indükleyerek hücre ölümlerine neden olduğu bulunmuştur. Bu reaksiyonlara örnek olarak; amiloid plakların ağır metal iyonları ile bir araya gelerek katalizlediği oksidatif reaksiyonu ve çeşitli mekanizmalarla lipit membran peroksidasyonunu verebiliriz. Hipokampustan alınan dokuda Aβ aracılığıyla artan ROS etkinliğinin, NMDA kanal aktivasyonu ile artan Ca²⁺ artışı sonucunda sinaptik bozulma ve hücre ölümü meydana getirdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca mitokondri disfonksiyonu AH patolojisinde yer alan önemli bir noktadır. Yapılan biyopsi

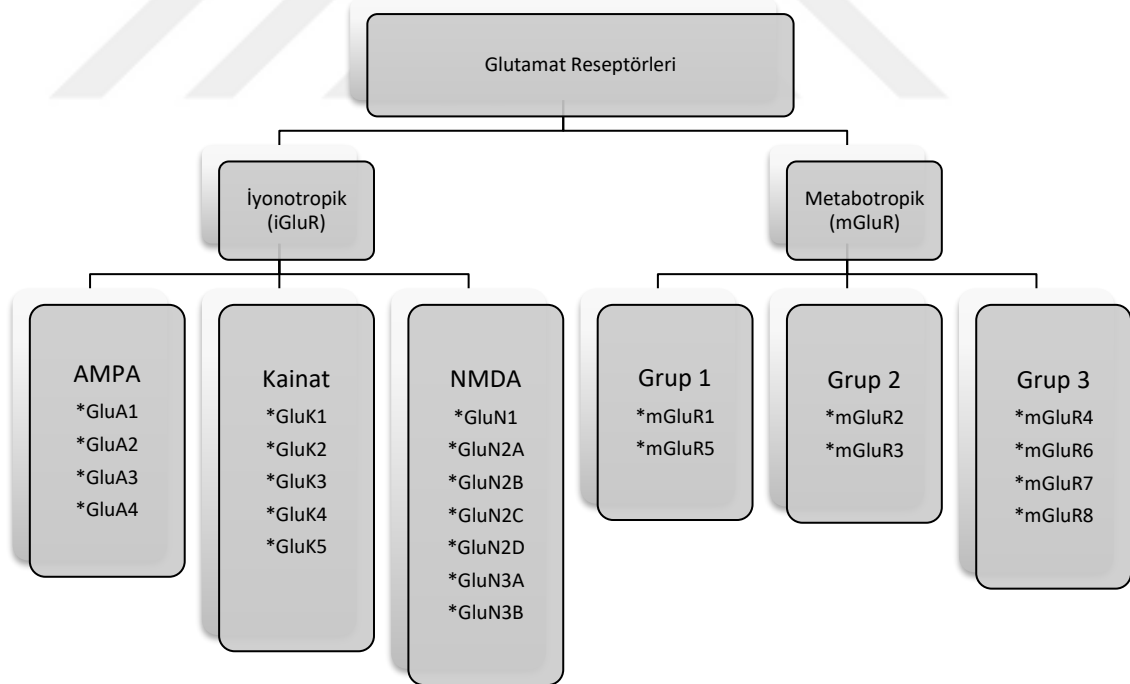
çalışmalarında mitokondrinin küçülerek, protein ve DNA'sının sitoplazma içine dağıldığı bulunmuştur (Practico D vd 2004, Manczak M vd 2006).

2.2.6.5. Glutamaterjik Sistem, Bellek ve Alzheimer Hastalığı ilişkisi

Bir aminoasit olan glutamat memelilerin MSS'de bulunan eksitatör özellikteki en önemli nörotransmitterlerdendir, bellek ve öğrenme gibi birçok fonksiyonda rol alır (Patt SR 2007). Glutamat ayrıca MSS gelişimindeki sinaps eliminasyon ve indiksiyonu, hücre migrasyonu, hücre farklılaşması ve ölümü gibi kritik rollerde görev almaktadır.

2.2.6.5.1. Glutamat reseptörleri

Glutamat etkisini hücre yüzeyinde bulunan glutamat reseptörleri ile göstermektedir. Glutamat reseptörleri hem nöronlarda hem de glial hücrelerde bulunur ve kendi içinde iyonotropik ve metabotropik glutamat reseptörleri olarak 2 alt birime ayrılır.



Şekil 2.4. Glutamat reseptörlerinin sınıflandırılması. Glutamat reseptörleri iyonotropik (iGluR) ve metabotropik (mGluR) glutamat reseptörleri olarak iki alt gruba ayrılır (Traynelis SF vd 2010).

1) *İyonotropik Glutamat Reseptörleri (iGluR)* ; İyon kanalına kenetli bu reseptörler kendi içinde 3'e ayrılırlar.

i) N-metil-D-aspartat (NMDA); GluN1, GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D, GluN3A, GluN3B.

ii) Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit (AMPA); GluA1, GluA2, GluA3, GluA4

iii) Kainat; GluK1, GluK2, GluK3, GluK4, GluK5

iGluR'ler NMDA, AMPA ve Kainat reseptör alt grupları olarak 3'e ayrılırlar. NMDA, AMPA ve Kainat reseptörleri Na⁺ 'un hücre içine girişine, K⁺un hücre dışına çıkışına, membran depolarizasyonuna ve/veya alt ünite kompozisyonuna bağlı olarak hücreye Ca²⁺ girişine neden olmaktadır. AMPA reseptörleri düşük afinitelidir ve uyarıldıklarında hızla açılıp hızla inaktive olurlar. NMDA reseptörlerinin ise glutamata afiniteleri daha yüksek ve inaktivasyonları yavaştır (Gözen O 2008, Kayaalp OS 2012).

2) *Metabotropik Glutamat Reseptörleri (mGluR)* ; G proteinleriyle bağlanarak etki ederler. Uyarılmaları sonucunda hem metabolik hem de elektriksel olaylar gerçekleşmektedir. Bu reseptörler farmakolojik yapıları, aminoasit dizilimleri, sinyal iletim yapılarına göre kendi içinde 3'e ayrılmaktadırlar.

i)Grup 1; mGluR1, mGluR5

ii)Grup 2; mGluR2, mGluR3

iii)Grup 3; mGluR4, mGluR6, mGluR7, mGluR8

Grup 1 reseptörleri beyinde geniş bir bölgede dağılım gösterir ve iGluR'leri çevreleyen bir perisinaptik lokasyon ile çoğunlukla postsinaptik yerleşimlidir.

Grup 2 ve Grup 3 reseptörler çoğunlukla presinaptik yerleşimlidir ve glutamat, GABA inhibisyonu sağlarlar.

2.2.6.5.2. Eksitotoksisite kavramı

Eksitator özellikteki bir nörotransmitter olan glutamatın etkisi postsinaptik bölgelerdeki reseptörler ile sağlanırken salınımı da presinaptik yerleşimli reseptörlerin kontrolünde gerçekleştirilmektedir. Bu reseptörlere örnek olarak metabotropik glutamat reseptörleri, kolinerjik reseptörler, γ -aminobutirik asit (GABA), κ -opioid, adenosin vb. verilebilir.

Presinaptik bölgede depolandığı veziküllerden salınan glutamati sinaptik aralıkta metabolize eden bir enzimi bulunmamaktadır ancak basit difüzyon yöntemi ile tekrar hücre içine alınarak etkisi kaldırılmaktadır. Eğer sinaptik aralıkta yüksek konsantrasyonlarda bulunursa ve ortamdan uzaklaştırılmazsa, glutamat reseptörleri sürekli uyarılmaya devam ederek toksik etkiler ortaya çıkacaktır.

İlk kez yaptıkları çalışmalar sonucunda Lucas ve Newhouse (1957) monosodyum glutamatın nörotoksik etkisini bulmuştur ve Olney (1978) tarafından L-Glutamat ve yapısal bağlantılı aminoasitlerin etkisi ile akut ve kronik hastalıklardaki nöronal hücrelerin ölümünü ifade eden eksitotoksisite kavramı literatüre girmiştir (Lewerenz J ve Maher P 2015).

Dejenere nöronlardan kontrolsüz salınan glutamatın yüksek konsantrasyonları sağlıklı diğer nöronları uyararak sürekli bir depolarizasyon durumu gerçekleştirir. Normalde hücre içi Ca^{2+} oranı $10^{-7}M$ gibi düşük bir seviyedeysen sürekli depolarizasyon durumunda Ca^{2+} 'un hücre içine girişi ve hücre içinde depolanan kısımlardan salınımı zamanla artmaya başlar. Artan Ca^{2+} hücre içinde birçok enzim mekanizmasını uyarır ve Ca^{2+} 'a bağımlı protein etkileşimlerini de etkileyerek hücre homeostazını bozarak nöronal ölüme yol açar.(Doble A 1999).

2.2.6.5.3. Bellek oluşum mekanizması ve Alzheimer Hastalığında bellek fonksiyonları

HücreSEL bellek oluşum mekanizması, Donald Hebb'in hipotezi ile açıklanmaktadır. Bu hipoteze göre anılar SSS'de nöronlar arası sinaptik bağlantıların gücündeki değişiklikler sonucu depolanır. Nöronlar arası sinaptik bağlantının değişme kapasitesine sinaptik plastisite denilmektedir ve bu davranış bellek mekanizmasının temel mekanizmasıdır. Sinaptik plastisitenin uzun süreli potansiyalizasyonu Long Term

Potentiation (LTP), uzun dönem depresyonu da Long Term Depression (LTD) olarak ifade edilir.

Beyinde hipokampus, amigdala ve serebral korteksi içine alan C1, C2, C3 olarak ifade edilen yolaklardaki nöron iletimi ile bilgi iletilip depolanır. Bilgi iletimi sırasında sabit sinaptik uyarıya karşı akson potansiyelinin olması, yolaklar arasındaki kısa süreli yüksek frekanslı uyarıların olması ve sinaptik güçlenmenin gerçekleşmesi LTP ile açıklanır. Çünkü LTP, eksitator glutamat reseptörleri NMDA, AMPA ve Kainat ile ilişkilidir.

NMDA reseptörünü allosterik şekilde etkileyen ve kanal fonksiyonlarını modüle eden glisin, poliamin ve voltaja bağımlı Mg^{2+} bağlanma yerleri ile fensiklidin, ketamin ve benzeri maddeleri bağlayan fenksiklidin bağlanma yeri vardır. Mg^{2+} bağlanması voltaj bağımlı etki ettiği için istirahat durumunda glutamat bağlansa bile kanal açılmaz. Membran potansiyeli arttığı zaman Mg^{2+} bağlanma yerinden ayrılır, glutamat bağlanarak kanal açılır ve hücre içine Na^+ ve Ca^{2+} geçişi olur. AMPA ve Kainat reseptörleri de sinaptik membranın hızlı depolarizasyonunu sağlayarak NMDA reseptörünün çalışmasını kolaylaştırır. Hücre içine giren Ca^{2+} girişi ile hücre içi sinyal yolları aktive olup, LTP oluşumu gerçekleşir (Kayaalp OS 2009, Moldakarimov SB vd 2009, Lüscher C vd 2012).

A β ve hiperfosforilize tau proteini AH patolojisine öncülük ederken, diğer faktörler nöronal direnci azaltıp seçici bölgesel kayıplara neden olarak hastalık patolojisinde yer alırlar. Bu sinaptik kayıplar klinik demansta bilişsel ve diğer aktivitelerdeki azalma açısından nöron dejenerasyonlarına göre daha belirleyici özelliktedir. Bu nedenle AH patolojisinde SSS'de fazla miktarda bulunan, eksitator özellik gösteren ve bellek ile yakın ilişkili olan glutamat ilk sırayı alır.

Alzheimerlı beyin dokusu incelemelerinde yumak ve plak oluşumlarındaki hücre içi yüksek Ca^{2+} geçirgenliğinin gözlemlenmesi akla ilk NMDA reseptörünü getirmiştir. Ayrıca transgenic AH fare modellerinde yapılan incelemelerde glutamat geri alım kapasitesinin azaldığı ve glutamat salınımının arttığı bulunmuştur. Glutamat aktivitesini gerçekleştiren glutamat reseptörlerini AH'da daha yakından incelediğimizde hem mGluR'lerin hem de iGluR'lerin bu patolojik olaya birçok noktadan etki ettiği bilinmektedir. Çünkü hastalık patolojisini tek bir reseptör grubuyla açıklayarak tedavi yöntemi seçmek mümkün olmamıştır (Caraci F vd 2018).

Grup 1 mGluR'ler ile A β patolojisi varlığında yapılan çalışmalar sonucunda bu grup reseptörlerin LTP inhibisyonu yaparken, LTD aktivasyonunu gerçekleştirdikleri görülmüştür. LTD mekanizması genç beyinlerde ve hafızası bozulmamış yaşlanan beyinlerde farklı çalışmaktadır. Yapılan çalışmalar bu farkı, genç beyinde NMDA kontrollü olan LTD'nin yaşlanma sürecinde NMDA'dan bağımsız Grup 1 mGluR'ler kontrolünde gerçekleştiğini ifade ederek açıklar. Özellikle hipokampus ve dental gyruslarda A β ile güçlendirilen LTD mekanizması NMDA reseptörlerine ihtiyaç duymaksızın Grup 1 mGluR'lerin aktivasyonu ile p38 mitogen-activated protein kinaz (p38 MAPK), striatal tirozin fosfataz (STEP) ve kaspaz-3 yolağına katılarak gerçekleştirilir (Hu NW vd 2012).

A β 'nin patolojik artışı, eksitator sinaptik plazma membranlarında hücre dışı glutamat konsantrasyonunun artmasının yanı sıra, mGluR5'lerinin yeniden dağılımını tetikler ve sinaptik mGluR5'lerin artışına neden olur. mGluR5'nün ektojik kümelerinin sapkın aktivasyonu, hücre içi Ca²⁺'yı doğrudan veya dolaylı olarak NMDA reseptörleri vasıtasıyla artırabilir (Hu NW vd 2012).

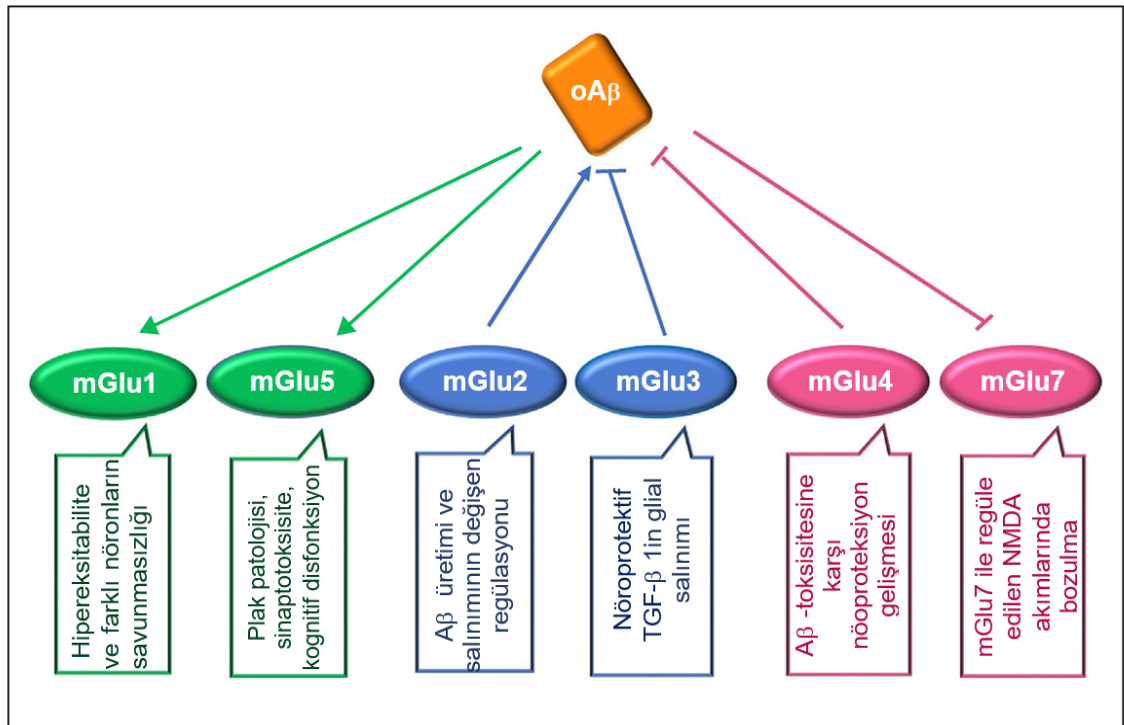
Son yapılan çalışmalar mGluR5'in hücrel prion protein (PrPc)/oligomerik A β (oA β) komplekslerinin sinaptotoksik sinyaline aracılık ettiğini bulmuştur. PrPc'ler hafıza bozukluklarından sorumlu 150 kD'dan büyük oA β 'lar için seçici bir reseptör grubudur ve AH heterojenliğine rağmen PrPc ve mGluR5 ikili ilişkisi sinaptotoksisite açısından oldukça önemlidir. Yapılan çalışmalarda mGluR5 blokajı APP seviyelerini ve A β üretimini baskılayarak bilişsel performansı arttırdığı düşünülmüştür. Fakat bu seçici blokajlar kompleksden gelen sinyali inhibe ederek AH için yararlı etki sağlıyor olsa da mGluR5'in normal hücrel sinyaline ne kadar cevap verecekleri ve mGluR5'in tonik bilişsel etkisi için ne kadar önemli oldukları tartışma konusudur (Caraci F vd 2017).

Grup 1 reseptörlerinden mGluR1'in APP proteolitik mekanizmasını kontrol ederek, nöroprotektif özellikli sAPP α 'nın artması ve A β üretiminin azalmasını sağlayan nörotransmitter reseptörlerinden olduğu bulunmuştur. Fakat AH ile ilişkili rolünü açıklamak şu an için yetersizdir.

Grup 2 reseptörler için yapılan çalışmalarda Kim ve arkadaşları AH transgenik farelerde bu grup reseptör antagonistlerinin öğrenme ve belleği arttıran etkilerinin yanında hipokampal nörojenezisi uyararak kemirgenlerde anksiyolitik ve antidepresan etki sağladığını bulmuşlardır. Ayrıca mikroglialarda bulunan Grup 2 reseptörlerin blokajının da mikroglial aktivasyonu sınırlandırıp nöroinflamasyonu kontrol ederek

hücrel koruyucu etki yaptıkları da tespit edilmiştir. Bu grup agonistlerin daha önceki dönemlerdeki nöroprotektif etkilerinin bulunmasının yanında antagonistlerinin de pozitif etkileri göz önüne alındığında nasıl bir mekanizma ile tedavi protokollerine dahil edilebilecekleri tartışmalıdır. Grup 1 ve Grup 2 aktivasyonları A β üretimini arttırabileceği düşünülse de mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır (Kim SH 2010).

Grup 3 reseptörlerden mGluR4'lerin mGluR1'in antagonisti olduğu, A β toksisitesi ve NMDA toksisitesine karşı nöroprotektif olduğu, mekansal öğrenme ve bellekte etkili olduğu bilinmektedir. mGluR7'lerin ise bazik ön beyin kolinerjik nöronlarında eksprese olduğu ve kısa süreli hafızası ile koşullu tepkilerin kazanılmasında rol aldığı bulunmuştur. Yine bu grup reseptörler hakkındaki bilginiz de AH tedavi yaklaşımları için yetersizdir.



Şekil 2.5. AH'da A β oligomerleri ve mGluR'ler arasındaki ilişki. mGluR'ler kendi içinde 3 gruba (Grup 1: mGluR 1-5, Grup 2: mGluR 2-3, Grup 3: mGluR 4-6-7-8) ayrılır. A β oligomerleri varlığında mGluR'lerin değişen hücrel cevapları şekilde belirtilmiştir (Caraci F vd 2017). TGF- β 1: Transforming growth factor beta 1

iGluR'ler üzerinden yapılan çalışmalarda; yüksek akut konsantrasyonlarda ya da uzun süreli A β maruziyetinin, AMPA reseptör endositozuna neden olduğu ve bunun

sonucunda bazı kazpazların apoptotik olmayan aktivasyonları sonucu sinaptik kayıpları tetikleyebildiğini bulunmuştur.

A β 'nin sinaplardaki etkisi LTD gibidir; dentritlerdeki spinler ve glutamat reseptörleri kaybolur. Li S ve arkadaşları çalışmaları sonucu A β varlığında beyinde gerçekleşen LTD benzeri sinaptik zayıflama ile LTD'yi kolaylaştırabileceğini bulmuşlardır (Li S vd 2009).

Son zamanlarda, sinaptik NMDA reseptörü aktivasyonunun, APP'nin amiloidojenik olmayan α -sekretaz enzimini teşvik ettiği ve böylece A β üretimini azalttığı, ekstrasinaptik reseptör aktivasyonunun A β üretimini artırdığı bildirilmiştir (Hoey SE vd 2009, Bordji vd 2010). Ayrıca, NMDA reseptörlerinin glisin varlığında endojen olarak salınan glutamat ile aktive edilmesi intranöronal A β seviyelerini azaltabilir (Tampellini D vd 2009).

A β üretiminde ve bellek oluşumunda glutamaterjik iletimin rolü kuşkusuz ortadayken tedavi seçenekleri içinde düşünülmesi kaçınılmazdır. Fakat AH patolojisi için hala cevaplanamamış yüzlerce soru vardır. Ayrıca iGluR'ler ile mGluR'ler yeterince aydınlatılmadığı için spesifik glutamat reseptör alt tiplerinin ve ilişkili sinyal mekanizmalarının potansiyel terapötik değerini netleştirmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

2.3. Renin Anjiotensin Sistemi

Renin molekülü (1898) bulunduktan sonra, RAS mekanizmasını açıklayabilmek için birçok çalışma yürütülmüştür. Bu karmaşık sistem su ve elektrolit dengesi, sistemik vasküler direnç, kan basıncı ve kardiyovasküler homeostazın düzenlenmesinde önemli fizyolojik fonksiyonlara sahiptir. Bu etkilerinin yanı sıra kronik aktivasyonu oksidatif strese, endotel fonksiyon bozukluğuna ve inflamasyona neden olabilir (Mentz RJ vd 2013).

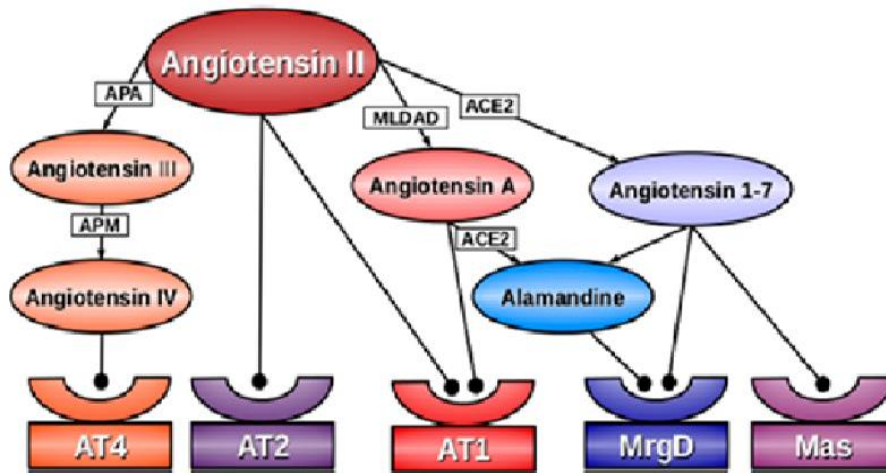
Bu farklı farmakolojik etkilere sahip RAS komponentleri renin varlığında Anjiotensinojenden meydana gelmektedir. Bu komponentler; Anjiotensin I (Ang-I), Anjiotensin II (Ang-II), Anjiotensin III (Ang-III), Anjiotensin IV (Ang-IV), Anjiotensin 1-7 (Ang-(1-7)), Anjiotensin 3-7 (Ang-(3-7)) gibi farklı aminoasit dizilimlerine sahip anjiotensin peptidleridir (Ciobica vd 2009). Bu peptidler AT1, AT2, AT4 ve Mas

reseptörlerine farklı konsantrasyon ve affiniteler ile bağlanarak etkilerini gösterirler (Ciobica vd 2009, Albrecht 2010, John vd 2013).

RAS başta endokrin bir sistem olarak düşünülmüş olsa da yapılan çalışmalar gösterdi ki, beyin dahil olmak üzere birçok dokunun kendine ait bir lokal RAS'ı mevcuttur. AH tedavi seçenekleri arasında son zamanlarda yapılan çalışmalar beyin RAS üzerinde araştırmalar yapılması gerektiğini vurgulamaktadır.

2.3.1. Beyin renin anjiotensin sistemi

Anjiotensinojen, anjiotensin için öncül maddedir ve merkezi olarak %90'dan fazlası astrositlerde, kalanlar da hücre içinde kalıp depolanabileceği nöronlarda üretilir ve çeşitli nöroaktif peptidlere dönüşmesi için salgılanır. Dört ana nöroaktif anjiotensin peptid vardır; Ang II, Ang IV, Ang-(1-7) ve Alamandine.



Şekil 2.6. Beyindeki Renin Anjiotensin Sistem komponentleri. Şekilde Ang-II, Ang-III, Ang-IV, Ang-(1-7), Ang-A ve Alamandine yolları ve AT4, AT2, AT1 MrgD ve Mas reseptörleri ile ekspresyonları sonucunda hücresel cevapları verilmiştir. ACE2: Anjiotensin dönüştürücü enzim 2; AT1, AT2, AT3: Anjiotensin reseptör tip 1, 2 ve 3, APA APA: Aminopeptidaz A, APM: Aminopeptidaz M; MLDAD: mononükleer lökosit türevli aspartat dekarboksilaz (Hrenak J vd 2016).

Renin varlığında Anjiotensinojen Ang-I'e, Ang-I de Anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından Ang-II'ye dönüşür. Ang-II ise AT1 ve AT2 adında iki önemli reseptöre bağlanarak etki gösterir. Ang-III ve daha sonra Ang-IV aminopeptidazlar ile Ang-II'den oluşur. Ang-III, Ang-II'ye göre AT1R'lerine daha düşük AT2R'lerine daha

yüksek afiniteyle bağlanır. Ang-IV ise AT4R'lerine bağlanır fakat yüksek konsantrasyonlarda AT1R'lerine de bağlanmaktadır. Ang-(1-7) ise Ang-I ya da Ang-II'den ACE izoformu olan ACE2 ile oluşur ayrıca düşük de olsa Anjiotensin-(1-9) tarafından ACE ile üretimi de vardır. Ang-(1-7) Mas protoonkogeninden kodlanan G-protein kenetli reseptöre bağlanarak etkisini gösterir ve düşük afiniteyle AT2R'ler ile de bağlanabilmektedir. Bu reseptörler için ana ligant olan Alamadine, Ang-(1-7)'in dekarboksilasyonu ile oluşur ve Ang-(1-7) analogudur. Ayrıca Ang A prokürsörü olan Ang-II'den de dekarboksilasyon ile oluşur ve yine Ang-II analogudur. Ang A'dan da ACE2 ile MasR'lere bağlanabilen Alamadine oluşabilir.

AT1R'ler nöronlar, oligodendrositler, astrositler ve korteks, hipokampus ve bazal beyindeki mikrogliaların üzerinde bulunan G protein bağlı reseptörler(GPCR)'dir. ACE Ang-I'den Ang-II'nin oluşmasını sağlarken, yukarı regülasyonunda AT1R aktivasyonunun artmasını da sağlamaktadır. AT1R aktivasyonu ve ACE ekspresyonunun yukarı regülasyonunun sonucu olarak vazokonstrüktör etki gerçekleşmektedir. Beyin içinde bu vazokonstrüktör rolü ile özellikle bişisel bozulmayı, hücre ölümünü ve inflamasyonu şiddetlendirirler. Kemirgenlerdeki AT1R aktivasyonu, iskemik hasardan sonra kortikal ve hipokampal kolinerjik ve kolinerjik olmayan hücre ölümlerinin gerçekleşmesine neden olmuştur. Ayrıca AT1R, oksidatif stresin artmasına yardım ederek pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımına ve inflamasyona bağlı hücre ölümünün daha da şiddetlenmesine neden olmaktadır. Ayrıca ACE ekspresyonu sonucunda da kolinerjik nöronlardan asetilkolin salınımı azalmaktadır.

Hem AT2R'ler hem de MasR'ler korteksin, hipokampusun ve bazal ganglionların nöronları, astrositleri ve mikroglialarında bulunan GPCR'lerdir. ACE, MasR'ler ve AT2R'ler vazodilatasyon etkileri ile beyinde özellikle biliş, hücre sağkalımı, hem antioksidan hem de anti-inflamatuvar özelliklere sahiptir. AT2R ve MasR'ler AT1R'ler ile AT2R/AT1R ve MasR/AT1R heterodimerleri oluşturarak AT1R'leri doğrudan antogonize ve etkisiz hale getirir. ACE2'deki yukarı regülasyon da AT1R'i aşağı regüle eder. Mitokondrilerde AT2R'ler AT1R'lerden daha fazla oranda olsa da yaşlanmayla birlikte AT1R'ler yukarı regüle olur ve aynı zamanda yaşla birlikte MasR'lerde de azalma gerçekleşir. Kemirgenlerde yapılan çalışmalarda azalan AT2R aktivasyonunun dentrik omurga anomalilerine ve mekansal hafıza bozukluklarına neden olduğu bilinmektedir. Genel olarak disfonksiyonel AT2R ve MasR sinyalleri, AT1R aracılı NOX aktivasyonuna ve ROS üretimine neden olarak biliş üzerinde olumsuz etkilere neden olur. Hücre yüzeyi MasR'leri bolca en yüksektir. Hücre yüzeyi MasR'ler mitokondriyal solunumları azaltmak, süperoksit seviyelerini modüle etmek ve süperoksitte AT1R'i

NOX'un aracılık ettiği artışı bloke etmek için NO'yı artırır. Nöronal NO üretimi, hipokampus ve amigdala nesne tanıma hafızası ve LTP için önemli bir adım olarak kabul edilir (Hellner K 2005, Yang RF 2011).

Ang-IV korteks, hipokampus ve bazal gangliolardaki nöronlarda sınırlı bulunan bir tip II aminopeptidaz membran proteindir. Ang-IV aktivasyonu biliş, hücre sinyal iletimi, sinaptik onarım ve hem antioksidan hem de anti-inflamatuvar özelliklere sahiptir. AT4R'ler, esas olarak GLUT4 ile nöro-salgı yapan veziküllerde bulunan IRAP'lerdir.

AT4R sinyali dört mekanizmadan biriyle çalışır;

1. AT4R'ye Ang-IV bağlanması, nöronal glikoz alımını artırır ve öğrenme ve hafızaya dahil olan Ang-III, oksitosin, vasopressin, met-enkefalin gibi diğer nöroaktif peptitlerin metabolizmasını önlemek için IRAP'ı rekabetçi bir şekilde inhibe eder.
2. Ang-IV, süperoksit üretimini AT2R ve MasR'lere benzer şekilde modüle etmek için NO sentazını (NOS) artırmak için hücre içi kalsiyumu artırır.
3. Ang-IV, L tipi gerilime bağlı kalsiyum kanalı aktivasyonu ile Ca²⁺ seviyelerini yükseltir ve sinaptik iletimi ve uzun vadeli güçlenmeyi arttırmak için sinaptik sonrası modülasyonlara yol açar.
4. Glukozun etkilerine benzer olarak, Ang-IV asetilkolin sentezini ve salımını artırır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, hipertansif hastalarda kullanılan ACE inhibitörleri ile anjiotensin reseptör blokerlerinin bilişsel fonksiyonlarda iyileşme sağlayıp bellek ve öğrenmeyi desteklediği bulunmuştur (Kehoe vd 2009, Mogi vd 2012, Hajjar ve Rodgers 2013). Bu etkilerin Ang-II düzeylerinin azalması ve Ang-II'nin antagonist etkilerine sahip olan Ang-(1-7) düzeylerinin artmasıyla ilgili olabileceği düşünülmüştür (Mogi vd 2012).

2.4. Hipotez

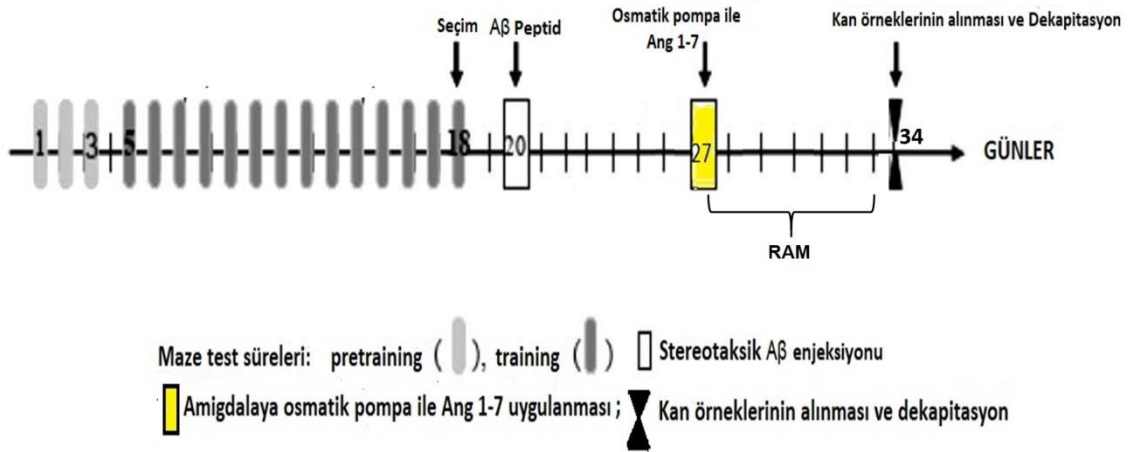
In-vivo ortamda A β 40 ile indüklenen sıçan Alzheimer modelinde Renin Anjiyotensin Sistem komponentlerinden olan Ang-(1-7)'nin azalan nikotinik kolinerjik reseptörlerden α 7nAChR, α 4nAChR, β 2nAChR ile artan metabotropik glutamaterjik reseptörlerden mGluR5 ve mGluR1 ekspresyonlarına olumlu etkisinin olabileceği ve A β 40 peptidin RAM performans testinde neden olacağı bellek bozukluklarını azaltacak yönde olumlu olarak etkileyebileceği çalışma başlangıcında hipotez olarak öne sürülmüştür.



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. DeneY Protokolü

Çalışmada ağırlığı 250-300g arasında değişen 40 adet erkek Sprague–Dawley sıçanlar Pamukkale Üniversitesi DeneY Hayvanları Araştırma Birimi'nden sağlanmıştır. DeneY hayvanlarının beslenmesi serbest bırakılmış, her kafeste 5 sıçan olacak şekilde $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ısıda, % 60 ± 5 nem oranında 12 saat aydınlık/karanlık ortamda yaşamaları sağlanmıştır. Tüm deneysel aşamalar Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan DeneYleri Etik Kurulu yönergesine ve İyi Laboratuvar Uygulamaları Kılavuzuna göre yürütülmüştür. Etik kurul onayı ektedir.



Şekil 3.1. Çalışma protokolü ve zaman çizelgesinin şematik gösterimi

Gruplandırma: Çalışmamızda 40 adet 3 aylık Sprague–Dawley erkek sıçanlardan, her grupta 10 adet hayvan bulunmak üzere 4 grup oluşturulmuştur.

Grup A: Kontrol Grubu

Grup B: Amiloid peptid verilen Grup

Grup C: Amiloid peptid ve Ang-(1-7) verilen Grup

Grup D: Ang-(1-7) verilen Grup

3.1.1. Kimyasal maddeler ve ilaçlar

* Beta-Amyloid peptid (1-40) (rat/mouse) (ab120957) Abcam firmasından alınmıştır ve peptid 1 mg/ ml oranda su içinde çözünerek çözelti hazırlanmıştır.

* Angiotensin (1-7) (A9202-SIGMA) (Lot # SLBF 1264V) Sigma - Alderich firmasından alınmıştır

* $\alpha 7$ anti-nikotinik asetilkolin reseptör antikor (rat/mouse) (ab23832) Abcam firmasından alınmıştır ve 1 μ g/ ml konsantrasyonda WB yönteminde kullanılmıştır.

* $\alpha 4$ anti-nikotinik asetilkolin reseptör antikor (rat/mouse) (ab41172) Abcam firmasından alınmıştır ve 1/800 oranında dilüe edilerek WB yönteminde kullanılmıştır.

* $\beta 2$ anti-nikotinik asetilkolin reseptör antikor (rat/Mouse) (ab55980) Abcam firmasından alınmıştır ve 2.5 μ g/ ml konsantrasyonda WB yönteminde kullanılmıştır.

* Anti- metabotropik glutamat reseptör 5 antikor (rat/mouse/human) (ab76316) Abcam firmasından alınmıştır ve 1/5000- 1/10000 oranında dilüe edilerek WB yönteminde kullanılmıştır.

* Anti- beta Actin (ab8227) Abcam firmasından alınmıştır ve 1/1000- 1/5000 oranında dilüe edilerek WB yönteminde kullanılmıştır.

* Anti- metabotropik glutamat reseptör 1 antikor (op-1803R) 1/500- 1/2000 oranlarında dilüe edilerek WB yönteminde kullanılmıştır.

* RIPA Lysis Buffer System (sc- 24948) (Lot # A2414) Santa Cruz Bioteknoloji firmasından alınmıştır.

* 1.000.000 IU Penicilline-G

* Dikloron 75 mg/ 3 ml IM enjeksiyonluk çözelti

*Ketamin (Alfamine %10 enjeksiyonluk çözelti, Alfasan, Hollanda)

*Ksilazin (Alfazyne %2 enjeksiyonluk çözelti, Alfasan, Hollanda)

3.2. 8- arm radyal maze

Başlangıçta tüm sıçanlara bellek fonksiyonlarını test etmek için 8-kollu radyal arm maze (RAM) uygulandı. Bu cihaz 24 cm çapında bir sekizgen tablanın tüm kenarlarına eklenmiş toplam sekiz adet kola sahiptir. Her kolun genişliği 10 cm, uzunluğu 50 cm'dir. Tüm kollar ve merkezdeki sekizgen tabla siyah renkli suntalam malzemeden yapılmıştır. Zemin yarı mat, orta kayganlıktadır. Tüm kolların etrafı, 50 cm yüksekliğinde şeffaf pleksiglass duvarla çevrilmiştir. Bu haliyle tüm cihaz, 1m çapında sekizgen bir tabla üzerine yerleştirilerek yerden 50 cm yükseltilmiştir. Her kola sırayla 1- 8 arası numara verilmiştir. Her kolun uç kısmının ortasında, 3 cm çapında 1 cm yüksekliğinde metal, siyah renkli yem kapları konulmuştur.

Testin yapıldığı odaya, sıçanların görebileceği şekilde, test cihazının kenarlarından 50 cm uzağa, görsel cisimler yerleştirilmiştir. Bu amaçla 20x30 cm boyunda 2 adet resim duvara monte edilmiş ve büyük bir tabure, bir dolap ve koyu renkli büyük bir paravan cihazın yakınına yerleştirilmiştir. Aydınlatma olarak 4 adet 50 cm boyundaki floresan ışık cihazdan 2 m yukarıdan kullanılmıştır. Tüm testler boyunca bu çevre düzeni ve aydınlatma hiç değiştirilmemiştir.

Daha sonra 3 günlük bir ön alıştırma bölümü (pretraining) yapıldıktan sonra 1 gün ara verilip 14 gün boyunca öğrenme bölümü (training) uygulanmıştır.

RAM testi ile doğru seçim, yanlış seçim, total yanlış seçim ve latens verileri tüm rat gruplarında düzenli olarak kaydedilmiştir ve kamera ile videoya alınmıştır. Elde edilen verilen tablo haline getirilmiştir.

Tüm test süresince her teste başlamadan önce, her kolun uç kısmındaki yem kaplarına 50-60 mg tek parça olarak, sıçanların severek yedikleri kahverengi şeker bırakılmıştır. Aynı şeker ön alıştırmaya bölümü süresince sıçanların kafeslerindeki yemleri arasına her hayvan başına 1 g olacak şekilde eklenmiştir.

Test süresince sıçanlara kısıtlı yem prosedürü uygulanmıştır. Bu prosedüre göre önce her sıçanın günlük tükettiği yem miktarı hesaplanmıştır. Bu miktar %10-15 azaltılarak, sıçanların günlük tartı takipleri de yapılarak, test süresince sıçanların % 10-15 düzeyinde tartı kaybetmesi sağlanmıştır. Bu uygulama etik kurallarda belirtilen %20 yem kısıtlaması sınırının altındadır. Deney boyunca su kısıtlaması yapılmamıştır.

Performans değerlendirme: Sıçanların her kola girişleri bir seçim olarak isimlendirildi. Her kola ilk girişleri doğru seçim (DS), herhangi bir kola ikinci ve daha sonraki tekrar girişleri ve ardışık olarak girişleri yanlış seçim (YS) olarak değerlendirildi. Sıçanların ilk 8 seçimi bu yöntemle değerlendirildi.

Seçim kriteri: Hiç yanlış yapmamış veya en fazla bir YS yapmış olan sıçan deneylerde kullanılmıştır.

Cihazdan 2m yukarıya, bir web kamera yerleştirilerek, tüm test görüntüleri bilgisayara aktarıldı ve sıçanların her kolu ziyaretlerini "zaman-seçim sayısı-kol numarası" üçlüsü olarak kayıt yapan bir yazılım (Amonra Stop Watch) kullanılarak veriler kaydedildi.

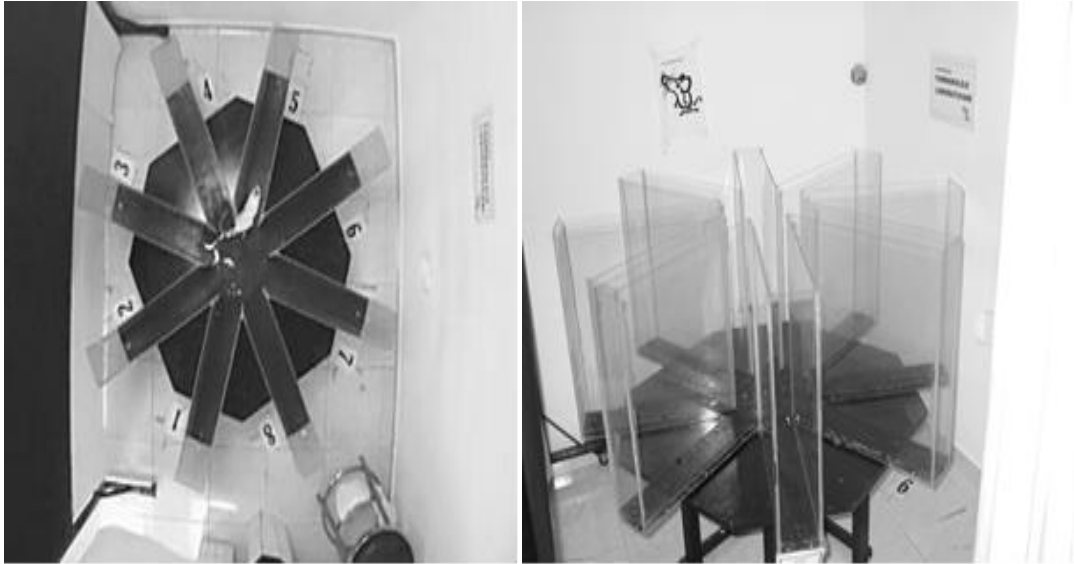
8 kollu radial maze testi uygulaması 3 bölüm olarak uygulandı:

- a) Ön alıştırmaya bölümü.
- b) Öğrenme bölümü.
- c) Post operatif değerlendirme bölümü.

a) *Ön alıştırmaya bölümü:* Bu bölümün amacı temel olarak deney hayvanlarının test cihazına ve çevreye uyumunu sağlamaktır. Bu amaçla 3 gün boyunca her gün, günde 3 defa birer saat arayla, sıçanlar 5'li gruplar halinde cihaza bırakıldılar. Her turda süre 10 dakika ile sınırlandırıldı. 3 günlük ön alıştırmaya bölümü bitiminde 1 gün ara verilerek öğrenme bölümüne geçildi.

b) *Öğrenme bölümü*: Bu bölümün amacı sıçanların testi öğrenmesidir. Bu amaçla 14 gün boyunca her sıçana tek tek olarak, hergün günde 3 tur olarak birer saat arayla test uygulandı. Her test turu 10 dakika ile sınırlandırıldı. Bir sıçan her 8 kolu da ziyaret ettiğinde 10 dakika beklenmeden, test başarılımış olduğundan sonlandırıldı. 14. gün sıçanların seçimi yapıldı. 14. gün herhangi bir turda ilk sekiz seçimi içinde 7 veya 8 DS yapan hayvanlar öğrenmiş olarak deneye seçildi. Bu özelliği sağlayamayan hayvanlar deneye alınmadı. Seçim günü verileri operasyon sonrası verileri ile karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. Seçim sonrası bir gün ara verilerek deneysel Alzheimer modeli uygulandı.

c) *Post operatif değerlendirme bölümü*: Bu bölüm hayvanların hafızasını değerlendirmek amacıyla uygulandı. Bu amaçla deneysel Alzheimer modelinin cerrahi olarak uygulanması sonrası 7. , 10. ve 14. günler tüm hayvanlara tek tur olarak test uygulandı. Ang(1-7) i.c.v. yöntemiyle 7. günde verildi ve bu sıçanlar 10 ve 14. günlerde teste tabi tutuldu. Test öğrenme bölümündeki aynı özelliklere göre uygulanıp, ilk sekiz seçimleri değerlendirildi.



Şekil 3.2. PAU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ABD Laboratuvarı- 8 kollu radyal maze

Test sonunda 8/8, 7/8 doğru seçim yapan sıçanlar deneye alındı. Seçim sonrası deneye alınan sıçan gruplarına;

- Kontrol grubuna sterotaksik cerrahi ile girişim yapıldı ancak herhangi bir ilaç verilmeden sadece serum fizyolojik uygulandı ve 7. , 10., ve 14. günlerde RAM uygulandı.
- Grup B'ye sterotaksik cerrahi ile intraamygdaloid olarak amiloid peptid verildi.
- Grup C'ye sterotaksik cerrahi yöntemle intraamygdaloid olarak A β peptid verilmiştir. Bu işlemden 7 gün sonrasında i.c.v. olarak Alzet osmotik pompa yerleştirilerek Ang-(1-7) , 7 gün boyunca sürekli infüzyon halinde bu pompa yardımı ile verildi.
- Grup D'ye sadece Ang-(1-7) , 7 gün boyunca sürekli infüzyon halinde pompa yardımıyla verilmiştir. C ve D gruplarına sadece 10. ve 14. günlerde RAM uygulanmıştır.

Tüm gruplardaki sıçanların cerrahi işlemden sonraki 15. günde dekapitasyon ile ötanazi uygulanarak beyin dokusu çıkarılır ve -80°C'de saklanır.

3. 3. Cerrahi İşlem

Sıçanlar intraperitoneal 90mg/kg ketamin ve 10mg/kg xylazin kombinasyonu ile anestezi edildikten sonra sterotaksi cihazına (Stoelting) yerleştirildi. Amigdaloid çekirdeğe mikroinjeksiyon, giriş koordinatları (mm) Paxinos Watson atlasına göre verildi.



Şekil 3.3. Deney hayvanının kafatasının dış kulak yolundan sterotaksi cihazına yerleştirilmesi

Mikroşırınga pompasına yerleştirilen 10 microL'lik Hamilton mikro injektörü ile 0.55 mm çapında çelik yapıllı kanüllerle peptidler ve çözücüler sıçan beynine verildi. Bilateral olarak 3'er microL solüsyon 1 microL /dk hızda toplam 6 dakikada gidecek şekilde amigdala AP: 3.0, L: 4.6, DV: 8.8 bölgesine 3 dk süreyle verilen 3 microL solüsyon sonrası 1 dakika (dk) beklendi.

Kanül işlem yerinden 0.2 mm geriye çekildikten sonra tekrar 3 dk beklenerek, süre sonunda kanül tamamen çıkarıldı. Vücut ısısı, cerrahi sırasında ve anesteziden ayılma süresince ısı pedi ve bir lamba kullanılarak 37 °C derecede tutuldu. Cerrahi işlemden sonra her sıçanın arka bacak kasına penisilin G 1000.000 IU enjekte edildi. Tüm cerrahi işlemlerde ve hayvan bakımında Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulunun yürütmekte olduğu kurallara sıkı bir şekilde uyulmuştur.



Şekil 3.4. Sterotaksik cerrahi ile kanül ve osmatik pompanın yerleştirilmesi

Grup C ve Grup D sıçanlarına Ang-(1-7) Alzet osmatik pompa yardımı ile verildi. Beyin infüzyon kanülü (Brain infusion Kit 2, Alzet Inc) osmatik pompaya bağlı olacak şekilde implante edildi. Takılacak olan kanülün sağlamlştırılması amacıyla kafatasına (delinen noktanın yaklaşık 0.5-1 cm uzağına) bir delik daha açılarak vidalar yerleştirildi. Koordinatlar stereotaksi atlasına bakılarak tespit edildi. Buna göre bragmadan 0.8 mm kaudal; sagittal sutturdan 1.4 mm lateral ve kafatası yüzeyinden 4.0 mm olacak şekilde serebral ventrikülün yeri tespit edilerek kanül yerleştirildi. Kanülü sabitlemek için,

kanülün çevresi akrilik ile sıvandı. Bu sıvama işlemi kafatası üzerine takılan vidaları ve kafatasının bir kısmını kapsayacak şekilde genişletildi. Akrilik çimento kuruyup sertleşinceye kadar beklendi. Kanül aracılığı ile Ang-(1-7), serebral ventriküler bölgeye 11.1 nmol/ 0.25 microL/ saat dozda verilecek şekilde ayarlandı. Osmatik pompa scapula arasına subkütan olarak yerleştirildi ve sütüre edildi.

3.4. Sıçan Beyin Lizatı Hazırlanması ve Western Blot Yöntemi

Dekapite edilen beyinler buz üzerine alınarak her 5 mg doku için 1000 microL RIPA ile pinç edildi. 2 saat boyunca orbital shakerda daha sonra 1600 rpm'de +4°C derecede mikrosantrifüjlerde santrifüje edildi. Ependorfdaki pellet atılarak, üstteki süpernatant alındı ve -80 °C derecede saklandı. Tüm beyin dokuları toplandıktan sonra BCA protein ASSAY kit ile örneklerdeki protein miktarı ölçüldü.

WB işlemi için %10'luk akrilamid-bisakrilamid jel hazırlandı. Bunun için önce stock jel solüsyonu, seperating ve stacking buffer hazırlandı. Seperating jel elektroforez cihazına döküldü, oluşan kabarcıklar izopropil alkol ile ortadan kaldırıldı. Seperating jel donduğunda üzerine stacking jel dökülüp taraklar yerleştirildi. Tarak içindeyken kuyucuklar işaretlendi. Jel tamamen donduğunda taraklar yerinden çıkarıldı.

Protein miktarı saptanan örnekler 10 µg olarak eşitlendi ve 1:1 laemni ile karıştırılarak 90°C derecede 5 dk termocyclerda bekletildi. Her welle 10µL ve protein ladderdan 5 µL eklendi ve 100V'da 10 mA 1,5 saat yürütüldü. Daha sonra jel PVDF membrana semidry blotting sistem ile 600 mA 8V 70 dk'da aktarıldı. Membran çıkartılarak %5'lik Bovine serum albüminde 1 saat boyunca oda ısısında orbital shakerda tutuldu.

Bloklanma ardından membran primer antikora (nAChR α7, nAChR α4, nAChR β2, mGluR1, mGluR5, b-actin) alındı ve gece boyunca +4°C de inkübe edildi. Sonrasında 3 kez TBST ile yıkandı ve HRP-sekonder antikor uygun konsantrasyonda eklendi. 1 saat boyunca oda ısısında orbital shakerda inkübe edildi. İşlem sonrası kemilüminesens yöntemi ile ECL-Amersham reagent A ve B eşit oranda karıştırılarak Farmakoloji ABD'ndaki görüntüleme cihazı C-Digit ile görüntü alındı.

3.5. İstatistiksel Analiz

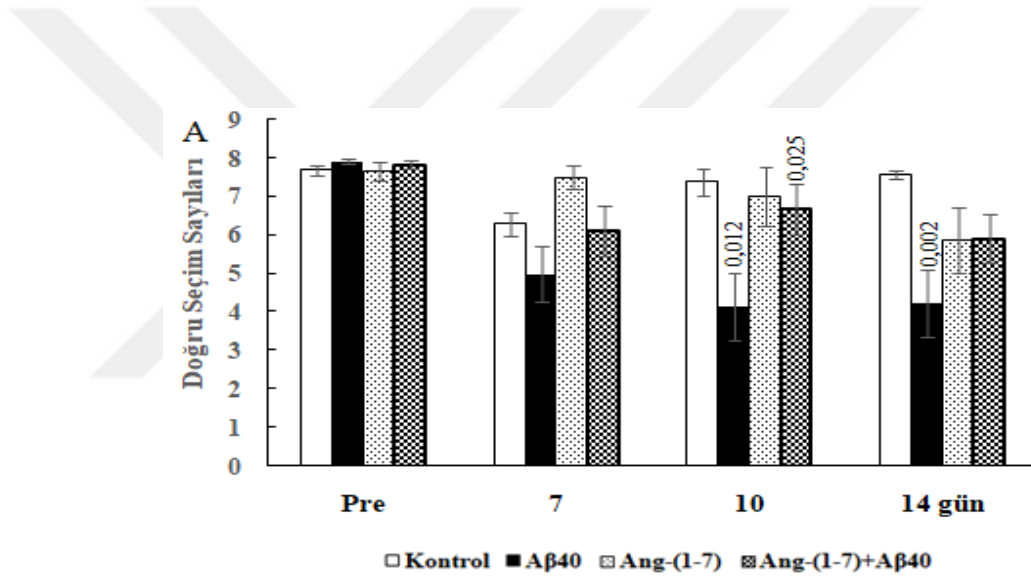
RAM aktivitesi; gruplar arası, grupların kendi içinde ve grup-aktivite ilişkisini göstermek için tekrarlayan veriler için ANOVA kullanılarak analiz edildi. RAM aktivitesinin her günü için gruplar arası değerlendirilmesinde belirgin farklılıkların saptanmasında tek yönlü ANOVA kullanıldı. Tukey testi kullanılarak Post hoc analiz yapıldı. Analizlerde SPSS 10.0 kullanıldı. İstatistiksel analiz sonucu $p < 0.05$ olan sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. RAM Performansına Etkiler

4.1.1. Doğru seçim (DS)

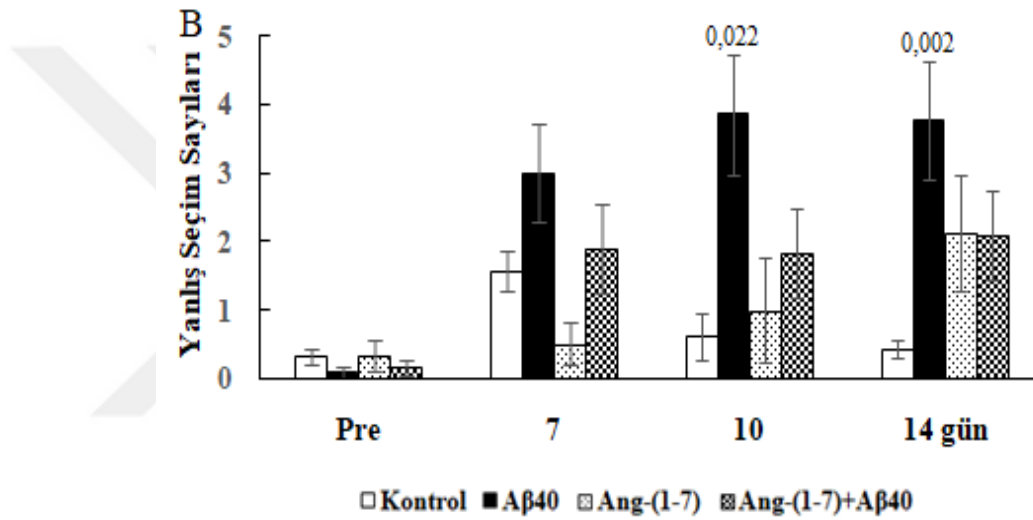


Şekil 4.1. Aβ40 peptid enjeksiyonu ile oluşturulan Alzheimer modelinde Ang-(1-7)'nin bellek testindeki doğru seçim üzerine etkisi. Ang-(1-7), Aβ40 peptid verilmesinden sonra 7. günde enjekte edilmiştir. Doğru seçim her kola ilk ve son kez giriş olarak değerlendirilmiştir. Değerler ortalama ± S.E.M olarak ifade edilmiştir. Kontrol ve Aβ40 grupları karşılaştırma sonucu $p < 0.012$. Ang-(1-7) ve Ang-(1-7)+Aβ40 grupları karşılaştırma sonucu $p < 0.025$.

Şekil 4.1.'de görüldüğü gibi 10. günde gruplar arasında önemli farklılıklar ortaya çıkmaktadır ($F_{3,34} = 4,49$; $p < 0,01$). Kontrol ve A β 40 grupları arasında 10. günde anlamlı bir farklılık tespit edildi ($p < 0,012$). Ang-(1-7), A β 40 peptidin neden olduğu doğru seçim azalmasını engellemiştir ($p < 0,025$). Gruplar arasında 14. günde de önemli farklar vardır ($F_{3,41} = 5,55$; $p < 0,003$). Bu farklılık genel olarak A β 40 peptidin neden olduğu doğru seçim azalmasına bağlıdır ($p < 0,002$).

4.1.2. Yanlış Seçim (YS)

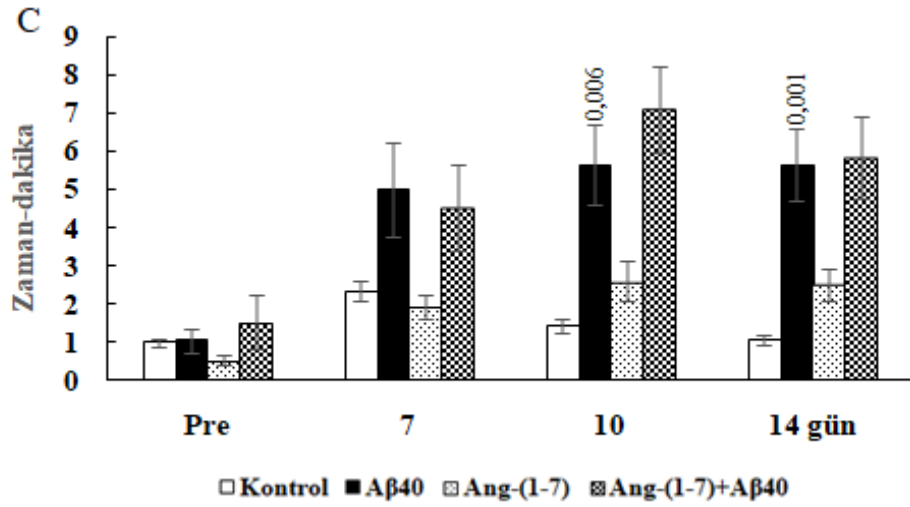
RAM'da kolların tekrar ziyaret edilmesi YS olarak değerlendirilmektedir.



Şekil 4.2. A β 40 enjeksiyonu ile RAM testinde yanlış seçimlere Ang-(1-7)'nin etkisi. Ang-(1-7), A β 40 peptid verilmesinden sonra 7. günde enjekte edilmiştir. Yanlış seçim deney sırasında 8 kolun tamamının ziyaret edilememesi, aynı kola 1'den fazla ziyaret edilmesi veya 10 dakikalık sürenin bitişi olarak tanımlanmıştır. Değerler ortalama \pm S.E.M olarak ifade edilmiştir.

Şekil 4.1.2.1.'de görüldüğü üzere yanlış seçimler A β 40 grubunda 10. günden sonra kaydedilmiştir ($p < 0,022$). Bu önemli fark 14. günde de devam etmiştir ($p < 0,002$). Ang-(1-7) kendi başına ya da tedavi grubunda önemli bir etkiye sahip değildir.

4.1.3. Performans Süresi

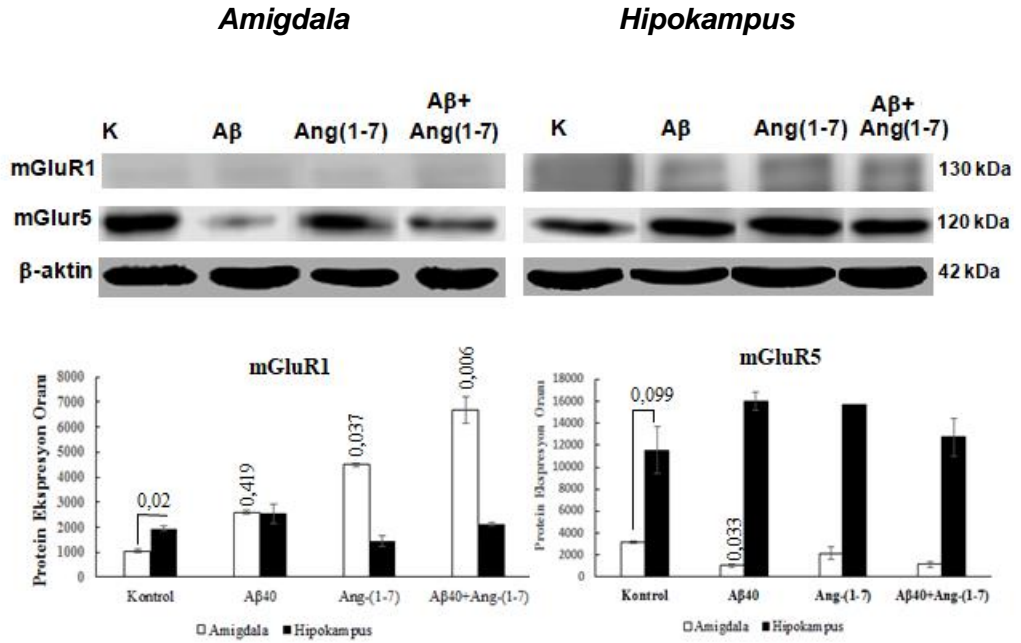


Şekil 4.3. Aβ40 peptid enjeksiyonu ile RAM testinde toplam bitirme süresine Ang-(1-7)'nin etkisi. Ang-(1-7), Aβ40 peptid verilmesinden sonra 7. günde enjekte edilmiştir. Değerler ortalama ± S.E.M olarak ifade edilmiştir.

Şekil 4.1.3.1.'de görüldüğü gibi gruplar arasında önemli farklar tespit edilmiştir ($F_{3,40} = 9,56$; $p < 0,001$). Aβ40 grubu genel olarak RAM bitirme süresini önemli derecede uzatmıştır ($p < 0,006$). RAM bitirme süresi açısından tek başına Ang-(1-7) veya Ang-(1-7)-Aβ gruplarında genel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır.

4.2. Western Blot

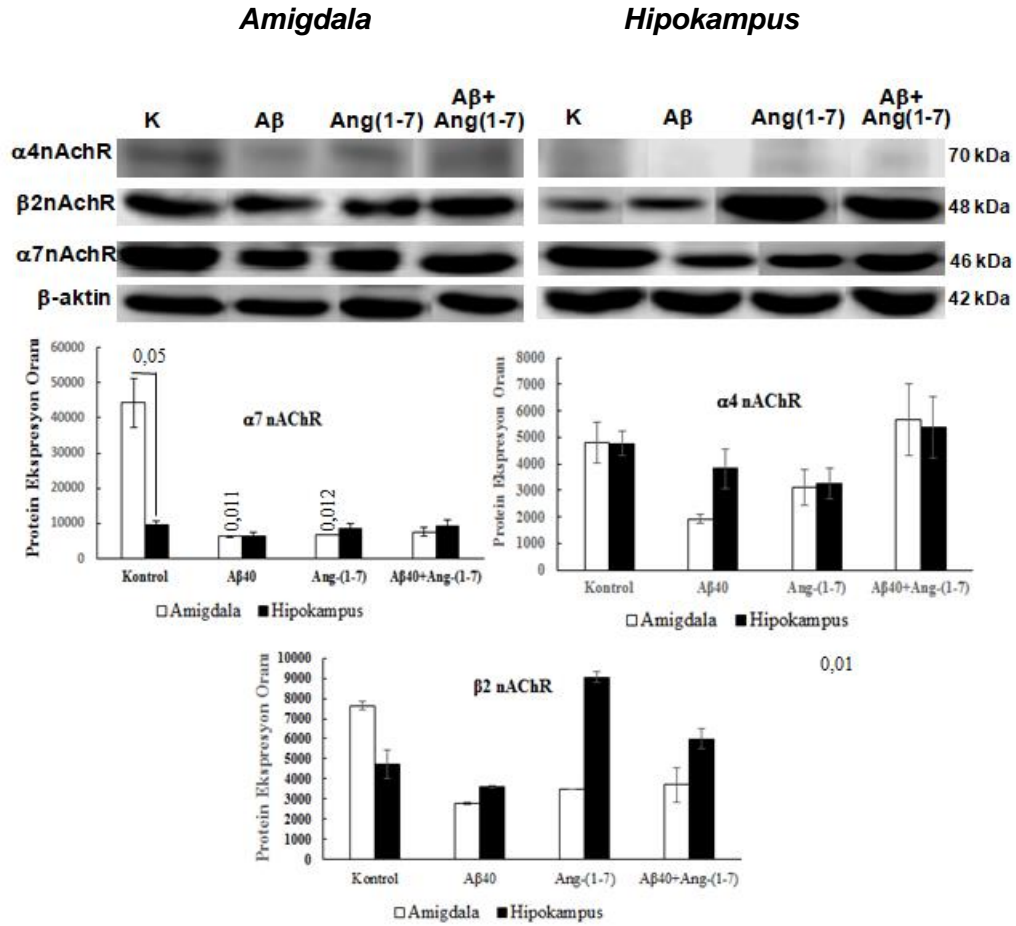
Sıçan amigdala ve hipokampus homojenizatlarından elde edilen örneklerde sırası ile primer antikör anti-nikotik ACh reseptör antikoru olan $\alpha 7$, $\alpha 4$, $\beta 2$ ve anti-metabotropik glutamat reseptör antikoru olan mGluR5, mGluR1 çalışıldı.



Şekil 4.4. Sıçan amigdala bölgesine verilen Aβ40 peptid ve i.c.v. verilen Ang-(1-7) sonrası elde edilen amigdala ve hipokampuse ait beyin homojenizatlarında primer β-aktin, mGluR1 ve mGluR5'e ait görüntüler ve primer mGluR1 ve mGluR5'e ait grafikler. Değerler ortalama ± S.E.M olarak ifade edilmiştir.

Amigdala beyin homojenizatlarından elde edilen örneklerde Aβ40 peptid mGluR1 ekspresyonunu önemsiz derece arttırmıştır ($p=0,42$). Ang-(1-7) ise mGluR1'lerin amigdaladaki ekspresyonunu önemli derecede arttırmıştır ($p<0,04$). Ayrıca Aβ40 + Ang-(1-7) birlikte mGluR1'lerin amigdaladaki ekspresyonunu diğer gruplara göre daha fazla anlamlı olarak arttırmıştır ($p<0,006$). Aβ40 peptid mGluR5 ekspresyonunu ise önemli derecede azaltmıştır ($p<0,033$). Ang-(1-7) varlığında mGluR5 ekspresyonunda önemli derecede bir değişim gözlemlenmemiştir.

Hipokampus beyin homojenizatlarından elde edilen örneklerde hem Aβ40 peptidin hem de Ang-(1-7)'nin gruplar üzerinde önemli bir etkisi yoktur.



Şekil 4.5. Sıçan amigdala bölgesine verilen A β 40 peptid ve i.c.v. verilen Ang-(1-7) sonrası elde edilen amigdala ve hipokampuse ait beyin homojenizatlarında primer β -aktin, α 7nAChR, α 4nAChR ve anti- β 2nAChR'e ait görüntüler ve primer α 7nAChR, α 4nAChR ve β 2nAChR'e ait grafikler. Değerler ortalama \pm S.E.M olarak ifade edilmiştir.

Anti-nAChR'lerde en fazla ekspresyon α 7'de meydana gelmiştir. α 7nAChR'nin amigdala'daki ekspresyonu hipokampusteki ekspresyonundan anlamlı olarak fazladır ($p < 0,05$). A β 40 peptid α 7nAChR'nin amigdala'daki ekspresyonunu %86 oranında azalttı ($p < 0,011$). Ang-(1-7) α 7nAChR'nin amigdala'daki ekspresyonunu da önemli olarak azalttı ($p < 0,012$). Fakat tedavi grubunda Ang-(1-7), A β peptid verilen sıçanlardaki α 7nAChR'lerin amigdala'daki ekspresyonuna etki etmedi. A β peptid amigdala α 4nAChR ekspresyonunu %60 oranında azalttı. Ang-(1-7)'nin amigdala'daki α 4nAChR'ler üzerine önemli bir etkisi yoktur. Ancak A β peptidin neden olduğu ekspresyon azalmasını %194 oranında artırarak tersine çevirdi. A β peptid amigdala β 2nAChR ekspresyonunu

azaltırken, Ang-(1-7) A β 40 peptidin neden olduğu azalmayı %134 oranında artırarak tersine çevirdi.

Hipokampüs beyin homojenizatlarından elde edilen örneklerde Ang-(1-7)'nin α 7nAChR, α 4nAChR üzerinde önemli bir etkisi yoktur. Ancak Ang-(1-7)'nin β 2nAChR ekspresyonunu önemli derecede arttırdığı bulundu ($p < 0,01$).



5. TARTIŞMA

Hipokampus uzaysal (spatial) ve bilişsel bellekte, amigdala uzun süreli bellek modülasyonunda ve emosyonel bellek fonksiyonunda rolü olan beynin iki önemli bölgeleridir. Hipokampus ve özellikle bazolateral amigdala (McGaugh 2002) arasında emosyonel bellek fonksiyonlarında büyük bir rolü olan direkt ve güçlü bir bağlantı vardır (Pitkänen vd 2000).

AH için birincil neden olarak kabul edilen SAP'ların merkezi bileşenleri olarak toksik etkili olan A β 40 ve A β 42 peptidler kabul edilmektedir. SAP'ların beyinde en çok amigdala ve/veya hipokampusda lokalize olduğu gösterilmiştir. *In vivo* ortamda A β 40 ve A β 42'nin amiloid fibril oluşturma yetenekleri birbirlerinden farklıdır. A β 42 hızlı C terminal proteolizine maruz kalırken, A β 40'ın C terminal proteolizi daha geç meydana gelmektedir. Ayrıca A β 40 peptidinin agregatları AH'nın amiloid fibriller yapılarına benzer fibriller içerirken, A β 42 agregatları fibril olmayan amorf metaryaller içerir. A β 42 daha toksik olsa da A β 40 hipokampus CA1 bölgesinde nörodejenerasyonu indükler ve yaşlandırılmış A β 40 daha fazla oranda hücre dejenerasyonu yapar (Hatip FFB vd 2010).

Çalışmamızda A β 42 peptid uygulaması yaptığımız sıçanların RAM davranış testlerinden elde ettiğimiz verilerin AH davranış patolojisine uymadığını gözlemlediğimizden çalışmamamıza yaşlandırılmış A β 40 peptid ile devam ettik. RAM testinde doğru seçimlerin A β 40 peptid verilen grupta azalması uzak belleğin bozulduğunu, yanlış seçimlerin artışı ise yakın bellekteki bozulmayı değerlendirmek açısından önemlidir. Bu çalışmada RAM yönteminin sonucunda intraamigdaloid A β 40 peptid verilen sıçanlarda RAM bitirme süreleri anlamlı olarak artarken, 10. günden itibaren kontrol grubumuzla A β peptid verilen gruplar arasında doğru seçim ve yanlış seçim sonuçları anlamlı bir farka sahiptir.

RAS'ın periferik dokularda kardiyovasküler homeostaz için önemi bilinirken, beyin de dahil olmak üzere birçok dokunun kendine ait lokal RAS'ları mevcuttur. Beyin RAS bellek kontrolü ve nörodejeneratif bozukluklarda rol oynayan önemli bir sistemdir. Beyin RAS komponentlerinden ACE, Ang-II, AT1R'ler AH patogenezinde katkıda bulunmaktadır. AH beyin dokusu incelemelerinde Ang-II'nin metabolik enzimi olan ACE'nin ekspresyonunun ve aktivitesinin, frontal korteks ve hipokampus dahil olmak üzere beyin belli bölgelerinde önemli ölçüde değiştiği gösterilmiştir. Santral etkili ACE inhibitörleri kullanıldığında bilişsel düşüşün azaldığı ve bellek iyileştirici etkilere sahip oldukları rapor edilmiştir (Sink vd., 2009, Ohru vd 2004, Bodiga ve Bodiga 2013). Ang-II ACE ile Ang-I'den oluşur, AT1 reseptörü aracılığıyla oksidatif stres, inflamasyon, ve vasküler hastalıklara neden olur (Gebre vd 2018) Ang-II ile indüklenen hipertansiyon vakalarında A β -nöropatolojisini daha da arttırdığı bilinmektedir (Diaz-Ruiz vd 2009). Yakın dönem çalışmalarında hem periferik hem de beyin dokularında ACE/Ang II/AT1R ekseninin fizyolojik etkilerini önleyen, bir beyin RAS heptapeptidi olan Ang-(1-7), metabolik enzimi ACE2 ve reseptörü Mas ile birlikte Ang-(1-7)/ ACE2/MasR eksenini bulunmuştur (Xu P 2010). ACE/Ang II ile birlikte ACE2 ve Ang-(1-7)/MasR'leri amigdala ve hipokampus dahil beyinde önemli bir dağılıma sahiptir ve Ang-(1-7)/Mas eksen bütünlüğü bellekte obje tanıma için gereklidir (Chappell vd 1989, Bunnemann vd 1990, Tipnis vd 2000 Lazarroni 2012). ACE2 ise ACE ve Ang II'den farklı olarak A β 40 peptidini metabolize eder, A β 42 peptid oligomerizasyonunu ve birikimini de azaltır (Kim vd 2007, Murray vd 2009). Ayrıca ACE inhibitörleri varlığında ACE2 etkisi değişmezken (Tipnis vd 2000) AH patolojisinde ACE2 aktivitesi azalır (Kehoe vd 2016). Uekawa ve arkadaşları Ang-(1-7) 'nin hipokampal ya da kortikal amiloid peptid depolanmasını etkilemeksizin bellek fonksiyonlarında düzelleme sağladığını bildirmiştir (Uekawa vd 2016). AH'nin hayvan modeli olarak kullanılan SAMP8 farelerinde Ang-(1-7)'nin hastalık seyrinde azaldığı bulunmuştur. Bu farelerde tau fosforilasyonu ile Ang-(1-7) arasında ters korelasyon gösterilmiştir. Ayrıca bu sonuç saf taupatili hayvan modeli olan P301S farelerinde de rapor edilmiştir. Ang-(1-7) ve ACE2'nin, AH patolojisindeki ve bellek üzerindeki bu etkilerinden yola çıkarak çalışmamızda Ang-(1-7)'nin etkilerini AH'lı sıçanlarda araştırdık. RAM test sonuçlarında A β 40+Ang-(1-7) verilen sıçan grubunda doğru seçimler AH grubuna göre artmış ve yanlış seçimler de azalmıştır. Tek başına Ang-(1-7) uygulanan sıçanlarda da AH grubu sıçanlara göre doğru seçimler daha fazladır ve yanlış seçimler de anlamlı olarak azdır. Yapılan çalışmalar sonucunda Ang-(1-7)'nin beyindeki modülatör rolü ile AH etiyolojisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (Tengjiang 2015). Bizim çalışmamızdaki veriler de

Ang-(1-7)'nin ve onu metabolize eden ACE2'nin bellek üzerinde iyileştirici etkilerinin olabileceğini desteklemektedir.

Glutamat bilişsel fonksiyon ve algılamada anahtar rol oynayan, LTP ve eksitotoksosite ile ilişkili eksitatör özellikli bir nörotransmitterdir (Sokolow S vd 2012). Yapılan çalışmalar AH'da SAP ve NFY patolojilerinden ayrı beyindeki ana bölgeler olan neokorteks ve hipokampusta artan glutamat miktarı, kolinerjik yollardaki kayıplara ve diğer nörotransmitter maddelerin iletimindeki bozulmalara neden olduğunu göstermektedir (Sheldon L vd 2007). Hipokampal fonksiyon dentat çekirdekten başlayıp CA1 bölgesine uzanan mono- ve tri- glutamaterjik yollardaki postsinaptik iletim tarafından düzenlenir. Medialseptal çekirdekten hipokampusa giden kolinerjik nöronal oluşumlar hipokampal nöronal glutamaterjik aktiviteyi düzenler. AH'deki kolinerjik fonksiyon kayıpları bellek bozuklukları ile ilişkilidir. Septohipokampal kolinerjik ağın hipokampusta glutamaterjik nöronal aktivitenin düzenlenmesi ve sürdürülebilmesi için büyük bir öneme sahip olduğu anlaşılmaktadır (Toyohiro S vd 2017). Sıçan kortikal sinaptosomlarında ve astrosit kültürlerinde yapılan çalışmalar sonucunda, işleyiş mekanizması tam aydınlatılmamış olsa da A β peptidin glutamat geri alımını inhibe ettiği bilinmektedir. Ayrıca AH'da nöronlarda meydana gelen anormal glial glutamat iletimlerinin tau patolojisine de katkı sağladığı bulunmuştur (SheldonALvd 2007).

Glutamat reseptörleri iyonik (iGluR) ve metabotropik (mGluR)'ler olarak 2 grupta toplanır. mGluR'ler ise kendi içinde 3 ayrı gruba ayrılır: grup1 (mGluR 1 ve 5); grup 2 (mGluR2 ve3); grup 3 (mGluR 4, 6, 7 ve 8). Bu çalışmada ele alınan mGluR 1 ve mGluR5 yaygın şekilde beyin farklı bölgelerinde presinaptik olarak bulunmakla beraber, mGluR5 reaktif glia hücrelerinde de bulunur (School ve Kimelberg 1999). PLC ve PKC yolları aktive eder, yalnız inozitol1,4,5-P3-duyarlı Ca²⁺ depoları değil, Ryanodin-duyarlıCa²⁺ depolarını da mobilize eder (Gerberetal 2007). Korku-koşullanmasında mGluR5 ekspresyonu amigdala (Rodriguesvd 2002) ve hipokampusta artar (Riedelvd 2000). Hipokampus, amigdala ve frontal korteks gibi beyin belli yerlerinde bulunan mGluR'ler fizyolojik-patolojik durumlarda ve bellek oluşumlarında rol oynarlar(Riedelvd 2000). GABAerjik yollar üzerinden bellek edinmede az rolü varken, geri çağırma ve konsolidasyon modülasyonunda gereklidir. Genel olarak mGluR'ler postsinaptik ve presinaptik yerlerde yoğunlaşarak yavaş iletim ve daha fazla olarak modülatör aktivite gösterir.

LTD, NMDAR'ler ve mGluR'lerin kontrolü altında gerçekleşmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar NMDAR'e ve mGluR'lere bağlı LTD'nin amigdala ve

hipokampus bölgelerinde sinerjik etki göstererek ve kendilerine özgü AMPAR'lerin endositozunu içeren mekanizmalarıyla hücre tiplerine göre farklılaştıkları bildirilmiştir (Casimiro vd 2011, Bhattacharyya S 2016). A β 'nin LTP inhibe edici etkisi mGluR1/mGluR5 antagonisti ile inhibe olur ve bu sonuç mGluR5'in A β -LTP inhibisyonunda yer aldığını gösterir (Wang vd 2004). Grup 1 mGluR'lerin etkileri protektif veya dejeneratif olabilir. Düşük presinaptik aktivitede sinaptik transmisyon ve regülasyonu üzerinde minimum etkilidir. Bu durumun aksine yüksek frekanslı uyarıda hücresele etkileri çok güçlenir. Ayrıca aktivite düzeyi yüksek olduğunda Ca²⁺-duyarlı proteaz olan kalpain aktive olur ve mGluR1'i C- ucundan kırpar ve yalnızca nörodejeneratif hale getirir (Baudry vd 2012). Bir yandan mGluR1 α -sekretazı aktive ederek sAPP'ı artırır ve A β oluşumunu azaltır (Lee vd 1996), diğer yandan NMDA ve AMPAR endositozu (Snyder vd 2001; Casimiro vd 2011) A β ile etkileşerek LTD fasilasyonu ve LTP inhibisyonuna neden olur (Hu vd, 2014, Caraci F vd 2017). mGluR bellek edinme, öğrenme ve bazı nörodejeneratif bozukluklarda yer aldığından, mGluR sinyalizasyonu ile amiloid birikimi arasındaki ilişki önem kazanmaktadır.

Glutamaterjik sistemin farklı reseptör ve yerleri AH'de bozulmaktadır. Bozukluğun olduğu yerlerden birisi sinaps düzeyinde görülür. Ancak literatüre bakıldığında yöntemsel fark, AH model farkı, incelenen beyin bölgeleri ve hastalığın farklı aşamaları gibi farklılıklardan dolayı farklı ve hatta çelişkili veriler bulunmaktadır. AH'de mGluR ekspresyon değişikliği söz konusudur (Lee vd 2004, Revett vd 2013) ve biz de AH'lı sıçanlarda mGluR1 ve mGluR5 ekspresyonlarını Ang-(1-7) protektif etkisinin altında inceledik. Yaptığımız çalışmada A β 40 peptid varlığında amigdalada mGluR1 düzeyinin artması nörodejenerasyon bulgularını desteklemektedir. Bunun yanında Ang-(1-7) varlığında amigdala bölgesinde mGluR1'lerin ekspresyonu hem Ang-(1-7) grubunda hem de A β 1-40+Ang-(1-7) grubunda artmıştır. Artan mGluR1 ekspresyonu APP'nin α -sekretaz yolağındaki metabolizasyonu destekleyerek çözünebilir A β formlarıyla amiloid plak olumunu engelleyerek nöroprotektif etkinlik gösterebilir. Hipokampus mGluR1 ekspresyonları ise A β 40 peptid varlığında az da olsa artmıştır ve Ang-(1-7) varlığında anlamlı olmayan bir azalış göstermektedir. Bu bulguların yanında amigdalada mGluR5 ekspresyonları A β 40 peptid varlığında azalmıştır ve A β 40+Ang-(1-7) grubunda ise değişen bir etki saptanmamaktadır. Hipokampus beyin homojenizatlarında ise mGluR5 ekspresyonu hem A β 40 peptid hem de tek başına Ang-(1-7) varlığında artmaktadır. Bu artışın mGluR1'lerin amigdaladaki benzer etkileriyle paralel olarak protektif bir etki oluşumunu destekleyebilmektedir. Normalde mGluR5 aktivasyonu NMDA fonksiyonlarını güçlendirici etkidir ve NMDA reseptörlerine bağlı sinaptik etkiler mGluR5'lerin iletimi yönündedir (Renner vd 2010).

Hipokampusteki bu ekspresyon artışları NMDA üzerinden sinaptik plastisiteyi de desteklemektedir.

Hipokampuste en yaygın nAChR'lerin alt ünitelerinden $\alpha 7$ ve $\alpha 4\beta 2$ bulunmaktadır. $\alpha 7$ nAChR aktivasyonu, hücre canlılığını sağlayan JAK2/PI-3K kaskadı üzerinden, A β 'ya karşı nöroprotektif etki sağlar (Marrero vd 2004). Ancak bu etkisi Ang-II tarafından nötralize edilir (Shaw vd 2003). Presinaptik yerleşimli $\alpha 7$ nAChR'ler birçok nörotransmitter salınımına aracılık ederken intrasellüler Ca^{2+} konsantrasyonlarında da değişikliklere neden olmaktadır (Lambardo ve Maskus 2014). Hem spontan hem de uyarılmış glutamaterjik sinaptik transmisyon çalışmaları, $\alpha 7$ nAChR'lerin glutamat salınımının artmasına aracılık ettiğini göstermiştir. Oluşturdukları NMDA benzeri bu etkileri ile intrasellüler Ca^{2+} depolarının aktivasyonu ile sinaptik plastisiteyi desteklemektedirler (Kabbani ve Nichols, vd 2018). Hipokampal $\alpha 7$ nAChR'lerin genetik olarak çıkarılması ya da farmakolojik olarak inhibe edilmeleri bellek ve öğrenme bozukluklarına neden olmaktadır (Cheng ve Yakel 2015). Biz çalışmamızda kontrol grubu sıçanların amigdala bölgesinde nikotinik reseptör alt ünitelerinden en fazla ekspresyonu $\alpha 7$ nAChR ile almaktayız ve $\alpha 7$ nAChR'nin diğer $\alpha 4$ ve $\beta 2$ nAChR'lere göre hipokampusteki ekspresyonu da daha fazla olarak kaydedilmiştir. Bu bulgular amigdala ve hipokampus bölgelerinde bellek ve öğrenme fonksiyonları için kolinerjik reseptörlerin etkinliğine paralel niteliktedir.

A $\beta 42$ 'nin pikomolar konsantrasyonları, $\alpha 7$ nAChR aktivasyonunu sağlayarak glutamat salınımı uyararak sinaptik plastisiteyi güçlendirmektedir. Fakat A $\beta 42$ 'nin toksik dozlarına ulaşıldığında meydana gelen SAP'lar nörodejeneratif etkileri ile nöron kayıplarına neden olmaktadır (Hascup vd 2016). Çalışmamızda A $\beta 40$ varlığında sıçanlarda özellikle amigdala bölgesinde anlamlı bir $\alpha 7$ nAChR ekspresyon azalması varken bu azalmayı hipokampus bölgesinde de görmekteyiz. AH'da A β peptid varlığında $\alpha 7$ nAChR etkisi antagonize olmaktadır (Sadigh-Eteghad vd 2014) ve bizim çalışmamızdaki veriler bu bilgiler ile desteklenmektedir.

$\beta 2$ nAChR'den yoksun farelerde yapılan bir çalışmada, endojen ACh ile $\beta 2$ nAChR aktivasyonunun nörotrofik etki sağladığını gösterilmiştir. Bu çalışma $\beta 2$ nAChR'nin normal yaşlanma periyodunda beyin homeostazı için önemli bir role sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Lambardo ve Maskus 2014). Bizim çalışmamızda hem hipokampus hem de amigdala beyin homeojenizatlarında A $\beta 40$ peptid varlığında nAChR $\alpha 7$, $\alpha 4$ ve $\beta 2$ alt ünitelerindeki ekspresyon azalmaları daha önce yapılan çalışmalara paralel veriler olarak kabul edilebilir (Auld DS vd 2002, Öztürk GB vd

2009). Tek başına Ang-(1-7) verilen sıçan grubunda hipokampusta meydana gelen güçlü $\beta 2$ ekspresyonunun Ang-(1-7)'nin nörotrofik etkiyi desteklediğini düşündürmektedir. Bunun yanında çalışmamızdaki A β 40+Ang-(1-7) grubu ve AH grubu sıçanlara göre karşılaştırma yaptığımızda nAChR $\alpha 7$, $\alpha 4$ ve $\beta 2$ ekspresyonlarının artmış olması beyin homeostazi ve bellek/biliş fonksiyonları için Ang-(1-7)'nin olumlu etkisi olduğunu desteklemektedir.

Tüm bunların sonucunda Ang-(1-7)'nin A β 40 ile bozulan bellek/bilişsel fonksiyonda iyileşme göstermiş olup; nAChR $\alpha 7$, $\alpha 4$ ve $\beta 2$ alt üniteleri ile mGluR1 ve mGluR5 düzeyinde oluşturduğu etkiler moleküler yönden de destekleyici nitelik taşımaktadır.



6. SONUÇLAR

1- Sıçanlarda A β 40 peptid ile AH modeli başarılı bir şekilde oluşturulmuştur. RAM testi ile A β 40 peptidin sıçanlardaki bellek ve öğrenme fonksiyonları üzerindeki etkisi anlamlılık göstermiştir ve doğru seçimlerini azaltırken yanlış seçimlerini arttırıp test süresini uzatmıştır. Ang-(1-7) verilen AH'li sıçanların doğru seçimleri anlamlı olarak artmıştır.

2-Moleküler düzeyde WB yöntemi ile yapılan analizlerde; AH'li sıçanların amigdala ve hipokampus beyin homojenizatlarında nAChR alt ünitelerinden sırasıyla en çok α 7, β 2 ve α 4 ekspresyonları azalırken, A β 40+Ang-(1-7) grubunda anlamlı olmayan ekspresyon artışları tespit edildi. Ayrıca sadece Ang-(1-7) grubu sıçanların hipokampusünde β 2 ekspresyonu anlamlı bir şekilde artmıştır. AH'li sıçanlarda mGluR1 ekspresyonu artarken, mGluR5 ekspresyonu sadece hipokampuste artmıştır. A β 40+Ang-(1-7) grubunda ise mGluR1 ekspresyonunu amigdalada artarken hipokampusde anlamlı bir değişime neden olmamıştır.

3-Hem RAM testi hem de WB yöntemi sonucunda Ang-(1-7)'nin AH'da iyileştirici etkisi olabileceği ortaya koyulmuştur.

7. KAYNAKLAR

Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM, Cooper NR, Eikelenboom P, Emmerling M, Fiebich BL, Finch CE, Frautschy S, Griffin WS, Hampel H, Hull M, Landreth G, Lue L, Mrazek R, Mackenzie IR, McGeer PL, O'Banion MK, Pachter J, Pasinetti G, Plata-Salaman C, Rogers J, Rydel R, Shen Y, Streit W, Strommeyer R, Tooyoma I, Van Muiswinkel FL, Veerhuis R, Walker D, Webster S, Wegrzyniak B, Wenk G, Wyss-Coray T. Inflammation and Alzheimer's disease. **Neurobiol Aging** 2000; 21(3): 383-421.

Allegri RF, Sarasola D, Serrano CM, Taragano FE, Arizaga RL, Butman J, Loñ L. Neuropsychiatric symptoms as a predictor of caregiver burden in Alzheimer's disease. **Neuropsychiatr Dis Treat** 2006; 2(1): 105-10.

Alzheimer's Society, 2014. What is Alzheimer's disease ? Factsheet 401LP 1–11.

Anand R, Gill KD, Mahdi AA. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. **Neuropharmacology** 2014; 76 Pt A: 27-50.

Armstrong DM, Saper CB, Levey AI, Wainer BH, Terry RD. Distribution of cholinergic neurons in rat brain: demonstrated by the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase. **J Comp Neurol** 1983; 216(1): 53-68.

Auld DS, Kornecook TJ, Bastianetto S, Quirion R. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to beta-amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. **Prog Neurobiol** 2002, 68(3): 209-245.

Bader M, Santos RA, Unger T, Steckelings UM. New therapeutic pathways in the RAS, **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst** 2012; 13(4): 505-8.

Baysal Aİ, Yeşilbudak Z. Alzheimer Hastalığı'nın Klinik Bulguları. **Turkiye Klinikleri J Neur** 2003; 1(1): 1-5.

Baudry M, Greget R, Pernot F, Bouteiller JM, Bi X. Roles of group I metabotropic glutamate receptors under physiological conditions and in neurodegeneration. **WIREs Membr Transp Signal** 2012, 1: 523–532.

Bennett JP. Medical hypothesis: Neurodegenerative diseases arise from oxidative damage to electron tunneling proteins in mitochondria. **Med Hypotheses** 2019; 127: 1-4.

Bettens K, Sleegers K, Van Broeckhoven C. Current status on Alzheimer disease molecular genetics: from past, to present, to future. **Human Molecular Genetics** 2010; 19 (1): 4-11.

Bi C, Bi S, Li B. Processing of Mutant β -Amyloid Precursor Protein and the Clinicopathological Features of Familial Alzheimer's Disease. **Aging Dis** 2019; 10(2): 383-403.

Bodiga VL, Bodiga S. Renin Angiotensin System in Cognitive Function and Dementia. **Asian Journal of Neuroscience** 2013;18

Bhattacharyya S. Inside story of Group I Metabotropic Glutamate Receptors (mGluRs) **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology** 77 (2016) 205–212

Bordji K, Becerril-Ortega J, Nicole O, Buisson A. Activation of extrasynaptic, but not synaptic, NMDA receptors modifies amyloid precursor protein expression pattern and increases amyloid-ss production. **J Neurosci** 2010; 30: 15927–42.

Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. **Acta Neuropathol** 1991; 82 (4): 239–259.

Bulut S. Alzheimer Hastalığı'nda Oksidatif Stres. **Turkiye Klinikleri J Neur.** 2003; V1(1): 5V4-61.

Bunnemann B, Fuxe K, Metzger R. "Autoradiographic localization of *mas* proto-oncogene mRNA in adult rat brain using in situ hybridization," **Neuroscience Letters** 1990: 147–153.

Burton T, Liang B, Dibrov A, Amara F. Transcriptional activation and increase in expression of Alzheimer's beta-amyloid precursor protein gene is mediated by TGF-beta in normal human astrocytes. **Biochem Biophys Res Commun** 2002; 295, 702–712.

Canda MS. Alzheimer disease pathology and new developments - September 15, 2017 Dokuz Eylul Medical Faculty

Caraci F, Nicoletti F, Copani A. Metabotropic glutamate receptors: the potential for therapeutic applications in Alzheimer's diseases. **Curr Opin Pharmacol** 2018; 38: 1–7.

Carmona-Iragui M, Balasa M, Benejam B, Alcolea D, Fernández S, Videla L, Sala I, Sánchez-Saudinós MB, Morenas-Rodriguez E, Ribosa-Nogué R, Illán-Gala I, Gonzalez-Ortiz S, Clarimón J, Schmitt F, Powell DK, Bosch B, Lladó A, Rafii MS, Head E, Molinuevo JL, Blesa R, Videla S, Lleó A, Sánchez-Valle R, Fortea J. Cerebral amyloid angiopathy in Down syndrome and sporadic and autosomal dominant Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement.** 2017; 13(11): 1251-1260.

Casimiro TM, Sossa KG, Uzunova G, Beattie JB, Marsden KC, Carroll RC. mGluR and NMDAR activation internalize distinct populations of AMPARs. **Mol Cell Neurosci** 2011, 48: 161–170

Chappell MC, Brosnihan KB, Diz DI, Ferrario CM, "Identification of angiotensin-(1–7) in rat brain. Evidence for differential processing of angiotensin peptides," **Journal of Biological Chemistry** 1989: vol. 264, no. 28, pp. 16518–16523.

Cheng Q, Yakel LJ. The effect of $\alpha 7$ nicotinic activation on glutamatergic transmission in the hippocampus **Biochem Pharma** 2015; 1-6

Chen XQ, Mobley WC. Exploring the Pathogenesis of Alzheimer Disease in Basal Forebrain Cholinergic Neurons: Converging Insights From Alternative Hypotheses. **Front Neurosci** 2019; 13: 446.

Ciobica A, Bild W, Hritcu L, Haulica I. Brain renin-angiotensin system in cognitive function: pre-clinical findings and implications for prevention and treatment of dementia. **Acta Neurol** 2009; 109, 171–180.

Citron M. Alzheimer's disease: Strategies for disease modification. **Nat Rev Drug Discov** 2010; 9(5): 387-98.

Crews L, Masliah E. Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease. **Hum Mol Genet** 2010; 19(R1):R12-20.

Cummings JL. Alzheimer's disease. **N Engl J Med** 2004; 351: 56.

Diaz-Ruiz C, Wang J, Ksiezak-Reding H, Ho L, Qian X, Humala N, Thomas S, Martinez-Martin P, Pasinetti GM. Role of hypertension in aggravating $\alpha\beta$ neuropathology of AD type and tau-mediated motor impairment. **Cardiovasc Psychiatry Neurol** 2009; 107286

Doble A. The role of excitotoxicity in neurodegenerative disease: implication for therapy. **Pharmacol Ther.** Vol. 81, No.3, 1999; 163-221.

Dubois B, Hampel H, Feldman HH, Scheltens P, Aisen P, Andrieu S, Bakardjian H, Benali H, Bertram L, Blennow K, Broich K, Cavado E, Crutch S, Dartigues JF, Duyckaerts C, Epelbaum S, Frisoni GB, Gauthier S, Genthon R, Gouw AA, Habert MO, Holtzman DM, Kivipelto M, Lista S, Molinuevo JL, O'Bryant SE, Rabinovici GD, Rowe C, Salloway S, Schneider LS, Sperling R, Teichmann M, Carrillo MC,

Cummings J, Jack CR Jr. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. **Alzheimers Dement** 2016; 12(3): 292-323.

Eker E. Alzheimer Hastalığı-Türkiye'de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar. **İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri** 2008; 62: 85-110

Erden B. F. Santral sinir sistemine giriş. 07.08.2018. http://akademikpersonel.kocaeli.edu.tr/berden/ders/berden07.08.2018_12.12.28ders.pdf

Ertekin-Taner N. Genetics of Alzheimer's Disease: A Centennial Review. **Neurol Clin** 2007; 25 (3) :611.

Farag E, Sessler DI, Ebrahim Z, Kurz A, Morgan J, Ahuja S, Maheshwari K, John Doyle D. The renin angiotensin system and the brain: New developments. **J Clin Neurosci** 2017; 46: 1-8.

Fargo K, Bleiler I. 2014 Alzheimer's Disease facts and figures. **Alzheimers Dement** 2014; 10(2): e47-92.

Ferrario CM, Trask AJ, Jessup JA. Advances in biochemical and functional roles of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-(1-7) in regulation of cardiovascular function. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 2005; 289(6): H2281-90.

Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, Ribeiro FM. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. **Curr Neuropharmacol** 2016; 14(1): 101-15.

Ferri CP, Prince M, Brayne C et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. **Lancet** 2005; 366: 2112-7.

Galimberti D, Scarpini E. Progress in Alzheimer's disease. **J Neurol** 2012; 259(2): 201-11.

Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L, Johansson B, Mortimer JA, Berg S, Fiske A, Pedersen NL. Role of Genes and Environments for Explaining Alzheimer Disease. **Arch Gen Psychiatry** 2006; 63 (2): 168-174.

Gerber U, Gee CE, Benquet P. Metabotropic glutamate receptors:intracellular signalling pathways. **Curr Opin Pharmacol** 2007; 7: 56-61.

Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. **Biochem Biophys Res Commun** 1984; 122 (3): 1131-5.

Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, Giuffra L, Haynes A, Irving N, James L, Mant R, Newton P, Rooke K, Roques P, Talbot C, Vance M, Roses A, Williamson R, Rossor M, Owen M, Hardy J. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. **Nature** 1991; 349 (6311): 704–706.

Goedert M, Spillantini MG, Cairns NJ, Crowther RA. Tau proteins of Alzheimer paired helical filaments: abnormal phosphorylation of all six brain isoforms. **Neuron** 1992; 8, 159–168.

Golde TE., 2006: Disease modifying therapy for AD? **J Neurochem** 2006, 99(3): 689707.

Goodman & Gillman Tedavinin Farmakolojik Temeli **Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti** 2009, s: 538-540: 789-800.

Grammas P. Neurovascular dysfunction, inflammation and endothelial activation: Implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Jour of Neuroinf** 2011; 26: 2-12.

Grothe M, Heinsen H, Teipel S. Longitudinal measures of cholinergic forebrain atrophy in the transition from healthy aging to Alzheimer's disease. **Neurobiology of aging** 2013; 34(4): 1210-1220.

Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau in Alzheimer cytoskeletal pathology. **Proc Natl Acad Sci U S A** 1986; 83(13): 4913-7.

Guo Z, Cupples LA, Kurz A, et al. Head injury and the risk of AD in the MIRAGE study. **Neurology** 2000; 54(6): 1316–1323.

Gürvit İH. Sinir Sisteminin Dejeneratif Hastalıkları. Demans Sendromu, Alzheimer Hastalığı ve Alzheimer dışı demanslar. Son güncelleme 12.05.2010 In: Öge AE; eds. Nöroloji. İstanbul: Nobel Matbaacılık; 2004: 367-415.

Hajjar I, Rodgers K. Do angiotensin receptor blockers prevent Alzheimer's disease? *2013; 28(4): 417-425.*

Hanger DP, Lau DH, Phillips EC, Bondulich MK, Guo T, Woodward BW, Pooler AM, Noble W. Intracellular and Extracellular Roles for Tau in Neurodegenerative Disease. *J Alzheimers Dis* 2014; 40 (1): 37-45.

Hardy JA, Higgings GA. Alzheimer's disease:the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992; 256(50-54), 184-185.

Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002; 297(55-80) :353-6.

Hascup KN, Hascup ER. Soluble amyloid- β 42 stimulates glutamate release through activation of the α 7 nicotinic acetylcholine reseptör. *Journal of Alzheimer's Disease* 53 (2016); 337-347

Hatip FFB, Hatip-Al-Khatib I, Matsunaga Y, Suenaga M, Sen N. Effects of 8-Residue Beta Sheet Breaker Peptides on Aged A β 40-Induced Memory Impairment and A β 40 Expression in Rat Brain and Serum Following Intraamygdaloid Injection. *Current Alzheimer Research* 2010; 7, 602-614.

Hellner K, Walther T, Schubert M, Albrecht D. Angiotensin-(1-7) enhances LTP in the hippocampus through the G-protein-coupled receptor Mas. *Mol Cell Neurosci* 2005; 29(3): 427-35.

Hicks DA, Makova NZ, Gough M, Parkin ET, Nalivaeva NN, Turner AJ. The amyloid precursor protein represses expression of acetylcholinesterase in neuronal cell lines. *J Biol Chem.* 2013; 288(36): 26039-51.

Hoey SE, Williams RJ, Perkinson MS. Synaptic NMDA receptor activation stimulates alpha-secretase amyloid precursor protein processing and inhibits amyloid-beta production. *J Neurosci* 2009; 29: 4442-60.

Hooper NM. Roles of proteolysis and lipid rafts in the processing of the amyloid precursor protein and prion protein. *Biochem Soc Trans* 2005; 33(Pt 2): 335-8.

Hrenak J, Paulis L ve Simko F. Angiotensin A/Alamandine/MrgD Axis: Another Clue to Understanding Cardiovascular Pathophysiology. *Int J Mol Sci* 2016; 17(7): 1098.

Hu NW, Nicoll AJ, Zhang D, Mably AJ, O'Malley T, Purro SA, Terry C, Collinge J, Walsh DM, Rowan MJ. mGlu5 receptors and cellular prion protein mediate amyloid- β -facilitated synaptic long-term depression in vivo. *Nature Communications* 2014; | 5:3374.|

Hu NW, Ondrejcek T, Rowan MJ. Glutamate receptors in preclinical research on Alzheimer's disease: Update on recent advances Pharmacology, Biochemistry and Behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 2012; 100(4): 855-62.

Hurst R, Rollema H, Bertrand D. Nicotinic acetylcholine receptors: From basic science to therapeutics. *Pharmacol Ther* 2013; 137(1): 22-54.

Iqbal K. Tau Pathology in Alzheimer Disease and Other Tauopathies. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1739 (2-3): 198-210.

Inoue S, Kuroiwa M, Tan R, Kisilevsky R. A high resolution ultrastructural comparison of isolated and in situ murine, AA amyloid fibrils. **Amyloid** 1998; 5: 99–100

Iwatsubo T, Odaka A, Suzuki N, et al. Visualization of A beta 42(43) and A beta 40 in senile plaques with end-specific A betamonoclonals: evidence that an initially deposited species is A beta42(43). **Neuron** 1994; 13: 45-53.

Jack CJ. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. **Alzheimers Dement** 2016; 12(3): 292–323.

Jiang T, Gao L, Guo J, Lu J, Wang Y, Zhang Y. Suppressing inflammation by inhibiting the NF-Kb pathway contributes to the neuroprotective effect of angiotensin-(17) in rats with permanent cerebral ischaemia. **Br J Pharmacol** 2012; 167: 1520–32.

Jiang T, Gao L, Shi J, Lu J, Wang Y, Zhang Y. Angiotensin-(1-7) modulates renin-angiotensin system associated with reducing oxidative stress and attenuating neuronal apoptosis in the brain of hypertensive rats. **Pharmacol Res** 2013; 67, 84–93.

Jordan J, Galindo MF, Miller RJ, Reardon CA, Getz GS, LaDu MJ. Isoform specific effect of apolipoprotein E on cell survival and b-amyloid-induced toxicity in rat hippocampal pyramidal neuronal cultures. **J Neurosci** 1998; 18: 195–204.

Kabbani N, Nichols RA. Beyond the Channel: Metabotropic Signaling by Nicotinic Receptors. **Trends in Pharmaco Scien** 2018; 39(4), 354–366.

Kim J, Onstead L, Randle S, Price R, Smithson L, Zwizinski C. Abeta40 inhibits amyloid deposition in vivo. **J. Neurosci.** 2007: 27, 627–633.

Kalaria RN, Maestre GE, Arizaga R, Friedland RP, Galasko D, Hall K, Luchsinger JA, Ogunniyi A, Perry EK, Potocnik F, Prince M, Stewart R, Wimo A, Zhang ZX, Antuono P. World Federation of Neurology Dementia Research Group. Alzheimer's disease and vascular dementia in developing countries: prevalence, management, and risk factors. **Lancet Neurol** 2008; 7(9): 812-26.

Kalra J, Prakash A, Kumar P, Majeed ABA. Cerebroprotective effects of RAS inhibitors: Beyond their cardio-renal actions. **J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst** 2015; 16(3): 459–468.

Katzman R, Saitoh T. Advances in Alzheimer's disease. **Faseb J** 1991; 5: 278-86.

Kawas C, Gray S, Brookmeyer FJ, Zonderman A. Age specific incidence rates of Alzheimer's disease: The Baltimore Longitudinal Study. **Neurology** 2000; 54 (11): 2072-2077.

Kayaalp SO. Tibbi Farmakoloji. **Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd**, Ankara. 2005; s:675-677: 959-964.

Kehoe PG. Angiotensins and Alzheimer's disease : a bench to bed side overview **Alzheimers Res Ther** 2009; 1(1): 3.

Kehoe PG, Wong S, Al Mulhim N, Palmer LE, MinersJS. Angiotensin-converting enzyme 2 is reduced in Alzheimer's disease in association with increasing amyloid-beta and tau pathology. **Alzheimers Res Ther** 2016; 8,50.

Kim SH, Fraser PE, Westaway D, St George-Hyslop PH, Ehrlich ME, Gandy S. Group II

metabotropic glutamate receptor stimulation triggers production and release of Alzheimer's amyloid(β)₄₂ from isolated intact nerve terminals. *J Neurosci* 2010; 30: 3870-5

Kim DH, Yeo SH, Park JM, Choi JY, Lee TH, Park SY, Ock MS, Eo J, Kim HS, Cha HJ. Genetic markers for diagnosis and pathogenesis of Alzheimer's disease. *Gene* 2014; 545(2): 185-93.

Kolev MV, Ruseva MM, Harris CL, Morgan BP, Donev RM. Implication of complement system and its regulators in Alzheimer's disease. *Curr Neuropharmacol* 2009; 7(1): 1-8

Kosunen O, Talasniemi S, Lehtovirta M. Relation of coronary atherosclerosis and apolipoprotein E genotypes in Alzheimer's disease. *Stroke* 1995; 26: 743–748.

Kumar A, Dhull DK, Mishra PS. Therapeutic potential of mGluR5 targeting in Alzheimer's disease. *Front Neurosci* 2015; 9: 215.

Kumar A, Singh A. A review on mitochondrial restorative mechanism of antioxidants in Alzheimer's disease and other neurological conditions. *Front Pharmacol* 2015; 6: 206.

Kumar A, Singh A, Ekavali. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol Rep.* 2015; 67(2): 195-203.

Latimer CS, Keene CD, Flanagan ME, Hemmy LS, Lim KO, White LR, Montine KS, Montine TJ. Resistance to Alzheimer Disease Neuropathologic Changes and Apparent Cognitive Resilience in the Nun and Honolulu-Asia Aging Studies. *J Neuropathol Exp Neurol* 2017; 76(6): 458–466.

Lazaroni TLN, Raslan ACS, Fontes WRP, L. de Oliveira M, Bader M, Alenina N, Moraes MFD, Santos RA, Pereira GS. Angiotensin-(1–7)/Mas axis integrity is required for the expression of object recognition memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 2012; 113–123.

Lee HG, Ogawa O, Zhu X, et al. Aberrant expression of metabotropic glutamate receptor 2 in the vulnerable neurons of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 2004;107:365-71.

Lee RK, Jimenez J, Cox AJ, et al. Metabotropic glutamate receptors regulate APP processing in hippocampal neurons and cortical astrocytes derived from fetal rats. *Ann N Y Acad Sci* 1996;777:338-43. C

Lee Y, Ano M, Laskowitz D, Warner DS, Pearlstein RD. Apolipoprotein E protects against oxidative stress in mixed neuronal-glia cell cultures by reducing glutamate toxicity. *Neurochem Int* 2004; 44: 107–118.

Lemche E. Early Life Stress and Epigenetics in Late-onset Alzheimer's Dementia: A Systematic Review. *Curr Genomics* 2018; 19(7): 522–602.

Lewerenz J, Maher P. Chronic Glutamate Toxicity in Neurodegenerative Diseases-What is the evidence? *Front Neurosci* 2015; 9: 469.

Li S, Hong S, Shepardson NE, Walsh DM, Shankar GM, Selkoe D. Soluble oligomers of amyloid Beta protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake. **Neuron** 2009; 62: 788-801.

Lombardo S, Maskos U. Role of nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's Disease pathology and treatment. **Neuropharmacology** 2014; 1-8.

Lopes JP, Oliveira CR, Agostinho P. Cell cycle re-entry in Alzheimer's disease: a major neuropathological characteristic? **Curr Alzheimer Res** 2009; 6(3): 205-12.

Lüscher C, Malenka RC. NMDA receptor-dependent long term potentiation and long term depression (LTP/LTD). **Cold Spring Harb Perspect Biol** 2012; 4(6).

Maccioni RB, Muñoz JP, Barbeito L. The Molecular Bases of Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Disorders. **Arch Med Res** 2001; 32(5): 367-81.

Maltsev AV, Bystryak S, Galzitskaya OV. The role of β -amyloid peptide in neurodegenerative diseases. **Ageing Research Reviews** 2011; 10, 440–452.

Manczak M, Anekonda TS, Henson E, Park BS, Quinn J, Reddy PH. Mitochondria are a direct site of A beta accumulation in Alzheimer's disease neurons: implications for free radical generation and oxidative damage in disease progression. **Hum Mol Genet** 2006; 15(9): 1437-1449.

Mann DM. The neuropathology of Alzheimer's disease: a review with pathogenetic, aetiological and therapeutic considerations. **Mechanisms of ageing and development** 1985; 31(3): 213-255.

Malinow R. New developments on the role of NMDA receptors in Alzheimer's Disease. **Curr Opin Neurobiol** 2012; 22(3): 559-63.

Marrero MB, Papke RL, Bhatti BS, Shaw S, Bencherif M. The neuroprotective effect of 2-(3-pyridyl)-1-azabicyclo[3.2.2]nonane (TC-1698), a novel $\alpha 7$ ligand, is prevented through angiotensin II activation of a tyrosine phosphatase. **J Pharmacol Exp Ther** 2004; 309(1): 16-27.

Mascolo A, Sessa M, Scavone C, De Angelis A, Vitale C, Berrino L, Rossi F, Rosano G, Capuano A. New and old roles of the peripheral and brain renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS): Focus on cardiovascular and neurological diseases. **Int J Cardiol.** 2017; 227: 734-742.

Mcgaugh JI, Cahill L, Roozendaal B. Involvement of the amygdala in memory storage: Interaction with other brain systems. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 1996;. Vol. 93, pp. 13508–13514, November 1996

Mentz RJ, Bakris GL, Waeber B, McMurray JJ, Gheorghide M, Ruilope LM, Maggioni AP, Swedberg K, Pina IL, Fiuzat M, et al. The past, present and future of renin-angiotensin aldosterone system inhibition. **Int J Cardio.** 2013; 167, 1677–1687.

Moldakarimov SB, Sejnowski TJ. Neural Computation Theories of Learning. In: Byrne JH. (Eds). Learning and Memory: A Comprehensive Reference, Second Edition, 2017, 579–589.

Morris M, Maeda S, Vossel K, Mucke L. The many faces of tau. **Neuron** 2011; 70(3): 410-426.

Mota SI, Ferreira IL, Rego AC. Dysfunctional synapse in Alzheimer's on NMDA receptors. **Neuropharmacology** 2014; 76 Pt A: 16-26.

Murakami T, Paitel E, Kawarabayashi T, Ikeda M, Chishti MA, Janus C, Matsubara E, Sasaki A, Kawarai T, Phinney AL, Harigaya Y, Horne P, Egashira N, Mishima K, Hanna A, Yang J, Iwasaki K, Takahashi M, Fujiwara M, Ishiguro K, Bergeron C, Carlson GA, Abe K, Westaway D, St George-Hyslop P, Shoji M. Cortical Neuronal and Glial Pathology in TgTau^{P301L} Transgenic Mice : Neuronal Degeneration, Memory Disturbance, and Phenotypic Variation. **Am J Pathol** 2006; 169(4): 1365-75.

Nelson L, Gard P, Tabet N. Hypertension and Inflammation in Alzheimer's Disease: Close Partners in Disease Development and Progression. **J Alzheimers Dis** 2014; 41 (2): 331-343.

Ohru T, Tomita N, Sato-Nakagawa T, Matsui T, Maruyama M, Niwa K, Arai H, Sasaki H Effects of brain-penetrating ACE inhibitors on Alzheimer disease progression. **Neurology** 63, 2004; 1324-1325.

Özkay ÜD, Öztürk Y, Can ÖD. Yaşlanan dünyanın hastalığı: Alzheimer hastalığı. **S.D.Ü. Tıp Fak. Derg** 2011; 18(1): 35-42.

Özlen F ;Tarih dergisi, ocak 2019:sayı 56, syf:41-45.

Öztürk GB, Karan MA. Alzheimer Hastalığının Fizyopatolojisi-istanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri B.D, **Klinik Gelişim** 2009; 22(3), 36-45.

Parihar MS, Hemnani T. Alzheimer's disease pathogenesis and therapeutic interventions. **J Clin Neurosci** 2004; 11(5): 456-67.

Park S, Kim DK, Myung W, Yoo JH, Shin SJ, Na DL, Kim SY, Lee JH, Kim SY, Han SH, Choi SH, Shin J. Risk Factors of Behavioral and Psychological Symptoms in Patients with Alzheimer Disease: The Clinical Research of Dementia of South Korea Study. **Korean J Fam Med** 2019; 40(1): 16-21.

Pitkänen A, Pikkarainen M, Nurminen N, Ylinen A. Reciprocal connection between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat: A review. **Annals of the New York Academy of Sciences**. 2000; 911(1):369-391

Pratico D, Sung S. Lipid peroxidation and oxidative imbalance: Early functional events in Alzheimer's disease. **J Alzheimers Dis** 2004; 6(2): 171-175.

Pooler AM, Noble W, Hanger DP. A role for tau at the synapse in Alzheimer's disease pathogenesis. **Neuropharmacology** 2014; 76 Pt A: 1-8.

Renner M, Lacor PN, Velasco PT, Xu J, Contractor A, Klein WL, Triller A. Deleterious Effects of Amyloid β Oligomers Acting as an Extracellular Scaffold for mGluR5. **Neuron**. 2010; 66(5): 739–754.

Revett TJ, Baker GB, Jhamandas J . Glutamate system, amyloid peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. **J Psychiatry Neurosci** 2013;38(1):6-23.

Riedel G, Casabona G, Platt B, Macphail EM, Nicoletti F (2000) Fear conditioning-induced time- and subregion-specific increase in expression of mGlu5 receptor protein in rat hippocampus. **Neuropharmacology** 2000;39: 1943–1951.

Rodrigues SM, Bauer EP, Farb CR, Schafe GE, LeDoux JE. The Group I Metabotropic Glutamate Receptor mGluR5 Is Required for Fear Memory Formation and Long-Term Potentiation in the Lateral Amygdala. **The Journal of Neuroscience** 2002; 22(12): 5219–5229

Sá F, Pinto P, Cunha C, Lemos R, Letra L, Simões M, Santana I. Differences between Early and Late-Onset **Alzheimer's Disease** in Neuropsychological Tests. **Front Neurol** 2012; 3: 81.

Sadigh-Eteghad S, Talebi M, Farhoudi M, Golzari SEJ, Sabermarouf B, Mahmoudi J. Beta-amyloid exhibits antagonistic effects on alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors in orchestrated manner. **Journal of Medical Hypotheses and Ideas** 2014; 8, 49–52.

Schools GP, Kimelberg HK. mGluR3 and mGluR5 are the predominant metabotropic glutamate receptor mRNAs expressed in hippocampal astrocytes acutely isolated from young rats. **J Neurosci Res** 1999; 58: 533-43.

Seleker K, Topçuoğlu E. Alzheimer Hastalığı. **Geriatrici** 1998; 1 (2): 63–67.

Selkoe DJ. The molecular pathology of Alzheimer's disease. **Neuron** 1991;6 (4):487-498.

Selkoe DJ. Biochemistry and Molecular biology of amyloid- β -protein and the mechanism of Alzheimer's disease. **Handbook of Clinical Neurology** 2008; 89(3), 245-260.

Sery O, Povová J, Míšek I, Pešák L, Janout V. Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: a review. **Folia Neuropathol** 2013; 51(1):1-9.

Sink KM, Leng X, Williamson J, Kritchevsky SB, Yaffe K, Kuller L, Yasar S, Atkinson H, Robbins M, Psaty B, Goff Jr DC. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and cognitive decline in older adults with hypertension: Results from the cardiovascular health study. **Arch Intern Med** 169 2009; 1195-1202.

Shaw S, Bencherif M, Marrero MB. Angiotensin II blocks nicotine-mediated neuroprotection against beta-amyloid (1-42) via activation of the tyrosine phosphatase SHP-1. **J Neurosci** 2003;23(35):11224-8.

Sheldon AL, Robinson MB. The Role of Glutamate Transporters in Neurodegenerative Disease and Potential Opportunities for Intervention. **Neurochem Int** 2007; 51(6-7):333-355.

Simões e Silva AC, Silveira KD, Ferreira AJ, Teixeira MM. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. **Br J Pharmacol** 2013; 169: 477–92.

Sokolow S, Luu SH, Nandy K, Miller CA, Vinters HV, Poon WW, Gyls KH. Preferential accumulation of amyloid- β in presynaptic glutamatergic terminals (VGluT1 and VGluT2) in Alzheimer's disease cortex. **Neurobiol Dis.** 2012;45(1):381-7.
Talita H. Ferreira-Vieira, Isabella M. Guimaraes, Flavia R. Silva, and Fabiola M. Ribeiro Alzheimer's Disease: Targeting the Cholinergic System. **Curr Neuropharmacol** 2016; 14(1): 101–115.

Talwar P, Sinha J, Grover S, Rawat C, Kushwaha S, Agarwal R, Taneja V, Kukreti R. Dissecting Complex and Multifactorial Nature of Alzheimer's Disease Pathogenesis: a Clinical, Genomic, and Systems Biology Perspective. *Mol Neurobiol* 2016; 53(7): 4833-64.

Tampellini D, Rahman N, Gallo EF, Huang Z, Dumont M, Capetillo-Zarate E, et al. Synaptic activity reduces intraneuronal Abeta, promotes APP transport to synapses, and protects against Abeta-related synaptic alterations. *J Neurosci* 2009; 29: 9704–13.

Tanzi RE, Bird ED, Latt SA, Neve RL. The amyloid beta protein gene is not duplicated in brains from patients with Alzheimer's disease. *Science* 1987; 238(4827): 666-9.

Thordardottir S, Kinhult Ståhlbom A, Almkvist O, Thonberg H, Eriksdotter M, Zetterberg H, Blennow K, Graff C. The effects of different familial Alzheimer's disease mutations on APP processing in vivo. *Alzheimers Res Ther* 2017; 9(1): 9.

Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner AJ. "A human homolog of angiotensin-converting enzyme: cloning and functional expression as a captoprilin sensitive carboxypeptidase," *Journal of Biological Chemistry*, 2000: vol. 275, no. 43, pp. 33238–33243.

Touqeer A, Saadia Z, Aamra M, Syeda MF. Cholinergic System and Post-translational Modifications: An Insight on the Role in Alzheimer's Disease. *Current Neuropharmacology* 2017; 15: 480-494.

Traynelis SF, Wollmuth LP, McBain CJ, Menniti FS, Vance KM, Ogden KK, Hansen KB, Yuan H, Myers SJ, Dingledine R. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. *Pharmacol Rev* 2010; 62(3): 405-96.

Turner PR, O'Conner K, Tate WP, Abraham WL. Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory. *Prog Neurobiol* 2003; 70: 1–32.

Türkiye İstatistik Kurumu, istatistiklerle yaşlılar 2018 raporu.

Türk Nöroloji Derneği – Alzheimer Hastalığı
<https://www.noroloji.org.tr/menu/94/alzheimer-hastaligi>

Tyas SL. Alcohol use and the risk of developing Alzheimer's disease. *Alcohol Res Health* 2001; 25 (4): 299–306.

Uekawa K, Hasegawa Y, Senju S, Nakagata N, Ma M, Nakagawa T, Koibuchi N, Kim-Mitsuyama S. Intracerebroventricular Infusion of Angiotensin-(1-7) Ameliorates Cognitive Impairment and Memory Dysfunction in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 2016; 53(1):127-33.

WHO and Alzheimer's Disease International. Dementia a public health priority. *WHO headquarters*, 2012.

Wiseman FK, Al-Janabi T, Hardy J, Karmiloff-Smith A, Nizetic D, Tybulewicz VL, Fisher EM, Strydom A. A genetic cause of Alzheimer disease: mechanistic insights from Down syndrome. *Nat Rev Neurosci* 2015; 16(9): 564-74.

Wei W, Nguyen LN, Kessels HW, Hagiwara H, Sisodia S, Malinow R. Amyloid beta from axons and dendrites reduces local spine number and plasticity. **Nat Neurosci** 2010; 13: 190–6.

Woolf NJ. Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. **Prog Neurobiol** 1991; 37(6): 475-524.

Woolf NJ, Butcher LL. Cholinergic systems mediate action from movement to higher consciousness. **Behav Brain Res** 2011; 221(2): 488–498.

World Alzheimer Report, 2018.

Wright JW, Kawas LH, Harding JW. The role of the brain ras in AD and parkinsons diseases. **Front Endocrinol (Lausanne)** 2013; 4: 158.

Virchow R. Zur cellulosefrage 1854.

Xing Y, Jia JP, Ji XJ, Tian T. Estrogen associated gene polymorphisms and their interactions in the progress of Alzheimer's disease. **Prog Neurobiol** 2013; 111: 53-74.

Xu P, Sriramula S, Lazartigues E. ACE2/ANG-(1-7)/Maspathway in the brain: the axis of good. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. 2011;300(4):R804-17.

Yang RF, Yin JX, Li YL, Zimmerman MC, Schultz HD. Angiotensin-(1–7) increases neuronal potassium current via a nitric oxide-dependent mechanism. **Am J Physiol Cell Physiol** 2011; 300(1): C58–64.

8. ÖZGEÇMİŞ

07. 08. 1982 tarihinde Denizli'de dünyaya gelen Aslı BEK ilköğrenimini Hürriyet İlkokulu'nda, orta öğrenimini Atatürk Ortaokulu'nda, lise öğrenimini ise Denizli Lisesi'nde tamamlamıştır. 2007 yılında Ankara Eczacılık Fakültesi'nden mezun olmuştur. 2015 yılında halen eğitimine devam ettiği Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ABD'ye kabul edilmiştir. Denizli ili, Merkezefendi ilçesinde bulunan Aslı Eczanesi'nin sahibi ve meshul müdürüdür. Evli ve 2 çocuk annesidir.

