



T.C.

ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖROBİLİM ANABİLİM DALI  
NÖROBİLİM YÜKSEK LİSANS PROGRAMI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ALZHEIMER HASTALIĞINDA PSMD9 GEN POLİMORFİZMİ**

**Yağmur ÖZER**

**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Belkıs ATASEVER ARSLAN**

**İSTANBUL-2019**



T.C.  
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖROBİLİM ANABİLİM DALI  
NÖROBİLİM YÜKSEK LİSANS PROGRAMI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ALZHEIMER HASTALIĞINDA PSMD9 GEN POLİMORFİZMİ**

**Yağmur ÖZER**

**Tez Danışmanı**  
**Doç. Dr. Belkıs ATASEVER ARSLAN**

**İSTANBUL-2019**

## TEZ ONAY FORMU

T.C. ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Anabilim Dalı : Nörobilim

Program : Nörobilim

Öğrenci No : 164202013

Öğrenci Adı Soyadı : Yağmur Özer

'Alzheimer Hastalığında PSMD9 Gen Polimorfizmi' isimli çalışma aşağıdaki jüri tarafından 03.07.2019 tarihinde yapılan sınavda Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Barış METİN

Üsküdar Üniversitesi

Danışman : Doç. Dr. Belkıs ATASEVER ARSLAN

Üsküdar Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Ster IRMAK SAV

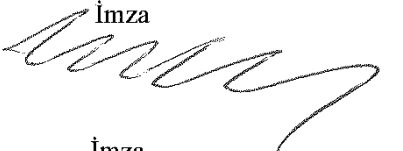


İstanbul Bilgi Üniversitesi

**ONAY**

Bu tez, yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ..... tarih ve ..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

**Doç.Dr. Türker Tekin ERGÜZEL**

**Enstitü Müdür V.**

İmza  
  
İmza  
  
İmza  


## ÖZET

Alzheimer hastalığı (AH), patolojik olarak beyin içinde senil amiloid plaklar (SP) ve nörofibriler yumaklar (NFY) birikimi ile karakterize, belirli beyin bölgelerindeki bazı nöron türlerinin dejenerasyona uğraması ve şiddetli nöronal kaybı ile sonuçlanan, ilerleyici ve ölümcül bir nörodejeneratif bozukluktur. Alzheimer hastalığı (AH), en sık görülen nörodejeneratif hastalıktır ve demans vakaların yaklaşık %60-80'ni karşılamaktadır. İleri yaşlarda sıklıkla AH'na yol açan nedenler hala belirsizliğini korumaktadır. Artan kanıtlar, AH'nın beyin insülin duyarlılığı, glikoz kullanımı ve artan oksidatif stres, nöroinflamasyon ve insülin direncinin kötüleşmesine yol açan bozulmaların aracılık ettiği metabolik bir hastalık olduğu kavramını desteklemektedir. Ayrıca Alzheimer hastalığı son yıllarda Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ile ilişkilendirilmekte olup, AH ile T2DM'nin altında yatan nöropatoloji arasında çeşitli bağlantılar olduğu ve Alzheimer hastalığının gelişme riskinin özellikle tip 2 diyabet olan diyabetli kişilerde daha yüksek olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmektedir. İnsülin reseptörünün sinyalleşmesindeki bozulma, Tip 2 diabetes mellituslu yaşlı hastalarda Alzheimer demansı ve bilişsel bozukluk gibi yaşla ilişkili beyin dejenerasyonu ile ilişkili görünmektedir. Çalışmamızı Alzheimer hastalığının Tip 2 diyabet hastalığı ile olan ilişkisi üzerinden tasarladık. Farklı popülasyonlardaki genom taraması çalışmaları kromozom 12q24 bölgesini Tip 2 diyabetle ilişkilendirmiştir. Bu bölge içinde, insülin üretiminin bir transkripsiyonel koaktivatörünü kodlayan PSMD9 (proteazom modülatörü 9) geni bulunmaktadır. PSMD9 insülin geninin transkripsiyonel bir düzenleyicisidir ve yapılan birçok çalışma PSMD9 varyantlarının  $\beta$ -hücre fonksiyon bozukluğuna neden olarak insülin transkripsiyonunu bozabildiğini ve Tip 2 diyabet hastalığına katkıda bulunabileceğini göstermiştir. Ayrıca PSMD9 ubiquitin-proteazomal yolağın bir parçasıdır ve proteazomun farmakolojik olarak inhibisyonu, nöron dejenerasyonunu ve apoptozisini uyarabileceği gösterilmiştir. Alzheimer hastalığında (AH) meydana gelen nöron dejenerasyonunda ve apoptozisinde proteazom inhibisyonunun olası bir rolü düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda PSMD9 geni E197G (rs14259) polimorfizminin AH'na olan etkisi araştırılmıştır. Çalışmaya 29 Alzheimer Hastası ve 25 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Alzheimer hastalarından ve sağlıklı kişilerden daha önceden alınmış kan koleksiyon materyalleriyle çalışılmıştır. Koleksiyon materyali tam

kan örneğinden genomik DNA izole edilmiş ve PSMD9 geninin rs14259 SNP kitleri ile kan örneklerinden izole edilen DNA üzerinde Roche DNA Master HyProbe ile gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak erime eğrisi analizi incelenmiştir. Alzheimer hasta grubuna klinik demans değerlendirme testi (CDR) ve mini mental durum testi (MMDT) uygulanmış ve genotipleme çalışması yapıldıktan sonra genom dağılımıyla test sonuçları karşılaştırılmıştır. AH ve kontrol grubunda PSMD9 gen polimorfizmi bakımından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Çalışmamızda PSMD9 geni E197G (rs14259) varyantının Türk popülasyonunda Alzheimer hastalığı için genetik risk faktörü oluşturmadığı saptanmıştır. Çalışmamız PSMD9 geni ve Alzheimer hastalığı arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışmadır. Daha büyük bir örneklem grubuyla Alzheimer hastalığında PSMD9 geninin hastalığa katkısını araştıracak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Alzheimer , PSMD9, polimorfizm, rs14259

## ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a progressive and fatal neurodegenerative disorder that resulting in degeneration of certain neuronal species in certain brain regions and severe neuronal loss, characterized by the accumulation of senile amyloid plaques (SP) and neurofibrillary tangles (NFT) within the brain pathologically. Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disease and dementia accounts for approximately 60-80% of cases. The causes that lead to AD in advanced ages are still unclear. Increased evidence supports the notion that AD is a metabolic disease mediated by impairments in brain insulin sensitivity, glucose utilization and increased oxidative stress, neuroinflammation and deterioration of insulin resistance. In addition, Alzheimer's disease has been associated with Type 2 diabetes mellitus (T2DM) in recent years, and it has been shown that there are various connections between the underlying neuropathology of AD and T2DM, and the risk of developing Alzheimer's disease is higher in people with diabetes, especially those with Type 2 diabetes. The deterioration in the signaling of the insulin receptor appears to be related to age-related brain degeneration, such as Alzheimer's dementia and cognitive impairment, in elderly patients with Type 2 diabetes mellitus. We designed our study from on the relationship between Alzheimer's disease and Type 2 diabetes. Genome screening studies in different populations had linked the chromosome 12q24 region to Type 2 diabetes. Within this region there is the PSMD9 (proteasome modulator 9) gene encoding a transcriptional coactivator of insulin production. PSMD9 is a transcriptional regulator of the insulin gene, and many studies have shown that PSMD9 variants can cause  $\beta$ -cell dysfunction, disrupt insulin transcription and contribute to Type 2 diabetes. In addition, PSMD9 is part of the ubiquitin-proteasomal pathway and pharmacological inhibition of the proteasome has shown that it can induce neuronal degeneration and apoptosis. A possible role of proteasome inhibition in neuronal degeneration and apoptosis in Alzheimer's disease (AD) is contemplated. In the light of this information, the effect of PSMD9 gene E197G (rs14259) polymorphism on AD was investigated. 29 Alzheimer's patients and 25 healthy controls were included in the study. In this study used blood collection materials that already taken from Alzheimer's patients and healthy subjects. Genomic DNA was isolated from the whole blood sample of the collection material. The melt curve analysis was

performed by using real-time polymerase chain reaction with Roche DNA Master HyProbe on DNA isolated from blood samples with rs14259 SNP kits of PSMD9 gene. Clinical dementia assessment test (CDR) and Mini mental status test (MMSE) were applied to the Alzheimer patient group and according to the genome distribution was compared with the test results. There was no statistically significant difference in the PSMD9 gene polymorphism between AD and control group. In our study, it was determined that the variant of PSMD9 gene E197G (rs14259) did not cause genetic risk factor for Alzheimer's disease in Turkish population. Our study was the first to investigate the relationship between PSMD9 gene and Alzheimer's disease. There are needed a larger sample group investigate the contribution of the PSMD9 gene to Alzheimer's disease in further studies.

**Keywords:** Alzheimer, PSMD9, polymorphism, rs14259



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde, tez süresince bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren; çalışmamın gerçekleştirilmesinde ve sonuçlandırılmasında sabır ve özveriyle her türlü bilimsel katkı ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Belkıs ATASEVER ARSLAN'a,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen, deneylerim sırasında yol göstericiliğı ile tüm yardımlarını sunan Fatih ÖZEN'e

Meslek hayatına beraber başladığım, aile sıcaklığını hissettiğim, beraber çalışmaktan onur duyduğum; tez süresince her zaman beni destekleyen ve her türlü yardımlarını esirgemeyen Amerikan Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Bölümü doktor ve fizyoterapist arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca hep destek veren ve eğitimim için arkamda duran kıymetli aileme

Bu sürenin her anını benimle yaşayan, bir an olsun yalnız bırakmayan sevgili arkadaşım Büşra BAŐKAN'a

Hep yanımda ve destekçim olan sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen yol ve hayat arkadaşım Ulaş Korcan AYDIN'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yağmur ÖZER

## **BEYAN**

Bu çalışmanın kendi yüksek lisans tezim olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez kapsamında elde edilemeyen bütün bilgi ve yorumlara' da kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

03/07/2019

Yağmur ÖZER

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>v</b>
<b>BEYAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>vii</b>
<b>TABLOLAR DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
2.1. Alzheimer Hastalığı.....	4
2.2. Alzheimer Hastalığı Epidemiyolojisi.....	5
2.3. Alzheimer Hastalığı Tanısı.....	6
2.4. Alzheimer Hastalığındaki Patolojik Değişiklikler.....	10
2.5. Alzheimer Hastalığında Genetik Faktörler.....	15
2.6. Alzheimer Hastalığı ve Tip 2 Diabetes Mellitus İlişkisi.....	16
2.7. PSMD9 Geni ve Polimorfizmi.....	23
2.8. Ubiquitin-Proteazom Sistemi(UPS) ve Alzheimer Hastalığı İlişkisi.....	28
<b>3.GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>33</b>

3.1. Klinik Değerlendirme.....	33
3.2. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu.....	35
3.3. DNA İzolasyonu Yapılmış Örneklerin Agaroz Jel Elektroforezi ile Görüntülenmesi.....	38
3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PZR).....	39
3.5. İstatiksel Analiz.....	43
<b>4.BULGULAR.....</b>	<b>44</b>
4.1. Demografik veriler.....	44
4.2. PSMD9 geni polimorfizminin (rs14259) oluşturduğu genotip ve alel frekansı.....	45
4.3. PSMD9 geni polimorfizminin dominant ve aditif modele göre incelenmesi.....	47
4.4. Alzheimer Hastalarında genotip dağılıma göre MMDT testi ortalmaları.....	48
4.5. Alzheimer Hastalarında genotip dağılıma göre CDR test sonuçları.....	48
<b>5.TARTIŞMA.....</b>	<b>50</b>
<b>6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>52</b>
<b>7.KAYNAKLAR.....</b>	<b>53</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>60</b>
<b>ETİK KURUL KARARI.....</b>	<b>61</b>

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1:</b> Demansların DSM-IV'e göre tanı kriterleri.....	8
<b>Tablo 2:</b> Mini Mental Durum Testi (MMDT).....	34
<b>Tablo 3:</b> RTA kandan genomik DNA izolasyon kitinin içerisinde çıkan malzemeler.....	37
<b>Tablo 4:</b> PZR karışımının elde edilmesi için gerekli bileşenlerin miktarı.....	41
<b>Tablo 5:</b> PZR protokolü.....	41
<b>Tablo 6:</b> Hasta ve kontrollerin yaş sıra ortalamaları karşılaştırılması.....	44
<b>Tablo 7:</b> Hasta ve kontrollerin Hardy-Weinberg test sonucu.....	45
<b>Tablo 8:</b> Hasta ve kontrollerin genotip dağılımı.....	46
<b>Tablo 9:</b> Hasta ve kontrollerin alel dağılımı.....	47
<b>Tablo 10:</b> PSMD9 polimorfizminin dominant model ve aditif model istatistik sonuçları.....	48
<b>Tablo 11:</b> Alzheimer hasta grubunda genotip dağılımına göre MMDT ortalaması.....	48
<b>Tablo 12:</b> Alzheimer hastalarında genotiplere göre CDR skoru dağılımı.....	49

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1:</b> Anormal insülin sinyali ile kognitif disfonksiyon arasındaki ilişki.....	18
<b>Şekil 2:</b> PSMD 9 geninin genomik lokasyonu.....	23
<b>Şekil 3:</b> E12 ve PSMD9 etkileşimi.....	24
<b>Şekil 4:</b> S14 ve PSMD9 etkileşimi.....	25
<b>Şekil 5:</b> IκBα-hnRNPA1 kompleksi ve PSMD9 etkileşimi.....	25
<b>Şekil 6:</b> 26S Proteazom parça ve PSMD9.....	29
<b>Şekil 7:</b> Klinik Demans Derecelendirme Skalası (CDR).....	35
<b>Şekil 8:</b> AA genotipine sahip bireylerin erime eğrisi grafiği.....	42
<b>Şekil 9:</b> AG genotipine sahip bireylerin erime eğrisi grafiği.....	42
<b>Şekil 10:</b> GG genotipine sahip bireylerin erime eğrisi grafiği.....	43
<b>Şekil 11:</b> Gruplar arası cinsiyet dağılım grafiği.....	45
<b>Şekil 12:</b> Hasta ve kontrol gruplarındaki genotip dağılımı grafiği .....	46
<b>Şekil 13:</b> Hasta ve kontrol grupları arasındaki alel dağılımı grafiği .....	47
<b>Şekil 14:</b> Alzheimer hastalarında CDR skorlamasına göre dağılım grafiği .....	49

## RESİMLER DİZİNİ

- Resim 1:** RTA kandan genomik DNA izolasyon kitinin içinden çıkan solüsyonlar.....37
- Resim 2:** RTA kandan genomik DNA izolasyon kitinin içinden çıkan tüpler.....37
- Resim 3:** Elde edilen DNA ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi ile görüntülenmesi...39
- Resim 4:** PSMD9 polimorfizmi için PZR primeri.....41



## SİMGELER VE KISALTMALAR

**AH:** Alzheimer Hastalığı

**T2DM:** Tip 2 diabetes mellitus

**PSMD9:** Proteazom modülatörü 9

**SNP:** Single nucleotide polymorphism

**IR:** İnsülin reseptörü

**MMDT:** Mini mental durum testi

**CDR:** Klinik Demans Skalası

**SP:** Senil Plak

**NFY:** Nörofibril yumaklar

**LTP:** Long-term potentiation

**ROS:** Reaktif Oksijen türleri

**DNA:** Deoksiribo Nükleik Asit

**A $\beta$ :** Amiloid Beta

**UPS:** Ubiquitin proteazom sistem

**DSM:** Zihinsel Bozuklukların Tanısal ve İstatiksel El Kitabı

**NINCDS-ARDA:** Ulusal Nörolojik İletişimsel Bozukluklar ve İnme ve Alzheimer Hastalığı ve İlişkili Hastalıklar Derneği

**EEG:** Elektroensefalogram

**MDT:** Mental durum testi

**APP:** Amiloid prekürsör protein

**PSEN:** Presenilin protein



**CDK5:** Sikline bağımlı kinaz 5

**GSK3:** Glikojen sentaz kinaz 3

**GSK-3 $\beta$ :** Glikojen sentaz kinaz 3 beta

**Ach:** Asetilkolin

**EBAH:** Erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı

**APOE:** Apolipoprotein E

**IGF-1:** İnsülin benzeri büyüme faktörü 1

**ATP:** Adenozin trifosfat

**PI3K:** Fosfoinositol 3 kinaz

**IAPP:** Adacık amiloid prekürsör protein

**A $\beta$ PP:** Amiloid beta prekürsör protein

**TGF:** Dönüşüm büyüme faktörü grubu

**MSS:** Merkezi sinir sistemi

**ATP<sub>az</sub>:** Adenozin trifosfataz

**kDa:** Kilodalton

**PSMC3:** Proteazom 26S subunit ATP<sub>az</sub> 3

**PSMC6:** Proteazom 26S subunit ATP<sub>az</sub> 6

**P27:** PSMD9 geni

**UPS:** Ubiquitin proteazom sistem

**PDZ:** Postsinaptik density

**PDX-1:** Pankreatik ve duodenal homeobox-1

**BHLH:** Basic helix-loop-helix

**hnRNPA1:** Heterogeneous nuclear ribonuclear protein A1

**CSH1:** Chorionic Somatomammotropin Hormone 1

**IL-6:** İnterlökin 6

**NF-kB:** Nükleer faktör kapa B

**IkBA:** NF-kB inhibitörü

**TNF- $\alpha$ :** Tümör nekrozis faktör alfa

**NIDDM2:** İnsüline bağımlı olmayan diyabet, lokus 2

**MODY3:** Maturity onset diabetes of young/ Monogenik diyabet

**PS-1:** Presenilin-1

**PS-2:** Presenilin-2

**EDTA:** Etilendiamin tetraasetik asit

**UV:** Ultraviyole

**TBE:** Tris-Borat EDTA

**PZR:** Polimeraz zincir reaksiyonu

**HWE:** Hardy-Weinberg denge testi

**bç:** Baz çifti

# 1.GİRİŞ

Bilinmeyen etiolojide ilerleyici bir nörodejeneratif hastalık olan ve ilerleyen zamanlarda ağır iş görmezlik ve ölüme yol açan Alzheimer Hastalığı, 21. yüzyılın pandemiği olarak tanımlanmaktadır (Jellinger, 2006). AH patolojik olarak beynin belirli bölgelerinde senil plaklar (SP) ve nörofibriller yumaklar (NFY) ile karakterize olan ek olarak beyinde bazı nöron türlerinin dejenerasyona uğraması ile şiddetli nöronal kayıp ile sonuçlanan bir hastalıktır. Beynin normal organizasyonu ve fonksiyonunun bozulması sonucunda yakın geçmiş zamanın unutulması ile başlayan; hastalığın ilerlemesiyle diğer kognitif fonksiyonlarda da bozulmayla karakterize edilen demansların en sık formudur (Terry ve ark., 1991).

Alzheimer Hastalığı'nda yapılan çalışmalar hastalığın arka planında tek bir faktörün etkili olmadığını gösterirken, hastalığa neden olabilecek birçok risk faktörü tanımlamıştır. Genetik ve çevresel faktörlerin birbiriyle etkileşimi AH'na zemin hazırlamaktadır. Çok sayıda epidemiyolojik çalışma diabetes mellitus'u (özellikle Tip 2) Alzheimer hastalığı için risk faktörü olarak tanımlamış ve ilişkilendirmiştir (Haan, 2006). Tip2 diyabetes mellitus (T2DM) en sık görülen metabolik bozukluklardan biridir ve prevalansı yaşla birlikte artmaktadır. Aynı zamanda AH'nın da prevalansı yaşla birlikte artmaktadır ve yaş AH için bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Bazı çalışmalar T2DM ve AH arasında benzerliklerin olduğunu ve her iki hastalığında ortak fizyolojik süreçlere sahip olduğunu göstermiştir (Li ve Hölscher, 2007). Son yapılan çalışmalar metabolik bozuklukların AH'nın yapısal, fonksiyonel, moleküler ve biyokimyasal anormalliklerine doğrudan katkıda bulunduğunu göstermektedir. Postmortem çalışmalar, AH'daki moleküler, biyokimyasal ve sinyal iletim anormalliklerinin Tip 1 ve Tip 2 diyabet ile hemen hemen aynı olduğunu göstermektedir. Benzerliği gösteren güçlü kanıtlar olmasından dolayı son zamanlarda AH için Tip 3 diabetes mellitus isimlendirilmesi kullanılmaya başlanmıştır (de la Monte, 2014).

İnsülin sinyalindeki bozulmaların AH'daki bilişsel gerilemeden kısmen sorumlu olduğuna dair kanıtlar da artmaktadır (de la Monte ve Wands, 2005). İnsülin sinyalindeki bozuklukların, hücre büyümesini ve farklılaşmasını, hücre onarım

mekanizmalarını, enerji metabolizmasını ve glukoz kullanımını etkilediği gösterilmiştir. İnsülin kan şekeri seviyelerini düzenlemenin yanısıra, merkezi sinir sistemindeki nöronlar

dahil tüm hücrelerde büyüme faktörü olarak işlev görmektedir. İnsülin sinyalindeki bozulma sadece kan glukoz seviyelerini etkilemekle kalmaz, aynı zamanda birçok dejeneratif işleme neden olur (Li ve Hölscher, 2007). Yapılan çalışmalarda glukoz metabolizmasındaki insülin direnci / yetersizliği ile ilişkili bozuklukların beyin enerji dengesini bozabileceği, oksidatif stresi ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini arttırabileceği, DNA hasarına neden olabileceği ve mitokondriyal disfonksiyonu bozabileceği; apoptoz, proinflamatuvar ve pro-A $\beta$ PP-A $\beta$  basamaklarını etkileyeceği gösterilmiştir (de la Monte ve ark., 2009; de la Monte ve Wands, 2005). Son araştırmalar, insülin reseptörlerinin (IR) nöronal büyüme, sinaptik gelişim ve nörotransmitter salınımının doğrudan kontrolünde birçok önemli rolünü ortaya çıkarmıştır (Li ve Hölscher, 2007). Buna bağlı olarak, beyin insülin reseptörü ekspresyonu ve fonksiyonunun baskılandığı çalışmalarda, beyinde bilişsel bozulma ve AH'da görülen moleküler ve biyokimyasal anormalliklerle sonuçlanmıştır (de la Monte ve ark., 2011).

AH'da, merkezi sinir sistemindeki insülin direncinin, insülin reseptörü hassasiyetindeki değişiklikler nedeniyle geliştiği gözlemlenmiştir. Bu, A $\beta$  ve tau proteininin ekspresyonunu ve metabolizmasını etkiler (Watson ve Craft, 2004). İnsülin reseptörleri, hafıza oluşumu, bilgi işleme ve bilişsel süreçlerde etkili olan nöronal transmisyonun (LTP) modülasyonunda önemli bir rol üstlenmektedir. LTP uzun vadeli kuvvetlendirmesinin indüklenmesi için gerekli olan sinaptik membran depolarizasyonunu uyarmaktadır (Zhao ve ark, 2000). Ayrıca diyabet hayvan modellerinde, insülin enjeksiyonunun hafıza oluşumunun bozulmasını önleyebileceği gösterilmiştir (Gispén ve Biessels, 2000). T2DM ve AH arasında belirgin farklılıklar olsa da, her iki hastalıkta da bozulmuş protein ekspresyonu, insülin sinyallerinde bozulma ve sitotoksik süreçlerdeki benzerlikler ve ortak moleküler dejenerasyon mekanizmaları bulunmaktadır (Li ve Hölscher, 2007).

Çalışmamızı T2DM'un Alzheimer hastalığı için risk faktörü oluşturduğu bilgisi dahilinde iki hastalığında genetik süreçlerindeki benzerliğini ortaya çıkarabilmek üzerine tasarladık. T2DM hastalığı ile ilişkisi gösterilmiş olan kromozom 12q24 lokusunda bulunan PSMD9 geni polimorfizminin AH'ı için bir risk faktörü oluşturup oluşturmayacağını araştırdık (Gragnoli ve Cronsell, 2007). PSMD9, insülin geni transkripsiyonunu bozan bir transkripsiyonel regülatördür ve beta-hücre fonksiyon bozukluğuna neden olarak Tip 2 diyabete katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Thomas ve

ark., 1999). Kromozom 12q24 lokusunun ayrıca T2DM ile ilgili mikrovasküler ve makrovasküler patoloji, diyabetik ve diyabet ile ilişkili olmayan retinopati, hiperkolesterolemi, diyabetik nöropati, diyabetik nefropati, hipertansiyon, depresyon, anksiyete , uykusuzluk ve karpal tünel sendromuyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Hao ve ark., 2015). Ayrıca PSMD9 geni ubiquitin proteazom sisteminin (UPS) bir parçasıdır. UPS hücre içi proteinlerin parçalanması için ana yoldur (Olzmann ve ark., 2008). Bununla birlikte, hasar görmüş ve toksik yanlış katlanmış proteinlerin birçok nörodejeneratif hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (de Nazareth, 2017). PSMD9 varyantlarının nörodejeneratif hastalıklardaki etkileri bilinmemektedir. Proteozamol fonksiyonel bozukluğunun Alzheimer hastalığında nörodejeneratif sürece katkısı olabileceği düşünülerek PSMD9 rs14259 varyantının etkisi incelenmek istenmiştir.

Alzheimer hastalığının T2DM ile ilişkisini destekleyen çalışmalar göz önüne alındığında, ortak hastalık yollarının bu hastalıkların patogenezendeki rolünü anlamak, iki hastalık arasındaki ilişkinin mekanik temellerini çözmek ve yeni tanı ve tedavi yöntemleri geliştirmek için önemlidir. Yapacağımız bu çalışma ile PSMD9 geni ve AH ile ilişkisini aydınlatıp ilgili çalışmalara katkı sağlamayı umuyoruz.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Alzheimer Hastalığı

Alzheimer Hastalığı ilerleyici nörodejeneratif hastalıkların en sık görülen tipi olup yaşlanan nüfusta önde gelen morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir (Keene ve ark., 2018). Alzheimer hastalığı (AH), ileri yaşta en sık görülen demans türü olarak, genetik ve çevresel faktörlere göre karmaşık etiyolojiye sahip multifaktöriyel bir hastalıktır (Guillermo ve ark., 2015). En belirgin klinik semptomu güncel hafızanın kaybolması ve görsel-mekansal karışıklıktır (Wells ve ark., 1992). Bellek yetkinliğinin kaybolmasına; karar verme, görsel algılamada bozukluk, lisan fonksiyonlarında bozulma, akıl yürütme becerileri ve günlük işleri yapmada güçlük ve diğer bilişsel işlev kayıpları eşlik etmektedir (Oddo, 2008). Patolojik olarak AH ile ilişkili beyin dokusu, öğrenme ve hafıza için kritik olan temporal ve parietal loblar, frontal korteks, singulat gyrus bölgeleriyle sınırlı olan belirgin atrofi, ciddi nöron ve sinaps kaybıyla karakterizedir (Price ve ark., 1991).

AH tanısı koymak için standart bir yöntem bulunmamaktadır ve klinikte Alzheimer tanısı koymak, demansa neden olabilecek diğer hastalıkların dışlanması ile mümkündür. Kesin Alzheimer Hastalığı tanısı postmortem dönemde nöropatolojik inceleme yapılarak konulabilmektedir. Alzheimer hastalarında postmortem dönemdeki beyin incelenmesinde; beyinde sinaptik kayıp, nöroinflamasyon, nöronal hücre ölümü, kortikal atrofi, nörofibril yumaklar (NFY) ve senil plakların(SP) varlığı tanı koydurur (Braak ve Braak, 1997). Sinaptik kayıp ve bilişsel gerileme arasındaki anlamlı korelesyon, AH patolojisinde sinaptik disfonksiyonun primer olay olduğunu göstermektedir. Nöronal ölüm ve nörofibriler yumaklar ve senil plaklarının oluşumu hastalığın sonraki aşamalarında ortaya çıkar. Amigdala, hipokampus ve neokortekste görülen senil plaklar(SP) hastalığın en önemli belirtilerindendir (Probst ve ark., 1987). Hiperfosforile edilmiş tau proteinin mikrotübüllere bağlanma yeteneği bozulur ve bunlar ilerleyen zamanda hücre içinde NFY'lara dönüşürler. NFY'ler aksonal transportu bozup hücre ölümüne neden olur. Senil plakların ana bileşeni  $\beta$ -amiloid ( $A\beta$ ) proteindir ve  $A\beta$  hücre dışında birikmesi sonucunda oluşmaktadır. Kanıtlar  $A\beta$ 'nin sinaps dejenerasyonuna neden olarak bilişsel işlev bozukluğuna yol açabileceğini

göstermektedir (Kimura, 2016). AH tek bir faktörden kaynaklanmamakta, bunun yerine birden fazla etkileşimli sebeple uzun yıllar içerisinde gelişmektedir.

AH sınıflandırmasını ailede birinci derece yakınlarında demans öyküsü olup olmamasına göre; ailesel ve sporadik olarak yapabiliriz. Ayrıca hastalığın başlangıç yaşına göre 65 yaş altı ise erken başlangıçlı AH, 65 yaş üstü ise geç başlangıçlı AH olarak sınıflandırabiliriz (Tysoe ve ark. 1997). Bazı gen mutasyonları ailesel AH'na neden olsada; AH vakalarının %90'ından fazlası sporadik özelliktedir. Buda yaşlanmanın AH'ı için büyük bir risk faktörü olduğu fikrini desteklemektedir (Kimura, 2016).

## **2.2 Alzheimer Hastalığı Epidemiyolojisi**

AH'nın ortaya çıkışı, yaş ile güçlü bir korelasyon göstermektedir. AH yaşlanma ile birlikte orantılı olarak artan bir ilerleyişe sahiptir. Bu nedenle, yaş AH için prevalans faktörü olarak kabul edilmektedir (Braak ve Braak, 1997). Epidemiyolojik olarak AH'ı 65 yaş ve üzerindeki bireylerin (%5)'ini etkilerken, 80 yaş ve üzerindeki bireylerin (%20)'sini etkilemektedir. Bu bize AH'nın prevalans oranının 60 yaşından sonra her 5 yılda bir 2 katına çıktığını ifade etmektedir (Prince ve ark., 2014). Bir araştırma grubunun 2005 yılında yaptığı çalışmada, mevcut epidemiyolojik verilere dayanarak, 24.3 milyon insanın demans olduğunu ve her yıl 4.6 milyon yeni demans vakası olduğunu belirtmiştir. Demans vakalarının çoğu gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıktığı söylenmektedir. Bu demans vakalarının %70'inin AH'na bağlı olarak ortaya çıktığı bildirilmektedir. Dünya genelinde, demansın küresel prevalansının 60 yaş üstü insanlarda (%3.9), bölgesel prevalansın Afrika'da (%1.6), Çin ve Batı Pasifik bölgelerinde (%4.0), Latin Amerika'da (%4.6), Batı Avrupa'da (%5.4) ve Kuzey Amerika'da (%6.4) olduğu tahmin edilmektedir (Ferri ve ark., 2005). Dünya genelinde yaşlanan nüfusun artması nedeniyle, risk altındaki bireylerin sayısı da artmaktadır.

2015 yılında yapılan tahminler, dünya genelinde demanstan yaklaşık 46.8 milyon insanın etkilendiğini göstermiştir. Ayrıca yapılan tahminler, 2030 yılında AH vakalarının 74.7 milyon kişiye ve 2050 yılında 131.5 milyona ulaşacağı yönündedir (Dos Santos Picanco ve ark., 2018). 2015 yılında yayımlanan Dünya Alzheimer Raporu tahminlerine göre, Doğu Asya ve Afrika en fazla sayıda AH vakası bulunan bölgelerdir. En yüksek insidans oranları sahip bölgeler Asya (%49), Avrupa (%25) ve Amerika (%18) olarak rapor edilmiştir. Dünya Alzheimer Raporu'na göre, Avrupa ve Amerika'da en yüksek AH

görülme sıklığının 80-89 yaşları arasında, Asya'da 75-84 yaş ve 65-74 yaşları arasında olduğu ifade edilmiştir. Başka bir çalışmada Amerika Birleşik Devletleri'nde, 2050 yılına kadar yaklaşık 14 milyon insanın AH'dan muzdarip olacağı tahmin edilmektedir (Hebert ve ark., 2013).

Ayrıca, Erken başlangıçlı AH vakaları görülme sıklığı daha az olmakla birlikte vakaların %1-5'ini oluşturmaktadır. Geç başlangıçlı AH, vakaların %95'ini kapsamaktadır. Klinikte iki grubu birbirinden ayırmak zordur ama erken başlangıçlı AH hızlı klinik seyir izlemektedir (Reitz ve Mayeux, 2014).

### **2.3 Alzheimer Hastalığı Tanısı**

Alzheimer Hastalığı'nın kesin tanısı histopatolojik incelemede beynin AH'ı ile ilişkili bölgelerinde nöron hücre kaybını, nörofibril yumakların ve senil plakların varlığını gerektirmektedir. Postmortem dönemde nöropatolojik incelemeyle kesin AH tanısı konulabilir. AH'nin çoğu epidemiyolojik çalışması olguları tanımlamak için klinik kriterlere dayanmaktadır. Alzheimer hastalığı klinik tanısını koyabilmek için genel olarak sinsi başlangıç, bellekte ve diğer kognitif fonksiyonlarda ilerleyici bozulma kriterlerini içermektedir (Terry ve ark., 1991)

Klinik değerlendirme de AH hastalığı tanısı doğruluğunu ve güvenilirliğini arttırmak için klinikte kullanılan ilk kabul edilebilecek kriterler; Amerikan Psikiyatri Birliği tarafından yayımlanan Zihinsel Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı (DSM III) kriterleridir. Bu ilk girişimden sonra 1984 yılında Alzheimer hastalığının klinik tanısını tanımlamak için Ulusal Nörolojik ve İletişimsel Bozukluklar ve İnme (NINCDS) ve Alzheimer Hastalığı ve İlişkili Hastalıklar Derneği (ADRDA) tarafından bir çalışma grubu oluşturulmuştur. Bu çalışma ekibi tıbbi öykü, klinik muayene, nöropsikolojik testler ve laboratuvar değerlendirmeleri konularını da ele alarak Temmuz 1984'te yayınlanan bir rapor hazırlamıştır. Genelde NINCDS-ADRDA kriterleri olarak adlandırılan bu rapordaki kriterler, 27 yıldan uzun süredir başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (McKhann ve ark., 1984). Bu kriterler olası AH tanısı için güvenilir ve birçok klinik patolojik çalışmada %81 duyarlılık ve %70 özgüllüğü olduğu gösterilmiştir (Knopman ve ark., 2001). Bunlar klinik çalışmalarda ve klinik araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca nöropsikolojik testler ve psikometrik testler, çeşitli alanlarda hastaların bilişsel işlevlerini analiz etmektedir. Ek



olarak kan testleri, yapısal nörögörüntüleme, moleküler ve fonksiyonel nörögörüntüleme, beyin omurilik sıvısı analizi, elektroensefalogram (EEG) ve genetik testler hastalığın daha eksiksiz bir tanısını ortaya koyabilecek önemli tamamlayıcı testler olarak kullanılmaktadır. Muhtemel AH tanısı için klinik kriterler zaman içinde değişmiştir. AH tanısı için DSM-III kriterleri genişletilerek DSM-IV kriterleri olarak yayınlamış daha sonrada AH için tanı kriterleri 2013 yılında revize edilmiştir. Muhtemel AH'nın DSM-5 kriterlerine göre tanımı; bilişsel alanlar, öğrenme ve bellek, dil, yürütme işlevi, karmaşık dikkat, algısal-motor ve sosyal biliş içerecek şekilde yeniden adlandırılmıştır. Önceki kriterler ise bellek, afazi, apraksi, agnozi ve yürütme fonksiyonu olmak üzere beş alanda tanımlamıştır. Önceki versiyonlarda olduğu gibi son yayınlanan kriterlerde, en az bir başka bilişsel alandaki hem hafıza bozukluğunu hem de bilişsel işlevlerdeki azalmayı içermektedir. Bu kriterlere yeni eklenen, muhtemel AH'nın teşhisini desteklediği biliniyorsa, genetik test sonuçlarının da değerlendirilerek tanımlanmasıdır (Darrel ve ark., 2013)

**Tablo 1: Demansların DSM-IV'e göre tanı kriterleri**

---

**A. Aşağıdakilerden her ikisinin bulunması ile belirli çoğul kognitif defisit gelişmesi**

- 1) Bellek bozukluğu (yeni bilgiler öğrenme ya da daha önceden öğrenilmiş bilgileri anımsama yetisinde bozulma)
- 2) Aşağıdaki kognitif bozuklardan birinin ( ya da daha fazlasının) bulunması:
  - a) Afazi (dil bozukluğu)
  - b) Apraksi (motor işlevlerde bozukluk olmamasına karşın motor etkinlikleri yerine getirme yetisinde bozulma)
  - c) Agnozi (duyu işlevlerinde bozukluk olmamasına karşın nesnelere tanıyamama ya da tanımlayamama)
  - d) Yönetimsel işlevlerde bozukluk (yani, tasarlama, organize etme, sıraya koyma, soyutlama)

B. A1 ve A2 Tanı Ölçütlerinde sözü edilen kognitif bozuklukların her biri toplumsal ya da mesleki işlevsellikte belirgin bir bozukluğu neden olur ve önceki işlevsellik düzeyinde belirgin bir düşme olur.

C. Aşama aşama başlar ve sürekli kognitif bir düşme görülür.

**D. A1 ve A2 Tanı Ölçütlerinde sözü edilen kognitif bozukluklar aşağıdakilerden herhangi birine bağlı değildir.**

- 1) Bellekte ve bilişte ilerleyici bozukluklara neden olan merkezi sinir sistemini ilgilendiren diğer durumlar (örn. Serebrovasküler hastalık, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, subdural hematom, normal basınçlı hidrosetali, beyin tümörü)
- 2) Demansa neden olduğu bilinen sistemik durumlar (örn. Hipotiroidizm, vitamin B12 ya da folik asit eksikliği, niyasin eksikliği, hiperkalsemi, nörosifiliz, HIV enfeksiyonu)
- 3) Madde kullanımının yol açtığı durumlar

E. Bu bozukluklar sadece deliriumun gidişi sırasında ortaya çıkmamaktadır.

F. Bu bozukluk başka bir Eksen I bozukluğuyla daha iyi açıklanamaz. (örn. Majör Depresif Bozukluk, Şizofreni)

Hastalığın seyri oldukça fazla değişkenlik gösterir. Hastalığın başlangıcından itibaren ölüme kadar geçen süre 8-10 senedir. AH'nın seyri bilişsel bozuklukların, fonksiyonel kayıpların veya temel özelliklerinin izlenmesi ile ölçülebilir. İlerlemeye etki eden diğer faktörler arasında ekstrapiramidal faktörler, psikoz ve lisan bozukluklarıdır. Ölüm sıklıkla pnömoni, pulmoner emboli, ürosepsis ve dekübitus ülserleri ve beslenememe sonucu olur.

---

(Eker, 2008)

NINCDS-ADRDA kriterleride Muhtemel AH demans tanısı için, Ulusal Yaşlanma Enstitüsü ve Alzheimer Derneği tarafından en son 2011 yılında güncellenmiştir. NINCDS-ADRDA kriterlerine göre AH demansı, işyerinde veya günlük yaşam aktivitelerinde fonksiyonel becerinin etkilenmesi, önceki işleyiş düzeyleriyle karşılaştırıldığında işlevsellik ve performansta bir bozulma ve mevcut durumun delirium ya da majör psikiyatrik bozuklukla açıklanamaması özellikleriyle tanımlanan bir demans türünü tanımlamaktadır. Kognitif bozukluk; kişinin kendisinden ve yakınından alınan anamnez, objektif bilişsel değerlendirme, mental durum testi (MDT) ve gerekli görüldüğü hallerde objektif nöropsikiyatrik testlerde eklenerek değerlendirilmekte ve teşhis edilmektedir. Nöropsikolojik testler; rutin öykü ve mental durum testi ile emin bir tanı koydurtmadığında yapılmalıdır. Değerlendirme sonucu saptanan kognitif veya davranışsal yetersizlik aşağıda belirtilen gruplardan en az iki tanesini içermelidir.

- 1.Yeni bilgileri edinme ve hatırlama becerilerinde bozulma: Belirtiler arasında; tekrarlayan sorular veya konuşmalar, kişisel eşyaların yanlış yerleştirilmesi, olayları veya randevuları unutmak, tanıdık bir rotada kaybolmak olabilir.
- 2.Bozuk muhakeme yeteneği ve karmaşık görevlerin ele alınmasındaki karar verme sürecinde bozulmalar: Semptomlar şunlardır: güvenlik risklerinin yeterince anlaşılmasında zayıflık, parasal durumların yönetilememesi, karar alma kabiliyetinin yetersiz olması, karmaşık veya ardışık faaliyetlerin planlanamaması.
- 3.Görsel ve uzamsal yeteneklerde bozulma: Semptomlar şunlardır; yüzleri ya da bilindik nesnelere tanımda yetersizlik ya da çevredeki basit görünüşleri objeleri bulamama vücuda kıyafetleri yönlendirmede ve giyinmede problemler
- 4.Bozulmuş dil işlevleri (konuşma, okuma, yazma problemleri): Semptomlar şunları içerir: konuşma sırasında ortak sözcükleri düşünme zorluğu, tereddütler; konuşma, yazım ve yazma hataları.
- 5.Kişilik ve davranışlarda değişiklikler: Belirtiler şunları içerir; ajitasyon, motivasyon bozukluğu, girişimde bulunmada istek azlığı, ilgisizlik, sosyal geri çekilme, önceki faaliyetlere olan ilginin azalması, empati kaybı, zorlayıcı ya da takıntılı davranışlar gibi sosyal olmayan ruhsal dalgalanmalar, sosyal olarak kabul edilemez davranışlar (McKhan ve ark., 2011).

NINCDS-ARDA Alzheimer hastalığının neden olduğu demansı olan bireyleri (1) Muhtemel AH demansı, (2) Olası AH demansı ve (3) AH patofizyolojik sürecinin kanıtı ile muhtemel veya olası AH demansı olarak sınıflandırmaktadır. İlk ikisi tüm klinik ortamlarda kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Üçüncüsü şu anda araştırma amaçlı kullanılmaktadır

Muhtemel AH demansının temel klinik kriterleri yukarıda açıklanan demans kriterlerini karşılar ve ek olarak, aşağıdaki özellikleride içermektedir.

- A. Semptomlar aylar ya da yıllar boyunca kademeli olarak ortaya çıkmalı yani sinsi başlangıçlı olmalı başlangıç zamanında belirti vermemelidir.
- B. Biliş durumunun kötüleşmesinin başlangıcının ve ilerlemesinin durumu rapor ya da gözlem yoluyla bildirilmelidir (Guy ve ark., 2011)
- C. Aşağıdaki kategorilerde belirtilen kognitif eksikliklerin biri incelemede ortaya konulmalıdır.

a.Amnestik form: AH demansının en sık görülen sendrom şeklidir. Defisitler, yeni öğrenilen bilgilerin öğrenilmesi ve geri çağrılmasını engeller. Ayrıca metinde daha önce tanımlandığı gibi, en az bir başka bilişsel alandaki bilişsel işlev bozukluğunun kanıtı da olmalıdır.

b.Nonamnestik form: Dil formu: En belirgin problem kelime bulmadadır, ancak diğer bilişsel alanlardaki eksiklikler de mevcut olmalıdır.

c.Visosospazal form: En belirgin defisit, nesne agnosisi, bozulmuş yüz tanıma, simültanagnosia ve alexia dahil olmak üzere mekânsal biliştir. Diğer bilişsel alanlardaki problemler de mevcut olmalıdır.

d.Yürütme disfonksiyonu: En belirgin defisitler bozulmuş akıl yürütme, yargılama ve problem çözmededir. Diğer bilişsel alanlardaki problemler mevcut olmalıdır.

D. Muhtemel AD demansı tanısı için kognitif bozukluğun başlangıcı veya kötüleşmesi ile geçici olarak ilişkili bir inme öyküsü, başka serebrovasküler hastalık, çok sayıda veya geniş kapsamlı enfarktüs, ciddi beyaz madde hiperintensitesi yükünün varlığı, Lewy cisimcikli demansı mevcutsa, davranışsal değişken frontotemporal demansın belirgin özellikleri mevcutsa, semantik varyant primer progresif afazinin, başka aktif nörolojik hastalık veya nörolojik olmayan tıbbi komorbidite veya biliş üzerine önemli bir etkisi olabilecek ilaçların kullanımı dışlanmalıdır (Mckhan ve ark., 2011).

Muhtemel AH demans için temel klinik kriterleri karşılayan kişilerde, nedensel bir genetik mutasyonun kanıtı (APP, PSEN1 veya PSEN2'de), kognitif yıkımın MDT veya nöropsikiyatrik testlerle desteklenmesi tanıyı kuvvetlendirmektedir. Bunu kesinlik seviyesi yüksek muhtemel AH demansı olarak isimlendirebiliriz (Guy ve ark., 2011).

#### **2.4 Alzheimer Hastalığındaki Patolojik Değişiklikler**

Yüz yıldan fazla bir geçmişe sahip olsa bile, AH patogenezi ile ilgili tam bir açıklığa sahip değildir ve iyileşmeye neden olan bir tedavi bulunamamıştır. Alzheimer hastalığı ile ilişkili beyin dokusunda gözlenen nöropatolojik biyobelirteçler, nörofibriler yumaklar (NFY) ve senil plaklardır. Nöronların hücre dışı yüzeyinde  $\beta$ -amiloid ( $A\beta$ ) peptitler birikmekte ve hiperfosforile edilmiş Tau proteininin hücre içi birikiminden kaynaklanan nörofibriler yumaklar (NFY) oluşmaktadır. Bu patolojilere ek olarak, yaygın nöron ve sinaps kaybı görülmektedir. AH'da yaşa bağlı olarak artış gösteren hipokampus ve serebral korteks atrofisi mevcuttur (Serrano Pazo ve ark., 2011). AH'nin erken evresinde,

sinapsların yoğunluğunda % 25-35 oranında bir azalma meydana gelmektedir ve hastalık ilerledikçe sinaptik kayıp; plaklar ve fibriller ile daha güçlü bir şekilde ilişki göstermektedir (Terry ve ark., 1991).

Nörofibriler yumaklar (NFY) sadece AH özgülü değildir. Nörodejeneratif hastalıkların hemen hemen her sınıfında hatta normal yaşlanan beyinde de bulunurlar. Yapılan çalışmalar bazı koşullar altında nörofibriler yumakların nörodejeneratif değişikliklerle doğrudan bağlantılı olabileceğini göstermiştir. Ayrıca NFY oluşumu ile bilişsel bozulmanın korelasyonunu gösteren çalışmalar mevcuttur. NFY'lerin miktar ve dağılımının demansın ciddiyeti ve süresi ile korele olduğunu ortaya koyan birçok çalışma vardır (Serrano Pazo ve ark., 2011). NFY'ler zamanla fonksiyonel bozukluğa ve nöronal ölüme yol açmaktadır. AH nöropatolojisinde nörofibriler yumakların yoğunluğu ve nöroanatomik yerleşimi önemlidir (Nelson ve ark., 2012). NFY'ler, sitoskeletal yapı ve fonksiyonun düzenlenmesi de dahil olmak üzere, birkaç hücresel fonksiyona sahip mikrotübül bağlayıcı bir protein olan tau'dan oluşmaktadır (Ballatore ve ark., 2007). NFY'ler Tau proteininin anormal hiperfosforilasyonu ve anormal şekilde yanlış katlanması sonucu meydana gelmektedir. Tau proteini, 17. kromozomda bulunan bir gen tarafında kodlanmaktadır, insan yetişkin beyinde eksprese edilen altı farklı izoformu bulunmaktadır ve mikrotübül stabilitesini sağlayan bir tür tübülün düzenliğini desteklemektedir. Tau proteini mikrotübülleri bağlayarak ve stabilize ederek aksonal taşınmayı fizyolojik olarak kolaylaştırmaktadır (Serrano Pazo ve ark., 2011). Tau aktivitesi, iki belirgin kinaz tarafından modüle edilen fosforilasyon durumuyla kontrol edilir: sikline bağımlı kinaz 5 (CDK5) ve glikojen sentaz kinaz 3 (GSK3) (Buee ve ark., 2000). AH'da hiperaktif kinazlar ve/veya hipoaktif fosfatazlar tau proteininin hiperfosforilasyonuna yol açmaktadır. AH'da Tau hiperfosforilasyonuna neden olan kilit kinaz aktivitesi tam olarak aydınlatılamamıştır fakat GSK-3β'nin tau fosforilasyonundaki önemli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca CDK5'in hiperaktivitesinin Tau hiperfosforilasyonuna ve nörodejeneratif sürece katkısı olduğu öne sürülmektedir. Tau proteininin hiperfosforile olması, mikrotübüllere bağlanma yeteneğini azaltarak, hücre iskelet yapısını bozmaktadır. Nöron hücresi içindeki nöronal fibriller birikimler, bağlanmamış fosforile tau'nun çözölemeyen çift sarmallı filamanlara polimerize olması sonucu yoğunlaşmasıyla oluşmaktadır. Biriken NFY'ler nöronal sitoskeletal ağları ve aksonal taşınmayı bozar, sinaptik bağlantının kopmasına ve ilerleyici nörodejenerasyona

yol açar (Iqbal ve ark., 2010). Geç evrede NFY sonunda hücre iskeletinin bütünlüğünü ve aksonal transportu bozarak hücre ölümüne neden olmaktadır. Hücre ölümü sonucunda ortaya çıkan ekstraselüler NFY'lara 'hayalet yumak' adı verilmektedir. AH 'da patolojik değişiklikler görülmektedir. NFY'ler hastalığın erken dönemlerinde limbik bölgelerde yaygın olarak görülmeye başlar sonrasında beynin AH ile ilişkili neokorteks, hipokampus, amigdala , bazal nukleuslar , anterior talamus, beyin sapında monoaminerjik nükleus beyin bölgelerinde ortaya çıkmaktadır (Braak ve Braak, 1991).

AH nöropatolojik değişiminin diğer ana bileşeni olan senil plaklar, A $\beta$  peptidlerinin hücre dışı birikintileridir, senil plaklar farklı morfolojik yapıda olabilirler ancak ana bileşeni amiloid beta peptididir. Çalışmalar AH genetiği ve amiloid plak oluşumu arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir. Amiloid birikintiler, doğal proteinlerin yanlış katlanmasının sonucudur, yani amiloid öncü proteininin (APP) değiştirilmiş bölünmesinden sonra oluşur. APP, 19. kromozomda kodlanan; merkezi sinir sistemi nöronları dahil olmak üzere birkaç hücre tarafından eksprese edilen yaklaşık 770 amino asitli bir transmembran glikoproteinidir. Amiloid prekürsör proteini (APP) hem bir parakrin sinyal peptidi hem de bir zara bağlı reseptör proteini olarak işlev görür (Meziane ve ark., 1998). Fizyolojik rolü tartışmalı olmasına rağmen sinaptik aktivitenin modülasyonu ile ilişkilidir (Serrano Pazo ve ark., 2011). APP'nin bölünmesi,  $\alpha$ -,  $\beta$ - ve  $\gamma$ -sekretaz enzimleri vasıtasıyla meydana gelirken, amiloid yolu, APP,  $\beta$ -sekretaz ile bölündüğü zaman kastedilmekte, böylece 39 ila 43 fragmana sahip çözünmeyen peptitler oluşmaktadır. Senil plaklar, amiloid- $\beta$  peptidinin; amiloid metabolizmasının iki yan ürünü olan A $\beta$  40 veya 42 izoformunun (A $\beta$ 40 ve A $\beta$ 42) anormal hücre dışı birikmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Fibrilizasyon ve çözünmezlik oranının yüksek olması nedeniyle A $\beta$ 42 senil plaklarda A $\beta$ 40'tan daha fazla miktarda bulunur (Serrano Pazo ve ark., 2011). A $\beta$ -42 izoformu lipidik disregülasyona bağlı olarak kalsiyum homeostazını etkileyerek nöronal hücrelerde toksik olan veya olmayan oksiradikallerin oluşumunu kolaylaştırarak nörodejenerasyon sürecinde sitotoksik etkilere neden olur ve AH histopatolojik olarak nöronal hücre ölümüne yol açan senil plakların oluşmasına neden olur. Bulgular, A $\beta$ 'nin AH patogenezinde, özellikle de sinaptik dejenerasyonda çok önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Kimura, 2016). A $\beta$ 'nin ilk birikimi neokortekste başlamaktadır ve gevşek plaklar halinde birikmektedir. Senil plakların önemli bir alt tipi olan nöritik plaklar bilişsel bozulmayla ilişkilendirilmektedir. Nöritik

plaklar, A $\beta$ 'nin diffüz plaklar halinde agrege olması sonucunda oluşmaktadır. Nöritik plakların en çok nöronal yaralanma ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Aslında, nöritik plaklar, distrofik nöritlerin ortaya çıkması, daha büyük lokal sinaps kaybı ve glial aktivasyon ile karakterize edilmektedir. Nöritik plaklar, AH için mevcut tanısal kriterlerin bir işaretidir ve yalnızca demanslı bireylerin beyin dokusunda gözlenmektedir.

Ayrıca yapılan çalışmalar AH'nın inflamatuvar süreçlerle yakından bağlantılı bir hastalık olduğunu göstermektedir. Birkaç çalışma, Tau patolojilerinin, akut ve kronik inflamatuvar süreçlerin ortaya çıkması sırasında büyük ölçüde şiddetlendiğini göstermiştir. Bu inflamatuvar süreçler, A $\beta$  plaklarının en yoğun bölgelerinin etrafındaki mikrogial kümeler, yüksek seviyelerde proinflamatuvar sitokinler ve nörofibriler yumakların oluşumundan önce gelen mikrogial aktivasyon tarafından yönlendirilmekte veya uyarılmaktadır (Yin ve ark., 2000). Anti-inflamatuvar tedavi yaklaşımlarının, AH'da aktive olmuş mikrogia sayısını azaltarak kısmen yararlı olduğu gösterilmiştir. Elde edilen veriler inflamatuvar süreçlerin AH'nın ilerlemesine ve patogeneze katkıda bulunabileceğini göstermektedir (Akiyama ve ark., 2000).

Araştırmalar oksidatif stresinde AH patogenezinde rol oynayabileceğini savunmaktadır. Beyin yüksek enerjili aktiviteye sahip bir organdır, bu yüksek metabolik ihtiyaçları mitokondriyal oksidatif fosforilasyon ile sağlanmaktadır. Bu işlem yüksek reaktif oksijen türlerinin oluşmasına yol açabilir; oksidatif stres bu türlerin aşırı üretiminin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Yin ve ark., 2000). Beyin, yüksek lipit içeriği ve yüksek enerji talepleri nedeniyle oksidatif hasara karşı oldukça hassastır. Bu durumda, koruyucu mekanizmalar tehlikeye girer, reaktif oksijen türleri birikmeye başlar ve nöronlar eksitotoksik lezyona duyarlı hale gelir. Yapılan çalışmalar A $\beta$  birikiminin sadece protein dönüşümünü engellemekle kalmadığını, aynı zamanda Alzheimer hastalığı patolojisinde yaygın olan oksidatif hasarın kronik yükselmesine de katkıda bulunduğunu göstermektedir (Reddy, 2005). A $\beta$  birikiminin indüklediği oksidatif stresin, genel olarak nörodejeneratif hastalıkların özelliği olan inflamatuvar süreçlerin hem nedeni hem de sonucu olarak mevcut olduğu patogenezi ve ilerlemesi için çok önemli olduğuna dair güçlü kanıtlar olduğunu göstermektedir. Ek olarak, Alzheimer hastalığı beyinlerinin postmortem çalışmaları, hem nükleer kaynaklı hem de mitokondriyal kodlanmış oksidatif fosforilasyon enzimlerinin enzimatik aktivitesinde düşüş olduğunu göstermektedir (Gibson ve ark., 1998). Ayrıca AH son yıllarda mitokondriyal disfonksiyon ile

ilişkilendirilmiştir. A $\beta$  fragmanlarının ve patolojik Tau proteininin birikmesinin, özellikle mitokondriyal oksidatif metabolizmanın bozulmasıyla ilgili olarak beyin hücrelerinde mitokondriyal fonksiyonu etkilediğine inanılmaktadır. A $\beta$  peptitlerinin mevcudiyeti ile ilgili çalışmalar, daha spesifik olarak, bu peptitlerin nöronal mitokondriye doğrudan toksik olabileceği sonucuna varmasını sağlamıştır. Son çalışmalar, mitokondriyal membranlarda A $\beta$  birikiminin, mitokondriyal dış membran translokazı tarafından nükleer kodlanmış proteinlerin mitokondriyal ithalatını doğrudan engellediğini bulmuştur (Sirk ve ark., 2007). Genel olarak, mitokondriyal disfonksiyon, değişmiş hücre metabolizma ile karakterize Alzheimer hastalığı patolojisinin temel bir özelliğidir (Bonet-Costa ve ark., 2016).

AH patogenizde bahsetmemiz gereken ve patogenezele ilgili olan bir diğer durum kolinerjik kayıptır. Genel olarak, AH taşıyıcılarının beyni, daha önce tarif edilen histopatolojik belirteçlere ek olarak, merkezi nörotransmisyonunda atrofi, sinaptik kayıp ve eksikliği sunmaktadır. Bazal ön beyin nöronlarının genel dejenerasyonu mevcuttur. Hastalığın başlangıcında bazal çekirdeğin ve neokorteksin içindeki kolinerjik nöronların kaybı olur, ancak AH'nin ileri aşamasında, bazal çekirdeğin kolinerjik nöronlarının % 90'ından fazlası kaybedilir (Bartus ve Emerich, 1999). Bazal ön beyinde kolinerjik nöronların kaybı hipokampus ve neokortekste presinaptik kolinerjik terminallerde bozukluğa yol açmaktadır ve asetilkolin üretiminde ilerleyici bir düşüşe neden olmaktadır. Asetilkolin(Ach) hipokampusu serebral kortekse bağlayan; bellek ve dikkat ile yakından ilişkisi olan ayrıca AH'da en çok düşüş gösteren bir nörotransmitterdir (Smith, 1978). Postsinaptik nikotinik ve muskarinik tip 1 kolinerjik reseptörlerde azalma, dikkat unsurlarındaki bozukluk ve yeni bilginin depolanmasındaki bozukluklarla ilişkilendirilmektedir. Kolinerjik kaybın AH'da A $\beta$  oluşumuna katkıda bulunabileceği ve A $\beta$  oluşumunun artmasıyla kolinerjik kaybı artırabileceği iki durumun birbiriyle kısır döngü içerisinde birbirini etkilediği söylenmektedir. Kolinerjik sistemin anormal veya bozulmuş işleyişinin, AH'na benzer şekilde hayvan modellerinde hafıza eksikliğini indükleyebildiği yönündeki kanıtları işaret etmektedir. Bazal ön beyinlerdeki kolinerjik nöronların inhibisyonu ve merkezi kolinerjik geçişin kaybı AH'da bilişsel ve bilişsel olmayan semptomların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Ek olarak Meynert bazal çekirdeğindeki kolinerjik nöronların kaybı nedeniyle korteks ve hipokampusta asetilkolinin sentezinden sorumlu asetil transferaz konsantrasyonunda belirgin bir azalma



ile karakterize edildiği gözlenmiştir. AH'da Tau hiperfosforilasyonunun ilk görüldüğü alanlardan biri Meynert çekirdeğidir.

## 2.5 Alzheimer Hastalığında Genetik Faktörler

AH vakası oluşumlarının büyük çoğunluğu sporadiktir, yani baskın genetik bir neden yoktur. Ancak ailesel AH'da hastalığa neden olabilecek genetik mutasyonlar çalışmalarla gösterilmiştir. Tüm Alzheimer vakalarının %1'inden azı otozomal dominant geçiş göstererek kalıtsal olma özelliğine sahiptir. Amiloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) peptid metabolizmasına bağlı olan amiloid prekürsör protein (APP) ve presenilin1 ve presenilin 2 (PSEN1 ve PSEN2) genlerindeki mutasyonlar otozomal dominant geçiş özelliği göstererek erken başlangıçlı AH'na neden olabileceği gösterilmiştir.(Blennow ve ark. 2006) APP geni 21. kromozonda, PSEN1 geni 14. kromozomda ve PSEN2 geni 1. kromozomda lokalizedir. PSEN1 genindeki mutasyonlar, EBAH vakaların % 18 ila % 50'sini oluşturmaktadır ve ailesel AH'ı vakalarının büyük kısmının nedeni bu gendeki mutasyonlar sonucunda oluşmaktadır. Ailesel AH vakalarının çok az bir kısmının nedeni APP genindeki mutasyonlardır. Presenilin ile APP bölünmesinin kontrolü arasındaki korelasyon mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ancak ortak patofizyolojik mekanizmasının  $A\beta$ 42 birikimini arttırmak olduğu kanıtlanmış olup EBAH patofizyolojisinde daha önemli bir rol oynamaktadır. PSEN1'in rolü tam olarak anlaşılammakla birlikte beyin ve diğer dokularda üretimi gerçekleştirilen APP'nin işleme sürecinde; başka enzimlerle birlikte çalışarak APP'yi daha küçük peptidlere bölmek için çalıştığı ileri sürülmektedir. Bu peptidlerden bir tanesi çözünebilir amiloid beta peptit iken (sAPP- $A\beta$ -40), bir diğeri amiloid beta ( $A\beta$ -42)'dir. PSEN2'deki (kromozom 1) mutasyonlar nadir olarak bildirilmiştir ve çoğunlukla Afrika popülasyonlarında ve Avrupa ülkelerinde saptanmıştır (Yates ve ark., 2008).

Ancak yapılan çalışmalarda sporadik AH'nın gelişim sürecinde apolipoprotein E (ApoE) 'nin alel  $\epsilon$ 4'ünü hedef alan nadir mutasyonların güçlü ve tek genetik risk faktörü olabileceği gösterilmiştir. APOE kolesterolün taşınmasında görev alan bir enzimdir ve 3 farklı alel formu tanımlanmıştır:  $\epsilon$ 2,  $\epsilon$ 3 ve  $\epsilon$ 4. Normal popülasyonda  $\epsilon$ 4'ün görülme sıklığı %20 olmasına karşın AH'da bu ikiye katlanarak %40'a ulaşmaktadır. ApoE'nin varlığını AH ile ilişkilendiren mekanizmalar henüz iyi anlaşılmmıştır, ancak bu gibi durumlarda beyinde  $A\beta$ 'nin klirensinde bir düşüş olduğu öne sürülmektedir. ApoE'nin AH

gelişmesine sağladığı destek, bu bireylerin hastalık vakalarının yaklaşık %65'ini oluşturduğu ve ApoE taşıyıcılarının AH'nı geliştirme riskini üç kat arttığı gösterilmiştir. APOE ε4 aleli taşıyıcılarında hastalık başlangıç yaşının düştüğü gösterilmiştir. ε4 alelinin AH patogenezindeki rolü tam anlamıyla ortaya konamamıştır; ancak patolojik senil plak oluşumuna ve nörofibriler yumak oluşumuna katkı sağladığına dair kanıtlar vardır (Scheuner ve ark., 1996).

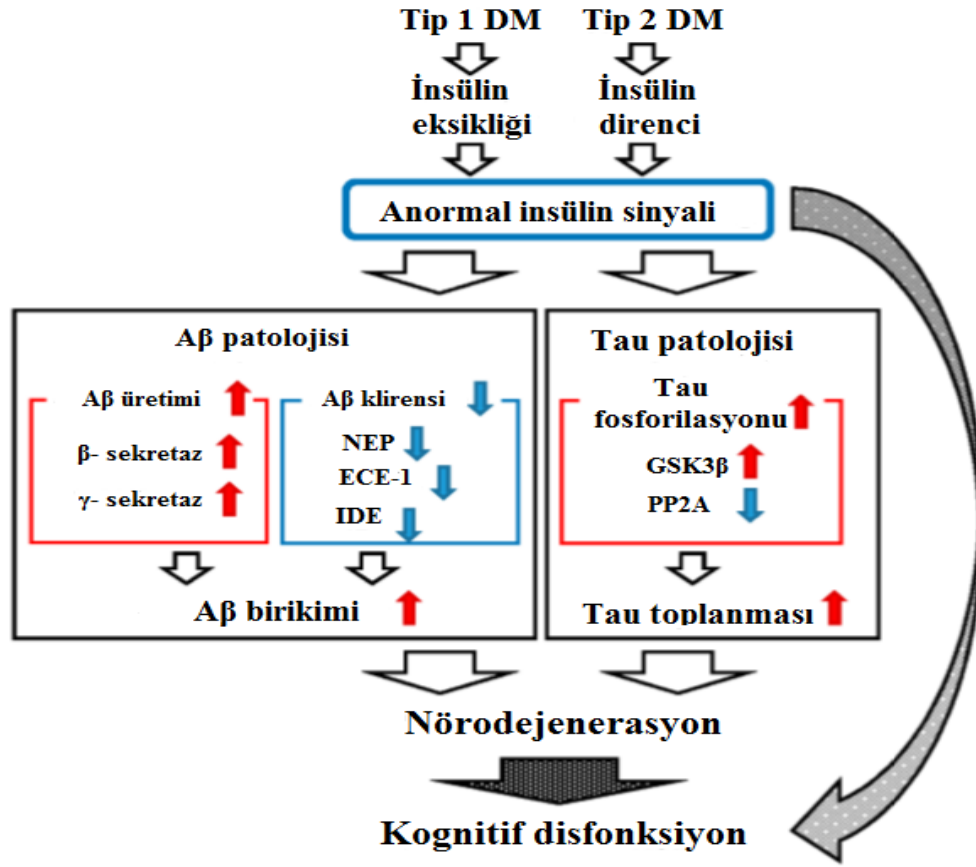
Son yıllarda yapılan çalışmalarla AH'ı için risk faktörü oluşturabilecek başka gen polimorfizmleride tanımlanmıştır. 12. Kromozomda bulunan α2-makroglobulin geninin sporadik AH'da bir risk faktörü oluşturabileceği söylenmiştir. Aβ klirensini etkileyebileceği düşünülen bir protein olma özelliğindedir. Risk faktörü olabileceği öne sürülen diğer genlerin büyük çoğunluğu benzer çalışmalarla desteklenemediği için şuan için genetik risk faktörü olarak başka genlerden bahsedilememektedir (Öztürk ve Karan, 2009).

## **2.6 Alzheimer Hastalığı ve Tip2 Diabetes Mellitus İlişkisi**

Alzheimer hastalığı (AH) ve tip 2 diabetes mellitus (T2DM), sanayileşmiş ülkelerde çok sayıda insanı etkileyen durumlardır. Günümüzde her iki hastalığın da görülme sıklığı artmakta ve bunları tedavi etmek veya önlemek için yeni tedaviler bulmak araştırmada önemli bir amaç haline gelmektedir (Li ve Hölscher, 2007). Çok sayıda epidemiyolojik çalışma, T2DM'yi AH gelişme riski ile ilişkilendirmiştir. Nüfus temelli bir çalışmanın sonuçlarına göre, T2DM tanısı olan popülasyonda AH sıklığı 2 ila 5 kat daha fazla gösterilmektedir (Luchsinger ve ark., 2005). Diğer epidemiyolojik çalışmalar da benzer sonuçlar göstermiştir. 7 yıl boyunca takip edilen 1455 T2DM vakası çalışmasında, 101 AH vakası da dahil olmak üzere 101 demans vakası gelişmiştir. Bu çalışmaya göre T2DM'li kişilerde demans gelişme riski anlamlı derecede artmıştır (Leibson ve ark., 1997). 5.5 yıl boyunca takip edilen başka bir çalışmada, 55 yaşın üzerinde olan 824 katılımcının 127'sine T2DM tanısı konulmuştur ve 151 olguda AH'ı gelişmiştir. T2DM'li kişiler yaş, cinsiyet ve eğitim seviyesine göre ayarlandıktan sonra, AH gelişme riski %65 oranında artış göstermiştir (Arvanitakis ve ark., 2004). Çok sayıda epidemiyolojik çalışma tarafından sunulan kanıtlar T2DM ile artmış AH gelişme riski arasında açık bir ilişki olduğunu göstermektedir. AH ve T2DM, dejeneratif gelişmelerin altında yatan; çeşitli benzer moleküler, biyokimyasal ve fizyolojik süreçleri paylaşmaktadır.

AH'nı T2DM ile bağlayan önemli bir husus, insülin reseptörlerinin periferik sistemde eksprese edilmesinin yanı sıra, merkezi sinir sistemi nöronlarında da bulunmasıdır (Havrankova ve ark., 1981). İnsülin reseptörleri sadece kan şekeri seviyelerini düzenlemekle kalmaz aynı zamanda büyüme faktörü özelliklerine de sahiptir ve nöronal farklılaşmayı, kök hücre ve progenitör hücre çoğalmasını, dendritik filizlenmeyi ve hücrel onarım mekanizmalarını da düzenlemektedir. İnsülin ayrıca, nörotransmitterlerin salınımını ve yeniden alımını etkiler ve yapılan çalışmalarla öğrenme ve hafızayı iyileştirdiği gösterilmiştir (Li ve Hölcsher, 2007). Hipotalamusta bulunan insülin ve insülin reseptörleri (IR), vücut enerji homeostazının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Hipokampus ve serebral kortekste bulunan insülin ve IR'nin de beyin bilişsel işlevlerinde yer aldığı gösterilmiştir. İnsülin, uyarıcı ve inhibe edici reseptörlerin aktivitelerini modüle edebilir ve uzun süreli hafıza konsolidasyonuna yol açan sinyal iletim basamaklarını tetikleyebilir. Ayrıca, insülin sinyalleşmesinin sinaptik plastisitede bir rol oynadığı gösterilmiştir. Nöronal aktivite sırasında insülin salınır ve insülin alıcı yolunu uyararak, gen ekspresyonunu aktive eder. Eksprese edilen genler, hücre büyümesi, sinaps büyümesi ve hücre onarımı ve bakımı için gerekli proteinleri içerir. Ayrıca hücrelerin oksidatif stres gibi zararlı etkilere karşı onarılması ve korunması için de gereklidir (Biessels ve ark., 2006). İnsülin reseptörü sinyallerinin bozulması, T2DM hastalarında AH gibi yaşlanma ile ilişkili beyin dejenerasyonunda ve bilişsel bozulmada rol oynar. Buna paralel olarak, beyin insülin reseptörü ekspresyon ve fonksiyonunun deneysel olarak baskılanması, bilişsel bozulmaya ve AH'da görülen moleküler ve biyokimyasal anormalliklere neden olur (de la Monte ve ark., 2011). Aşağıdaki şekilde anormal insülin sinyalinin nörodejenerasyona ve AH'na olabilecek katkısı ve mekanizması şematize edilmiştir (Şekil 2).

Şekil 1. Anormal insülin sinyali ile kognitif disfonksiyon arasındaki ilişki



(Kimura, 2016)

Birkaç çalışma sadece insülinin değil, aynı zamanda IGF-1'in (İnsülin benzeri büyüme faktörü-1) AH'nın moleküler ve hücrel mekanizmaları üzerindeki etkilerini göstermiştir (Gasparini ve Xu, 2003). İnsülin ve IGF-1 kan-beyin bariyerini geçebilir ve ayrıca beyinde üretilir. İnsülin ve IGF'ler, ligand-reseptör bağlanması ve intrinsik reseptör tirozin kinazların aktivasyonu yoluyla çok çeşitli nöronal fonksiyonları düzenlemektedir. IGF-1 ve reseptörleri ayrıca nöronal aktiviteyi modüle etmektedir. İnsülin ve IGF sinyali, hem homeostaz hem de hücrel fonksiyonların dinamik modülasyonu için gerekli olan glikoz kullanımını, metabolizmayı ve ATP sentezini düzenlemektedir (Frolich ve ark., 1998). İnsülin / IGF yolları, nöronal büyümeyi, nöronal sağkalımı, farklılaşmayı, göç, enerji metabolizması, gen ekspresyonu, protein sentezi, hücre iskeleti yapılaşmasını, sinaps oluşumu, nörotransmitter fonksiyonu ve plastisiteyi etkilemekte ve desteklemektedir (de la Monte ve ark., 2009). Ayrıca, AH ilerledikçe, beyin glukoz kullanımı, insülin sinyalleme tepkileri ve insüline cevap veren genlerin ekspresyonu

azalır (Rivera ve ark., 2005). Çalışmalarda İnsülin / IGF sinyalinin inhibisyonundan kaynaklanan enerji metabolizmasındaki eksiklikler oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve proinflamatuvar sitokin aktivasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (de la Monte ve ark., 2002). Yapılan birkaç çalışmada beyindeki A $\beta$  seviyelerinin, dolaşımda düşük doz IGF-1'e sahip farelerde erken yaşlarda yükseldiği bulunmuştur. IGF-1 ve insülin, A $\beta$ 'yi kan beyin bariyeri boyunca taşıyan bir taşıyıcı sistemi aktive eder. Bu mekanizma ile IGF-1, A $\beta$  taşıyıcısı olarak hareket eden proteinlerin taşınmasını teşvik ederek veya A $\beta$ 'yi doğrudan taşıyarak beyin dokusundan A $\beta$ 'nin temizlenmesini destekleyebilir. İnsülin ve IGF-1 ayrıca A $\beta$  metabolizmasını doğrudan düzenleyebilir. İnsülinin hücre içi A $\beta$ 'yi azalttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Carro ve Torres-Aleman, 2004). Ayrıca T2DM ve AH arasındaki bağlantıyı gösteren diğer bir ilişki; Tau fosforilasyonunun, insülin ve IGF-1 ile gözlemlenen modülasyonudur. İnsülin ve IGF-1'in, nöronal hücre kültürlerinde ve in vivo çalışmalarda tau fosforilasyonunu düzenlediği bulunmuştur (Schubert ve ark., 2004). Spesifik olarak, insülin ve IGF-1, tau protein fosforilasyonunu azaltır ve tau proteininin, insan nöronal kültürlerinde mikrotübüllere bağlanmasını desteklemektedir. İnsülin ve IGF-1 ayrıca tau fosforilasyonunu dolaysız olarak A $\beta$  üzerindeki etkileri ile de etkileyebilir. Azalmış insülin ve / veya IGF-1 seviyeleri, hücrel A $\beta$  yükünü arttırabilir ve dolayısı ile AH patolojisini dolaylı olarak arttırarak etkileyebilir. A $\beta$  ve tau proteini üzerindeki doğrudan etkiye ek olarak, IGF-1 ve insülin nöroprotektif etkilere sahiptir ve beyin dokusunda nörogenezi, sinaps oluşumunu ve glikoz kullanımını destekleyebilir (Mohanty ve ark., 2005).

AH, tau proteininin anormal şekilde hiperfosforile edilmiş bir formunu içeren esas olarak hücre içi nörofibriler yumaklar (NFY) ile karakterize edilmektedir. AH'da, merkezi sinir sisteminde insülin direncinin, insülin reseptörü hassasiyetindeki değişiklikler nedeniyle geliştiği gözlemlenmiştir. Bu, A $\beta$  ve tau proteininin ekspresyonunu ve metabolizmasını etkiler. Ubikuitin-proteazom sisteminin işlevsizliği ile birleştirilen hiperfosforile edilmiş tau ubikleşmesi, çözünmeyen fibriller tau, oksidatif stres ve ROS oluşumunda birikmelere neden olarak, AH'da artmış nöronal apoptoz, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve nekrozu ile sonuçlanır (Mandelkow ve ark., 2003). Artan kanıtlar, AH nörodejenerasyonunun yukarıda belirtilen hücrel yönlerinin çoğuna, beyin insülini / IGF direncinin aracılık edebileceğini göstermektedir. Tau ekspresyonu ve fosforilasyonu, insülin ve IGF ile düzenlenir (Schubert ve ark., 2004). AH'da, beyin

insülini ve IGF direnci, fosfoinositol-3-kinaz (PI3K), Akt ve Wnt /  $\beta$ -katenin yoluyla sinyal iletimini azaltır ve GSK-3 $\beta$  aktivasyonunu artırır. GSK-3 $\beta$  aşırı aktifleştirme kısmen tau yanlış katlanmasını ve fibril toplanmasını destekleyen tau hiperfosforilasyonundan sorumludur (Bhat ve ark., 2003). AH tau patolojisine, azaltılmış insülin ve IGF sinyalleme nedeniyle tau gen ekspresyonu aracılık eder (de la Monte ve ark., 2003).

AH'nın patolojik özelliklerinin her ikisi de T2DM'de bulunur. Her iki durumda da ortak olan bir başka özellik, hücrelerin kaybı ve buna bağlı dejeneratif değişikliklerdir. AH, yaygın nöron kaybı olan en yaygın nörodejeneratif hastalıktır. T2DM ayrıca pankreas  $\beta$  hücrelerinin ve ilişkili nöropatilerin seçici yıkımından kaynaklanan dejeneratif bir hastalıktır. Çalışmalar, prediyabet ve daha erken T2DM'de daha yüksek serum insülin seviyesinin bozulmuş bilişsel işlev ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Mekanik olarak, bu, A $\beta$  seviyelerinin yükselmesinin, artmış serum insülin içeriği ile ilişkili olduğunu gösterir (Li ve Hölscher, 2007). AH ve T2DM arasındaki ana fizyolojik bağlantı, her iki koşulun da periferik ve merkezi insülin sinyal anormallikleri ile ilişkili olmasıdır. Bunlar daha sonra nörodejeneratif süreçlere ve bilişsel bozulmalara yol açmaktadır.

İnsülin, kolesterol ve AH arasındaki karmaşık ilişki birçok araştırmaya konu olmuştur. İnsülin, kolesterol biyosentezinde hız sınırlayıcı enzim aktivitesini uyararak kolesterol biyosentezini düzenler (Nelson ve Alkon, 2005). Ayrıca AH'da kolesterol seviyeleri önemli bir rol oynar ve yüksek seviyeler bir risk faktörü olarak kabul edilir. Hiperkolestrolemi aynı zamanda T2DM'nin bilinen bir risk faktörüdür. Kolesterol seviyelerinin  $\beta$ -amiloid sentezini modüle ettiğinden amiloid prekürsör protein (APP) metabolizmasının etkilendiği gösterilmiştir (Cole ve ark., 2005).

A $\beta$  birikiminin, AH'da meydana gelen nörodejenerasyonun nedeni olduğunu gösteren önemli kanıtlar bulunmaktadır. Benzer şekilde, T2DM'de pankreastaki  $\beta$  hücrelerinin kaybı kısmen adacıklardaki amiloid birikintilerine bağlanmaktadır. A $\beta$ , öncül proteini APP'nin bölünmesinden elde edilen bir üründür. Benzer şekilde, adacık amiloidi adacık amiloid polipeptitinden (IAPP) türetilir. APP ve IAPP arasındaki % 90 yapısal benzerlik, AH ve T2DM arasındaki bağı güçlendirmekte ve benzer fizyolojik rolleri olduğunu söylemektedir (Janson ve ark., 2004). AH, A $\beta$ 'dan oluşan senil plakların oluşumu ile karakterizedir. Bu plaklar toksik özelliklere sahiptir ve muhtemelen nörotoksositeye neden olan inflamatuvar süreçlerin indüklenmesiyle bağlantılıdır (Yan ve ark., 2003).

IAPP agregatları diyabetik hastaların pankreas adacıklarında yaygın olarak gözlenmektedir. T2DM'deki Langerhans adacıkları  $\beta$  hücre kaybıyla karakterize edilir ve amiloid birikintileri bu gelişmeye katkıda bulunur. IAPP'nin etkileri ayrıca renal filtrasyonun, kalsiyum homeostazının ve vazodilatasyonun düzenlenmesini içerir. IAPP, T2DM'deki adacık hücresi işlev bozukluğunun patogenezinde rol oynamaktadır (Li ve Hölscher, 2007). Fizyolojik koşullar altında IAPP, insülin hücresinden insülin ile birlikte sentezlenir, işlenir, salgılanır ve amiloid fibriller olarak birikmektedir. Patojenik ve yapısal benzerlikler göz önüne alındığında AH'da insülin direnci, insülin aşırı duyarlılığı oluşumu ve T2DM açısından yatkınlık şaşırtıcı olmamalıdır. T2DM hastalarında demans gelişimi olasılığı daha yüksektir. AH, ayrıca nörotoksik A $\beta$ PP-A $\beta$  oligomerik fibrillerin veya çözünmeyen daha büyük toplanmış fibrillerin (plaklar) birikimiyle sonuçlanan, amiloid prekürsör proteininin (A $\beta$ PP) düzensiz ekspresyonu ve işlenmesi ile ilişkilidir. Artmış A $\beta$ PP gen ekspresyonu, değiştirilmiş proteoliz ile birlikte, toplanabilen 40 veya 42 amino asit uzunluğunda A $\beta$ PP-A $\beta$  peptidlerinin birikmesine neden olur (Li ve Hölscher, 2007). A $\beta$ PP-A $\beta$  birikiminin nedenleri tam olarak anlaşılmamıştır. Bununla birlikte, son kanıtlar hem nedensel hem de sonuçta ortaya çıkan faktörler olarak beyin insülini / IGF direncine işaret etmektedir (de la Monte ve ark., 2014). İnsülin A $\beta$ PP-A $\beta$ 'nin hücre içi birikimini ve insülin düşürücü enzim tarafından bozunmasını engeller (Gasparini ve ark., 2001). APP-A $\beta$  birikimi, insülinin kendi reseptörüne bağlanma afinitesini azaltarak, insülin direncinin etkilerini kötüleştirerek insülin sinyalleşmesini de tehlikeye atar (Ling ve ark., 2002). Ayrıca, APP-A $\beta$  oligomerleri, insülin reseptörlerinin yüzey ekspresyonunu duyarsızlaştırarak ve azaltarak insülin uyarılmış sinyallerin nöronal transmisyonunu inhibe eder. Son olarak, hücre içi A $\beta$ PP-A $\beta$ , Akt'in PI3 kinaz aktivasyonuna doğrudan müdahale eder, nöronal sağkalımı bozar ve tau GSK-3 $\beta$  aktivasyonunu ve hiperfosforilasyonunu artırır (de la Monte ve ark., 2014).

Ayrıca yapılan çalışmalar APOE geninin AH'na olan katkısına ek olarak, aynı zamanda insülin aktivitesini de etkileyeceğini göstermiştir. APOE  $\epsilon$ 4 aleli olmayan hastalar daha düşük insülin duyarlılığına sahiptir. En az bir APOE  $\epsilon$ 4 alleli olan hastalarda, bu durum tam tersidir. APOE  $\epsilon$ 4, T2DM hastalarında AH riskini büyük ölçüde arttırmaktadır. İnsülin sinyalindeki bozukluklar beyindeki A $\beta$ PP işlenmesini ve A $\beta$ PP-A $\beta$  klirensini bozmaktadır (Zhao ve ark., 2004). APP-A $\beta$  birikimi, insülinin kendi

reseptörüne bağlanma afinitesini de azaltarak, insülin direncinin etkilerini kötüleştirerek insülin sinyalleşmesini de tehlikeye atmaktadır (Ling ve ark., 2002).

Her iki hastalık durumunda da dönüşüm büyüme faktörü grubu (TGF) da etkilenmektedir ve hastalığın moleküler mekanizmasına katkıda bulunmaktadır. TGF ve reseptörü; epiteyal, endotel, hematopoetik, nöronal ve bağ dokusu hücreleri dahil olmak üzere vücuttaki hemen hemen her hücrede bulunmaktadır. Günümüzde yapısal ve işlevsel olarak birbirine benzeyen üç TGF izoformu (TGF-, 1, 2 ve 3) tanımlanmıştır (Fujii ve ark., 1986). Bazı hastalıklarda veya hayvan hastalık modellerinde plazma TGF- $\beta$ 1 düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir .Bunlar arasında bozulmuş insülin duyarlılığına sahip obezite ve hem Tip 1 hem de Tip 2 diyabet bulunmaktadır. Hipergliseminin, TGF- $\beta$ 1 ekspresyonu için ana tetikleyicilerden biri olduğu ve diyabet hastalarının sağlıklı insanlardan daha yüksek TGF- $\beta$ 1 düzeylerine sahip olduğu bilinmektedir(Yener ve ark., 2007). Hayvan modellerinde yapılan bazı çalışmalar, sadece diyabetik böbrekte TGF- $\beta$  ekspresyonunun arttığını değil aynı zamanda biyolojik olarak aktif formda mevcut olduğunu belgelemiştir (Gilbert ve ark., 1998). Yapılan çalışmalar, TGF- $\beta$ 1 üretiminin indüksiyonunun ve / veya arttırılmasının, kronik inflamatuvar ve otoimmün hastalıklar üzerinde çarpıcı bir inhibe edici etki yarattığını göstermiştir. TGF- $\beta$ 'nın anti-inflamatuvar etkileri beyinde de önemli rol oynar. Nöronlar tarafından ifade edilen TGF, MSS iltihaplanmasından ve yaralanmasından koruyabilir (Liu ve ark., 2006). Ayrıca nöronal gelişimi ve hayatta kalmayı düzenlemede önemli bir rol oynar. Farelerde nöronal TGF-  $\beta$  sinyalini azaltmak, yaşa bağlı nörodejenerasyona neden olmuş ve AH'nın bir fare modelinde A $\beta$  birikimini ve dendritik kaybını desteklemiştir. Azalan nöronal TGF- $\beta$  sinyali yaşa bağlı nörodejenerasyonu ve AH benzeri semptomları arttırdığı gösterilmiştir (Li ve Hölscher, 2007).

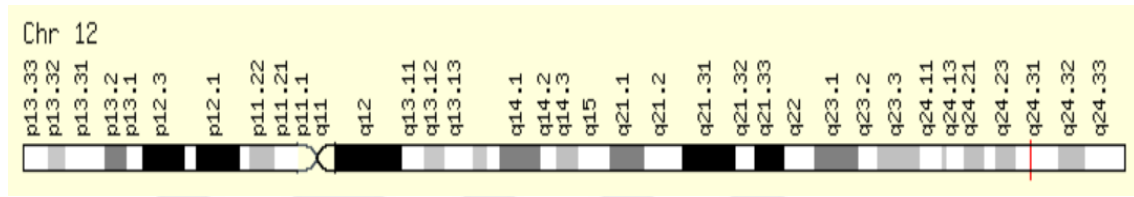
Yukarıda anlatılan tüm mekanizmalar AH ve T2DM hastalığı arasındaki ilişki desteklemekte ayrıca AH'nın metabolik bir hastalık olduğu kavramını güçlendirmektedir (de La Monte, 2014). AH'nın saf haliyle, diabetes mellitus'un bir beyin biçimini temsil ettiğine dair güçlü çalışmalar mevcuttur.



## 2.7 PSMD9 geni ve polimorfizmi

PSMD9 (26S Proteazom ATPaz Düzenleyici Alt Birim 9) geni 12q24.31-q24.32 kromozomunda bulunmaktadır. PSMD9 geninin altı ekzonu 29.3 kb'nin üzerinde uzanır PSMD9 geni tarafından kodlanan bir 25kDa ağırlığında protein eksprese edilir ve bu PSMD9 proteini yüksek oranda korunmuş 223 aminoasit büyüklüğündedir. İnsanlarda ayrıca p27 ailesinin proteazom alt birimine aittir. PSMD9, her zaman memeli hücre tiplerinde eksprese edilir ve beyin, lenfatik, endokrin, böbrek ve cilt epidermis dokularında yüksek seviyelerde eksprese edildiği görünmektedir (Hopper ve ark., 2015).

Şekil 2: PSMD9 geninin genomik lokasyonu



(genecards)

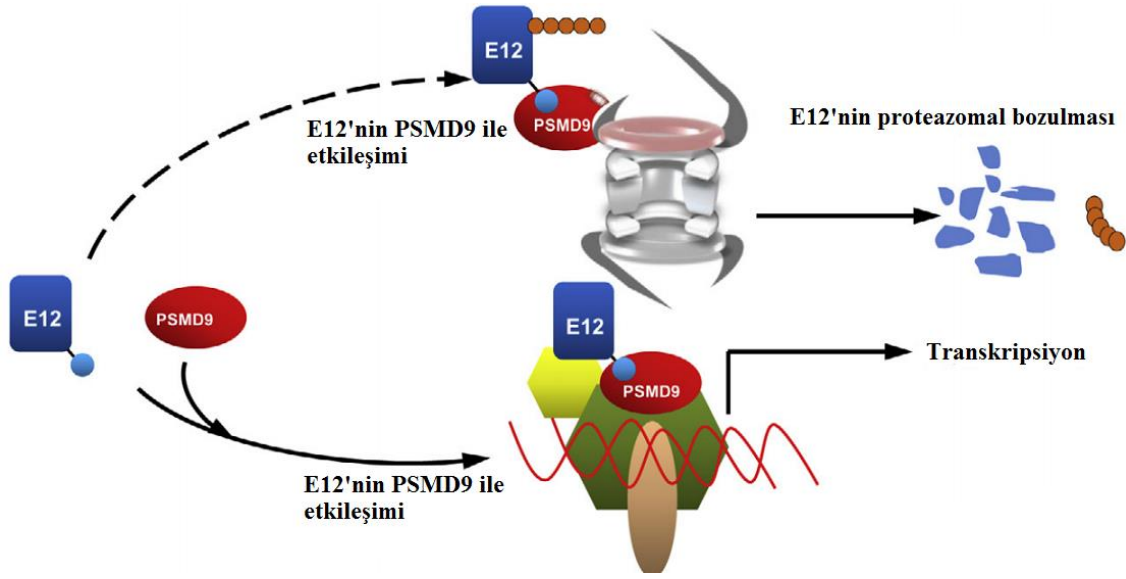
PSMD9, ilk önce 19S proteasomal regülatörünün bir bileşeni olarak tanımlandı ve 19S'in, aktif 26S proteazomu oluşturmak için katalitik 20S proteasomal çekirdek ile ilişkisini uyararak PSMC3 ve PSMC6 ile stabil bir alt kompleks oluşturup 20S ve 19S partiküllerinin birleştirilmesine yardımcı olarak bir şaperon görevi görmektedir (Sahu ve ark., 2014). Bu gen, 19S regülatörünün ATPaz olmayan bir alt birimini kodlar. Bu gen için iki farklı izoformu kodlayan üç transkript varyantı bulunmuştur.

Bir proteozomal birleştirici şaperonu olduğu bilinen PSMD9; yapısal olarak, 88 amino asit uzunluğunda (108-195) karakterize edilmemiş PDZ benzeri bir alan içermektedir (Sangith ve ark., 2014). Protein içeren birçok PDZ alanı, hücrelerin sinyalleme, aracılık yapıcı özelliklerine aracılık etme ve iyon taşımada işlev yapmalarına izin veren supramoleküler düzenekler oluşturmak için yapı iskeleleri görevi görür.

Bu proteazomal rolüne ek olarak, PSMD9'un bir transkripsiyonel ortak düzenleyici olarak ayrı bir rolü olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. PSMD9, PDZ alanını PDX-1, E12 ve E47 transkripsiyon faktörlerine bağlayarak spesifik hedef genlerin gen ekspresyonunu düzenlemektedir. PSMD9'un, PDZ alanı aracılığıyla temel helix-loop-helix (BHLH) transkripsiyon faktörleri E12 ve E47 ile etkileşime girdiğini ve insülin promotörü içindeki glikoz yanıt arttırıcılarının aktivasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Thomas ve ark., 1999). Sıçanlarda PSMD9 homologu olan Köprü-1'in, PDZ domain benzeri alanının E12 ve histon asetil transferaz, p300 transkripsiyon faktörleri ile

etkileşimi yoluyla bir insülin gen transkripsiyonunun bir koaktivatörü olarak görev yaptığı gösterilmiştir. Köprü-1'in aşırı ekspresyonu, insülin eksprese eden  $\beta$  hücrelerinin sayısında azalma ile insülin eksikliği ve diyabete yol açarak pankreas apoptozisini artırmaktadır (Hopper ve ark., 2015). Ayrıca PSMD9, E12'nin transkripsiyonu sonlandırmak için proteasomal parçalanmasında düzenleyici bir rol oynayabileceği söylenmektedir (Sangith ve ark., 2014)(Şekil 3).

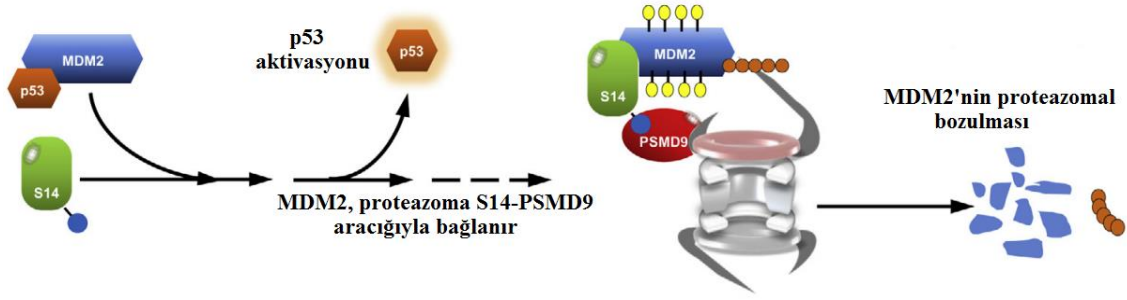
Şekil 3. E12 ve PSMD9 etkileşimi



(Sangith ve ark., 2014)

Yapılan bir çalışmada S14 ribozomal proteinin PSMD9 ile etkileşimde olabileceği, bu ortaklığın p53'ün stabilite ve fonksiyonlarını etkileyebileceği öngörülmektedir. S14'ün MDM2'ye bağlandığı bilinmektedir. Bu bağlanma E3 ligazının p53'ü ubiquitine etme kabiliyetini önler, böylece p53'ün proteasomal bozunmasını önler, p53'ün stabilizasyonuna ve aktivasyonuna yol açar. S14'ün ayrıca proteazomun parçalanması için MDM2'yi alan bir mekik reseptörü gibi çalışabileceği tahmin edilmektedir. Proteasom ile ilişkili PSMD9, MDM2'nin proteazom tarafından parçalanmasını kolaylaştırmak için S14'i bağlayabileceği söylenmektedir (Şekil 4).

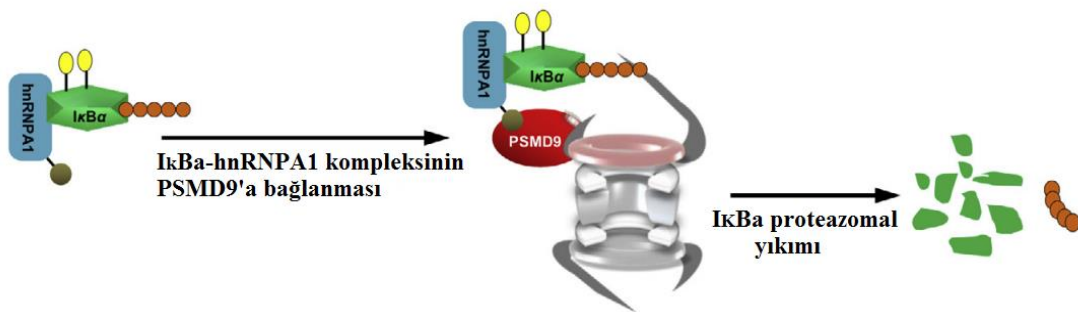
Şekil 4. S14 ve PSMD9 etkileşimi



(Sangith ve ark., 2014)

PSMD9'un NF- $\kappa$ B sinyalleşmesinin düzenlenmesine yol açan I $\kappa$ Ba'nın spesifik proteasomal bozulmasına aracılık ettiği bildirilmiştir. NF- $\kappa$ B inflamatuvar, antiapoptik ve immün yanıtlarda rol oynayan çeşitli genlerin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörleri ailesindedir. RNA metabolizmasında rol oynayan bir RNA bağlayıcı protein olan hnRNPA1, PSMD9'un yeni bir etkileşimli ortağı olarak gösterilmiş olup bu etkileşimin I $\kappa$ Ba'nın proteasomal bozulması için gerekli olduğu gösterilmiştir. hnRNPA1, proteazomal yıkım için I $\kappa$ Ba'yı alan bir mekik reseptörü olduğu ve PSMD9'unda bir alt birim alıcısı olarak davrandığı gösterilmiştir. PSMD9'un aşırı ekspresyonu, hem bazal hem de TNF- $\alpha$  aracılı I $\kappa$ Ba'nın bozulmasını hızlandırır (Şekil 5).

Şekil 5. I $\kappa$ Ba-hnRNPA1 kompleksi ve PSMD9 etkileşimi



(Sangith ve ark., 2014)

Birlikte, bu sonuçlar PSMD9'un transkripsiyonel düzenleme, mRNA işleme ve düzenleme, hormon ve reseptör aktivitesi ve protein translasyonundaki rolünü göstermektedir (Sangith ve ark., 2014). Özetle PSMD9'un büyük veya birleştirici rolü, sinyal veya transkripsiyonel programların kalite kontrolünü sağlamak ve büyüklüğünü belirlemek olarak söylenebilir. Elimizdeki bu bilgilere rağmen PSMD9'un hem

proteasomal aktivite hem de transkripsiyon üzerindeki düzenleyici etkisi belirsizliğini korumaktadır. Ubiquitin / proteasom yolu, hücre içi protein yıkımı için ana lizozomal olmayan yoldur. Ökaryotik bir organizmanın biyolojisi ve homeostazıyla ilgili hemen hemen her hücresel yol Ubiquitin Proteazom Sistemi (UPS) tarafından düzenlenir. UPS bileşenlerinin işlevindeki bozulma, hücresel strese ve apoptoza yol açan proteinlerin birikmesine neden olmaktadır. Ayrıca modifiye edilmiş bir proteazomun, immünoproteasomun temel bir işlevi de sınıf I MHC peptidlerinin işlenmesidir. Proteazomun normal biyoloji ve hastalığıdaki rolü gereği ve iyi çalışılmış olsa da, kesin mekanizma, sekans ve substrat tanıma için yapısal gereklilikler, bir substratı proteazoma almak için gereken doğrudan ve dolaylı protein-protein etkileşimleri belirsizliğini korumaktadır. Çeşitli 19S alt birimlerinin yapı ve alan fonksiyonları ve bunların proteazom bağımlı ve bağımsız fonksiyonlardaki rolü belirsizdir (Sangith ve ark., 2014). Proteazom düzeneğindeki rolüne rağmen, PSMD9 ekspresyonundaki değişikliklerin genel proteasomal aktivite üzerinde etkili olup olmadığı bilinmemektedir.

Yukarıda da anlatıldığı gibi PSMD9, insülin geni transkripsiyonunun bir koaktivatörü olduğundan (Thomas ve ark. 1999), PSMD9 varyantları, insülin transkripsiyonunu bozabilir, beta-hücre fonksiyon bozukluğuna neden olabilir ve T2D'ye katkıda bulunabilir. İnsan PSMD9 geni NIDDM2 (insüline bağımlı olmayan diyabet, lokus 2) lokusu içinde bulunmaktadır. Farklı popülasyondaki çoklu genom çapındaki taramalar, NIDDM2 kromozom 12q24 bölgesini Tip2 diabetes mellitus hastalığıyla ilişkilendirmiştir. NIDDM2 içinde, insülin üretiminin bir PDZ-alanı transkripsiyonel koaktivatörü kodlayan PSMD9 (proteasome modülatör 9 / Köprü-1) geninin polimorfizmine İtalyan bireylerde Tip 2 diyabet için potansiyel bir katkısını tespit etmek için bakılmıştır. 237 İtalyan T2D hastasında doğrudan sekanslama gerçekleştirilmiş olup PSMD 9 polimorfizm incelemesinde S143G, N166S ve G > A , IVS3+nt102 varyantlarının, İtalyan bireylerde geç başlangıçlı T2DM' a katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (Gragnoli ve Cronsell, 2007). Başka bir çalışmada 201 T2DM olan İtalyan bireylerde kardeş/aile taraması yapılmış IVS3+nt460A(rs74421874), IVS3+nt437T(rs3825172), E197G(rs14259) varyantlarının PSMD9'da belirtilen değişkenler için A / T / G haplotipinin, resesif alel model yoluyla İtalyanlarda T2DM ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Gragnoli, 2009). Ayrıca aynı genler için yine İtalyan ailelerde genç başlangıçlı şeker hastalığı olan bireylere (MODY3) bakılmış olup , aynı

varyantların genç başlangıçlı şeker hastalığına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Gagnoli, 2010). Yukarıda bahsedilen çalışmaları özetlemek gerekirse PSMD9 SNP'lerin rs74421874, rs3825172 ve rs1043307 / rs14259'un T2DM ile bağlantısı İtalyan ailelerde tanımlanmıştır (Joanne ve ark., 2015). Bu PSMD9 SNP'leri ayrıca, T2D nöropatisi, mikrovasküler ve makrovasküler patoloji ve hipertansiyon dahil olmak üzere, bu hastalığın belirli patolojik özellikleri ile önemli ölçüde bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Joanne ve ark., 2015). 12q24 lokusu kromozomu dislipidemi ve hiperkolesterolemi ile bağlantılı olduğu bilinmektedir. İnsülin, bir lipit-sentetik hormondur, bu nedenle insülin gen transkripsiyonunu düzenleyen bir gende değişiklik, lipit metabolizmasını da değiştirebilir ve hiperkolesterolemiye katkıda bulunabilir. Ayrıca, PSMD9'un homologu olan koaktivatör Bridge-1'in transgenik farelerinde aşırı ekspresyonu, transgenik olmayan kontrol farelerine kıyasla ciddi anlamda trigliserit seviyelerinin yükselmesine neden olmuştur (Volinic ve ark., 2006). Bu bilgilerden yola çıkarak 200 İtalyan T2DM ailesinde hiperkolesterolemi ile bağlantısına bakılmış olup aynı PSMD9 SNP'lerinin hiperkolesterolemi ile bağlantısı gösterilmiştir (Gagnoli, 2011). Yine 200 T2DM'lu İtalyan ailelerde tip 2 diyabetin uzun süreli bir komplikasyonu olan diyabetik nöropatiye, diyabetik retinopatiye ve diyabetik olmayan retinopatiye ve diyabetik nefropatiye bakılmış olup, T2D nöropatili İtalyan ailelerde PSMD9 SNP'lerin IVS3 + nt460A / G, IVS3 + nt437C / T ve E197G bağlantısı rapor edilmiştir (Gagnoli, 2011). PSMD9'un T2D'nin makrovasküler patolojisi ile bağlantılı olup olmadığını belirleme amacıyla +nt460A/G, + nt437C/T ve ekson E197G A / G tek nükleotid polimorfizmleri 200 T2DM kardeş / aileyi taranmıştır ve T2D'nin makrovasküler patolojisiye ilişkilendirilmiştir (Gagnoli , 2011). Diğer proteazom modulator 9 (PSMD9) gen SNP çalışmalarında, karpal tünel sendromu, hipertansiyon, obezite, bel çevresi yağlanması, depresyon, anksiyete ve uykusuzluk ile ilişkisi gösterilmiştir (Hao ve ark., 2015).

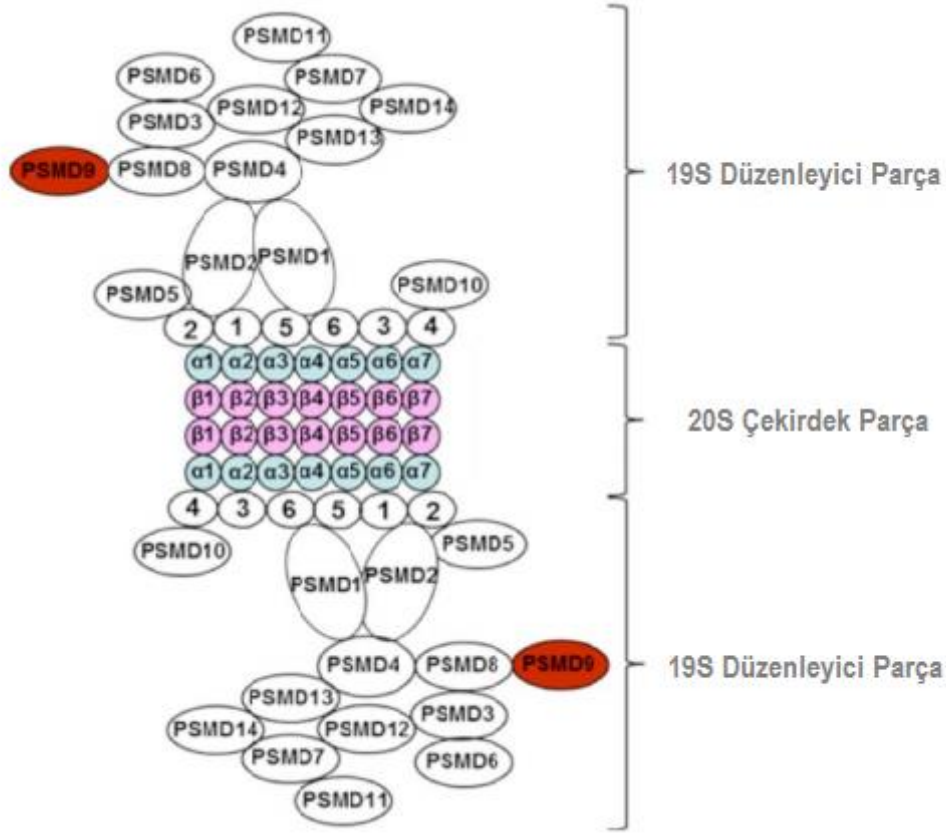
Tüm bu araştırmalar değerlendirildiğinde başta PSMD9 geninin T2DM hastalığına ve beraberinde getirdiği komplikasyonlara olan katkısından yola çıkılarak çalışmamızda Alzheimer hastalığı ve T2DM hastalığı arasındaki ilişki göz önünde bulundurularak PSMD9 geninde rs14259 varyantının AH'na olan katkısına bakılmıştır.

## 2.8 Ubiquitin-proteazom sistemi(UPS) ve Alzheimer Hastalığı ilişkisi

Ubiquitin, tüm ökaryotik hücrelerde bulunan ve proteazomu hedef alan proteinlere bağlanan küçük, yüksek oranda korunmuş bir peptittir (Ciechanover ve ark., 1994). Substrat proteinlerinin parçalanması, aktive edici (E1), konjügasyon (E2) ve ligasyon (E3) enzimlerinden oluşan bir enzimatik kaskadın aracılık ettiği ubiquitin kovalent eki ile hedeflenir (Sudarshan ve Ashok, 2007). Ubiquitin molekülleri, protein hedefine seçici olarak bağlanır. Ubiquitin molekülleri büyük ubiquitin zinciri oluşturur. Ubiquitin zinciriyle etiketlenen proteinler 26S proteazomları tarafından parçalanma için tanınır. Son olarak proteazom bozunmasından sonra ubiquitin monomerleri serbest bırakılır, protein parçalanma işlemi gerçekleştirilmiş olur (Chau V ve ark., 1989). Özet olarak proteazomun parçalanması, çoklu ubiquitin parçalarının bir substrat ile birleştirilmesi ve etiketli proteinin 26S proteazom kompleksi tarafından parçalanması ile gerçekleşir (Muchowski ve Wacker, 2005).

26S proteazom olarak bilinen proteazom, 2 kompleks, 20S çekirdeği ve 19S regülatöründen oluşan oldukça düzenli bir yapıya sahip multikatalitik bir proteinaz kompleksidir. Ökaryotik 20S proteazom çekirdek kompleksi, aynı olmayan 28 alt-birimin 4 halkasından oluşur; Dış halkalar, substrat girişi ve ürün salımı için geçit işlevine sahip 2 halka 7 alfa tipi alt birimler içerirken, 2 halka da 7 beta alt birimleri peptid hidrolize edici aktivite sergilemektedir. 19S düzenleyici kompleks, 20S katalitik çekirdeğe esnek bir şekilde bağlanır ve çekirdeğin girişinde bir halka oluşturan ve şaperon benzeri bir aktivite uygulayan 6 ATPaz altbirimden ve 2 ATPaz dışı altbirim içeren bir tabandan ve en fazla 10 ATPaz olmayan alt birim içeren bir kapaktan oluşur (Zouambia ve ark., 2008).

Şekil 6: 26S Proteazom parça ve PSMD 9



(Hopper ve ark., 2015)

Ubikuitin proteazom sistem (UPS), hücre içi proteinlerin parçalanması için ana yoldur. Total proteinlerin, protein parçalanmasının % 80-90'ı UPS yoluyla, % 10 - 20'si lizozomal proteoliz yoluyla gerçekleşir (Olzmann ve ark., 2008). UPS sistemi hücrel işlemlerin birçoğuna dahil olmaktadır. Hücre döngüsünün düzenlemesini, hücrel farklılaşmayı, anormal ve yanlış katlanmış hücre içi proteinlerin çıkarılmasını ve antijenik peptitlerin üretilmesi gibi birçok işleme dahil olmaktadır (Gomes, 2013). Hücrel düzeyde, hücre içi proteinlerin sürekli bir dönüşümü, homeostazın sürdürülmesi ve çoklu hücrel fonksiyonların düzenlenmesi için gereklidir (Riederer ve ark., 2011). Ayrıca, UPS'in sinaptik plastisitedeki rolünü destekleyen önemli kanıtlar vardır. UPS'in sinaptik plastisitedeki rolü ilk önce uzun vadeli kolaylaştırma olarak adlandırılan uzun vadeli hafızanın omurgasız hücrel modelinde gözlenmiştir (Hegde ve ark., 1993). UPS

bileşenlerinin işlevindeki bozulma, hücresel strese ve apoptoza neden olan proteinlerin birikmesine neden olabilmektedir (Sangith ve ark., 2014).

Proteinlerin birikmesi Alzheimer Hastalığı (AH) olmak üzere birçok nörodejeneratif hastalıkta tekrarlayan bir olaydır. Protein birikiminin ubiquitin proteazom sisteminde işlev bozukluğundan kaynaklanabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Son araştırmalar, UPS'in bileşenlerinin, AH'nın erken evresi ile ilişkilendirilen sinaptik işlev bozukluğu ile ve hastalığın geç dönemlerinde karakterize edilen nörodejenerasyon ile bağlantılı olabileceğini göstermiştir (Sudarshan ve ark., 2007). UPS ayrıca hasarlı veya yanlış katlanmış proteinler için önemli bir kalite kontrol sistemi gibi çalışmaktadır. Seçici protein oksidasyonu protein hasarına neden olabilmektedir ya da meydana gelen protein mutasyonları proteazomun bir işlev bozukluğuna neden olabilmektedir. Bu tür olaylar sonunda hücre ölüm yolları aktifleşerek ubiquitin edilmiş proteinlerin belirgin yapılara dahil edilmesiyle anormal bir toplanma ya da birleşmeye neden olabilmektedir (Riederer ve ark., 2011). AH ile ilişkili beyinlerde değişmiş proteazom aktivitesinin doğrudan kanıtları gösterilmiştir. AH'da stres durumları, inflamasyon, reaktif gliyoz ve oksidatif hasar, protein hasarına neden olabilir; bunlarla ilişkili olarak, protein onarımı veya bozunması ve UPS'in ve / veya anormal protein toplanmasının aktivasyonu gibi bir doku reaksiyonu ile sonuçlanabilir (Riederer ve ark., 2011). Nörodejeneratif hastalıklarda 20S Proteazom'un rolüne ilişkin ilk çalışmalar proteazom aktivitesinin inhibisyonunun nöronal ölümü hızlandırmak için yeterli olduğunu buldu. Erken in vitro çalışmalar, A $\beta$ 'nin nöronal hücrelere doğrudan uygulanmasının proteazom inhibisyonunu tetiklediğini göstermiştir (Reinheckel ve ark., 1998). Proteazomun farmakolojik inhibitörlerinin uygulanmasının, nöronal toksisiteyi ve nihai ölümü indüklediği ayrı ayrı gösterilmiştir (Qui ve ark., 2000). Yapılan bir çalışmada AH vakalarının özellikle belirli beyin bölgelerinde proteazom aktivitesinde seçici bir azalma gösterilmiştir. İlgili çekici olan hipokampus gibi AH patolojisine daha duyarlı olan beyin bölgelerinde, proteazom aktivitesinin azaldığı, buna karşın serebellum gibi diğer daha az duyarlı olan beyin bölgelerinde, AH ve kontroller arasındaki proteazom aktivitesi karşılaştırıldığında hiçbir değişiklik olmadığı gösterilmiştir (Keller ve ark., 2000). Artan kanıtlar proteazom sistemi ve A $\beta$  arasındaki etkileşimi desteklemektedir. AH'nın ayırt edici yapılarından A $\beta$  fibrillerinin ubiquitin kaynaklı protein parçalama kusuruyla ilgisi olabileceği keşfedilmiştir. Yapılan in vitro çalışmalarda, A $\beta$ 40'ın peptid kanalı boyunca proteazomun



içine doğrudan bağlandığını ve 20S proteazomunun kimotripsin benzeri aktivitesini seçici olarak inhibe ettiğini göstermiştir (Gregori ve ark., 1997). Aynı zamanda yeni çalışmalar A $\beta$ 42 'nin proteazom aktivitesini bozduğunu göstermektedir. A $\beta$ 42'nin bilinen bir proteazom inhibitörü kadar proteazom fonksiyonunu inhibe edebileceği gösterilmiştir (Oh ve ark., 2005). Bir çalışmada yazarlar bir ubikuitin-konjuge enzim olan, E2-25K / HIP2, APP mutasyonları içeren bir hayvan modelinde A $\beta$  aracılı nörotoksitenin ve proteazom inhibisyonunun bir aracı olarak tanımlamışlardır. Bir ubikuitin mutanti olan UBB + 1'in (AH'ı beyinlerinde gözlenen güçlü bir proteazom inhibitörü), E2-25K / HIP-2 aracılı nörotoksite ile fonksiyonel olarak etkileşime girdiği bulunmuştur (Song ve ark., 2003). İn vitro deneylerde, A $\beta$ 'nin proteazomu bağlayabildiği ve inhibe edebileceği, böylece ubikuitin ile konjüge edilmiş proteinlerin bozulmasını bloke ettiği gözlenmiştir (Gregori ve ark., 1997). Başka bir çalışmada proteazom eksikliği, A $\beta$  immünoterapisi ile geri alınmıştır buda A $\beta$  birikiminin proteazom fonksiyonunu inhibe ettiği hipotezini desteklemektedir. A $\beta$  birikimi, A $\beta$  üretimi ile bozulması arasındaki dengeye bağlıdır. 20S proteozomunun A $\beta$ 40 ve A $\beta$ 42'yi bozduğu hücre içermeyen deneyde gösterilmiştir. İn vitro çalışmalarla uyumlu olarak, proteazom inhibisyonunun intranöronal A $\beta$  seviyelerinde anlamlı bir artışa yol açtığını gösterilmiştir (Tseng ve ark., 2008). Veriler değerlendirildiğinde, A $\beta$ 'nin spesifik proteazlar dışında proteazom tarafından da parçalandığını göstermiştir. Yaşlanma sürecindeki proteazom fonksiyonunda ki düşüş göz önüne alındığında yaşa bağlı proteazom disfonksiyonunun AH ile ilişkili beyinlerde A $\beta$  birikimine katılabileceği söylenebilir (Breusing ve Grune, 2008). Amiloid prekürsör proteininin (APP)  $\gamma$ -sekretaz (A $\beta$  üreten) bölünmesini pozitif olarak düzenleyen presenilinler, Ubuquitin-proteazom sisteminin substratlarıdır. Bu nedenle, 26S proteasomlarının Ub+1- başlıklı zincirler tarafından ilerleyici, yaşa bağlı inhibisyonunun, presenilin seviyeleri üzerindeki etkilerle AH patogeneze katkıda bulunabilmesi mümkündür ( Lam ve ark., 2000). Bu fikri güçlendiren diğer kanıtlar, hem PS1 hem de PS2'nin proteazom tarafından bozulduğunu göstermiş, bu nedenle proteazom aktivitesindeki bir azalma muhtemelen  $\gamma$ -sekretaz aktivitesini ve A $\beta$  üretimini artıracığı göstermiştir. A $\beta$ 'nin proteazomla fiziksel olarak nasıl etkileşime girdiği açıklık getirilmesi gereken konulardan biridir ve halen net değildir (Checler ve ark., 2000).

AH'da, kaspazla bölünmüş tau birikimi, NFY oluşumunda erken bir olay gibi görünmekte ve tau proteinleri, diğer nörodejeneratif hastalıklarda da görüldüğü gibi, bir

$\alpha$ -sinüklein ile birlikte birikebilmektedir (Newman ve ark., 2005). Nöropatolojik lezyonlarda ubikuitin-protein konjugatlarının birikimi ilk olarak insan beyninden izole edilen NFY'larda tespit edilmiştir (Perry ve ark., 1987). Tau agregatları ve proteazom aktivitesi arasında inhibe edici bir etkileşim olduğu ortaya koyulmuştur. Bunu desteklemek için, in vitro olarak, insan AH ile ilişkili beyin dokusundan izole edilen tau agregatlarının, proteazomu inhibe edebildiğini gösterilmiştir. Aynı zamanda elde edilen veriler, A $\beta$  birikiminin proteazom fonksiyonunu bozabileceğini ve böylece tau birikimini kolaylaştırdığını göstermiştir. Ayrıca, toplanmış tau'nun proteazom tarafından parçalanmadığını ve gerçekten onu inhibe ettiğini gösteren veriler elde edilmiştir (Keck ve ark., 2003).

Ayrıca Şaperonlar, UPS ile bir işbirliği yaparak protein katlanma sürecine dahil olurlar, fakat AH'da işlevleri bozulmaktadır (Oddo, 2008). Şaperonlar yanlış katlanmış proteinleri hedef alır ve tüm hücre tiplerinde protein birikmesini önlerler. Moleküler şaperonlar (hsp70 ve hsp40) yanlış katlanmış, toplanmaya eğilimli proteinlere karşı ilk savunma hattını sağlar; ikinci savunma sistemi ise Ubikuitin proteazom sistemidir. Moleküler şaperonlar insan hastalığının hayvan modelleri için bilinen en güçlü nörodejenerasyon baskılayıcıları arasındadır. Bununla birlikte, bu sistemin işlevsizliği bir birikmeye ve ubikleştirilmiş proteinlerin toplanmasına yol açabilir (Gao ve Hu, 2008).

Yukarıda bahsedilen tüm çalışmalarda Ubikuitin proteazom sistem ve Alzheimer hastalığı arasındaki ilişkiden bahsedilmiştir. PSMD9 geni UPS sisteminin 19S regülatörünün ATPaz olmayan bir alt birimidir ve proteazomal birleştirici bir şaperonudur. Bundan dolayı nörodejenerasyon sürecine ve Alzheimer hastalığına olabilecek katkısı bu çalışmamızda araştırılmıştır.

## 3.GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1 Klinik Değerlendirme

Araştırmamızda koleksiyon kan materyali kullanılmıştır. Koleksiyon kan materyali; daha önce etik kurul onayı alınmış ve gönüllü onam formu imzalatılmış farklı bir çalışma için Ümraniye Eğitim ve Araştırma hastanesine başvuran NINCDS-ADRDA kriterlerine göre Alzheimer Hastalığı tanısı almış kişilerden elde edilmiştir. Aynı hastaneye başvuran 65 yaş üstü herhangi bir nörolojik, onkolojik ve romatolojik hastalığı olmayan sağlıklı bireylerden kontrol kanları elde edilmiştir. Alzheimer hastaları deneyimli nörolog tarafından değerlendirilmiş, hastanın klinik durumunu belirlemek ve kognitif fonksiyon kaybını derecelendirmek için nöropsikolojik testler yapılmıştır. Alzheimer hastalarında mini mental durum testi (MMDT), klinik demans skalası (CDR) testleri yapılmıştır.

MMDT, 1975 yılında Folstein ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır ve klinikte yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Bilişsel performansı objektif ve hızlı bir şekilde değerlendirebilmek amacıyla oluşturulmuştur. Bilişsel bozuklukların saptanması, klinikteki seyrinin takibi, uygulanan tedavilerin yararlılığının değerlendirilmesi açısından pratikte kullanılan popüler bir testtir. Test; kayıt hafızası, oryantasyon, dikkat ve hesaplama, lisan ve hatırlama olmak üzere beş ana başlık altında toplanmış 11 maddeden oluşmakta ve toplam puan olan 30 üzerinden değerlendirilmektedir. Tamamlanması yaklaşık 10 dakika sürmektedir. MMDT 'de eşik değer 23-24 puan arasındadır. 24-30 puan arası normal, 20-23 puan arası hafif evre, 10-19 puan arası orta evre ve 0-9 puan arası ileri evre demansla uyumludur (Folstein ve ark., 1975).

Alzheimer hastalarına uygulanan bir diğer nöropsikolojik test ise Klinik demans derecelendirme skalası (CDR)'dır. CDR, pratikte sıklıkla kullanılan global evrelendirme skalalarından birisidir (Hughes ve ark., 1982). Bellek, oryantasyon, muhakeme etme ve problem çözme, sosyal hayat, ev ve hobiler, kişisel bakım olmak üzere 6 kategoride değerlendirilir. Hastaları kognitif durumlarına göre 5 evreye ayırmaktadır. CDR testi; AH'ını 0-kognitif yeterlilik, 0.5 hafif kognitif bozukluk, 1- hafif demans, 2- orta demans, 3-şiddetli demans şeklinde kategorize etmektedir.

**Tablo 2. Mini Mental Durum Testi (MMDT)**

**MINİ MENTAL DURUM TESTİ**  
**Mini Mental State Examination(MMSE)**

**Hastanın Adı, Soyadı:** \_\_\_\_\_ **Tarih:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_  
**Puanı:** \_\_\_\_\_

**Oryantasyon ( Her soru 1 puan, toplam 10 puan)**

Hangi yıl içerisindeyiz? _____	Hangi ülkede yaşıyoruz? _____
Hangi mevsimdeyiz? _____	Şu an hangi şehirde bulunmaktasınız? _____
Hangi aydayız? _____	Şu an bulunduğunuz semt neresidir? _____
Bu gün ayın kaç? _____	Şu an bulunduğunuz bina neresidir? _____
Hangi gündeyiz? _____	Şu an bu binanın kaçınca katındasınız? _____

**Kayıt Hafızası ( Toplam 3 puan)**

Size birazdan söyleyeceğim üç ismi dikkatlice dinleyip, ben bitirdikten sonra tekrarlayınız:  
Masa,bayrak,elbise.(20 sn süre tanınır.) Her doğru isim 1 puan. \_\_\_\_\_

**Dikkat ve Hesap Yapma ( Toplam 5 puan)**

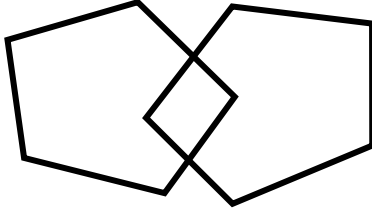
100'den geriye doğru 7 çıkartarak gidiniz. Dur deyinceye kadar devam ediniz.  
100, 93, 86, 79, 72, 65. Her doğru işlem 1 puan. \_\_\_\_\_

**Hatırlama ( Toplam 3 puan )**

Biraz önce tekrar ettiğiniz isimleri söyleyin.  
Masa, bayrak, elbise. Her doğru isim 1 puan. \_\_\_\_\_

**Lisan ( Toplam 9 puan )**

- Bu gördüğünüz nesnelere isimleri nedir?  
Kol saati, kalem. (20 sn süre tanınır.) Her yanıt 1 puan, toplam 2 puan \_\_\_\_\_
- Şimdi size söyleyeceğim cümleyi dikkatle dinleyin. Ben bitirdikten sonra tekrar edin.  
Eğer ve fakat istemiyorum. (10 sn süre tanınır.) Doğru yanıt 1 puan \_\_\_\_\_
- Şimdi sizden bir şey yapmanızı isteyeceğim, beni dikkatle dinleyin ve söylediğimi yapın.  
"Masada duran kâğıdı elinizle alın, iki elinizle ikiye katlayın ve yere bırakın lütfen"  
(20 sn süre tanınır.) Her işlem 1 puan, toplam 3 puan. \_\_\_\_\_
- Şimdi size bir cümle göstereceğim. Okuyun ve yazıda söylenen şeyi yapın.  
Bir kâğıda "GÖZLERİNİZİ KAPATIN" yazıp hastaya gösterin. Doğru yanıt 1 puan \_\_\_\_\_
- Şimdi vereceğim kâğıda aklınıza gelen anlamlı bir cümleyi yazın. Doğru yanıt 1 puan \_\_\_\_\_
- Size göstereceğim şeklin aynısını çizin;( Aşağıdaki şekil arka sayfaya çizilecek.) 1 puan \_\_\_\_\_



**Toplam Puan :** \_\_\_\_\_

**Şekil 7: Klinik Demans Derecelendirme Skalası (CDR)**

KLİNİK DEMANS DERECELENDİRME (CDR)					
KLİNİK DEMANS DERECELENDİRME (CDR):	0	0.5	1	2	3
	Bozukluk				
	Yok 0	Şüpheli 0.5	Hafif 1	Orta 2	Ciddi 3
Bellek	Bellek kaybı yok ya da hafif, belirsiz unutkanlık	Hafif aşırı unutkanlık; olayların kısmen hatırlanabilmesi; "selim" unutkanlık	Orta derecede unutkanlık; yakın dönem olayları için daha belirgin; unutkanlık günlük faaliyetleri engelliyor	Ciddi unutkanlık; yalnızca çok iyi öğrenilmiş materyal kalmış; yeni materyal hızla kayboluyor	Ciddi unutkanlık; Yalnızca parçalar kalır
Oryantasyon	Tümüyle oryante	Zaman ilişkilerindeki hafif güçlük dışında tümüyle oryante	Zaman ilişkilerinde orta derecede güçlük; muayene yerini tanıyor; fakat dışarıda coğrafi dezoryantasyonu olabilir	Zamanla ilişkilerinde ciddi güçlük; genellikle zamana, sıklıkla da mekana dezoryante	Yalnızca kişilere oryante
Yargılama & Sorun çözme	Günlük sorunları çözüyor ve işe ve paraya ilişkin işlerin iyi bir şekilde üstesinden geliyor; geçmiş performansını ile ilişkili yargılamalar iyi	Sorunları çözmede, benzerliklerde ve farklılıklarda hafif bozukluk	Sorunları ele almada, benzerlikleri ve farklılıkları kavramada orta düzeyde bozukluk; toplumsal yargılama genellikle korunmuştur	Sorunları ele almada, benzerlikleri ve farklılıkları kavramada ciddi düzeyde bozukluk; toplumsal yargılama genellikle bozuk	Yargılama yapamıyor ve sorun çözemiyor
Ev Dışı Faaliyetler	İşte, alışverişte, gönüllü ve sosyal gruplarda her zamanki düzeyde bağımsız işlevsellik	Bu faaliyetlerde hafif bozulma	Bu faaliyetlerin bir kısmını halen sürdürse de bağımsız işlev göremiyor; yüzeysel bir bakışla normal görünüyor	Evin dışında bağımsız işlevini tümüyle yitmiş Aile evinin dışındaki faaliyetlere götürülebilecek kadar iyi görünüyor	Aile evinin dışındaki faaliyetlere götürülmeyecek kadar hasta görünüyor
Ev ve Hobiler	Ev yaşamı, hobiler ve entelektüel ilgiler iyi korunmuş	Ev yaşamı, hobiler ve entelektüel ilgilerde hafif bozulma	Evdeki işlevlerde hafif fakat aşırı bozukluk; güç ev işleri, daha karmaşık hobiler ve ilgiler terk edilmiş	Yalnızca basit ev işleri devam ediyor; ilgiler son derece sınırlı, zayıf biçimde sürüyor	Evde önemli bir işlevi yok
Kişisel Bakım	Kendine bakımda tam yeterlik		Gayrete getirilmesi gerekiyor	Elbise giyme, hijyen, kişisel eşyaların bakımı için yardıma ihtiyaç duyuyor	Kişisel bakım için çok fazla yardıma ihtiyaç duyuyor; sık idrar ve dışkı kaçınıyor

### 3.2 Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

Farklı bir çalışma için toplanan ve  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan kan örnekleri, araştırmamız için çözdürülmüş ve araştırmaya uygun analizler gerçekleştirilmiştir. EDTA'lı tüp içerisinde bekleyen koleksiyon kan örneklerinden DNA analizi için RTA Laboratuvarları RTA kandan genomik DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Kitten çıkan malzemeler Tablo 3'te gösterilmiştir. Kitten çıkan solüsyonlar, protokolde yazıldığı şekilde dilüe edilmiştir. İlk kullanımdan önce Proteinaz K tüpüne 100 test sayısı olacak şekilde 2.2 ml  $\text{dH}_2\text{O}$  (Thermo Scientific Smart 2 Pure 3 Distile Su Cihazı, ABD) eklenmiş ve vorteks yapılarak iyice çözdürülmüştür. Kitin içerisinden çıkan solüsyon W1 ve solüsyon W2 konsantredir. İlk kullanımdan önce 100 test olacak şekilde solüsyon W1'e 38 ml ve solüsyon W2'ye 100 test olacak şekilde 19 ml (%96-100) Etanol eklenmiştir. Bekleyen kan örneği donmuş olduğu için  $37^{\circ}\text{C}$  su banyosunda (SNH130 Su Banyosu, Block Heater, İngiltere) çözdürüldükten sonra DNA izolasyonu için sırasıyla aşağıdaki basamaklar izlenmiştir.

1. 1.5 ml'lik bir mikrosantrifüj tüpünün dibine 20  $\mu\text{l}$  Proteinaz K eklenmiştir ve üzerine 200  $\mu\text{l}$  kan örneği eklenmiştir.

2. 200 µl Solüsyon B eklenmiş ve 20 saniye vurum vorteks( Biosan V-1 plus Vorteks) yapılarak karıştırılmıştır.
3. Kısa santrifüj yapıldıktan sonra her 3 dakikada bir karıştırılarak 65°C de 15 dakika inkübe edilmiştir.
4. 260 µl etanol (%96-100) eklenip, 20 saniye vurum-vorteks yapılarak karıştırılmıştır.
5. Kısa santrifüjden (Microfuge 16 Mikrosantrifüj, Beckman Coulter, ABD) sonra karışım, toplama tüpünün içine yerleştirilmiş spin kolona aktarılmıştır.
6. 5,000 x g'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. Sıvı içeren alttaki tüp atılmış ve kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
7. 700 µl solüsyon W1 eklenmiştir. 5,000 x g'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. Toplama tüpündeki sıvı atılmış ve yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
8. 700 µl solüsyon W2 eklenmiştir. 16,000 x g 'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. Toplama tüpündeki sıvı atılmış ve kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
9. 16,000 x g' de 3 dakika santrifüj yapılmıştır.
10. Spin kolon, steril 1.5 ml'lik bir mikrosantrifüj tüpüne transfer edilmiştir.
11. 200 µl 70°C' ye ısıtılmış solüsyon E eklenmiştir, kolonun kapağı kapatılmış ve 3 dakika oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edilmiştir.
12. 5,000 x g 'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır.
13. 16,000 x g' de 30 saniye daha santrifüj yapılmıştır.
14. Spin kolon atılmıştır. Kalan mikrosantrifüj tüpünün içindeki elüsyon tamponunda genomik DNA elde edilmiştir.

**Tablo 3: RTA kandan genomik DNA izolasyon kitinin içerisinde çıkan malzemeler**

<b>Sağlanan Malzeme</b>	<b>50 Test</b>	<b>100 Test</b>
Proteinaz K	1 Viyal	2 Viyal
Solüsyon B	11 ml	22 ml
Solüsyon W1	19 ml	38 ml
Solüsyon W2	28.5 ml	57 ml
Solüsyon E	11 ml	22 ml
Spin Kolonlar (2 ml tüp içinde)	50	100
Toplama tüpleri (2 ml)	150	300
Toplama tüpleri (1.5 ml)	50	100
Kullanım kılavuzu	1	1

**Resim 1: RTA kandan genomik DNA izolasyon kitinin içinden çıkan solüsyonlar**



**Resim 2: RTA kandan genomik DNA izolasyon kitinin içinden çıkan tüpler**



### 3.3 DNA izolasyonu yapılmış örneklerin Agaroz Jel Elektroforezi ile Görüntülenmesi

DNA izolasyon işlemi sonucunda elde edilen DNA ürünü %2' lik agaroz jelde kontrol edilmiştir.

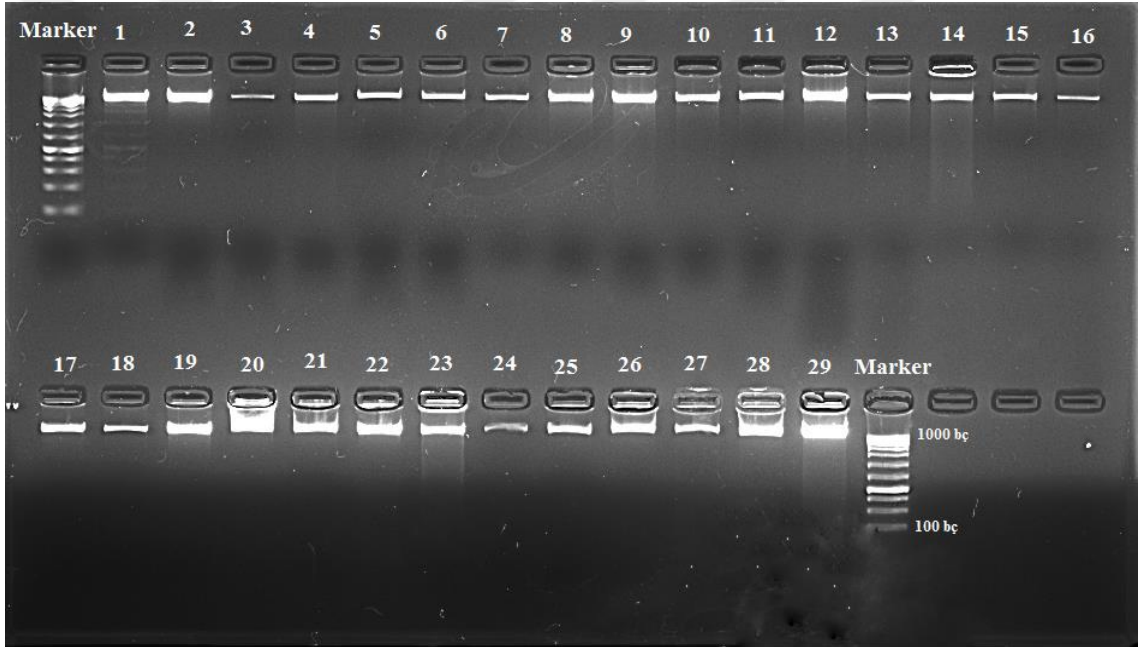
Agaroz doğrusal bir polisakarittir ve kırmızı bir alg türü olan 'Agar agar' 'dan izole edilmektedir. Yüksek sıcaklıklarda suda çözünmesi ve soğutulduğunda bu polimerde çapraz bağların oluşması sonucu jel yapısı oluşur ve bu olay geri dönüşümlüdür. Agaroz orta büyüklükte ve büyük DNA moleküllerini elektroforezle ayırmak için laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan en temel yöntemlerden biridir. En çok 50 kb'a kadar olan nükleik asitler agaroz jel elektroforezi ile ayrıştırılabilir. Elektroforez boyunca, DNA elektriksel yük sayesinde, jelin porlarından geçmeye zorlanır. Agaroz konsantrasyonu ayarlanarak moleküllerin hareket ettiği porların çapı değiştirilebilir. Jelin konsantrasyonu arttıkça porların çapı küçülmektedir. DNA moleküler ağırlığının logaritması ile ters orantılı olarak göç eder ve küçük DNA molekülleri büyüklere kıyasla daha hızlı hareket etmektedir. DNA molekülleri elektriksel güç altında negatif elektrottan , pozitif elektroda doğru hareket eder. DNA molekülleri jelde tek başına görünür değildir. Bu yüzden Agaroz jeller genellikle floresan bir boya olan etidyum bromür ile boyanır ve UV ışığı altında DNA parçaları görüntülenebilir. Etidyum bromür DNA'nın iki zinciri arasına girerek 300 veya 360 nm dalga boyundaki ışığı soğurması sonucu floresan etki gösterdiği için ancak UV ışığı yardımıyla görülebilir. Bunun sonucunda DNA molekülünün jelde bir görüntüsünü elde ederiz. DNA ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesinde aşağıdaki basamaklar izlenmiştir. %2'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Aşağıda verilen miktarlar 10X10 cm<sup>2</sup> boyutundaki 35 mL'lik tanklara göredir.

- 0,7 g toz agaroz ölçülüp 500 mL'lik flaska aktarılmıştır, içerisine 35 mL TBE(Tris-Borat-EDTA) tamponu eklenmiştir.
- Mikrodalga da agaroz çözeltisi renksiz olana kadar kaynatılmıştır.
- Çeker ocağın altında 2µl EtBr ekledikten sonra çözeltinin 55-60°C ye kadar soğuması beklenmiştir.
- Taraklar jel kasedine yerleştirildikten sonra jelin 2-3 mm üzerine gelecek şekilde , TBE tamponu eklenmiştir.



- Jele yükleme için 2µl 6X örnek yükleme boyası , 10µl DNA ile karıştırılıp, elde edilen örnek ve boya karışımından 10µl her kuyuya eklenmiştir.
- Ayrıca her jel için en az 1 tane olacak şekilde 4µl DNA ladder eklenmiştir.
- Elektrodlar pozitif ve negatif kabloların doğruluğu kontrol edilerek bağlanmış ve güç kaynağı 100 volt (400 mA) 'a ayarlanmıştır. Yürüme işlemi yaklaşık 30 dk sürmüştür.
- Kontrol amaçlı olarak 100 bç'lik marker kullanılmıştır.
- Son olarak jel UV transillüminatörde 300 nm dalga boyuna ayarlanarak görüntülenmiştir.

**Resim 3: Elde edilen DNA ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrezisi ile görüntülenmesi**



Genomik DNA izolasyonu yapılan hasta grubunun agaroz jelde yürütülmesi sonucunda elde edilen agaroz jel görüntüsünde hastaların DNA konsantrasyonları Resim 3 te gösterilmektedir.

### **3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)**

Belli bir DNA dizisini özgün olarak çoğaltmak için kullanılan yöntemlerden biri olan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) Kary Mullis tarafından 1980'lerin ortalarında keşfedilmiştir. PZR, genomdan özgün bir DNA dizisinin çok sayıda kopyasını çıkarma olanağı sağlar yani tamamen in vitro koşullarda DNA sentezi gerçekleştirilir. PZR, tek iplikli DNA'yı kalıp alan ve deoksiribonükleotitleri substrat olarak kullanan DNA

polimeraz enzimi ile gerçekleştirilir. Kullanılan oligonükleotitler (primerler), enzimin senteze başlaması için bu 3'-OH grubunu sağlamaktadır. PZR, primerlerin hedef dizilere primerin bağlanması ve uzaması esasına dayanır. Kalıp DNA, DNA polimeraz, deoksiribonükleotitler ve oligonükleotitlerin bulunduğu bir karışım, uygun koşullar sağlandığında, primerler kalıp DNA üzerinde kendilerine tamamlayıcı olan bölgelerle eşleşerek enzimin senteze başlaması için başlatıcı görevi yaparlar. Daha sonra DNA polimeraz, primerlerin ucuna serbest deoksiribonükleotitleri ekleyerek tamamlayıcı DNA ipliğini sentezler. Uygun koşulları sağlamak ve enzimin verimli çalışması amacıyla bu karışım tampon bir çözeltide genellikle 20-100µl hacimde hazırlanır. PZR reaksiyonu birbirini takip eden 3 basamaktan oluşur; denatürasyon, birleşme (annealing), uzama (extension). Denatürasyon basamağı; çift iplikli kalıp DNA molekülünün yüksek sıcaklıkta ayrılmasını içerir. Birleşme basamağında; oligonükleotit primerlerinin kalıp DNA birleşmesi vardır. Primer bağlanması, primerin erime sıcaklığına (melting temp)/ $T_m$ ) bağlıdır. Uzama basamağında, DNA polimeraz iki primer doğrultusunda uzamayı sağlar. DNA sentezinde kullanılan enzim, kaplıca sularında yaşayan 'Thermus aquaticus' bakterisinden izole edilen yüksek sıcaklıklarda uzun süre kararlı olan Taq DNA polimerazdır. PZR da DNA örneğinin çoğaltılması genellikle 25-40 döngüden oluşur. Bir döngü sonucu sentezlenen ürün ardı ardına olan döngüde diğer primerler için kalıp görevi gördüğünden dolayı DNA fragmentasyonları üssel olarak artış gösterir. Çalışmamızda PSMD9 rs14259 polimorfizmi için TIB MALBIOL LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe PZR kiti kullanılmıştır. PZR için kullanılan karışım kitin içinden çıkan talimatlara göre hazırlanmıştır. PZR karışımı elde etmek için izlenen basamaklar aşağıda sıralanmıştır.

- Kitin içerisinden çıkan Reagent karışımı Snp (primer) tüpüne 100 ml PZR suyu eklenerek allel spesifik primerleri sulandırılarak oluşturulmuştur. Master karışımını oluşturmak için enzim kutusuna 60 ml reaksiyon karışımı eklenmiştir. PZR karışımını elde etmek için gerekli ara stoklar elde edilmiştir.
- PZR karışımını elde etmek için tablodaki ürünler sırasıyla karıştırılmıştır. PZR aşağıda belirtilen koşullarda yapılmıştır.

**Tablo 4: PZR karışımının elde edilmesi için gerekli bileşenlerin miktarı**

<b>PZR Karışım Bileşenleri</b>	<b>1X10<math>\mu</math>l</b>
Steril distile H <sub>2</sub> O(PZR suyu)	1,7 $\mu$ l
MgCl <sub>2</sub>	0,8 $\mu$ l
Reagent Karışım(spesifik primerler)	0,5 $\mu$ l
Master Karışım( Taq DNA Polimeraz)	1,0 $\mu$ l
Kalıp DNA	6,0 $\mu$ l
<b>Toplam hacim</b>	<b>10,0 <math>\mu</math>l</b>

**Resim 4: PSMD9 polimorfizmi için PZR primeri**



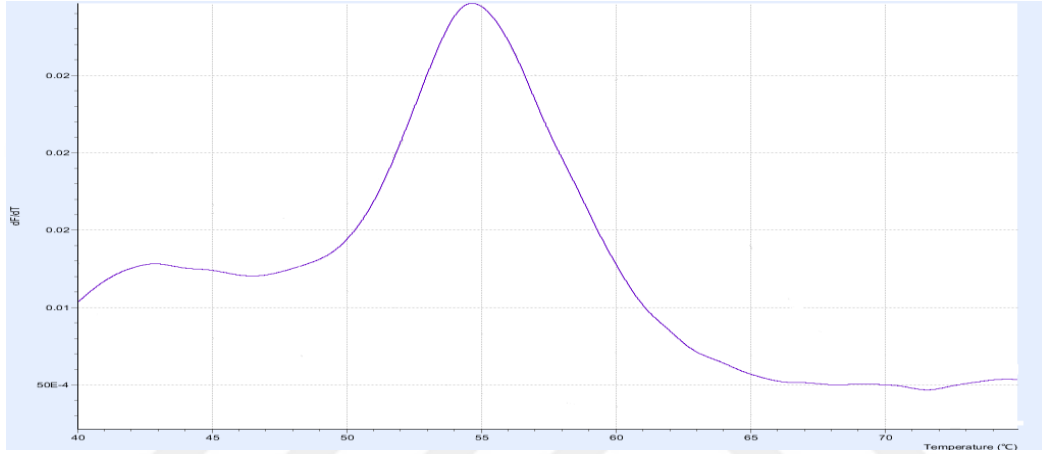
**Tablo 5: PZR protokolü**

<b>Program</b>	<b>Denaturation</b>	<b>Cycling</b>			<b>Melting</b>		<b>Cooling</b>
Analiz modu	Hold	3 Step Amplification			Melting		Hold
Döngü	1	45			1		1
Sıcaklık °C	95	95	60	72	40	75	40
Zaman	600'	10'	10'	15'	120'	120'	30'

PSMD9 geni rs14259 bölgesini çoğaltmak için PZR program protokolü Tablo 5'te verilen sıraya göre yapılmıştır.

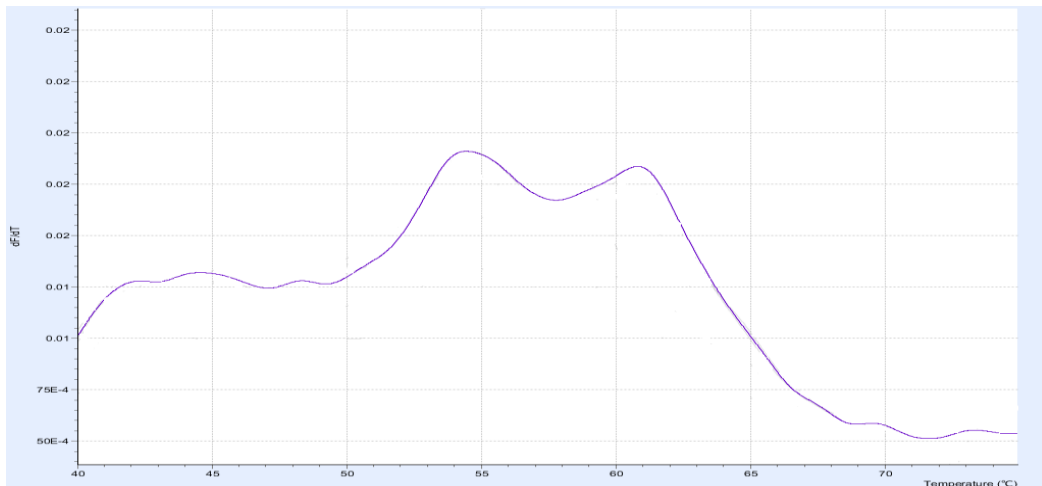
LightCycler Software 4.0 programı kullanılarak örnekler için erime eğrisi analizi yapıldı. Erime eğrisi analizi sonucunda DNA ürünlerinin genotipleme çalışması erime eğrisi grafiğine göre yapılmıştır. Aşağıda popülasyonda gözlenen AA, GG, AG genotipine sahip bireylerin grafikleri sıralanmıştır.

**Şekil 8: AA genotipine sahip bireylerin erime eğrisi grafiği**



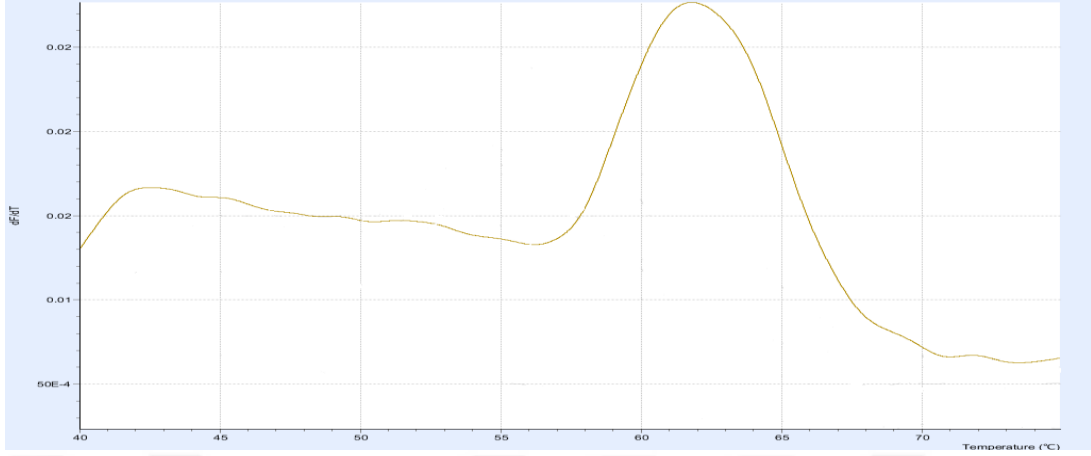
AA genotipine sahip bireylerde tek bir erime tepe noktası bulunmaktadır ve primer erime sıcaklığı (melting temp)/ $T_m$  değeri 57.48°C'dir.

**Şekil 9: AG genotipine sahip bireylerin erime eğrisi grafiği**



AG genotipine sahip bireylerde iki tane erime tepe noktası bulunmaktadır.

**Şekil 10: GG genotipine sahip bireylerin erime eğrisi grafiği**



GG genotipine sahip bireylerde tek bir erime tepe noktası bulunmaktadır ve primer erime sıcaklığı (melting temp)/ $T_m$  değeri  $63.45^{\circ}\text{C}$ 'dir.

### 3.5 İstatiksel Analiz

Elde edilen veriler, IBM SPSS Statistics 23 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Hasta ve kontrol grupların dağılımları, ortalama ve sapmaları değerlendirildi. Hasta ve kontrol grubunda PSMD9 rs14259 polimorfizminin genotip ve allel dağılımı arasındaki ilişki ki-kare ( $X^2$ ) analizi kullanılarak elde edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının Hardy-Weinberg Denge (HWE) testine uygunluğu Michael H. Court'un (2005-2008) Excel tabanlı HWE çevrimiçi hesap makinesi kullanılmıştır. Hasta ve kontrollerin yaşlarının karşılaştırılmasında normal dağılım göstermediği için Mann Whitney testi kullanılmıştır. Alzheimer hasta grubunda MMDT, ortalamalarının genotipik dağılıma göre değerlendirilmesinde t-testi kullanılmıştır. Yine Alzheimer hastalarında CDR ve genotipik dağılım arasındaki ilişki ki-kare ( $X^2$ ) testi ile değerlendirilmiştir. AH grubu ve kontrol grubunda logistik regresyon analizi yapılarak dominant model oluşturulmuş olup; homozigant yabancı genotipe sahip bireylerle heterozigot ve homozigot varyant sahip bireyler aynı gruba dahil edilip rs14259 polimorfizminin AH'na yatkınlıkta dominant modele göre etkisi değerlendirilmiştir. Anlamlılık değeri tüm analizlerde  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

## 4.BULGULAR

### 4.1 Demografik Veriler

Çalışmamıza katılan 29 Alzheimer hastasının yaş ortalaması (75.28), kontrol grubunda yer alan 25 bireyin yaş ortalaması (69.76) olarak hesaplanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarında yaş dağılımlarının normalliğine bakılmış olup normal dağılım göstermediği için karşılaştırma non-parametrik test olan Mann-Whitney testiyle yapılmıştır. Test sonucuna göre p değeri 0,063 olarak hesaplanmış olup istatistiksel açıdan hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Hasta ve kontrollerin sıra ortalama değerleri ve standart sapmaları Tablo 6' da verilmiştir.

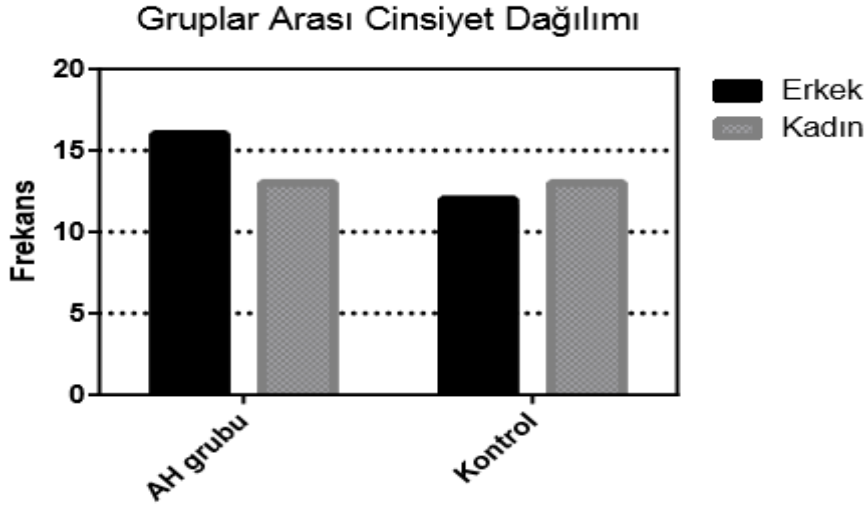
**Tablo 6: Hasta ve kontrollerin yaş sıra ortalamaları karşılaştırılması**

	<b>HASTA</b>		<b>KONTROL</b>		<b>p*</b>
	<b>(n:29)</b>		<b>(n:25)</b>		
	Sıra Ortalaması	Std. Sapma	Sıra ortalama	Std. Sapma	
Yaş	31,21	905,00	23,20	580,00	0,063

**\*Mann-Whitney testi**

Hasta ve kontrol grubu cinsiyet dağılımı ki-kare testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Hasta grubunda 13 kadın, 16 erkek birey ; kontrol grubunda 13 kadın, 12 erkek birey bulunmaktadır. Hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan bir fark olup olmadığını değerlendirmek için ki-kare ( $X^2$ ) testi kullanılmıştır. Test sonucu p değeri 0.800 olarak bulunmuş olup; iki grup arasında cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Gruplar arasındaki cinsiyet dağılımı Şekil 11 deki grafikte gösterilmiştir.

Şekil 11: Gruplar arası cinsiyet dağılım grafiği



#### 4.2 PSMD9 Geni Polimorfizminin (rs14259) Oluşturduğu Genotip ve Allel Frekansı

Kontrol ve hasta grubunun uygunluğu ve yeterliliği hasta ve kontrollerin genotip ve alel dağılımı belirlendikten sonra Hardy-Weinberg Denge testi (HWE) ile test edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının Hardy-Weinberg Denge (HWE) testine uygunluğu Michael H. Court'un (2005-2008) Excel tabanlı HWE çevrimiçi hesap makinesi kullanılarak elde edilmiştir. Hesaplanan sonuçlara göre her iki grupta Hardy-Weinberg eşitliğine uymaktadır. Hasta ve kontrol grubunun p değerleri Tablo 7 de gösterilmiştir.

Tablo 7: Hasta ve kontrollerin Hardy-Weinberg test sonucu

	Hardy-Weinberg $X^2$	p
Hasta	2,935	0,086
Kontrol	0,056	0,811

Hasta ve kontrol grupları için PSMD9 genine ait rs14259 A/G polimorfizmine ilişkin genotip dağılımları ki-kare ( $X^2$ ) testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Genotip frekansları AA, AG, GG ki-kare testi kullanılarak istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Hasta grubunda 15 birey AA ve 14 birey AG genotipine sahipken AH grubunda GG genotipine sahip bireylere rastlanmamıştır. Kontrol grubunda ise 12 birey AA genotipine, 11 birey AG genotipine ve 2 birey de GG genotipine sahiptir. Gruplara ait genotip frekans

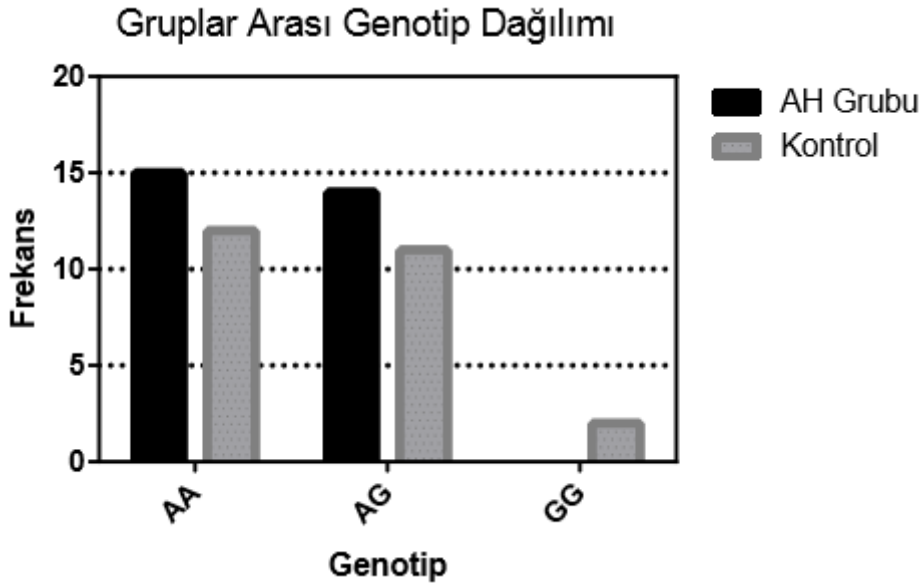
dağılımı Tablo 8’de verilmiştir. Ayrıca grafiksel gösterimi Şekil 12’de verilmiştir. Hasta grubunda GG genotipine sahip birey olmadığı için grafikte ifade edilememiştir.

**Tablo 8: Hasta ve kontrollerin genotip dağılımı**

Genotip	HASTA		KONTROL		X <sup>2</sup>	p*
	(n:29)	%	(n:25)	%		
AA	15	51,7	12	48,0	2,046	0,459
AG	14	48,3	11	44,0		
GG	0	0,0	2	8,0		

\*Yates’ Ki-kare testi

**Şekil 12: Hasta ve kontrol gruplarında genotip dağılım grafiği**



Hasta ve kontrol grupları arasında allel dağılımına yine ki-kare (X<sup>2</sup>) testiyle bakılmıştır. A aleli major alel, G aleli minor alel yani hastalığa etkisi olabileceği düşünülen aleldir. A ve G alel frekansları gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 9). Ayrıca grafiksel gösterimi Şekil 13’te verilmiştir.

**Tablo 9: Hasta ve kontrollerin alel dağılımı**

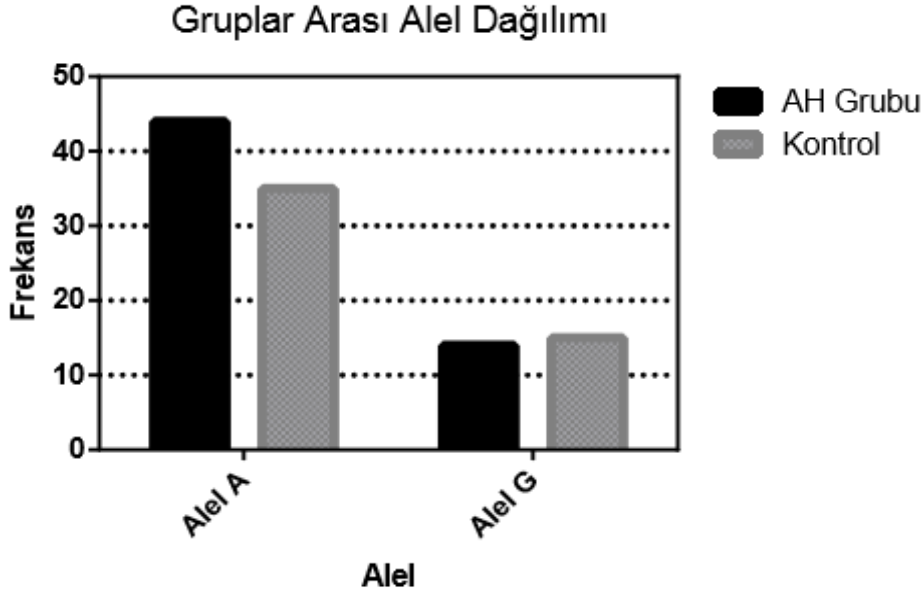
	HASTA		KONTROL		X <sup>2</sup>	p*
	(n:58)	%**	(n:50)	%**		



Allel							
A	44	75,9	35	70,0			
G	14	24,1	15	30,0	0,219	0,640	

\*Yates' Ki-kare testi \*\*Grup yüzdesi

Şekil 13: Hasta ve kontrol grupları arasındaki alel dağılımı grafiği



#### 4.3 PSMD9 geni polimorfizminin dominant ve aditif modele göre incelenmesi

Alzheimer hastalığına yatkınlıkta rs14259 polimorfizminin risk değerlendirmesi lojistik regresyon analizi yapılarak dominant modele ve aditif modele göre incelenmiştir. Hasta grubunda varyant homozigot GG genotipine sahip birey olmadığı için resesif genetik model analizi yapılamamıştır. **Dominant modele göre;** varyant homozigot genotipe sahip bireyler ile heterozigot genotipe sahip bireyler aynı gruba dahil edilip , homozigot yabanıl genotipe sahip bireyler ile kıyaslanmıştır. (GG+AG / AA) Dominant modelde AA genotipine sahip olmanın Alzheimer hastalığında koruyucu bir faktör olup olmadığı incelenmek istenmiştir. Fakat istatistiksel açıdan anlamlılık yakalanamamıştır (Tablo 10). Ayrıca iki grup alel dağılımı aditif modele göre incelenmiştir. Bu modelde hastalığa etki edebileceği düşünülen minor alel olan G'nin etkisi araştırılmıştır. Test sonucunda istatistiksel açıdan anlamlı bir etki saptanamamıştır. Değerlendirmeye ait p değeri , odds ratio değerleri ve güven aralığı değerleri Tablo 10' da verilmiştir.

**Tablo 10: PSMD9 polimorfizminin dominant model ve aditif model istatistik sonuçları**

Model	P*	OR**	%95 CI
Dominant	0,785	0,862	0,295-2,513
Aditif	0,451	0,694	0,269-1,794

\*Lojistik regresyon \*\*Odds Ratio

#### 4.4 Alzheimer Hastalarında genotip dağılıma göre MMDT testi ortalamaları

Mini Mental Değerlendirme Testi (MMDT) uygulanmış Alzheimer hastalarında, genotip dağılımına göre MMDT skoru ortalamaları ortalamalar normal dağılım gösterdiği için t-test uygulanarak karşılaştırılmıştır. AG genotipine sahip bireylerde MMDT skoru ortalaması daha yüksek olmasına karşın; Alzheimer hastalarında AA ve AG genotipine göre MMDT ortalamaları açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 11).

**Tablo 11: Alzheimer hasta grubunda genotip dağılımına göre MMDT ortalaması**  
\*t-test

GENOTİP	AA (n:15)		AG (n:14)		p*
	Ortalama	Standart sapma	Ortalama	Standart sapma	
MMSE	17,33	6,43	19,36	7,06	0,427

#### 4.5 Alzheimer Hastalarında genotip dağılıma göre CDR test sonuçları

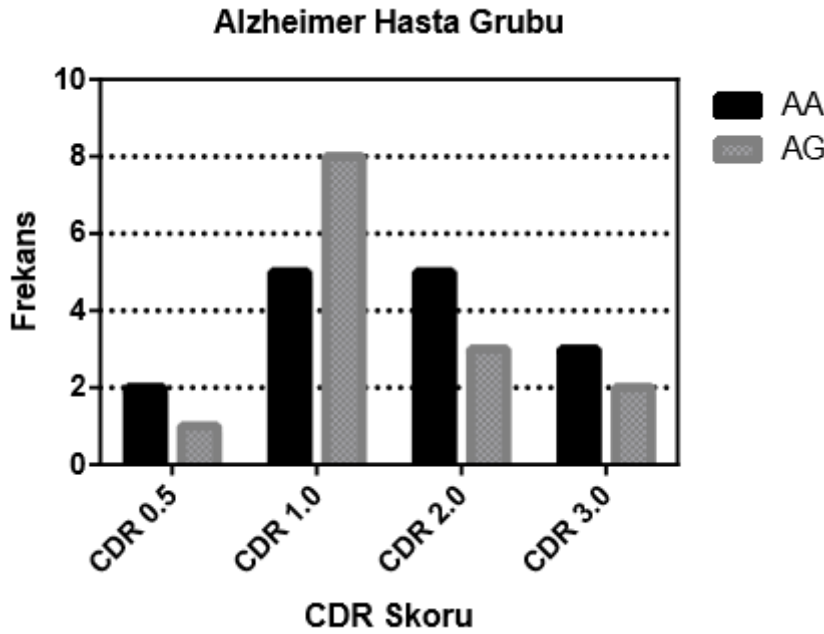
Alzheimer hasta grubunda genotip ile CDR testi arasındaki ilişki ki-kare testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. AA ve AG genotipli bireylerde CDR gruplaması açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Genotiplere göre CDR test sonuçları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir. Ayrıca grafiksel gösterim Şekil 14'te verilmiştir.

Tablo 12: Alzheimer hastalarında genotiplere göre CDR skor dağılımı

		GENOTİP				X <sup>2</sup>	p
		AA		AG			
		(n:15)	%	(n:14)	%		
CDR TESTİ	Şüpheli	2	13.3	1	7.1	1.824	0.677
	Hafif	5	33.3	8	57.1		
	Orta	5	33.3	3	21.4		
	Ciddi	3	20.0	2	14.3		

\*Fisher's Exact Test

Şekil 14: Alzheimer hastalarında CDR skorlamasına göre dağılım grafiği



Grafikte CDR puanlamasına göre Alzheimer hasta grubunda genotip frekansları gösterilmiştir. Hasta grubunda GG genotipine sahip bireyler olmadığı için grafikte gösterilmemiştir (Şekil 14).

## 5.TARTIŞMA

Alzheimer Hastalığı bilinmeyen etyolojide ilerleyen nörodejeneratif bir hastalıktır. AH'na katkıda bulunan genetik ve çevresel faktörleri belirlemek hastalığın anlaşılması, tanı ve tedavisi açısından önemlidir. AH son yıllarda T2DM hastalığı ile ilişkilendirilmekte olup her iki hastalığın nöropatolojisinin benzer olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (de la Monte, 2014). Alzheimer Hastalığında yeni nöropatolojik biyobelirteçler belirlemek hastalığın erken teşhisi açısından büyük önem taşımaktadır. AH'ı kesin tanısını koymak zor olup, postmortem dönemde mümkün olsada, AH patolojisinde rol oynayan biyobelirteçlerin belirlenmesi, erken tanı ve teşhis için yol gösterici olabilmektedir. Çalışmamızda ubiquitin-proteazom sistemin bir parçası olan ve Tip2 diabetes mellitus hastalığı açısından İtalyan ailelerinde risk faktörü olarak tanımlanmış olan (Gragnoli ve Cronsell, 2007; Gragnoli, 2009), PSMD9 geni rs14259 polimorfizminin Türk popülasyonunda AH'ına olan katkısını inceledik. PSMD9 geni proteazom kompleksinin bir parçası olduğu için gen içindeki genetik varyantların, nöronal hücrelerin apoptoz sürecindeki protein fonksiyonunu değiştirerek nörodejeneratif süreçlere katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Ayrıca PSMD9 geni insülin üretiminin bir transkripsiyonel koaktivatörünü kodlamaktadır,  $\beta$  hücre işlev bozukluğuna neden olarak Tip 2 diabetes mellitus hastalığına katkıda bulunmaktadır (Thomas ve ark., 1999). PSMD9 geninin T2DM hastalığına olan katkısı düşünülerek AH'ı açısından risk faktörü olup olmayacağı çalışmamızda incelenmiştir. Beyindeki proteazom aktivitesinin nörodejeneratif hastalıklarla olan etkileşimini gösteren çalışma sayısı az olup, bu çalışma PSMD9 geni ve Alzheimer Hastalığı arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışmadır. Literatürde PSMD9 varyantlarının Alzheimer Hastalığı üzerindeki etkilerini araştıran başka bir çalışma bulunmamaktadır.

29 Alzheimer hastası ve 25 sağlıklı kontrol ile çalışılmış olup rs14259 polimorfizmi ve AH'ı arasındaki ilişki dominant ve aditif(katkı) modeline göre incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanamamıştır. AH grubunda GG genotipine sahip bireyler bulunmadığı için her iki grup resesif modele göre karşılaştırılamamıştır. PSMD9 gen polimorfizmini Alzheimer hastalığı ile ilişkilendiren herhangi bir çalışma mevcut değildir. Türk popülasyonunda rs14259 polimorfizmi Alzheimer hastalığı için bir risk faktörü olmayabilir, ya da kısıtlı bir hasta popülasyonu ile çalışıldığı için anlamlı bir

sonuç yakalanamamış olabilir. Ayrıca hasta grubunda nadir görülen GG genotipine rastlanmamış, kontrol grubunda ise 2 tane GG genotipine sahip birey mevcuttur. Daha geniş bir hasta ve kontrol grubu ile çalışıldığında GG genotipine sahip olmanın Alzheimer Hastalığı için koruyucu bir faktör olup olmayacağı araştırılabilir, istatistiksel açıdan anlamlı bir p değerine ulaşılabilir.

Alzheimer hastalığına veya diğer nörolojik hastalıklardan birine yatkınlıkta PSMD9 geni rs14259 polimorfizminin etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız bu anlamda literatürdeki ilk çalışma olma niteliindedir. Seçtiğimiz örneklem sonucunda çalışmamızda Alzheimer Hastalığı'na yatkınlıkta rolü olmadığı sonucuna varmaktayız. Beklenenin aksine bahsi geçen SNP varyantının Alzheimer Hastalığı'nda koruyucu bir etkiye sahip olup olmadığını anlamak için daha geniş bir örneklem grubuyla ve farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalara ihtiyaç vardır.

Hasta ve kontrollerin allel dağılım yüzdeleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık yakalanamamıştır. Grup allel dağılımları yaklaşık değerlere sahiptir. Her iki grupta heterozigot genotipe sahip bireyler çoğunluktadır ve bu bireyler allel dağılım sınıflaması yapıldığında her iki grupta yer almaktadır.

Bilişsel performansı değerlendiren MMDT ortalamaları Alzheimer hastalarında genotip gruplamasına göre karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlılık ifade etmesede AG genotipine sahip bireylerde daha yüksek olup her iki genotip grup değerleri orta evre demans ile uyumludur. MMDT puanının yüksek olması demans derecesinin düştüğünü ifade etmektedir. Global evrelendirme skalalarından biri olan CDR testi Alzheimer hastalarında uygulanmış olup genotip sınıflandırmasına göre CDR evrelemesi sonuçları karşılaştırılmıştır. Yabanıl homozigot genotipe sahip bireylerle heterozigot genotipe sahip bireylerin CDR sonuçları benzerdir ve istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık yoktur.

Çalışmamızın en büyük kısıtlılığı hasta ve kontrol sayısının Türk popülasyonunu ifade edecek ölçüde geniş olmamasıdır. Daha geniş bir hasta popülasyonu ile çalışılması durumunda PSMD9 genine ait rs14259 varyantının Alzheimer hastalığına olan etkisi ve etyolojisindeki rolü aydınlatılabilir.

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların tanısı NINCDS-ADRDA kriterlerine göre konulmuştur ve tanı konulmadan önce tüm hastaların kranial görüntülemeleri yapılmıştır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın amacı T2DM ile ilişkisi yapılan çalışmalarla gösterilmiş olan PSMD9 geninin Alzheimer Hastalığı'nda SNP profillemesini yaparak genetik risk faktörü oluşturma ihtimalini belirlemektir. Ayrıca hedeflerimizden biri AH'da erken teşhis koyabilmek adına PSMD9 geni rs14259 varyantının yeni bir biyobelirteç olabilme durumunu araştırmaktır. Daha önce Tip 2 diyabet, hipertansiyon, nöropati, nefropati, mikrovasküler ve makrovasküler patoloji ile ilişkisi gösterilmiş PSMD9 geni rs14259 polimorfizmi ile AH arasında bir ilişki bulunamamıştır. Çalışmamızda koleksiyon kan materyali kullanıldığı için kontrol grubuna MMDT testi uygulanamamıştır ve iki grup istatistiksel olarak karşılaştırılamamıştır. Çalışmanın daha büyük bir örneklem grubuyla yapılması literatürdeki boşluğun doldurulması için büyük önem taşımaktadır.

## 7.KAYNAKLAR

- AKIYAMA H, BARGER S, BAMUM S, BRADT B, BAUER J, COLE GM, COOPER NR, EIKELBOOM P, EMMERLING M, FIEBICH BL, FINCH CE, FRAUTSCHY S, GRIFFIN WS, HAMPEL H, HULL M, LANDRETH G, LUE L, MRAK R, MACKENZIE IR, MCGEER PL, O'BANION MK, PACTER J, PASINETTI G, PLATA-SALAMAN C, ROGERS J, RYDEL R, SHEN Y, STREIT W, STROHMEYER R, TOOYOMA I, VAN MUISWINKEL FL, VEERHUIS R, WALKER D, WEBSTER S, WEGRZYNIAK B, WENK G, WYSS-CORAY T. (2000). Inflammation and Alzheimer's Disease. *Neurobiol Aging*. 21;3:383-421.
- ARVANITAKIS Z, WILSON RS, BIENIAS JL, EVANS DA, BENNETT DA. (2004). Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and decline in cognitive function. *Arch Neurol*. 61:661-666
- BHAT RV, BUDD HAEBERLEIN SL, AVILA J. (2004). Glycogen synthase kinase 3: a drug target for CNS therapies. *J Neurochem*. 89: 1313-1317.
- BUEE L, BUSSIERE T, SCHERRER BV, DELACOURTE A, HOFER P. (2000). Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Brain Res Rev*. 33;1:95-130
- BALLATORE C, LEE Y, VIRGINIA M, TROJANOWSKI QJ. (2007). Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. *Nature Reviews Neuroscience*. 8:663-672
- BIESSELS GJ, DE LEEUW FE, LINDEBOOM J, BARKHOF F, SCHELTENS P. (2006). Increased cortical atrophy in patients with Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 77:304-307.
- BONET CV, POMATTO CDL, DAVIES K. (2016). The Proteasome and Oxidative Stress in Alzheimer's Disease. *Antioxidants&Redox Signalling*. 25;16
- BRAAK H, BRAAK E. (1997). Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol Aging*. 18:351.
- BREUSING N, GRUNE T. (2008). Regulation of proteasome-mediated protein degradation during oxidative stress and aging. *Biol Chem*. 389;3:203-9
- CARRO E, TORRES-ALEMAN I. (2004). The role of insulin and insulin-like growth factor I in the molecular and cellular mechanisms underlying the pathology of Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol*. 490:127-133.
- CHAU V, TOBIAS JW, BACHMAIR A, MARRIOTT D, ECKER DJ, GONDA DK, VARSHAVSKY A. (1989). A multiubiquitin chain is confined to specific lysine in a targeted short-lived protein. *Science*. 243;4898:1576-1583
- CHECLER F, COSTA DA ALVES C, ANCOLIO K, CHEVALLIER N, PEREZ-LOPEZ E, MARAMBAUD P. (2000). Role of the proteasome in Alzheimer's disease. *Molecular Basis of Disease*. 1502;1:133-138.
- CIECHANOVER A. (1994). The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway. *Cell*. 79;1:13-21
- COLE SL, GRUDZIAN A, MANHART IO, KELLY BL, OAKLEY H, VASSAR R. (2005). Statins cause intracellular accumulation of amyloid precursor protein, beta-secretase-cleaved fragments, and amyloid beta-peptide via an isoprenoid-dependent mechanism. *J Biol Chem*. 280:18755-18770.
- DARREL AR, EMILY AK, DAVID JK. (2013). The DSM-5: Classification and criteria changes. *World Psychiatry*. 12;2:92-98.
- DE LA MONTE SM, WANDS JR. (2002). Chronic gestational exposure to ethanol impairs insulin-stimulated survival and mitochondrial function in cerebellar neurons. *Cell Mol Life Sci*. 59:882-893.

- DE LA MONTE SM. (2014). Type 3 Diabetes is Sporadic Alzheimer's disease:Mini-Review. *Eur Neuropsychopharmacol.* 24;12:1954-1960
- DE LA MONTE SM, WANDS JR. (2005). Review of insulin and insulin-like growth factor expression, signaling, and malfunction in the central nervous system: relevance to Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 7;1:45-61.
- DE LA MONTE SM, LONGATO L, TONG M, WANDS JR. (2009). Insulin resistance and neurodegeneration: roles of obesity, type 2 diabetes mellitus and non-alcoholic steatohepatitis. *Curr Opin Investig Drugs.* 10;10:1049-60.
- DE LA MONTE SM, CHEN GJ, RIVERA E, WANDS JR. (2003). Neuronal thread protein regulation and interaction with microtubule-associated proteins in SH-Sy5y neuronal cells. *Cell Mol Life Sci.* 60:2679–2691.
- DE LA MONTE SM, TONG M, BOWLING N, MOSKAL P. (2011). si-RNA inhibition of brain insulin or insulin-like growth factor receptors causes developmental cerebellar abnormalities: relevance to fetal alcohol spectrum disorder. *Mol Brain.* 4:13.
- DE NAZARETH AM. (2017). Type 2 diabetes mellitus in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Dement Neuropsychol.* 11;2:105-113.
- DOS SANTOS PLC, OZELA PF, DE FATIMA DE BRITO BRITO M, PINHEIRO AA, PADILHA EC, BRAGA FS, DE PAULA DA SILVA CHT, DOS SANTOS CBR, ROSA JMC, DA SILVA HAGAMELIM LI. (2018). Alzheimer's Disease: A Review from the Pathophysiology to Diagnosis, New Perspectives for Pharmacological Treatment. *Curr Med Chem.* 25;26:3141-3159
- EKER E. (2008) Alzheimer Hastalığı. *Türkiye'de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar sempozyum dizisi.* 62:85-110
- FERRI CP, PRINCE M, BRAYNE C, BRODATY H, FRATIGLIONI L, GANGULI M, HALL K, HASEGAWA K, HENDRIE H, HUANG Y, JORM A, MATHERS C, MENEZES PR, RIMMER E, SCAZUFSA M; Alzheimer's Disease International. (2005). Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet.* 17;366(9503):2112-7.
- FOLSTEIN FM, FOLSTEIN ES, MCHUGH RP. (1975). 'Mini Mental State' A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiat Res.* 12:189-198.
- FROLICH L, BLUM-DEGEN D, BERNSTEIN HG, ENGELSBERGER S, HUMRICH J, LAUFER S, MUSCHNER D, THALHEIMER A, TURK A, HOYER S, ZOCHLING R, BOISSLS KW, JELLINGER K, RIEDERER P. (1998). Brain insulin and insulin receptors in aging and sporadic Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 105: 423–438.
- FUJII D, BRISSENDEN JE, DERYNCK R, FRANCKE U. (1986). Transforming growth factor beta gene maps to human chromosome 19 long arm and to mouse chromosome 7. *Somat. Cell Mol Genet.* 12:281–288
- GAO X, HU H. (2008). Quality control of the proteins associated with neurodegenerative diseases. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica.* 40;7:612-618.
- GASPARINI L, GOURAS GK, WANG R, GROSS RS, BEAL MF, GREENGARD P, XU H. (2001). Stimulation of beta-amyloid precursor protein trafficking by insulin reduces intraneuronal beta-amyloid and requires mitogen-activated protein kinase signaling. *J Neurosci.* 21:2561–2570.
- GASPARINI L, XU H. (2003). Potential roles of insulin and IGF-1 in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci.* 26: 404–406.
- GIBSON GE, SHEU KFR, BLASS JP. (1998). Abnormalities of mitochondrial enzymes in Alzheimer disease. *Journal of Neural Transmission.* 105(8-9);855-870.



- GILBERT RE, COX A, WU LL, ALLEN TJ, HULTHEN UL, JERUMS G, COOPER ME. (1998). Expression of transforming growth factor-beta1 and type IV collagen in the renal tubulointerstitium in experimental diabetes: effects of ACE inhibition. *Diabetes*. 47:414-422.
- GISPEN WH, BIESSELS GJ. (2000). Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends Neurosci*. 23: 542-549.
- GOMES VA. (2013). Genetics of Proteasome Diseases. *Scientifica*. 2013:1-30
- GRAGNOLÌ C, CRONSELL J. (2007). PSMD9 gene variants within NIDDM2 may rarely contribute to type 2 diabetes. *Journal of Cellular Physiology*. 212;3:568-571
- GRAGNOLÌ C. (2009) PSMD9 gene in the NIDDM2 locus is linked to type 2 diabetes in Italians. *Journal of Cellular Physiology*. 222;2:265-267
- GRAGNOLÌ C. (2010). PSMD9 is linked to MODY3. *Journal of Cellular Physiology*. 223;1:1-5
- GRAGNOLÌ C. (2011). PSMD9 is linked to type 2 diabetes neuropathy. *Journal of Diabetes and its Complications*. 25;5:329-331
- Gragnoli C. (2011) Hypercholesterolemia and a candidate gene within the 12q24 locus. *Cardiovascular Diabetology*. 10;1:38
- GRAGNOLÌ C. (2011). T2D-nephropathy linkage within 12q24 locus. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 92;3:73-75
- GREGORI L, HAINFELD JF, SIMON MN, GOLDGABER D.(1997) Binding of amyloid beta protein to the 20 S proteasome. *J Biol Chem*. 272;1:58-62
- GUILLERMO MA, NOGA GE, ERAN P, FRANCISKOS CB. (2015) Neurodegeneration and Alzheimer's disease (AD). What Can Proteomics Tell Us About the Alzheimer's Brain?. *Mol Cell Proteomics*. 15;2:409-425.
- GUY MM, DAVID SK, HOWARS C, BRADLEY TH, CLIFFORD RJ, CLAUDIA HK, WILLIAM EK, WALTER JK, JENNIFER JM, RICHARD M, RICHARD CM, JOHN CM, MARTIN NR, PHILIP S, MARIA CC, BILL T, SANDRA W, CREIGHTON HP. (2011). The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 7;3:263-269.
- HAAN MN. (2006). Therapy Insight: type 2 diabetes mellitus and the risk of late-onset Alzheimer's disease. *Nat Clin Pract Neurol*. 2(3):159-66.
- HAO H, HAAS MJ, WU R, GRAGNOLÌ C. (2015). T2D and Depression Risk Gene Proteasome Modulator 9 is Linked to Insomnia. *Sci Rep*. 13;5:12032.
- HAVRANKOVA J, BROWNSTEIN M, ROTH J. (1981). Insulin and insulin receptors in rodent brain. *Diabetologia Suppl*. 20:268-273.
- HEGDE AN, GOLDBERG AL, SCHWARTZ JH. (1993). Regulatory subunits of cAMP-dependent protein kinases are degraded after conjugation to ubiquitin: A molecular mechanism underlying long-term synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90:7436-7440
- HOPPER LJ, BEGUM N, SMITH L, HUGHES AT. (2015). The role of PSMD9 in human disease: future clinical and therapeutic implications. *AIMS Molecular Science*. 2;4:476-484
- HUGHES CP, BERG L, DANZIGER WL, COBEN LA, MARTIN RL. (1982). A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiatry*. 140:566-72

- IQBAL K, LIU F, GONG CX, GRUNDKE II. (2010). Tau in Alzheimer Disease and Related Tauopathies. *Current Alzheimer Research*. 7;8:656-664.
- JANSON J, LAEDTKE T, PARISI JE, O'BRIEN P, PETERSEN RC, BUTTER PC. (2004). Increased Risk of Type 2 Diabetes in Alzheimer Disease. *Diabetes*. 53;2:474-81
- JELLINGER KA. (2006). Alzheimer 100 – highlights in the history of Alzheimer research. *J Neural Transm*. 113:1603–1623.
- KECK S, NITSCH R, GRUNE T, ULLRICH O. (2003). Proteasome inhibition by paired helical filament-tau in brains of patients with Alzheimer's disease. *J Neurochem*.85;1:115-22
- KELLER JN, HANNI KB, MARKESBERY WR.(2000) Impaired proteasome function in Alzheimer's disease. *J Neurochem*.75:436–439.
- KIMURA N. (2016). Diabetes Mellitus Induces Alzheimer's Disease Pathology: Histopathological Evidence from Animal Models. *International Journal of Molecular Sciences*.17;4:503
- KNOPMAN DS, DEKOSKY ST, CUMMINGS JL, CHUÏT H, COREY-BLOOM J, RELKIN N, SMALL GW, MILLER B, STEVENS JC. (2001). Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review). *American Academy of Neurology*. 56:1143–53.
- LAM YA, PICKART CM, ALBAN A, LANDON M, JAMIESON C, RAMAGE R, MAYER RJ, LAYFIELD R. (2000). Inhibition of the ubiquitin-proteasome system in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 97;18:9902-6
- LEIBSON CL, ROCCA WA, HANSON VA, CHA R, KOKMEN E, O'BRIEN PC, PALUMBO PJ. (1997). Risk of dementia among persons with diabetes mellitus: a population-based cohort study. *Am J Epidemiol*. 145: 301–308.
- LI L, HOLSCHER C. (2007). Common pathological processes in Alzheimer disease and type 2 diabetes: A review. *Brain Research Reviews*. 56;2:384-402
- LING X, MARTINS RN, RACCHI M, CRAFT S, HELMERHORST E. (2002). Amyloid beta antagonizes insulin promoted secretion of the amyloid beta protein precursor. *J Alzheimers Dis*. 4:369–374.
- LIU Y, TEIGE I, BIRNIR B, ISSAZADEH-NAVIKAS S. (2006). Neuron-mediated generation of regulatory T cells from encephalitogenic T cells suppresses EAE. *Nat Med*. 12: 518–525.
- LUCHSINGER J, REITZ C, HONIG SL, TANG MX, SHEA S, MAYEUX R. (2005). Aggregation of Vascular Risk Factors and Risk of Incident Alzheimer's Disease. *Neurology*. 65;4:545-551.
- MANDELKOW EM, STAMER K, VOGEL R, THIES E, MANDELKOW E. (2003). Clogging of axons by tau, inhibition of axonal traffic and starvation of synapses. *Neurobiol Aging*. 24:1079–1085.
- MCKHANN G, DRACHMAN D, FOLSTEIN M, KATZMAN R, PRICE D, STADLAN EM. (1984). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. 34:939–44.
- MOHANTY S, SPINAS GA, MAEDLER K, ZUELLIG RA, LEHMANN R, DONATH MY, TRUB T, NIESSEN M. (2005). Overexpression of IRS2 in isolated pancreatic islets causes proliferation and protects human beta-cells from hyperglycemia-induced apoptosis. *Exp Cell Res*. 303: 68–78.
- MUCHOWSKI JP, WACKER LJ. (2005) Modulation of neurodegeneration by molecular chaperones. *Nature Reviews Neuroscience*. 6:11-22
- NELSON TP, ALAFUZOFF I, BIGIO HE, BOURAS C, BRAAK H, CAIRNS JN, FRCPATH, CASTELLANI JR, CRAIN JB, DAVIES P, TREDICI DK, DUYCKAERTS C, FROSC MP, HAROUTUNIAN V, HOF PR, HULETTE CM, HYMAN BT, IWATSUBO T, JELLINGER KA, JICHA GA, KOVARI E, KUKULL WA, LEVERENZ JB, LOVE S, MACKANZIE IR, MANN DM, MASLIAH

- E, MCKEE AC, MONTINE TJ, MORRIS JC, SCHNEIDER JA, SONNEN JA, THAL DR, TROJANOWSKI JQ, TRONCOSO JC, WISNIEWSKI T, WOLTJER RL, BEACH TG. (2012). Correlation of Alzheimer Disease Neuropathologic Changes With Cognitive Status: A Review of the Literature. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 71;5:362-381
- NELSON TJ, ALKON DL. (2005) Insulin and cholesterol pathways in neuronal function, memory and neurodegeneration. *Biochem Soc Trans*. 33:1033–1036.
- NEWMAN EN, HOLMES RK, CRAIG HM, KLEIN KC, LINGAPPA JR, MALIM MH, SHEEHY AM. (2005). Antiviral function of APOBEC3G can be dissociated from cytidine deaminase activity. *Curr Biol*. 15;2:166-70.
- ODDO S. (2008). The ubiquitin-proteasome system in Alzheimer's disease. *J Cell Mol Med*. 12;2:363-73
- OH S, HONG SH, HWANG E, SIM JH, LEE W, SHIN JS, JUNG-MOOK I. (2005). Amyloid peptide attenuates the proteasome activity in neuronal cells. *Mechanisms of Ageing and Development*. 126;12:1292-1299
- OLZMANN JA, LI L, CHIN LS. (2008). Aggresome formation and neurodegenerative diseases: therapeutic implications. *Curr Med Chem*. 15(1):47-60.
- OZTURK GB, KARAN MA. (2009). Alzheimer Hastalığının Fیزیopatolojisi. *Klinik gelişim*. 22:32-46.
- PERRY G, FRIEDMAN R, SHAW G, CHAU V. (1987). Ubiquitin is detected in neurofibrillary tangles and senile plaque neurites of Alzheimer disease brains. *Proc Natl Acad Sci USA*. 84: 3033–3036.
- PRICE JL, DAVIS PB, MORRIS JC, WHITE DL. (1991). The distribution of tangles, plaques and related immunohistochemical markers in healthy aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 12(4):295-312
- PRINCE M, ALBANESE E, GUERCHET M, PRINA M. (2014). World Alzheimer Report 2014: Dementia and Risk Reduction an Analysis of Protective and Modifiable Factors.
- PROBST A, BRUNNSCHWEILER H, LAUTENSCHLAGER C. (1987). A special type of senile plaque, possibly an initial stage. *Acta Neuropathol*. 74:133-141.
- QIU JH, ASAI A, CHI S, SAITO N, HAMADA H, KIRINO T. (2000). Proteasome inhibitors induce cytochrome c-caspase-3-like protease-mediated apoptosis in cultured neurons. *J Neurosci*. 20:259–265.
- REDDY HP. (2005). Amyloid precursor protein-mediated free radicals and oxidative damage: Implications for the development and progression of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*. 96;1:1-13.
- REITZ C , MAYEUX R. (2014). Alzheimer disease: Epidemiology, Diagnostic Criteria, Risk Factors and Biomarkers. *Biochem Pharmacol*. 88;4:640-651
- REINHECKEL T, SITTE N, ULLRICH O, KUCKELKORN U, DAVIES JAK, GRUNE T. (1998). Comparative resistance of the 20S and 26S proteasome to oxidative stress. *Biochem J*. 335:637-642.
- RIEDERER MB, LEUBA G, VERNAY A, RIEDERER MI. (2011). The role of the ubiquitin proteasome system in Alzheimer's disease. *Exp Biol Med*. 236;3:268-276.
- RIVERA EJ, GOLDIN A, FULMER N, TAVARES R, WANDS JR, DE LA MONTE SM. (2005). Insulin and insulin-like growth factor expression and function deteriorate with progression of Alzheimer's disease: link to brain reductions in acetylcholine. *J Alzheimers Dis*. 8:247–268.
- SAHU I, SANGITH N, RAMTEKE M, GADRE R, VENKATRAMAN P. (2014). A novel role for the proteasomal chaperone PSMD9 and hnRNPA1 in enhancing IκBα degradation and NF-κB activation – functional relevance of predicted PDZ domain–motif interaction. *FEBS Journal*. 281:2688-2709

SANGITH N, SRINIVASARAGHAVAN K, SAHU I, DESAI A, MEDIPALLY S, SOMAVARAPPU KA, VERMA C, VENKATRAMAN P. (2014). Discovery of novel interacting partners of PSMD9, a proteasomal chaperone: Role of an Atypical and versatile PDZ-domain motif interaction and identification of putative functional modules. *FEBS Open Bio*. 4:571-583

SCHUBERT M, GAUTAM D, SURJO D, UEKI K, BAUDLER S, SCHUBERT D, KONDO T, ALBER J, GALLDIKS N, KUSTERMAN E, ARNDT S, JACOBS AH, KRONE W, KAHN CR, BRUNING JC. (2004). Role for neuronal insulin resistance in neurodegenerative diseases. *Proc Natl Acad Sci USA*. 101: 3100–3105.

SCHEUNER D, ECKMAN C, JENSEN M, SONG X, CITRON M, SUZUKI N, BIRD TD, HARDY J, HUTTON M, KUKULL W, LARSON E, LEVYL AHAD E, VIITANEN M, PESKIND E, POORKAJ P, SCHELLENBERG G, TANZI R, WASCO W, LANNFELT L, SELKOE D, YOUNKIN S. (1996). Secreted amyloid betaprotein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nat Med*. 2: 864–70.

SERRANO-POZO A, FROSCHE MP, MASLIAH E, HYMAN BT. (2011). Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 1;1

SIRK D, ZHU Z, WADIA SJ, SHULYAKOVA N, PHAN N, FONG J, MILLS RL. (2007). Chronic exposure to sub-lethal beta-amyloid (A $\beta$ ) inhibits the import of nuclear-encoded proteins to mitochondria in differentiated PC12 cells. *Journal of Neurochemistry*. 103;5:1989-2000

SMITH MC, FRCP SM. (1978) Possible biochemical basis of memory disorder in Alzheimer disease. *Annals of Neurology*. 3;6:471-473

SONG S, KIM SY, HONG YM, JO DG, LEE JY, SHIM SM, CHUNG CW, SEO SJ, YOO YJ, KOH JY, LEE MC, YATES AJ, ICHIJO H, JUNG YK. (2003). Essential role of E2-25K/Hip-2 in mediating amyloid-beta neurotoxicity. *Mol Cell*. 12;3:553-63

SUDARSHAN CU, HEGDE NA. (2007). Role of the ubiquitin proteasome system in Alzheimer's disease. *BMC Biochemistry*. 8;1:12

TERRY DR, MASLIAH E, SALMON PD, BUTTERS N, DE TERESA R, HILL R, HANSEN AL, ROBERT K. (1991). Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: Synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Annals of Neurology*.30;4:572-580

THOMAS MK, YAO KM, TENSER MS, WONG GG, HABENER JF. (1999). Bridge-1, a novel PDZ-domain coactivator of E2A-mediated regulation of insulin gene transcription. *Mol Cell Biol*. 19;12:8492-504.

TSENG BP, GREEN KN, CHAN JL, BLURTON-JONES M, LAFERLA FM. (2008). Abeta inhibits the proteasome and enhances amyloid and tau accumulation. *Neurobiol Aging*. 29;11:1607-18

TYSOE C, WHITTAKER J, CAIRNS NJ, ATKINSON PF, HARRINGTON CR, XUEREB J, WILCOCK G, RUBINSZTEIN DC. (1997). Presenilin-1 intron 8 polymorphism is not associated with autopsy-confirmed late-onset Alzheimer's Disease. *Neuroscience Letter*. 222;1: 68-9.

VOLINIC LJ, LEE HJ, ETO K, KAUR V, THOMAS KM. (2006). Overexpression of the Coactivator Bridge-1 Results in Insulin Deficiency and Diabetes. *Molecular Endocrinology*.20;1:167-182

WATSON GS, CRAFT S. (2004). Modulation of memory by insulin and glucose: neuropsychological observations in Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol*. 490, 97–113.

WELLS JC, KEYL PM, CHASE GA, ABORAYA A, FOLSTEIN MF, ANTHONY JC. (1992). Discriminant validity of a reduced set of Mini-Mental State Examination items for dementia and Alzheimer's disease. *Acta Psychiatrica Scandinavica*.86;1:23-31.

World Alzheimer Report 2015 [alz.co.uk/research/world-report-2015](http://alz.co.uk/research/world-report-2015) (Accessed May 02, 2016)

- YAN Q, ZHANG J, LIU H, BABU KS, VASSAR R, BIERE AL, CITRON M, LANDRETH G. (2003). Anti-inflammatory drug therapy alters beta-amyloid processing and deposition in an animal model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 23: 7504–7509
- YATES D, MCLOUGHLIN DM. (2008). The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Psychiatry.* 7;1:1-5
- YENER S, DEMIR T, AKINCI B, BAYRAKTAR F, KEBAPCILAR L, OZCAN MA, BIBEROGLU S, YESIL S. (2007). Transforming growth factor-beta 1 levels in women with prior history of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 76:193–198.
- YIN F, SANCHETI H, PATIL I, CADENAS E. (2000). Energy metabolism and inflammation in brain aging and Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine.* 100:108-122.
- ZHAO AZ, SHINOHARA MM, HUANG D, SHIMIZU M, ELDAR-FINKELMAN H, KREBS EG, BEAVO JA, BORNFELDT KE. (2000). Leptin induces insulin-like signaling that antagonizes cAMP elevation by glucagon in hepatocytes. *J Biol Chem.* 275: 11348–11354.
- ZOUAMBIA M, FISCHER FD, HOBBO B, DE VOS IAR, HOL ME, VARNDELL MI, SHEPPARD WP, LEEUWEN VWF. (2008). Proteasome subunit proteins and neuropathology in tauopathies and synucleinopathies: Consequences for proteomic analyses. *Cell Biology.* 8;6:1221-1236.

## **EK 2. ÖZGEÇMİŞ**

**Yağmur ÖZER**

### **KİŞİSEL BİLGİLER**

---

Adres: Fulya Mah. Kozacık Sok. Apt No:5/1 K:2 D:7 Şişli/İSTANBUL

İletişim(Telefon/e-posta): 0 542 597 53 94 / [yagmuroozer@gmail.com](mailto:yagmuroozer@gmail.com)

Doğum Tarihi ve Yeri: 01.01.1994/ ÇANAKKALE

Yabancı Dil: İngilizce / Orta

### **EĞİTİM**

---

- 2017 - Üsküdar Üniversitesi, Nörobilim Yüksek Lisans
- 2015-2013 Hacettepe Üniversitesi, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon
- 2013-2011 İstanbul Arel Üniversitesi, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon
- 2011-2007 Gelibolu Cumhuriyet Anadolu Lisesi

### **İŞ DENEYİMİ**

---

2016- Halen V.K.V Amerikan Hastanesi / Fizyoterapist

### **YAYINLAR**

---

### **KATILDIĞI KURS VE SEMİNERLER**

---

- 2019 Schroth 3 Boyutlu Skolyoz Terapisi Eğitimi- Asklepios Katharina  
Schroth Skolyoz Kliniği- Bad Sobernheim, Almanya
- 2017 APPI Modifiye Pilates Eğitimi Seviye 1 , İstanbul
- 2017 Temel Hücre Kültürü Teknikleri ve Primer Nöron Kültürü Kursu  
İstanbul Üniversitesi
- 2017 Teorik ve Uygulamalı Nörogenetik Kursu- İstanbul Üniversitesi



T.C.  
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ  
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR  
ETİK KURULU BAŞKANLIĞI

SAYI: B.08.6.YÖK.2.ÜS.0.05.0.06 /2017/369

25/01/2018

Yrd.Doç.Dr.Belkıs ATASEVER ARSLAN  
(Yağmur ÖZER)

Üsküdar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulunun 22/01/2018 tarihinde yapılan 01 No.lu toplantısında “Alzheimer Hastalığında PSMD 9 Gen Polimorfizmi” adlı araştırma projenizin etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Doç. Dr. Cumhuri TAŞ  
Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik  
Kurulu Başkanı

