

T.C.
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı

**HİPERKOLESTEROLEMİ OLUŞTURULAN RATLARDA
HMGCoA REDÜKTAZ İNHİBİTÖRÜ İLAÇLARLA
(STATİNLER) TEDAVİNİN HİPOKAMPAL NMDA
RESEPTÖRÜ SUBUNITLERİNE ETKİSİ**

DR. ONUR AKTÜRK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. İRFAN ALTUNTAŞ**

2006-İSPARTA

1. GİRİŞ

İnsanda eritrositler dışında bütün hücreler tarafından sentezlenebilen kolesterol, tüm vücutta olduğu gibi Merkezi Sinir Sistemi'nde (MSS) de pek çok yapısal ve fonksiyonel işlevi yerine getirir. Beyin, insan vücudunda kolesterol açısından en zengin organdır (1). Nöronlar ve glial hücreler kolesterol içermelerine rağmen, MSS'deki en büyük kolesterol havuzu miyelin yapısında bulunur. Beyindeki hücrelerin de yaklaşık %90'ını glial hücreler oluşturduğu için nöronlar beyindeki total kolesterolün ancak küçük bir kısmını kapsarlar (2). Nöronlardaki bu kolesterolün %50-90'ı hücre membranında (3) lipit kümeleri adı verilen deterjana dirençli mikroalanlarda yoğunlaşmıştır. Bu alanlar sfingomyelin ve glikosfingolipitler yönünden de zengindir.

Beyin hücreleri için gerekli kolesterolün büyük çoğunluğu hücrelerde de novo sentezle sağlanır (4,5,6). Kan beyin bariyeri, plazmada lipoprotein yapısı içinde bulunan kolesterolün MSS'ye geçişini sınırlar ancak yine de az miktarda kolesterolün bu yolla geçebileceği düşünülmektedir. Plazma lipoproteinlerinin beyine girmesindeki sınırlamaya ek olarak kan beyin bariyeri, MSS'den kolesterol çıkışını da engeller. Gereğinden fazla kolesterolün beyinden çıkarılmasında en önemli mekanizma kolesterol 24-hidroksilaz aracılığıyla 24-hidroksikolesterole çevrimdir (7,8). Kolesterolün bu hidroksillenmiş türevi kan beyin bariyerini daha kolay geçebilir.

MSS'nin kolesterol dengesinin bozulması serebrovasküler patolojiler yanında nörodejeneratif bozukluklara da yol açabilmektedir. Bu bozukluklar arasında özellikle ileri yaşlardaki bireylerde sıklığı %32'ye kadar varabilen (9) ve ilerleyici kognitif gerilemeyle karakterize olan Alzheimer Hastalığı'nın (AH) plazma veya beyin kolesterol düzeyleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kivipelto ve arkadaşları 2002 yılında yayınlanan prospektif çalışmalarında, orta yaşlı bireylerde plazma kolesterol seviyesi yüksekliğinin, AH için bağımsız bir risk faktörü olduğunu öne sürmüşlerdir (10). Fakat Framingham çalışmasının verileri plazma kolesterol düzeyinin, AH gelişme riskiyle ilişkili olmadığını göstermektedir (11). Ayrıca ilerleyen yaşla birlikte beyin kolesterol içeriği azaldığı (12) ve AH olan bireylerde bu

azalmanın daha fazla olduğu belirtilmektedir.(13). Bunlara ek olarak AH transgenik fare modellerinde, yüksek kolesterol içeren diyetle beslemenin, beyindeki kolesterol seviyesini yükselttiği gibi, (14) β -amiloid birikimini de artırdığı gösterilmiştir (15,16).

AH ile kolesterol ilişkisi tam olarak ortaya konamamasına rağmen, retrospektif epidemiyolojik çalışmalarda kolesterol düşürücü ilaçlar olan statinlerin AH insidansında azalma sağlayabileceği belirtilmektedir (17,18). Statinler kolesterol sentezini inhibe eden ve hiperkolesterolemi tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Günümüzde bu ajanların AH tedavisi için kullanılmaları tartışılmaktadır. Geriye dönük epidemiyolojik çalışmalarda hiperkolesterolemi tedavisi için statin kullanılmasının AH riskini % 40-70 azalttığı gösterilmiştir (17,18). Bunun yanında statinlerin lipit düşürücü etkilerinden bağımsız olarak nöroprotektif etkiler oluşturabileceği de düşünülmektedir. Statinlerin AH tedavisindeki etkinliği tam olarak kanıtlanamamıştır. AH ve diğer nörodejeneratif hastalıklar üzerine etkileri ve bunların muhtemel mekanizmalarının anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara gerek duyulmaktadır.

İyonotropik glutamat reseptörleri olan N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin öğrenme ve bellek oluşumuna aracılık ettikleri, ayrıca demans ve AH patogeneziyle ilişkilerinin olduğu belirtilmektedir (19). Çeşitli veriler NMDA reseptörlerinin AH etyopatogenezinde rol oynayabileceğini ve ayrıca hastalık progresyonu sırasında etkilenen beyin bölgelerinde reseptör düzeyi ve aktivitesinin değişebileceğini düşündürmektedir. AH'nın oluşumuyla ilgili etyolojik mekanizmalar henüz açık değildir ve uygulanan tedaviler hastalığı ortadan kaldıramayıp ancak semptomların gerilemesini sağlamaktadır. Yakın zamanda AH için tedavi seçeneği olarak tartışılmaya başlayan statin grubu ilaçların da, belirtilen nöroprotektif etkilerinin ve Alzheimer hastalığında oluşturdukları potansiyel faydalı etkilerin mekanizması açık değildir.

Biz çalışmamızda; ratlarda oluşturulan hiperkolesteroleminin NMDA reseptör subunit düzeylerine etkisini ve lipofilik yapılı olduğu için kan beyin bariyerini geçebileceği düşünülen Simvastatin uygulamasının, MSS'deki muhtemel nöroprotektif etkilerinin NMDA reseptör subunitleriyle ilişkili olup olmadığını araştırmayı amaçladık

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Merkezi Sinir Sisteminde Kolesterol Sentezi ve Döngüsü

Kolesterol nöronal membranlar ve miyelinin ana lipit bileşenidir (20). Beynin kolesterol içeriği, diğer dokulara kıyasla oldukça fazla miktardadır. Memelilerde beyin toplam vücut kitlesinin %10'undan daha azını oluştururken, toplam vücut kolesterolünün %25'i beyinde bulunmaktadır. Memelilerin büyük çoğunluğunda, vücut toplam kolesterol havuzu yaklaşık 2200 mg/kg olarak ölçülmüştür. Buna göre taze dokulardaki kolesterol konsantrasyonu yaklaşık 2.2g/kg iken (2), beyindeki kolesterol konsantrasyonu bundan çok daha yüksek,15-20 g/kg arasındadır (2).

Beyindeki kolesterolün ağırlıklı formunu esterleşmemiş kolesterol teşkil eder, ayrıca küçük miktarlarda desmosterol ve kolesterol esterleri bulunur. Nöronlar ve glia hücreleri de kolesterol içermelerine rağmen, MSS'deki en büyük kolesterol havuzu miyelin yapısında bulunur. Yetişkin beyindeki kolesterolün yaklaşık %70-80'inin miyelin bünyesinde bulunduğu tahmin edilmektedir. Sonuç olarak beyindeki hücrelerin de yaklaşık %90'ını glial hücreler oluşturduğu için nöronlar beyindeki total kolesterolün ancak küçük bir kısmını kapsarlar (2). Hücrelerdeki kolesterolün %50-90'ı hücre membranında (3) lipit kümeleri adı verilen deterjana dirençli mikroalanlarda yoğunlaşmıştır. Bu alanlar sfingomyelin ve glikosfingolipitler yönünden de zengindir.

Dietschy ve Turley, doğumu takip eden birkaç hafta içinde, fare beyindeki kolesterol havuzunun 1.5 mg dan 10.6 mg'a dramatik olarak yükseldiğini saptamışlardır. Benzer şekilde insanlarda da doğumda yaklaşık 6 mg/g olan beyin kolesterol konsantrasyonu genç yetişkinde 23 mg/g'a yükselmektedir (2). MSS'deki kolesterol sentezinin en güvenilir tahminleri ³H veya ²H işaretli su moleküllerinin kolesterolle birleşimlerinin ölçümüne dayanmaktadır. MSS'de kolesterol sentezinin en hızlı olduğu zaman, doğumun hemen ardından başlayan aktif miyelinizasyon sürecidir. Yetişkinlerde miyelinizasyon tamamlandığında, kolesterol sentezi düşer ve muhtemelen primer olarak nöronlar ve glial hücrelerin üretimini yansıtır (2,4). Bu veriler yaşamın erken evrelerinde ortaya çıkan yüksek düzeydeki kolesterol

sentezinin, oligodendrositler tarafından miyelin üretimi için gerekli olduğunu göstermektedir.

Beyin hücreleri için en önemli kolesterol kaynağı de novo sentezdir, (4,5,6) ayrıca beyin dışından gelen, kolesterol içeren lipoproteinlerde kaynaklık edebilirler. Kan beyin bariyeri küçük serebral damarlar tarafından oluşturulan ve MSS ile plazma arasında madde alışverişini düzenleyen fiziksel ve metabolik bir bariyerdir (21) ve pek çok molekül gibi lipoproteinlerin de MSS'ye girişini sınırlamaktadır. Ancak fetal çağdan yetişkinliğe kadar yaşamın bütün aşamalarında beyine kan beyin bariyeri yoluyla az miktarda sterol girişi olduğu düşünülmektedir (22). Kolesterol esterlerini içeren LDL lipoproteinler, LDL reseptörü veya ilişkili reseptörler aracılığıyla endositozla hücrelere alınırlar. Ek olarak kolesterol esterleri HDL'lerden lipitlerin Scavenger Receptor-B1 (SR-B1) çöpçü reseptörleriyle seçici olarak alınması yoluyla aktarılabilir (23). Ancak MSS ile plazmanın kan beyin bariyeri ile ayrılmış olması sebebiyle, MSS'deki kolesterol metabolizması diğer dokulardan farklıdır. Pek çok çalışmada beyin ve omuriliğin gelişimi için gereken kolesterolün neredeyse tamamının MSS'de endojen olarak sentezlendiği gösterilmiştir (24,25).

Ne fetal nede postnatal gelişim sürecinde plazmada taşınmakta olan HDL veya LDL kolesterolün kan beyin bariyerini geçerek MSS'ye taşındığını gösteren ikna edici kanıtlar gösterilememiştir (26). Başka bulgularda bu sonucu desteklemektedir. Örneğin fare ve tavşan beyinlerindeki LDL reseptörlerinin eliminasyonunun ardından, beyindeki kolesterol sentez düzeyi veya kolesterol konsantrasyonunun değişmediği görülmüştür (27,28). Benzer şekilde ABCG5/G8 intestinal sterol taşıyıcılarında yetersizlik olan insan ve farelerde, bitkisel steroller plazmada birikirken, bu sterollerin sadece çok az bir kısmı MSS de bulunmuştur (29,30). Ayrıca kolesterol dengesiyle ilgili reseptörler olan SR-B1 ve ABCA-1'i eksprese eden genlerin dağılımının fare beyinde kolesterol içeriğini ve kolesterol sentez oranını etkilemediği gösterilmiştir (31). Bunlar beraberce düşünüldüğünde, plazma lipoproteinlerinin kan beyin bariyerini geçişinin sınırlı olduğu ve MSS'ye anlamlı miktarda kolesterol taşınmadığı sonucuna varılır. Buna karşın yakın zamanda yapılan bir kan beyin bariyeri modeli çalışmasında, serebrovasküler hücrelerin lipoproteinlerden kolesterol esterlerini seçici olarak aldığı gösterilmiştir (32,33).

Plazma lipoproteinlerinin beyine girmesindeki sınırlamaya ek olarak, kan beyin bariyeri, MSS'den kolesterolün dışarı çıkmasını da engeller. Kolesterol, rat beyinde 4-6 haftalık uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir. Fakat MSS'deki kolesterol sentezi, kolesterol dengesinin gerektirdiği miktarı aştığında, MSS'den plazmaya net kolesterol çıkışı olur.

Kolesterolün beyinden çıkarılmasında en önemli mekanizma kolesterol 24-hidroksilaz aracılığıyla 24-hidroksikolesterole çevrimdir (34,35). Kolesterol 24-hidroksilaz, insan beyindeki kolesterolün büyük çoğunluğunun okside formdaki metaboliti olan 24-hidroksikolesterole çevrilmesinden sorumlu olan hız kısıtlayıcı enzimdir. 24-hidroksikolesterol miyelin yapısında kolesterolle birlikte bulunur. Kolesterol 24-hidroksilaz aktivitesi fare beyinde miyelinizasyon tamamlanincaya kadar en yüksek düzeyde eksprese edilmez. Kolesterol 24-hidroksilaz enzimi beyinde sınırlı bölgelerde, özellikle de nöronlarda yoğunlaşmıştır ve fare serebellumundaki aktivitesi adrenaller dışındaki tüm dokulardan yaklaşık 100 kat daha fazladır (36). MSS'de küçük miktarda 27-hidroksikolesterol de saptanabilir, ancak beyinde yalnız eser miktarda 27-hidroksilaz aktivitesi olduğu için bu sterolün plazmadan geçtiği düşünülmektedir.

Kolesterol yan zincirinin hidrosillenmesi, onun çift katmanlı lipit tabakalarından çok daha hızlı taşınabilmesini sağlar ve beyin kolesterol dengesinin korunmasında kritik rol oynar (37,38). Yinede bu oksisterollerin kan beyin bariyerini geçme mekanizmaları tamamen anlaşılammıştır. Bjorkhem ve arkadaşlarının tahminlerine göre her gün 6 mg 24-hidroksikolesterol insan beyinden plazmaya akmaktadır (39). Dolaşıma giren 24-hidroksikolesterol karaciğer tarafından alınır ve safra yoluyla atılır.

Kolesterol yıkımına aracılık etmelerine ek olarak, oksisteroller; geniş bir biyolojik etki spektrumuna sahip güçlü düzenleyici moleküllerdir ve kolesterol dengesiyle ilgili anahtar proteinlerin aktivitelerini de düzenlerler(40).

2.2. Kolesterol İçeren Lipoproteinlerin Sinir Sistemindeki Rollerini

Lipoproteinlerin yapısında bulunan kolesterol taşınmasıyla ilişkili proteinler beyinde de bulunurlar ve bunların hucrerler arasında kolesterol taşınmasıyla alakalı oldukları düşünülmektedir. Örneğini LDL reseptör ailesinin bazı üyeleri (LDL reseptörleri, LDL reseptör ilişkili proteinler, ApoER2 reseptörü) ve ayrıca apolipoprotein E, A1, D ve J MSS'de eksprese edilirler (41,42). Plazmadan kan beyin bariyeriyle ayrı olan beyin omurilik sıvısında plazmadan farklı lipoproteinler de bulunur (43,44,45,46).

MSS'nin majör lipoproteinini ApoE dir, ancak ApoJ de bol miktarda bulunur (47). Deneysel kanıtlar ApoE'nin sinir sisteminin kolesterol metabolizmasında merkezi role sahip olduğunu göstermektedir. ApoE beyinde esas olarak glial hucrerlerde ve az miktarda da nöronlardan sentezlenir (48). MSS de ApoE ve ApoJ dansite ve büyüklük bakımlarından plazma HDL'lerine benzeyen lipoprotein partikülleri içerisinde bulunurlar (43,44,45,46). ApoE içeren lipoproteinler, bu lipoproteinlerin alınmasını düzenleyen, LDL reseptör ailesinden olan hucrer yüzey reseptörlerine bağlanmaya yönelirler. Rothe ve Muller ApoE içeren lipoproteinlerin Schwann hucrerleri ve kültüre edilmiş dorsal kök ganglion nöronları tarafından alındığını göstermişlerdir(49). Ayrıca kültüre edilen rat sempatik nöronları distal aksonlarının, insan HDL ve LDL'lerinin lipit ve protein komponentlerini alarak bu molekülleri hucrer gövdesine taşıdıkları gösterilmiştir (50). Önemli bir bulgu da bazı lipoprotein reseptörlerinin kolesterol alımındaki rollerine ek olarak başka işlevler de yapıyor olmalarıdır. Örneğini, Herz ve arkadaşları bu reseptörlerden birkaçının ApoE içeren lipoproteine bağlanarak, nöronlar içinde önemli uyarı yollarını başlattıklarını göstermişlerdir (51). Bu uyarı yollarının sinir sisteminin gelişimi sırasında özel bir öneme sahip olduğu düşünülmektedir (52,53).

İnsanlarda ApoE'nin sık görülen üç alleli vardır; ApoE2, E3, E4. ApoE3 en sık eksprese edilen ApoE allelidir. ApoE2 ve E4 proteinleri, Apo E3'den sadece tek bir aminoasit farklıdır. ApoE3 112. pozisyonda sistein ve 158. pozisyonda arjinin kalıntısı içerirken; ApoE2 de bu iki pozisyonda sistein, ApoE4'de ise bu pozisyonlarda arjinin bulunur (54). ApoE'nin sinir sisteminde anahtar rol oynadığına dair kanıtlar bulunmaktadır. ApoE4 allelinin kalıtımı geç yerleşimli Alzheimer

hastalığı için bilinen en güçlü risk faktörüdür (55,56). MSS veya periferik sinir sistemi hasarının ardından glial hücrelerden ApoE sentezi dramatik olarak artarak bazal değerin 150 katına kadar yükselir ki, bu da ApoE'nin onarım için gerekli olduğunu ortaya koyar (57,58). Ayrıca ApoE geni çıkarılan farelerde hasarlı beyinden dejenere olmuş sinirlerin temizlenmesi bozulur (59). Pek çok çalışma grubunun raporlarında nöronal hücre dizelerinde, ApoE3 aksonal büyüme uyarırken ApoE4'ün inhibe ettiği belirtilmektedir (60,61). Ancak ApoE allellerinin aksonal büyüme farklı yönlerde nasıl etkiledikleri henüz anlaşılabilir değildir.

Sempatik nöronların hücre gövdesi ve akson proksimalinde kolesterol sentezlenirken, akson distalinde sentezlenmediği belirtilmektedir (62). Ancak hücre gövdesinde sentezlenen kolesterolün akson distaline etkin şekilde taşındığı gösterilmiştir(63). Sempatik nöronlara pravastatin uygulanarak kolesterol biyosentezi inhibe edilip ek olarak dışarıdan lipit desteği kaldırıldığında, aksonal büyüme oranı yaklaşık %50 azalmıştır (63). Pravastatin uygulanan bu nöronların hücre gövdesi veya aksonlarına kolesterol desteği sağlandığında aksonal uzama oranlarının normale döndüğü saptanmıştır. Benzer şekilde bu nöronların hücre gövdesi ve akson proksimaline insan LDL ve HDL'leri uygulandığında da aksonal uzama normal düzeyde olmuştur. LDL'ler sadece distal aksone verildiğinde de uzama normal düzeyde olmuş ancak distal aksone HDL uygulaması aksonal büyüme düzeltmemiştir (63,64). Bu veriler göstermektedir ki; endojen kolesterol sentezi yetersiz olduğunda ekzojen kolesterol lipoproteinler şeklinde alınıp, hücre gövdesi ve aksone taşınabilir, aksonal büyüme ve onarım için kullanılabilir. Ayrıca lipoproteinlerin akson bölümleri ve hücre gövdesinde farklı düzeylerde alınması, bu bölgelerde ekspres edilen lipoprotein reseptör spektrumunun birbirinden farklı olduğunu gösterir (64).

Glial lipoproteinler, MSS'de kolesterol ve ApoE'nin önemli bir fizyolojik kaynağı olarak düşünülürler. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda glial hücrelerce sentezlenen lipoproteinlerin MSS nöronlarında aksonal büyüme uyardıkları saptanmıştır (65). Ayrıca tek başına kolesterol veya ApoE'nin etkin olmayıp, ancak glial lipoproteinler içinde birlikte aksonal büyüme artırdıkları belirtilmektedir. Ancak şu henüz açık değildir ki; maksimum aksonal büyüme için lipoproteinlerin

nöronlar tarafından alınması mı gereklidir, yoksa akson büyümesi ApoE içeren lipoproteinlerce indüklenen uyarı yolları tarafından mı artırılır.

Glial lipoproteinlerin aksonal büyümede üstlendikleri role ek olarak, sıçan retinal ganglion nöronlarında sinaps oluşumunu uyardıkları da gösterilmiştir (66). Ayrıca kolesterol, aksonları saran hücre membranının geçirgenlik karakteristiğini değiştirebileceği için, nöronlarda aksiyon potansiyeli oluşumunda rolü olabileceği de düşünülmektedir (2)

2.3. Alzheimer Hastalığı ve Kolesterol

2.3.1. AH

AH, ileri yaşlarda kognitif bozulma ve hafızanın yitilmesiyle kendini gösteren ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır (67). Hastalarda zamanla şiddetli kognitif ve fiziksel yetersizlik meydana gelmektedir. AH, hafıza ve konsantrasyon kaybı, entelektüel bozulma, bozulmuş dikkat ve dil becerisi, apraksi, konfüzyon, duygu durum değişiklikleri, zaman ve yer disorientasyonu ile karakterizedir. Entellektüel fonksiyonlardaki bozulma, Alzheimer hastalarını günlük işlerini yapamaz ve yakın aile bireyleri ile iletişim kuramaz hatta onları tanıyamaz hale getirir. Bu da, Alzheimer hastalarını bütünüyle başkalarına bağımlı kılmaktadır. Alzheimer hastalığının semptomları demansın diğer formlarına benzerdir. Fakat burada, nöronal kayba ek olarak korteks ve hipokampüste bulunan, Alzheimer hastalığının spesifik mikroskobik beyin lezyonları olarak bilinen senil plaklar ve nörofibriler yumakların varlığı ile karakterize nöropatolojik bulgular da mevcuttur (68,69,70) Alzheimer'lı beyinlerde ayrıca neokorteks, hipokampus ve subkortikal bölgelerde sinaps ve nöron kaybı da görülür. Daha önce belirttiğimiz gibi, ApoE4 allelinin varlığı geç gelişimli AH için en güçlü genetik risk faktörüdür (55,56).

Yaşa bağlı hafıza zayıflığı 65 yaş üstü kişilerin % 40'ını etkileyen bir durumdur. Orta şiddette kognitif bozulmaları olan yaşlı insanların günlük yaşamlarını sürdürebilme yeteneklerinde dramatik bir bozulma olmaz. Bununla

beraber bu durum sıklıkla gelecekteki bir nörodejeneratif hastalığın (AH gibi) belirtisi olabilir (71).

Alzheimer hastalığının tedavisinde amiloid β ($A\beta$) depozitlerinin oluşmasının önlenmesi tedavinin ana hedeflerinden biridir. Hastalığın hangi aşamasında olursa olsun, canlı kalan nöronların korunması çok önemlidir. Kolinesteraz inhibitörleri, NMDA reseptör antagonistleri, antioksidan etkili ilaçlar, antiinflamatuvar ilaçlar, hormon replasman tedavisi, immunoterapi halen günümüzde kullanılmakta olan tedavi protokolleridir (68,69,70).

2.3.2. AH ile Plazma ve Beyin Kolesterol İçerikleri Arasındaki İlişki:

Çalışmaların çoğunda, beyin kolesterol içeriğindeki artışla AH gelişim riski yükselmesinin ilişkili olduğunun bildirilmesine karşın, bütün sonuçlar bu görüşü desteklememektedir. Ayrıca plazma kolesterol düzeyleriyle AH gelişimi arasındaki ilişkiyi değerlendiren epidemiyolojik çalışmaların sonuçları da tartışmalıdır (10,67).

Kivipelto ve arkadaşları 2002 yılında yayınlanan prospektif çalışmalarında, plazma kolesterol seviyesi yüksekliğinin, AH için bağımsız bir risk faktörü olduğunu öne sürmüşlerdir (10). Bazı çalışmalarda Alzheimer hastalarında total kolesterolün ve HDL'nin kontrole göre düştüğü (72,73), bazılarında ise kolesterol ve LDL'nin yükseldiği belirtilmektedir (74,75). Fakat Framingham çalışmasının verileri plazma kolesterol düzeyinin, AH gelişme riskiyle ilişkili olmadığını göstermektedir (11). Bu tartışmalı sonuçlara ek olarak, retrospektif epidemiyolojik çalışmalarda kolesterol düşürücü ilaçlar olan statinlerin AH insidansında azalma sağlayabileceği belirtilmektedir (17,18). Ayrıca AH transgenik fare modellerinde, yüksek kolesterol içeren diyetle beslemenin, beyindeki kolesterol seviyesini yükselttiği gibi, (14) β -amiloid birikimini de artırdığı gösterilmiştir (15,16). Başka bir çalışmada ise ApoE geni çıkarılmış sıçanlara yüksek kolesterol içeren diyet verildiğinde hipokampus ve serebral kortekste mikroglia ve astrositlerde belirgin aktivasyon saptanmıştır (76). Yine yüksek kolesterolü diyetle beslenen farelerin beyin dokularında anlamlı oranda (1.92 mg/g) kolesterol artışı saptanmıştır. Bu bulgular plazma kolesterol konsantrasyonunun, beyindeki kolesterol düzeyini ve β -amiloid birikimini

etkileyebileceğini göstermektedir. Yinede plazma lipoproteinlerinin kan beyin bariyerini geçemediği düşünüldüğü için kurulan bu ilişkinin açıklaması açık değildir.

Lipitler membranların yapısal ve fonksiyonel bütünlükleri için mutlaka gereklidirler. Bu membran lipitleri rasgele dağılmayıp, farklı alanlarda lokalizedirler. Bu alanlar hücre içine ve dışına bakan bölümler içerirler ve kolesterol havuzu, halkasal lipitler ve lipit kümeleri gibi isimler alırlar. Alzheimer hastaları veya AH hayvan modellerinde beynin toplam kolesterol içeriği ancak küçük değişiklikler göstermektedir. Buna karşı alternatif yaklaşım ise, toplam kolesterol içeriğinde değişiklik yerine, nöronal membrandaki bu kolesterol alanlarının yapı veya fonksiyonlarındaki değişimlerin A β dinamiklerini etkileyerek AH da önemli rol oynadığını savunmaktadır (77,78,79).

Yakın zamandaki veriler bu membran lipit alanlarının AH'nın hedef bölgeleri olma ihtimallerini savunmaktadır (80). Ayrıca yüksek kolesterollü diyetle beslenmenin beyin lipit alanlarını etkileyebileceği belirtilmektedir (79). Beynin total kolesterol miktarında önemli değişme olmadığı halde, beyin lipit alanlarında, özellikle kolesterol alanlarında geniş değişimler gerçekleşebileceği düşünülmektedir.

β -amiloid üretiminin artmasının AH patofizyolojisiyle yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (81,82). A β , Amiloid Prekürsör Protein'in (APP) proteolitik ayrılmasıyla ortaya çıkan bir protein fragmanıdır. APP bir transmembran proteindir ve α -, β - veya γ -sekretaz enzimleriyle parçalara ayrılır. APP'nin normal fonksiyonu henüz bilinmemektedir. Çoğunluğu α -sekretazla, kalan kısım β -sekretazla ayrılır. Bu ayrılmalar sonucu oluşan C-terminal parçacıklar ise γ -sekretazla ayrılırlar. α -ayrılmanın ürünleri herhangi bir beyin patolojisine sebep olmaz. Ancak β - ve γ -sekretazların oluşturdukları 40-42 aminoasitlik A β fragmanları amiloidogenik özelliktedir ve senil plaklar oluşmasına sebep olurlar (83). Beyindeki bu plaklar distrofik sinir uçları, aktive mikroglia ve astrositlerle sarılmış A β birikimlerinden oluşmaktadır.

İlginç şekilde, AH olan insan beyinde ve APP transgenik fare beyinlerinde olgunlaşmış plaklar üzerinde kolesterol birikimi olmaktadır (84). Tavşanlarda ve APP transgenik farelerde yüksek kolesterollü diyet uygulaması beyinde A β birikimini uyarmıştır (15). Hipokampal nöronlarda hücrel kolesterol seviyesinin azaltılması, A β oluşumunu inhibe etmiş ve APP'nin γ -sekretazlarla ayrılmasını

artırmıştır ki bu verilerde kolesterolün AH ile ilişkisini desteklemektedir (85). Ayrıca β - ve γ -sekretaz komplekslerinin, kolesterolden zengin mikroalanlarda fazla miktarda bulunmaları, kolesterolün $A\beta$ üretimini uyarabileceğini düşündürmektedir (86). Aksine α -sekretaz bu alanlarda bulunmamaktadır.

Pek çok çalışmada plazma ve BOS 24-hidroksikolesterol miktarının, Alzheimer hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla daha fazla olduğu gösterilmiştir ki bu da; AH'daki nörodejenerasyon sırasında beyindeki kolesterol döngüsünün hızlandığını düşündürmektedir (87,88,89). Bunun tersine AH ilerlemiş olan vakalarda ve AH kemirgen modellerinde, 24-hidroksikolesterol miktarı kontrollere göre düşük bulunmuştur (90,91). Görünüşte çelişkili olan bu sonuçlar şöyle açıklanabilir; plazma 24-hidroksikolesterol düzeylerinin artması devam eden nörodejenerasyon veya demiyelinizasyonu gösterirken, azalması kolesterol 24-hidroksilaz eksprese eden nöronların seçici kaybı nedeniyle gerçekleşebilir(92). Böylece Alzheimer hastalarının beyindeki kolesterol miktarının azalması bir sebep olmaktan çok ilerleyen nörodejenerasyonun bir sonucu olabilir.

Nöronlar diğer pek çok tip hücreye kıyasla oldukça az miktarda kolesterol esteri içermelerine rağmen, serbest kolesterol yanında kolesterol ester düzeylerinde $A\beta$ üretimini etkileyebileceği düşünülmektedir. Örneğin hücrelerin kolesterol ester içeriği arttığında $A\beta$ üretiminin anlamlı düzeyde yükseldiği belirtilmektedir (93). Ek olarak, AçılCoA Kolesterol Açıltransferaz enzim aktivitesi düşük olan ve dolayısıyla kolesterol ester düzeyi nispeten az ve esterleşmemiş kolesterolün fazla olduğu hücrelerde $A\beta$ üretiminin düştüğü belirtilmektedir (93). Ayrıca Açıltransferaz inhibitörlerinin nöronlarda ve başka hücrelerde $A\beta$ oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (94). Bu ilişkiyi destekleyici olarak Hutter-Paier ve arkadaşlarının yakın zamanda yaptıkları çalışmada; AH transgenik fare modelinde AçılCoA:Kolesterol Açıltransferaz enzim inhibitörleriyle tedavi sonucunda, beyindeki $A\beta$ üretimi belirgin olarak düşmüş, ayrıca $A\beta$ plakları azalmış ve uzaysal öğrenme gelişmiştir (94). Bu veriler beraberce değerlendirildiğinde AçılCoA:Kolesterol Açıltransferaz enzim inhibitörlerinin Alzheimer hastalarında amiloid oluşumunun engellenmesinde etkili terapötik ajanlar olabileceği sonucu çıkmaktadır.

2.3.3. AH'nın Tedavi Seçeneği Olarak Kolesterol Düşürülmesi:

Alzheimer tipi demansın tedavisi için halihazırda iki ilaç grubu kullanılabilir, bunlar; asetilkolinesteraz inhibitörleri ve NMDA antagonistleridir. Bu ilaçlar AH'nın bazı semptomlarını geçici olarak rahatlatmaları ve/veya geciktirmelerine rağmen hastalığın ilerlemesi üzerine etkileri yoktur (84).

Statinler kolesterol sentezini inhibe eden ve hiperkolesterolemi tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Günümüzde bu ajanların AH tedavisi için kullanılmaları tartışılmaktadır. Geriye dönük epidemiyolojik çalışmalarda hiperkolesterolemi tedavisi için statin kullanımının AH riskini % 40-70 azalttığı gösterilmiştir (17,18). Ayrıca guinea domuzlarına simvastatin uygulandığında BOS da ve beyin homejenatlarında A β düzeyinin anlamlı derecede düştüğü belirtilmektedir (95). Simvastatin ve lovastatin de primer nöron kültürlerinde hücre içi ve dışı A β seviyelerini düşürmüştür. Ayrıca periferik nöronlarda ve nöronal hücre dizilerinde kolesterolün azaltılması, α -sekretaz ekspresyonunu artırarak APP'nin β -amiloid oluşturmaya α -ayrımını sağlamıştır (96,97). Yakın zamanda Chaohan ve arkadaşları AH transgenik fare modelinde bir ay süreyle lovastatin ve pravastatin uygulamış ve doza bağlı şekilde beyinde A β düzeyinin düştüğünü ve APP'in α -sekretazla ayrımının arttığını göstermişlerdir (98). Yine statinlerin Alzheimer hastalarında ApoE seviyelerini düşürmeksizin, 24-hidroksikolesterol düzeyini azalttıkları belirtilmektedir (99). Simvastatin uygulanan bireylerde, plazma 24-hidroksikolesterolünü düşürme etkinliğinin, plazma total kolesterolünü düşürücü etkiden anlamlı düzeyde daha fazla olduğu bulunmuştur, bu da yüksek doz simvastatinin insan beyninde kolesterol metabolizmasını etkileyebileceğini göstermektedir (100). İlginçtir ki, AH tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir asetilkolinesteraz inhibitörü olan donepeziol hidroklorür plazma kolesterol konsantrasyonunu düşürmektedir (101). Bu verilerin aksine geniş çaplı iki prospektif çalışmada statinlerin AH tedavisinde faydalı etkileri bulunamamıştır (102,103). Ancak bu çalışmalar öncelikle kardiyovasküler hastalıklara odaklı olduğu için statinlerin AH'daki muhtemel faydalı etkileri daha ileri düzeyde araştırılmalıdır.

AH tedavisi için statin kullanılmasını değerlendirirken düşünülmesi gereken önemli bir faktör, ilacın hidrofobiklik derecesidir. Lovastatin ve simvastatin, pravastatinden daha hidrofobiktirler ve bu sebeple kan beyin bariyerini daha kolay geçerler (104). Ancak bu statinlerin hepsi Alzheimer hastalarında plazma 24-hidroksikolesterolünü benzer oranda düşürürler (99) ve şu ana kadar hiçbirinin AH tedavisi açısından bir diğerine üstünlüğü yok gibi görünmektedir (17,18).

Sonuç olarak araştırmacılar hiperkolesteroleminin AH için erken bir risk faktörü olabileceğini ve su sebeple lipit düşürücü tedavinin AH riskini azaltmada bir seçenek olabileceğini belirtmektedirler (105). Bunun yanında statinlerin lipit düşürücü etkilerinden bağımsız olarak nöroprotektif etkiler oluşturabileceği de düşünülmektedir. Statinlerin AH tedavisindeki etkinliği tam olarak kanıtlanamamıştır. AH ve diğer diğer nörodejeneratif hastalıklar üzerine etkileri ve bunların muhtemel mekanizmalarının anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara gerek duyulmaktadır.

2.4. Statinlerin Yapısı ve Özellikleri

Pek çok farklı sınıftan ilaçlar serum lipitlerini düzenlemektedirler; safra asidi bağlayıcı reçineler (kolestiramin, kolestipol, kolesevalam vb.), nikotinik asit (niasin), fibratlar (fenofibrat, klofibrat, gemfibrozil, bezafibrat vb.) ve daha yakın zamanda geliştirilen kolesterol absorpsiyon inhibitörleri (ezetimib vb.) bu ilaçlardandır. Klinik çalışma göre en yaygın şekilde reçete edilen lipit düzenleyici tedaviler HMGCoA redüktaz inhibitörleridir.

Statinler ilk olarak bir küf olan *Penicillium citrinium*' dan izole edilmişler ve 1976'da Endo ve meslektaşları tarafından kolesterol sentezi inhibitörü olarak tanımlanmışlardır (106). Ardından Brown ve arkadaşları tarafından (1978) statinlerin HMGCoA redüktaz enzimini inhibe ederek etki ettiği ortaya çıkarılmıştır (107). İnsanda çalışılan ilk statin kompaktindir ve daha sonra mevastatin olarak adlandırılmıştır (108). Fakat Alberts ve arkadaşları insanda kullanımı uygun görülen ilk statin olan ve *Aspergillus terreus*'dan izole edilen lovastatini geliştirmişlerdir (109). Lovastatinin United States Food and Drug Administration (FDA) tarafından

kabul edilmesinin ardından bu güne kadar 7 statin daha geliştirilmiştir. Bunlardan lovastatin, simvastatin ve pravastatin fungal kaynaklı HMGC_oA redüktaz inhibitörleri iken, atorvastatin, fluvastatin, cerivastatin, pitvastatin ve rosuvastatin tamamen sentetik bileşiklerdir (110).

HMGC_oA redüktaz enzimi, HMGC_oA'nın mevalonata çevrildiği ve de novo kolesterol sentezinin hız kısıtlayıcı basamağını olan reaksiyonu katalizler. Bu enzimin statinler tarafından yarışmalı inhibisyonu hepatositlerde kolesterol sentezini baskılar. Hücre içindeki kolesterol miktarının azalması hepatosit yüzeyinde LDL reseptörü ekspresyonunu artırır. Sonuçta dolaşımdan daha fazla LDL kolesterol çekilir ve dolaşımdaki LDL konsantrasyonu azalır (111). Statinler ayrıca yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü (HDL kolesterol) artırırken, trigliserit konsantrasyonunu düşürürler (112). Statinlerin aterojenik lipoproteinleri azaltmalarıyla ilişkili ikincil mekanizmalar; karaciğerde apolipoprotein B100 sentezini baskılamaları ve trigliseritten zengin lipoproteinlerin sentez ve salınımlarını azaltmalarıdır (113).

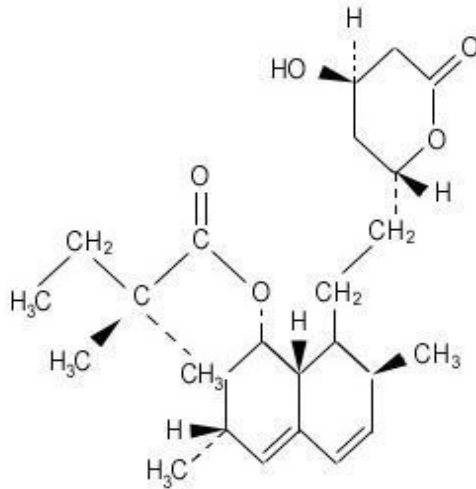
Halihazırda klinik kullanımda yedi ayrı statin bulunmaktadır. Genellikle statinler oldukça güvenli ve iyi tolere edilen ilaçlardır ancak cerivastatin 2001 yılında yan etkilerinden dolayı ABD'de kullanımdan kaldırılmıştır (114) Beş adet iyi kontrollü klinik çalışmayla; simvastatin, pravastatin ve lovastatinin ölümcül olmayan koroner kalp hastalığı olaylarını, inmeyi ve total mortaliteyi azaltmadaki etkinlik ve güvenilirlikleri gösterilmiştir (115,116,117,118,119). Bu beş çalışmada da yan etkilerin oranı aktif ilaç alan grupla plasebo grubu arasında farklılık göstermemektedir. Bu yan etkiler kalp dışı hastalıkların incelenmesine ek olarak hepatik transaminazlar ve kreatin kinaz (CK) değerlerinin takibiyle değerlendirilmiştir.

2.4.1. Statinlerin Kimyası ve Fonksiyonel Özellikleri

Statinlerin kimyasal şekilleri kabaca üç parçaya ayrılabilir; 1. hedef enzimin substratı olan HMGC_oA analogu kısım, 2. substrat analogu olan kısma kovalent bağlı olan ve statini enzime bağlama işlevini gören kompleks bir hidrofobik halka

yapısı 3. ilaçların çözünme özelliklerini, dolayısıyla pek çok farmakokinetik özelliklerini belirleyen halka yapılarına bağlı yan gruplar (şekil 1). Simvastatin, atorvastatin, fluvastatin ve lovastatin nispeten lipofilik bileşikler iken, pravastatin ve rosuvastatin sırasıyla hidroksil ve metan sülfonamid grupları sebebiyle daha hidrofilik yapıdadırlar (120).

Tüm statinler substratla yarışarak HMGCoA redüktazı inhibe ederler ancak reaksiyonda koenzim olan NADPH'a etki etmezler, bu da HMGCoA benzeri parçalarının enzimin aktif bölgesine bağlandığını düşündürmektedir. Statinlerin HMGCoA redüktaz üzerindeki inhibisyonunun yapısal mekanizmasıyla ilgili çalışmalar, statinlerin enzimin aktif bölgesine bağlanarak substrat bağlanmasını önlediğini göstermiştir. Ayrıca enzimin substrat bağlayıcı cebi, statinlerin rijit hidrofobik halka yapısına uyacak tarzda yeniden şekillenmektedir. Farklı statin-enzim kompleksleri bağlanma şekilleri açısından sadece küçük farklılıklara sahiptirler. Atorvastatin ve rosuvastatin enzim kompleksinde ek bir hidrojen bağı gösterilmiştir. Ayrıca rosuvastatin enzimle polar etkileşimi olan tek statindir ve en fazla bağlanma etkileşimi içinde olmaktadır. Bu farklılıkların önemi henüz tam olarak bilinmemekle birlikte statinlerin enzime bağlanmalarındaki ek özelliklerin ilaç potansiyelindeki artmayla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 1. Simvastatinin kimyasal yapısı

2.4.2. Etki Mekanizmaları:

Statinlerin ortaya çıkardığı ana etki LDL seviyelerinin düşüşüdür. Bunu HMGC_oA analogu olan parçalarının HMGC_oA redüktaz enzimini inhibe etmesi ve ürün oluşumunu engellemesiyle sağlarlar (109). Statinler karaciğerde kolesterol sentezini inhibe ederek kan kolesterol düzeyini değiştirirler sonuç olarak LDL reseptör geninin ekspresyonunda artışa sebep olurlar. Hepatositler içindeki serbest kolesterol miktarının azalmasına cevap olarak membrana bağlı SREBP ler (sterol düzenleyici element bağlayıcı protein) proteazlar tarafından membrandan ayrılır ve çekirdeğe transloke olurlar. Ardından transkripsiyon faktörleri LDL reseptör geninin sterole cevap veren bölümüne bağlanarak taranskripsiyonun ve LDL reseptör sentezinin artmasına sebep olur (121). Ayrıca LDL reseptörlerinin yıkımı da azaltılır (107). Hepatosit yüzeyindeki LDL reseptör sayısının artması kandan daha fazla LDL alınması ve kan LDL düzeyinin düşmesine sebep olur. Bazı çalışmalarda statinlerin ayrıca, LDL prekürsörleri olan VLDL ve IDL'nin kandan uzaklaşmasını artırarak ve karaciğer VLDL üretimini azaltarak da LDL kolesterol seviyelerini düşürebileceği belirtilmektedir (122,123). VLDL kalıntılarının ve IDL'nin ApoE yönünden zengin olduğu bilinmektedir, LDL reseptörleri de ApoB100 ve ApoE'ye cevap veren reseptörlerdir. Bu sebeple statinlerle LDL reseptör sayı artışının uyarılması bu LDL prekürsörlerinin serumdan temizlenmesini artırmaktadır (124).

Karaciğerde VLDL üretiminin statinler tarafından inhibe edilmesinin kolesterol sentezindeki düşme sebebiyle gerçekleştiği düşünülmektedir, çünkü kolesterol VLDL'nin bir bileşenidir. Bu mekanizma muhtemelen statinlerin trigliserit düşürücü etkilerinden de sorumludur (125). 80 mg/ gün atorvastatin veya simvastatinle tedavi edilen homozigot ailesel hiperkolesterolemi hastalarında LDL kolesterol seviyelerinin yaklaşık % 25 düşürülmesi sağlanabilmektedir.

250 mg/dl'nin üzerindeki trigliserit seviyeleri statinler tarafından çoğunlukla düşürülür ve düşme oranı LDL kolesterolde sağlanan düşme yüzdesine benzerdir (126). En yüksek dozlarda (80 mg/gün) en potent statinlerden ikisi olan atorvastatin ve simvastatin uygulamasında LDL kolesterol seviyelerinde ve açlık trigliserit düzeylerinde %35 - 45 oranında düşüş saptanmıştır (127,128). Eğer bazal trigliserit seviyeleri 250 mg/dl'nin altındaysa, trigliserit seviyeleri kullanılan statin dozu ne

olursa olsun %25 den daha fazla düşürülemez (126). Niasin veya Fibratların genel dozlarında trigliserit seviyelerinde statinlere benzer oranda, %35-45 arasında düşüş sağlanırken, bu ilaçlar LDL kolesterolü 80 mg/kg simvastatin ve atorvastatin yaptığı oranda düşüremezler.

Statinle tedavi edilen hastalardaki çalışmaların çoğunda düşük HDL kolesterolü hastalar sistematik olarak dışlanmış. Yüksek LDL kolesterolü ve cinsiyetleriyle uyumlu HDL kolesterol düzeylerine(erkek için 40-50 mg/dl, kadınlar için 50-60 mg/dl) sahip hastalarda, uygulanan statin dozundan bağımsız olarak HDL kolesterol seviyesinde %5-10 yükselme gözlenmiştir. Ancak düşük HDL kolesterolü (<35 mg/dl) hastalarda yapılan ön çalışmalar, statinlerin HDL kolesterol üzerindeki etkilerinin birbirinden farklı olduğunu göstermektedir. Simvastatin 80 mg/gün olan en yüksek dozda uygulandığında, atorvastatinin eş dozuna kıyasla HDL kolesterol ve ApoA-1 seviyelerini daha fazla artırmaktadır (129). Ancak statinlerin düşük HDL kolesterolü hastalarda, HDL kolesterol üzerine etkilerini ve bunun klinik olarak anlamlı olup olmadığını anlamak için daha fazla çalışma gerekmektedir.

Statinler kullanılan doza bağlı olarak LDL kolesterolü %20 den %50' ye kadar düşürürler. Farklı statinlerin etkilerinin karşılaştırıldığı geniş çalışmalara göre statinlerin yaklaşık eş dozları 2.5 mg atorvastatin, 5 mg simvastatin, 15 mg lovastatin, 15mg pravastatin, 40 mg fluvastatin şeklindedir (129,130). Ancak statinlerin doz cevap ilişkileri incelemeleri LDL kolesterolün düşürülme etkinliğinin lineer olmadığını göstermiştir. Statin dozunun iki katına her bir çıkarılışında LDL kolesterolü bazal değeri sadece yaklaşık %6 daha azalır (130). Plazma kolesterol düzeylerinde maksimum etki 7-10 gün içinde ortaya çıkar. Statinler gerçekte yüksek LDL kolesterolü tüm hastalara etkilidir. Ancak homozigot ailesel hiperkolesterolemi hastaları genelde kullanılan statin dozlarına çok az cevap verirler, çünkü LDL reseptörünü kodlayan genin her iki alleli de disfonksiyonel reseptörleri oluşturur. Statinlerin bu hastalardaki kısmi etkileri ise hepatik VLDL sentezinin azalmasıyla gerçekleşir (131). Statin tedavisi Lp(a) seviyesini düşürmez (132).

2.4.3. Statinlerin Farmakokinetik Özellikleri

Lovastatin ve simvastatin ön ilaç lakton şeklinde uygulanırlar ve vücutta enzimatik olarak aktif hidroksi asit formuna hidrolize edilirler (133), diğer statinler aktif hidroksi asit formunda verilirler (134,135).

Tüm statinler uygulamanın ardından hızla absorbe edilerek dört saat içinde en yüksek plazma konsantrasyonlarına ulaşırlar(136,137). Atorvastatinin absorpsiyon hızı ve oranı gün içinde alınma zamanına göre değişirken(136) rosuvastatinin farmakokinetik özellikleri zamandan etkilenmez(138). Ancak her iki ilaç içinde sabah veya akşam uygulanmaları ilacın lipit düşürücü etkisini değiştirmez. Bunun sebebi yarılanma ömürlerinin uzun olmasıdır. Yarı ömürleri 3 saat veya daha az olan diğer statinler için en iyi uygulama endojen kolesterol sentezinin en hızlı olduğu akşam saatlerinde verilmeleridir(137,139). Atorvastatinin yarı ömrünün yaklaşık 14 saat olması (136) diğer statinlere kıyasla LDL kolesterolün düşürme etkinliğinin daha yüksek olmasına katkıda bulunur (140). Atorvastatinin aktif metabolitleri de HMGCoA redüktaz üzerindeki inhibisyonu devam ettirerek eliminasyon yarı ömrünü 20-30 saate kadar genişletir (141). Rosuvastatinin yarı ömrü tipik olarak 19 saat iken(142), pitvastatinin 11 saattir (135). İleri derecede ilk geçiş eliminasyonundan dolayı, genellikle statinlerin sistemik biyoyararlanımları düşüktür (137,143). Belirtildiği gibi statinler için hedef organ karaciğerdir ve ilk geçişte alınmaları etkileri açısından biyoyararlanımlarından daha önemlidir.

Yiyecek alımının statinler üzerine etkileri değişkendir; lovastatin yiyeceklerle birlikte alındığında daha etkin şekilde absorbe edilirken (144), atorvastatin, fluvastatin ve pravastatinin biyoyararlanımları azalır (145,146,147). Simvastatin ve rosuvastatin için herhangi bir etki saptanmamıştır (134,110). Fakat kolesterol düşürücü etkilerin, ilacın akşam yemeğiyle birlikte veya yatarken alınması durumunda değişmediği gösterilmiştir (144).

Pravastatin dışındaki tüm statinler büyük oranda plazma proteinlerine bağlanırlar. Bu sebeple bağlı olmayan yani sistemik olarak aktif ilaca maruziyet nispeten azdır (134). Bağlı olmayan pravastatin düzeyleri diğer statinlere kıyasla yüksek olmakla birlikte, ilacın hidrofilik yapısı sayesinde geniş doku dağılımı engellenmiştir (148). Rosuvastatin, pravastatinden daha da hidrofildir ancak diğer

statinler lipofilik yapıdadırlar (134). Endojen kolesterol sentezinin büyük çoğunluğu karaciğerde yapılır ve statinler etki ettikleri yer olduğu için kısmen hepatoselektiftirler. Bu hepatoselektif etkiye katkıda bulunan mekanizma statinlerin çözünürlük profili tarafından yönetilir. Lipofilik statinler için hepatosit membranından etkin ilk geçiş eliminasyonu öncelikle pasif difüzyonla gerçekleşirken, hidrofilik statinler için ana mekanizma taşıyıcı yoluyla alınmadır (148). Lipofilitenin etkin hepatik geçişle birlikte karaciğer dışı doku membranlarından geçişi de kolaylaştırır. Bu özellik hidrofilik statinlerin daha hepatoselektif olduğunu ortaya koyar. Gerçekte pravastatinin düz kas hücre proliferasyonunu az etkilemesinin sebebi, muhtemelen ilacın hücrelere girişinin az olmasındandır (149).

Statinler ağırlıklı olarak otuzun üzerinde üyesi bulunan sitokrom P450 (CYP450) enzim ailesi tarafından metabolize edilirler (150). CYP3A4 izoenzimi insanda en fazla sayıda ilacı metabolize eden izoenzimdir ve lovastatin, simvastatin ve atorvastatin de yıkar (150). Her üç ilacında inhibitör etkilerinin bir kısmı aktif metabolitleri tarafından oluşturulur; atorvastatinin aktif metaboliti 2-hidroksi ve 4-hidroksi atorvastatindir ve simvastatinin β -hidroksi asiti esas aktif metabolitidir (151). Fluvastatin büyük oranda CYP2C9 izoenzimi tarafından metabolize edilirken, pravastatin, pitavastatin ve rosuvastatin CYP450 sisteminde metabolize olmazlar (150). Pek çok ilaç CYP450 sistemini ve özellikle CYP3A4 izoformunu inhibe edebildiği için günümüzde CYP450 sistemiyle metabolize edilen statinlerin ilaç etkileşimi sebebiyle kas toksisitesi oluşturma riskinin daha fazla olduğu bilinmektedir. İlaç etkileşimi plazma statin düzeyini artıracak ve sonuçta toksik etkilerin oluşma riski artacaktır.

Statinlerin çoğunluğunun ağırlıklı atılım yolu karaciğer tarafından metabolize edildikten sonra safra yoluyla atılmalarıdır (152). Bu sebeple karaciğer disfonksiyonu statinle uyarılan miyopati için risk faktörüdür ve tüm üreticiler statin reçete edilirken hasta hikayesinde karaciğer hastalığı olup olmadığına dikkat edilmesini önerirler. Pravastatin hem karaciğer hem de böbrekten çoğunluğu değişmemiş ilaç şeklinde atılır (133). Ancak diğer statinlerde olduğu gibi hepatik disfonksiyonu olan hastalarda farmakokinetiği değişir (144). Rasuvastatin de büyük oranda değişmeden böbrek ve karaciğer yoluyla atılır ancak farmakokinetik özellikleri hafif veya orta dereceli karaciğer bozukluklarıyla değişmez (153).

2.4.4. Yan Etkiler ve İlaç Etkileşimleri

Hepatotoksisite

Değişik statinlerin satışa sunulmadan önceki gözetim çalışmalarında, karaciğer transaminazlarının normal üst limitlerinin üç katından daha fazla yükselme insidansı, %1'e varan oranda gözlenmiştir. Bu yükselmenin sıklığının dozla ilişkili olduğu saptanmıştır. Fakat 20-40mg dozlarda simvastatin, pravastatin, ve lovastatin kullanılan plasebo kontrollü çalışmalarda, aktif ilaç uygulanan gruplarda, hepatik transaminazların üç kat yükselme insidansında anlamlı artış gözlenmemiştir (115). Ciddi karaciğer patolojisi görülebilmese rağmen oldukça nadirdir (154). Klinik çalışmalarda belirtilen güvenlilik verileri sebebiyle başlangıçta bazal ALT düzeyi ölçüldükten sonra tedavinin başlaması veya doz artırımının ardından 3-6 ay sonra tekrar ölçüm yapılması yeterlidir. Eğer ALT seviyeleri normal ise her 6 veya 12 aydan önce ALT çalışmak gereksizdir.

Miyopati

Statin kullanımıyla ilişkili, klinik anlamı olan tek büyük yan etki miyopatidir. Bütün statinler miyopati ve rabdomiyolizle ilişkilidir (155). Cerivastatinin 2001 de klinik kullanımdan kaldırılmasıyla bu etkiler daha titizlikle incelenmeye başlanmıştır ancak rabdomiyoliz insidansındaki artış sadece bu ilaca spesifik görünmektedir (114,156). Miyopati riskini artıran ek bir ilaç uygulanmayan hastalarda, miyopati riski düşüktür (<%0.1). Fibrat grubu ilaçlar ve niasin tek başlarına kullanıldıklarında da miyopatiye sebep olabilmektedirler. Statinler, fibratlar veya niasin ile birlikte uygulandığında, muhtemelen iskelet kaslarında sterol sentezinin aşırı baskılanması sebebiyle miyopati gelişir (farmakodinamik etkileşim) (157).

Makrolid antibiyotikler (ör. eritromisin), azol grubu içeren antifungaller (ör. itraconazol), siklosporin ve proteaz inhibitörleri gibi ilaçlar, statinlerin çoğu gibi

CYP3A4 tarafından metabolize edilirler(157). Statinlerle bu ilaçlar arasındaki farmakokinetik etkileşim plazmada statinlerin ve aktif metabolitlerinin miktarlarının artmasına sebep olur (157). Atorvastatin, cerivastatin, lovastatin ve simvastatin öncelikle CYP3A4 tarafından metabolize edilir ancak cerivastatin ayrıca CYP2C8 ile de yıkılabilir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, rapor edilen miyopati vakalarının çokluğu sebebiyle cerivastatinle birlikte gemfibrozil tedavisinin kontraendike olduğu belirtilmektedir (155). Pravastatin ve lovastatin CYP3A4 sistemiyle geniş şekilde metabolize edilmedikleri için, predispozan ilaçlardan biriyle kullanıldıklarında miyopati oluşma riski muhtemelen daha azdır. Ancak bu ilaçlar için de miyopati vakaları rapor edildiği için herhangi bir statinle kombine tedavi yapılırken kar zarar ilişkisi iyi değerlendirilmelidir.

Miyopati sendromu önce kollar ve baldırlarda başlayıp tüm vücutta hissedilen grip benzeri kas ağrısı ve yorgunlukla karakterizedir. Hastalar miyopatiyi uyaran ilaçları almaya devam ettikçe semptomlar ilerler. Miyoglobininüri ve böbrek yetmezliği vakaları da rapor edilmiştir (158). Serum kreatin kinaz (CK) düzeyleri tipik olarak normalin üst sınırın on kat üzerindedir. Miyopatiden şüphelenildiği zaman vakit geçirmeden plazma CK düzeyinin on katına çıkıp çıkmadığına bakılmalıdır, çünkü kas ağrısından şikayet eden hastaların çoğunda ağrı statin kaynaklı miyopatiden kaynaklanmamaktadır. Miyopatiden şüphelenildiğinde CK düzeyi bakılamıyorsa bile statin ve miyopatiye katkı yapabilecek diğer ilaçlar kesilmelidir. Rabdomiyoliz ekarte edilmeli ve böbrek fonksiyonları izlenmelidir.

Kombine tedavi dışında miyopati nadiren oluşur ve statin başka bir predispozan ilaçla kullanılmıyorsa rutin CK testi önerilmez. Miyopati kombine tedavi başladıktan aylar veya yıllar sonra da ortaya çıkabileceği için böyle bir izlem yetersizdir. Bir kural olarak, statinler bu predispozan ilaçlardan herhangi biriyle kombine kullanılacaklarsa maksimum dozlarının %25'inden daha az dozda verilerek miyopati riski azaltılır (157).

Statinlerin çözünürlüklerindeki farklılıklar sebebiyle lipit ortamda çözünürlüğü daha fazla olan statinlerin merkezi sinir sistemine daha kolay geçebilecekleri belirtilmektedir. Ancak lipitte çözülebilen statinler olan lovastatin ve simvastatinin beyin omurilik sıvısındaki konsantrasyonları çok düşüktür.

2.4.5. Statinlerin Muhtemel Nöroprotektif Etkileri

Statinlerin yaygın şekilde klinik kullanıma girmesinin ardından yapılan çok sayıda klinik ve deneysel çalışmalarda elde edilen verilerle, statinlerin lipit düşürücü etkilerinin dışında muhtemel faydalı etkilerinin olabileceği ortaya konmuştur. Bunlar sıklıkla pleiotrofik etkiler olarak adlandırılır (159).

Statinlerin pleiotrofik etkilerinin çoğu mevalonat oluşumunun ve dolayısıyla mevalonat yolu boyunca oluşan izoprenoidler ve squalen üretiminin engellenmesi sonucunda ortaya çıkar (160). Özellikle izopreneoid metabolitlerinde azalma sonucunda moleküler uyarı iletiminde önemli rolleri olan örneğin guanozin trifosfat (GTP) bağlayıcı proteinler olan Ras, Rho ve Rac gibi bioaktif proteinlerin düzeylerinde değişimler olur. Bu protein grupları pek çok sinyal yollarında anahtar görevi görerek; hücre yapısının bütünlüğü, proliferasyonu, adezyonu, hücre göçü ve apoptozis gibi hücresel işlevlerin kontrolünü sağlarlar (şekil 2).

Yapılan retrospektif çalışmalarda statinlerin birçok hastalıkla ilgili muhtemel faydalı etkileri ortaya konmuştur. Bunların başında ateroskleroz gelmektedir (161) ayrıca böbrek patolojilerinde (162), otoimmün hastalıklarda (163) ve sepsiste (164), faydalı etkileri olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Ek olarak statinlerin nöroprotektif etkilere sahip olmaları AH, iskemik inme ve beyin tümörlerinde faydalı olabilecekleri belirtilmektedir (165). Bu nöroprotektif etkilerin oluşumunu neden olabilecek çeşitli etkiler ve mekanizmalar halen araştırılmaktadır.

2.4.6. Nitrik Oksit Oluşumuna Etkileri

Nitrik oksit (NO) hem nöronal hem de endotelial patofizyolojide önemli rol oynamaktadır. NO'nun kaynağı ve miktarı onun biyolojik etkilerini belirlemektedir. Serebral iske mi, AH, Parkinson hastalığı, tümörler ve travma gibi MSS ile ilgili pek çok bozuklukta, toksik miktarda NO üretimine sebep olabilen Uyarılabilir Nitrik Oksit Sintaz (iNOS) enziminin aktivasyonu görülmektedir(166,167).

Astrositler, sitokinler ve tümör nekrozis faktör gibi pek çok inflamatuvar medyatöre cevap olarak iNOS üretirler. İske mi sırasında astrosit ve makrofaj

kaynaklı iNOS muhtemelen yapısal nöronal proteinlerin oksidasyonuna katkıda bulunmaktadır (168). Rat astrosit, mikrogliya ve makrofajlarında iNOS 'ın uyarımı sonucunda NO üretimi lovastatin uygulanmasıyla azalmaktadır (169). Bu da statinlerin akut iskemi ardından akut inflamasyonla oluşan sekonder hasarı engelleyebileceklerini düşündürmektedir.

iNOS'un aksine Endotelial Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) tarafından üretilen NO, platelet ve lökosit adezyonu ve vasküler tonusun düzenlenmesi gibi endotele ait hemostatik fonksiyonların düzenlenmesinde kritik bir rol oynar (168). Endotel fonksiyonları normal işlediğinde, vazodilatör etkili olan NO ile vazokonstriktör olan endotelin-1 arasında uygun bir denge oluşmaktadır (170). Endotelial disfonksiyon bu iki medyatör arasında dengesizlik oluşması şeklinde kendini gösterebilir. Statinler endotelial NO sentaz (eNOS) aktivitesini dolayısıyla NO üretimini artırırken endotelin-1 sentezini de azaltarak (171) bu dengesizliğin düzelmesine yardımcı olabilirler (172). eNOS enziminin fokal serebral iskemide fizyolojik koruyucu bir rol oynadığı pek çok defa gözlenmiştir. Ayrıca NO salınması, endotelin ateroskleroza engelleyici etkileriyle yakından ilişkilidir ve LDL kolesterolü yüksek olan hastalarda NO ile oluşan vazodilatasyon bozulmuştur (173). Yapılan benzer çalışmalarda statinlerin, hem koroner hemde periferik dolaşımda vazomotor fonksiyonları etkin şekilde düzenledikleri gösterilmiştir (174,175). Proflaktik statin tedavisinin, normal kolesterollü farelerde, serebral kan akımını artırdığı ve nöronal hasara karşı koruyucu olduğu ve eNOS'ın yetersiz olduğu farelerde bu etkilerin tamamen ortadan kalktığı belirtilmektedir (173). Mevalonat gibi kolesterol prekürsörleri verilen farelerde ise etkiler tersine döner. Bu bulgular statinlerin eNOS üretiminde seçici olarak artışa sebep olduğu ve kolesterol biyosentezinin eNOS aktivitesinin düzenlenmesine aracılık edebileceğini düşündürür.

Elde edilen bulgular statinlerin, AH, İnme, Parkinson Hastalığı gibi MSS patolojilerinde aynı anda iNOS sentezini inhibe edip eNOS'ı upregüle ederek serebrovasküler dolaşımı iyileştirdiklerini ve kuvvetli bir sinerjetik nöroprotektif etki oluşturduklarını göstermektedir.

2.4.7. Anti İnflamatuar Etkileri

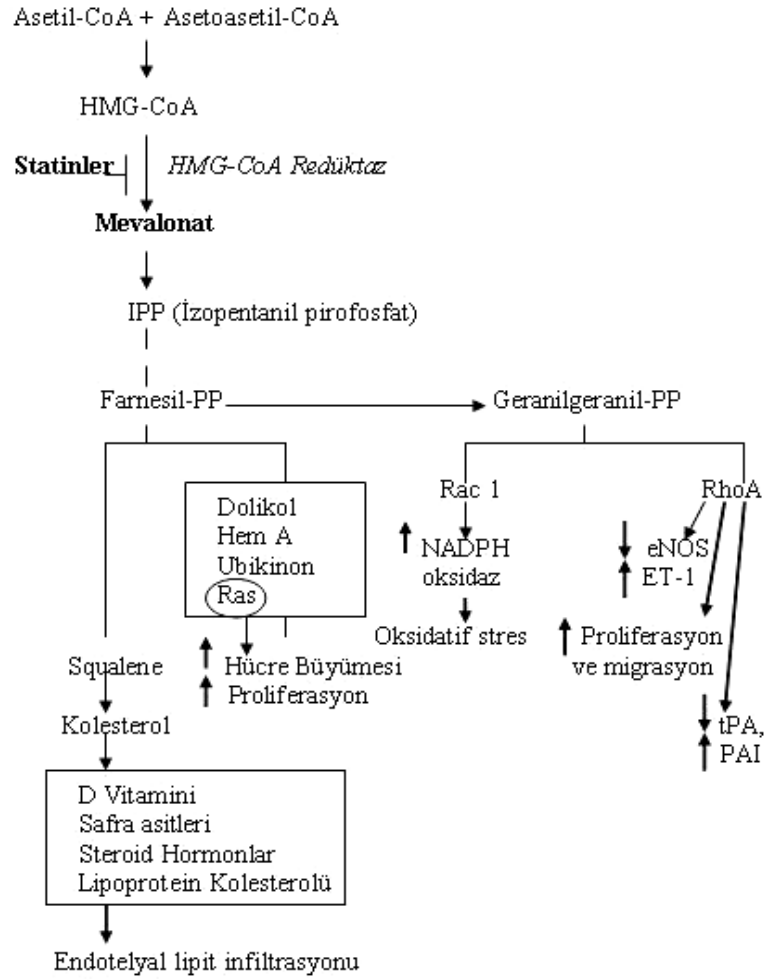
İnterlökin 1 β , TNF α , ve İnterlökin 6 gibi sitokinler; nöronlar, glia ve endotel hücreleri tarafından üretilirler ve beyindeki immünolojik ve inflamatuvar cevapların düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (168). Bu sitokinler serebral iskemi esnasında lökosit göçü ve yapışmasını uyarırlar ayrıca doku faktörü ekspresyonu ve trombosit aktive edici faktörü artırarak trombogenezi artırır (176). Statinlerin, bu sitokinlerin makrofajlardan salınmalarını azaltarak muhtemel yıkıcı etkilerini zayıflattıkları düşünülmektedir (168).

Kolesterol biyosentezi sırasında izoprenoidler olarak bilinen pek çok ara ürün oluşur(izopentil pirofosfat, geranil pirofosfat, 3,3-dimetilalil pirofosfat, ve farnesil pirofosfat). Bu izoprenoidler hücre içi ikincil mesajcı sistemleri, adezyon moleküllerini ve lökosit aktivasyonunu uyararak inflamasyonu aktive ederler (168). İskemik hasarın ardından endotelden ve glial hücrelerden adezyon moleküllerinin artmış ekspresyonu lökositlerin beyin parankimine göçünü kolaylaştırır. Statinler HMGCoA redüktaz üzerindeki inhibitör etkileriyle izoprenoidlerin oluşumunu azaltırlar ve iskemi sonrasındaki inflamasyonun bu parçasını sınırlarlar. Hiperkolesterolemik hayvanlarda statinlerin koroner endotelde nötrofil adezyonunu inhibe ettiği ve lökosit endotel etkileşimini azalttığı gösterilmiştir(177).

Monositlerin damar duvarına dahil olmaları aterosklerotik lezyonun başlaması ve ilerlemesi için çok önemlidir. Monositlerin endotelden içeri taşınması için gereken adezyon molekülleri, monosit yüzey reseptörleri CD11b/CD18 ve endotelde bulunan Hücreler Arası Adezyon Molekülü-1 (ICAM-1) dir (165). Hiperkolesterolemi varlığında izole monositlerin endotele adezyonu normal kolesterolü olan deneklere kıyasla belirgin olarak yüksektir. Lovastatin ve simvastatin tedavisinde ise monosit CD11b ekspresyonu çok az düşerken, CD11b'ye bağlı monosit adezyonu bariz olarak azalmıştır (178). Monosit CD36 reseptörü, okside olmuş LDL için kuvvetli bir yakalayıcıdır ve monosit adezyonu ve köpük hücre oluşumunda önemli bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Lovastatin monositlerde CD36 reseptörü ekspresyonunu azaltır ve hücrenin okside LDL bağlamasını inhibe eder (165). Bu veriler statinlerin, adezyon molekülleri ve diğer inflamatuvar reseptörlerin aktivite ve ekspresyonlarını düzenleyerek muhtemel nörolojik hasarı azaltacağı düşünülmektedir.

2.4.8. Antioksidan Etkileri

Pek çok çalışmada belirtildiği şekilde, statinler lipoprotein oksidasyonunu azaltır ve serbest radikal hasarında kısmi düzelmeye sağlarlar. Lovastatin lökositlerin uyardığı LDL oksidasyonunu azaltmakta ve SOD enzimini korumaktadır (165). Fluvastatin LDL'nin ekzojen oksidasyonunu yavaşlatırken, atorvastatin pek çok oksidatif sistemde lipoprotein oksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Buna ek olarak simvastatin tedavisi alan hiperkolesterolemili kişilerde, sağlıklı kontrollere kıyasla antioksidan özelliği olan α tokoferolün arttığı saptanmıştır (179).



Şekil 2. Kolesterol sentez yolu (Mevalonat Pathway) ve ürünlerin farklı sistemleri düzenleyici etkileri

2.4.9. Alzheimer Hastalığı Tedavisinde Statinlerin Kullanımı

Elde edilen kanıtlar AH ile kolesterol arasında bir bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır. Alzheimer hastalarındaki kolesterol seviyeleri, eş yaştaki kontrol grubundaki kişilerden farklı bulunmamıştır. Ancak hastalığın gelişimi öncesinde kolesterol seviyelerinin yükselmiş olabileceği ve hastalık progresyonu sırasında düşmenin ortaya çıkacağı yolunda kanıtlar vardır (180). Artmış kolesterol seviyeleriyle çok yakından ilişkili olduğu bilinen ateroskleroz varlığının, AH riskinde artmayla korale olduğu gösterilmiştir. Daha belirgin derecede ateroskleroz varlığı, daha yüksek AH riskiyle ilişkilidir (165). Diyetlerinde yüksek oranda kolesterol bulunan hayvan modellerinde intranöronal β amiloid depolanmasında ve yaygın amiloid plak oluşumunda artış olduğu, diyetten kolesterol çekildiğinde ise bu lezyonlarda gerileme olduğu belirtilmektedir (165).

Apolipoprotein E'nin ApoE4 alleli yüksek kolesterol seviyeleriyle ilişkilidir (165). Ayrıca AH riskinde artmayla bağlantılı olduğu ve senil plaklar ile nörofibriler yumakların oluşumuyla korale olduğu da gösterilmiştir (182). Hücrelerin kolesterol alımı apolipoproteinlerin spesifik reseptörlere bağlanmasıyla başlar. Bunlardan biri Reseptör İlişkili Protein (LRP) dir. LRP'nin kesin genotipinin, ApoE4 aleli ile ilişkili olarak AH riskindeki artmayı düzenleyeceği yolunda bazı kanıtlar vardır. Bunlar nöronal kolesterol dağılımının AH da rol oynayabileceğini göstermektedir (183).

Yapılan pek çok gözlemsel çalışmaya göre statin tedavisi ile kolesterol düşürülmesi AH da potansiyel tedavi edici faydalar sağlamaktadır. Birinci olarak simvastatin, senil AH olan kişilerde BOS ApoE düzeyinde anlamlı fark oluşturmasa da plazma ApoE seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir (184). İkinci olarak in vitro ortamda lovastatinin AH da senil plak bileşenlerinin yapımını azalttığı belirtilmektedir. Senil plaklar primer olarak, bir transmembran prokürsör protein olan APP'nin çökelmiş formlarını içerirler. APP içeren insan böbrek emriyonik hücre dizilerine lovastatin uygulandığında hücre içi kolesterolün azaldığı ve APP de β amiloid parçacıkların oluşumunu sağlayan β sekrataz faaliyetinde azalmaya sebep olduğu görülmüştür (165). Lovastatine ek olarak metil β siklodekstrin uygulandığında canlı hipokampal hücrelerde β amiloid yapımı %70 azaldığı,

hücrelere tekrar kolesterol eklendiğinde ise bu etki tersine döndüğü belirtilmektedir (185). Son olarak yakın zamanda yapılan iki epidemiyolojik çalışma statinlerin AH daki potansiyel terapötik rolünü desteklemektedir. Bunlardan birincisinde lovastatin ve pravastatin alan kişilerde kardiyovasküler hastalıklarıyla ilgili başka tedaviler alan hastalara oranla muhtemel AH prevelansının %63-70 daha düşük olduğu saptanmıştır (186). İkinci çalışmada statin alan hastalarda, diğer lipit düşürücü ilaçları alan kontrol grubuna oranla, klinik olarak demans ve AH gelişme olasılığının %71 daha az olduğu gösterilmiştir (187). Her iki çalışma da retrospektif vaka kontrolü şeklinde dizayn edilmiştir ve bu sebeple örnek seçimleri ve alınan bilgiler titizlikle değerlendirilmelidir. Ayrıca muhtemel AH tanısı konan hastalarda, birlikte daha baskın olarak vasküler demans var olabilir ve bu sebeple sonuçlar statinlerin vasküler etkilerine cevap olarak gerçekleşebilir.

Bunun yanında statinlerin diğer lipit düşürücü ajanlardan farklı olarak AH riskinde azalma sağlayabileceği belirtilmektedir. Örneğin bir vaka kontrol çalışmasında statin kullananlarda AH riskinin, hiperkolesterolemisi olmayan veya diğer lipit düşürücü ajanları kullananlara oranla %70'e kadar azaldığı saptanmıştır (188). Yukarıda bahsettiğimiz gibi statinlerin in vivo ve in vitro antiinflamatuvar etkileri, ayrıca serebrovasküler sistem üzerine etkinlikleri, AH ve inme gibi nörodejeratif hastalıklardaki faydalı etkilerinin bir kısmının sebebi olabilir.

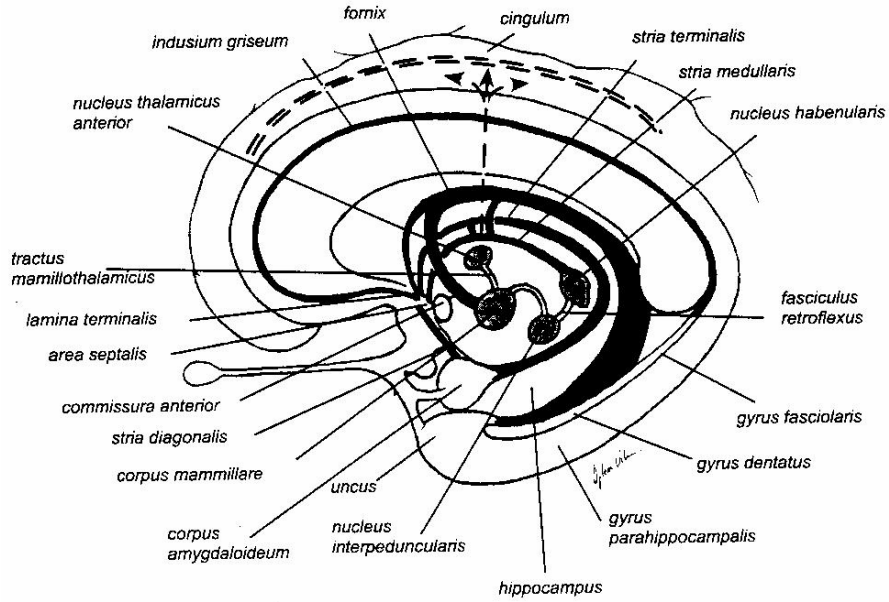
İyonotropik glutamat reseptörleri olan NMDA reseptörleri, AH araştırmalarında büyük oranda ilgi çekmiş ve ekspresyonlarıyla ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. NMDA reseptörlerinin öğrenme ve bellek oluşumuna aracılık ettikleri, ayrıca demans ve AH patogeneziyle ilişkilerinin olduğu belirtilmektedir (19). NMDA reseptörlerinin glutamatla aşırı uyarımı, eksitotoksisite diye adlandırılan ve nöronlarda hasar oluşturarak, nörodejeratif bozuklukları doğuran bir dizi olayı başlatmaktadır. Ancak AH da NMDA reseptör uyarısının azaldığı belirtilmektedir (189,190). AH tutulmuş beyin bölgelerinde, sıklıkla NMDA reseptör kaybına sebep olur. Wang ve arkadaşları AH sebebiyle ölen hastaların ve kontrol grubu bireylerin beyinlerinde, hipokampus, frontal korteksde NMDA reseptör subunit düzeylerini saptamışlardır. Sonuçta hipokampus, frontal korteksde NR1, NR2A ve NR2B subunit düzeylerinde orta dereceli azalma olduğu bulunmuştur (191). Bunlara ek olarak NMDA reseptörleri üzerinde sınırlı, non-kompetitif inhibisyon oluşturan

memantin AH tedavi seçenekleri arasına girmiştir. Bu veriler NMDA reseptörlerinin AH etyopatogenezinde rol oynayabileceğini ve ayrıca hastalık progresyonu sırasında etkilenen beyin bölgelerinde reseptör düzeyi ve aktivitesinin değişebileceğini düşündürmektedir. AH'nın oluşumuyla ilgili etyolojik mekanizmalar açık değildir ve geliştirilen tedaviler hastalığı tam olarak ortadan kaldıramamaktadır. Yakın zamanda AH için tedavi seçeneği olarak tartışılmaya başlayan statin grubu ilaçların da, belirtilen nöroprotektif etkilerinin ve Alzheimer hastalığında oluşturdukları potansiyel faydalı etkilerin mekanizması açık değildir.

2.5. Hipokampüs

2.5.1. Anatomisi

Hipokampüs, temporal korteksin lateral ventrikülünün alt boynuzunun tabanı boyunca uzanan, kıvrılmış bir gri cevher kabartısıdır (şekil 3). Hipokampüse bu ad, koronal kesitte deniz atına benzediği için verilmiştir (192).



Şekil 3. Limbik sistemi oluşturan yapılar ve aralarındaki bağlantılar

2.5.2. Hipokampüsün Yapısı ve Fonksiyonları:

Hipokampüs, limbik sistem içerisinde önemli fonksiyonlarıyla odak noktasını oluşturmaktadır. Hipokampüs ve ona bağlı temporal lop yapıları; serebral korteks, amigdala, hipotalamus, septum, mamiller cisimler gibi temel limbik sistem bölgeleriyle sayısız indirekt bağlantılar gösterir ve "hipokampal formasyon" adını alır.

Beyinde en yüksek glukokortikoid hormon reseptörü bölgesi olması nedeniyle, glukokortikoid hormonun (kortizol) nöroendokrin kontrolünü sağlar. Plazma kortikosteroid düzeyleri üzerine olan etkisini indirekt olarak hipotalamusa negatif feedback yapmak suretiyle gösterdiğine inanılmaktadır.

Hipokampüsün değişik alanlarının uyarılması durumunda hiddet, edilgenlik, hiperseksüalite gibi davranış biçimleri görülür (193). Hipokampüs, hipereksitabilite özelliğine sahiptir. Hafif elektriksel uyarılmasında, uyarı bittikten sonra saniyelerce süren bir epileptik nöbet gözlenir. Bu da hipokampüsün normal koşullarda bile uzun süren sinyaller yaydığını gösterir. Hipokampal nöbetler sırasında birey; koku, görme, işitme, dokunma ve diğer halusinasyonları tanımlar. Birey bilinçlidir ve halusinasyonların gerçek olmadığını bilir.

Hareket, yürüme ve diğer motor işlerde major rol oynamaktadır. Bu işlevler sırasında hipokampüsteki ritmik yavaş dalga EEG aktivitesi (teta ritmi) değişmektedir.

Öğrenme ve hafıza, limbik sistem de dahil olmak üzere, Santral Sinir Sistemi'nin birçok bölgeleri ile ilgili kompleks fonksiyonlardır. Yeni edinilen bilgilerin depolanmasında hipokampal formasyonun önemli rolü olduğu bilinmektedir. Hipokampüsü etkileyen lezyonu olan hastalarda kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızaya dönüştürülemediği gözlemlenmiştir. Lezyonun sol hipokampüste olduğu zamanda daha çok sözel hafıza etkilenirken, sağda olduğu durumlarda görsel hafıza etkilenmektedir. Hipokampüsün iki taraflı ablasyonunda kişi, hergün gördüğü insanların bile yüz ve isimlerini hatırlamayabilir. Ancak hiç ilgisiz, başka bir faaliyet sırasında bir anlık bir hatırlama olabilir (193).

2.6. Glutamat reseptörleri

MSS'inde işlev gören en önemli eksitatör nörotransmitter glutamattır (194). Glutamat reseptörleri memelilerin MSS' deki çoğu uyarıcı sinir iletimini düzenlemektedirler. Glutamat reseptörleri hafıza ve öğrenme fonksiyonlarına katkıda bulunan sinaptik iletide rol alırken, bir yandan da sinir sisteminin gelişimi esnasındaki nöronlar arası bağlantının da oluşturulmasına katkıda bulunmaktadır (194). Kortikospinal motor nöronların spinal motor nöronlara yaptığı sinapslarda majör nörotransmitter glutamattır. Normalde üst motor nöron eksitasyonu ile glutamat molekülleri sinaptik aralığa düşmekte ve spinal motor nöronlardaki (postsinaptik) reseptör yerlerine giderek spinal motor nöronları depolarize etmektedirler.

Glutamat reseptör ailesinin aminoasit dizilişi asetilkolin, GABA ve glisin reseptörlerine çok az benzer. Glutamat ayrı bir ailenin üyesidir (195).

Glutamat reseptörleri, temelde postsinaptik membranda lokalizedir. Başlıca 2 tipi vardır.

I-Metabotropik glutamat reseptörleri: İkinci haberciler üzerinden dolaylı olarak iyon kanallarını kontrol eder (195,196,197).

II-İyonotropik glutamat reseptörleri (iGluR): Doğrudan iyon kanallarını kontrol eder.

Bugüne kadar memeli MSS'inde 16 adet iGluR cDNA'sı ve 8 adet metabotropik glutamat reseptör cDNA'sı tanımlanmıştır. Şimdiye kadar izole edilen 16 adet iGluR cDNA' sının; 4 tanesi Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionat reseptör (AMPA) subuniti (GluR1, GluR2, GluR3, GluR4), 5 tanesi kainat reseptör subuniti (GluR5, GluR6, GluR7, KA1, KA2) ve 7 tanesi NMDA reseptör subunitidir (NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D, NR3A, NR3B). İçinde bulunduğumuz yıllarda, glutamat reseptör genlerinin ekspresyonunu manipüle edici birçok değişik teknik kullanılarak, glutamat reseptörlerinin tüm fizyolojisi ve patolojisi geniş bir şekilde araştırılmıştır. Birçok orguda iGluR subunitleri değişik laboratuvarlar tarafından ayrı ayrı ve de eş zamanlı olarak klonlandığı için benzer subunitlere her biri farklı isimler vermişlerdir (194).

I-Metabotropik glutamat reseptörleri

Metabotropik reseptörler GTP-bağlayıcı proteinlerle (G proteinleri) bağlantılıdır ve intraselüler mesajcılarının üretimini kontrol etmektedirler (198). *trans*-(1S, 3R) -1-amino-1,3-cyclopentanedicarboxylic asit (ACPD) ile selektif olarak aktive olurlar (195,196,197).

Glutamat iyonotropik reseptörler üzerinden eksitasyon yaparken, metabotropik reseptörler üzerinden eksitasyon veya inhibisyon oluşturabilmektedir (195,196,197).

II- İyonotropik Glutamat Reseptörleri

Presinaptik sinir terminallerinden salınan glutamat molekülleri iGluR' e bağlandığında bir elektriksel olaya döndürülen kısa bir kimyasal sinyal meydana getirmektedir. Postsinaptik depolarizasyonla sonuçlanan net bir iç akıma izin veren bir integral katyon seçici kanal içeren iyonotropik glutamat reseptörleri 3 geniş gruba ayrılır :

1. α -amino-3-hidroksi-5-metil izoksozole propionat (AMPA) tercih eden reseptörler
2. Kainat tercih eden reseptörler (KAR)
3. N-metil D-aspartat (NMDA) tercih eden reseptörler (195,196,197)

2.6.1. NMDA Reseptörleri

NMDA reseptör dağılımını saptamak için bir dizi değişik radyoligandlar kullanılarak ligand bağlama çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda; NMDA reseptörlerinin tüm beyinde yaygın bulunurken, dominant olarak ön beyinde bulunduğu gösterilmiştir. Tüm beyindeki en yüksek düzeyler ise hipokampusdeki CA1 bölgesindedir. İyonotropik glutamat reseptörleri sentetik agonistlere göre isimlendirilmişlerdir. NMDA glutamat reseptörleri 2-amino-5-phaphono valerik asit

ile selektif olarak bloke olurken, AMPA ve kainat reseptörleri bu ajanla bloke olmazlar. Her iki reseptör de 6-cyano-7-nitroquinoxalin-2,3 dione ile bloke olurlar. Bu nedenlerle AMPAR ve KAR non-NMDA reseptörü olarak da isimlendirilmektedir (199).

NMDAR agonistleri olan glutamat ve aspartat tipik olarak kısa zincirli dikarboksilik aminoasitlerdir ve kuvvetli eksitator nörotransmitterlerdir. Aspartat da glutamat gibi NMDAR'lerine bağlanır ve aktivite gösterir. Ancak AMPAR'leri ve KAR'lerine bağlandığında oluşturduğu etkiden daha az bir etki gösterir. NMDAR'leri ile AMPAR'leri ve KAR'leri arasında benzerlik azdır. AMPAR'leri ve KAR'lerinin kendi aralarındaki benzerlikleri daha çoktur. Tüm NMDAR alt üniteleri nötral aminoasit içermektedir. Bir tek M2 bölgesinde polar asparajin rezidüsü bulunmaktadır (197,200).

Genelde postsinaptik bölgeler hem AMPAR'ü hem de NMDAR'ü içerirken; bazı bölgelerde sadece NMDAR' leri bulunur. Gelişimin erken evresinde sinapslar sadece NMDA tipi reseptörler içermektedir (201). Non-NMDA iyonotropik reseptörler motor nöronlarda ve beyinde eksitator postsinaptik potansiyel'in (EPSP) büyük erken komponentini oluşturmaktadır. Yani birçok sinapsta AMPAR' leri eksitator aşırım sırasında ana başlangıç; şarj edici gibi etki etmektedir. Bu reseptörler göreceli olarak düşük bir katyon iletkenliğine sahiptirler (< 20 pS). Na⁺ ve K⁺ a geçirgen iken Ca⁺²'a geçirgen değildirler. Bu sırada NMDAR'leri, intrasellüler enzimler ve ikincil mesajcıların aktivelelerini modüle edebilen katı bir Ca⁺² komponenti ile birlikte daha yavaş bir akım sağlamaktadır (197,200).

EPSP' nin geç komponentini oluşturan NMDA reseptör kanallarının üç özelliği vardır.

- 1- Yüksek iletkenliğe sahip iyon kanallarını kontrol ederler (50 pS) ve Na⁺ ve K⁺'un yanısıra Ca⁺²' a da geçirgendirler.
- 2- Kanalin açılması bir ko-faktör olarak glisin ekstrasellüler olarak bulunmasına bağlıdır. Kanal sadece glisin varlığında çalışır. Normal koşullarda ekstrasellüler glisin yoğunluğu NMDAR kanalının çalışabileceği miktarlarda bulunmaktadır. Kinürenik asit ve aminoksalinedikarboksilik asit'in her ikisinin çoğu türevleri glisin bölgesinin kompetitif antagonistleridir.

3- Açılması kimyasal haberciye bağlı olduğu kadar membran potansiyeline de bağlıdır. Bu, NMDAR' ları diğer voltaj kontrollü kanallardan ayıran bir özelliktir.

Voltaja bağımlılık diğer kanallarda olmayan farklı bir mekanizmadan kaynaklanmaktadır. Diğer kanallarda, membran potansiyelindeki değişiklikler, intrinsek voltaj sensörünün sayesinde kanalda konformasyonel değişikliklere neden olurken NMDA ile aktive olan kanalda ekstresek bloker olan Mg^{+2} (ekstrasellüler Mg^{+2}) açık olan kanalı kapayan bir tıkaç gibi davranır ve iyon akışına engel olur. İstirahat membran potansiyelinde (-65 mV'da) Mg^{+2} kanala sıkıca bağlanır. Ancak membran depolarize olduğunda (örneğin, non-NMDA reseptörleri glutamat ile aktive olduğunda), Mg^{+2} elektrostatik etkiyle kanaldan uzaklaştırılır ve Na^+ ile Ca^{+2} ' un geçişine izin verir. Bu nedenle NMDAR' lerinde en yüksek iyon akımı her iki koşulun da gerçekleşmesiyle ortaya çıkmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle NMDAR'ü sinaptaki presinaptik aktivite ve postsinaptik depolarizasyonu eş zamanlı olarak saptayan bir araç gibi davranmakta ve postsinaptik hücreye yeterli miktarda ikincil haberci iyon olan Ca^{+2} 'un girişine imkan vermektedir. Bu da sinaptik bağlantının kuvvetindeki plastik değişiklikleri başlatmaktadır (194,200).

Birçok hücrede hem non-NMDAR'ler hem de NMDAR'ler bulunmaktadır. Mg^{+2} , istirahat membran potansiyelinde NMDAR kanalını bloke ettiği için, NMDAR'lerinin EPSP'lerin oluşmasında önemli bir katkısı yoktur. Bu nedenle istirahat durumunda oluşan EPSP'lerde büyük oranlarda non-NMDA reseptörlerinin katkısı bulunmaktadır. Depolarizasyon arttıkça Mg^{+2} NMDAR kanalından uzaklaşmakta ve NMDAR' ü açılarak bu kanallardan iyon akışı gerçekleşmektedir (195,197).

NMDAR kanalının diğer bir farkı göreceli olarak daha yavaş açılıp yavaş kapanması ve bu özelliği nedeniyle EPSP' lerin geç fazına katkıda bulunmasıdır. EPSP' nin geç fazı, Mg^{+2} un kanalı bloke etmesi nedeniyle, tek bir presinaptik sinyalden sonra zayıf bir yanıt olarak karşımıza çıkmaktadır. Oysa presinaptik nöron ard arda sinyaller gönderirse postsinaptik hücrede EPSP' ler toplanarak 20 mV veya daha fazla bir depolarizasyon oluşturmaktadır. Bu durumda NMDAR'ü büyük ölçüde Ca^{+2} 'un katkısı ile daha büyük akımlara yol açmaktadır. NMDAR aktivasyonu sonucu, post-sinaptik hücrelerde, Ca^{+2} 'a bağımlı enzimler ve bazı ikincil haberciler devreye girmektedir. Bu biyokimyasal reaksiyonlar, sinapta bazı

uzun vadeli modifikasyonlara katkıda bulunan sinyal yollarını tetiklemektedir. Öğrenme ve bellekte sinapsta gerçekleşen değişikliklerin önemli olduğu düşünülmektedir. NMDAR' lerinin aktivasyonu presinaptik aktiviteye bağlı olduğu için ve uzun süreli sinaptik modifikasyonlar ile ortaya çıktığı için çoğu kez bu duruma aktiviteye-bağımlı sinaptik modifikasyonlar denmektedir (195,197).

Gen knockout teknikleri kullanılarak öğrenme ve hafızada rolü olan NMDAR' üne bağlı sinaptik plastisite keşfedilmiştir. Yapılan bu deneyler CA1 hipokampal NMDAR' ünün hipokampüse bağımlı spatial ve non-spatial hafızaların oluşması için gerekli olduğunu ortaya koymuştur (201). Öğrenmenin değişik formlarının meydana gelmesinde rolü olan hipokampüste sinaptik plastisitenin bir türü olan LTP öğrenme ve hafızanın nöronal mekanizmalarını araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (197,199). LTP sinaptik kuvvetteki aktiviteye bağımlı uzamış artış olarak tanımlanabilir (200). Daha önceki çalışmalar hipokampal sinaptik plastisitenin LTP benzeri formlarının spatial öğrenme ve hafıza ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (197). Hipokampüsün CA1 bölgesindeki LTP'nin indüksiyonu bir dizi olayı içermektedir. İlk olarak NMDAR kanalının presinaptik glutamat salınımına cevap olarak açılması için postsinaptik membranın yeterince depolarize olması gerekmektedir. Kanalın açılması postsinaptik hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun önemli derecede yükselmesine olanak vermektedir. Ca^{+2} 'daki bu artış metabotropik glutamat reseptörünün aktivasyonuna bağlı fosfoinozidit düzeylerindeki yükselmeyle birlikte PKC ve CAMKII' nin de dahil olduğu proteinkinazların aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu proteinkinazlar daha sonra sinaptik kuvvette uzun süreli modifikasyonlara yol açacak proteinleri düzenlemektedirler (200).

Homosinaptik LTD ise sinaptik kuvvetin aktiviteye bağımlı uzamış zayıflaması olarak tanımlanır ve bir anlamda LTP'nin fonksiyonel karşıtıdır. CA1 alanındaki LTP gibi LTD'nin indüksiyonu da NMDAR' lerinin aktivasyonuna ihtiyaç duymaktadır (200,201).

Sinaptik aktivitenin regülasyonunda protein fosforilasyonu ve defosforilasyonunun önemli mekanizmalar olduğu düşünülmektedir. NMDAR kanalının subunitleri farklı proteinkinazlar ve protein fosfatazlar tarafından doğrudan fosforile ve defosforile edilmektedir. NR1, NR2A ve NR2B subunitleri hem cAMP

bağımlı proteinkinaz A (PKA) hem de proteinkinaz C (PKC) tarafından farklı bölgelerden fosforile edilebilmektedir. CAMKII NR2B subunitinin karboksi terminal ucundaki spesifik bir kalıntıyı ve/veya onun NR2A subunitindeki karşılığını fosforile etmektedir. Protein tirozin kinaz da NR2A ve NR2B subunitlerini fosforile etmektedir(202).

2.6.2. NMDA Reseptör Tipleri:

NMDAR' lerinin şu ana kadar tanımlanan yedi tane subuniti vardır. Bunlar; NR1, NR2A-B-C-D ve NR3A-B (6,57). NMDAR'leri beynin tümünde yaygın olarak bulunmaktadırlar ancak baskın olarak ön beyine lokalize olmuşlardır. En yüksek düzeyde buldukları yer ise hipokampüsün CA1 bölgesidir (194).

NR1: Glisin bağlayıcı bölgeyi içerir. 938 aminoasitten'ten meydana gelmiştir. 105,5 kDA ağırlığındadır. NR1 reseptör subunit ekspresyonu MSS'de hemen hemen her yerde bulunmaktadır.

NR2: Glutamat bağlayıcı bölgeyi içerir. 4 grubu bulunur:

NR2A: Beyinde postnatal eksprese edilir.1464 aminoasitten meydana gelir ve 165.5 kDA ağırlığındadır. Ekspresyonu için yüzeyde NR1 N-terminalinin bulunması gereklidir. NR2A mRNA'sı tüm beyinde yaygın olarak bulunur; fakat serebral korteks, hipokampüs ve serebellumda daha yoğun olarak bulunmaktadır.

NR2B: Tüm embriyonik beyinde eksprese edilir. Ayrıca embriyonik ve neonatal kardiyak miyositlerde eksprese edilir. Postnatal olarak yalnız ön beyinde eksprese edilir. 1482 aminoasitten oluşur ve ağırlığı 165,9 kDA'dır. NR2B'nin ekspresyonu önbeyinde, serebral korteks, hipokampüs, septum, kaudat ve putamende seçici olarak yüksek düzeyde bulunmaktadır.

NR2C: Postnatal olarak cerebellumda eksprese edilir. 1239 aminoasitten oluşur ve 135,4 kDA ağırlığındadır. NR2C'nin ekspresyonu ise serebellumda dominant olarak bulunurken, talamusda ve olfaktör bulbusda daha az olarak bulunmaktadır.

NR2D: Diencephalon ve beyinsapında embriyonal ve neonatal olarak eksprese edilir. 1323 aminoasitten oluşur, 142,9 kDA ağırlığındadır. NR2D'nin

ekspresyonu ortabeyin ve arkabeyinde yüksek iken; düşük düzeyleri talamusda, olfaktör bulbusda ve beyin sapında bulunmaktadır. NR2A ekspresyonununa tamamlayıcıdır.

NR3: Silik fonksiyon gösterir. NR3A ve NR3B olarak iki tiptir. Ca^{+2} permeabilitesi yavaş ve uzun sürer. NR3A; Serebellum hariç korteks, hipokampus (CA1), ortabeyin, arkabeyin ve spinal kordda eksprese edilir. Neonatal ekspresyonları çok güçlüdür, sonra azalmaya başlamaktadır (196,197).

2.6.3. NMDA Reseptörünün Yapısı

Şu anda genellikle hem fikir olunan nokta; NMDAR'lerinin NR1 subuniteleri ve beraberinde NR2 subunitelerinin en azından bir tipinden oluşan heteromerik yapılar olduğu şeklindedir. NR1 subunitelerinden gelen domainler glisin bağlanma bölgesini oluşturmaktadır. Membrana doğru dizilmiş her glutamat reseptör subunitesi, farklı yaklaşımların bir bileşkesinden ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmalar kaçınılmaz bir kanıt ortaya koymuştur: NMDAR, AMPAR ve KAR subuniteleri 3 adet membrana uzanan domain içermektedir (M1, M3 ve M4). M2 domaini membrana sitoplazmik kenardan daldırılmış şekilde bir büklüm oluşturmaktadır. Her NMDAR alt ünitesi geniş bir ekstrasellüler N-terminal domaini ve intrasellüler C-terminali sergilemektedir (196,197,200).

NMDAR'ü voltaja bağımlı tek iyonotropik reseptördür. Normal miktarlarda Ca^{+2} bazı bellek tiplerinin oluşmasında gerekli sinyal yollarını tetiklemektedir. NMDAR'lerinin aktivitesi Mg^{+2} ile voltaja hassas blokajı ve Ca^{+2} 'a geçirgenliği pora uzanmış olan M2 segmentindeki aminoasit rezidülerine dayanmaktadır. Katyon seçiciliği M2 segmentinin kritik bir alanına (N alanı) dayanmakta, bu alan NR1 ve NR2 alt ünitelerinde bulunan bir asparajin rezidüsü tarafından oluşturulmaktadır. NR2 alt ünitesi, membranın ekstrasellüler yüzünden gelen Mg^{+2} iyonları için temel bağlanma bölgesini içermektedir. Yani Mg^{+2} blokları M2'deki kritik asparajin rezidüleri veya onlara çok yakın olan aminoasit rezidülerinin etkileşimine dayanmaktadır. Bu bağlanma bölgesi; N bölgesi, yüksek Ca^{+2} geçirgenliği için kritiktir. NR1 rezidüleri kanalın dış vestibülünü oluşturmaktadır. Bu vestibül M3 (C-

terminal ucunda) ve M4 (N-terminal ucunda) segmentlerinin M1'den önce gelen parçaları tarafından oluşturulmuştur (195,196,197,200).

2.6.3.1. Nörolojik Hastalıklar ve Glutamat Reseptör Aktivasyonunda Artış

Bazı koşullar altında glutamat gibi eksitator nörotransmitterlerin dengesizliği, bazı hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Yüksek miktarlarda glutamat nöronlar için toksiktir. Beyindeki birçok hücrede L-glutamata yanıt veren reseptörler bulunmaktadır. Doku kültürlerinde ortama yüksek düzeyde glutamat eklenmesi birçok nöronu öldürmektedir, buna glutamat eksitotoksitesi adı verilmektedir. Bir çok hücrede bu tür toksisite NMDA tipi reseptörlerden Ca^{+2} 'un hücre içine girişi sorumlu tutulmaktadır. Yüksek intrasellüler Ca^{+2} , kalsiyuma bağlı proteazları ve fosfolipazları aktive ederek hücreye toksik olan serbest radikallerin oluşmasına yol açmaktadır. İnme sonrası hücre hasarından, status epilepsisinde tekrarlayan episodlarında ortaya çıkan hücre ölümünden, Huntington hastalığı, amiotrofik lateral skleroz'da (ALS) olivopontocerebellar atrofi gibi dejeneratif hastalıklarda kronik glutamat reseptör aktivasyonu ve glutamat toksisitesinin payı olduğu düşünülmektedir. Spesifik NMDAR blokerleri, glutamatın toksik etkisini engelleyebilmesi nedeniyle bugün kliniklerde kullanılmaya başlanmıştır (195,197,200).

İyonotropik glutamat reseptörlerinin çoğunun aktivasyonu çeşitli nörodejenerasyon mekanizmalarını içine almaktadır. Örneğin nörodejenerasyonu iskemik olay izlemekte ve LTP benzeri fenomenin patolojik aşırılığı bağlanma mekanizmalarına benzeyebilmektedir. Ca^{+2} girişi ve eşlik eden NMDAR ilgisi ile özellikle AMPAR aktivasyonundan nöronal hasar ortaya çıkmaktadır (195,197,200).

Glutamat aracılı nörotoksitede predispoze nöronlarda bozulmuş ATP üretimi metabolik inhibisyona yol açmaktadır. Hasarın şiddetlenmesi ile serbest O_2 radikalleri ortaya çıkmaktadır. Bozulmuş Ca^{+2} homeostazı ile sonuçta enerji metabolizması hasar görmekte ve bazı kronik nörodejeneratif hastalıklar belirginleşebilmektedir (195,197,200).

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarı ve Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları:

Bu çalışmada Wistar Albino cinsi toplam 36 adet, 4 aylık yetişkin erkek sıçan kullanıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar, özel bir medikal kuruluş tarafından temin edildi. Kontrol grubu (n=9), diyetlerine kolesterol eklenen grup (n=9), diyetlerine kolesterol eklenip ayrıca simvastatin uygulanan grup (n=9)ve sadece simvastatin uygulanan grup (n=9) şeklinde 4 gruba ayrıldı. Sıçanlar özel olarak hazırlanmış kafeslerde 6 hafta süreyle tutuldular. Standart ışık (12 saat gün ışığı / 12 saat karanlık), ısı (25° C)'da yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) ile toplam 6 hafta süreyle beslendiler.

Kontrol grubundan 1 ve kolesterol+simvastatin grubundan 1 adet olmak üzere toplam 2 adet sıçan çeşitli nedenlerle farklı zamanlarda kaybedildi.

Kontrol grubu, ağırlıkları 220±20 gr olan 4 aylık 9 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlara 6 hafta boyunca simvastatin ve simvastatin+kolesterol grubundakilerle aynı hacimde, serum fizyolojik oral gavaj yoluyla verildi.

Kolesterol grubu, ağırlıkları 240±16 gr olan 4 aylık 9 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki ratların yemlerine %95 saflıktaki kolesterol (Acros Organics) yem içindeki oranı %2 olacak şekilde eklendi (203,204).

Simvastatin+kolesterol grubu ağırlıkları 235±15 gr olan 4 aylık 9 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanların diyetlerine %2 oranında kolesterolün eklenmesine ek olarak, 6 hafta süreyle, günlük doz 20 mg/kg olacak şekilde

simvastatin (Merck Sharp & Dohme) günde bir kez, oral gavaj yoluyla uygulandı (205,206).

Simvastatin grubu ağırlıkları 230 ± 13 gr olan 4 aylık 9 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlara da 6 hafta süreyle, günlük doz 20 mg/kg olacak şekilde simvastatin günde bir kez, oral gavaj yoluyla uygulandı.

Sıçanlar 6 hafta süreyle devam eden oral gavaj ile ilaç verilmesini takiben 6. hafta sonunda aynı gün içerisinde, im. olarak uygulanan % 10'luk ketamin (Alfamin, Alfasan IBV.)-% 2'lik ksilazin (Alfazin, Alfasan IBV.) anestezisi altında dekapite edilerek deney sonlandırıldı.

Sıçanlar dekapite edilerek öldürüldükten sonra beyinleri ve kanları alındı. Filtre kağıtları soğuk fosfat tamponuyla ıslatılıp buz paketleri üzerine konarak hipokampus çıkartma düzeneği oluşturuldu. Dekapitasyondan hemen sonra bu düzenek üzerinde hipokampuslar çıkarılarak önceden hazırlanmış 50 mM fosfat tamponu içeren ependorf tüplerine konuldu ve toplanan tüm numuneler (plazma, beyin, hipokampus), analizin yapıldığı tarihe kadar -20°C 'de muhafaza edildi.

3.1.2. Kullanılan Malzemeler ve Aletler:

- | | |
|---------------------------------|---|
| 1- Soğutmalı santrifüj | : Eppendorf MR5415 (Almanya) |
| 2- Santrifüj | : Jouan B4İ (Fransa) |
| 3- Derin dondurucu | : Uğur (Türkiye) |
| 4- Hassas terazi | : Scaltec SPB 33 (İsviçre) |
| 5- Vorteks | : Nüve NM 100 (Türkiye) |
| 6- Otomatik pipetler | : Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa) |
| 7- Spektrofotometre | : Shimadzu UV 1601 (Japonya) |
| 8- pH metre | : Hanna Instruments (Portekiz) |
| 9- Manyetik karıştırıcı | : Nüve (Türkiye) |
| 10- Elektroforez cihazı | : EC Apparatus Corporation 250-90 (ABD) |
| 11- Biyokimya analizörü | : Roche/Hitachi Modular P800 (Almanya) |
| 12- Kodak İmage Station 2000 MM | : USA |
| 13- 8- Cam-Teflon homojenizatör | |

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler:

SDS-PAGE ve Western Blot İçin Kullanılanlar:

- Akrilamid : bisakrilamid % 30 T, % 2.6 C; Sigma (Almanya)
- Tris, Merck (Almanya)
- Glisin, Merck (Almanya)
- SDS, Merck (Almanya)
- APS, Merck (Almanya)
- TEMED, Merck (Almanya)
- 2-Merkaptoetanol, Merck (Almanya)
- Brom Fenol Blue, Merck (Almanya)
- Sodyum Klorür, Merck (Almanya)
- Tween 20, Merck (Almanya)
- Bovin Serum Albumin, Merck (Almanya)
- EDTA, Merck (Almanya)
- EGTA, Merck (Almanya)
- Leupeptin, Sigma (Almanya)
- Aprotinin, Sigma (Almanya)
- Benzamidin, Sigma (Almanya)
- Triton X-100, Sigma (Almanya)
- Immobilon-P, Sigma (Almanya)
- Kromotografi filtre kağıdı, Whatman (İngiltere)
- Metanol, Merck (Almanya)
- Hidroklorik Asit, Merck (Almanya)
- Anti NR2A, Sigma (ABD)
- Anti NR2B, Sigma (ABD)
- Monoklonal anti-rabbit IgG, Sigma (ABD)
- BCIP/NBT Phosphatase Substrate, Sigma (Almanya)
- Prestained Molecular Weight Marker, Sigma (ABD)

3.1.4. Kullanılan Çözeltiler:

SDS-PAGE ve Western-Blot İçin Kullanılanlar:

1- 4 x Lower Buffer: 1.5 M Tris HCl, pH: 8.8

36.3 g Tris 170 ml'ye distile su ile tamamlanıp pH'ı 8.8'e ayarlandı. Soğutulup pH'ı tekrar 8.8'e ayarlanır. 200 ml'ye distile suyla tamamlandı.

2- 4 x Upper Buffer: 0.5 M Tris HCl, pH: 6.8

12.1 g Tris, 170 ml'ye distile su ile tamamlanıp pH'ı 6.8'e ayarlandı. Soğutulup pH'ı yeniden 6.8'e ayarlandı. 200 ml'ye distile suyla tamamlandı.

Lower jel: (% 7.5'lük)

Distile su	4450 µl
Acril : bisacril % 30 T, % 2.6 C	2500 µl
4 × lower buffer (tris HCl, pH: 8.8)	2500 µl
% 10 SDS	100 µl
% 10 APS	450 µl
TEMED	10 µl

Upper jel: (% 4'lük)

Distile su	2920 µl
Acril : bisacril % 30 T, % 2.6 C	670 µl
4 × Upper buffer (tris-HCl, pH: 6.8)	1250 µl
% 10 SDS	50 µl
% 10 APS	200 µl
TEMED	10 µl

3- Homojenizasyon buffer: 50 mM Tris-HCl pH: 7.5, 0.15 M NaCl, 1 mM EDTA, 2 mM EGTA, 25 µg/ml Leupeptin, 25 µg/ml Aprotinin, 10 µM benzamidin ve % 1'lik Triton X-100 bulunacak şekilde total hacim 30 ml'ye tamamlandı.

4- Sample buffer:

Upper buffer (0.5 M Tris-HCl, Ph: 6.8)	2.0 ml
Gliserol	1.6 ml
% 10 SDS	3.2 ml
2-Merkaptoetanol	0.8 ml
% 0.1(w/v) Brom fenol blue	0.4 ml

5- Running buffer: 15 gr Tris, 72 gr Glisin, 5 gr SDS, pH 8.3'e ayarlanıp distile su ile 1 lt'ye tamamlandı. 5 kat sulandırılarak kullanıldı.

6- Transfer buffer: 0.606 gr Tris, 2.882 gr Glisin ve 1 ml % 10 SDS, distile su ile 160 ml'ye pH: 8.2-8.4 olacak şekilde tamamlandı. 40 ml metanol eklendi.

7- TTBS (Tris-Tween-Buffer Saline): 12.1 gr Tris, 17.5 gr NaCl, 2 ml Tween 20 (pipetle yavaşça çekildi, yoğun bir madde olduğu için) pH: 7.5 olarak ayarlanıp 2 litreye distile suyla tamamlandı.

8- Primer antikorlar: NR2A 1/3000 ve NR2B 1/5000 oranında, taze % 1 BSA-TTBS ile dilüe edilerek hazırlandı.

9- Sekonder antikor: Antirabbit IgG (Alkale fosfataz konjuge) 1:10.000 oranında, taze % 1 BSA-TTBS ile dilüe edilerek hazırlandı.

3.2. Metod

3.2.1 Hipokampus Örneklerinin Homojenizasyonu:

Hipokampuslar tartılıp, SDS-PAGE ve Western Blot prosedürü uygulanmak üzere ayrıldı. Aynı gruptaki farklı sıçanlara ait hipokampus örnekleri tartıldıktan sonra kontrol ve simvastatin+kolesterol gruplarındaki numuneler 2 adet 3'lü, 1 adet ikili gruplar oluşturacak şekilde birleştirildi. Kolesterol ve simvastatin gruplarındaki hipokampusler ise 3'şerli gruplar halinde birleştirildi ve ardından 1/5 oranında homojenizasyon tamponu ile karıştırılarak homojenize edildi. İlk adımda buz üzerinde teflon-cam homojenizatör ile 18-20 darbeye homojenizasyon yapıldı.

Homojenize edilen örnekler 10000 g'de +4°C'da soğutmalı santrifüjde 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Daha sonra süpernatantlarda SDS-PAGE ve Western Blot çalışıldı.

3.2.2. SDS-PAGE Yöntemi:

Laemmli'nin yöntemi esas alınarak çalışıldı (152). % 7.5'lik lower jel ve % 4'lük upper jel hazırlanıp, kuyucuk başına son konsantrasyonu 50 µgr protein olacak şekilde, doku homojenatı sample buffer'la 1/1 oranında karıştırılarak uygulandı.

3.2.3. Western Blot Yöntemi:

SDS-PAGE prosedürü ile örnekler jel üzerinde proteinlerine ayrıldı ve daha sonra polyvinylidene difluorid (PVDF) membrana (immobilon-P) transfer edilmek üzere transfer tankına alındı. Transfer prosedürü sonrası anti NR2A ve anti NR2B içeren solüsyonlarda bir gece boyunca bekletildi. Daha sonra sekonder antikorla 1 saat süre ile inkübe edilen membranlar, taze hazırlanan BCIP/NBT solüsyonunda yeterli boyanma sağlanana kadar bekletildi. Oluşan bantlar Kodak İmage Station 2000 MM cihazı kullanılarak tarandı. Elde edilen bant yoğunlukları her bir reseptör subuniti için kendi arasında karşılaştırıldı.

3.2.4. Serum Total Kolesterol Düzeylerinin Saptanması

Sıçanlardan 4'er ml kan alınarak jelli tüplere aktarıldı. Kanların pıhtılaşmaları için 30 dakika beklendikten sonra 4000 rpm hızda dört dakika santrifüj edildiler. Serumlar ayrıldıktan sonra biyokimya otoanalizörüne yüklenerek kolesterol değerleri saptandı.

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler “SPSS 11.0 for Windows” paket programı kullanılarak yapıldı. NR2A ve NR2B reseptör düzeyleri için, genel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı Kruskal-Wallis varyans analiziyle değerlendirildi. Grupların birbiriyle karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Western Blot sonuçları yüzde ortalama \pm SD olarak verildi. Grupların serum total kolesterol düzeylerinin karşılaştırılmasında One-Way Anova ve Independent Sample-T Test P değerinin 0.05’den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. SONUÇLAR

4.1. Western Blot Analizi ile Saptanan NR2A, NR2B Reseptör Düzeyleri

NR2A reseptör yoğunlukları değerlendirildiğinde; kolesterol ve simvastatin gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenirken ($p < 0.05$) kolesterol+simvastatin grubunda anlamlı değişim saptanmamıştır ($p > 0.05$). Ayrıca simvastatin ve simvastatin+kolesterol gruplarında kolesterol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükselme gözlenmiştir. Ancak simvastatin ve simvastatin+kolesterol grupları arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).

NR2B reseptör yoğunlukları analizinde; Simvastatin ve simvastatin+kolesterol gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu ($p < 0.05$) ancak kolesterol grubunun anlamlı derecede değişmediği saptandı ($p > 0.05$). Simvastatin ve simvastatin+kolesterol grupları ayrıca kolesterol grubundan da anlamlı düzeyde yüksek bulundular ($p < 0.05$). Ancak Simvastatin ve simvastatin+kolesterol grupları arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$). (Sonuçlar tablo 1 ve şekil 5 ve şekil 7 de gösterilmektedir).

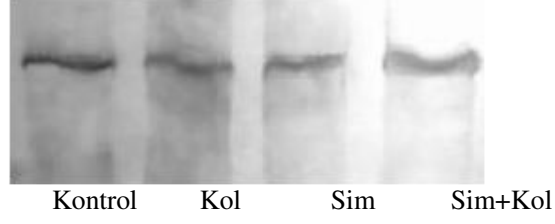
Gruplar	NR2A (optik dansite)	NR2B (optik dansite)
Kontrol n=8	100	100
Kolesterol n=9	85,06±5,10 ^a	103,10±3,82
Simvastatin n=9	129,10±17,52 ^{a,b}	152,31±17,31 ^{a,b}
Simvastatin+Kolesterol n=8	125,2±28,32 ^b	161,70±3,76 ^{a,b}

Tablo 1: Tüm gruplarda NR2A, NR2B reseptörlerinin yüzdelik cinsinden yoğunlukları ortalama ve \pm SD değerleri

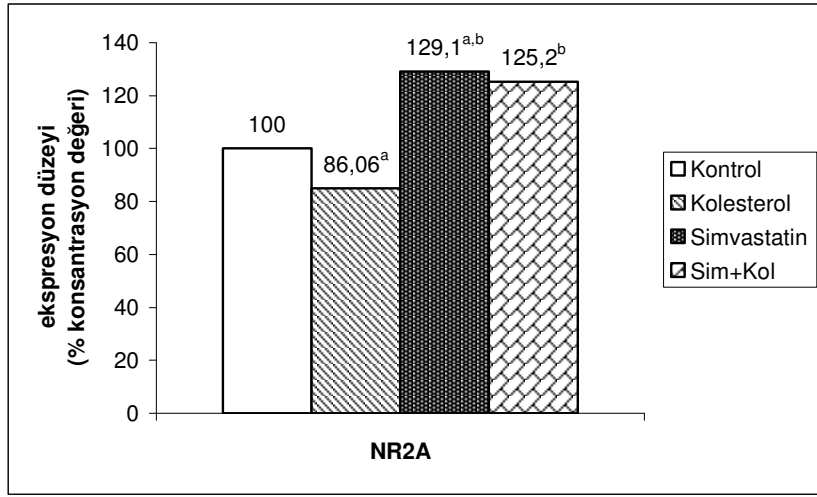
a : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

b: Kolesterol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

NR2A



Şekil 4: NR2A'ya ait Western Blot örneği

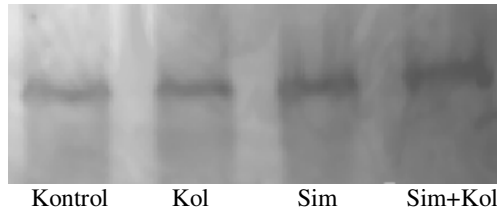


Şekil 5: Sonuçlar kontrol grubu 100 kabul edilip kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir.

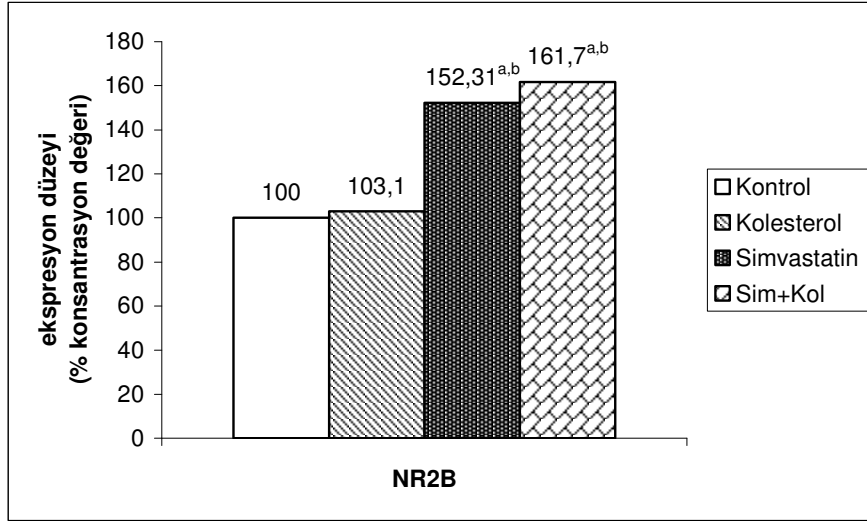
a : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

b: Kolesterol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

NR2B



Şekil 6: NR2B'ye ait Western Blot örneği.



Şekil 7: Sonuçlar kontrol grubu 100 kabul edilip kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir.

a : Kontrole grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

b: Kolesterol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

4.2. Serum Total Kolesterol Düzeyleri

Grupların serum total kolesterol düzeyleri değerlendirildiğinde kolesterol ve simvastatin+kolesterol gruplarında, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yükselme olduğu saptandı. Kolesterol grubuyla karşılaştırıldığında Simvastatin grubunda anlamlı düzeyde düşük bulundu. Ayrıca simvastatin grubuyla, kolesterol ve simvastatin+kolesterol grupları arasında anlamlı fark gözlemlendi (tablo 2).

Gruplar	Kontrol	Kolesterol	Simvastatin	Simvastatin+Kolesterol
Serum total kolesterol düzeyleri (mg/dl)	53,0±7,29	76,25±19,60 ^{a,c}	45,63±11,62 ^b	72,25±14,71 ^{a,c}

Tablo 2: Tüm gruplarda serum total kolesterol düzeyleri (mg/dl) ortalama ve \pm SD değerleri

a : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

b: Kolesterol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar

c: Simvastatin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

5. TARTIŞMA

Etkinlikleri ve yan etki potansiyellerinin düşüklüğü sebebiyle statinler en yaygın olarak kullanılan lipit düşürücü ajanlardır. Statinlerle ilgili çalışmaların çoğu koroner kalp hastalıklarındaki önleyici ve tedavi edici etkileriyle alakalı olmasına rağmen, yakın zamanda elde edilen veriler statinlerin pek çok hücrel işlevi etkileyebileceklerini göstermektedir. Örneğin simvastatinin, inflamatuvar olayların ana medyatörleri olan sitokin seviyelerini ve Na^+/K^+ pompası akımını düzenleyebilecekleri bildirilmektedir. Ayrıca statinlerin endotelial fonksiyonları düzenleyerek ve eNOS sentezini artırarak serebral kan akımını iyileştirebileceği ve iskemi oluşturulan tavşan ekstremiteğinde anjiogenezi uyardığı belirtilmektedir. Bunların yanında statinlerin AH ve inme gibi nörodejeneratif hastalıklarda faydalı olduğu ve nöroprotektif etki oluşturduğu da savunulmaktadır (207). Ancak statinlerin bu nöroprotektif etkileri hangi mekanizmayla oluşturdukları bilinmemektedir. Ayrıca MSS üzerindeki etkilerinin kolesterol düzeyinin düşürülmesi sonucu mu, yoksa diğer sistemler üzerindeki pleiotrofik etkileriyle mi olduğu da açık değildir.

Kolesterol MSS gelişiminin bütün aşamalarında, yapısal ve fonksiyonel birimlerin önemli bir bileşeni olarak işlev görür. MSS kolesterol dengesinin bozulması AH gibi nörolojik bozukluklara yol açabilmektedir (208). AH ile plazma total kolesterolü arasında ilişki olduğunu gösteren pek çok çalışma olmasına rağmen bunun tersi görüşler de savunulmaktadır. Kivipelto ve arkadaşları 2002 yılında yayınlanan prospektif çalışmalarında, plazma kolesterol seviyesi yüksekliğinin AH için bağımsız bir risk faktörü olduğunu öne sürmüşlerdir (10). Epidemiyolojik çalışmalarda serum kolesterolü yüksek olan ve ApoE/E4 alleli taşıyan bireylerde AH oluşumunun daha erken gerçekleştiği gösterilmiştir (208). Ayrıca orta yaş veya erken yaşlılıktaki yüksek kolesterolün ileri yaşlarda AH oluşum riskiyle ilişkili olduğu belirtilmektedir (208). Yine Finlandiya'da yapılan bireylerin 21 yıl süreyle izlendiği prospektif çalışmada orta yaşlılarda yüksek kolesterolün yaşlılık çağında AH oluşum riskiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (209). Bunlara ek olarak AH transgenik fare modellerinde, yüksek kolesterol içeren diyetle beslemenin, beyindeki kolesterol seviyesini yükselttiği gibi, (14) β -amiloid birikimini de artırdığı gösterilmiştir(15,16). Yine yüksek kolesterollü diyetle beslenen farelerin beyin

dokularında anlamlı oranda (1.92 mg/g) kolesterol artışı saptanmıştır (79). Pek çok deneysel çalışmada, kolesterol içeriğinin modifiye edilmesi APP ve A β ekspresyonunu etkilemektedir (208). Örneğin hipokampal nöron kültürlerinde, kolesterol miktarının azaltılmasının A β üretiminde geri dönüşlü bir azalmaya sebep olduğu belirtilmektedir (210). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada Alzheimer hastalarında ve 24 aylık yaşlı ve fazla miktarda APP eksprese eden transgenik farelerin senil plaklarda kolesterol biriktiği bildirilmektedir (208). Bu bulgular plazma kolesterol konsantrasyonunun, beyindeki kolesterol düzeyini ve β -amiloid birikimini etkileyebileceğini göstermektedir. Yinede plazma lipoproteinlerinin kan beyin bariyerinden geçişinin sınırlı olduğu bilindiği için kurulan bu ilişki açık değildir.

Lipitler membranların yapısal ve fonksiyonel bütünlükleri için mutlaka gereklidirler. Membran lipitleri rasgele dağılmayıp, lipit kümeleri adı verilen alanlarda daha yoğun şekilde yerleşirler. Yakın zamandaki veriler bu membran lipit alanlarının AH'nın hedef bölgeleri olma ihtimallerini savunmaktadır (80). Ayrıca yüksek kolesterolü diyetle beslenmenin beyin lipit alanlarını etkileyebileceği belirtilmektedir (79). Beynin total kolesterol miktarında önemli değişme olmadığı halde, beyin lipit alanlarında, özellikle kolesterol alanlarında geniş değişimler gerçekleşebilir. Kolesterol ve AH arasında bir ilişki bulunduğu kesindir. Ancak AH olan bireylerin veya hayvan modellerinin beyinlerinde kolesterol sentezi veya metabolizmasının değişip değişmediği henüz bilinmemektedir. Veriler çelişkilidir, örneğin; Alzheimer hastaları veya AH hayvan modellerinde beynin toplam kolesterol içeriği ancak küçük değişiklikler göstermektedir. Buna karşı alternatif yaklaşım ise, toplam kolesterol içeriğinde değişiklik yerine, nöronal membrandaki kolesterol alanlarının yapı veya fonksiyonlarındaki değişimlerin A β dinamiklerini etkileyerek AH da önemli rol oynadığını savunmaktadır (77).

Bunlara karşılık deneklerin 7 yıl süreyle gözlendikleri bir çalışmada ve Framingham çalışmasında serum kolesterolü ile AH arasında ilişki bulunamamıştır (211). Benzer şekilde AH, vasküler demanslı veya sağlıklı bireylerde serum kolesterolünde bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (208). Çok yakın bir zamanda yapılan hastaların 70 yaşından başlayarak 18 yıl boyunca izlendiği çalışmada; 70, 75 ve 79 yaşlarında total kolesterol düzeyinin artması 79-88 yaşları arasında demans riskinin azalmasıyla ilişkili bulunmuştur. Kolesterol seviyelerine göre dört çeyreğe

ayrılan hastalardan AH riskinde azalma en fazla en yüksek kolesterolü çeyrekte görülmüştür (212). Bu çelişkili sonuçlar kolesterol ölçümünün yapıldığı yaş ve demansın klinik gelişimiyle ilişkili olabilir (212). 40 yaşın üzerindeki bireylere otopsi yapılan bir retrospektif çalışmada, total kolesterolde orta derecede artışın beyinde amiloid patolojisi ve AH ile ilişkisi olabileceği gösterilmiştir. Buna rağmen sadece 55 yaşın üzerindeki denekler değerlendirilince ilginç olarak plazma kolesterol düzeyiyle amiloid birikimi arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır (208). Plazma ve beyin kolesterol düzeyiyle AH ilişkisine dair veriler; özellikle orta yaş grubu bireylerde plazma kolesterolünün yüksek olmasının AH gelişim riskini artırabileceği ve Alzheimer hastalarında gözlenen MSS kolesterol içeriğindeki azalmanın ise hastalığın sebebi olmaktan çok sonucu olabileceği düşündürür.

Yapılan klinik ve deneysel çalışmalar statinlerin özellikle iskemik inme ve AH gibi nörodejeneratif hastalıklara karşı nöroprotektif etkileri olabileceğini ortaya koymaktadır. İskemik inme yaşlılarda kalıcı fonksiyon kaybı ve ölüme sebep olan önemli sebeplerden biridir. İnme ayrıca, perinatal dönemde de ortaya çıkarak motor, kognitif ve davranışsal fonksiyonlarda ciddi kalıcı bozukluklara sebep olabilmektedir (213). Hipoksi-iskemi ile uyarılan beyin hasarının davranışsal sonuçlarını ve simvastatinin muhtemel faydalı etkisini değerlendirilmek için 7 günlük ratların tek taraf karotis arterleri bağlanarak hipoksik ortama 2 ve 3 saat sürelerle maruz bırakıldıkları çalışma sonucunda, kan beyin bariyerini geçen bir statin olan simvastatin yenidoğan hipoksi ve iskemik modelinde oluşan beyin hasarı ve onun davranışsal sonuçları açısından anlamlı derecede nöroprotektif etki gösterdiği belirtilmektedir (213). Bu çalışmada uygulanan davranışsal testlerden biri olan dairesel water maze de kontrol grubu ile simvastatin uygulanan gruptaki ratlar gizlenmiş platformu eşit zamanlarda bulurken iskemi gruplarına bu süre anlamlı derecede uzun olduğu, ayrıca histolojik incelemelerde simvastatin uygulanan iskemik hayvanlarda, infarkt alanının ve hacim kaybının daha az olduğu gözlenmiştir (213). Statinlerin bu muhtemel nöroprotektif özellikleriyle iskemik hasar sonucu oluşan patofizyolojik etkilerin şiddetini kolesterol düşürücü etkisinden bağımsız olarak azaltabilecekleri düşünülmektedir (213).

Yapılan pek çok gözlemsel çalışmada statin tedavisinin AH için potansiyel tedavi edici faydalar sağladığı gösterilmiştir. İn vitro ortamda APP içeren insan

böbrek embriyonik hücre dizilerine lovastatin uygulandığında hücre içi kolesterolün azaldığı ve APP de β amiloid parçacıkların oluşumunu sağlayan β sekretaz faaliyetinde azalmaya sebep olduğu görülmüştür (165). Bu sayede lovastatinin AH da senil plak bileşenlerinin yapımını azalttığı belirtilmektedir. Yapılan retrospektif bir çalışmada lovastatin ve pravastatin alan bireylerde kardiyovasküler hastalıklarıyla ilgili başka tedaviler alan hastalara oranla muhtemel AH prevalansının %63-70 daha düşük olduğu saptanmıştır (186). Benzer başka bir çalışmada ise statin alan hastalarda, diğer lipit düşürücü ilaçları alan kontrol grubuna oranla, klinik olarak demans ve AH gelişme olasılığının %71 daha az olduğu gösterilmiştir (187). Kolesterol düzeyi normal hafif dereceli Alzheimer hastalarına 6 ay süreyle simvastatin uygulanan plasebo kontrollü çift kör bir çalışmada MSS'de A β seviyelerinin azaldığı saptanmıştır (214). Yine yakın zamanda yapılan bir çalışmada hafif ve orta derecede AH olan 63 kişide statin kullanımının kognitif gerilemeyi yavaşlattığı ve hastalıkla ilişkili bazı depresif semptomları iyileştirdiği gözlenmiştir. 50 yaş ve üzerindekilerde statin kullanımının klinik olarak tanı konan demans riskini %70'e kadar düşürebileceği belirtilmektedir (215).

Bunun yanında statinlerin AH riskinde meydana getirdiği azalma diğer lipit düşürücü ajanlar tarafından sağlanamamaktadır. Örneğin, bir vaka kontrol çalışmasında statin kullananlarda AH riskinin, hiperkolesterolemisi olmayan veya diğer lipit düşürücü ajanları kullananlara oranla %70'e kadar azaldığı saptanmıştır (216). Bu veriler statinlerin nöroprotektif etkilerinin kolesterol düşürücü etkisinden bağımsız başka yollarla gerçekleşebileceğini düşündürmektedir. Statinlerin in vivo ve in vitro antiinflamatuvar etkilerinin, ayrıca serebrovasküler sistem üzerine etkinliklerinin, AH ve inme gibi nörodejeneratif hastalıklardaki faydalarının bir kısmının sebebi olabilir ancak bu nöroprotektif etkilerinin mekanizması henüz açık değildir.

Yaşlı hayvanlarda yapılan standart testlerde, hafıza ve spatial öğrenmede bozukluklar olduğu görülmüştür. Bu bozuklukların hücresel ve moleküler mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Fakat bu defisitlerin temelinde özellikle hipokampüste yoğun olarak bulunan NMDAR'nin büyük rol oynadığı düşünülmektedir. NMDAR'ın, öğrenme ve belleğin hücresel substratı varsayılan LTP'nin bazı formlarının indüksiyonunda esas rolü oynadığı düşünülmektedir. Yaşlı

ratlarda yapılan bazı çalışmalarda NR1 ve özellikle NR2B subunitlerinin ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Bunun sonucunda öğrenme, bellek ve LTP'deki yaşa bağlı defisitlerin altında yatan mekanizmanın NR1 ve özellikle de NR2B subunitlerindeki azalma olduğu düşünülmüştür. Alzheimer hastalarının beyinlerinde hem nöronal nikotik ACh reseptörlerinin hem de NMDA reseptörlerinin down regulasyona uğradığı görülmüştür (217). AH'nin nöropatolojisinin ilerlemesi ile birlikte NR1/2B subunitlerinin mRNA ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığı fakat NR2A subunit ekspresyonunun değişmediği görülmüştür (218). Alzheimer hastalarında NMDA reseptörlerinin, özellikle de NR1 ve NR2B subunitlerinin azalmasının, hafıza bozukluğuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir (217). Wang ve arkadaşları AH sebebiyle ölen hastaların ve kontrol grubu bireylerin beyinlerinde, hipokampus, frontal korteksde NMDA reseptör subunit düzeylerini saptamışlardır. Sonuçta hipokampus, frontal korteksde NR1, NR2A ve NR2B subunit düzeylerinde orta dereceli azalma olduğu bulunmuştur (191). Bunlara ek olarak NMDA reseptörleri üzerinde sınırlı, non-kompetitif inhibisyon oluşturan memantin AH tedavi seçeneklerinden biri olarak klinik kullanıma girmiştir. Bu veriler NMDA reseptörlerinin AH etyopatogenezinde rol oynayabileceğini ve ayrıca hastalık progresyonu sırasında etkilenen beyin bölgelerinde reseptör düzeyi ve aktivitesinin değişebileceğini düşündürmektedir.

Statin kullanımının ve hiperkolesteroleminin, NMDA reseptör düzeylerine etkisiyle ilgili daha önce yapılmış in vivo çalışma bulunmamaktadır. Ancak nöronal hücre kültürü modellerinde, değişik dozlar ve kullanım sürelerinde, farklı statinler uygulanarak NMDA reseptör aktivitesine etkileri değerlendirilmiştir. Anna ve arkadaşlarının (219) yapmış olduğu çalışmada; fare embriyonik neokorteksinden hazırlanan nöronal hücre kültürlerine 6 gün süreyle simvastatin uygulanıp ardından hücreler NMDA'ya maruz bırakılmış ve NMDA reseptör uyarımıyla oluşan hücre hasarının bir belirteci olan nöronal LDH salınımının anlamlı düzeyde azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca immünfloresan mikroskopıyla NMDA reseptörü içeren hücreler incelendiğinde simvastatin ön uygulaması yapılan hücrelerde apoptozisin anlamlı düzeyde daha az olduğu saptanmıştır (219). Simvastatin uygulanan nöron dizilerine mevalonat ve kolesterolle muamele edildiğinde ise, simvastatinin nöroprotektif etkisi engellenmiştir. Ayrıca nöronlara yine 6 gün süreyle kolesterol yüklemesi

yapıldığında NMDA ile uyarılan eksitotoksik etkileri artırdıkları gözlenmiştir. Benzer şekilde düzenlenen başka bir çalışmada, primer kortikal nöronlara 96 saat süreyle 1 μ M konsantrasyonda atorvastatin ön uygulaması yapıldıktan sonra in vitro onuncu günde, 50 μ M glutamat uygulandığında faz kontrast mikroskopi görüntüleri, propidyum iyodür boyamaları ve hücre sayımıyla birlikte değerlendirildiğinde atorvastatin ön uygulamasının kortikal nöronlarda glutamat eksitotoksitesini anlamlı düzeyde azalttığı gösterilmiştir (220). Doz ve uygulama zamanının etkilerini saptamak için farklı konsantrasyonlarda atorvastatin ön uygulaması 24, 48, 72 ve 96 saatlik sürelerde yapıldığında, 100nM ve 1 μ M atorvastatin sadece 48 ve 96 saatlik ön uygulamalarda anlamlı koruma sağlarken 24 saat uygulamada koruma gözlenmemiştir. Atorvastatin ön uygulamasının eksitotoksitesiyi azaltıcı etkilerinin HMGC_oA redüktaz inhibisyonu ile ilişkili olup olmadığını kanıtlanmasında için nöronal kültürlerle eş zamanlı olarak farklı dozlarda ve sıklıkta mevalonatın birlikte uygulanması glutamat eksitotoksitesine karşı korumada gecikme ve zayıflama oluşturmamıştır. Bu bulgular Anna ve arkadaşlarının (2003) çalışmasında belirtilen şekilde kolesterol ve mevalonat uygulamasıyla nöroprotektif etkinin engellendiği şeklindeki gözlemlerle çelişmektedir. Statinlerin nöronlar üzerine, pleiotrofik etkilerinden bağımsız direk etkilerinin inme veya nörodejeneratif hastalıklardaki faydalı etkilerine katkısı olup olmadığı henüz açık değildir.

Bizim çalışmamızda simvastatin uygulanan gruplarda NMDA reseptör subunitlerinden hem NR2A hem de NR2B'nin ekspresyon düzeylerinde kontrol grubuna göre artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar yukarıda bahsettiğimiz hücre kültürü çalışmalarına ters görülmesine rağmen, bu çalışmaların düzenlenme ve değerlendirilme şekilleri bizim yürüttüğümüz çalışmadan tamamiyle farklıdır. Hücre kültürlerine kısa süreli (4-6 gün) statin ön uygulaması yapıldıktan sonra NMDA'ya maruz bırakılarak akut ve kuvvetli bir reseptör uyarımı ve nöronal hasar düzeneği oluşturulmuştur. Oysa fizyolojik şartlarda NMDA reseptörleri glutamatla belli düzeylerde uyarımı MSS'de önemli işlevler yürütmektedir. Yapılan deneyler CA1 hipokampal NMDA reseptörlerinin hipokampüse bağımlı spatial ve non-spatial hafızaların oluşması için gerekli olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle NMDA NR2B subunitinin fazla ekspresyonunun spatial öğrenme ve hafızayı, NMDAR fonksiyonunu ve LTP'yi artırdığı görülmüştür (201). Öğrenme ve hafıza işleminin

temelinde NMDA reseptörlerinin katıldığı sinaptik aktivite vardır ve AH patolojisinin selektif olarak hedef aldığı nokta da burasıdır.

MSS'nin gelişimi ve birçok fonksiyonlarında önemli rolü olan kolesterolün buradaki düzeyi sağlıklı bireylerde oldukça dar aralıklarda değişim göstermektedir. Çalışmamızda oral yolla uyguladığımız simvastatin lipofilik özelliktedir ve kan beyin bariyerini belli oranlarda geçerek MSS'de etkin olabileceği düşünülmektedir. Yapılan klinik çalışmalarda bazı statinlerin, beyin kolesterol dengesiyle ilgili bilgi veren BOS belirteçlerini değiştirdikleri gösterilmiştir. Örneğin, yüksek doz simvastatin uygulaması sonucu kolesterol biyosentez ara ürünü olan lathosterol ve beyinden kolesterolün dışarı verilmesinde ana form olan 24-hidroksikolesterol düzeylerinin düştüğü görülmüştür (219). Yine statin tedavisi alan hiperkolesterolemik hastalarda BOS kolesterol ve lathosterol seviyelerinin anlamlı oranda düştüğü belirtilmektedir (219). Eğer MSS kolesterol dengesindeki bu değişikliklerle birlikte nöronal membran kolesterolü de azalıyorsa, NMDA reseptörlerinin membranlardaki düzeyleri ve bu reseptörler aracılığıyla yürütülen işlemler değişebilir. Nöronal membran kolesterolünün azalması NMDA reseptörü ile yürütülen işlemlerde derin etkiler oluşturabilir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda NMDA reseptörlerinin nöronal membranda lipit mikroalanları denilen kolesterolden zengin bölgelerde yoğunlaştıkları belirtilmektedir. Statinler bu lipit mikroalanlarının sterol içeriğini değiştirerek bu alanlarla ilişkili proteinlerin lokalizasyonlarını, içerik ve fonksiyonlarını etkileyebilirler. Sonuç olarak, NMDA reseptörlerinin veya ilişkili yapılarının fonksiyonlarındaki değişimler yeni reseptör yapımının uyarılması ile gözlenen şekilde NR2A ve NR2B subunit ekspresyonlarının artmasına sebep olabilir. Daha önce bahsettiğimiz gibi Alzheimer hastalarında NMDA reseptörlerinin, özellikle de NR1 ve NR2B subunitlerinin azalmasının, hafıza bozukluğuna katkıda bulunduğu ve AH'nin nöropatolojisinin ilerlemesi ile birlikte NR1 ve NR2B subunitlerinin mRNA ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığı düşünülmektedir (217,218). Bu şekilde statinlerin NMDA reseptör subunit düzeylerini artırma etkileri, AH ve diğer nörodejeratif hastalıklardaki faydalarının oluşumunda rol sahibi olabilir.

Çalışmamızda statin uygulanmayan, yalnızca diyetlerine kolesterol eklenen ratlarda NR2A subunit düzeyinde kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşme

gözlenirken, NR2B ekspresyonunun kontrol grubuyla hemen hemen aynı düzeyde olduğu saptanmıştır. Ayrıca simvastatin grubu ile simvastatin+kolesterol gruplarının, hem NR2A hem de NR2B subunit ekspresyon düzeyleri birbirlerine oldukça yakın değerlerde ve kolesterol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Daha öncede bahsettiğimiz gibi beyin ve omuriliğin gelişimi için gereken kolesterolün neredeyse tamamının MSS'de endojen olarak sentezlendiği, serum lipoproteinlerinden kolesterol alımının ancak sınırlı düzeyde olabileceği belirtilmektedir (24,25). Ayrıca serum kolesterol yüksekliği ile AH arasında ilişki olup olmadığı konusundaki çalışmalar çelişkili sonuçlar vermektedir. Bu bilgiler ışığında, kolesterol grubunda NR2A subunit düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla düşük bulunması, yüksek serum kolesterolünün MSS kolesterol dengesini değiştirmesi ile ilgili bilgi vermemekle birlikte, NMDA reseptör subunit düzeylerine etkileri olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak lipofilik ve potent bir statin olan simvastatinin kognitif fonksiyon üzerine etkilerinin NMDAR'larla ilişkili olabileceği hipotezi üzerinden yola çıkarak NMDAR subunitlerinden NR2A ve NR2B western blot yöntemi ile incelediğimiz çalışmamızda; simvastatin uygulamasıyla NR2A ve NR2B subunitlerinin ekspresyonlarında anlamlı artış gerçekleştiği saptanmıştır. Bu sonuçlar, statinlerin AH ve diğer nörodejeneratif hastalıklardaki faydalarının, NMDA reseptör subunit düzeyleri üzerindeki etkileri yoluyla gerçekleşebileceğini düşündürmektedir. Bu çalışma da kullandığımız sağlıklı ratlar yerine AH modeli oluturulan hayvanların kullanılması ve ilaç kullanım süresinin uzatılması statinlerin nörodejeneratif hastalıklardaki etkilerinin ve NMDA reseptörleriyle ilişkilerinin açıklanmasına katkı sağlayabilir.

ÖZET

Hiperkolesterolemi Oluşturulan Ratlarda, HMGCoA Redüktaz İnhibitörü İlaçlarla (Statinler) Tedavinin Hipokampal NMDA Reseptörü Subunitlerine Etkisi

MSS'nin kolesterol dengesinin bozulması serebrovasküler patolojiler yanında nörodejeneratif bozukluklara da yol açabilmektedir. Bu bozukluklar arasında özellikle ileri yaşlardaki bireylerde sıklığı %32'ye kadar varabilen ve ilerleyici kognitif gerilemeyle karakterize olan Alzheimer Hastalığı'nın plazma veya beyin kolesterol düzeyleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kolesterol sentezini inhibe eden ve hiperkolesterolemi tedavisinde yaygın olarak kullanılan statinlerin günümüzde AH tedavisi için kullanılmaları tartışılmaktadır. Geriye dönük epidemiyolojik çalışmalarda hiperkolesterolemi tedavisi için statin kullanılmasının AH riskini % 40-70 azalttığı gösterilmiştir. Bunun yanında statinlerin lipit düşürücü etkilerinden bağımsız olarak nöroprotektif etkiler oluşturabileceği de düşünülmektedir. İyonotropik glutamat reseptörleri olan NMDA reseptörlerinin öğrenme ve bellek oluşumuna aracılık ettikleri, ayrıca demans ve AH patogeneziyle ilişkilerinin olduğu belirtilmektedir. Ancak AH'nın oluşumuyla ilgili etyolojik mekanizmalar henüz açık değildir.

Biz çalışmamızda hiperkolesteroleminin NMDA reseptör subunit düzeylerine etkisini ve potent bir statin olan simvastatin uygulamasının, MSS'deki muhtemel nöroprotektif etkilerinin NMDA reseptör subunitleriyle ilişkili olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Bunun için 4 aylık erkek ratlar kontrol, kolesterol, simvastatin ve simvastatin+kolesterol şeklinde gruplara ayrıldı. 6 hafta süreyle kolesterol ve kolesterol+simvastatin gruplarının yemlerine kolesterol eklenirken, simvastatin ve simvastatin+kolesterol gruplarına, oral yolla simvastatin ve kontrol grubuna ise serum fizyolojik uygulaması yapıldı. Bu sürenin sonunda hayvanlar dekapite edilerek hipokampusları çıkarıldı ve NR2A ve NR2B subunitleri Western Blot yöntemi ile çalışıldı.

Simvastatin grubu NR2A subunit seviyesi ile simvastatin ve simvastatin+kolesterol gruplarında NR2B subunit düzeyleri kontrole göre anlamlı düzeyde artmış bulundu. Kolesterol grubu NR2A düzeyleri kontrol grubundan anlamlı oranda düşük bulunurken NR2B subunit düzeylerinde fark saptanmadı.

Sonuç olarak elde ettiğimiz veriler statinlerin AH ve diğer nörodejeneratif hastalıklardaki faydalarının, NMDA reseptör subunit düzeyleri üzerindeki etkileri yoluyla gerçekleşebileceğini düşündürmektedir. Ancak AH modeli oluşturulan hayvanlarla çalışılması ve ilaç kullanım süresinin uzatılması statinlerin nörodejeneratif hastalıklardaki etkilerinin ve NMDA reseptörleriyle ilişkilerinin açıklanmasına daha fazla katkı sağlayabilir.

Anahtar kelimeler: Alzheimer, kognitif fonksiyon, NMDA reseptörleri, statinler

SUMMARY

The Effects of Treatment with HMGCoA Reductase Inhibitors (statins) on Hippocampal NMDA Receptor Subunits in Hypercholesterolemia Constituted Rats

The impairment of cholesterol balance in CNS, may lead to neurodegenerative disorders in addition to cerebrovascular pathologies. One of these disorders is Alzheimer Disease (AD) characterized with progressive cognitive impairment in elder people and thought to be concerned with plasma and brain cholesterol levels. Today there is a debate about the usage of statins -which inhibit de novo cholesterol biosynthesis, and represent the most efficient agents in treatment of hypercholesterolemia- in AD. In retrospective studies, it was showed that long term usage of statins in treatment of hypercholesterolemia reduces the risk AD at percentages of 40-70. Moreover it is thought that they may have neuroprotective effects independent from cholesterol lowering. NMDA receptors, being a member of ionotropic glutamate receptors, are reported to mediate formation of learning and memory, also related with pathogenesis of dementia and AD. But etiologic mechanism of relation to AD, yet, is not clear.

In this study we aimed to investigate the effect of hypercholesterolemia on hippocampal NMDA receptor subunits, and to ascertain whether the potential neuroprotective effects of statins are associated with NMDA receptors. Therefore we grouped four months old rats as: control, cholesterol, simvastatin, simvastatin+cholesterol groups. Cholesterol was added to chows of cholesterol and cholesterol+simvastatin groups; simvastatin is administered by oral gavage to simvastatin and cholesterol+simvastatin groups; 0.9% saline is given by the same way to controls for six weeks at the end of which the animals are decapitated, hippocampus tissues are excised and analyzed for NR2A and NR2B subunits by Western Blotting.

NR2A subunit levels of simvastatin group and NR2B subunit levels of simvastatin and simvastatin+cholesterol groups are found to increase significantly in compared to the control. NR2A levels decreased significantly compared to the control, whereas NR2B subunits did not differ in cholesterol group.

In conclusion, our data suggest that the benefits of statins on AD or other neurodegenerative disorders may emerge via their effects on NMDA receptor subunit levels. Further studies with AD animal model and longer treatment regimes would help clarify the effects of statins on neurodegenerative disorders and their relations to NMDA receptors.

Key words: Alzheimer, cognitive function, NMDA receptors, statins

KAYNAKLAR

1. Cook RP. Cholesterol. Chemistry, biochemistry, and pathology. New York: **Academic Pres.** p1–542, 1958
2. Dietschy JM, Turley SD. Thematic review series: brain lipids. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. **J Lipid Res.** 45:1375–97, 2004
3. Lange Y, Swaisgood MH, Ramos BV, Steck TL. Plasma membranes contain half the phospholipid and 90% of the cholesterol and sphingomyelin in cultured human fibroblasts. **J Biol Chem.** 264:3786–93, 1989
4. Spady DK, Dietschy JM. Sterol synthesis in vivo in 18 tissues of the squirrel monkey, guinea pig, rabbit, hamster, and rat. **J Lipid Res.** 24:303–315, 1983
5. Dietschy JM, Turley SD, Spady DK. Role of liver in the maintenance of cholesterol and low density lipoprotein homeostasis in different animal species, including humans. **J Lipid Res.** 34:1637–59, 1993
6. Dietschy JM, Turley SD. Control of cholesterol turnover in the mouse. **J Biol Chem.** 277:3801–3804, 2002
7. Bjorkhem I, Lutjohann D, Breuer O, Sakinis A, Wennmalm A. Importance of a novel oxidative mechanism for elimination of brain cholesterol turnover of cholesterol and 24(S)-hydroxycholesterol in rat brain as measured with $^{18}O_2$ techniques in vivo and in vitro. **J Biol Chem.** 272: 178–84,1997
8. Lund EG, Xie C, Kotti T, Turley SD, Dietschy JM, Russell DW. Knockout of the cholesterol 24-hydroxylase gene in mice reveals a brain-specific mechanism of cholesterol turnover. **J Biol Chem.** 278:22980–8, 2003
9. Silvestrelli G, Lanari A, Parnetti L, Tomassoni D, Amenta F. Treatment of Alzheimer's disease: From pharmacology to a better understanding of disease pathophysiology. **Mech. Ageing Dev.** 127:148–157, 2006
10. Kivipelto M, Helkala EL, Laakso MP, Hanninen T, Hallikainen M, Alhainen K, et al. Apolipoprotein E epsilon4 allele, elevated midlife total cholesterol level, and high midlife systolic blood pressure are independent risk factors for late-life Alzheimer disease. **Ann Intern Med.** 137:149–55, 2002
11. Tan ZS, Seshadri S, Beiser A, Wilson PW, Kiel DP, Tocco M, et al. Plasma total cholesterol level as a risk factor for Alzheimer disease: the Framingham Study. **Arch Intern Med.** 163:1053–7, 2003
12. Svennerholm L, Bostrom K, Jungbjer B, Olsson L. Membrane lipids of adult human brain: lipid composition of frontal and temporal lobe in subjects of age 20 to 100 years. **J Neurochem.** 63:1802–11, 1994.
13. Svennerholm L, Gottfries CG. Membrane lipids, selectively diminished in Alzheimer brains, suggest synapse loss as a primary event in early-onset for (type I) and demyelination in late-onset form (type II). **J Neurochem.** 62:1039–47,1994
14. Howland DS, Trusko SP, Savage MJ, Reaume AG, Lang DM, Hirsch JD, et al. Modulation of secreted beta-amyloid precursor protein and amyloid beta-peptide in brain by cholesterol. **J Biol Chem.** 273:16576–82, 1998
15. Refolo LM, Malester B, LaFrancois J, Bryant-Thomas T, Wang R, Tint GS, et al. Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model. **Neurobiol Dis.** 7:321–31, 2000
16. Shie FS, Jin LW, Cook DG, Leverenz JB, LeBoeuf RC. Diet-induced hypercholesterolemia enhances brain A beta accumulation in transgenic mice. **Neuroreport.** 13:455–9, 2002

17. Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. Statins and the risk of dementia. **Lancet** 356:1627–31, 2000
18. Wolozin B, Kellman W, Ruosseau P, Celesia GG, Siegel G. Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3- hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. **Arch Neurol.** 57:1439–43, 2000
19. Cummings JL. Alzheimer's disease. **N. Engl. J. Med.** 351:56–67, 2004
20. Dietschy JM, Turley SD. Cholesterol metabolism in the brain. **Curr Opin Lipidol.** 12: 105–112, 2001
21. Kneisel U, Wolburg H. Tight junctions of the blood-brain barrier. **Cell Mol Neurobiol.** 20:57–76, 2000
22. Dietschy JM, Kita T, Suckling KE, Goldstein JL, Brown MS. Cholesterol synthesis in vivo and in vitro in the WHHL rabbit, an animal with defective low density lipoprotein receptors. **J Lipid Res.** 24:469–80, 1983
23. Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, Xu S, Hobbs HH, Krieger M. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. **Science.** 271:518–20, 1996
24. Jurevics H, Morell P. Cholesterol for synthesis of myelin is made locally, not imported into brain. **J Neurochem.** 64:895– 901, 1995
25. Turley SD, Burns DK, Dietschy JM. Preferential utilization of newly synthesized cholesterol for brain growth in neonatal lambs. **Am J Physiol.** 274:1099–105, 1998
26. Turley SD, Burns DK, Rosenfeld CR, Dietschy JM. Brain does not utilize low density lipoprotein-cholesterol during fetal and neonatal development in the sheep. **J Lipid Res.** 37:1953–61, 1996
27. Osono Y, Woollett LA, Herz J, Dietschy JM. Role of the low density lipoprotein receptor in the flux of cholesterol through the plasma and across the tissues of the mouse. **J Clin Invest.** 95:1124–32, 1995
28. Dietschy JM, Kita T, Suckling KE, Goldstein JL, Brown MS. Cholesterol synthesis in vivo and in vitro in the WHHL rabbit, an animal with defective low density lipoprotein receptors. **J Lipid Res.** 24:469–80, 1983
29. Yu L, von Bergmann K, Lutjohann D, Hobbs HH, Cohen JC. Selective sterol accumulation in ABCG5/ABCG8-deficient mice. **J Lipid Res.** 45:301–7, 2004
30. Salen G, Horak I, Rothkopf M, Cohen JL, Speck J, Tint GS. Lethal atherosclerosis associated with abnormal plasma and tissue sterol composition in sitosterolemia with xanthomatosis. **J Lipid Res.** 26:1126–33, 1985
31. Quan G, Xie C, Dietschy JM, Turley SD. Ontogenesis and regulation of cholesterol metabolism in the central nervous system of the mouse. **Brain Res Dev Brain Res.** 146:87–98, 2003
32. Panzenboeck U, Balazs Z, Sovic A, Hrzenjak A, Levak-Frank S, Wintersperger A. ABCA1 and scavenger receptor class B, type I, are modulators of reverse sterol transport at an in vitro blood–brain barrier constituted of porcine brain capillary endothelial cells. **J Biol Chem.** 277:42781–9, 2002
33. Balazs Z, Panzenboeck U, Hammer A, Sovic A, Quehenberger O, Malle E. Uptake and transport of high-density lipoprotein (HDL) and HDL-associated alpha-tocopherol by an in vitro blood–brain barrier model. **J Neurochem** 89:939–50, 2004
34. Bjorkhem I, Lutjohann D, Breuer O, Sakinis A, Wennmalm A. Importance of a novel oxidative mechanism for elimination of brain cholesterol turnover of cholesterol and 24(S)-hydroxycholesterol in rat brain as measured with ¹⁸O₂ techniques in vivo and in vitro. **J Biol Chem.** 272:30178–84, 1997
35. Lund EG, Xie C, Kotti T, Turley SD, Dietschy JM, Russell DW. Knockout of the cholesterol 24-hydroxylase gene in mice reveals a brain-specific mechanism of cholesterol turnover. **J Biol Chem.** 278:22980–8, 2003
36. Lutjohann D, Breuer O, Ahlborg G, Nennesmo I, Siden A, Diczfalusy U. Cholesterol homeostasis in human brain: evidence for an age-dependent flux of 24S-

- hydroxycholesterol from the brain into the circulation. **Proc Natl Acad Sci USA.** 93:9799–804, 1996
37. Lange Y, Ye J, Strebel F. Movement of 25-hydroxycholesterol from the plasma membrane to the rough endoplasmic reticulum in cultured hepatoma cells. **J Lipid Res.** 36:1092–7, 1995
 38. Meaney S, Bodin K, Diczfalusy U, Bjorkhem I. On the rate of translocation in vitro and kinetics in vivo of the major oxysterols in human circulation: critical importance of the position of the oxygen function. **J Lipid Res.** 43:2130–5, 2002
 39. Bjorkhem I, Lutjohann D, Diczfalusy U, Stahle L, Ahlborg G, Wahren J. Cholesterol homeostasis in human brain: turnover of 24S-hydroxycholesterol and evidence for a cerebral origin of most of this oxysterol in the circulation. **J Lipid Res.** 39:1594–600, 1998
 40. Reiss AB, Siller KA, Rahman MM, Chan ESL, Ghiso J, de Leon MJ. Cholesterol in neurologic disorders of the elderly: stroke and Alzheimer's disease. **Neurobiol Aging.** 25:977–989, 2004
 41. Wang N, Lan D, Chen W, Matsuura F, Tall AR. ATP-binding cassette transporters G1 and G4 mediate cellular cholesterol efflux to high-density lipoproteins. **Proc Natl Acad Sci USA.** 101:9774–9, 2004
 42. Nakamura K, Kennedy MA, Baldan A, Bojanic DD, Lyons K, Edwards PA. Expression and regulation of multiple murine ATP-binding cassette transporter G1 mRNAs/isoforms that stimulate cellular cholesterol efflux to high density lipoprotein. **J Biol Chem.** 279:45980–9, 2004
 43. LaDu MJ, Shah JA, Reardon CA, Getz GS, Bu G, Hu J. Apolipoprotein E receptors mediate the effects of beta-amyloid on astrocyte cultures. **J Biol Chem.** 275:33974–80, 2000
 44. Pitas RE, Boyles JK, Lee SH, Hui D, Weisgraber KH. Lipoproteins and their receptors in the central nervous system. Characterization of the lipoproteins in cerebrospinal fluid and identification of apolipoprotein B,E(LDL) receptors in the brain. **J Biol Chem.** 262:14352–60, 1987
 45. LaDu MJ, Gilligan SM, Lukens JR, Cabana VG, Reardon CA, Van Eldik LJ. Nascent astrocyte particles differ from lipoproteins in CSF. **J Neurochem.** 70:2070–81, 1998
 46. Koch S, Donarski N, Goetze K, Kreckel M, Stuerenburg HJ, Buhmann C. Characterization of four lipoprotein classes in human cerebrospinal fluid. **J Lipid Res.** 42:1143–51, 2001
 47. Gong JS, Kobayashi M, Hayashi H, Zou K, Sawamura N, Fujita SC. Apolipoprotein E (ApoE) isoform-dependent lipid release from astrocytes prepared from human ApoE3 and ApoE4 knock-in mice. **J Biol Chem.** 277:29919–26, 2002
 48. Brecht WJ, Harris FM, Chang S, Tesseur I, Yu GQ, Xu Q. Neuron-specific apolipoprotein e4 proteolysis is associated with increased tau phosphorylation in brains of transgenic mice. **J Neurosci.** 24:2527–34, 2004
 49. Rothe T, Muller HW. Uptake of endoneurial lipoprotein into Schwann cells and sensory neurons is mediated by low density lipoprotein receptors and stimulated after axonal injury. **J Neurochem.** 57:2016–25, 1991
 50. Posse De Chaves EI, Vance DE, Campenot RB, Kiss RS, Vance JE. Uptake of lipoproteins for axonal growth of sympathetic neurons. **J Biol Chem.** 275:19883–90, 2000
 51. Beffert U, Stolt PC, Herz J. Functions of lipoprotein receptors in neurons. **J Lipid Res.** 45:403–9, 2004
 52. Trommsdorff M, Borg J-P, Margolis B, Herz J. Interaction of cytosolic adaptor proteins with neuronal apolipoprotein E receptors and the amyloid precursor protein. **J Biol Chem.** 273:33556–60, 1998.

53. Trommsdorff M, Gotthardt M, Hiesberger T, Shelton J, Stockinger W, Nimpf J. Reeler/disabled-like disruption of neuronal migration in knockout mice lacking the VLDL receptor and apoE receptor 2. **Cell**. 97:689–701, 1999
54. Weisgraber KH. Apolipoprotein E: structure–function relationships. **Adv Protein Chem**. 45:249–302, 1994
55. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer’s disease in late onset families. **Science** 261:921–3, 1993
56. Strittmatter WJ, Weisgraber KH, Huang DY, Dong LM, Salvesen GS, Pericak-Vance M. Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid beta peptide: isoform-specific effects and implications for late-onset Alzheimer disease. **Proc Natl Acad Sci USA**. 90:8098–102, 1993
57. Ignatius MJ, Gebicke-Harter PJ, Skene JH, Schilling JW, Weisgraber KH, Mahley RW. Expression of apolipoprotein E during nerve degeneration and regeneration. **Proc Natl Acad Sci USA**. 83:1125–9, 1986
58. Skene JHP, Shooter EM. Denervated sheath cells secrete a new protein after nerve injury. **Proc Natl Acad Sci USA**. 80:4169–73, 1986
59. Fagan AM, Murphy BA, Patel SN, Kilbridge JF, Mobley WC, Bu G. Evidence for normal aging of the septo-hippocampal cholinergic system in apoE (–/–) mice but impaired clearance of axonal degeneration products following injury. **Exp Neurol**. 151:314–25, 1998
60. Nathan BP, Bellosta S, Sanan DA, Weisgraber KH, Mahley RW, Pitas RE. Differential effects of apolipoproteins E3 and E4 on neuronal growth in vitro. **Science**. 264:850–2, 1994
61. Bellosta S, Nathan B, Orth M, Dong L-M, Mahley RW, Pitas RE. Stable expression and secretion of apolipoproteins E3 and E4 in mouse neuroblastoma cells produces differential effects on neurite outgrowth. **J Biol Chem**. 270:27063–71, 1995
62. Vance JE, Pan D, Campenot RB, Bussiere M, Vance DE. Evidence that the major membrane lipids, except cholesterol, are made in axons of cultured rat sympathetic neurons. **J Neurochem**. 62:329–37, 1994
63. Posse de Chaves EI, Rusinol AE, Vance DE, Campenot RB, Vance JE. Role of lipoproteins in the delivery of lipids to axons during axonal regeneration. **J Biol Chem**. 272:30766–73, 1997
64. Posse de Chaves EI, Vance DE, Campenot RB, Kiss RS, Vance JE. Uptake of lipoproteins for axonal growth of sympathetic neurons. **J Biol Chem**. 275:19883–90, 2000
65. Hayashi H, Campenot RB, Vance DE, Vance JE. Glial lipoproteins stimulate axon growth of central nervous system neurons in compartmented cultures. **J Biol Chem** 279:14009–15, 2004
66. Mauch DH, Nagler K, Schumacher S, Goritz C, Muller EC, Otto A. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. **Science** 294:1354–7, 2001
67. Romas SN, Tang MX, Berglund L, Mayeux R. APOE genotype, plasma lipids, lipoproteins, and AD in community elderly. **Neurology**. 53:517–21, 1999
68. Scarpini E, Scheltens P. Treatment of Alzheimer’s disease: current status and new perspectives. **The Lancet Neurology**. 2: 539-546, 2003
69. Topçuoğlu ES, Selekler K. Alzheimer Hastalığı. **Geriatrici**. 1(2):63-67, 1998
70. Selekler K. Alzheimer Hastalığı: patoloji, klinik, tanı ve ayırıcı tanı. Selekler K. (ed.) Modern Tıp Seminerleri:26 Alzheimer ve Diğer Demanslar. **Ankara, Güneş Kitapevi**, 2003
71. Thomas J, Olivia R. Age–related deficits in the retention of memories for cued fear conditioning are reversed by galantamin treatment. **Behavioural Brain Research**. 165: 160-171, 2005

72. Merched A, Xia Y, Visvikis S, Serot JM, Siest, G. Decreased high-density lipoprotein cholesterol and serum apolipoprotein AI concentrations are highly correlated with the severity of Alzheimer's disease. **Neurobiol Aging**. 21, 27–30, 2000.
73. Siest G, Bertrand P, Qin B, Herbeth B, Serot JM, Masana L, Ribalta J, Passmore AP, Evans A, Ferrari M, Franceschi M, Shepherd J, Cuchel M, Beisiegel U, Zuchowsky K, Rukavina AS, Sertic J, Stojanov M, Kostic V, Mitrevski A, Petrova V, Sass C, Merched A, Salonen JT, Tiret L, Visvikis S. Apolipoprotein E polymorphism, and serum concentration in Alzheimer's disease in nine European centres: the ApoEurope study. ApoEurope group. **Clin Chem Lab Med**. 38, 721–730, 2000
74. Bonarek M, Barberger-Gateau P, Letenneur L, Deschamps V, Iron A, Dubroca B, Dartigues JF.. Relationships between cholesterol, apolipoprotein E polymorphism and dementia: a cross-sectional analysis from the PAQUID study. **Neuroepidemiology**. 19, 141–148, 2000
75. Reitz C, Tang MX, Luchsinger J, Mayeux R. Relation of plasma lipids to Alzheimer disease and vascular dementia. **Arch Neurol**. 61, 705–714, 2004
76. Crisby M, Rahman SM, Sylven C, Winblad B, Schultzberg M. Effects of high cholesterol diet on gliosis in apolipoprotein E knockout mice. Implications for Alzheimer's disease and stroke. **Neurosci Lett**. 369:87–92, 2004
77. Wood WG, Schroeder F, Avdulov NA, Chochina SV, Igbavboa U. Recent advances in brain cholesterol dynamics: transport, domains and Alzheimer's disease. **Lipids**. 34, 225–234, 1999
78. Eckert GP, Cairns NJ, Mara, A, Gattaz WF, Müller WE. Cholesterol modulates the membrane disordering effects of β -amyloid peptides in the hippocampus: specific changes in Alzheimer's disease. **Dementia Geriatr Cognit Disord**. 11, 181–186, 2000
79. Refolo LM, Malester B, LaFrancois J, Bryant-Thomas T, Wang R, Tint GS, Sambamurti K, Duff K, Pappolla MA. Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model. **Neurobiol Dis**. 7:321–331, 2000
80. Wood WG, Schroeder F, Igbavboa U, Avdulov NA, Chochina SV. Brain membrane cholesterol domains, aging and amyloid beta-peptides. **Neurobiol Aging**. 23, 685–694, 2002
81. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. **Physiol Rev**. 81:741–66, 2001
82. Wolozin B. Cholesterol and the biology of Alzheimer's disease. **Neuron**. 41:7–10, 2004
83. Simons M, Keller P, Dichgans J, Schulz JB. Cholesterol and Alzheimer's disease: is there a link? **Neurology**. 57:1089–93, 2001
84. Mori T, Paris D, Town T, Rojiani AM, Sparks DL, Delledonne A. Cholesterol accumulates in senile plaques of Alzheimer disease patients and in transgenic APP(SW) mice. **J Neuropathol Exp Neurol**. 60:778–85, 2001
85. Simons M, Keller P, De Strooper B, Beyreuther K, Dotti CG, Simons K. Cholesterol depletion inhibits the generation of betaamyloid in hippocampal neurons. **Proc Natl Acad Sci USA**. 95:6460–4, 1998
86. Marlow L, Cain M, Pappolla MA, Sambamurti K. Beta-secretase processing of the Alzheimer's amyloid protein precursor (APP). **J Mol Neurosci** 20:233–9, 2003
87. Lutjohann D, Papassotiropoulos A, Bjorkhem I, Locatelli S, Bagli M, Oehring RD. Plasma 24S-hydroxycholesterol (cerebrosterol) is increased in Alzheimer and vascular demented patients. **J Lipid Res**. 41:195–8, 2000
88. Papassotiropoulos A, Lutjohann D, Bagli M, Locatelli S, Jessen F, Buschfort R. 24S-Hydroxycholesterol in cerebrospinal fluid is elevated in early stages of dementia. **J Psychiatr Res**. 36:27–32, 2002
89. Schonknecht P, Lutjohann D, Pantel J, Bardenheuer H, Hartmann T, von Bergmann K. Cerebrospinal fluid 24S-hydroxycholesterol is increased in patients with Alzheimer's disease compared to healthy controls. **Neurosci Lett**.324:83–5, 2002

90. Bretillon L, Siden A, Wahlund LO, Lutjohann D, Minthon L, Crisby M. Plasma levels of 24S-hydroxycholesterol in patients with neurological diseases. **Neurosci Lett.** 293:87–90, 2000
91. Heverin M, Bogdanovic N, Lutjohann D, Bayer T, Pikuleva I, Bretillon L. Changes in the levels of cerebral and extracerebral sterols in the brain of patients with Alzheimer's disease. **J Lipid Res** 45:186–93, 2004
92. Bjorkhem I, Meaney S. Brain cholesterol: long secret life behind a barrier. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 24:806–15, 2004
93. Puglielli L, Konopka G, Pack-Chung E, Ingano LA, Berezovska O, Hyman BT. Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase modulates the generation of the amyloid beta-peptide. **Nat Cell Biol.** 3:905–12, 2001
94. Hutter-Paier B, Huttunen HJ, Puglielli L, Eckman CB, Kim DY, Hofmeister A. The ACAT inhibitor CP-113,818 markedly reduces amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. **Neuron.** 44:227–38, 2004
95. Fassbender K, Simons M, Bergmann C, Stroick M, Lutjohann D, Keller P. Simvastatin strongly reduces levels of Alzheimer's disease beta-amyloid peptides Abeta 42 and Abeta 40 in vitro and in vivo. **Proc Natl Acad Sci USA.** 98:5856–61, 2001
96. Kojro E, Gimpl G, Lammich S, Marz W, Fahrenholz F. Low cholesterol stimulates the nonamyloidogenic pathway by its effect on the alpha-secretase ADAM 10. **Proc Natl Acad Sci USA.** 98:5815–20, 2001
97. Parvathy S, Ehrlich M, Pedrini S, Diaz N, Refolo L, Buxbaum JD. Atorvastatin-induced activation of Alzheimer's alpha secretase is resistant to standard inhibitors of protein phosphorylation-regulated ectodomain shedding. **J Neurochem.** 90:1005–10, 2004
98. Chauhan NB, Siegel GJ, Feinstein DL. Effects of lovastatin and pravastatin on amyloid processing and inflammatory response in TgCRND8 brain. **Neurochem Res.** 29:1897–911, 2004
99. Vega GL, Weiner MF, Lipton AM, Von Bergmann K, Lutjohann D, Moore C. Reduction in levels of 24S-hydroxycholesterol by statin treatment in patients with Alzheimer disease. **Arch Neurol.** 60:510–5, 2003
100. Tsuji A, Saheki A, Tamai I, Terasaki T. Transport mechanism of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors at the blood-brain barrier. **J Pharmacol. Exp Ther** 267:1085–90, 1993
101. Borroni B, Pettenati C, Bordonali T, Akkawi N, Di Luca M, Padovani A. Serum cholesterol levels modulate long-term efficacy of cholinesterase inhibitors in Alzheimer disease. **Neurosci Lett.** 343:213–5, 2003
102. Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB, Bollen EL, Buckley BM, Cobbe SM. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. **Lancet** 360:1623–30, 2002
103. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20, 536 high-risk individuals: a randomised placebocontrolled trial. **Lancet** 360:7–22, 2002
104. Triscari J, Markowitz JS, McGovern MW. Pravastatin and lovastatin in cerebrospinal fluid. **Clin Neuropharmacol.** 16:559–60, 1993
105. DeKosky ST. Statin therapy in the treatment of Alzheimer disease: what is the rationale? **Am J Med.** 118 (12A): 48–53, 2005
106. Endo A, Kuroda M, Tsujita Y. ML-236A, ML-236B, ML-236C new inhibitors of cholesterol synthesis produced by *Penicillium citrinum*. **J Antibiot (Tokyo)** 29: 1346–1348, 1976
107. Brown MS, Faust JR, Goldstein JL. Induction of 3-hydroxy 3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in human fibroblasts incubated with compactin (ML-236B), a competitive inhibitor of the reductase. **J Biol Chem.** 253: 1121–1128, 1978
108. Yamamoto A, Yamamura T, Yokohama S, Sudo H, Matsuzawa Y. Combined drug therapy-cholestiramin and compactin- for familial hypercholesterolemia. **Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.** 22: 493–497, 1984

109. Alberts AW, Chenj, Kuron G, Hunt V, Huff J, Hoffman C, Rothrock J, Lopez M, Joshua H, Harris E, Patchett A, Monaghan R, Currie S, Stapley E, Alberts SG, Hensens O, Hirsfield J, Hoogsteen K, Liesch J, Springer J. Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxy methylglutaryl coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. **Proc Natl Acad Sci USA.** 77: 3957-3961, 1980
110. Davidson MH. Rosuvastatin: a highly efficacious statin for the treatment of dyslipidaemia. **Expert Opin Invest Drugs.** 11:125–141, 2002
111. Hobbs HH, Brown M., Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolaemia. **Hum Mutat.** 1 445–466, 1992
112. Maron DJ, Fazio S, Linton MF. Current perspectives on statins. **Circulation.** 101 207–213, 2000
113. Ginsberg HN, Le NA, Short MP, Ramakrishnan R, Desnick RJ. Suppression of apolipoprotein B production during treatment of cholesteryl ester storage disease with lovastatin: implications for the regulation of apolipoprotein B synthesis. **J Clin Invest.** 80 1692–1697, 1987
114. Furberg CD, Pitt B. Withdrawal of cerivastatin from the world market. **Curr Control Trials Cardiovasc Med.** 2 205– 207, 2001
115. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). **Lancet.** 344: 1383-1389, 1994
116. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, McKillop JH, Packard CJ. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. **N Engl J Med.** 333: 1301-1307, 1995
117. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, Brown L, Warnica JW, Arnold JMO, Wun CC, Davis BR, Braunwald E. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. **N Engl J Med.** 335: 1001-1009, 1996
118. Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, Langendorfer A, Stein EA, Kruyer W, Gotto AM. Primary Prevention of acute coronary events with lovastatin in men and woman with average cholesterol levels. Results of AFCAPS/TexCAPS. **JAMA.** 279: 1615-1622, 1998
119. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. **N Engl J Med.** 339: 1349- 1357, 1998
120. McTavish D, Sorkin EM. Pravastatin. A review of its pharmacological properties and therapeutic potential in hypercholesterolaemia. **Drugs** 42 65–89, 1991
121. Brown MS, Goldstein JL. A receptor – mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science.** 232: 34-47, 1986
122. Grundy SM, Wega GL. Influence of mevinolin on metabolism of low density lipoproteins in primary moderate hypercholesterolemia. **J Lipid Res.** 26: 1464-1475, 1985
123. Arad Y, Ramakrishnan R, Ginsberg HN. Lovastatin therapy reduces low density lipoprotein apoB levels in subjects with combined hyperlipidemia by reducing the production of apoB-containing lipoproteins: implications for the pathophysiology of apoB production. **J Lipid Res.** 31: 567-582, 1990
124. Gaw A, Packard CJ, Murray EF, Lindsay GM, Griffin BA, Caslake MJ, Vallance BD, Lorimar AR, Shepherd J. Effects of simvastatin on apoB metabolism and LDL subfraction distribution. **Arterioscler Thromb.** 13: 170-189, 1993
125. Ginsberg HN. Effects of statins on triglyceride metabolism. **Am J Cardiol.** 81: 32B-35B, 1998

126. Stein EA, Lane M, Laskarzewski P. Comparison of statins in hypertriglyceridemia. **Am J Cardiol.** 81: 66B-69B, 1998
127. Bakker-Arkema RG, Davidson MH, Goldstein RJ, Davignon J, Isaacsohn JL, Weiss SR, Keilson LM, Brown WV, Miller VT, Shurzinske LJ, Black DM. Efficacy and safety of a new HMG-CoA Reductase inhibitor, atorvastatin. In patients with hypertriglyceridemia. **JAMA.** 275: 128-133, 1996
128. Ose L, Davidson MH, Stein EA, Kastelein JJP, Scott RS, Hunninghake DB, Campodonico S, Insull W, Escobar ID, Schrott HG, Stepanavage ME, Wu M, Tate AC, Melino MR, Mercuri M, Mitchel YB. Lipid-altering efficacy and safety of simvastatin 80 mg/day: long-term experience in a large group of patients with hypercholesterolemia. World Wide Expanded Dose Simvastatin Study Group. **Clin Cardiol.** 23: 39-46, 2000
129. Crouse JR, Frolich J, Ose L, Mercuri M, Tobert JA. Effects of high doses of simvastatin and atorvastatin on high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A-1. **Am J Cardiol.** 83: 1476-1477, 1999
130. Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study). **Am J Cardiol.** 81:582-587, 1998
131. Raal FJ, Pappu AS, Illingworth DR, Pilcher GJ, Marais AD, Firth JC, Kotze MK, Heinonen TM, Black DM. Inhibition of cholesterol synthesis by atorvastatin in homozygous familial hypercholesterolemia. **Atherosclerosis.** 150: 421-428, 2000
132. Kostner GM, Gavish D, Leopold B, Bolzano K, Weintraub MS, Breslow JL. HMG-CoA reductase inhibitors lower LDL cholesterol without reducing Lp(a) levels. **Circulation.** 80: 1313-1319, 1989
133. Corsini A, Maggi FM, Catapano AL. Pharmacology of competitive inhibitors of HMG-CoA reductase. **Pharmacol Res.** 31 9-27, 1995
134. Corsini A, Bellosta S, Baetta R, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. **Pharmacol Ther.** 84 413-428, 1999
135. Kajinami K, Mabuchi H, Saito Y. NK-104: a novel synthetic HMG-CoA reductase inhibitor. **Expert Opin Investig Drugs.** 9 2653-2661, 2000
136. Cilla DD Jr, Gibson DM, Whitfield LR, Sedman AJ. Pharmacodynamic effects and pharmacokinetics of atorvastatin after administration to normocholesterolemic subjects in the morning and evening. **J Clin Pharmacol.** 36:604-609, 1996
137. Tse FL, Jaffe JM, Troendle A. Pharmacokinetics of fluvastatin after single and multiple doses in normal volunteers. **J Clin Pharmacol.** 32 630-638, 1992
138. Martin PD, Mitchell PD, Schneck DW. Pharmacodynamic effects and pharmacokinetics of a new HMG-CoA reductase inhibitor, rosuvastatin, after morning or evening administration in healthy volunteers. **Br J Clin Pharmacol.** 54: 472-477, 2002
139. Singhvi SM, Pan HY, Morrison RA, Willard DA. Disposition of pravastatin sodium, a tissue-selective HMG-CoA reductase inhibitor, in healthy subjects. **Br J Clin Pharmacol.** 29: 239-243, 1990
140. Naoumova RP, Dunn S., Rallidis L. Prolonged inhibition of cholesterol synthesis explains the efficacy of atorvastatin. **J Lipid Res.** 38 1496-1500, 1997
141. Yang B-B, Smithers JA, Stern RH. Pharmacokinetics and dose proportionality of atorvastatin and its active metabolites. **Pharm. Res.** 13 (Suppl. 1) S437, 1996
142. Warwick MJ, Dane AL, Raza A, Schneck DW. Single and multiple-dose pharmacokinetics and safety of the new HMGCoA reductase inhibitor ZD4522. **Atherosclerosis.** 151 39, 2000
143. Lennernas H. Clinical pharmacokinetics of atorvastatin. **Clin Pharmacokinet.** 42 1141-1160, 2003
144. Garnett WR. Interactions with hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors. **Am J Health Syst Pharm.** 52 1639-1645, 1995

145. Radulovic LL, Cilla DD, Posvar EL, Sedman AJ, Whitfield LR. Effect of food on the bioavailability of atorvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor. **J Clin Pharmacol.** 35: 990–994, 1995
146. Smith HT, Jokubaitis LA, Troendle AJ, Hwang DS, Robinson WT. Pharmacokinetics of fluvastatin and specific drug interactions. **Am J Hypertens.** 6 375S–382S, 1993
147. Pan HY, DeVault AR, Brescia D. Effect of food on pravastatin pharmacokinetics and pharmacodynamics. **Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.** 31 291–294, 1993
148. Hamelin BA, Turgeon J. Hydrophilicity/lipophilicity: relevance for the pharmacology and clinical effects of HMG-CoA reductase inhibitors. **TiPS.** 19 36–37, 1998
149. Rosenson RS, Tangney CC. Antiatherosclerotic properties of statins: implications for cardiovascular event reduction. **JAMA.** 279 1643–1650, 1998
150. Bottorff M, Hansten P. Long-term safety of hepatic hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitors: the role of metabolism – monograph for physicians. **Arch Intern Med.** 160 2273–2280, 2000
151. Lennernas H, Fager G. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the HMG-CoA reductase inhibitors. **Clin Pharmacokinet.** 32 403–425, 1997
152. Knopp RH. Drug treatment of lipid disorders. **N Engl J Med.** 341 498–511, 1999
153. Simonson SG, Martin PD, Mitchell P, Schneck DW, Lassetter KC, Warwick MJ. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rosuvastatin in subjects with hepatic impairment. **Eur J Clin Pharmacol.** 58 669–675, 2003
154. Nakad A, Bataille L, Hamoir V, Sempoux C, Horsmans Y. Atorvastatin-induced acute hepatitis with absence of cross toxicity with simvastatin **Lancet.** 353: 1763- 1764, 1999
155. Physicians' Desk Reference 55th ed. Medical Economics Company, Montvale, NJ 2001; 843-846
156. Staffa JA, Chang J, Green J. Cerivastatin and reports of fatal rhabdomyolysis. **N Engl J Med.** 346 539–540, 2002
157. Christians U, Jacobsen W, Floren LC. Metabolism and drug interactions of 3- hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in transplant patients: are the statins mechanistically similar? **Pharmacol Ther.** 80: 1-34, 1998
158. Pogson GW, Kindred LH, Carper BG. Rhabdomyolysis and renal failure associated with cerivastatin-gemfibrozil combination therapy. **Am J Cardiol.** 83:1146, 1999
159. Palinski W, Tsimikas S. Immunomodulatory effects of statins: mechanisms and potential impact on arteriosclerosis. **J Am Soc Nephrol.** 13:1673– 81, 2002
160. Liao JK. Isoprenoids as mediators of the biological effects of statins. **J Clin Invest.** 110: 285–8, 2002
161. Kleemann R, Princen HMG, Emeis JJ. Rosuvastatin reduces atherosclerosis development beyond and independent of its plasma cholesterol-lowering effect in APOE*3-Leiden transgenic mice: evidence for anti-inflammatory effects of rosuvastatin. **Circulation.** 108:1368– 74, 2003
162. Usui H, Shikata K, Matsuda M. HMG-CoA reductase inhibitor ameliorates diabetic nephropathy by its pleiotropic effects in rats. **Nephrol Dial Transplant.** 18:265– 72, 2003
163. Leung BP, Sattar N, Crilly A. A novel anti-inflammatory role for simvastatin in inflammatory arthritis. **J Immunol.** 170: 1524– 30, 2003
164. Liappis AP, Kan VL, Rochester CG, Simon GL. The effect of statins on mortality in patients with bacteremia. **Clin Infect Dis.** 33: 1352– 7, 2001.
165. Cucchiara B, Kansler SE. Use of statins in CNS disorders. **J Neur Sci.** 187: 81-89, 2001
166. Clark RS, Kochanek PM, Schwarz MA, Schiding JK, Turner DS, Chen M. Inducible nitric oxide synthase expression in cerebrovascular smooth muscle and neutrophils after traumatic brain injury in immature rats. **Pediatr Res,** 39 5 :784–90, 1996

167. Vodovotz Y, Lucia MS, Flanders KC, Chesler L, Xie QW, Smith TW. Inducible nitric oxide synthase in tangle-bearing neurons of patients with Alzheimer's disease. **J Exp Med.** 184 4 : 1425–33, 1996
168. Vaughan CJ, Delanty N. Neuroprotective properties of statins in cerebral ischemia and stroke. **Stroke.** 30 9 :1969–73, 1999
169. Pahan K, Sheikh FG, Namboodiri AM, Singh I. Lovastatin and phenylacetate inhibit the induction of nitric oxide synthase and cytokines in rat primary astrocytes, microglia, and macrophages. **J Clin Invest** 100 11 :2671–9, 1997
170. von Haehling S, Anker S, Bassenge E. Statins and the role of nitric oxide in chronic heart failure. **Heart Fail Rev.** 8:99– 106, 2003
171. Hernandez-Perera O, Perez-Sala D, Navarro-Antolin J. Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. **J Clin Invest.** 101:2711– 9, 1998
172. Laufs U, La Fata J, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. **Circulation.** 97:1129–35, 1998
173. Endres M, Laufs U, Huang Z, Nakamura T, Huang P, Moskowitz MA. Stroke protection by 3-hydroxy-3-methylglutaryl HMG -CoA reductase inhibitors mediated by endothelial nitric oxide synthase. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 95 15 :8880–5, 1998
174. Giannattasio C, Mangoni AA, Failla M, Carugo S, Stella ML, Stefanoni P. Impaired radial artery compliance in normotensive subjects with familial hypercholesterolemia. **Atherosclerosis.** 124 2 :249–60, 1996
175. O'Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. **Circulation.** 95 5 :1126–31, 1997
176. Pantoni L, Garcia JH. Cognitive impairment and cellularvascular changes in the cerebral white matter. **Ann N Y Acad Sci.** 826:92–102, 1997
177. Kimura M, Kurose I, Russell J, Granger DN. Effects of fluvastatin on leukocyte-endothelial cell adhesion in hypercholesterolemic rats. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 17 8 :1521–16, 1997
178. Weber C, Erl W, Weber KS, Weber PC. HMG-CoA reductase inhibitors decrease CD11b expression and CD11b-dependent adhesion of monocytes to endothelium and reduce increased adhesiveness of monocytes isolated from patients with hypercholesterolemia. **J Am Coll Cardiol.** 30 5 :1212–7, 1997
179. Human JA, Ubbink JB, Jerling JJ, Delpont R, Vermaak WJ, Vorster HH. The effect of Simvastatin on the plasma antioxidant concentrations in patients with hypercholesterolaemia. **Clin Chim Acta.** 263 1 :67–77, 1997
180. Notkola IL, Sulkava R, Pekkanen J, Erkinjuntti T, Ehnholm C, Kivinen P. Serum total cholesterol, apolipoprotein E epsilon 4 allele, and Alzheimer's disease. **Neuroepidemiology** 17 1 : 14–20, 1998
181. Sparks DL. Intraneuronal beta-amyloid immunoreactivity in the CNS. **Neurobiol Aging.** 17 2 :291–9, 1996
182. Strittmatter WJ, Weisgraber KH, Huang DY, Dong LM, Salvesen GS, Pericak-Vance M. Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid beta peptide: isoform-specific effects and implications for late-onset Alzheimer disease. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 90 17 :8098–102, 1993
183. Kamboh MI, Ferrell RE, DeKosky ST. Genetic association studies between Alzheimer's disease and two polymorphisms in the low density lipoprotein receptor-related protein gene. **Neurosci Lett.** 244 2 :65–8, 1998
184. Mitchel YB, Kramer MS, Matzura-Wolfe DM, Strittmatter W, Peskind E, Ferris S. The effect of simvastatin on cerebrospinal fluid levels of apolipoprotein E in patients with Alzheimer's disease abstract . **Atherosclerosis.** 115:S113, 1995

185. Simons M, Keller P, De Strooper B, Beyreuther K, Dotti CG, Simons K. Cholesterol depletion inhibits the generation of betaamyloid in hippocampal neurons. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 95 11 :6460–4, 1998
186. Wolozin B, Kellman W, Ruosseau P, Celesia GG, Siegel G. Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy- 3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. **Arch Neurol.** 57:1439–1443, 2000
187. Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. Statins and the risk of dementia. **Lancet,** 356:1627–31, 2000
188. Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. Statins and the risk of dementia. **Lancet.** 356:1627–1631, 2000
189. Sze C, Bi H, Kleinschmidt-DeMasters BK, Filley CM, Martin LJ. Nmethyl- D-aspartate receptor subunit proteins and their phosphorylation status are altered selectively in Alzheimer's disease. **J Neurol Sci.** 182:151–159, 2001
190. Bi H, Sze CI. N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2A and NR2B messenger RNA levels are altered in the hippocampus and entorhinal cortex in Alzheimer's disease. **J Neurol Sci.** 200:11–18, 2002
191. Wang Y, TesFaye E, Yasuda R P, Mash D C, Armstrong DM, & Wolfe BB. Effects of post-mortem delay on subunits of ionotropic glutamate receptors in human brain. **Brain Res Mol Brain Res.** 80, 123– 131, 2000
192. Yıldırım M. Tıp Öğrencileri İçin Klinik Nöroanatomı, 4. basımdan çeviri. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, 2000.
193. Dere F. Nöroanatomı ve Fonksiyonel Nöroloji, Okullar Pazarı Kitabevi, 1990.
194. Ozawa S, Haruyuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. **Progress in Neurobiology.** 54: 581-618, 1987
195. Goebel DJ, Pooch MS. NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A. **Molecular Brain Research.** 69:164-170, 1999
196. Cull-Candy S, Brickley SG. NMDA receptors. **Encyclopedia of Life Sciences.** 2001.
197. Carroll RC, Zukin RS. NMDA-receptor trafficking and targeting: Implications for synaptic transmission and plasticity. **Trends in Neuroscience.** 25:571-577, 2002.
198. Meldrum BS, Akbar MT and Chapman.AG. Glutamate receptors and transporters in genetic and acquired models of epilepsy. **Epilepsy Research.** 36(2-3): 189-204, 1999
199. Petrie RXA, Reid IC., Stewart CA. The N-methyl-D-aspartate receptor, synaptic plasticity and depressive disorder. **Pharmacology and therapeutics.** 87:11-25, 2000
200. Wittenberg GM, Tsien JZ. An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. **Trends in Neurosciences.** 25:571-77, 2002.
201. Yakamura T, Shimoji K. Subunit and site specific pharmacology of the NMDA receptor channel. **Progress in Neurobiology.** 59:279-298, 1999.
202. Khanduja KL, Sohi KK. Nimesulide inhibits lipopolysaccharide-induced production of superoxide anions and nitric oxide and iNOS expression in alveolar macrophages. **Life Sciences.** 78: 1662-1669, 2006
203. Gökkuşu C, Mostafazadeh T. Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen siçanlarda atpaz enzim aktiviteleleri üzerine e vitamininin etkisi. **İst Tıp Fak Mecmuası.** 62:2, 1999
204. Sevin G, Yasa M, Akçay YD, Özer A. Hiperkolesterolemik tavşanlarda fluvastatinin antioksidan özelliğinin aterosklerozun önlenmesindeki katkısı. **Kocatepe Tıp Dergisi.** 5:43-49, 2004
205. Hayashi T, Hamakawa K, Nagotani S, Jin G, Li F, Deguchi K, Sehara Y, Zhang H, Nagano I, Shoji M, Abe K. HMG CoA reductase inhibitors reduce ischemic brain injury of Wistar rats through decreasing oxidative stress on neurons. **Brain Res.** 1037: 52–58, 2005
206. Sattler MB, Diema R, Merkler D, Demmera I, Bogera I, Stadelmann C, Bahr M. Simvastatin treatment does not protect retinal ganglion cells from degeneration in a rat model of autoimmune optic neuritis. **Exp. Neurol.** 193: 163– 171, 2005

207. Chen J, Zhang ZG, Li Y, Wang Y, Wang L, Jiang H, Zhang C, Lu M, Katakowski M, Feldkamp CS, Chopp M. Statins Induce angiogenesis, neurogenesis, and synaptogenesis after Stroke. **Ann Neurol.** 53:743–75, 2003
208. Panzaa F, D'Intronoa A, Colaciccoa AM, Capursoa C, Pichicheroa G, Capursoa SA, Capursoa A, Solfrizzia V. Lipid metabolism in cognitive decline and dementia. **Brain Research Reviews.** 51: 275-292, 2006
209. Kuusisto J, Koivisto K, Mykkanen L, Helkala EL, Vanhanen M, Hanninen T, Kervinen K, Kesaniemi YA, Riekkinen PJ, Laakso M. Association between features of the insulin resistance syndrome and Alzheimer's disease independently of apolipoprotein E4 phenotype: cross sectional population based study. **BMJ.** 315: 1045–1049, 1997
210. Simons M, Keller P, De Strooper B, Beyreuther K, Dotti CG, Simons K. Cholesterol depletion inhibits the generation of beta-amyloid in hippocampal neurons. **Proc Natl Acad Sci USA.** 95, 6460–6464, 1998
211. Fujishima M, Kiyohara Y. Incidence and risk factors of dementia in a defined elderly Japanese population: the Hisayama study. **Ann N Y Acad. Sci.** 977:1-8, 2002
212. Mielke MM, Zandi PP, Sjogren M, Gustafson D, Ostling S, Steen B, Skoog I. High total cholesterol levels in late life associated with a reduced risk of dementia. **Neurology.** 64:1689–1695, 2005
213. Balduino W, De Angelis V, Mazzoni E, Cimino M. Simvastatin protects against long-lasting behavioral and morphological consequences of neonatal hypoxic/ischemic brain injury. **Stroke.** 32:2185-2191, 2001
214. Simons M, Schwarzler F, Lutjohann D. Treatment with simvastatin in normocholesterolemic patients with Alzheimer's disease: a 26-week randomized, placebo-controlled, double-blind trial. **Ann Neurol.** 52:346– 50, 2002
215. Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. Statins and the risk of dementia. **Lancet.** 356:1627– 31, 2000
216. Wolozin B, Kellman W, Ruosseau P, Celesia GG, Siegel G. Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. **Arch Neurol.** 57:1439 –1443, 2000
217. Narahashi T, Marszalec W. Unique mechanism of action of Alzheimer's drugs on brain nicotinic acetylcholine receptors and NMDA receptors. **Life Sciences.** 74:281–291, 2003
218. McGeer PL, Schulzer M. Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease. **Neurology.** 47:425-432, 1996.
219. Zacco A, Togo J, Spence K, Ellis A, Lloyd D, Furlong S, Piser T. 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors protect cortical neurons from excitotoxicity. **J Neurosci.** 23(35):11104 –11111, 2003
220. Bosel J, Gandor F, Harms C, Synowitz M, Harms U, Djoufack PC, Megow D, Dirnagl U, Hortnagl H, Fink KB, Endres M. Neuroprotective effects of atorvastatin against glutamate-induced excitotoxicity in primary cortical neurones. **J Neurochem.** 92: 1386–1398, 2005

TEŞEKKÜR

Üniversitemiz bünyesinde kaliteli ve iyi donanımlı bir laboratuvarın kurulmasında, yüksek standartlarda hasta hizmeti ve uzmanlık eğitimi verilmesinde büyük emeği geçen, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Namık Delibaş'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, uzmanlık tezimin hazırlanması sürecinde de katkılarını esirgememiş olan tez danışmanım Doç. Dr İrfan Altuntaş'a,

Destekleriyle her zaman yanımda olan değerli hocalarım; Prof. Dr. Hüseyin Vural'a, Doç. Dr. Fatih Gültekin'e, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Akdoğan'a, Yrd. Doç. Dr. Recep Sütçü'ye, Yrd. Doç. Dr. Duygu Kumbul Doğuç'a sonsuz şükran ve saygılarımı sunarım.

Laboratuvar içerisinde beraber çalışmaktan mutlu olduğum araştırma görevlisi ve teknisyen arkadaşlarıma,

Bana verdikleri emek ve gösterdikleri sevgileri ile her zaman yanımda olan annem, babam ve eşime teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Teşekkür	ii
Kısaltmalar	v
Şekil ve Tablo Listesi	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Merkezi Sinir Sisteminde Kolesterol Sentezi ve Döngüsü	3
2.2. Kolesterol İçeren Lipoproteinlerin Sinir Sistemindeki Roller	6
2.3. Alzheimer Hastalığı ve Kolesterol	8
2.3.1. AH	8
2.3.2. AH ile Plazma ve Beyin Kolesterol İçerikleri Arasındaki İlişki	9
2.3.3. AH'nın Tedavi Seçeneği Olarak Kolesterol Düşürülmesi	12
2.4. Statinlerin Yapısı ve Özellikleri	13
2.4.1. Statinlerin Kimyası ve Fonksiyonel Özellikleri	14
2.4.2. Etki Mekanizmaları	16
2.4.3. Statinlerin Farmakokinetik Özellikleri	18
2.4.4. Yan Etkiler ve İlaç Etkileşimleri	20
2.4.5. Statinlerin Muhtemel Nöroprotektif Etkileri	22
2.4.6. Nitrik Oksit Oluşumuna Etkileri	22
2.4.7. Anti İnflamatuar Etkileri	23
2.4.8. Antioksidan Etkileri	25
2.4.9. Alzheimer Hastalığı Tedavisinde Statinlerin Kullanımı	26
2.5. Hipokampus	28
2.5.1. Anatomisi	28
2.5.2. Hipokampusün Yapısı ve Fonksiyonları	29
2.6. Glutamat Reseptörleri	30
2.6.1. NMDA Reseptörleri	31
2.6.2. NMDA Reseptör Tipleri	35
2.6.3. NMDA Reseptörünün Yapısı	36
2.6.3.1. Nörolojik Hastalıklar ve Glutamat Reseptör Aktivasyonunda Artış	37

3. MATERYAL VE METOD	38
3.1. Materyal	38
3.1.1. Deney Hayvanları	38
3.1.2. Kullanılan Malzemeler ve Aletler	39
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	40
3.1.4. Kullanılan Çözeltiler	41
3.2. Metod	42
3.2.1. Hipokampus Örneklerinin Homojenizasyonu	42
3.2.2. SDS-PAGE Yöntemi	43
3.2.3. Western Blot Yöntemi	43
3.2.4. Serum Total Kolesterol Düzeylerinin Saptanması	43
3.3. İstatistiksel Analiz	44
4. SONUÇLAR	45
4.1. Western Blot Analizi ile Saptanan NR2A, NR2B Reseptör Düzeyleri	45
4.2. Serum Total Kolesterol Düzeyleri	47
5. TARTIŞMA	48
ÖZET	56
SUMMARY	57
KAYNAKLAR	58

SİMGELER ve KISALTMALAR

AH	: Alzheimer Hastalığı
A β	: Amiloid β protein
AMPA	: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionat
AMPAR	: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionat reseptörü
APP	: Amiloid Prekürsör Protein
APS	: Amonyum peroksodisulfat
CK	: Kreatin kinaz
EGTA	: Etilen glikol-bis tetraasetik asit
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
ICAM-1	: Hücreler arası adezyon molekülü-1
iGluR	: İyonotropik glutamat reseptörü
HMGCoA	: 3-hidroksi 3-metilglutaril-CoA
iNOS	: Uyarılabilir nitrik oksit sentaz
KAR	: Kainat tercih eden reseptörler
LRP	: Reseptör ilişkili protein
LTP	: Long term potansiyalizasyon
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NMDAR	: N-metil-D-aspartat reseptörü
NR 2A	: NMDAR 2A subuniti
NR 2B	: NMDAR 2B subuniti
NO	: Nitrik oksit
PKA	: Proteinkinaz A
PKC	: Proteinkinaz C
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
CYP450	: Sitokrom P450
SR-B1	: Scavenger Reseptör-B1
SREPB	: Sterol düzenleyici element bağlayıcı protein
TEMED	: N, N, N ¹ , N ¹ - Tetrametilen-diamin
TTBS	: Tris-Tween-Buffer Saline
TNF- α	: Tümör nekroz faktör- α

ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ

- Şekil 1. Simvastatinin kimyasal yapısı.
- Şekil 2. Kolesterol sentez yolu (Mevalonat Pathway) ve ürünlerin farklı sistemleri düzenleyici etkileri
- Şekil 3. Limbik sistemi oluşturan yapılar ve aralarındaki bağlantılar
- Şekil 4: NR2A'ya ait Western Blot örneği
- Şekil 5. Kontrol grubu 100 kabul edilip kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak belirtilen NR2A düzeyleri.
- Şekil 6. NR2B'ye ait Western Blot örneği.
- Şekil 7. Kontrol grubu 100 kabul edilip kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak belirtilen NR2B düzeyleri.
- Tablo 1. Tüm gruplarda NR2A, NR2B reseptörlerinin yüzdelik cinsinden yoğunlukları ortalama ve \pm SD değerleri
- Tablo 2: Tüm gruplarda serum total kolesterol düzeyleri (mg/dl) ortalama ve \pm SD değerleri