



T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖROBİLİM ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALZHEİMER HASTALIĞI İLE APOLİPOPROTEİN E
GENOTİPLEMESİ ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

Hatice GAZİOĞLU

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Muhsin KONUK

İSTANBUL – 2017

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖROBİLİM ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ALZHEİMER HASTALIĞI İLE APOLİPOPROTEİN E
GENOTİPLEMESİ ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA**

Hatice GAZİOĞLU

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Muhsin KONUK**

İSTANBUL – 2017

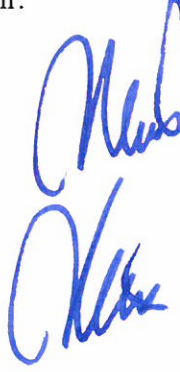
TEZ ONAY

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

Anabilim Dalı : Nörobilim Anabilim Dalı
Program : Nörobilim Tezli Yüksek Lisans
Öğrenci No : 154202001
Öğrenci Adı Soyadı : Hatice GAZİOĞLU

“Alzheimer Hastalığı ile Apolipoprotein E Genotiplemeşi üzerine bir çalışma”
konulu araştırma aşağıdaki jüri tarafından 25.09.2017 tarihinde yapılan sınavda Yüksek
Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Muhsin KONUK
(Üsküdar Üniversitesi)



Danışman : Prof. Dr. Muhsin KONUK
(Üsküdar Üniversitesi)

Üye : Doç. Dr. Korkut Ulucan
(Marmara Üniversitesi)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Mesut KARAHAN
(Üsküdar Üniversitesi)



ONAY

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

**Prof.Dr.Nilgün SARP
Enstitü Müdürü**

ÖZET

Alzheimer Hastalığı (AH); merkezi sinir sisteminin (MSS) çeşitli bölümlerinde sinaps ve nöron kayıplarına neden olarak; bilişsel işlevlerde yetersizlik, bir takım nöropsikatrik ve davranışsal bozukluklar ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. AH en sık görülen demans türü olup, tüm demans vakalarının %60-80'ini oluşturmaktadır. Hastalığın başlangıç yaşına bağlı olarak; 65 yaş altı ortaya çıkan vakalar için erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı (EBAH), 65 yaş sonrası görülen vakalar için geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı (GBAH) olarak tanımlama yapılmaktadır. Alzheimer vakalarının %1-5'ini EBAH oluşturmakta iken GBAH vakaların %95'iden sorumludur. AH karmaşık bir genetik yapıya sahiptir. AH'nin genetik altyapısında yer aldığı tahmin edilen dört lokus tanımlanmıştır. Bunlar, EBAH'a yol açan otozomal dominant geçişli ailesel AH için üç farklı gende mutasyon varlığı tespit edilmiştir. Bunlar; 21 numaralı kromozomda amiloid prekürsör protein (APP), 14'üncü kromozomda presenilin 1 (PSEN1) ve 1. kromozomda presenilin 2 (PSEN2) olarak tanımlanan üç gen ve GBAH için genel kabul gören tek risk faktörü olan 19. Kromozomda bulunan apolipoprotein $\epsilon 4$, hastalığın genetik riskini açıklamakta yardımcı olmaktadır. AH için yapılan genom çapında ki birçok çalışma sonrasında çok sayıda risk geni belirlenmiş olsa da bunların hiçbiri GBAH için bulunan ilk risk geni olan Apolipoprotein E (*APOE*)'de yer alan polimorfizmin sunduğu risk düzeyine yaklaşamamıştır.

Bu çalışmada, muhtemel AH tanısı konulmuş 16 bireyde bulunan *APOE* geninin $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ allelleri için rs429358 ve rs7412 polimorfizmleri PCR ve Dizi Analizi yapılarak taranmış ve *APOE* $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları belirlenmiştir. *APOE* allel frekanslarının cinsiyete göre dağılımları istatistiksel açıdan değerlendirilmiş ve anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). Hasta grubu ile yaptığımız bu çalışmada $\epsilon 3/\epsilon 4$ polimorfizmlerine literatürü destekler nitelikte bir oranda rastlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer Hastalığı, *APOE*, PCR, DNA Dizi Analizi, Biyobelirteç

ABSTRACT

Alzheimer's Disease (AD) is a neuro-degenerative disease leading to synapse and neuron losses on various parts of central nervous system (CNS) and characterised by deficiency on cognitive functions, a number of neuropsychiatric and behavioral disorders. As the most frequent type of dementia, AD constitutes 60-80 percent of all dementia cases. Depending on age disease onset, it is defined as Early Onset Alzheimer's Disease (EOAD) for cases occurring under the age of 65 and Late Onset Alzheimer's Disease (LOAD) for cases seen above the age of 65. While EOAD constitutes 1-5 percent of Alzheimer cases, LOAD accounts for 95 percent of the cases. AD holds a complex genetic structure. It describes four locuses estimated as being in genetic infrastructure of AD. Three different genes are set as mutants for familial AD with an autosomal dominant inheritance pattern resulting in EOAD. These help to explain genetic risk of the disease: three genes described as amyloid precursor protein (APP) on chromosome 21, presenilin 1 (PSEN1) on chromosome 14 and presenilin 2 (PSEN2) on chromosome 1 and apolipoprotein $\epsilon 4$ on chromosome 19 as generally acceptable sole risk factor for LOAD. Although a large number of risk genes are set after numerous genome-wide association studies in AD, none of them come up to the risk level performed by polymorphism that appears in Apolipoprotein E (*APOE*), the first risk gene found for LOAD.

In this study, for $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ alleles of *APOE* gene in 16 individuals who diagnosed with prospective AD, were tested by PCR and DNA sequence analysis for their rs429358 and rs7412 polymorphisms. Their genotypes and allele frequencies for *APOE* $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, and $\epsilon 4$ polymorphisms were settled. Distribution *APOE* allele frequencies by gender was estimated and a statistically significant difference was not found ($p > 0.05$). This study showed that $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ polymorphisms in the patient group, are at a rate of similarity with the literature.

Key words: Alzheimer's Disease, *APOE*, PCR, DNA Sequence Analysis, Biomarker.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimin boyunca bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren, deneyimi, hoşgörüsü ve sabrıyla bana yol gösteren ve hiçbir desteğini esirgemeyen değerli danışmanım Sn. Prof. Dr. Muhsin KONUK'a,

Tezimin başlangıcından sonuna kadar sabrı, güler yüzü ve her türlü yardımları için Sn. Doç. Dr. Korkut ULUCAN'a,

Tezim için gerekli kan örneklerinin temininde yardımseverliğini unutmayacağım Sn. Uzm. Dr. Levent DÜLGEROĞLU'na

Laboratuvar çalışmalarım ve tez yazım aşamasında yardımcı olan Canan SERCAN, Sezgin KAPICI, İpek YÜKSEL ve İrem GÜNEŐ'e,

Motivasyon kaynağım, dostluğu ve yardımseverliği ile her zaman yanımda olan, fikir darlığına düşmemi engelleyen sevgili arkadaşım Elif SAKIZ'a,

Yüksek lisans eğitimin boyunca, bilgi ve tecrübelerini paylaşan bütün hocalarıma;

Sonsuz sevgilerimi ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

Hatice GAZİOĞLU

BEYAN

Bu çalışmanın kendi tez çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

25.09.2017

Hatice GAZİOĞLU



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
BEYAN.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Demans ve Alzheimer Hastalığı.....	3
2.2. Alzheimer Hastalığı'nın Epidemiyolojisi	5
2.3. Alzheimer Hastalığı'nın Nöropatolojisi ve Patogenezi.....	7
2.3.1. Nörofibriler yumaklar (NFY)	8
2.3.2. Amiloid plaklar (AP).....	8
2.4 Alzheimer Hastalığı Tanı Kriterleri	9
2.5 Alzheimer Hastalığı'nın Klinik Özellikleri.....	10
2.6. Alzheimer Hastalığı'nın Genetiği	12
2.7. Alzheimer Hastalığı'nın Risk Faktörleri.....	13
2.7.1. Yaş.....	14
2.7.2. Aile öyküsü.....	14
2.7.3. Alzheimer ve Diğer Demansların Prevalansında Kadınlar ve Erkekler Arasındaki Farklar	14
2.7.4. Eğitim Düzeyi.....	15
2.8. APOE-ε4 Geni.....	16
2.8.1. Alzheimer Hastalığı'nda Apo-E İzofomlarının Mekanizması	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	20
3.1. Etik Koşullar	20
3.2. Kan Örneklerinin Toplanması.....	20
3.3. Kandan Genomik DNA İzolasyonu	20

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	21
3.4.1.APOE Geni Allellerinin PZR İle Çoğaltılması	22
3.5. DNA Dizi Analizi	23
3.6. Verilerin İstatiksel Analizi	24
4. BULGULAR.....	25
4.1. APOE Geni $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ Polimorfizmlerinin Genotip ve Allel Frekansı.....	26
4.2. APOE Geni rs7412 ve rs429358 polimorfizmlerinin Dizi Analizi Kromatogramları	27
5. TARTIŞMA	29
5.1 APOE Geni $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ Polimorfizmleri ile Alzheimer Hastalığı'nın İlişkisi.....	29
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	32
KAYNAKLAR	33
EKLER.....	36
Ek 1. Etik Kurul Kararı	36
Ek 2. Özgeçmiş	37

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. Tipik Yaş Bağı Değişikliklerle Mukayese Edilen Alzheimer veya Diğer Demans Belirtileri	4-5
Tablo 2.2. Alzheimer Hastalığı Prevalens Oranları	5
Tablo 2.3. 2000 ile 2014 Yılları Arasında Seçilmiş Ölüm Nedenlerinin (Her yaşta) Yüzde Değişiklikler	6
Tablo 2.4. Alzheimer tipi demans için DSM-IV tanı kriterleri (DSM-1994).....	11-12
Tablo 2.5. AH' de Olası Risk Faktörleri	13
Tablo 2.6. ABD popülasyonunun Apolipoprotein E (APOE) Geninin Altı Olası ε2, ε3 ve ε4 Çiftleri ile Tahmini Yüzdeleri	18
Tablo 3.1. APOE geni allellerinin PZR ile çoğaltılması aşamasında kullanılan primer çifti ve ürün boyutunun gösterimi	22
Tablo 3.2. APOE geninin allellerinin çoğaltılması için kullanılan reaksiyon bileşen miktarları	22
Tablo 3.3. TAS1R3 DNA Dizi Analizi Reaksiyon İçerikleri	23
Tablo 4.1. Hastaların demografik özellikleri	25
Tablo 4.2. APOE allel frekanslarının cinsiyete göre dağılımı	25
Tablo 4.3. Muhtemel Alzheimer Hastası bireylerde (n=16) APOE genotip ve allel frekanslarının dağılımı	26
Tablo 4.4. APOE rs7412 ve rs429358 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekanslarının muhtemel AH tanısı almış bireylerde dağılımı	27
Tablo 5.1. APOE allellerinin frekanslarının literatürle karşılaştırılması	31

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. AH nöropatolojisinde görülen amiloid plak ve nörofibriler yumak oluşumları.....	7
Şekil 2.2. AH patogenezinde amiloid plak ve nörofibriler yumak oluşum mekanizması..	9
Şekil 2.3. Beyinde Apolipoprotein-E ve Amiloid β Metabolizması	16
Şekil 2.4. AH etiyojisi	17
Şekil 3.1. ABI PRISM 3100 Cihazı	23
Şekil 4.1. Muhtemel Alzheimer Hastası bireylerde (n=16) APOE genotip frekanslarının dağılımı	26-27
Şekil 4.2. APOE rs7412 polimorfizminin a) CC genotipinin b) CT genotipinin Sanger Dizi Analizi Sonucu	28
Şekil 4.3 APOE rs429358 polimorfizminin a) CT genotipinin b) TT genotipinin Sanger Dizi Analizi Sonucu	28

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AAH	Ailesel Alzheimer Hastalığı
AH	Alzheimer Hastalığı
EBAH	Erken Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı
GBAH	Geç Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı
PSEN1	Presenilin 1
PSEN2	Presenilin 2
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
APOE	Apolipoprotein-E
AP	Amiloid plak
APP	Amiloid prekürsör protein
NFY	Nörofibriler yumak
A β	Amiloid Beta
NINCDS	National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke
ADRDA	Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
DSM	Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı
NIA	The National Enstitute of Aging
CERAD	Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's disease
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
GOO	Göreceli Olasılıklar Oranı
RNaz	Ribonükleaz
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DMSO	Dimetil sülfoksit
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
μ l	Mikrolitre

1.GİRİŞ

Alzheimer Hastalığı (AH); merkezi sinir sisteminin (MSS) çeşitli bölümlerinde nöron ve sinaps kayıplarına neden olarak; bilişsel işlevlerde yetersizlik, bir takım nöropsikatrik ve davranışsal bozukluklar ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır (**Özkay ve ark., 2011**). Hastalığın erken dönemlerinde ki başlıca belirtisi bellek bozukluğu olup hastalığın ilerleyen dönemlerinde bilişsel, davranışsal ve motor fonksiyonların azalması ile birlikte hastanın yaşam kalitesi düşerek temel ihtiyaçları idare ettirememeye başlayarak 24 saat bakıma ihtiyaç duyar hale gelmektedir (**Bıyıklı ve Şanlier, 2014**). AH'de histopatolojik olarak nörofibriler yumak (NFY) oluşumu, amiloid plak (AP) ve beyinde belirgin bir atrofi mevcuttur. Diğer vazgeçilmez patolojik bulgu ise sinaps ve nöron kaybıdır. (**Gürvit, 2004**). Klinisyen tanı kriterlerine göre en fazla muhtemel AH tanısı koyabilir, kesin tanı patoloji ile konulur (**Erşen, 2015**).

Hastalığın küresel yaygınlığı 24 milyon kadardır ve yaşam süresinin uzamasına bağlı olarak 2050 yılına kadar dört kat artacağı öngörülmüştür (**Reitz ve Mayeux, 2014**). En sık görülen demans türü olan AH, tüm demans vakalarının %60-80'ini oluşturmaktadır (**Alzheimer's Association, 2017**). AH, hastanın birinci derecede akrabalarında görülmesine bağlı olarak 2'ye ayrılır. Bunlar; daha çok kalıtsal olan ve birinci derecede akrabalarda demans görülmesiyle tarif edilen "Ailesel Alzheimer Hastalığı (AAH)" ve aile hikâyesi olmaksızın kendiliğinden oluşan "Sporadik Alzheimer Hastalığı" olarak tanımlanmaktadır (**Karaduman, 2014**). Ayrıca hastalığın başlangıç yaşına bağlı olarak; 65 yaş altı ortaya çıkan vakalar için erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı (EBAH), 65 yaş sonrası görülen vakalar için geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı (GBAH) olarak tanımlama yapılmaktadır (**Erşen, 2015**). Günümüzde AH için kalıtım durumuna göre 3 formda gruplandırma mevcuttur; otozomal dominant geçişli ailesel AH, Mendel kalıtımına uymayan ailesel yığılma gösteren AH ve sporadik AH (**Ertekin Taner, 2010**).

Alzheimer vakalarının %1-5'ini EBAH oluşturmakta iken GBAH vakaların 95%'iden sorumludur (**Erşen, 2015**). AH karmaşık bir genetik yapıya sahiptir. Bu nedenle genetik çalışmalar; AH'nin patofizyolojisini anlaşılmasını sağlayarak, semptom öncesi tanı, olası tedavi veya önlemlere yol açabilir. 1990 ve sonrasında AH'nin genetik altyapısı araştırmaların ilgi odağı olmuştur (**Ertekin Taner, 2010**). Günümüze kadar yapılan genetik araştırmalar sonucunda AH'nin genetik altyapısında yer aldığı tahmin edilen dört lokus tanımlanmıştır. Bunlar, EBAH'a yol açan otozomal dominant geçişli

ailesel AH için üç farklı gende mutasyon varlığı tespit edilmiştir. Bunlar; 21 numaralı kromozomda amiloid prekürsör protein (APP), 14'üncü kromozomda presenilin 1 (PSEN1) ve 1. kromozomda presenilin 2 (PSEN2) olarak tanımlanan üç gen ve GBAH için genel kabul gören tek risk faktörü olan 19. Kromozomda bulunan apolipoprotein ϵ 4, hastalığın genetik riskini açıklamakta yardımcı olmaktadır (**Karaduman, 2014**).

Apolipoprotein E (ApoE), beyindeki lipit (yağ) taşınması ve hasar onarımını destekleyen karaciğer tarafından sentezlenen önemli bir kolesterol taşıyıcısı olmakla birlikte ϵ 2, ϵ 3 ve ϵ 4 olmak üzere üç ayrı allelik forma sahiptir. (**Liu ve ark 2013**). GBAH'nın genetik faktörlerinden yalnızca ApoE'nin ϵ 4 alleli tüm çalışmalarda tutarlı bir şekilde hastalığın risk faktörü olduğu gösterilmiştir (**Strittmatter, 1993**). Tek ϵ 4 alleli taşıyan bireylerde AH riski 2-4 kat, iki ϵ 4 alleli taşıyan bireylerde ise AH riski ortalama 12 kat artmakta olduğu çalışmalarda bildirilmiştir (**Corder ve ark., 1993**). ϵ 4 alleleline sahip bireylerin hastalığa başlangıç yaşlarının düştüğü tespit edilmiştir (**Roses, 1996**). ϵ 4 allelinin AH patogenezindeki rolü tam manasıyla ortaya konulamamıştır ancak senil plak oluşumunda ve nörofibriler yumak oluşumunda rol oynadığı çalışmalarla kanıtlanmıştır. Ayrıca Apo-E'nin rejenerasyon, nöronal plastisite ve onarımda rol oynadığı ve bu işlevlerde ϵ 4 allelinin, ϵ 2 ve ϵ 3 alleleline göre daha başarısız olduğuna ilişkin kanıtlar bulunmaktadır (**Bales, 2010**).

Bu çalışmada, tanı kriterlerine göre muhtemel AH tanısı almış 16 bireyin, AH'nin risk faktörü olarak kabul görmüş APOE genine ait ϵ 2, ϵ 3 ve ϵ 4 allellerinin belirlenmesi amaçlanmış ve tanımlanmış genetik faktörlerinin Türk popülasyonundaki ilişkilerini taramak amacıyla yapılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Demans ve Alzheimer Hastalığı

Demans kelimesinin kökeni Latince kullanılan “mens” (zihin) kelimesinden gelmektedir. Bireyin bilinç dışında olması anlamına gelen ‘mens’ ve kişinin daha önceki bilişsel ve entelektüel işlevlerine kıyasen meydana gelen azalmayı anlatmak amacıyla kullanılır. Demans yaşlanmanın doğal bir sonucu değildir ve bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Bir demans vakasının normal yaşlanma ile görülen psikolojik ve bilişsel değişikliklerden ayırt edilir olması gerekmektedir (**Karaduman, 2014**).

Alzheimer hastalığı (AH) ilk kez, yaklaşık 100 yıl önce, 51 yaşındaki kendine bakamaz hale gelen August D (Deter) isimli hastadan elde edilen verilere dayandırılarak tanımlanmıştır. Hastaneye yatırılan hastanın muayenesinde; ilerleyici zihinsel işlev bozukluğu ve davranış değişikliği, okuma yazma ve bellek bozukluğu saptanmıştır. Belirtiler zaman içerisinde ilerleme göstermiştir. 1906 yılında August D’nin vefatı sonucu otopsi yapmak üzere beyin dokusu mikroskopik incelemesinde korteksin normalden incelmış olduğu görülmüş ve beyinde iki anormal bulguya rastlanmıştır. Bunlardan ilki daha önceleri yaşlıların beyinlerinde de saptanan senil plaklar, ikincisi ise gümüş boya ile boyanan nörofibriler yumaklardır. Nörofibriler yumaklar daha önce hiç tanımlanmamıştır ve bu bulgular ışığında Alzheimer 1907 yılında Genel Psikiyatri ve Adli Tıp Dergisi (Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychich-Gerichtliche Medizine)’nde yayımlanan makalesinde hastalığı “Serebral Korteksin Özgün Bir Hastalığı” olarak tanımlamıştır. Aloisi Alzheimer’ın klinik şefi olan Dr. Emil Kraepelin tarafından 1910 yılında bu hastalık için ‘Alzheimer Hastalığı’ terimini kullanmasıyla hastalık bundan sonra bu isimle anılmıştır. (**Selekler, 2010**).

AH ilk olarak 1906’da tanımlanmış ancak demans vakalarının en yaygın nedeni, büyük bir ölüm nedeni olarak kabul edilmeden önce yaklaşık 70 yıl geçmiştir (**Katzman, 1976**). O zamana kadar AH önemli bir araştırma alanı haline gelmemiştir. AH’den oldukça fazla ortaya çıkmasına rağmen, hastalığa neden olan biyolojik değişikliklerin kesin olarak keşfedilmemesinin, diğerlerinden daha hızlı ilerlemesi ve hastalığın nasıl engelleneceğinin bilinmemesi sebebiyle, takip eden araştırmalar ya yavaşlamış ya da durmuştur (**Alzheimer’s Association, 2017**).

1907 yılından bu yana AH hakkında bilinen; günlük yaşam aktivitelerinde azalma, bilişsel işlevlerde bozulma, psikolojik ve davranışsal bozukluklarla sonuçlanan,

ilerleyici nörodejeneratif bir hastalık olduğudur. Kesin tanı, demans bulguları olan vakalarda biyopsi ya da otopsi ile AH'a özgü olan; nörotik plaklar, nörofibriler yumaklar, granülovakuolar dejenerasyon, nöron kaybı, sinaps kaybı ve Meynertin bazal nukleus'unda aterosklerotik değişiklikler ve kolinerjik hücre kaybı gibi patolojik bulguların saptanması ile konulabilir (Selekler, 2010). Bu nedenle, AH'in teşhisine katkıda bulunan spesifik biyolojik belirteçlerin belirlenmesine ihtiyaç vardır. Bu biyolojik belirteçlerin, AH duyarlılığının yanı sıra teşhisi oluşturulması ve prognozun belirlenebilmesi gerekir, Ayrıca diğer demans nedenlerinden ayırıcı tanı için de yararlı olmalıdır (Davinelli, 2011).

Tablo 2.1.

Tipik Yaşa Bağlı Değişikliklerle Mukayese Edilen Alzheimer veya Diğer Demans Belirtileri

Alzheimer veya Diğer Demans Belirtileri	Tipik Yaşa Bağlı Değişiklikler
Günlük hayatı bozan hafıza kaybı: Alzheimer'in en yaygın görülen belirtilerinden biri özellikle de son öğrenilen bilgileri unutmak ve buna eşlik eden diğer yaygın belirtiler ise önemli tarihleri veya olayları unutmak, aynı bilgiyi tekrar tekrar sormak ve sıkça hatırlatma argümanlarına başvurmak (hatırlatma notları veya elektronik cihazlar) veya aile üyelerinden hatırlatıcı destek almak.	Bazen isimleri veya randevuları unutmak, ancak bunları daha sonra hatırlamak.
Planlama veya problem çözmeye karşılaşılan zorluklar: Bazı insanlar, bir işi geliştirip takip etme veya araştırma becerilerinde değişiklikler yaşarlar. Bilinen bir reçete takiben, aylık faturaları takip ederken veya değişiklikleri hesaplarken sorun yaşayabilirler. Onlar konsantrasyon yapmakta güçlük çekebilir ve birtakım işleri yapmak daha önce yaptıklarından çok daha uzun zaman alabilirler.	Çek defterini dengelemekte zaman zaman hata yapıyor.
Evde, işyerinde veya gündelik zamanda bilindik işleri tamamlama konusunda güçlük çekme: Alzheimer'lı insanlar genellikle günlük görevleri yerine getirmekte zorlanırlar. Bazen, tanıdık bir yere gitmekte, iş yerinde bir bütçeyi yönetmekte veya favori oyun kurallarını hatırlamakta zorluk yaşayabilirler.	Televizyon programını açmak veya mikrodalga fırının ayarları kullanmak için zaman zaman yardıma ihtiyaç duyuyor.
Zaman ya da mekan karışıklığı: Alzheimer olan insanlar tarih, mevsim ve zaman akışını takip etme yeteneğini kaybedebilirler. Direkt olarak bir olay olmadığı sürece, bir şeyi anlama konusunda sorun yaşayabilirler. Bazen nerede olduklarını veya oraya nasıl vardıklarını unutuyorlar.	Haftanın gününü karıştırabilir, ancak daha sonra çıkarabilirler.
Görsel ve mekânsal imgeler arasında bağ kurmakta zorluk çekilmesi: Bazı insanlar için, görme problemleri Alzheimer hastalığının bir işaretidir. Onlar okuma, mesafeyi tahmin etmek ve renk veya kontrast belirlenmekte zorluk yaşayabilirler.	Katarakt, glakom veya yaşla ilişkili maküler dejenerasyon ile ilgili görme bozuklukları.
Konuşma veya yazmada sözcüklerle ilgili yeni sorunlar: Alzheimer'lı insanlar bir konuşmayı takip etmek ya da sohbet etmekte zorlanabilirler. Bir konuşmanın ortasında durabilir ve nasıl devam edileceği konusunda hiçbir fikirleri yoktur veya kendilerini tekrarlayabilirler. Sözcük dağarcığı ile mücadele edebilir, doğru kelimeyi bulmada sorun yaşar ya da yanlış isimle şeyleri ararlar (örn. Bir saatin "el saati" olarak adlandırılması).	Bazen doğru kelimeyi bulmakta zorlanır.

Tablo 2.1. (devam)

Alzheimer veya Diğer Demans Belirtileri	Tipik Yaşa Bağlı Değişiklikler
Eşyaları yanlış yerleştirmek ve adımları takip etme yeteneğini kaybetmek: Alzheimer'lı insanlar, eşyaları alışılmadık yerlere koyabilir ve eşyalarını kaybedebilir ve adımlarını yeniden gözden geçirmekte aciz kalabilir. Bazen başkalarını çalmakla suçlarlar. Bu, zamanla daha sık meydana gelebilir.	Eşyaları zaman zaman yanlış yerleştirirler ve onları bulmak için adımları tekrarlarlar.
Eksik veya zayıf yargı: Alzheimer hastalığı olan insanlar yargılama veya karar verme değişiklikleri yaşayabilir. Parayı kullanma muhakemeleri zayıftır buna örnek olarak telepazarlamacılara büyük miktarda para verirler. Kendilerini temiz tutmaya veya öz bakımlarını yapmaya daha az dikkat edebilirler.	Arada bir kötü karar vermek
İşten veya sosyal aktivitelerden çekilme: Alzheimer'lı insanlar, hobilerden, toplumsal etkinliklerden, iş projelerinden veya sporlardan kendilerini uzaklaştırmaya başlayabilir. Sevdikleri bir spor ekibine ayak uydurmakta ya da favori bir hobiyi nasıl tamamlayacaklarını hatırlamakta zorluk çekebilirler. Yaşadıkları değişiklikler nedeniyle sosyalleşmekten kaçınabilirler.	Bazen iş, aile ve sosyal yükümlülüklerden bıkmış hissedilebilir.
Ruh hali ve kişilik değişiklikleri: Alzheimer hastalarının ruh hali ve kişilikleri değişebilir. Şaşkın, şüpheli, bunaltıcı, korkulu veya endişeli olabilirler. Evde, işyerinde, arkadaşlarıyla veya rahatlatıcı mekanların dışına çıktıklarında kolaylıkla rahatsız olabilirler.	Bir rutinin bozulmasına neden olan şeyleri yapar ve bu yüzden sinirlenir.

Not: Tablo 2.1'de ki veriler Alzheimer's Association, 2017 adlı çalışmasından değiştirilerek alınmıştır.

2.2. Alzheimer Hastalığı'nın Epidemiyolojisi

2017'de Alzheimer Hastalığıyla her yaştan tahmini olarak bakıldığında 5,5 milyon Amerikalı yaşıyor. 2017 verilerine göre Amerika Birleşik Devletleri'nde 65 yaş ve üstü 10 kişiden biri (yüzde 10) Alzheimer Hastalığına sahiptir. Alzheimer hastası olanların%82'si 75 yaş ve üstü Bu sayı, önümüzdeki yıllarda hızla tırmanacak; çünkü 65 yaş ve üstündeki Amerikalı nüfusun 2050'ye kadar 48 milyondan 88 milyona iki katına çıkacağı tahmin ediliyor (He, Goodkind, ve ark., 2016).

Tablo 2.2.

Alzheimer Hastalığı Prevalens Oranları

Yaş Dağılımı	%
65-74	3
75-84	17
85+	32

Not: Tablo 2.2'de ki veriler Hebert ve arkadaşları (2013) tarafından hazırlanan çalışmadan alınmıştır.

2010 yılında Uluslararası Alzheimer Derneği'nin yaptığı çalışmaya göre demanslı hasta sayısı 2010 yılında 35 milyona yaklaştığı ve bu rakamın 2/3 AH olduğu tespit edilmiştir. Bu rakamın 2050 yılında 4 kat artarak 106,8 milyona ulaşması beklenmektedir (Yavlal, 2016).

İstanbul'un Kadıköy ilçesinde 1019 örneklem ile gerçekleştirilen Türkiye AH Prevalansı Çalışması'nda 70 yaş üzerindeki kişiler arasında AH prevalansının %11 olduğu tespit edilmiştir. Bu rakam gelişmekte olan batı ülkeleri ile kıyaslanılabilir düzeydedir. Bu veriye göre Türkiye'de 250-300 bin AH'li hasta olduğu tahmin edilmektedir (Gürvit, ark., 2008).

Gelişmiş ülkelerde yapılan araştırmalar Alzheimer hastalığının kalp hastalıkları, kanser ve inmeden sonra ölüme neden olan hastalıklar arasında dördüncü sırada yer aldığı belirtilmiştir. Prevalans 65 yaş üstünde her 5 yılda iki katına çıkmaktadır. (Eker, 2008). Birleşik Devletlerin nüfusu yaşlandıkça Alzheimer daha yaygın bir ölüm nedeni haline geliyor ve önlenemeyen, tedavi edilemeyen veya yavaşlatılamayan en büyük ilk ölüm nedeni haline gelmiştir. (Alzheimer's Association, 2017).

Tablo 2.3.

2000 ile 2014 Yılları Arasında Seçilmiş Ölüm Nedenlerinin (Her yaşta) Yüzde Değişiklikler

Ölüm Nedeni	%
Meme Kanseri	-1
Prostat Kanseri	-9
Kalp Hastalığı	-14
İnme	-21
HIV	-54
Alzheimer Hastalığı	89

Not: Tablo 2.3'de ki veriler National Center for Health Statistics. Deaths, (2002) ve Kochanek ve ark., (2016) yılında hazırlanan verilerden değiştirilerek alınmıştır.

2000 ve 2014 yılları arasında ölüm sertifikalarında kaydedilen 'Alzheimer Hastalığı'ndan ölümler bir önceki yıl ile karşılaştırıldığında yüzde 89 artarken, bir numaralı ölüm nedenlerinden biri olan Kalp Hastalığı olarak raporlanan ölümler yüzde 14 azaldı (Tablo 2.3) (National Center for Health Statistics. Deaths, 2002; Kochanek ve ark., 2016). Hastaların hastalık başlangıcından itibaren yaşam süreleri prevalans ve insidans oranları ile ilişkilidir. 2000 ile 2014 yılları arasında Alzheimer ölüm oranı, 65-74 yaş arasındaki insanlarda belli belirsiz bir artış göstermiş ancak 75-84 yaş

grubundaki insanlarda yüzde 33 ve 85 yaş ve üstü yaş grubunda yüzde 51 artmıştır (Alzheimer's Association, 2017).

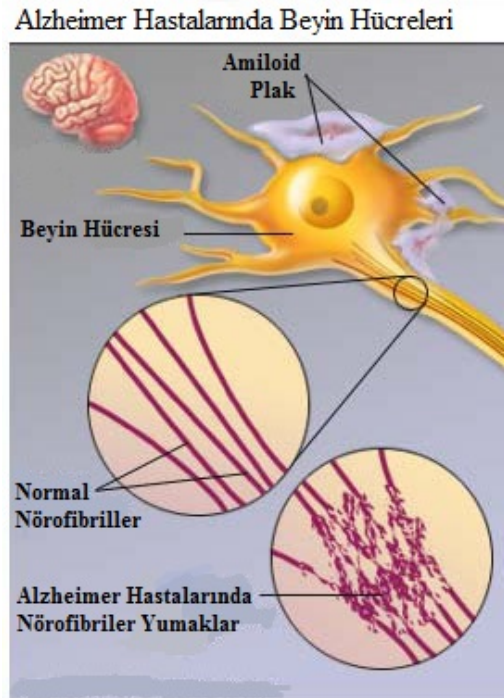
2.3. Alzheimer Hastalığı'nın Nöropatolojisi ve Patogenezi

AH'nın patolojik bulgularının beyinde giruslarda daralma, atrofi, ventrikülerde ve sulkuslarda genişleme olduğu bildirilmiştir (Baysal, 2003).

AH'de histopatolojik olarak beyinde belirgin bir atrofi oluşumu, amiloid plak (AP) ve nörofibriler yumak (NFY) mevcuttur. Diğer vazgeçilmez patolojik bulgu ise sinaps ve nöron kaybıdır. Her iki lezyon, hem bazı başka nörodejeneratif hastalıklarda görülebilirken hem de yaşlanmaya bağlı olarak gelişebilir; ancak AH'nın kesin tanısı için lezyonların belirli bir nöroanatomik dağılım göstermesi ve belirli bir miktarda olması gerekmektedir (Gürvit, 2004). Yapılan araştırmaları, AP'ların ana komponentinin amiloid beta ($A\beta$), NFY'ların ise tau proteini olduğunu göstermiştir (Saka, 2010). Hastalığın patolojisi incelendiğinde amiloid plakların (AP) klinik belirtiler ile direkt olarak ilişkili olmadığı fakat nörofibriler yumak (NFY) patolojisinin beyinde klinik belirtilere paralel bir ilerleme gösterdiği rapor edilmiştir (Duyckaerts ve ark., 2009).

Şekil 2.1

AH nöropatolojisinde görülen amiloid plak ve nörofibriler yumak oluşumları



Not: Şekil 2.1'deki bilgiler Neil Lava (2017); Understanding Alzheimer's Disease: the Basics adlı çalışmadan alınmıştır.

2.3.1. Nörofibriler yumaklar (NFY)

Nörofibril yumaklar (NFY) mikrotübül bağlantılı protein olan tau'nun hiperfosforillenmiş şeklini içeren, hücre gövdelerinde ve dendritlerde biriken çift sarmal iplikçik yığınlarından oluşmaktadır (**Özkay ve ark., 2011**). Yaşlanmaya bağlı olarak altmışlı yaşlardan itibaren neokortekste plaklar ve limbik sistemde de NFY'ler oluşmaya başlamaktadır. Ancak çalışmalar NFY'lerin neokortekste, AP'lerin ise limbik sistemde ve nörotik plak olarak görünür olmalarının AH için %100'e yaklaşan duyarlılık ve özgülük gösterdiğini ortaya koymuştur (**Gürvit, 2004**). AH beyinde Ca²⁺ konsantrasyonu artışının bu iyonla aktive edilen nötral proteinazların (kalpainler) aktivasyonunu arttırdığı, amiloid plak ve NFY oluşumuna neden olduğu rapor edilmiştir. Diğer yandan, AH'nda nörotoksik AP'ın Ca²⁺ homeostazını bozduğu ileri sürülmektedir (**Özkay ve ark., 2011**).

2.3.2. Amiloid plaklar (AP)

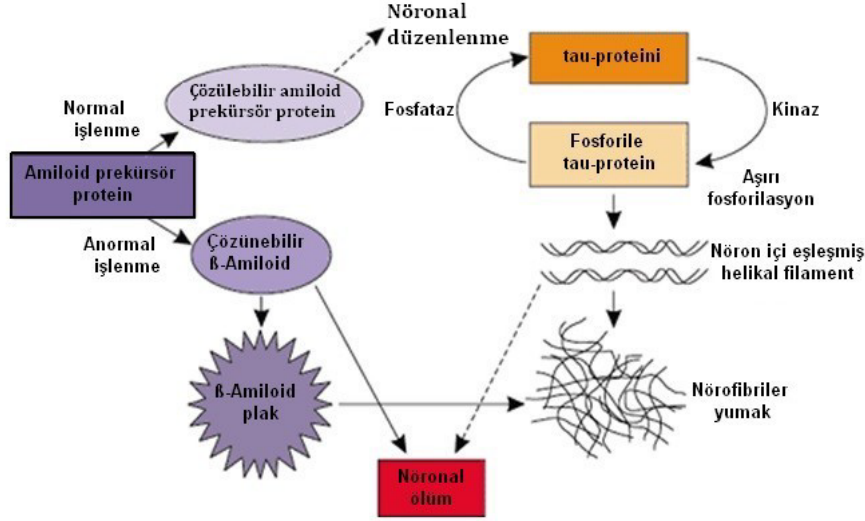
Amiloid plaklar (AP) AH'nın ikinci temel nöropatolojik değişikliğidir. Farklı morfolojik yapıda olabilir; ancak ana bileşeni amiloid beta peptittir (A β) (**Karaduman, 2014**). A β 40 veya 42 amino asitten oluşur. 21. kromozomda kodlanan transmembran protein olan amiloid prekürsör proteininin (APP) proteolitik bölünmesiyle üretilir. Genetik, patolojik ve fonksiyonel araştırmalardan elde edilen deliller, beyindeki amiloid- β (A β) peptidlerinin üretimi ve temizlenmesi arasındaki bir dengesizliğin, A β 'nin birikimi ve toplanmasına neden olduğunu göstermiştir. A β 'nin toksisitesi mikrotübule bağlı protein tau'nun varlığına bağlı görünmekte olup bu protein tau'nun hiperfosforile formları agregatı ve AH'nin beyinde nörofibriler yumrular gibi çökmesini sağlar. Toksik A β , çözünebilir A β oligomerleri şeklindeki intranöronal A β içinde birikir ve amiloid plaklar sinapslara zarar verir ve nihayetinde nörodejenerasyona ve demansa neden olur (**Liu ve ark 2013**).

A β , normal nöronlar tarafından üretilmektedir fakat AH patogeneğinde nöronal lizozomlarda çok miktarda biriktiği gösterilmiştir. Normal koşullar altında A β 'nin büyük çoğunluğu; ekstralizozomal olarak lokalize olurken, oksidatif stresin makrotofaji aktivasyonu yoluyla intralizozomal A β içeriğini artırdığı yapılan çalışmalar sonucu ileri sürülmüştür. Bu bilgiler ışığında AH patolojisine hasarlı A β salınımının ve A β 'nin intralizozomal artışının katkıda bulunduğu düşünülmekle birlikte

A β 'nin nöronlarda nasıl dağılım gösterdiği ve A β salınımının inhibisyonunda etkilenecek yolların neler olabileceği açık değildir (Zheng ve ark., 2012).

Şekil 2.2

AH patogenezinde amiloid plak ve nörofibriler yumak oluşum mekanizması



Not: Şekil 2.2'deki bilgiler Solomon, 2002, Protective Molecules in Alzheimer 's disease: Therapeutic Antibodies adlı çalışmadan değiştirilerek alınmıştır.

Çalışmalar incelendiğinde; AH patogenezinin anlamak için, NFY'ler ve AP'ler arasındaki bağlantıyı anlamak oldukça gereklidir ve bu bağlantı muhtemelen AH fizyopatolojisindeki en büyük bilinmezidir.

2.4 Alzheimer Hastalığı Tanı Kriterleri

Alzheimer Hastalığı tanısı koymak için; DSM-IV, Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (ADRDA) ve National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke (NINCDS) yaygın kullanılan klinik tanı kriterlerindedir. AH hakkında biriken bilgiler ışında 2011 yılında NINCDS ve ADRDA'nın tanı kriterleri yeniden gözden geçirilerek güncellenmiştir. DSM-IV kriterlerine göre AH olarak tanımlanan bir birey, NINCDS-ARDA'da en fazla muhtemel AH tanısı alabilir. Patolojik tanı kriterleri; The National Institute of Aging (NIA) tarafından hem Braak&Braak'ın hem de Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's disease (CERAD)'ın önceden belirlemiş olduğu patolojik tanı kriterlerini birleştirerek oluşturduğu AH'nın üç temel morfolojik karakteristiği olan A β / amiloid

plakları, nörofibriler yumaklar ve nöritik plakları göz önünde bulundurarak hastanın kognitif durumundan bağımsız değerlendirme yapılan NIA-Regan kriterlerine göre konulur **(Erşen, 2015)**.

Alzheimer Hastalığı tanısı ancak biyopsi veya otopside alınan doku örneklerinde hastalığa özgü patolojik bulguların saptanması ile konulabilir, klinikte konulan tanı ancak olası AH tanısıdır. AH'na özgü patolojik bulgular; nörofibriller yumaklar (NFY), amiloid plaklar (AP), granülovakuolar dejenerasyon, nöron kaybı, sinaps kaybı, arterosklerotik değişiklikler ve Meynertin bazal nukleus'unda kolinerjik hücre kaybıdır **(Selekler, 2010)**.

2.5 Alzheimer Hastalığı'nın Klinik Özellikleri

AH yaşa bağımlı ve geri dönüşümsüz bir beyin hastalığı olup hastaların çoğunluğu yakın bellek bozukluğu ile başgösterir **(Karaduman, 2014; Selekler, 2010)**. Hastalığın başlangıç döneminden sonra klinik belirtilerin başında afazi, amnezi, agnozi ve apraksi gelmektedir **(Eker, 2008)**.

AH'nı diğer demanslar türlerinden ayıran; hipokampus, limbik sistem ve polimodal asosiyasyon korteksi boyunca ilerlemesidir. Hastalığın ilk klinik belirtisi bellek bozukluğu olup kısa dönemli hafızada aşamalı ve ilerleyici bir yıkım görünür. Hastalığın erken evresinde yeni bilginin öğrenilmesi ve depolanmasına zorluk yaşanır (amnezi) ancak eski öğrenilmiş bilgiler korunur. Hastalık ilerledikçe güncel olayları hatırlama zaman aralığı gittikçe uzamaya başlar. AH da olayları kaydedip depolayan ve geri çağrılmasında görevli olan deklaratif bellek en çok hasar gören bellek sistemidir. Bir işlemin nasıl yapıldığıyla ilgili bilgileri depolayan, diğer bir ifadeyle; bir görevi yerine getirebilme becerisi olarak tanımlanan İşlemsel (Prosedürel) Bellek görece korunduğu için hastalığın ilk evrelerinde hasta ilk bakışta normal gözükebilir ve duygusal hatıralar da daha iyi korunur **(Erşen, 2015)**. Hastalığın ilerleyen seyri ile beraber dejenerasyon ön ve arka multimodal asosiyasyon korteksine doğru yayılır Arka asosiyasyon korteksi (temporo-parietal korteksi); karmaşık görsel-mekansal becerilere, prefrontal asosiyasyon kortekside yönetici işlevlere ve karmaşık dikkate aracılık ettiği için hastalığın ilerlemesiyle bu beceriler ve işlevlerde giderek artan bozulmalar sayesinde birey günlük aktivitelerini yapamaz ve giderek tümüyle başkalarına bağımlı hale gelir **(Yavlal, 2016)**. Çoğu Alzheimer hastalarında öğrenmede güçlük problemleri ve bellek semptomları ortaya çıkmadan önce hastalık sinsice ilerler. Sosyal becerilerin

korunması, aile düzeni ve eski alışkanlıklar bu sorunu maskeleymektedir. Ancak bellek kaybı zaman için karakter değişikliğine yol açar ve hastalığın son evrelerinde bellek kaybı iyice ilerleyerek bireyin eşinin ve çocuklarının ismi gibi iyi bilinen ve sık tekrarlanan bilgileri hatırlayamaz hale gelir (Erşen, 2015). Depresyon, hezeyanlar, halüsinasyonlar ve ajitasyon gibi davranışsal değişiklikleri hastalığın seyri sırasında herhangi bir dönemde ortaya çıkabilir (Selekler, 2010).

Alzheimer Hastalığı tanısı ancak biyopsi veya otopside alınan doku örneklerinde hastalığa özgü patolojik bulguların saptanması ile konulabilir, klinikte konulan tanı ancak muhtemel AH tanısıdır. Bunlarla birlikte hasta öyküsü, nöropsikolojik testler, nörolojik ve fizik muayene, laboratuvar incelemeleri ve görüntüleme yöntemleri ile yüksek oranda (%85-90) doğrulukla klinik tanı koymak mümkündür (Karaduman, 2014). Hastalığın ilerlemesiyle zaman ve mekân oryantasyonunda bozulmalar başlar; saatin kaç olduğunu ve günlük rotalarında yürürken kaybolabilir. Linguistik kayıp AH'nin önde gelen klinik semptomlarından biridir. Hasta kelime bulamaz (anomi), yanlış kelime veya yerine kelime söyleme durumuna gelir ve tutuk bir afazi ile karşılaşılabilir. Konuşmanın normal ritmi, vurgusu ve emosyonel yapısını tanımlayan prosodi kaybolur. Hastalığın ilerleyen evrelerinde konuşma yetkisine ek olarak okuma yetkisi de bozularak (global afazi veya mutizm) hasta ile olan iletişimi sekteye uğratır. Hastaların büyük çoğunluğu ilerleyen evrelerde apraksi geliştirir. En sık görülen apraksi şekli idiomotor apraksidir. Hastalar yemek yeme ve giyinmede yavaşlık ve zorlanma yaşarlar. Diğer sık apraksilerden biri de limb kinetik apraksidir. Bunun sonucu olarak hastalar arabaya binmek için vücudu uygun pozisyona getirmek gibi ya da giyinmek gibi işlerde zorluk yaşarlar. Yüksek görsel fonksiyonlarda bozulma da AH'da sık görülür. Hasta önceden aşına olduğu objeleri tanımada zorlanır (agnozi) ve İleri vakalarda yüzleri tanımakta zorlanma(prosopagnozi) görünmektedir (Erşen, 2015).

Tablo 2.4.

Alzheimer tipi demans için DSM-IV tanı kriterleri (DSM-1994)

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 bozukluklardan 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) Yönetmelik 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 hematoma, normal basınçlı hidrosefali, beyin tümörü)

2) Demansa neden olduğu bilinen sistemik durumlar (örn. hipotiroidizm, vitamin B12 ya da folik asit eksikliği, niasin eksikliği, hiperkalsemi, nörosifi liz, 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)

Not: Tablo 2.4’de ki veriler Eker (2008); Alzheimer Hastalığı adlı çalışmadan alınmıştır.

Alzheimer Hastalığını evrelendirmek için Reisberg tarafından 1982 yılında, Global Yıkım Ölçeği (GDS) oluşturulmuş olup hastalık için kullanılan en yaygın ölçeklerden ilkidir. Yaygın olarak kullanılan bir diğer ölçek ise 1993 yılında Morris tarafından geliştirilmiş olan klinik demans skalasıdır (CDR) (Erşen, 2015).

Hastalığın seyri bireyler arasında oldukça fazla değişkenlik göstermektedir. Hastalığın başlangıcından ölüme kadar geçen süre yaklaşık 8-10 senedir. AH’nın seyri temel özelliklerinin, fonksiyonel kayıplarının veya bilişsel bozuklukların izlenmesi ile ölçülebilir. İlerlemeye etki eden diğer faktörler arasında ekstrapiramidal faktörler, psikoz ve lisan bozukluklarıdır. Ölümler sıklıkla pulmonary embolizm, pnömoni, ürosepsis, emboli ve dekübitus ülserleri ve beslenememe sonucu olur (Eker, 2008).

2.6. Alzheimer Hastalığı’nın Genetiği

AH karmaşık bir genetik yapıya sahiptir. Genetik çalışmalar; hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasına katkı sağlayarak, olası tedavi, semptom öncesi tanı ve önlemlere yol açabilir. 1990 yılından bu yana AH’nın genetik altyapısı araştırmaların ilgi odağı olmuştur (Ertekin Taner, 2010). AH’nın %5’ini oluşturan Ailevi Alzheimer hastalarında, Amiloid prokürsör protein ve Presenilin genlerinde mutasyonların varlığının saptanması, hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasına yardımcı olmuştur (Selekler, 2010). Günümüze kadar yapılan genetik araştırmalar sonucunda AH’nın

genetik altyapısında yer aldığı tahmin edilen dört lokus tanımlanmıştır. Bunlar, EBAH'a yol açan otozomal dominant geçişli ailesel AH için üç farklı gende mutasyon varlığı tespit edilmiştir. Bunlar; 21 numaralı kromozomda amiloid prekürsör protein (APP), 14'üncü kromozomda presenilin 1 (PSEN1) ve 1. kromozomda presenilin 2 (PSEN2) olarak tanımlanan üç gen ve GBAH için genel kabul gören tek risk faktörü olan 19. Kromozomda bulunan apolipoprotein $\epsilon 4$, hastalığın genetik riskini açıklamakta yardımcı olmaktadır (**Karaduman, 2014**).

2.7. Alzheimer Hastalığı'nın Risk Faktörleri

Alzheimer'in diğer yaygın kronik hastalıklar gibi tek bir nedenden ziyade birden çok faktörün sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. AH'da genetik ve çevresel faktörler önemli rol oynamaktadır. Yapılan araştırmalarda ki bulgular AH'nin %2-5 oranında, hastalık 21., 14., ve 1. kromozomlardaki mutasyonların sonucu olarak otozomal dominant bir geçişin söz konusu olduğu tespit edilmiştir (**Eker, 2008**).

Tablo 2.5.
AH' de Olası Risk Faktörleri

Yaş	Diabet
Apolipoprotein $\epsilon 4$ allel	Beyinde ak madde lezyonları
Kadın cinsiyeti	Hipotiroidizm
Kafa travması	Sık sık uzun süreli genel anestezi
Düşük eğitim düzeyi	Alkol alışkanlığı
Erken histerektomi	Myokard infarktüsü
Hipertansiyon	Atrial fibrilasyon

Not: Tablo 2.5'de ki veriler Eker (2008); Alzheimer Hastalığı adlı çalışmadan alınmıştır.

Tablo 2.5'den de görüleceği gibi, bu faktörlerin birçoğu değiştirilemez (yaş, cinsiyet, etnisite) veya eğitim, beslenme, egzersiz, sosyoekonomik statü gibi yaşam boyu öğrenme alışkanlığı ve/veya başarılması zor olabilecek sosyo-ekonomik değişiklikleri gerektirir. Bir hastalığın altında yatan genetik bileşeni tanımak, genetik riski ve koruyucu faktörleri tanımlamak, hastalık mekanizmasını aydınlatmak için önemli bir ek yaklaşım oluşturmaktadır. Bu nedenle son yıllarda bu faktörlerinin oluşumunda rol oynayan genetik bileşenler araştırmaların ilgi odağı olmuştur (**Ertekin Taner, 2010**).

Geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı (GBAH) için en büyük risk faktörleri; yaş (**Hebert ve ark, 2010**), ailede Alzheimer öyküsü olan (**Fratiglioni ve ark, 2010**) ve APOE- $\epsilon 4$ geni 'dir (**Saunders ve ark 1993; Farrer ve ark 1997**).

AH için bilinen en önemli risk faktörü, AH'deki bu allelin Türk toplumundaki prevalansı değişmekle birlikte, apolipoprotein E (APOE) geninin $\epsilon 4$ alleli olmasıdır **(Kaya, ve ark., 2015)**.

2.7.1. Yaş

Yaş, bu üç risk faktörünün en büyüğüdür; AH bireylerin büyük çoğunluğu 65 yaş ve üzerindedir. Alzheimer hastalarının yüzdesi yaşla birlikte artar; 65-74 yaş grubundaki insanların yüzde 3'ü, 75-84 yaş grubundaki insanların yüzde 17'si ve 85 yaş ve üstündeki kişilerin yüzde 32'si Alzheimer Hastasıdır **(Hebert ve ark, 2010)**. Alzheimer'in yaşlanmanın normal bir parçası olmadığını ve tek başına yaş faktörünün AH gelişimine olmadığını kabul edilmektedir.

2.7.2. Aile öyküsü

Aile öyküsü, AH riskinin değerlendirilmesinde oldukça anlamlıdır. Birinci derece akrabalarda AH varlığı demans gelişme riskini 3 kat artırmaktadır **(Gao, ve ark, 1998)**. Bir kişinin hastalığı geliştirebilmesi için ailesinde Alzheimer öyküsü olması gerekli değildir. Bununla birlikte, Alzheimer'li bir ebeveyn, erkek veya kız kardeşi olan kişilerin, Alzheimer'lı birinci derece akraba sahibi olmayan kişilerden daha fazla hastalığa yatkındır **(Loy ve ark., 2014)**. Alzheimer'lı birden fazla birinci dereceden akrabası olan kişi daha yüksek risk altındadır **(Lautenschlager ve Cupples, 1996)**. Ailesinde Alzheimer Öyküsü bulunan bireylerde hastalığın ortaya çıkmasında; kalıtım (genetik), çevresel ve yaşam tarzı faktörleri (örneğin, sağlıklı gıdalara erişim ve fiziksel aktivite seviyesi) rol oynamaktadır **(Lautenschlager ve Cupples, 1996)**.

2.7.3. Alzheimer ve Diğer Demansların Prevalansında Kadınlar ve Erkekler Arasındaki Farklar

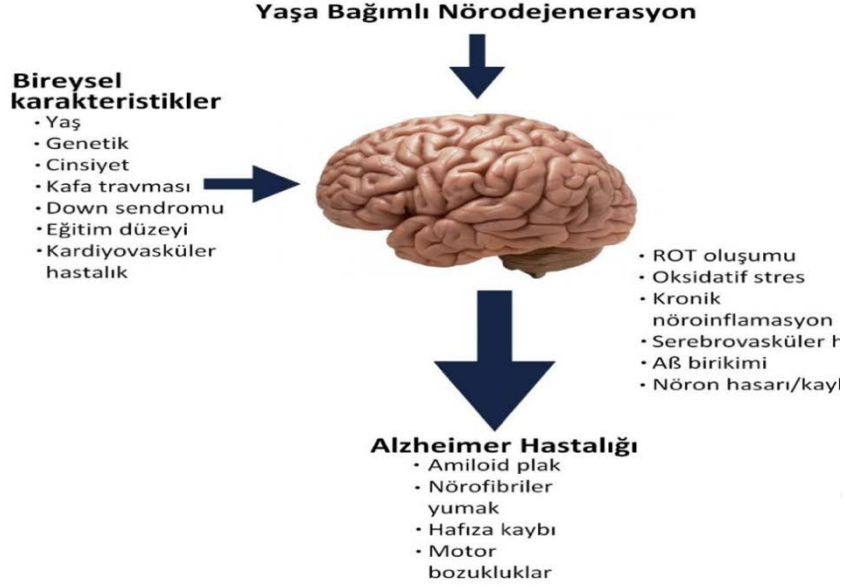
Birçok çalışmada kadınlarda AH'nin daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Kadınlarda gözlenen ömür süresinin uzunluğu veya genellikle daha düşük eğitim seviyelerine sahip olunmasının bu oranı artırdığı öne sürülmüşse de, eğitim ve yaş faktörlerinin göz ardı edildiği lojistik regresyon analizi modellerinde de kadınlarda demans riskinin arttığı gösterilmiştir. Menapoz yaşı ve östrojen eksikliği gibi faktörler ile AH ilişkisi araştırılmış; ancak net bir ilişki ortaya konulamamıştır. Östrojen eksikliğinin serebral kan akımı, nöronların düzenlenmesi, glial hücrelerin gelişimi ve APOE ekspresyonu

gibi süreçleri etkileyebileceği bildirilmiştir. Östrojenin APOE ε4 heterozigotlarda ε4'ün ekspresyonunu inhibe ederek demans başlama yaşını geciktirebildiği ileri sürülmüştür **(Zandi ve ark., 2002)**. Ancak 2003'te yayınlanan 'Women's Health Initiative' çalışmasının verilerine göre östrojen kullanan bireylerde demans riskinin arttığı tespit edilmiş olup, AH tedavisi veya önlenmesinde kullanılması önerilmemiştir **(Rapp ve ark., 2003)**.

2.7.4. Eğitim Düzeyi

AH'da muhtemel risk faktörlerinden düşük eğitim düzeyinin, hastalık insidansını 1,5 kat artırdığı bildirilmiştir **(Ganguli ve ark., 2000)**. Alzheimer ve diğer demanslar için, daha fazla eğitim görmüş insanlar, az eğitim görmüş insanlardan daha düşük risk altındadırlar **(Sando ve ark., 2008)**. Bazı bilim insanları, daha az eğitim görenlerin arasında demans riskinin artmasına katkıda bulunabileceğine inanan başka faktörlerin olduğuna inanıyorlar. Bu faktörler, daha az zihinsel olarak uyarıcı meslek sahibi olma ihtimalini artırmaktadır **(Fisher ve ark., 2014)**. Buna ek olarak, daha az eğitim düzeyine sahip olmak, düşük sosyoekonomik statüyle ilişkilidir; bu durum, zayıf beslenmeye maruz kalma olasılığını artırabilir ve kişinin kardiyovasküler risk faktörleri tedavisi gibi sağlık bakım veya tıbbi tedavileri alma kabiliyetini düşürebilir **(McDowell ve ark., 2007)**. Son olarak, Birleşik Devletleri'nde, daha az eğitim alan kişiler, fiziksel olarak daha az aktif olma **(Harris ve ark., 2013)** ve daha yüksek diyabet **(Lee ve ark., 2011)** ve kardiyovasküler hastalık **(Steptoe ve ark., 2005)** riski taşımak dahil Alzheimer için daha fazla kardiyovasküler risk faktörü bulundurma eğilimi gösterirler.

Şekil 2.3
AH etiyolojisi



Not: Tablo 2.3’de ki veriler Karaduman (2014); Alzheimer Hastalarında Psen1 Geni Mutasyon Taraması ve ApoE Genotiplendirmesi adlı çalışmadan alınmıştır.

Yaş, aile öyküsü, cinsiyet ve Down Sendromu gibi klasik risk faktörlerinin yanı sıra son yıllarda tanımlanmaya başlanmış olan diabetes mellitus, hipertansiyon, düşük sosyoekonomik düzey, dislipidemi, inflamasyon, beslenme yetersizlikleri, oksidatif hasar, vitamin B12 eksikliği, homosistein yüksekliği, hipotroidi, inme, infeksiyonlar gibi çok sayıda minör risk faktörleri de vardır. Türkiye’de yapılan bir çalışmada ülkemizde AH gelişim risk faktörleri incelenmiş ve lojistik regresyon analizlerinde yaş, cinsiyet, depresyon ve vitamin kullanımı varlığının bağımsız risk faktörleri olduğu saptanmıştır (Cankurtaran, ve ark., 2006).

2.8. APOE-ε4 Geni

APOE, ilk defa 1973’te VLDL’nin bir bileşeni olarak tespit edilmiştir (Shore ark., 1973). Apolipoprotein E (ApoE), beyindeki lipit (yağ) taşınması ve hasar onarımını destekleyen önemli bir kolesterol taşıyıcısı olmakla birlikte 3 allelik forma sahiptir (Liu ve ark., 2013). Bu nedenle, sinir hasarına yanıt olarak, APOE düzeylerinde belirgin bir artış meydana geldiği bilinmektedir (Boschert ve ark., 1999) Bu alandaki en eski çalışmalarda AH hastalarının %62’sinin otopsi yapılanlar arasında allelinin taşıyıcıları olduğu bildirilmiştir (Adalbert ve ark., 2007; Rebeck ve ark.,

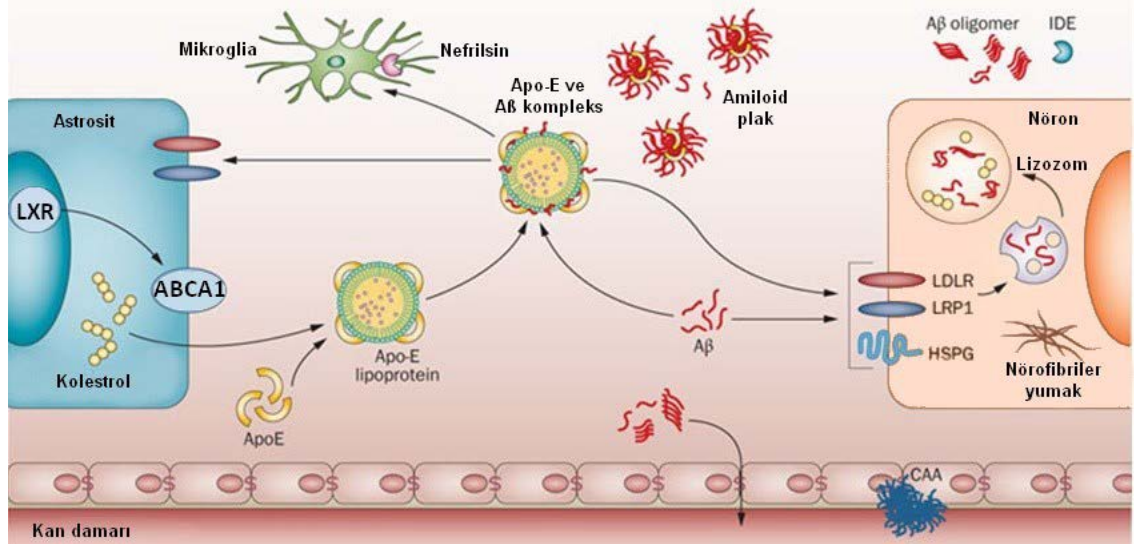
1993). GBAH'nın genetik faktörlerinden yalnızca ApoE'nin $\epsilon 4$ alleli tüm çalışmalarda tutarlı bir şekilde hastalığın risk faktörü olduğu gösterilmiştir (Strittmatter, 1993).

2.8.1. Alzheimer Hastalığı'nda Apo-E İzoformlarının Mekanizması

Apo-E, beyin tarafından sentezlenen ana lipoproteindir ve beyin omurilik sıvısı (BOS)'da bulunan lipoproteinlerin bir bileşenidir. Beyinde Apo-E sentezini ve salgılanmasını yöneten mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılamamıştır. AH için bilinen en önemli risk faktörlerinden biri *APOE*'nin $\epsilon 4$ izoformunun varlığıdır (Liu ve ark., 2013). Beyinde Apo-E fonksiyonuna ilişkin bazı yollar Şekil 2.2'de verilmiştir (Karaduman, 2014).

Şekil 2.4.

Beyinde Apolipoprotein-E ve Amiloid β Metabolizması



Not: Şekil 2.4'de ki veriler Karaduman (2014); Alzheimer Hastalarında Psen1 Geni Mutasyon Taraması ve ApoE Genotiplendirmesi adlı çalışmadan alınmıştır.

Ayrıca APO $\epsilon 4$, hastalığa sebep olan bütün biyokimyasal bozukluklar (NFY oluşumu, A β depozisyonu, lipid dengesinde ki bozulmalar, oksidatif stres, kolinerjik fonksiyon kaybı ve sinaptik elastikiyet kaybı) ile ilişkili tek moleküldür. Bu veriler doğrultusunda APO $\epsilon 4$ 'ün toksik fonksiyonların kazanımı ve nörokoruyucu fonksiyonların azalması ya da her iki mekanizmayı birlikte tetikleyerek AH patogenezinde rol oynadığına dikkat çeker (Karaduman, 2014).

Herkes APOE geninin üç formundan birini ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ veya $\epsilon 4$) devralır. $\epsilon 3$ formu en yaygındır, bireylerin yüzde 50 ila 90'ı bir veya iki kopyaya sahiptir. Yüzde 5 ila yüzde

35 arasında bir ya da iki kopya olan $\epsilon 4$ formu ikinci yaygın olandır ve $\epsilon 2$ formu en az yaygındır, yüzde 1 ila yüzde 5'i bir ya da iki kopya alır. (Mahley ve ark., 2000).

Tablo 2.6.

ABD popülasyonunun Apolipoprotein E (APOE) Geninin Altı Olası $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ Çiftleri ile Tahmini Yüzdeleri

APO ϵ Çiftleri	%
$\epsilon 2/\epsilon 2$	0.5
$\epsilon 2/\epsilon 3$	11
$\epsilon 2/\epsilon 4$	2
$\epsilon 3/\epsilon 3$	61
$\epsilon 3/\epsilon 4$	23
$\epsilon 4/\epsilon 4$	2

Not: Tablo 2.6'de ki veriler Alzheimer's Association, 2017 adlı çalışmasından değiştirilerek alınmıştır.

Tek $\epsilon 4$ alleli taşıyan bireylerde AH riski 2-4 kat, iki $\epsilon 4$ alleli taşıyan bireylerde ise AH riski ortalama 12 kat artmakta olduğu çalışmalarda bildirilmiştir (Corder ve ark., 1993). $\epsilon 4$ alleleline sahip bireylerin hastalığa başlangıç yaşlarının düştüğü tespit edilmiştir (Roses, 1996). $\epsilon 4$ allelinin AH patogenezindeki rolü tam manasıyla ortaya konulamamıştır ancak senil plak oluşumunda ve nörofibriler yumak oluşumunda rol oynadığı çalışmalarıyla kanıtlanmıştır. Ayrıca Apo-E'nin rejenerasyon, nöronal plastisite ve onarımda rol oynadığı ve bu işlevlerde $\epsilon 4$ allelinin, $\epsilon 2$ ve $\epsilon 3$ alleleline göre daha başarısız olduğuna ilişkin kanıtlar bulunmaktadır (Bales, 2010).

Kliniksel meta-analizler ve otopsi temelli çalışmalar göstermiştir ki AH riski $\epsilon 4$ allelinin tek kopyasını ($\epsilon 2/\epsilon 4$, göreceli olasılıklar oranı (GOO) 2,6); $\epsilon 3/\epsilon 4$, GOO 3,2) ya da iki kopyasını ($\epsilon 4/\epsilon 4$, GOO 14,9) taşıyan bireyler $\epsilon 3/\epsilon 3$ genotipini taşıyan bireylere göre kıyaslandığında artmış AH riskine sahiptir. Buna karşılık APOE $\epsilon 2$ alleli AH'a karşı koruyucu etkiye sahiptir: APOE $\epsilon 2/\epsilon 2$ genotipine (GOO 0,6) ya da $\epsilon 2/\epsilon 3$ (GOO 0,6) genotipine sahip bireylerde AH riski $\epsilon 3/\epsilon 3$ taşıyanlara göre daha düşüktür (Farrer ve ark., 1997).

APOE allel frekanslarının popülasyonlar arasında oldukça farklı oranlara sahip olduğu ortaya çıkmaktadır. Japon, Çin ve Maya Kızılderilileri diğer ırklara göre daha yüksek $\epsilon 3$ ve daha düşük $\epsilon 4$ allel frekansına sahiptirler. Yine $\epsilon 4$ alleli Güney Avrupa'ya göre Kuzey Avrupa'da daha yüksek bulunmuştur. $\epsilon 4$ alleli Finlandiya'da %20 sıklıkta iken Yunanistan'da %8,5 oranında görülmektedir (Hallman ve ark., 1991). Türkiye'de

yapılan çalışmalar sonucunda sağlıklı populusyonda APOE allel sıklığı $\epsilon_3 > \epsilon_2 > \epsilon_4$ olarak zetlenebilirse de oranlar yaklaşık olarak sırasıyla %80,3, %11,6 ve %8,1 şeklinde detaylandırılabilir (Duzenli ve ark., 2004).

APOE geninin ϵ_4 alleli ve Alzheimer hastalığı (AH) arasındaki ilişki, özellikle geç başlangıçlı AH hastalarında, birçok çalışmada dünya çapında doğrulanmıştır (Corder ve ark., 1993; Strittmatter, 1993). Bununla birlikte, bu birliğin gücü Kafkasya ve Japon nüfusunda daha güçlü iken Farrer ve ark APOE ϵ_4 alleli ile AH arasındaki ilişkinin zayıf olduğunu doğrulanmıştır. (Farrer ve ark., 1997). Ayrıca bazı yazarlar, ApoE genotip, bir gen doz etkisi ile hastalığın başlangıç yaşını modüle ettiğini ileri sürmüşlerdir (Corder ve ark., 1993).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Etik Koşullar

Yapılan tüm uygulamalarda Helsinki Bildirgesi ve Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün 1996 yılında yayınlamış olduğu kitaptaki etik kurallara uyulmuştur. Ek olarak Üsküdar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan onay alınmıştır (Ek 1. Etik Kurul Kararı: Tarih: 18.07.2017; Sayı: 2017/187).

3.2. Kan Örneklerinin Toplanması

Araştırma Maltepe Devlet Hastanesine başvuran ve yapılan muayene sonucunda DSM-IV tanı kriterlerine göre muhtemel AH tanısı almış 16 bireyden gönüllülük esasına bağlı kalınarak etik kurallar çerçevesinde rutin biyokimyasal analizlerinin yanında ekstra edinilmiş 1cc kan örnekleri toplanmıştır. Alınan kan örnekleri DNA izolasyonu gerçekleştirilmek üzere +4 °C'de saklanmıştır.

3.3. Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Kandan genomik DNA izolasyonu için, Invitrogen İzolasyon protokolü uygulanmış olup aşağıdaki basamaklarda sıralanmıştır.

1. 1,5 ml'lik eppendorf tüpüne 200ml soğuk kan alınmıştır.
2. Kan eklenen eppendorf tüpüne 20 µl Proteinaz K ve RNaz (ribonükleaz) eklendikten sonra vortekslenmiş ve 2 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
3. 200 µl Binding (bağlanma tamponu) tüpe eklenip karışım homojen hale getirilmiştir.
4. 55 °C'de 10 dk boyunca su banyosunda inkube edilmiştir.
5. 200 µl etanol eklenip, 5 saniye vortekslenip filtreli tüpe aktarılmıştır.
6. Süpernatant filtreli tüpe aktarılmıştır.
7. 10000 xg de 1 dakika 15 saniye santrifüj edildi, süzüntü atıldı ve filtreli tüpten tekrar alıcı tüpe yerleştirildi.
8. 500 µl Wash buffer 1 (yıkama tamponu) eklendi, 10000 xg de 1 dakika 15 saniye santrifüj edildi, süzüntü atıldı ve filtreli tüp tekrar eppendorf yerleştirildi.
9. 500 µl Wash buffer 2 (yıkama tamponu) eklendi, 16000 xg de 3 dk santrifüj edildi. Süzüntü atıldı, filtreli tüp tekrar eppendorf tüpüne yerleştirildi.

10. Süzüntü atılıp, filtrelili tüp eppendorf tüpüne yerleştirildi.
11. 80 µl Elution Buffer eklendi, oda sıcaklığında 1 dk inkübe edildikten sonra 16000 xg'de 1 dk santrifüj edildi.
12. Santrifüjden sonra filtrelili tüp atıldı. Böylece eppendorf tüpüne DNA indirilmiştir.
13. İzole edilen genomik DNA'lar -20°C' de saklanmıştır.

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Moleküler tıp ve moleküler biyoloji alanlarında büyük bir ilerlemeye sebep olan 'Polimeraz Zincir Reaksiyonu' (PZR) 1985 yılında Mullis ve arkadaşları tarafından keşfedilmiştir. PZR özgül bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in vitro bir yöntemdir. PZR ile sadece bir kaç saat içinde insan genomik DNA'sı gibi kompleks DNA kalıplarından özgül DNA parçalarının sentezinin gerçekleştirilebilir hale gelmesi, bu teknolojinin yaygınlaşmasında başlıca neden olmuştur.

Günümüzde bu teknolojiyi, allelik dizi varyasyonlarının tespit edilebilmesi ile adli tıp örneklerinin genetik tiplendirmesi (analık-babalık tayini) gibi tıbbın diğer kollarında, doku transplantasyonu için doku tipinin belirlenmesinde, tarımda (tohum saflığının belirlenmesi), sistematik ve evölüasyon çalışmaları gibi birçok alanda (doğadaki çeşitli canlı türlerinin tanısı, türler arası polimorfizmin belirlenmesi) kullanmak olası hale gelmiştir. PZR çift zincirli bir DNA molekülündeki hedef dizilere iki oligonükleotid primerin bağlanması ve uzaması esasına dayanır. Primerler, kalıp DNA molekülü denatüre edildikten sonra, tek iplikli DNA molekülleri üzerinde kendilerine tamamlayıcı olan bölgelere hibridize olurlar. Primerlerin özgül olarak dizilere bağlanması düşük sıcaklık derecelerinde gerçekleşir. DNA polimeraz enzimi, uygun tampon ve dört çeşit deoksiribonükleotit trifosfat (dNTP) varlığında primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlar. Böylece kalıp DNA ipliğine tamamlayıcı olan yeni DNA molekülü sentezlenmiş olur. Bir PCR döngüsü; denatürasyon, primerin bağlanması (annealing) ve uzama (extension) olarak adlandırılan üç aşamadan oluşur.

PZR'ın temel bileşenleri olan kalıp DNA molekülü, DNA polimeraz enzimi, primerler, dNTP karışımı, tampon ve MgCl₂ aynı zamanda PZR verimini de etkileyen önemli parametrelerdir (**Temizkan, 2007**).

3.4.1.APOE Geni Allellerinin PZR İle Çoğaltılması

APOE geni allelleri hedef bölgeye özgül primerler kullanılarak çoğaltılmıştır (Tablo 3.1.)

Tablo 3.1.

APOE geni allellerinin PZR ile çoğaltılması aşamasında kullanılan primer çifti ve ürün boyutunun gösterimi

Primer çifti	5'-3' dizisi	Ürün boyutu
APOE-F (ileri)	5'-GAACAACCTGACCCCGGTGGCG-3'	295 bp
APOE-R (geri)	5'-GGATGGCGCTGAGGCCGCGCTC-3'	

Not: Tablo 3.1.'de ki veriler Karaduman (2014); Alzheimer Hastalarında Psen1 Geni Mutasyon Taraması ve ApoE Genotiplendirmesi adlı çalışmadan alınmıştır.

APOE geni allellerinin çoğaltılması için gerekli koşulları sağlayan PZR karışımı, son hacim 25 µl olacak şekilde Tablo 3.2.'de belirtildiği şekilde hazırlanmıştır.

Tablo 3.2.

APOE geninin allellerinin çoğaltılması için kullanılan reaksiyon bileşen miktarları

Reaksiyon Bileşenleri	Miktar (µl)
Kalıp DNA	2 µl
10X PZR Tamponu Sigma®	2,5 µl
25 mM MgCl ₂ Sigma®	1,5 µl
2,5 mM dNTP karışımı	1,0 µl
İleri primer (F) (10 pmol / µl)	1,0 µl
Geri primer (R) (10 pmol / µl)	1,0 µl
DMSO	2,5 µl
Taq DNA polimeraz (Sigma®) (5U/ µl)	0,2 µl
Steril distile H ₂ O	13,5 µl
Toplam Hacim	25 µl

PZR aşağıda belirtilen koşullarda yapılmıştır.

95 °C’de 3 dakika	}	35 döngü
95 °C’de 30 saniye		
59 °C’de 30 saniye		
72 °C’de 30 saniye		
72 °C’de 7 dakika		

3.5. DNA Dizi Analizi

Çalışmamızda Sanger-Coulson zincir sonlanma yönteminden modifiye edilmiş mini dizileme metodu kullanılmıştır. Reaksiyon içerikleri Tablo 3.3’deki gibi hazırlanır.

Tablo 3.3.
TAS1R3 DNA Dizi Analizi Reaksiyon İçerikleri

Reaksiyon içeriği	Miktar (μl)
Steril su	1
SnapShot Mix	1
rs7412 T/C primeri	0,5
rs429358 T/C primeri	0,5
PZR rneklere	1
Toplam	4

TAS1R3 bölgesi için Dizileme döngü programı olarak:

96 °C’de 1 dakika	}	24 döngü
96 °C’de 10 saniye		
50 °C’de 5 saniye		
60 °C’de 30 saniye		

Tepkime tamamlandıktan sonra reaksiyon ürününden 1,5 μL ile 10 μL HI-DI Formamide ile karıştırılır ve ABI PRISM 3100 cihazına yüklenir (şekil 3.1). Örnekler E5 Matrixi kullanarak cihazda yürütülür. Elde edilen sonuçlar GeneMapper v4.0 software kullanarak analiz edilir. GeneMapper Software’inde analiz yapılırken. C

nükleotidi Siyah, G nükleotidi Mavi, A nükleotidi yeşil, T nükleotidi ise kırmızı sinyal verir.

Şekil 3.1.
ABI PRISM 3100 Cihazı



3.6. Verilerin İstatiksel Analizi

Verilerin analizinde SPSS 21.0 programı kullanılmıştır. APOE allel frekanslarının cinsiyete göre anlamlı bir farklılık olup olmadığı ki-kare (χ^2) testi ile değerlendirilmiştir ve muhtemel Alzheimer Hastalarında APOE ϵ_2 , ϵ_3 ve ϵ_4 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekanslarına uygun analiz yöntemleri kullanılarak, $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilerek veriler karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, muhtemel AH tanısı konulmuş 16 bireyde bulunan APOE geninin $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ allelleri için rs429358 ve rs7412 polimorfizmleri araştırılmıştır; bu, sağlıklı bireylerin yaşlanması sırasında AH riskini gösteren en önemli biyolojik belirteçtir. Çalışmada elde edilen bulgular şu şekilde özetlenebilir: Muhtemel Alzheimer Hastalarının demografik özellikleri Tablo 4.1. verilmiştir.

Tablo 4.1.

Muhtemel AH'nın demografik özellikleri

Cinsiyet	N=16	%
Kadın	7	43,8
Erkek	9	56,3
Yaş	Ort (x)	Ss
Kadın	85,14	3.39
Erkek	79,22	4.84
Toplam	81,81	5,12

Tablo 4.1.'den de anlaşıldığı gibi çalışmamıza; muhtemel GBAH teşhisi ile gönüllülük esasına bağlı kalarak ve etik kurallar çerçevesinde 7'si kadın (%43,8), 9'u erkek (%56,3) olmak üzere toplamda 16 birey katılmıştır. Hastaların yaş ortalaması 81,81(Ss=5,12)'dir.

Tablo 4.2.

APOE allel frekanslarının cinsiyete göre dağılımı

	APOE Allelleri			Toplam	P-value
	$\epsilon 2$ - $\epsilon 4$ ($\epsilon 1$ - $\epsilon 3$)	$\epsilon 3$ - $\epsilon 3$	$\epsilon 3$ - $\epsilon 4$		
Kadın	1 (6,3%)	4 (25%)	2 (12,5%)	7 (43,8%)	P=0,504*
Erkek	0 (0%)	6 (37,5%)	3 (18,8%)	9 (56,3%)	
Toplam	1 (6,3%)	10 (62,5%)	5 (31,3%)	16 (100%)	

p değeri ki-kare (χ^2) testi sonucunda elde edilmiştir.

APOE allel frekanslarının cinsiyete göre dağılımları istatistiksel açıdan değerlendirilmiş ve anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 4.2.) ($p>0.05$).

4.1. APOE Geni $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ Polimorfizmlerinin Genotip ve Allel Frekansı

APOE geni $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ polimorfizmleri bireylerde; $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ ve $\epsilon 4/\epsilon 4$ şeklinde olmak üzere toplam altı farklı genotip oluşturmaktadır. Çalışmamız kapsamında APOE geninde yer alan belirtilen polimorfizmler, muhtemel AH tanısı almış olan 16 hastada değerlendirilmiştir (Tablo 4.3.) (Şekil 4.1.).

Tablo 4.3.

Muhtemel Alzheimer Hastası bireylerde (n=16) APOE genotip ve allel frekanslarının dağılımı

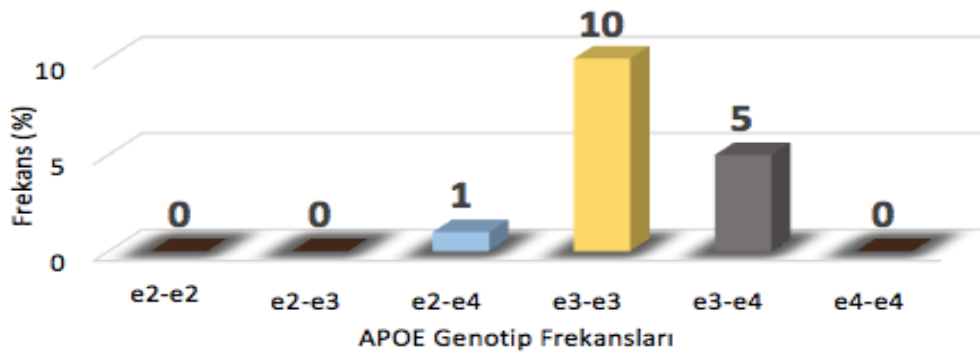
(n=16)		%
Genotip Frekansları	$\epsilon 2/\epsilon 4$	1(%6,3)
	$\epsilon 3/\epsilon 3$	10(%62,5)
	$\epsilon 3/\epsilon 4$	5(%31,3)
Allel Frekansları	$\epsilon 2$	1(%3,13)
	$\epsilon 3$	25(%78,13)
	$\epsilon 4$	6(%18,8)

Tablo 4.3’de görüldüğü gibi AH rastlanan genotip frekansları dağılımı sırasıyla $\epsilon 2/\epsilon 4$; 1 (%6,3), $\epsilon 3/\epsilon 3$; 10 (%62,5), $\epsilon 3/\epsilon 4$; 5 (%31,3)’dir. Allel frekansları dağılımı ise; $\epsilon 2$; 1(%3,13), $\epsilon 3$; 25 (%78,13), $\epsilon 4$; 6 (%18,8)’dir.

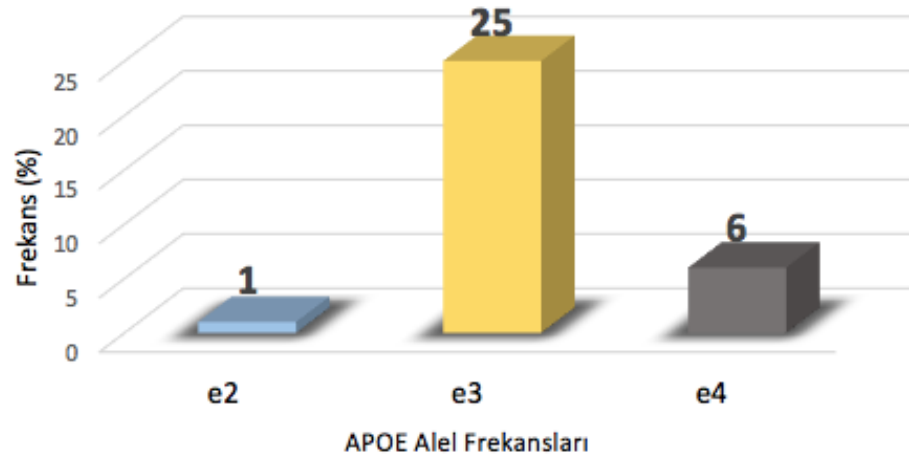
Şekil 4.1.

Muhtemel Alzheimer Hastası bireylerde (n=16) APOE (a) genotip ve (b) allel frekanslarının dağılımı

(a)



(b)



APOE rs7412 C/T polimorfizmi açısından bireyler CC, CT ve TT olmak üzere üç genotipe sahiptir. APOE geni ϵ 2, ϵ 3 ve ϵ 4 polimorfizmlerine ilişkin genotipleme çalışmasına ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı Tablo 4.4.'de verilmiştir.

Tablo 4.4.

APOE rs7412 ve rs429358 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekanslarının muhtemel AH tanısı almış bireylerde dağılımı

(n=16)				
Genotip Frekansları			Allel Frekansları	
rs7412	CC	15(%94)	C	31(%97)
	CT	1(%6)	T	1(%3)
	TT	0		
rs429358	CC	0	C	6(%19)
	CT	6(%37,5)	T	26(%81)
	TT	10(%62,5)		

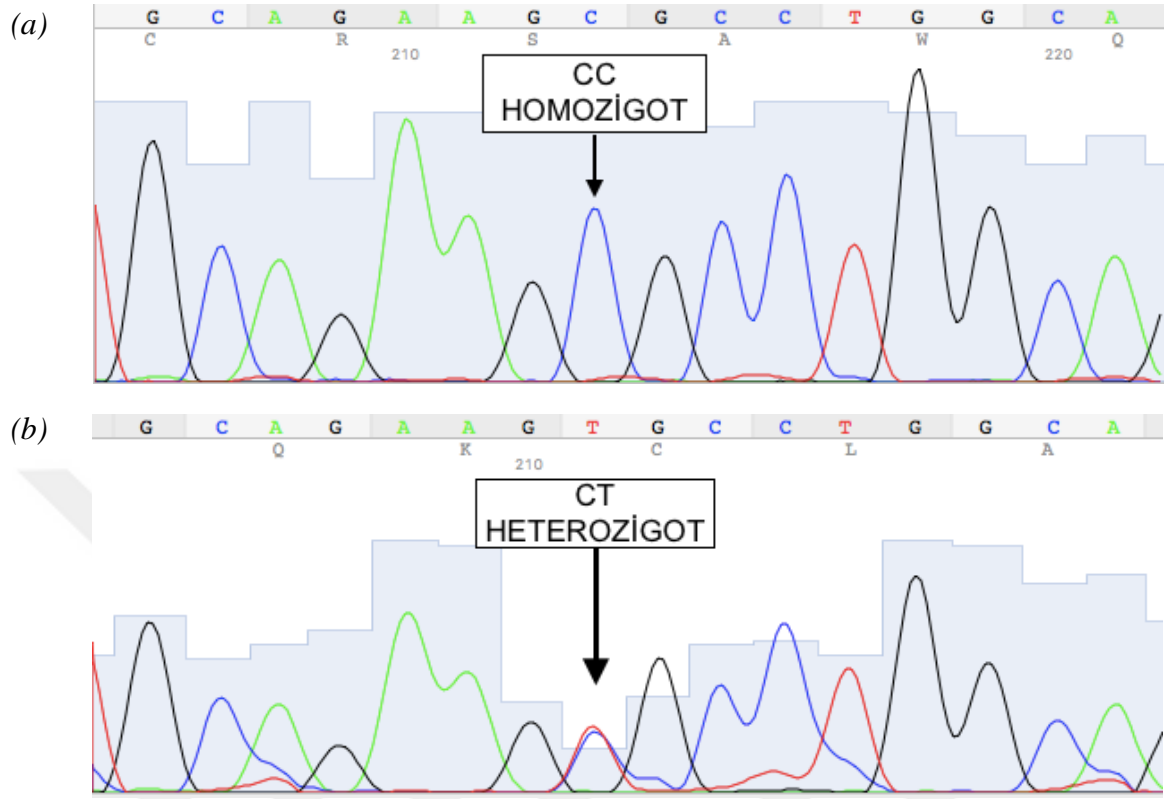
4.2. APOE Geni rs7412 ve rs429358 polimorfizmlerinin Dizi Analizi

Kromatogramları

ABI PRISM 3100 Cihazında analiz edilen APOE gen polimorfizm sonuçları ϵ 3/ ϵ 4 polimorfizmi (Şekil 4.3.) ve ϵ 3/ ϵ 3 polimorfizmi (Şekil 4.2.) olarak gösterilmiştir.

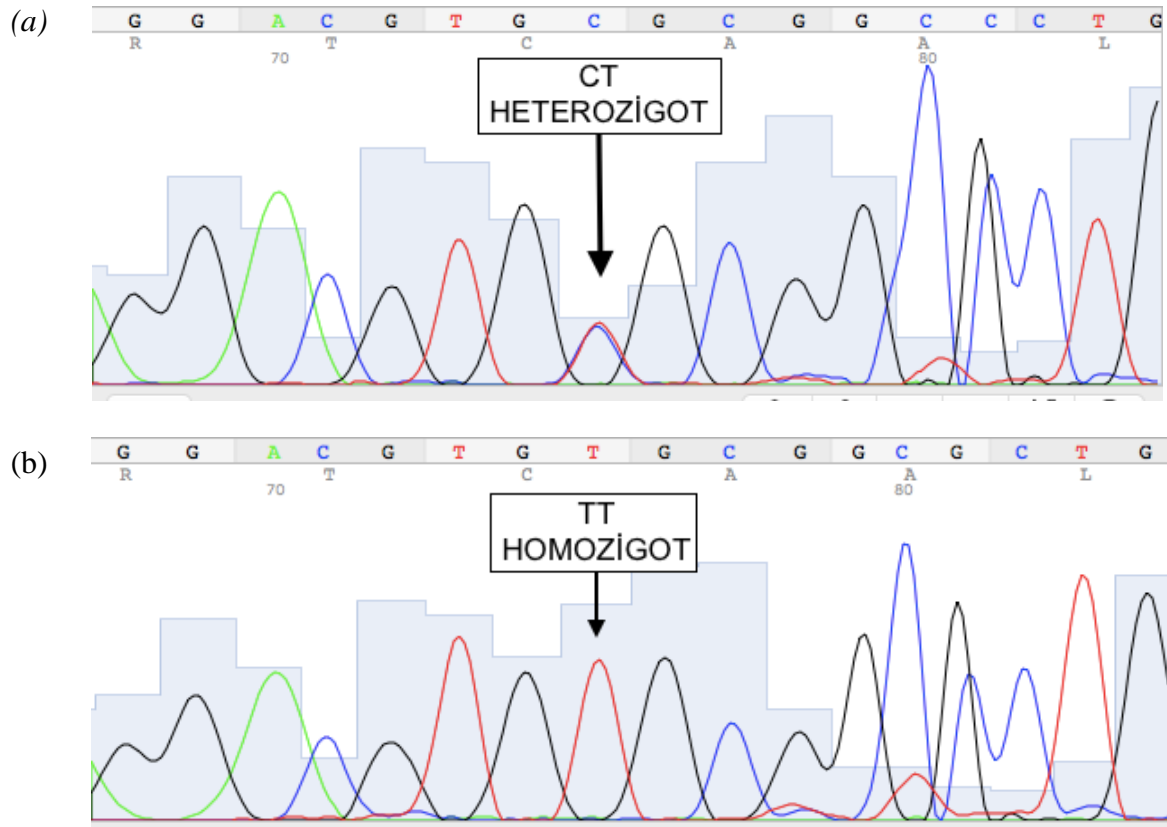
Şekil 4.2.

APOE rs7412 polimorfizminin a) CC genotipinin b) CT genotipinin Sanger Dizi Analizi Sonucu



Şekil 4.3.

APOE rs429358 polimorfizminin a) CT genotipinin b) TT genotipinin Sanger Dizi Analizi Sonucu



5. TARTIŞMA

Alzheimer Hastalığı (AH); merkezi sinir sisteminin (MSS) çeşitli bölümlerinde sinaps ve nöron kayıplarına neden olarak; bilişsel işlevlerde yetersizlik, bir takım davranışsal ve nöropsikatrik bozukluklar ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır (**Özkay ve ark., 2011**). Genetik ve çevresel faktörlerin birçoğu AH gelişime etkisi birçok çalışmada ispatlanmış olup hastalığın seyri ve başlangıç yaşını etkilemektedir. Bu faktörlerin birçoğunun AH patogeneze önemi, katkısı ve etkileşimi halen tamamen anlaşılabilir değildir. AH mekanizmasının aydınlatılması için birçok araştırmaya ihtiyaç vardır. AH için birçok risk gen belirlenmiş fakat bu genlerin hastalık ile ilişkileri yapılan araştırmalarla tam olarak doğrulanamamış ve bu aday genlerin hastalık ile ilişkilerinin incelendiği çalışmalarda birbirinden farklı birçok sonuç elde edilmiştir (**Ertekin Taner, 2010**).

Çalışmamız da muhtemel AH tanısı konulmuş 16 bireyde *APOE* genine ait $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ allelleri incelenmiştir. *APOE* rs7412 ve rs429358 polimorfizmleri taranmıştır.

5.1 *APOE* Geni $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ Polimorfizmleri ile Alzheimer Hastalığı'nın İlişkisi

APOE geni 19. kromozomun uzun kolunda yer alan; 4 ekzon ve 3 introna sahip 3597 bp uzunluğunda bir gendir ve 299 amino asitten oluşan 34 kDA moleküler ağırlığa sahip bir proteini kodlamaktadır (**Karaduman, 2014**). Apolipoprotein E (ApoE), beyindeki lipit (yağ) taşınması ve hasar onarımını destekleyen önemli bir kolesterol taşıyıcısı olmakla birlikte 3 allelik forma sahiptir (**Liu ve ark., 2013**).

En eski çalışmalarda AH hastalarının %62'sinin otopsi yapılanlar arasında $\epsilon 4$ allelinin taşıyıcıları olduğu bildirilmiştir ve $\epsilon 4$ alleli taşıyıcılığının AH'nın başlangıç yaşına ve hastalığın gelişim sürecine etkisi ispatlanmıştır. (**Adalbert ve ark., 2007; Rebeck ve ark., 1993**). GBAH'nın genetik faktörlerinden yalnızca ApoE'nin $\epsilon 4$ alleli tüm çalışmalarda tutarlı bir şekilde hastalığın risk faktörü olduğu gösterilmiştir (**Strittmatter, 1993**).

Beyindeki *APOE* sentez mekanizmaları henüz tam olarak bilinmemektedir. AH hastalarında yapılan birçok çalışma, *APOE* $\epsilon 4$ allelinin bir taşıyıcısı olmasının sadece AH riskini arttırmakla kalmayıp aynı zamanda hastalığın başlangıç yaşını da hızlandırdığını göstermiştir (**Seshadri ve ar., 2010**).

Yaptığımız bu çalışmada muhtemel AH tanısı konulmuş 16 bireyin *APOE* geninde ki $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ polimorfizmlerinin genotip frekansları $\epsilon 2$ - $\epsilon 4$ (%6,3, $\epsilon 3$ - $\epsilon 3$

(%62,5), ϵ_3 - ϵ_4 (%31,3) olarak bulunmuştur. APOE allel frekanslarının cinsiyete göre dağılımları istatistiksel açıdan değerlendirilmiş ve anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Selkoe'nin yaptığı bir çalışmada (1996); AH'nın patofizyolojisini şöyle tanımlar; APOE, TAU proteini ve amiloid β ile etkileşime girerek nörofibriller yumakları ve yaşlılık plaklarını etkiler. In vitro çalışmalar, APOE'nin ϵ_3 allelinin aksine ϵ_4 , amiloid β ile oldukça kararlı bir kompleks oluşturduğunu ve immünoaktif plakların sayısının, çapının ve yoğunluğunun APOE genotipi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Amiloid β plaklarının ϵ_4/ϵ_4 alleli taşıyan bireyleri ϵ_3/ϵ_3 alleleline sahip kişilerle karşılaştırıldığında daha yaygın ve daha büyük olduğu bilinmektedir. Bu çalışmamızda AH olan bireylerde ϵ_4/ϵ_4 genotipi tespit edilmemiştir.

APOE'nin ϵ_3 alleli, en yaygın form olup ana form olarak öngörülmüştür. AH patofizyolojisinde APOE ϵ_4 bir risk faktörü olarak kabul edilirken APOE ϵ_2 bazı çalışmalarda koruyucu bir faktör olarak kabul edilmektedir (**Parasuraman ve ark., 2012**). ϵ_2 allelinin AH üzerinde hiçbir koruyucu etkisi olmadığı veya hastalığın önemli ölçüde azaltılmış riski ile ilişkili olduğu da gösterildi. Bu nedenle, her iki allel (ϵ_2 ve ϵ_3) AH için risk faktörü olarak düşünülmezken, ϵ_4 AH için yüksek risk faktörü olarak düşünülmüştür (**Lahiri ve ark., 2004**).

Alzheimer hastalarında APOE allel frekanslarıyla ilgili bir dizi çalışma, AH hastalarında ϵ_2/ϵ_2 allel genotipinin görülmediğini ancak ϵ_4/ϵ_4 allelinin kontrol gruplarında (sağlıklı bireylerde) oldukça nadiren veya bulunmadığını ortaya koymuştur (**Lavados ve ark., 2005**) Yapılan bir dizi çalışmada da bizim çalışmamıza benzer bir şekilde AH bireylerinde ϵ_2/ϵ_2 alleleline rastlanılmamıştır (**Rassas ve ark., 2012; Darawi ve ark., 2013; Selkoe, 1996; Parasuraman ve ark., 2012; Kaya ve ark., 2015**).

Souza ve arkadaşlarının (2003) yaptığı çalışmada hasta grubunda ϵ_3/ϵ_4 genotip frekansının, kontrol grubunda ise ϵ_3/ϵ_3 genotip frekansının anlamlı düzeyde yüksek olduğu rapor edilmiştir. Hasta grubunda ϵ_2/ϵ_2 genotipine sahip bireylere rastlanmaması ve yine hasta grubunda ϵ_2/ϵ_4 genotipli bireylerin varlığı ile çalışmamıza benzerdir.

Çalışmamızda ϵ_3/ϵ_3 genotipi da en sık görülen genotiptir. Hastalarımızda en az bir ϵ_4 alleli taşıyıcı olma sıklığı 6(%18,8)'dir. Önceki çalışmaları, çalışmamızda teyit ettiğimiz gibi ϵ_3 allelinin popülasyonda en sık görülen genotip olduğu gösterilmiştir. APOE allellerinin frekanslarla literatürle karşılaştırılması Tablo 5.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 5.1.*APOE allellerinin frekanslarının literatürle karşılaştırılması*

Kaynaklar	APOE alleli					
	Alzheimer Hastaları					
	$\epsilon 2/\epsilon 2$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/\epsilon 4$	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 2/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 4$
(Rassas ve ark., 2012)	-	%35,0	%17	%4,0	%9,0	%35,0
(Darawi ve ark., 2013)	-	%74,3	%2,9	%5,7	%2,9	%14,3
(Selkoe, 1996)	-	%63,2	-	%7,4	-	%29,4
(Parasuraman ve ark., 2012)	-	%53	%5,0	%1,0	-	%41,0
(Kaya ve ark., 2015)	-	%58,5	%5,7	%7,5	-	%28,3
(Şuan ki çalışma)	-	%62,5	-	-	%6,3	%31,3

Öte yandan, APOE $\epsilon 4$ alleli AH için güçlü bir risk faktörü olmasına rağmen, çoğu APOE $\epsilon 4$ taşıyıcısı demans geliştirmez ve $\epsilon 4$ allelinin varlığı sınırlı olmakla birlikte, AH'nın yaklaşık yarısı APOE $\epsilon 4$ ile ilişkili değildir (**Myers ve ark., 1996**). Literatürde APOE genotiplendirmesinin tanı testi için kullanılmaması konusunda fikir birliği vardır (**Alzheimer's Association, 1996**). Bütün bu çalışmalar demans gelişiminde rol oynayan diğer genetik ve çevresel faktörlerin de etkili olduğunun ispatıdır.

Literatürdeki çok sayıdaki çalışmadan farklı olarak, APOE $\epsilon 4$ allelinin AH için bir risk faktörü olmadığını iddia eden çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar, Kenya (**Gureje ve ark., 2006**), Nijerya (**Heckmann ve ark., 2004**) ve Kamerun'da yaşayan Afrikalılar ve Nil bölgesinden (**Osuntokun ve ar., 1995**) oluşan AH serilerini ele almıştır. Dahası, bunlar Afrikalı Amerikalılar ve İspanyol Amerikalılarla ilgili çalışmalarla desteklendi (**Hendrie ve ark., 1995**).

Bu tartışmalı sonuçlar, AH ile ilişkili APOE $\epsilon 4$ allelinin diğer aktif genler ve potansiyel çevresel etkiler ve etnik faktörler tarafından etkilenip değiştirilebileceğini düşündürülebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak literatürden edinilen genetik bulgular ile çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde AH'nın tek bir etiyolojik faktörden kaynaklanmadığı ancak etiyolojisinde rol oynayan çoklu risk faktörlerinin bulunduğu anlaşılmıştır. Ayrıca yapılan literatür taramasında ülkemizde *APOE* allel ve genotip frekanslarının ise çalışmalar bazında farklılık gösterdiği görülmüştür. Bu nedenle *APOE* allel ve genotipleri dağılımları inceleyen bu çalışmamız Türkiye'de yapılan çalışmalara katkı sağlaması açısından önem arz etmektedir.

Çalışmamızda AH arasında *APOE* allel frekanslarının cinsiyete göre dağılımları değerlendirilmiş fakat anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Bununla birlikte hasta grubunda $\epsilon 2/\epsilon 4$ genotipli bireylerin varlığı ile $\epsilon 3$ allelinin popülasyonda en sık görülen genotip olduğu teyit ederek yine literatürde ki bazı çalışmalar ile de paralellik göstermiştir. Hastalarımızda en az bir $\epsilon 4$ alleli taşıyıcı olma sıklığı 6 (%18,8)'dir.

Çalışmamız küçük bir örneklemden oluşmaktadır. Özellikle Türkiye'nin tamamını temsil etme açısından, Türkiye'nin farklı illerinden gelen hasta serileriyle ilgilenen ve daha fazla aday gen ve polimorfizmi araştıran daha geniş hasta ve kontrol grupları kullanılarak farklı coğrafi bölgeler ve sosyokültürel sınıfları içeren daha fazla çalışma gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Adalbert, R., Gilley, J., Coleman, MP., 2007, A beta, tau and ApoE4 in Alzheimer's disease: the axonal connection, *Trends Mol Med.*; 13: 135–142.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for Chloroform. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service; 1997.
- Alzheimer's Association, 2017 Alzheimer's disease Facts and Figures, Alzheimer's & Dementia; <http://www.alz.org/10-signs-symptoms-alzheimers-dementia.asp>, Ulaşım tarihi: 15 Mayıs 2017.
- Baysal, Aİ., Yeşilbudak Z., 2003, Alzheimer Hastalığının Klinik Bulguları, *Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi.*; 1(1):1-5.
- Bıyıklı, A.E. ve Şanlıer N., 2014, Alzheimer hastalığı ve beslenme, *Genel Tıp Dergisi*;24(Ek 2):62-65.
- Bales, R. K., 2010, Brain lipid metabolism, apolipoprotein E and the pathophysiology of Alzheimer's disease, *Neuropharmacology*, 59: 295-30.
- Boschert, U., Merlo-Pich, E., Higgins, G., Roses, AD., Catsicas, S., 1999, Apolipoprotein E expression by neurons surviving excitotoxic stress. *Neurobiol Dis.*; 6: 508–514.
- Cankurtaran, M., Arıoğul, S., 2006, Alzheimer Hastalığı Risk Faktörleri, In: Arıoğul S, ed. *Geriatri ve Gerontoloji*. 1. Basım Ankara: MN Medial ve Nobel, 953-968.
- Corder, EH., Saunders, AM., Strittmatter, WJ., ve ark., 1993, Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families, *Science*;261:921-923.
- Darawi, M.N., Ai-Vyrn, C., Ramasamy, K., Hua, P.P., Pin, T.M., Kamaruzzaman, S.B., Majeed, A.B., 2013, Allele-specific polymerase chain reaction for the detection of Alzheimer's disease-related single nucleotide polymorphisms. *BMC Med Genet*; 14: 27.
- Davinelli, S., Intrieri, M., Russo, C., Di, Costanzo, A., Zella, D., Bosco, P., Scapagnini, G., 2011, The "Alzheimer's disease signature": potential perspectives for novel biomarkers, *Immun Ageing*; 20: 8–18.
- Duyckaerts, C., Panchal, M., Delatour, B., Potier, MC., 2009, Morphologic and molecular neuropathology of Alzheimer's disease, *Ann Pharm Fr.*; 67(2):127- 35.
- Duzenli, S., Pirim, I., Gepdiremen, A., Deniz, O., 2004, Apolipoprotein E polymorphism and stroke in a population from eastern Turkey., *Journal of Neurogenetics*,18 (1),365-375.
- Eker, E., 2008, Alzheimer Hastalığı, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, S:85-110.
- Erşen, G., 2015, Alzheimer Hastalarında DNA Polimorfizmi, Uzmaklık Tezi, İstanbul Üniversitesi, Nöroloji Anabilim Dalı.
- Ertekin Taner, N., 2010, Genetics of Alzheimer's disease: Lessons Learned in Two Decades, *Turkish Journal of Neurology*, 16:1-11.
- Farrer, L. A., ve ark., 1997, Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: a meta-analysis. *Journal American Medical Association*, 278, 1349–1356.
- Fisher, GG., Stachowski, A., Infurna, FJ., Fau, I JD., Grosch, J., Tetrick, L.E., 2014, Mental work demands, retirement, and longitudinal trajectories of cognitive functioning, *J Occup Health Psychol*;19(2):231-42.
- Fratiglioni, L., Ahlbom, A., Viitanen, M., Winblad, B., 1993, Risk factors for late-onset Alzheimer's disease: A population-based, case-control study, *Ann Neurol*; 33(3):258-66.
- Ganguli, M., Dodge, H.H., Chen, P., Belle, S., DeKosky, S.T., 2000, Ten year incidence of dementia in a rural elderly US community population: The Movies Project, *Neurology*, 54(5), 1109-1116.
- Gao, S., Hugh, C., Hendrie, M.B., Hall, K.S., Hui, S., 1998, The Relationships Between Age, Sex and The Incidence of Dementia and Alzheimer Disease, *Archives of General Psychiatry*, 55, 809-815.
- Gureje O, Ogunniyi A, Baiyewu O, Price B, Unverzagt FW, Evans RM, Smith-Gamble V, Lane KA, Gao S, Hall KS ve ark., 2006, APOE ε4 is not associated with Alzheimer's disease in elderly Nigerians. *Ann Neurol*; 59: 182–185.
- Gürvit, H., 2004, Sinir Sisteminin Dejeneratif Hastalıkları. Demans Sendromu, Alzheimer Hastalığı ve Alzheimer Dışı Demanslar., In: Öge AE; eds. *Nöroloji*. İstanbul: Nobel Matbaacılık:367-415.
- Gürvit, H., Emre, M., Tinaz, S., ve ark., 2008, The prevalence of dementia in an urban Turkish population. *Am J Alzheimers Dis Other Dement*; 23(1): 67-76.
- Hallman, D.M., Boerwinkle, E., Saha, N., et al., 1991, The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of the allele frequencies and effects nine populations, *American Journal of Human Genetics*, 49 (2):338-349.

Harris, CD., Watson, KB., Carlson, SA., Fulton, JE., Dorn, JM., Elam-Evans, L., 2013, Adult Participation in aerobic and musclestrengthening physical activities — United States, 2011. *Morb Mortal Wkly Rep*;62(17):326-30.

He, W., Goodkind, D., Kowal, P., 2016, U.S. Census Bureau, International Population Reports, P95/16-1, An Aging World: 2015, U.S. Government Publishing Office, Washington DC.

Hebert, LE., Bienias, JL., Aggarwal, NT., Wilson, RS., Bennett, DA., Shah, RC., ve ark., 2010, Change in risk of Alzheimer disease over time. *Neurology*;75:786-91.

Heckmann JM, Low WC, De Villiers C, Rutherford S, Vorster A, Rao H, Morris CM, Ramesar RS, Kalaria RN., 2004, Novel presenilin 1 mutation with profound neurofibrillary pathology in an indigenous Southern African family with early-onset Alzheimer's disease. *Brain*; 127: 133–142.

Hebert LE, Weuve J, Scherr PA, Evans DA. 2013, Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 Census. *Neurology*; 80(19):1778-83.

Hendrie HC, Hall KS, Hui S., 1995, Apolipoprotein E genotypes and Alzheimer's disease in a community study of elderly African Americans. *Ann Neurol*; 37: 118–121.

Karaduman, T., 2014, Alzheimer Hastalarında Psen1 Geni Mutasyon Taraması ve Apoe Genotiplendirmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı.

Katzman, R., 1976, The prevalence and malignancy of Alzheimer disease: A major killer, *Arch Neurol*;33(4):217-18.

Kaya, G., ve ark., 2015, Potential genetic biomarkers in the early diagnosis of Alzheimer disease: APOE and BIN1. *Turkish journal of medical sciences*, 45.5: 1058-1072.

Kochanek KD, Murphy SL, Xu JQ, Tejada-Vera B., 2016, Deaths: Final Data for 2014. *National Vital Statistics Reports*; vol 65, no 4. Hyattsville, Md.: National Center for Health Statistics.

Lahiri, DK., Sambamurti, K., and Bennett, DA., 2004, Apolipoprotein gene and its interaction with the environmentally driven risk factors: molecular, genetic and epidemiological studies of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*; 25: 651–660.

Lautenschlager, NT., Cupples, LA., Rao, VS., Auerbach, SA., Becker, R., Burke, J., ve ark., 1996, Risk of dementia among relatives of Alzheimer's disease patients in the MIRAGE Study: What is in store for the oldest old ?, *Neurology*;46(3):641-50.

Lee, TC., Glynn, RJ., Peña, JM., Paynter, NP., Conen, D., Ridker, PM., ve ark., 2011, Socioeconomic status and incident type 2 diabetes mellitus: Data from the Women's Health Study, *PLoS One*;6(12): e27670.

Liu, C.C., Kanekiyo, T., Xu H., Bu, G., 2013, Apolipoprotein E and Alzheimer disease risk, mechanisms and therapy, *Nature Reviews Neurology*.

Loy, CT., Schofield, PR., Turner, AM., Kwok, JBJ., 2014, Genetics of dementia, *Lancet*; 383:828-40.

Mahley, RW., Rall, SC., Jr., 2000, Apolipoprotein E: Far more than a lipid transport protein, *Annu Rev Genomics Hum Genet*;1:507–37.

McDowell, I., Xi, G., Lindsay, J., Tierney, M., 2007, Mapping the connections between education and dementia, *J Clin Exp Neuropsychol*;29(2):127-41.

Myers RH, Schaefer EJ, Wilson PW, D'Agostino R, Ordovas JM, Espino A, Au R, White RF, Knoefel JE, Cobb JL ve ark., 1996, Apolipoprotein E ε4 association with dementia in a populationbased study: the Framingham study. *Neurology*; 46: 673– 6677.

National Center for Health Statistics, 2002, Deaths: Final Data for 2000. *National Vital Statistics Reports*. Hyattsville, Md.: National Center for Health Statistics.

National Institute on Aging/Alzheimer's Association Working Group, 1996, Apolipoprotein E genotyping in Alzheimer's disease. *Lancet*; 347: 1091–1095.

Neil Lava, MD., 2017, Understanding Alzheimer's Disease: the Basics; <http://www.webmd.com/alzheimers/guide/understanding-alzheimers-disease-basics>, Ulaşım tarihi: 15 Mayıs 2017.

O'Neil M., 2006, *The Merck Index*. 14th edition. New Jersey: Merck & Co.

Osuntokun BO, Sahota A, Ogunniyi AO, Gureje O, Baiyewu O, Adeyinka A, Oluwole SO, Komolafe O, Hall KS, Unverzagt FW ve ark., 1995, Lack of an association between apolipoprotein E epsilon 4 and Alzheimer's disease in elderly Nigerians. *Ann Neurol*; 38: 463–465.

Özkay, Ü.D., Öztürk, Y., Can, Ö.D., 2011, Yaşlanan Dünyanın Hastalığı: Alzheimer Hastalığı, *S.D.Ü. Tıp Fak. Dergisi*;18(1) / 35-42.

Parasuraman, R., Greenwood, P.M., Sunderland, T., 2002, The apolipoprotein E gene, attention, and brain function. *Neuropsychology*; 16: 254–274.

Puissant, C. and L.M. Houdebine, 1990, "An Improvement of the Single-Step Method of RNA Isolation by Acid Guanidinium Thiocyanate-Phenol-Chloroform Extraction", *BioTechniques* 8:148-149.

- Rapp, Stephen, R., ve ark., 2003, "Effect of estrogen plus progestin on global cognitive function in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Memory Study: a randomized controlled trial." *Jama* 289.20:2663-2672.
- Rassas, A.A., Mrabet, K.H., Hadj, F.S., Sahnoun, S., Batti, H., Oudiaa, Z.N., Cherif, A., Anane, N., Ben, A.N., Messaoud, T., et al., 2012, High APOE epsilon 4 allele frequencies associated with Alzheimer disease in a Tunisian population. *Neurol Sci*; 33: 33–37.
- Rebeck, G., Reiter, J., Strickland, D., Hyman, B., 1993, Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: allelic variation and receptor interactions, *Neuron*; 11: 575–580.
- Reitz, C., & Mayeux, R. 2014, Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochemical pharmacology*, 88(4), 640-651.
- Roses, AD., 1996, Apolipoprotein E alleles as risk factors in Alzheimer's disease. *Annu Rev Med*; 47:387-400.
- Saka, E., 2010, Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisi: Deneysel ve Genetik Bulgular, *Turkish Journal Of Geriatrics*, 13(3):21-26.
- Sando, SB., Melquist, S., Cannon, A., Hutton, M., Sletvold, O., Saltvedt, I., ve ark., 2008, Risk-reducing effect of education in Alzheimer's disease, *Int J Geriatr Psychiatry*; 23(11):1156-62.
- Saunders, AM., Strittmatter, WJ., Schmechel, D., George-Hyslop, PH., Pericak-Vance, MA., Joo SH, ve ark., 1993, Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*; 43:1467-72.
- Selekler, K., 2010, Alois Alzheimer and Alzheimer Disease, *Turkish Journal of Geriatrics*, 13(3): 9-14.
- Selkoe, D.J., 1996, Amyloid β protein and the genetics of Alzheimer's disease. *J Biol Chem*; 271: 18295–18300.
- Seshadri S, Fitzpatrick AL, Ikram MA, DeStefano AL, Gudnason V, Boada M, Bis JC, Smith AV, Carassquillo MM, Lambert JC ve ark., 2010, Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease. *JAMA*; 303: 1832– 1840.
- Shore, V.G., Shore, B., 1973, Heterogeneity of human plasma very low density lipoproteins and separation of species differing in protein components, *Biochemistry*, 12 (3), 502-507.
- Solomon, B., 2002, Protective Molecules in Alzheimer 's disease: Therapeutic Antibodes, *Drug News Perspectives*, 15(7): 410.
- Souza, D.R., De Godoy, M.R., Hotta, J., Tajara, E.H., Brandoa, A.C., Pinheiro Junior S., Tognola W.A., dos Santos, J.E., 2003, Association of Apolipoprotein E polymorphism in late-onset Alzheimer's disease and vascular dementia in Brazilians, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36(7), 919-923.
- Stenesh, J., 1989, *Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology*. 2nd edition. New York: John Wiley & Sons.
- Steptoe, A., Marmot, M., 2005, Socioeconomic status and coronary heart disease: A psychobiological perspective, In: White LJ, ed. *Aging, Health, and Public Policy.*, Population Council, New York.
- Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, et al., 1993, Apolipoprotein E: high avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial AD. *Proc Natl Acad Sci*; 90:1977-81.
- Temizkan, G., Arda, N., 2007, Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, *Nobel Tıp Kitabevleri*, 3.Baskı,102-103.
- Yavlal, F., ve Güngör, H., A., 2016, *Demansa Klinik Bulgular*.
- Zandi, P.P., Carlson, M.C., Plassman, B.L., ve ark., 2002, Cache County Memory Study Investigators, Hormone replacement therapy and incidence of Alzheimer disease in older women: the Cache County Study, *Journal of The American Medical Association*, 288:2123-9.
- Zheng, L., Minguez, C.A., Hallbeck, M., Jerhammar, F., Marcusson, J., and Terman, A., 2012, Intracellular distribution of amyloid beta peptide and its relationship to the lysosomal system, *Translational Neurodegeneration*, 1:19

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Kararı



info@uskudar.edu.tr

Altunizade Mah. Haluk Türksoy Sk. No:14, 34662 Üsküdar / İstanbul / Türkiye
Tel: +90 216 400 22 22 Faks: +90 216 474 12 56

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

SAYI: B.08.6.YÖK.2.ÜS.0.05.0.06 /2017 /187

18.07.2017

Sayın Prof. Dr. Muhsin Konuk
(Hatice Gazioğlu)

Üsküdar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun 10 Temmuz 2017 tarihinde, 07 No.lu toplantısında değerlendirmeye almış olduğu "**Alzheimer Hastalığı ile Apolipoprotein E Genotipleme Üzerine Bir Çalışma**" adlı araştırma projenizin etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

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

Ek 2. Özgeçmiş

Adı Soyadı :Hatice GAZİOĞLU

Doğum Tarihi :08.01.1992

E-posta :haticegazioglu@gmail.com

İkamet :İSTANBUL

Eğitim Durumu

2006-2010 **Alaplı Anadolu Lisesi**

Ortaöğrenim – Türkçe-Matematik

2010-2014 **İstanbul Ticaret Üniversitesi**

Fen-Edebiyat Fakültesi – Psikoloji Lisans Programı

2015-2017 **Üsküdar Üniversitesi**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü – Nörobilim Tezli Yüksek Lisans Programı

Yabancı diller

İngilizce

Çalıştığı Kurumlar

2011 Aralık – 2012 Ocak :**Bezmialem Vakıf Üniversitesi**

Psikiyatr Anabilim Dalı – Klinik Psikoloji Stajı

2012 Haziran – 2012 Temmuz :**Bahçelievler Cemre Anaokulu**

Temel Gelişim Stajı

2013 Eylül – 2013 Ekim :**Erenköy Ruh ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve**

Araştırma Hastanesi

Psikiyatr Anabilim Dalı – Klinik Psikoloji Stajı

2014 Kasım – Halen :**İstanbul Üniversitesi Açık ve Uzaktan Eğitim**

Fakültesi

Eğitim Öğretim Süreçleri – Özel Gereksinimli Öğrenciler Şube Sorumlusu

Klüpler Görevleri

2012-2013: İstanbul Ticaret Üniversitesi Psikoloji Klübü Başkan Yardımcılığı

2013-2014: İstanbul Ticaret Üniversitesi PARK (Proje ve Araştırma) Klüp

Başkan Yardımcılığı

Aldığı Eğitimler

12.2014: İstanbul Üniversitesi Açık ve Uzaktan Eğitim Fakültesi; *TSE ISO 9001 Kalite Yönetim Sistemi* Temel Eğitimi,

01.2015: İstanbul Üniversitesi Açık ve Uzaktan Eğitim Fakültesi; *Protokol Eğitimi* – Nihat AYTÜRK,

03.2015: İstanbul Üniversitesi Açık ve Uzaktan Eğitim Fakültesi; *TSE ISO 10002 Müşteri Memnuniyeti ve Şikâyet Yönetim Sistemi* Temel Eğitim, Dokümantasyon ve İç Tetkiki Eğitimi – Ömer GÜN

10.2016: Acıbadem Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Uygulama ve Araştırma Merkezi (ACUDEHAM); *Deneysel Hayvanlar Kullanım Eğitimi*

Aldığı Sertifika ve Belgeler

- 02.2011: Arel Üniversitesi – 1. Psikoloji Günleri
04.2011: İstanbul Ticaret Üniversitesi – Psikoloji Günleri
02.2012: PSİKODRAMA ve Grup Terapileri Derneği – “Aldatma” Konulu
Söyleşi
05.2012: İstanbul Üniversitesi – Psikoloji Günleri “İkinci Adım Tedavi”
05.2012: Beykent Üniversitesi – 2. Psikoloji Günleri
11.2012: İstanbul Ticaret Üniversitesi – “Evlilik Okulu” Eğitim Programı
12.2012: Citibank-Tugsel Akyol Eğitim ve Yetenek Geliştirme Müdürü – “Lider
Gelişim Programlarımız Ne Kadar Etkili”
04.2013: İstanbul Ticaret Üniversitesi Psikoloji Günleri – “Hayatımızın Yapı
Taşları”
05.2013: İstanbul Üniversitesi – 3. Psikoloji Günleri
05.2013: Beykent Üniversitesi – 3. Psikoloji Günleri
10.2016: Acıbadem Üniversitesi – Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

