

**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DEMANSLI HASTALARDA ASETİLKOLİNESTERAZ AKTİVİTESİ VE**  
**OKSİDATİF STRESİN**  
**ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİM İNHİBİTÖRLERİ İLE DEĞİŞİMİ**

**DOKTORA TEZİ**

**HALİDE EDİP TEMEL**

**DANIŞMAN: PROF. DR. MİNE ERDEN İNAL**

**KASIM/2008**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

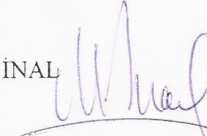
Halide Edip TEMEL'in Doktora Tezi olarak hazırladığı "Demanslı hastalarda asetilkolinesteraz aktivitesi ve oksidatif stresin asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri ile değişimi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

07.11.2008

Üye : Prof. Dr. Ömer ÇOLAK



Üye : Prof. Dr. Mine Erden İNAL



Üye : Prof. Dr. Demet Özbabalık




Üye : Prof. Dr. Güngör KANBAK

Üye : Doç. Dr. Müberra KOŞAR



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 20/11/2008 tarih ve ...766/...3550... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Ferruh YÜCEL  
Enstitü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	iii
SUMMARY.....	v
ŞEKİL DİZİNİ.....	vi
GRAFİK DİZİNİ.....	vii
TABLO DİZİNİ.....	viii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. SERBEST RADİKAL KİMYA VE PATOLOJİSİ.....	2
2.1.1. Serbest radikallerin tanımı ve genel özellikleri.....	2
2.1.2. Oksijenin radikal doğası .....	5
2.1.3. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikaller ve etkileri.....	5
2.1.3.1. Süperoksit $O_2^-$ radikali.....	7
2.1.3.2. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ).....	8
2.1.3.3. Hidroksil radikali (OH).....	9
2.1.3.4. Singlet oksijen ( $^1O_2$ ).....	10
2.1.3.5. Nitrik oksit (NO).....	10
2.1.4. Reaktif oksijen türleri niçin toksiktir?.....	11
2.1.5. Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunma.....	13
2.2. ANTİOKSİDAN SAVUNMA.....	14
2.2.1. Enzimatik antioksidan savunma.....	15
2.2.1.1. Süperoksit dismutaz.....	15
2.2.1.2. Katalaz.....	16
2.2.1.3. Glutatyon peroksidaz.....	16
2.3. OKSİDATİF STRES.....	17
2.4. DEMANS.....	18
2.4.1. Alzheimer hastalığı.....	18
2.4.1.2. Alzheimer hastalığının fizyopatolojisi.....	19

2.4.1.3. Amiloid yolak hipotezi.....	20
2.4.1.4. Kolinergic hipotez.....	22
2.4.1.5. Asetilkolin metabolizması ve kolinesterazlar.....	23
2.6. ALZHEİMER HASTALIĞININ TEDAVİSİ.....	26
2.6.1. Donepezil.....	26
2.6.2. Rivastigmin.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	28
4. BULGULAR.....	33
5. TARTIŞMA.....	43
6. SONUÇ.....	56
7. VERİ TABLOSU.....	59
8. KAYNAKLAR DİZİNİ.....	62
9. ÖZGEÇMİŞ.....	75

## ÖZET

Alzheimer hastalığı temel olarak kolinesteraz metabolizmasındaki değişim ve dejenerasyon ile ilişkilidir. Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisinde kullanılan acetylcholiesterase inhibitörlerinin, serbest radikal toksisitesinden hücreleri koruduğuna ve antioksidan üretimini arttırdığına dair kanıtlar bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasında 3 ay süresince, donepezil ve rivastigmin tedavisi alan Alzheimer hastalarında kolinesteraz inhibisyonu ile oksidatif stres değişiminin incelenmesi hedeflenmiştir.

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Polikliniği'nde Alzheimer hastalığı tanısı konulan 13 hastaya (8 kadın, 5 erkek), rivastigmin, geri kalan 13 hastaya (8 erkek, 5 kadın) ise donepezil tedavisi başlandı. Kontrol grubu ise 17 sağlıklı kişiden (9 erkek, 8 kadın) oluşturuldu.

Kontrol grubu ile tedavi öncesi ve sonrasında hasta grubundan elde edilen örneklerde; asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz aktivitesi ve malondialdehit düzeyleri ölçüldü. Mini mental durum incelemesi yapıldı, kognitif demans evrelendirilmesi ve günlük yaşam becerileri saptandı.

Çalışmamızda rivastigmin ve donepezil tedavisinin Alzheimer tanı gruplarında artmış olarak saptadığımız malondialdehit düzeylerini anlamlı düzeyde azalttığı saptanmıştır. Rivastigmin ve donepezil tedavisi, Alzheimer hastalarında azalmış olduğunu saptadığımız eritrosit süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesini anlamlı düzeyde arttırmıştır. Rivastigmin tedavisinin plazma bütirilkolinesteraz aktivitesini donepezil tedavisinin ise eritrosit asetilkolinesteraz aktivitesini anlamlı düzeyde azalttığı saptanmıştır. Rivastigmin tedavisi uygulanan hastaların günlük yaşam becerileri olumlu etkilenmiştir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar; rivastigmin ve donepezil tedavisinin Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisinde asetilkolin düzeylerini artırarak kolinerjik iletinin düzenlenmesine yardımcı olabileceğini ve aynı zamanda oksidatif

stres üzerindeki olumlu etkileri ile tedavinin etkinliğinin arttırılmasında rol oynayabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Oksidatif stres, Alzheimer hastalığı, Rivastigmin, Donepezil, Kolinesteraz

## SUMMARY

Alzheimer's disease is related with alterations and degeneration in the metabolism of cholinesterase. Acetylcholinesterase inhibitors are used in symptomatic therapy of the disease. There are evidence that acetylcholinesterase inhibitors used in the the symptomatic therapy of Alzheimer's disease protect cells from free oxidative damage and increase production of antioxidants.

The aim of this study is to investigate cholinesterase inhibition and the changes at oxidative stress in three mounths donepezil and rivastigmine administered Alzheimer's disease patients.

Rivastigmine is administered to 13 patients (8 female, 5 male) and donepezil to 13 patients (8 male, 5 female) whom are diagnosed as Alzheimer's disease at department of neurology, Medical Faculty of Eskişehir Osmangazi. Control group consist of 17 healthy voluenter (9 male, 8 female).

Acetylcholinesterase, butrylcholinesterase, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase activities and malondialdehyde levels were measured in blood samples obtained from patients with Alzheimer's disease before and after treatment and healthy volunteers. Mini mental state examination, cognitive dementia rating and activity of daily living was determined .

Rivastigmine and donepezil treatment has decreased malondialdehyde levels; increased superoxide dismutase and catalase activities significantly in Alzheimer's disease patients. Rivastigmine treatment has decreased plasma butrylcholinesterase and donepezil treatment has decreased erythrocyte acetylcholinesterase activities significantly. Rivastigmine treatment has shown beneficial effects on activity of daily living.

Data obtained from our study show that for symptomatic therapy of Alzheimer's disease, donepezil and rivastigmine treatment may help regulation of cholinergic transmission by elevating acethylcholine levels and also may increase the efficacy of therapy due to their beneficial effects on oxidative stress.

**Key Words:** Oxidative stress, Alzheimer's Disease, Rivastigmine, Donepezil, Cholinesterase

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Atom yapısı.....	2
Şekil 2: Stabil molekül.....	2
Şekil 3: Serbest radikal.....	2
Şekil 4: Homolitik bölünme.....	3
Şekil 5: Normal bir molekülden elektron kaybı.....	3
Şekil 6: Heterolitik bölünme.....	3
Şekil 7: Oksijen molekülünün suya indirgenmesi.....	6
Şekil 8: ROS metabolizması.....	6
Şekil 9: Süperoksit radikalinin moleküler yapısı.....	7
Şekil 10: Hidrojen peroksitin moleküler yapısı.....	8
Şekil 11: Hidroksil radikalinin moleküler yapısı.....	9
Şekil 12: ROS oluşum yolları.....	13
Şekil 13: Antioksidanlar ve etkileri.....	14
Şeki 14: Oksidatif strese bağlı hücrel hasar.....	17
Şekil 15: Sağlıklı bireyde ve Alzheimer'lı hastada beyin yapısı.....	18
Şekil 16: APP işlemlenmesi.....	21
Şekil 17: Asetilkolin metabolizması.....	23
Şekil 18: BuChE enziminin yapısı ve substrat üzerindeki etkisi.....	25
Şekil 19: Donepezil'in kimyasal yapısı.....	26
Şekil 20: Rivastigmin'in kimyasal yapısı.....	27



## **GRAFİK DİZİNİ**

Grafik 1: Deneklerin Yaş düzeyleri.....	33
Grafik 2: Eritrosit AChE aktivitesi düzeyleri.....	34
Grafik 3: Plazma BuChE aktivite düzeyleri.....	35
Grafik 4: Plasma MDA düzeyleri.....	36
Grafik 5: Eritrosit SOD aktivitesi düzeyleri.....	37
Grafik 6: Eritrosit CAT aktivitesi düzeyleri.....	38
Grafik 7: Eritrosit GPx aktivitesi düzeyleri .....	39
Grafik 8: MMSE değerleri.....	40
Grafik 9: CDR değerleri.....	41
Grafik 10 ADL değerleri.....	42

## **TABLO DİZİNİ**

Tablo 1: Deneklerin Yaş değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması.....	33
Tablo 2: Eritrosit AChE aktivitesi değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması .....	34
Tablo 3: Plazma BuChE aktivitesi değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması.....	35
Tablo 4: Plazma MDA değerleri ve gruplar arası karşılaştırılmaları.....	36
Tablo 5: Eritrosit SOD aktivitesi değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması.....	37
Tablo 6: Eritrosit katalaz aktivitesi değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması.....	38
Tablo 7: Eritrosit GPx aktivitesi değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması.....	39
Tablo 8: MMSE değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması.....	40
Tablo 9: CDR değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması.....	41
Tablo 10: ADL değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması.....	42

## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

A $\beta$	$\beta$ Amiloid
ACh	Asetilkolin
AChEIs	Asetilkolinesterase inhibitörleri
ChE	Kolinesteras
BuChE	Bütirikolinesteraz
ROS	Reaktif oksijen türleri
O <sub>2</sub>	Dioksijen
ATP	Adenozin trifosfat
NAD	Nikotin adenin dinükleotid
FMN	Flavin mononükleotid
FAD	Flavin adenin dinükleotid
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksid
-OH $\cdot$	Hidroksil radikali
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
CAT	Katalaz
GPx	Glutatyon peroksidaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
HO <sub>2</sub> $\cdot$	Perosi radikali
Fe <sup>3+</sup>	Ferritin
NO $\cdot$	Nitrik oksit radikali
HOCl	Hipoklorik asit
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Singlet Oksijen
ONOO $\cdot$	Peroksinitrit anyonu
NO <sub>3</sub>	Nitrat
NO <sub>2</sub>	Nitrojen dioksit
NO	Nitrik oksit
MDA	Malondialdehit
4-HNE	4-hidroksinonenal
SOD	Süperoksit dismutaz

Mn-SOD	Mitokondriyal SOD
EC-SOD	Ekstraselüler SOD
GST	Glutasyon S-Transferaz
APP	Amiloid öncü protein
PS1	Presenilin1
PS 2	Presenilin2
APO E	Apolipoprotein E
BACE	$\beta$ -sekretaz
sAPP	Büyük sekrete türev
CTF $\beta$	Membran bağımlı APP karboksi terminal parçası
CoA	Asetilkoenzim A
ChAT	Kolin asetil transferaz
PAS	Periferik anyonik bölge
EEG	Elektroensefalogram (EEG)
CT	Computer tomografi
NINCDS-ADRDA	National Institute of Neurological and Communivacative Disorders and Stroke Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
MMSE	Mini Mental Test Examination (Mental durum incelemesi)
CDR	Clinic Demans Rating (Clinic demans evrelendirmesi)
ADL	Activity of Daily Living (Günlük yaşam aktiviteleri)
DTNB	Dityobisnitrobenzoat

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer hastalığı yaşa bağlı olarak kognitif fonksiyonlarda ilerleyici bozulma, günlük yaşamın temel aktivitelerini gerçekleştirmede azalan yeterlilik ve kişilik özelliklerinde dalgalanmalar ile seyreden geri dönüşsüz nörolojik bir hastalıktır. Alzheimer hastalığının fizyopatolojisi karmaşıktır ( 17).

Son on yılda Alzheimer hastalığı konusunda yapılan çalışmaların çoğu hastalığın patogenezinde oksidatif stres mekanizmaları ve bu mekanizmaların önemi üzerine odaklanmıştır. Alzheimer hastalığının etyolojisi ve patogenezinde oksidatif stres ve serbest radikallerin rol oynadığına dair kanıtlar artmaktadır (94). Alzheimer hastalığında görülen  $\beta$  Amyloid ( $A\beta$ ) toksisitesi, nörotransmitter katabolizması, mitokondriyal fonksiyonların bozulması ve lipid peroksidasyonu artışı serbest radikal üretimi ilişkilendirilmiştir (89).

Amyloid  $\beta$  peptid depolanmaları; oksidatif stres, eksitotoksisite, enerji kaybı, inflamasyon ve apoptozisi içeren olası mekanizmalar yoluyla nöronal ölüme sebep olur (91). Alzheimer hastalığının başlaması ile birlikte gerçekleşen nöron ve akson kaybı daha düşük düzeylerde asetilkolin (ACh) salınımına neden olur. Düşük konsantrasyondaki nörotransmitter düzeylerinde sinir iletilerinin devamlılığını sağlamak daha güç bir hal alır . ACh düzeylerini arttırmak için uygulanacak bir diğer yöntem ise ACh'i yıkan asetilkolinesteraz (AChE) enziminin baskılanmasıdır. Çalışmalar, AChE inhibisyonuna bağlı ACh düzey artışlarının, Alzheimer hastalığının erken evrelerindeki kognitif yetmezliği iyileştirebileceğini göstermiştir (20).

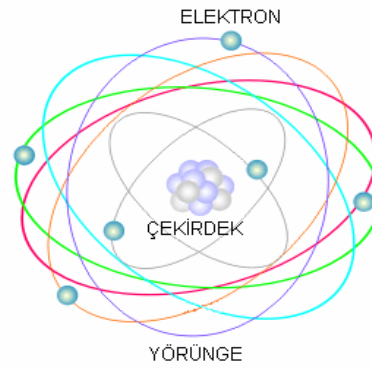
Donepezil ve rivastigmin etken maddeleri şiddetli ve orta dereceli Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (129). Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisinde kullanılan Acetylcholiesterase inhibitörleri'nin (AChEIs), serbest radikal toksisitesinden hücreleri koruduğuna ve antioksidan üretimini arttırıldığına dair kanıtlar bulunmaktadır (117). Fakat literatürde bu konuda yapılmış klinik çalışmaya rastlanmamıştır. Sonuç olarak, çalışmamızda donepezil ve rivastigmin tedavisi alan Alzheimer hastalarında kolinesteraz (ChE) inhibisyonu ile oksidatif stres değişimi arasındaki ilişkinin incelenmesi hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Serbest Radikal Kimya ve Patolojisi

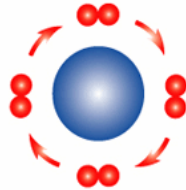
#### 2.1.1. Serbest radikallerin tanımı ve genel özellikleri

Atom yapısı, bir çekirdek ve çevresinde bulunan değişik sayıda elektronlardan oluşmaktadır. Enerji düzeylerine göre belirli bir düzende yerleşen elektronlar, orbital adı verilen yörüngelerde hareket etmektedirler (113) (Şekil 1).

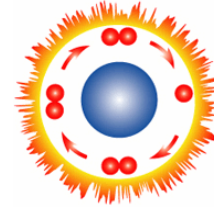


Şekil 1. Atom yapısı

Stabil moleküllerin çoğundaki elektronlar ortaklanmıştır (Şekil 2): Her bir yörüngede zıt yönde dönen iki elektron içerirler. Bu orbitaller kovalent bağları oluşturmak için birleşebilir veya sudaki oksijen atomunda olduğu gibi bağlanmamış çiftler olarak kalabilir. Bununla birlikte elektronun ortaklanmadığı veya yörüngesinde tek başına olduğu kimyasal türevler de vardır: Bu kimyasal türevler radikal veya serbest radikaller olarak adlandırılır (64) (Şekil 3).



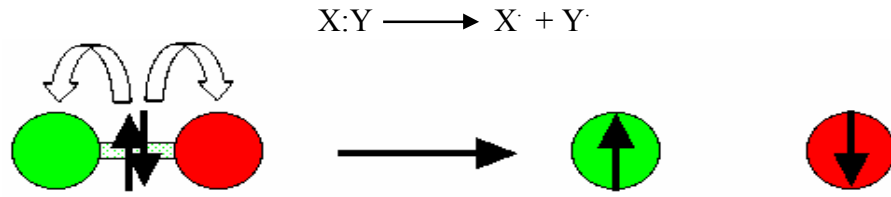
Şekil 2. Stabil molekül



Şekil 3. Serbest radikal

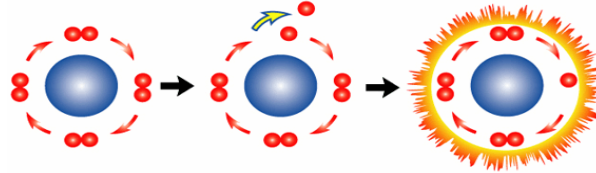
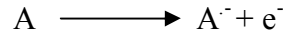
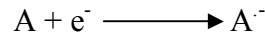
Serbest radikaller homolitik bölünme ve elektron alış verişinin yapıldığı tepkimeler sonucunda oluşurlar (2, 111).

1) Homolitik bölünme kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlarından birisinin kalması ile sonuçlanır. Ortaklanmamış elektron tek bir nokta ile gösterilir (Şekil 4).



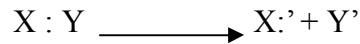
Şekil 4. Homolitik bölünme

2) Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi veya normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı (Şekil 5):



Şekil 5. Normal bir molekülden elektron kaybı

Heterolitik bölünmede ise kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalır. Böylece serbest radikaller değil, iyonlar meydana gelirler (Şekil 6).



Şekil 6. Heterolitik bölünme

Serbest radikal atomik veya moleküler yapısından dolayı son derece kararsız durumda olan bir atom, molekül veya bileşiktir. Daha kararlı bir duruma ulaşmak için serbest radikaller, hücrelerde bulunan diğer atomlar veya moleküllerle tepkimeye girerler. Serbest radikaller tarafından gerçekleştirilen bu tepkimeler temel olarak dört şekilde gerçekleşir (129).

- Serbest radikaller serbest bir hidrojen atomuna sahip olan bir molekül ile etkileşir. Radikal hidrojen atomu bağlar ve kararlı duruma geçer. Diğer molekül serbest radikale dönüşür.
- Bir radikal stabil bir molekül ile reksiyona girer ve tepkime sonunda yine bir radikal oluşur.
- İki serbest radikalın birbiri ile tepkimeye girmesi sonucunda kararlı bir bileşik oluşur.
- Benzer iki radikalın birbirleri ile tepkimeye girmesi sonucunda her ikisinde kararlı halde olan iki farklı molekül oluşur.

Hücrelerde serbest radikal oluşumu; hem enzimatik hemde enzimatik olmayan tepkimeler sonucunda sürekli olarak gerçekleşir. Enzimatik tepkimeler sonucunda solunum zincirinde, fagositlerde, prostaglandin sentezinde ve sitokrom P450 sisteminde rol oynayan serbest radikaller üretilir. Serbest radikaller ilave olarak, iyonize radyasyonun başlattığı tepkimeler gibi oksijenin organik bileşiklerle enzimatik olmayan tepkimelere girmesi sonucunda da oluşur. Endojen serbest radikal kaynaklarından bazıları: Mitokondri, fagositler, ksantin oksidaz, demir ve diğer geçiş metallerinin rol oynadığı tepkimeler, araşidonat yolu, peroksizomlar, iskemi/reperfüzyon, inflamasyon ve egzersizdir. Sigara, çevre kirliliği, radyasyon, ultra viyole ışık, ozon, bazı ilaçlar, pestisidler, anestetikler ve endüstriyel çözücüler ise eksojen serbest radikal kaynaklarından bazılarıdır (9). Radikaller, yapılarında bulunan temel atomlara bağlı olarak;

- Karbon (C) merkezli radikaller
- Nitrojen (N) merkezli radikaller
- Sülfür (S) merkezli radikaller
- Oksijen (O) merkezli radikaller şeklinde belirtilirler (59).



Canlı sistemlerde oluşan en önemli radikal türleri oksijen kaynaklı radikallerdir (123). Reaktif oksijen türleri (ROS); hem okside edici ajanlar veya kolaylıkla radikallere dönüşebilen (HOCl, O<sub>3</sub>, ONOO<sup>-</sup>, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) radikal olmadığı bilinen türler hem de oksijen radikallerini içeren ortak bir terimdir. Reaktif terimi; yalnızca birkaç molekülle hızlı bir şekilde tepkimeye giren H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO<sup>•</sup> ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> için her zaman uygun bir terim değilken, hemen hemen her türlü yapı ile hızlı bir şekilde tepkimeye giren OH<sup>•</sup> için her zaman uygundur. LO<sub>2</sub><sup>•</sup>, LO<sup>•</sup>, HOCl, NO<sub>2</sub><sup>•</sup>, ONOO<sup>-</sup>, ve O<sub>3</sub> orta düzeyde reaktiviteye sahiptirler (45).

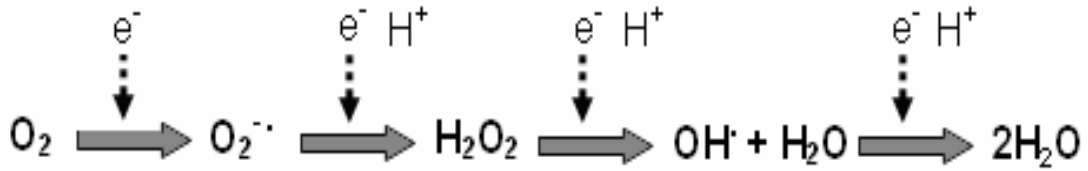
### ***2.1.2. Oksijenin radikal doğası***

Biyolojik sistemlerdeki radikallerin ana kaynağı dioksijendir (O<sub>2</sub>) (35). Oksijen farklı orbitallerde ortaklanmamış iki tek elektrona sahiptir. Bu elektronlar aynı yörüngedeki spin paralelliği nedeni ile eş zamanlı olarak hareket edemezler. Elektronlar organik moleküllerin kovalent bağlarında bulunan ortaklanmış elektronlarla hızlı bir şekilde tepkimeye giremez. Bu yüzden oksijen katalizöre ihtiyaç duyan tepkimelerle tek elektron alarak yavaş bir şekilde tepkimeye girer. Oksijen insan yaşamı için hem elzem hemde toksiktir (66).

### ***2.1.3. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikaller ve etkileri***

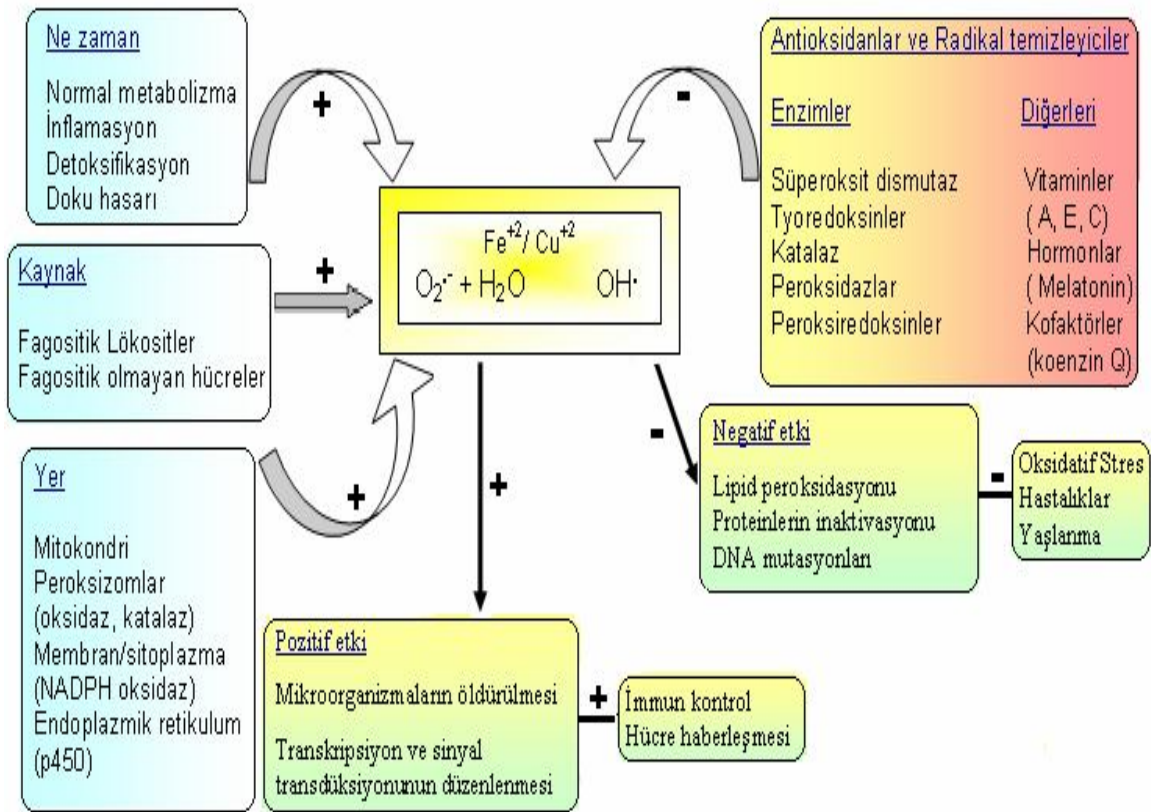
Oksijen, aerobik organizmalara karbonhidratlar, yağlar ve proteinler gibi gıda maddelerinde depolanmış enerjiyi kullanma imkanı sağlayan evrensel bir elektron alıcısıdır. Hayvan hücreleri tarafından plazmadan alınan oksijenin %85-90'ı mitokondri tarafından adenozin trifosfat (ATP) üretiminde kullanılır. Metabolik enerji üretiminin temeli; nikotin adenin dinükleotid (NAD), flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD) gibi elektron taşıyıcıları tarafından alınan elektronların kaybını içeren, besin maddelerinin oksidasyonudur. İndirgenmiş halde bulunan bu ürünler mitokondride ATP üretmek için oksijen tarafından sırasıyla tekrar okside edilirler. Sitokrom oksidaz elektron taşıma zincirindeki son enzimdir ve oksijene 4 elektron ekler. Bu katabolik olaylar zincirinin süperoksid (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>) ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) gibi ROS ve serbest radikaller oluşturacağı deneysel olarak kanıtlanmıştır. Normal fizyolojik şartlar altında reaktif oksijen türlerinin büyük

çoğunluğu; vücut tarafından kullanılan oksijenin %90'ı mitokondride suya indirgendiği için, mitokondriyal elektron transport zincirinde üretilir (55, 125) (Şekil 7).



Şekil 7. Oksijen molekülünün suya indirgenmesi ve oksijen kaynaklı radikallerin oluşumu

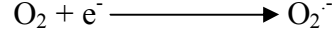
Biyolojik sistemlerde hasara neden olan serbest radikallerin büyük çoğunluğu oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleridir (71). Reaktif oksijen türlerinin belirli fizyolojik konsantrasyonları; hücre çoğalması, transkripsiyon aktivasyonu, hücre içi haberleşme, inflamasyon ve apoptoz gibi hücrel fonksiyonların düzenlenmesinde büyük önem taşır (62) (Şekil 8).



Şekil 8. ROS metabolizması

### 2.1.3.1. Süperoksit $O_2^-$ radikali

Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda süperoksit anyon radikali oluşur (79) (Şekil 9).

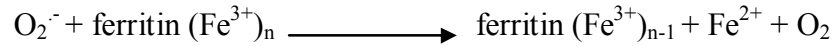


Şekil 9. Süperoksit radikalının moleküler yapısı

Başlıca süperoksit radikal kaynakları; elektron transport zinciri, aktive fagositler, ksantin oksidaz ve flavoenzimlerdir (86).

Süperoksit; katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GPx) gibi bazı antioksidan enzimlerin ve NADH dehidrogenaz gibi enerji metabolizmasında rol oynayan birkaç enzimin aktivitesini azaltabilir. Deoksiribonükleik asit (DNA) sentezi için gerekli öncüleri üreten ribonükleotid redüktaz da süperoksit hasarının bir diğer enzimatik hedefidir. Direkt olarak hasar oluşturmasının yanında süperoksit, hidrojen peroksit gibi diğer reaktif türleri oluşturabilir. Süperoksit radikali bir dereceye kadar zararsızdır fakat fizyolojik pH'da yaklaşık olarak %1'i protonlanır ve daha reaktif olan peroksi radikali oluşur (Şekil 7), (125). En basit peroksi radikali ( $HO_2^-$ ), hidroperoksi veya perhidroksi radikali olarak adlandırılır (28). Hidroperoksi radikalının yağ asidi peroksidasyonunu başlattığı gösterilmiştir (1).

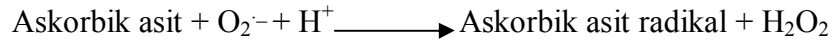
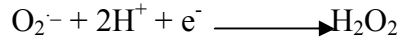
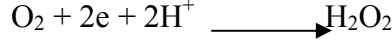
Artmış süperoksit radikal düzeyleri demir depo proteini olan ferritinden az miktarda demirin serbestlenmesine neden olabilir (13).



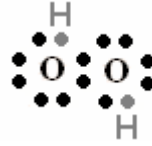
Aktive edilen fagositik hücrelerde solunum patlaması olarak adlandırılan bir dizi tepkimeye yabancı organizmaların ortadan kaldırılması için NAD(P)H oksidaz tarafından üretilen süperoksit gereklidir. Fagositik olmayan NAD(P)H oksidaz, nötrofillerde süperoksit miktarının %1-10 kadarını üretir. Burada üretilen süperoksitin hücre içi sinyal yolunda rol aldığı tahmin edilmektedir (123).

### 2.1.3.2. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )

$H_2O_2$ ; moleküler oksijenin 2, süperoksit radikalının 1 elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Askorbik asidin süperoksit tarafından oksidasyonu da  $H_2O_2$  oluşumu ile sonuçlanır (65, 131).



Fizyolojik şartlarda; mitokondri tarafından kullanılan moleküler oksijenin %2'sinin  $H_2O_2$ 'ye dönüştürüldüğü tahmin edilmektedir (103).



Şekil 10. Hidrojen peroksitin moleküler yapısı

$H_2O_2$ , en dıştaki orbitalinde tek elektron içermediği için radikal değildir (Şekil 10). Fakat glikolitik yolda bulunan gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz gibi çeşitli enzimlere zarar verebilir. Aynı zamanda piruvat gibi alfa keto asitleri okside edebilir. ATP, indirgenmiş glutatyon ve NADPH tüketimine yol açar. Bu durum serbest sitozolik kalsiyum artışına neden olur ve hücre ölümüne yol açan polimeraz enzimi aktive olur (125).

$H_2O_2$ , radikal üreten reaksiyonlara katıldığı için pro-oksidan olarak adlandırılır (59).  $H_2O_2$ , demir ve bakır gibi geçiş metalleri ile etkileşerek hidroksil (OH) ve peroksinitrit ( $NO^-$ ) gibi daha zararlı radikaller oluşturur (125, 43).  $H_2O_2$  molekülü diğer reaktif oksijen türlerine oranla oldukça kararlı ve yüksüzdür. Hücre içine ve hücreler arasına kolaylıkla geçebilir. Bu özellikleri hidrojen peroksitin ikinci haberci olarak rol oynamasında etkili olabilir (52). Bu özellikler aynı zamanda  $H_2O_2$ 'nin toksik etkilerini artırır. Ayrıca hidrojen peroksitin nörotransmitter olarak veya glial ve nöronal hücreler arasındaki haberleşmede rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (80).

### 2.1.3.3. Hidroksil radikali (OH)

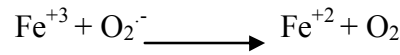
Hidroksil radikali en kararlı yapılarla bile tepkimeye giren çok güçlü bir oksidandır (31) (Şekil 11).



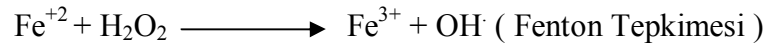
Şekil 11. Hidroksil radikalının moleküler yapısı

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> tarafından oluşturulan hasarın büyük bir kısmının daha reaktif ürünlere dönüşmeleri sonucunda gerçekleştiği düşünülmektedir (43). Muhtemelen bunların en önemlisi hidroksil radikalidir. Hidroksil radikali üretimi çeşitli mekanizmalar ile gerçekleştirilir (45, 2, 72).

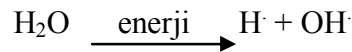
- Haber-Weiss tepkimesi katalizörlü ya da katalizörsüz olarak gerçekleşebilir. Demirle katalizlenen şekli çok hızlıdır. Demir; Fe<sup>+3</sup> durumda iken stabildir. Fe<sup>+2</sup> ise elektron aktarımı yapabilir ve serbest radikal üretimini hızlandırabilir.



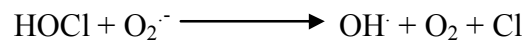
- Fenton Tepkimesi: Hidrojen peroksitin Fe<sup>+2</sup> ve diğer geçiş metalleri varlığında indirgenmesi sonucunda;



- İyonize radyasyon: suyun homolizi sonucunda;



- Peroksinitritin dekompozisyonu ve süperoksit ile hipokloröz asitin (HOCl) tepkimeye girmesi sonucunda oluşur.



Hidroksil radikali; karbonhidratlar, lipidler, proteinler ve DNA gibi tüm biyomoleküller ile etkileşir ve bu moleküllere hasar verebilir. DNA'nın yapısındaki deoksiriboz şeker kalıntıları ile pürin ve pirimidin baz hasarı; bazıları mutajenik olan çeşitli ürünlerin oluşmasına neden olur. Sitozin glikol, 8-hidroksiadenin ve 8-hidroksiguanin baz hasarı ürünleridir. Proteinlerdeki aminoasit kalıntıları hidroksil radikalinin hedefidir. Okside olan lipidler, lipid peroksidasyonunu başlatabilir. Bu durum membran proteinlerinin hasarlanmasına yol açabilir (46)

#### **2.1.3.4. Singlet oksijen ( $^1O_2$ )**

Singlet oksijen; oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönde olan başka bir orbitale yer değiştirmesi ile oluşur. (2). Singlet oksijen, eşlenmemiş elektron içermez bu nedenle sebest radikal değildir fakat güçlü bir oksidandır. Çoklu doymamış yağ asitlerini de içeren pek çok molekülü çok hızlı bir şekilde okside edebilir (45).

#### **2.1.3.5. Nitrik oksit (NO)**

Nitrik oksit; yapısında eşlenmemiş elektron bulundurmasından dolayı bir radikal olarak kabul edilir. Nitrik oksit biyolojik dokularda arjinininden sitrüllin oluşumunu katalizleyen nitrik oksit sentaz tarafından üretilir. Nöronal iletiyi de içeren çok farklı fizyolojik süreçlerde sinyal molekülü olarak, kan basıncının düzenlenmesi, savunma mekanizmaları, düz kas gevşemesi, immun düzenlemede rol oynayan ve bol miktarda bulunan bir radikaldir. Nitrik oksitin süperoksit anyonu ile tepkimeye girmesi oksidatif olarak çok daha fazla aktif olan peroksinitrit anyonu ( $ONOO^-$ ) oluşumuna neden olur. Peroksinitrit anyonu DNA'nın kırılmasına ve lipid oksidasyonuna neden olan güçlü bir oksidandır (123).



Peroksinitrit; nitrat ( $NO_3$ ), OH ve nitrojen dioksit ( $NO_2$ ) oluşturabilir (8). Reaktif nitrojen türlerinin fazla miktarda üretimi nitrozatif stres olarak adlandırılır (99).

#### ***2.1.4. Reaktif oksijen türleri niçin toksiktir?***

Reaktif oksijen türleri proteinler, lipidler ve DNA gibi hücresel makromoleküllerin bir çoğu ile etkileşebildiği için toksiktir. Çeşitli patolojik durumlarda normalden fazla miktarda serbest oksijen radikali oluşması veya organizmanın yapısında bulunan antioksidan sistemin yetersiz kalması sonucunda artan serbest radikaller, hücrenin çeşitli bileşenlerini etkileyerek hücre hasarına yol açarlar (29, 107).

Proteinler özellikle enzim şeklinde, hücredeki pekçok hayati fonksiyonun sürdürülmesinde rol oynarlar. Proteinler reaktif oksijen türlerine karşı farklı duyarlılıkta olan yaklaşık 20 aminoasitten oluşur. Örneğin; özellikle sistein, metiyonin ve histidin hidroksil radikalının oksidasyonuna ve etkisine daha duyarlıdır Enzim yapısında fonksiyonel pozisyonda yer alan aminoasitler reaktif oksijen türleri ile etkileşir ve enzim inaktif konuma geçer. ROS tarafından oluşturulan protein oksidasyonu, proteinlerin çapraz bağları, agregasyonu, fragmentasyonu yanında üç boyutlu yapısında da değişikliklere neden olacaktır. Protein oksidasyonu sıklıkla; proteini, hücrelerde hasarlı proteinlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan hücresel sistemler tarafından yıkıma daha açık hale getirecektir. Proteinler serbest radikal etkilerine lipidlere oranla daha az hassastırlar (2, 29).

DNA hücrenin kalıtım materyalidir ve sürekli DNA hasarı DNA tarafından kodlanan proteinlerde değişikliğe yol açar. DNA zincirinin kırılmasına, nükleotid kaybına ve nükleotidlerdeki organik bazlarda çok farklı modifikasyonlara yol açan DNA hasarının ana kaynağı reaktif oksijen türleridir. Her ne kadar hücreler DNA'da meydana gelen değişiklikleri doğal olarak onarabilecek mekanizmalara sahip olsalar da reaktif oksijen türleri veya diğer ajanlar tarafından oluşturulan aşırı hasar DNA yapısında kalıcı hasara ya da değişikliğe neden olur. Hücrede yan etkiler ortaya çıkar. Oksidatif hasar sonucunda genetik materyalin sürekli olarak modifikasyonu; mutagenез, karsinogenез ve yaşlanmanın ilk basamağını teşkil eder (29, 123).

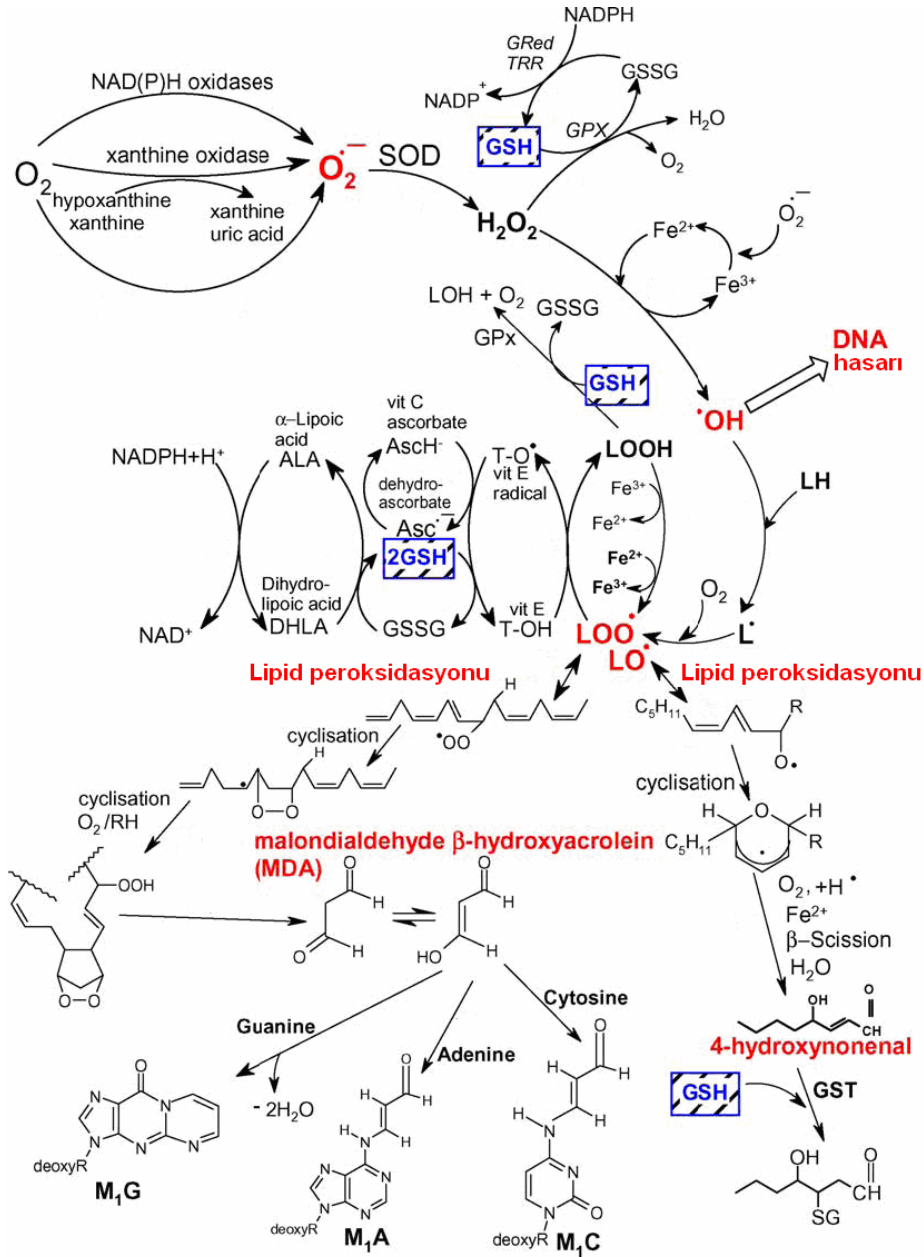
Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, peroksitler ve okzoaldehitler oluşur.

Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (2, 25, 47).

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle dien konjugantları ve daha sonra lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder. Lipidlerin içerdiği fosfolipidler mitokondri, çekirdek gibi diğer hücrel yapıların yanında hücreleri çevreleyen membranların temel bileşenidir. Fosfolipidlerin tahrip olması sonucunda hücre ömrü kısılacaktır. Lipidlerin degradasyonu (peroksidasyon) oksidatif hasarın belirtisidir. Fosfolipidlerde bulunan çoklu doymamış yağ asitleri, hidroksil radikali ve diğer oksidanlara karşı duyarlıdır. Tek bir hidroksil radikali birçok çoklu doymamış yağ asit molekülünün peroksidasyonuna neden olabilir. Çünkü bu tepkimeler zincir tepkimelerinin bir kısmını oluşturan bu süreçte rol oynarlar. Bu duruma ek olarak membran hasarı ve lipid peroksidasyonu sonucu tahrip olan hücreler, reaktif ürünlerin oluşmasına neden olur ve bu maddeler de protein ve DNA ile etkileşebilirler (64, 29).

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sonlanır. Bu ürünlerin başlıcaları malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal'dir (4-HNE). MDA lipid peroksidasyonun değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan parametrelerden biridir. MDA ve 4-HNE nükleik asitlerle tepkimeye girer, bu nedenle genetik değişime ve kanser gelişimine neden olabilirler (43, 107, 122) (Şekil 12).





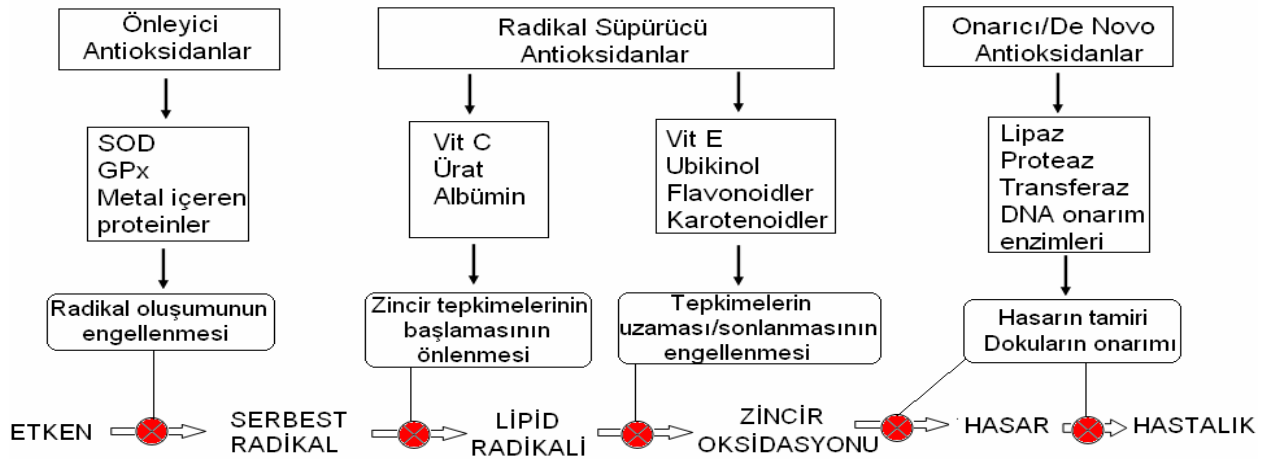
Şekil 12. ROS oluşum yolları, Lipid peroksidasyonu, Glutasyon ve diğer antioksidanların rolü (29)

### 2.1.5. Serbest Radikallerin zararlı etkilerinden korunma

Aşırı serbest radikal maruziyeti organizmaların bir dizi savunma mekanizması geliştirmesine neden olmuştur. Serbest radikal etkisi ile oluşan oksidatif strese karşı, bilinen savunma mekanizmaları: önleyici mekanizmalar, onarım mekanizmaları, fiziksel savunma ve antioksidan savunmadır (123).

## 2.2. ANTIOKSİDAN SAVUNMA

Antioksidan; okside edilebilir bir substrata nazaran düşük konsantrasyonda bulunduğu zaman substratın oksidasyonunu belirgin derecede geciktiren ya da önleyen maddeler olarak tanımlanabilir. Okside edilebilir substrat terimi; protein, lipid, karbonhidrat, DNA gibi canlı dokularda ve besinlerde bulunan su (H<sub>2</sub>O) haricindeki herşeyi içerir (45). İyi bir antioksidan; Serbest radikalleri spesifik olarak ortadan kaldırmalıdır. Redoks metalleri ile şelat oluşturmalıdır. Antioksidan sistemdeki diğer antioksidanlar ile etkileşebilmelidir. Gen ekspresyonu üzerinde pozitif etkiye sahip olmalıdır. Hızlı bir şekilde absorbe edilebilmelidir. Doku ve biyolojik sıvılardaki konsantrasyonu, fizyolojik olarak birbiri ile ilişkili düzeylerde olmalıdır. Hücrenin sıvı kısımlarında ve/veya membranlarında etkili olabilmelidir (124). Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirebilirler. Hücre dışı savunma; albümin, bilirubin, transferrin, serüloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içerir (44) (Şekil 13).



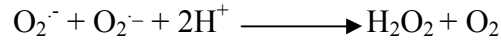
Şekil 13. Antioksidanlar ve etkileri (125)

Antioksidan savunma sistemi; enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları içerir. Oksijen radikallerine karşı enzimatik savunma sisteminin en önemlileri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx)'dir (67).

## **2.2.1.Enzimatik Antioksidan Savunma**

### **2.2.1.1. Süperoksit Dismutaz**

SOD (EC 1.15.1.1); en etkili hücre içi antioksidan enzimlerden biridir. SOD, süperoksitin  $O_2^-$  ve daha az reaktif olan  $H_2O_2$ 'e dönüşümünü katalizler (75). Böylece süperoksit kaynaklı direkt hasar ile birlikte süperoksitten oluşan peroksinitrit oluşumu azalır (46).



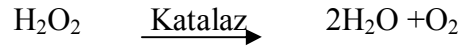
SOD; aktif metal merkezinin doğası ile yapısındaki amino asitlerin yanında subünite sayısı, kofaktörler ve diğer özellikler açısından farklılık gösteren birkaç izoforma sahiptir. İnsanlarda üç tane izoformu vardır. Sitozolik Cu-SOD, Zn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD, ekstraselüler SOD (EC-SOD) (63). Bakteriler; Fe-SOD, Mn-SOD ve bazı durumlarda Cu-SOD, Zn-SOD içerirler (86).

Cu-SOD, Zn-SOD iki benzer alt ünite (homodimer)'den oluşan, yaklaşık 32 kDa molekül ağırlığında bir enzimdir. Cu-SOD, Zn-SOD süperoksit anyonunun oksijen ve suya dismutasyonunu spesifik olarak katalize eder. Mitokondriyal Mn-SOD her bir alt ünitesinde bir adet manganez atomu içeren 96 kDa molekül ağırlığında bir homotetramerdir. Süperoksitin iki basamaklı dismutasyonu sırasında enzim; Mn (III)'ten Mn (II)'ye ve daha sonra tekrar Mn (III)'e döngülenir (124).

Hücre dışı SOD (EC-SOD) heparin ve heparin sülfat gibi glikozaminoglikanlara yüksek seçiciliği olan Cu ve Zn içeren tetramerik, sekreter bir glikoproteindir (74). Pek çok dokuda hücre yüzeyinde ve düşük düzeylerde insan vücut sıvılarında bulunan (EC-SOD)'ın görevi bilinmemektedir fakat vasküler endotelde üretilen NO ile süperoksitin tepkimeye girmesini engelleyerek aşırı peroksinitrit oluşumunun önlenmesine yardımcı olabileceği ve in vivo deneylerle endotel hücre dış yüzeyini koruyucu bir antioksidan tabaka şeklinde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (88,51).

### 2.2.1.2. Katalaz

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oldukça toksiktir ve diğer enzimler tarafından detoksifiye edilmelidir. Bu enzimlerden biri katalazdır (EC 1.11.1.6). Katalaz H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O'ya dönüştürülmesini katalizler (6). Katalaz en yüksek turnover hızına sahip enzimdir: Bir molekül katalaz bir dakikada ~6 milyon molekül H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i oksijen ve suya dönüştürebilir (124).



Katalaz aynı zamanda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in redüksiyonuna eşlik eden alkol ve fenol gibi farklı substratları detoksifiye edebilir (86).



Organizmaların çoğunda katalaz hem içeren temel enzimlerden biridir. Hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene katalizlendiği yer olan peroksizomlarda bulunur. Katalazın antioksidan işlevlerinden biri; Cu ve Fe iyonları tarafından katalizlenen Fenton tepkimesi yolu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ten OH radikali oluşma riskini azaltmaktır. Katalazın NADPH bağlaması; enzimin etkinliğini arttırarak inaktivasyondan enzimi korur (86).

### 2.2.1.3. Glutasyon Peroksidaz

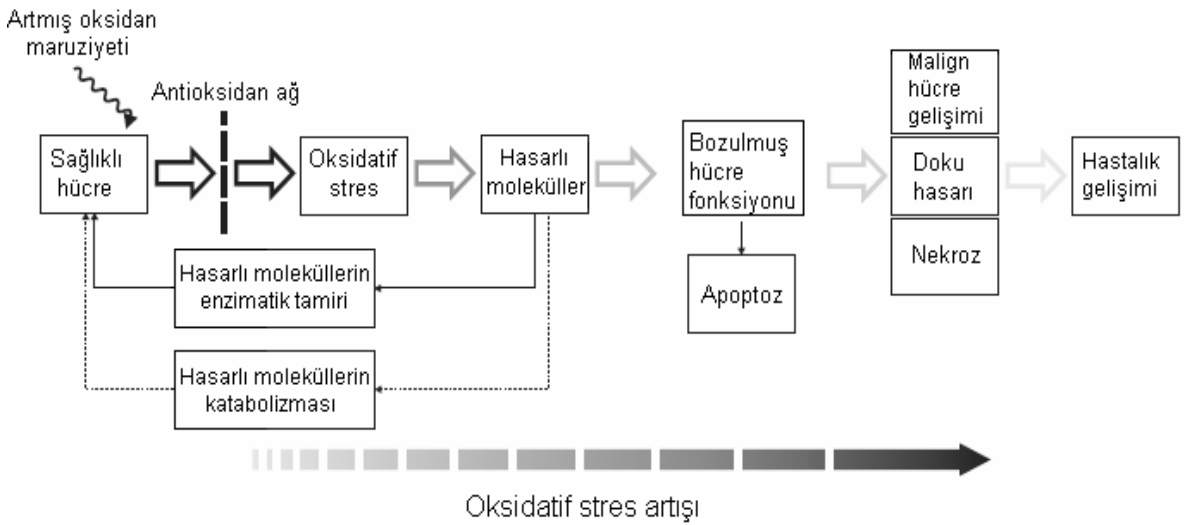
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aynı zamanda bir selenoprotein olan glutasyon peroksidaz enzimleri tarafından ortadan kaldırılabilir (46).



Mitokondri ve sitoplazmada bulunan GPx enziminin iki farklı formu vardır. Bunlardan bir tanesi selenyum bağımlı Glutasyon peroksidaz (GPx, EC 1.11.1.19) iken diğeri selenyumdan bağımsız Glutasyon S-Transferaz'dır (glutathione-S-transferase, GST, EC 2.5.1.18). Glutasyon metabolizması en temel antioksidan savunma mekanizmalarından biridir. GPx katalaz ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> için yarışır ve düşük oksidatif stres düzeylerinden korunmada temel enzimdir (44, 20).

### 2.3. OKSİDATİF STRES

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içersindedir. Bu radikallerin oluşum hızındaki artış yada ortadan kaldırılma hızındaki azalma bu dengeyi bozar. Oksidatif stres olarak adlandırılan bu durum özetle; serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır. Yapısal doku hasarının yanında nekroz, apoptoz yoluyla hücre ölümü ve makromoleküllerin oksidatif modifikasyonunu içerir (20,69) (Şekil 14). Hücreler normal koşullarda orta dereceli oksidatif stresi, antioksidan savunma mekanizmalarının sentezini gen ekspresyonundaki değişiklikler yoluyla düzenleyerek ortadan kaldıracaktır. Fakat oksidatif stres yüksek düzeylere ulaştığı zaman oksidasyon ürünlerine karşı adaptasyon sağlanamaz ise hücrede hasar oluşabilir. DNA, protein ve lipidleri içeren tüm biyomoleküllerin oksidatif hasarı birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (86).



Şekil 14. Oksidatif strese bağlı hüresel hasar

Çeşitli kanser tipleri, kardiyovasküler hastalıklar, alkolik karaciğer hastalığı, diyabet, ağır metal toksisitesi, radyasyon hasarı, vitamin eksikliği, bilinen tedavilerin toksisitesi, inflamasyon, sigaranın toksik etkileri, katarakt, amfizem ve Parkinson ile Alzheimer hastalığını da içeren nörodejeneratif hastalıkların gelişimi ile oksidatif stres arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (29).



#### ***2.4.1.2. Alzheimer hastalığının fizyopatolojisi***

Alzheimer hastalığı kognitif fonksiyonlarda ilerleyici bozulma, günlük yaşamın temel aktivitelerini gerçekleştirmede azalan yeterlilik ve kişilik özelliklerinde dalgalanmalar ile seyreden geri dönüşsüz nörolojik bir hastalıktır. Alzheimer hastalığının patofizyolojisi karmaşıktır (17). Hastalığın moleküler temelini, senil plaklarda ekstraselüler (A $\beta$ ) peptid depolanması, intraselüler nörofibriler yumakların oluşması, kolinerjik defisit, belirgin nöronal kayıp ve serebral korteks ile hipokampus ve kognitif ve hafıza işlevleri için gerekli olan diğer beyin alanlarındaki sinaptik değişiklikler oluşturur. A $\beta$  peptid depolanmaları, oksidatif stres, eksitotoksinite, enerji kaybı, inflamasyon ve apoptozisi içeren olası mekanizmalar yoluyla nöronal ölüme sebep olur. Genetik çalışmalar otozomal dominant veya ailevi erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı ile ilişkili 4 gen tanımlamıştır. Bu dört gen amiloid öncü protein (APP), presenilin 1 (PS 1), presenilin 2 (PS 2) ve apolipoprotein E (Apo E)'den oluşur. A $\beta$  oluşumundan sorumlu ana faktörler APP veya PS1 ve PS2 genleri veya APO E genindeki mutasyonlardır. Amiloid plağı ve hücre içi yumak oluşumuna etki eden genetik etkenlere ilave olarak sitokinler ve nörotoksinler gibi çevresel faktörlerde Alzheimer hastalığının oluşum ve gelişiminde önemli rol oynayabilirler (91).

Alzheimer hastalığının patogenezinde önemli rol oynayabilecek diğer faktörler; yaş, kafa travmaları ve oksidatif strestir (57). Deneysel modellerde ve insan beyninde yapılan çalışmalar, oksidatif stresin Alzheimer hastalığındaki nöronal dejenerasyonda önemli rol oynayabileceğini göstermiştir (21). Postmortem materyaller kullanılarak Alzheimer hastalarının beyninde belli bölgelerde oksidatif hücresel hasar gösterilmiştir. Aynı zamanda Alzheimer'lı hastaların serumlarında SOD, katalaz, demir bağlayan laktoferrin ve antioksidan sistemlerdeki oksidatif değişiklikler gösterilmiştir (58).

Alzheimer hastalığının moleküler mekanizmasının açıklanmasında ileri sürülen iki temel hipotez kabul görmektedir (91):

- Amyloid kaskat hipotezi
- Kolinerjik hipotez

### **2.4.1.3. Amiloid yolak hipotezi**

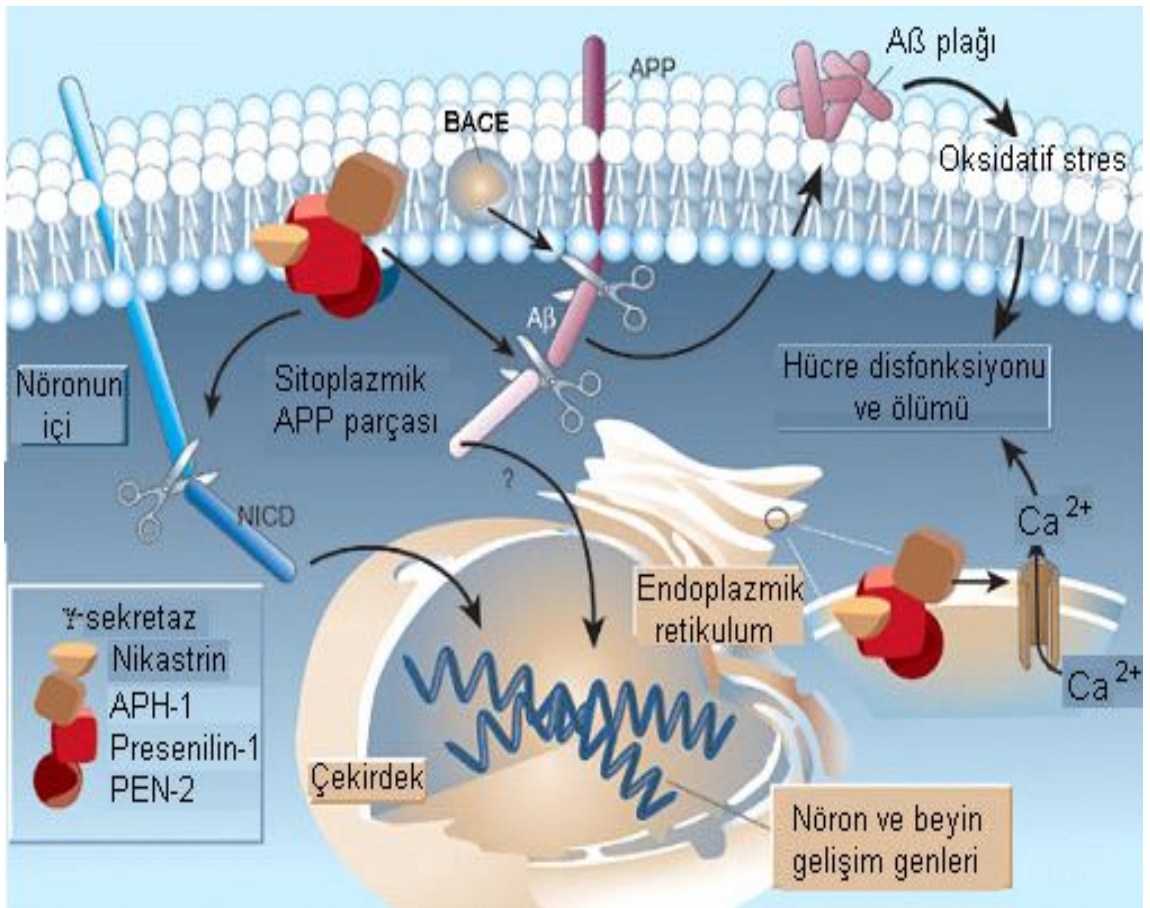
Bu hipotez; Alzheimer hastalığında görülen dejenerasyonun, direkt olarak beyinde belirli plaklar içerisinde beta amiloid protein birikimi ile ilişkili olduğunu ileri sürer (68). Amiloidde yer alan karbonhidratın ana yapısı glikozaminoglikanlardır. Amiloid özel yapısal karakterlere sahip hücre dışı fibriler protein depolanmalarına verilen jenerik adıdır. En az 20 adet birbirleri ile ilişkisiz fibriler olmayan amiloid öncüsü protein bilinmektedir. Her biri özel bir hastalık ile ilişkilidir; Alzheimer hastalığı A $\beta$ , kronik hemodiyaliz  $\beta_2$ -mikroglobülin, erişkin başlangıçlı diyabet (amilin), inflamasyon ile ilişkili amiloid (serum amiloid A), plazma hücre diskrazileri ve  $\beta$  hücreli lenfomalar (immunoglobülin hafif zincirleri). Ayrıştırılan amiloid fibrilleri yüksek çözünürlüklü elektron mikroskopu ile incelendiği zaman çaprazlaşmış  $\beta$  tabakalı yapısına sahip, dallanmayan fibriller oluşturan, birbirleri etrafında dönmüş protofibrillerden oluştukları saptanır (91).

Alzheimer hastalarının beyinlerinde iki tip patolojik değişiklik gözlenmiştir. Bu mikroskopik değişiklikler nörofibriler yumaklar ve senil plaklardır. Nörofibriler yumaklar, beyindeki nörodejenerasyona katkıda bulunduğu düşünülen senil plakların sonucu olarak meydana gelen nörodejeneratif transformasyonu gösterirler. Nörofibriler yumaklar; sinir hücrelerinin içinde bulunan mikrotübül ilişkili protein olan tau'nun iplik şeklinde kıvrılması ile oluşur. Alzheimer hastalarında nörofibriler yumaklar tau proteinin anormal agregasyonu sonucu oluşan çift helikal filament içerir (78). Senil plaklar, amiloid benzeri materyalden oluşan merkezi bir çekirdek ve bu çekirdeği çevreleyen inflamasyonlu anormal sinir hücreleri yapıları içerir. Amiloid sinir hücrelerinin dışında ancak hemen yakınında yoğun depolanmalar oluşturan bir protein parçasıdır (105).

Alzheimer hastalığındaki amiloid depolanmaları ile pekçok farklı sayıdaki protein ilişkili ise de amiloidin esas protein içeriği A $\beta$ 'dir. A $\beta$  amiloid beta protein öncüsünden (APP) sekretazlar adı verilen enzimler tarafından gerçekleştirilen ardışık iki proteolitik yıkım sonucu oluşur (40). APP,  $\beta$ -sekretaz (BACE) olarak adlandırılan bir membran bağımlı aspartil proteaz ile A $\beta$ 'nin amino terminalinden yıkılır. Bu yıkım



büyük sekrete türev (sAPP $\beta$ ) ve membran bağımlı APP karboksi terminal parçası (CTF  $\beta$ ) oluşumu ile sonuçlanır. CTF  $\beta$ 'nın  $\gamma$  sekretaz ile yıkımı farklı büyüklüklerde A $\beta$  peptidlerinin oluşumu ile sonuçlanır. A $\beta$  peptidlerinin en çok ilgi çeken iki tipi 40 amino asit içeren (A $\beta$ 40) ve 42 amino asit içeren (A $\beta$ 42)'dir. Eş zamanlı olarak aynı kökenden CTF  $\gamma$  oluşur. PS1 ve PS2 olarak adlandırılan homolog politopik membran proteazları gama sekretaz benzeri etkinlik gösterir veya en azından bu yıkımın esansiyel kofaktörleridir (39). Sağlıklı bir beyinde bu protein parçaları (A $\beta$ ) yıkılarak ve ortadan kaldırılırken, Alzheimer hastalıklı bireylerin beyinde oluşan A $\beta$ ; serebral damarlar ve senil plaklarda amiloid olarak depolanır. Bu yapılanma serebral içeriklerin etkin bir şekilde taşınmasını önleyerek aksonal yolda bir tıkanmaya neden olur. Bu etki nöronun beslenmesinde bozukluğa ve ölümüne yol açar (104) (Şekil 14).



Şekil 16. APP işlenmesi

#### **2.4.1.4. Kolinerjik hipotez**

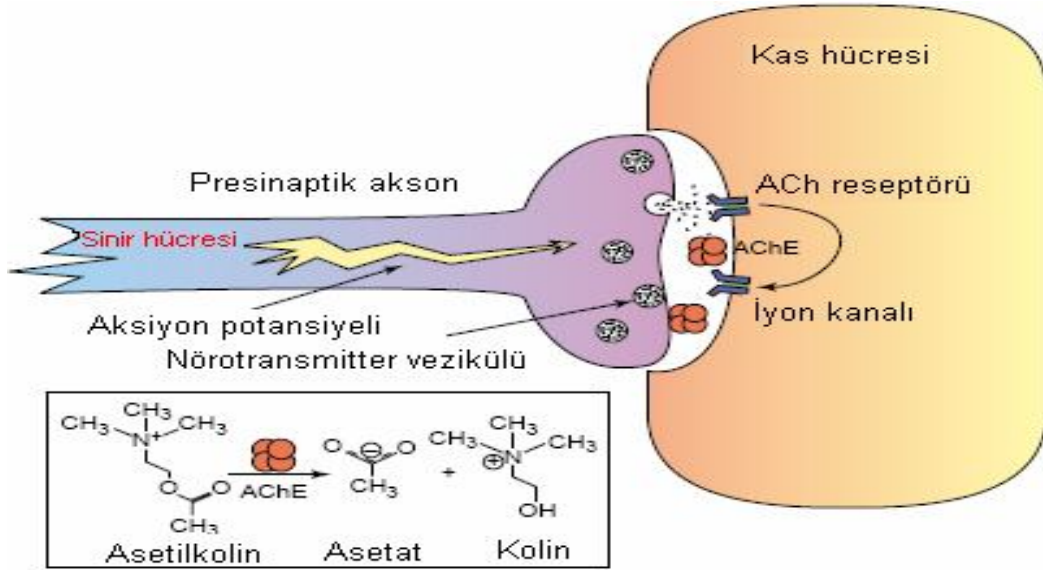
Hastalığın anahtar noktaları olarak düşünölen senil plaklar ve nörofibriler yumaklar dışında Alzheimer hastalarında beyinde çok sayıda nörotransmitter sistemin etkilendiğine ait net veriler mevcuttur. En dramatik anormallikler kolinerjik sistemde oluştuğu için bu durum Alzheimer hastalığının kolinerjik hipotezi olarak adlandırılmıştır (17).

Alzheimer hastalığı temel olarak kolinesteraz metabolizmasındaki değişim ve dejenerasyon ile ilişkilidir (109).

60 yaşın üzerinde ilerleyici zihinsel işlev bozukluğunun en sık nedeni olan Alzheimer hastalığı, kolinerjik eksiklik ile zihinsel işlev bozukluğunun başlangıcı, seyri ve derinliği arasında net ilişkinin kurulabildiği nörodejeneratif bir hastalıktır . On yıllardır bilim adamları, beyindeki nörotransmitter düzeylerinin hastalık ile ilişkili olduğunu bilmektedirler. Sinir uyarısının nöron boyunca ilerlemesi sonucunda, sinir son ucu aksonda asetilkolin salınır. Asetilkolin, istirahat halindeki hücrede sinir iletisini yeniden oluşturmak için sinaptik boşluğu geçerek takip eden nörona bağlanır. Asetilkolini sinaptik aralıktan uzaklaştırmak için AChE enzimi nörotransmitteri hidroliz eder. Alzheimer hastalığının başlaması ile birlikte gerçekleşen nöron ve akson kaybı daha düşük düzeylerde asetilkolin salınımına neden olur. Daha düşük konsantrasyondaki nörotransmitter düzeylerinde sinir iletilerinin devamlılığını sağlamak ve sonuç olarak bilgilerin aktarımı daha güç bir hal alır . Bu durumu düzeltmek için uygulanacak yöntemlerden biri günümüzde imkansız olan asetilkolinin benzeri maddelerin verilmesidir. Asetilkolin düzeylerini arttırmak için uygulanacak bir diğer yöntem ise asetilkolini yıkan AChE enziminin baskılanmasıdır. Çalışmalar AChE inhibisyonuna bağlı asetilkolin düzey artışlarının, Alzheimer hastalığının erken evrelerindeki kognitif defisiti iyileştirebileceğini göstermiştir. Kolinerjik eksikliğin klinik tablo ile olan yakın ilişkisi nedeniyle asetilkolinin sinaptik aralıkta daha uzun kalmasını sağlama amacı, günümüzde hastalığın semptomatik tedavisinde en sık uygulanan stratejidir. Bu amaca yönelik olarak çoğunlukla kolinesteraz enzim inhibitörleri kullanılmaktadır (116, 120).

#### 2.4.1.5. Asetilkolin metabolizması ve Kolinesterazlar

Alzheimer hastalığı beyindeki nörotransmitterlerin azalması ile karakterizedir. Bu hastalıkta en fazla azalma gösteren nörotransmitter asetilkolindir (95). ACh; kolinerjik nöronların gövdesinde asetilkoenzim A (CoA)'dan gelen asetil ve kolin'in kolin asetiltransferaz (ChAT) tarafından birleştirilmesi ile oluşur. Asetil CoA glikoliz ürünüdür. Kolin'in ise besinler ve hücre membranındaki fosfolipidler dışındaki en önemli kaynağı ACh hidrolizi sonucu açığa çıkan ve yeniden asetilkolin sentezinde kullanılan kolindir. ACh'in sinapstaki varlığı, ChAT ve AChE enzimlerinin etkinliğine bağlıdır. Üretilen ACh presinaptik nöronlardaki veziküllerde depolanır ve bu veziküller, nörona sinir uyarısı geldiğinde içeriğini sinaptik aralığa döker. Sinaptik aralığa salınan ACh moleküllerinin çoğu postsinaptik reseptörlere bağlanır. Reseptörlere bağlanmayan ACh molekülleri AChE tarafından yıkılır. Postsinaptik nörona bağlanan ACh molekülleri, sinir uyarısının diğer nörona iletilmesinin ardından reseptörden ayrılır, AChE tarafından yıkılır ve açığa çıkan kolin yeniden kullanılmak üzere presinaptik nörona gönderilir (Şekil 17). Memelilerde; bir tanesi seçici olarak ACh'i hidroliz eden AChE, diğeri ise ACh ve diğere kolin esterlerini hidroliz edebilen BuChE olmak üzere iki tip kolinesteraz bulunur (116, 120, 27).



Şekil 17. Asetilkolin metabolizması

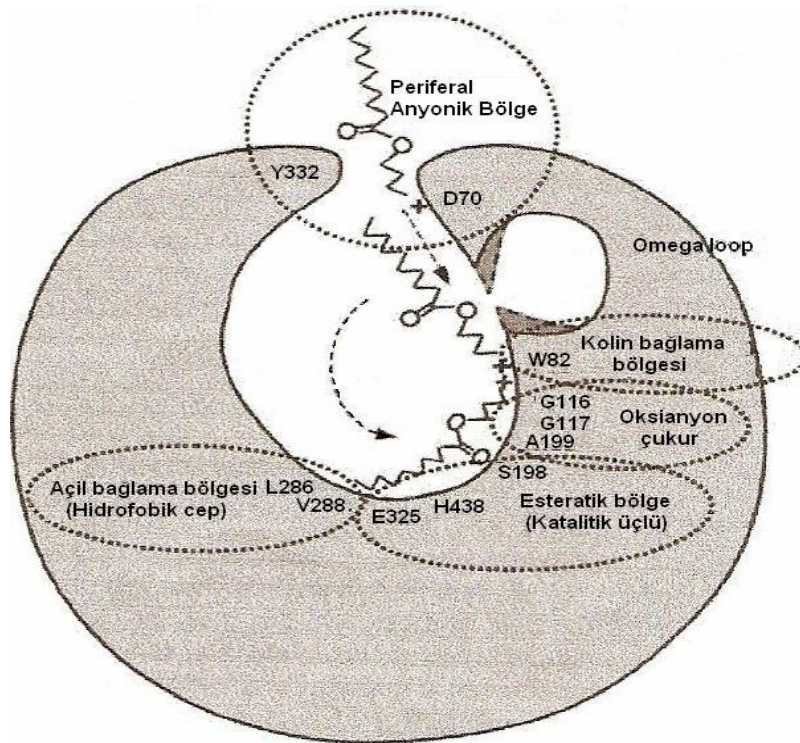
Kolinesterazlar, plazma ve diğer vücut sıvılarında da bulunmak üzere kolinerjik ve kolinerjik olmayan dokularda geniş bir dağılıma sahip enzimlerdir. Substrat özgüllüğüne, aşırı substrat varlığındaki davranışlarına ve inhibitörlere karşı duyarlılıklarına göre iki gruba ayrılmışlardır. AChE veya gerçek kolinesteraz (AChE: E.C.3.1.1.7, asetilkolin asetil hidrolaz) ve bütirikolinesteraz (BuChE: E.C.3.1.1.8 açilkolin açilhidrolaz), spesifik olmayan kolinesteraz veya psödokolinesteraz olarak bilinir (84). AChE; beyin ve eritrositlerde yüksek konsantrasyonda bulunurken, BuChE; serum, pankreas, karaciğer ve santral sinir sisteminde bulunur (3).

AChE tarafından katalizlenen tepkime enzimatik olarak iki basamakta gerçekleşir. İlk basamakta enzim güçlü bir nükleofil olarak rol oynar. İkinci basamakta ise; enzim özgül bir serin kalıntısının nükleofilik hidroksil grubu aracılığı ile mükemmel bir parçalayıcı grup işlevi görür (30). AChE'nin temel fonksiyonu kolinerjik nörotransmisyonun sonlandırılmasıdır fakat asetilkolin ve diğer kolin esterlerini hidroliz eden BuChE'nin gerçek fizyolojik işlevi bilinmemektedir (27).

Kolinesterazlar aynı zamanda hücre yenilenmesi, farklılaşması, çeşitli etkenler sonucunda oluşan strese yanıt ve amiloid oluşumunda da rol oynarlar. AChE; aktif bölge ve katalitik mekanizma açısından başka bir enzimde bulunmayan özelliklere sahiptir. AChE'nin aktif bölgesi dar oluk yapının dip kısmıdır ve iki alt üniteden oluşmuştur. Birincisi negatif yüklü veya anyonik bölge ikincisi katalitik kısmı içeren esteratik bölge ya da katalitik triad (üçlü) (Ser203, Glu334 ve His447). Katalitik triad substratın açil bölgesine geçici olarak bağlanır. Hidrofobik alt ünite ve açil cebi tetrahedral geçiş durumunda alkol grubunu içerir. Oksianyon çukuru negatif yüklü karbonil oksijen vererek geçiş durumunu stabilize eder. Katalitik triad'a ilave olarak bilinen tüm AChE'ler periferik anyonik bölge (PAS) olarak adlandırılan ikinci bir substrat bağlayıcı bölge içerir. Bu bölge hem katalitik etkinliğin düzenlenmesine (substrat inhibisyonu) hem de AChE'nin pekçok inhibitör ile etkileşimine aracılık eder. AChE'nin  $\beta$  amiloid yumak oluşumuna yol açan katalitik olmayan rolünün gerçekleşmesinde periferik anyonik bölge önemlidir. AChE'nin G1, G2 ve G4 olmak üzere üç izoformu olduğu bilinmektedir. Alzheimer hastalarının beyinlerinin belirli

bölgelerinde G4 formunun kaybı nedeni ile G4/G1 oranı azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (119,42).

BuChE'in yapısında AChE'a benzer şekilde esteraz, aril açıl amidaz ve peptidaz (proteaz) olmak üzere üç farklı enzimatik aktivite bulunur. Her iki enzim farklı doku dağılımları gösteren moleküler formlara sahiptir. BuChE'in esteraz aktivitesi, organofosfat ve karbamat yapıları inhibitörlerin AChE'a ulaşmadan dolaşımdan temizlenmesinde, AChE yoksunluğunda kolinerjik sinir iletiminin kontrolünde, kokain, aspirin ve amitriptilin gibi bazı ilaçların inaktivasyonu veya bambuterol, heroin gibi bazı ilaçların aktivasyonunda önem kazanmaktadır. Enzimin aril açıl amidaz aktivitesinin ise serotonerjik ve kolinerjik sinir iletim sistemleri arasında iletişim sağlama olduğu ileri sürülmektedir. Ek olarak, enzimin peptidaz veya proteaz aktivitesinin Alzheimer hastalığının gelişmesi ve ilerlemesinde işlevi vardır. BChE bu hastalıkta amiloid proteinin üretimine ve proteinin  $\beta$ -amiloid plaklara difüze olmasına neden olmaktadır. BuChE; substratın bağlanmasında ve katalizinde rol oynayan; PAS (periferal anyonik bölge), omega cep, oksianyon çukuru, açıl bağlama bölgesi ve katalitik üçlü (Ser198, His438, Glu325) kısımlarını içerir (84) (Şekil 18).



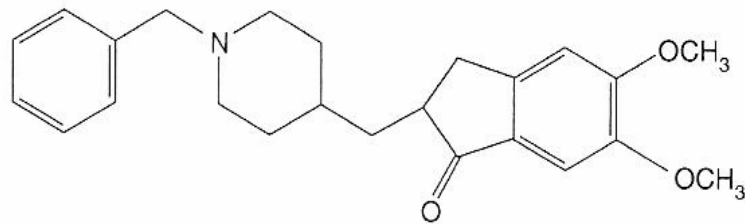
Şekil 18. BuChE enziminin yapısı ve substrat üzerindeki etkisi

## 2.6. ALZHEİMER HASTALIĞININ TEDAVİSİ

Alzheimer hastalığının primer tedavisi, hastalığın hafıza ve bilişsel semptomlarına odaklanmış olup; semptomatiktir (121). Kolinerjik eksikliğin klinik tablo ile olan yakın ilişkisi nedeniyle asetilkolinin sinaptik aralıkta daha uzun kalmasını sağlama amacı, günümüzde hastalığın semptomatik tedavisinde en sık uygulanan stratejidir. Bu amaca yönelik olarak en fazla kolinesteraz enzim inhibitörleri kullanılmaktadır (11,76). Takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamini içeren kolinesteraz inhibitörleri, orta-ağır Alzheimer hastalığının tedavi edilmesi için başarılı bir şekilde geliştirilmiş ve uygulanmıştır (129). Alzheimerlı hastalarda yapılan klinik çalışmalar sonucu kavrama ile ilgili fonksiyonlarda gelişmeler sağlamış olan takrin, FDA tarafından onaylanan ilk kolinesteraz inhibitörüdür. Ancak takrinin kullanımı karaciğer harabiyetine neden olması bakımından sınırlıdır. Takrinin Alzheimer'lı hastalarda etkin olması yeni AChE inhibitörlerinin geliştirilmesine neden olmuştur (53).

### 2.6.1. Donepezil

Donepezil, fizostigmin ile takrinin dezavantajlarının üstesinden gelmek için geliştirilmiş ve Alzheimer hastalığı tedavisi için Food and Drug Administration (FDA) onayı almıştır. Piperidin temelli, BuChE'a belirgin derecede düşük afinitesi olan yüksek seçici geri dönüşümlü bir AChE inhibitörüdür (Şekil 19). İlacın geliştirilme sürecinde yapılan klinik deneylerde; 5-10 mg/gün donepezilin plasebo ile karşılaştırıldığında bütün klinik ve kognitif fonksiyonlarda belirgin iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Kognitif fonksiyonlar üzerindeki yararlı etkiler hastalığın semptomatik progresyonunu önemli derecede geciktiren 10 mg/gün'lük donepezil tedavisini içeren kısa ve uzun dönemli çalışmalardan elde edilmiştir (96).

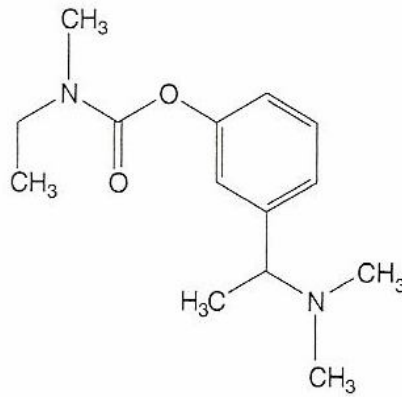


Şekil 19. Donepezil'in kimyasal yapısı

Donepezil, %75 oranında albümine ve %21 oranında  $\alpha_1$ -asit glikoproteinlere bağlanır. Donepezil CYP2D6 ve CYP3A4 tarafından metabolize edilir ve glukronize edilen %17'lik kısmı idrarla değişmeden atılır. 192 haftalık kullanımda donepezil'in karaciğer üzerinde toksik etkisi gözlenmemiştir. Donepezil kolinerjik yan etkiler gösterir. Sıklıkla donepezilin yan etkileri gastrointestinal sistem ile ilişkilidir (85).

### 2.6.2. Rivastigmin

Rivastigmin, prelinik biyokimyasal çalışmalarda belirgin santral sinir sistemi seçiciliği gösterilmiş, karbamile edici, kısmi geri dönüşümlü bir AChE inhibitörüdür. Aynı zamanda BChE enzimini de inhibe eder. Prelinik deneyler, ön beyin lezyonu olan ratlarda, ilacın kognitif fonksiyonları iyileştirmedeki etkinliğini ortaya koymuş ve 1500'den fazla tedavi edilmiş hastayı içeren çok klinikli ana faz III çalışmaları ile ilacın özelliklerinin belirlenmesine imkan sağlamıştır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler, 6,12 mg/gün rivastigminin hafif-orta ağırlıktaki Alzheimer hastalarının kognitif fonksiyonları, günlük aktiviteleri ile kişilik özelliklerinde belirgin klinik iyileşme sağlamış, daha yüksek dozlar ile daha yüksek fayda elde edilmiştir (53, 96).



Şekil 20. Rivastigmin'in kimyasal yapısı

Rivastigmin plazma proteinlerine zayıf olarak bağlanır (~%20), yarılanma ömrünün kısa olmasını açıklar (~60 dak) (36). Rivastigmin kolinerjizmler tarafından NAP-226-90 metabolitine metabolize edilir. Metabolit N-demetilasyon ve/veya sülfat konjugasyonu ile renal yoldan atılır (53).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### Gereç

Hasta grubu: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Nöroloji Polikliniğine Eylül 2006-Ocak 2006 tarihleri arasında başvuran yeni Alzheimer tipi demans tanısı almış ve hiçbir ilave tedavisine başlanmamış toplam 26 hastadan oluşturuldu. Hastalarla ya da aileleriyle görüşülerek hastalık hikayeleri alındı. Tüm hastalar fiziksel muayene ve serum glukoz, albümin, vitamin B12, folat ve tiroid hormon düzeylerini içeren rutin laboratuvar testleri ile değerlendirildi. Demansa neden olabilecek hastalıkları olanlar çalışmaya alınmadı. Olguların hiçbirinde serebrovasküler hastalık yoktu. Olgular sigara ve alkol kullanmıyordu. Antibiyotik, steroid ve vitamin tedavisi almıyordu.

Santral sinir sistemi ile ilgili başka hastalıkların olup olmadığı Elektroensefalogram (EEG) ve bilgisayarlı tomografi (CT) ile belirlendi.

DAT'lı hastalar National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) kriterlerine göre tanımlandı (14). Hastaların kognitif durumu Mini Mental durum (Mini Mental test Examination/MMSE) incelemesine göre değerlendirildi. Hastalığın ciddiyetinin belirlenmesinde CDR (Clinic Demans Rating) kullanıldı. Hafif demans (MMSE $\geq$ 20), orta şiddetli demans (MMSE $\geq$ 10) ve ağır demans (MMSE $<$ 10) olarak kabul edildi. Klinik demans evrelemesinde, 0 normal, 0.5 şüpheli demans, 1, 2, 3 sırasıyla hafif, orta ve ağır demansı tanımlar. Hastaların günlük yaşam aktivitelerindeki fiziksel bağımsızlıkları ise ADL (Activity of Daily Living) indexi belirlendi (37).

Tanısı konulan 13 hastaya (8 kadın, 5 erkek) Rivastigmin, geri kalan 13 hastaya (8 erkek, 5 kadın) ise Donepezil tedavisi başlandı.

Kontrol Grubu: ESOGÜ Tıp Fakültesi Nöroloji Polikliniğine başvuran yaşları 60 ve 72 arasında değişen, yaş ortalamaları  $67\pm 3,69$  olan 17 sağlıklı kişiden (9 erkek, 8 kadın) oluşturuldu. Kontrol grubunda demans olup olmadığı klinik, laboratuvar, MMSE, CDR ve Barthel ile değerlendirildi.



Bu çalışma ESOGÜ Etik kurulunca onaylandı. Tüm hasta ve kontrol grubuna anket formu uygulandı. Çalışma anlatıldı ve hakkında bilgi verildi. Yazılı ve sözlü izinleri alındı.

### ***Çalışma Protokolü***

Hasta ve kontrol grubuna ait kan örnekleri 8 saatlik açlığı takiben 9:00-12:00 arasında alınarak heparinli tüplere konuldu. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Plazmaları ayrılarak MDA ve BChE çalışılmak üzere -70 °C'de saklandı. Eritrositler serum fizyolojik ile üç kez yıkanarak eritrosit süspansiyonu hazırlandı ve AChE, SOD, katalaz, GPx çalışmak üzere -70 °C'de saklandı. 3. ay sonunda hastalar tekrar polikliniğe çağrılarak aynı işlem tekrarlandı.

AChE, BChE, SOD, Katalaz, GPx aktivitesi ve MDA ölçümlerinde UV-1201 Shimadzu spektrofotometre (Shimadzu Corp., Japan) kullanıldı.

### **Yöntemler**

#### ***Eritrosit AChE aktivitesi ölçümü***

Eritrosit AChE aktivitesi Ellman yöntemi ile ölçüldü. Ellman yöntemi doku homojenatı, hücre süspansiyonu, tam kan ve insan eritrositleri gibi örneklerde AChE aktivitesinin fotometrik olarak ölçülmesine imkan tanır.

Yöntemin prensibi: Asetiltyokolinyodid'in enzim ile tepkimeye girmesi, tyokolin ve asetat oluşumuna neden olur. Tyokolin'in dityobisnitrobenzoat (DTNB) ile tepkimeye girmesi sonucu oluşan sarı rengin 436 nm'de oluşturduğu absorbans değişimleri 30 sn'de bir en az 6 dakika kaydedilir ve dakikadaki absorbans değişimi hesaplanır. Dakikadaki absorbans değişiminden faydalanarak enzim ünitesi hesaplanır (32,33).

Kan hücreleri (1/600) oranında fosfat tamponu (0,1 M, pH:8) ile seyreltildi. 3ml süspansiyon üzerine 25 µl DTNB solüsyonu eklenerek 10 dakika 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 20 µl 0,075M asetiltyokolinyodid ilave edildi. 436 nm dalga boyunda 6 dakika boyunca 30sn'de bir gerçekleşen absorbans değişimleri izlendi. 1

dakikadaki absorbans değişimi hesaplandı. Dakikadaki absorbans değişiminden faydalanarak enzim ünitesi hesaplandı ve Hg değerine bölünerek enzim aktivitesi U/gHg olarak verildi.

#### ***Plazma BuChE aktivitesi ölçümü***

BuChE aktivitesi Ellman metodu ile ölçüldü (33, 127).

Plazma örneği 1/150 oranında fosfat tamponu (0,1 M, pH:8) ile seyreltildi. 3ml süspansiyon üzerine 25 µl DTNB solüsyonu eklenerek 10 dakika 37 °C’de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 20 µl bütiriltiyokliniyodid (0,005 M) ilave edildi. 436 nm dalga boyunda 6 dakika boyunca 30sn’de bir gerçekleşen absorbans değişimleri izlendi. Dakikadaki absorbans değişimi hesaplandı. Dakikadaki absorbans değişiminden faydalanarak enzim aktivitesi µmol/ml/dak olarak ifade edildi.

#### ***Plazma Malondialdehit Düzeylerinin Ölçümü***

MDA ölçümü, Ohkawa ve arkadaşlarının MDA’nın asidik ortamda tiobarbitürik asitle oluşturduğu rengin 532 nm’de absorbansının ölçülmesi prensibine dayanan yöntemi uygulanarak yapıldı (87).Plazma numunesinden 0.5’er ml alınarak her birinin üzerine %8.1 sodyum dodesil sülfattan 0.2 ml, pH’ı 3.5 olan %20’lik asetik asitten 1.5 ml ve %0.8 tiobarbitürik asit solüsyonundan 1.5 ml eklenerek karıştırıldı ve 95 °C’de 60 dakika ısıtıldı.Soğutulduktan sonra 5 ml n-Butanol/Piridin (15/1;v/v) eklendi.4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek üst tabakanın absorbansı 532 nm’de ölçüldü.

Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanılarak hesaplanan MDA düzeyleri nmol/ml olarak ifade edildi.

#### ***Eritrosit Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi***

SOD aktivitesi fotoredükte riboflavin ve oksijenin reaksiyonu ile oluşan süperoksitin, nitrobluetetrazolium’u redükte etmesinin SOD tarafından inhibe edilmesi temeline dayanan, Fridovich ve Beuchamp’ın yönteminin Winterbourn ve arkadaşları tarafından modifiye edilen şekliyle ölçüldü (126).

Eritrosit suspansiyonunun 0.5 ml'si üzerine 3.5 ml distile su, 1 ml etanol ve 0.6 ml kloroform eklenerek kloroform-etanol ekstraksiyonu yapıldı. Vortexle karıştırılan tüpler 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.

Üstte kalan berrak kısım enzim ölçümü için kullanıldı. 0.05 ml hemolizat üzerine 100 ml'sinde 1.5 mg NaCN içeren 0.1 M EDTA'dan 0.2 ml., 1.5 mM NBT'den 0.1 ml eklendi ve 60x15x20 cm boyutlarında ve 15W bir floresanla üniform aydınlatılan lüminasyon kutusuna konuldu. 15 dakika bekletildikten sonra hemolizat konmayan tüp kör olarak kullanılarak, 560 nm'de absorbansları ölçüldü. SOD standartının verdiği inhibisyon grafiğine işlenerek örneklerin SOD aktivitesi bulundu.

Bir SOD ünitesi NBT redüksiyonunun maksimum inhibisyonunun yarısını sağlayan enzim miktarı olarak tanımlandı. Enzim aktivitesi eritrositlerde U/gHb olarak verildi.

#### ***Eritrosit Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi***

Katalaz aktivitesi substratı olan hidrojen peroksidin uygun ısı ve ortamda 230 nm'de optik dansitesindeki düşüşün zamanla uygun olarak izlenmesi prensibine dayanan Beutler'in metodu uygulanarak tayin edildi (12).

Eritrosit hemolizatı dilüsyonu 1/1000'e tamamlandı. Bu hemolizattan 0.04 ml alınarak inkübasyon sonrası tüplere konuldu. Tüplere önce pH'ı 8.0 olan 1M TrisHCl ve 5 mM EDTA içeren solüsyondan 0.1 ml. ve 10 mM hidrojen peroksitten 1.8 ml eklendi ve 37 °C'de 10 dk inkübasyon sonrasında üzerine 0.04 ml numune konularak 230 nm'de dakikadaki optik dansite düşüşü, hidrojen peroksit yerine distile su içeren köre karşı 5 dk. süreyle izlendi.

Dakikadaki optik dansite düşüşü bulunarak enzim aktivitesi eritrositte U/gHb olarak ifade edildi.

### ***Eritrosit Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi***

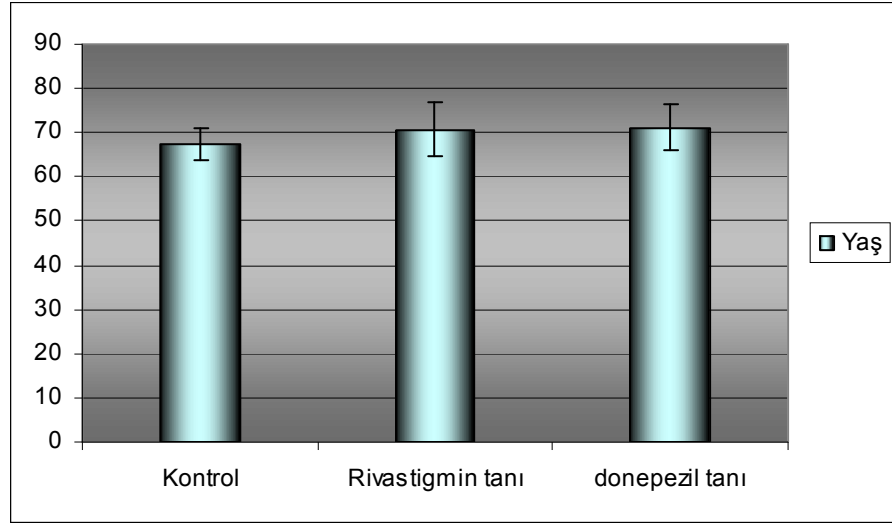
Eritrosit glutasyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve Valentine'nin tanımladığı yönteme göre belirlendi (90). Eritrosit süspansiyonunun 0.1 ml'si 2.58 ml 0.005 M EDTA içeren, pH'sı 7.0 olan 0.05 M fosfat tamponuna eklendi. Daha sonra 0.1 ml 0.0084 M NADPH, 0.01 ml GSSGR, 0.01 ml 1.125 M NaN<sub>3</sub> ve 0.1 ml 0.15 M GSH eklendi. Enzimatik reaksiyon 0.1 ml 0.0022 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ekleyerek başlatıldı. NADPH'nın NADP'ye çevrimi 340 nm'de 4 dakika boyunca absorbans değişimi olarak izlendi. Bir dakikada oluşan absorbans değişimi bulundu. Absorbans değişimi NADP'ya ait ekstinksiyon katsayısına bölünerek enzim ünitesi hesaplandı. Enzim aktivitesi eritrositlerde U/g Hb. olarak verildi.

### **İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analizler ESOGÜ Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından yapıldı. Analiz için windows SPSS 15.0 kullanıldı. Veriler ortalama  $\pm$  SD olarak özetlendi. Değişkenlerin normallik varsayımları Shapiro Wilk testi ile test edildi. Normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırmaları ANOVA testi ile yapıldı. Varyanslar homojen grupların çoklu karşılaştırmalarında TUKEY HSD, varyansları homojen olmayan grupların karşılaştırılmasında ise Tamhane Posthoc (çoklu karşılaştırma) testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen verilerin analizinde ise parametrik olmayan testlerden Kruskal-Wallis One way ANOVA testi kullanılmıştır. Farklı grupların belirlenmesinde ise Dunn's testi kullanılmıştır. Önce ve sonra değerlerinin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrik değerlere paired samples t-testi, non-parametrik değerlere ise wilcoxon t testi kullanılmıştır.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Kontrol grubu ( $67,29 \pm 3,69$ ) ile kıyaslandığında rivastigmin tanı ( $70,69 \pm 6,22$ ) ve donepezil tanı ( $72,00 \pm 6,10$ ) grupları arasındaki yaş farkı istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ) (Grafik 1, Tablo 1).



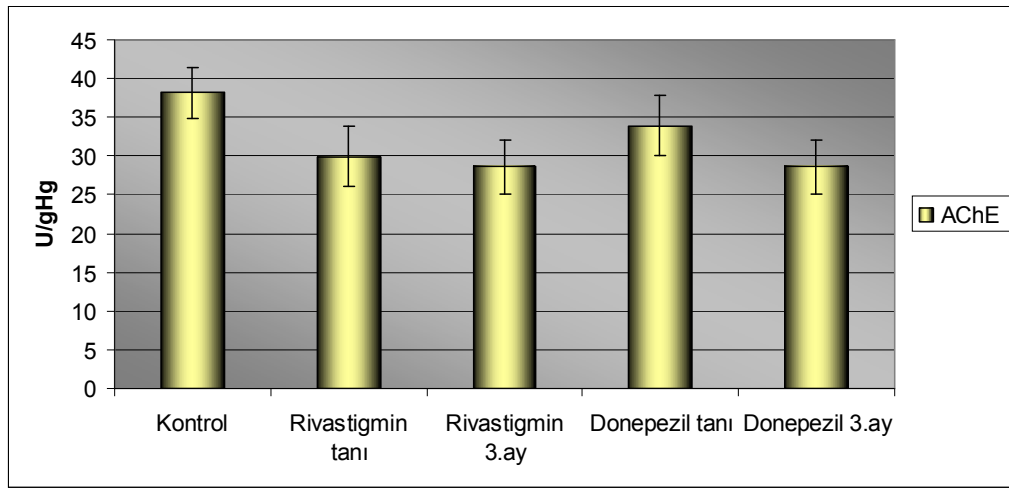
**Grafik 1.** Deneklerin Yaş düzeyleri

Gruplar	Ort ± SD	Çoklu karşılaştırma sonuçları		
		Kontrol	Rivastigmin tanı	Donepezil tanı
Kontrol	67,29 ± 3,69			
Rivastigmin tanı	70,69 ± 6,22	n.s		n.s
Donepezil tanı	72,00 ± 6,10	n.s		

$p > 0,05$ : n.s,  $p < 0,05$  \*,  $p < 0,01$  \*\*,  $p < 0,001$  \*\*\*

**Tablo 1.** Deneklerin Yaş değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması

Kontrol grubu ( $38,20 \pm 3,30$  U/gHg) eritrosit AChE aktivitesi ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu ( $29,90 \pm 3,88$  U/gHg) ve donepezil tanı grubu ( $33,92 \pm 5,04$  U/gHg) eritrosit AChE aktivitesi her iki grupta da anlamlı derecede azalmış olarak bulundu, sırasıyla ( $p > 0,001$ ,  $p < 0,05$ ). Rivastigmin 3.ay grubu AChE aktivitesi ( $28,63 \pm 3,50$ ) ve rivastigmin tanı grubu AChE aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p > 0,05$ ). Donepezil 3.ay AChE aktivitesi ( $26,97 \pm 3,52$ ) ile donepezil tanı grubuna göre anlamlı düzeyde azalmış olarak bulundu ( $p < 0,001$ ). Rivastigmin 3.ay ve donepezil 3.ay AChE aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmış olarak bulundu ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ) (Grafik 2, Tablo 2).



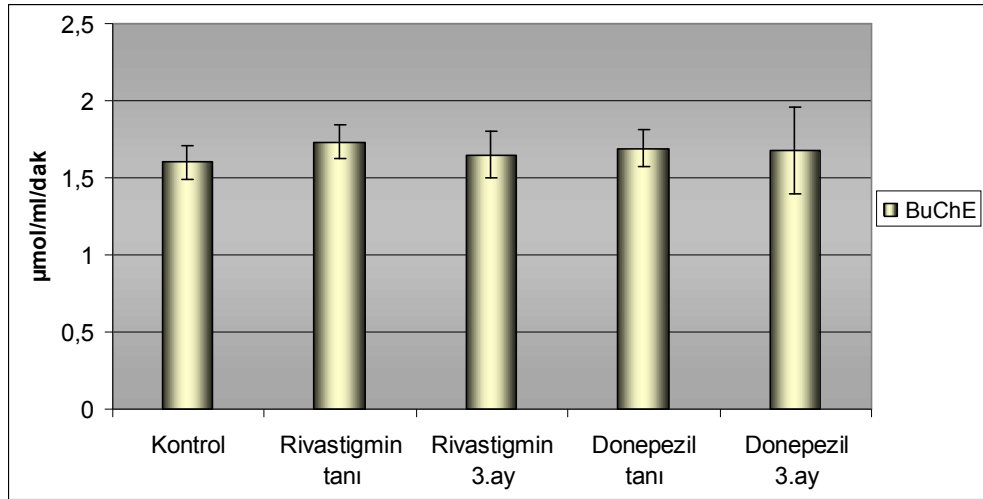
Grafik 2. Eritrosit AChE aktivitesi (U/gHg) düzeyleri

Gruplar	Ort ± SD	Çoklu Karşılaştırma Sonuçları				
		Kontrol	Rivastigmin tanı	Rivastigmin 3.ay	Donepezil tanı	Donepezil 3.ay
Kontrol	38,20 ± 3,30					
Rivastigmin tanı	29,90 ± 3,88	***			*	
Rivastigmin 3.ay	28,63 ± 3,50	***	n.s			n.s
Donepezil tanı	33,92 ± 5,04	*				
Donepezil 3.ay	26,97 ± 3,52	***			***	

$p > 0,05$ : n.s,  $p < 0,05$  \*,  $p < 0,01$  \*\*,  $p < 0,001$  \*\*\*

Tablo 2. Eritrosit AChE aktivitesi (U/gHg) değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması

Rivastigmin tanı grubu plazma BuChE aktivitesi ( $1,73 \pm 0,11 \mu\text{mol/ml/dak}$ ) kontrol grubuna ( $1,60 \pm 0,11 \mu\text{mol/ml/dak}$ ) göre anlamlı düzeyde artmış olarak bulundu ( $p<0,01$ ). Donepezil tanı grubunda ( $1,69 \pm 0,12 \mu\text{mol/ml/dak}$ ) kontrol grubuna göre yüksek olarak bulundu. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). Rivastigmin 3.ay grubunda plazma BuChE aktivitesi ( $1,65 \pm 0,15 \mu\text{mol/ml/dak}$ ) rivastigmin tanı grubuna göre azalmış olarak bulundu ( $p<0,05$ ). Donepezil 3.ay grubu BuChE aktivitesi ( $1,68 \pm 0,28 \mu\text{mol/ml/dak}$ ) ile donepezil tanı grupları BuChE aktivitesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). Rivastigmin 3.ay ve donepezil 3.ay grubu BuChE aktivitesi ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ) (Grafik 3, Tablo 3).



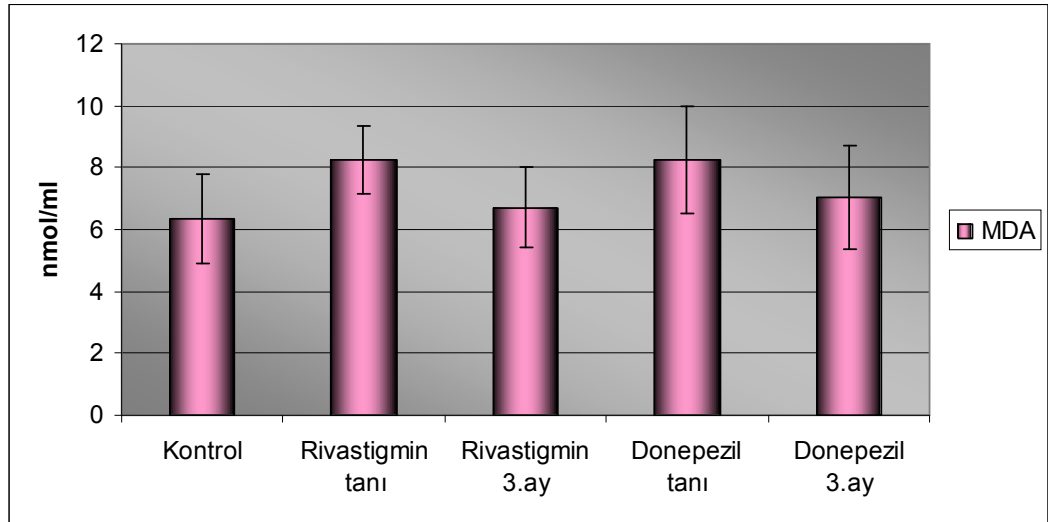
Grafik 3. Plazma BChE aktivite ( $\mu\text{mol/ml/dak}$ ) düzeyleri

Gruplar	Ort ± SD	Çoklu Karşılaştırma Sonuçları				
		Kontrol	Rivastigmin tanı	Rivastigmin 3.ay	Donepezil tanı	Donepezil 3.ay
Kontrol	1,60 ± 0,11					
Rivastigmin tanı	1,73 ± 0,11	**			n.s	
Rivastigmin 3.ay	1,65 ± 0,15	n.s	*			n.s
Donepezil tanı	1,69 ± 0,12	n.s				
Donepezil 3.ay	1,68 ± 0,28	n.s			n.s	

$p>0,05$ : n.s,  $p<0,05$  \*,  $p<0,01$  \*\*,  $p<0,001$  \*\*\*

Tablo 3. Plazma BuChE aktivitesi ( $\mu\text{mol/ml/dak}$ ) değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması

Plazma MDA düzeyleri rivastigmin tanı ( $8,35 \pm 1,08$  nmol/ml) ve donepezil tanı ( $8,25 \pm 1,73$  nmol/ml) gruplarında kontrol grubuna ( $6,37 \pm 1,44$  nmol/ml) göre anlamlı düzeyde yüksek olarak bulundu (sırasıyla,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ). Rivastigmin 3.ay grubu MDA düzeyleri ( $6,7 \pm 1,30$  nmol/ml) rivastigmin tanı grubu ile kıyaslandığında anlamlı düzeyde düşük olarak bulundu ( $p < 0,001$ ). Donepezil 3.ay grubu MDA düzeyleri ( $7,02 \pm 1,68$ ) Donepezil tanı grubu MDA düzeyleri ile kıyaslandığında anlamlı düzeyde azalmış olarak bulundu ( $p < 0,01$ ). Rivastigmin 3.ay ve donepezil 3.ay grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ) (Grafik 4, Tablo 4).



Grafik 4. Plazma MDA (nmol/ml) düzeyleri

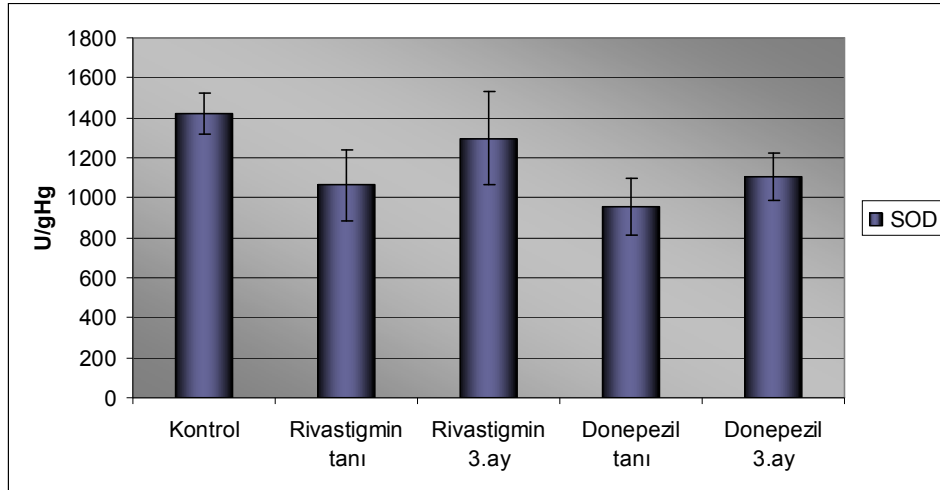
Gruplar	Ort ± SD	Çoklu Karşılaştırma Sonuçları				
		Kontrol	Rivastigmin tanı	Rivastigmin 3.ay	Donepezil tanı	Donepezil 3.ay
Kontrol	6,37 ± 1,44					
Rivastigmin tanı	8,35 ± 1,08	**			n.s	
Rivastigmin 3.ay	6,70 ± 1,30	n.s	***			n.s.
Donepezil tanı	8,25 ± 1,73	**				
Donepezil 3.ay	7,02 ± 1,68	n.s			**	

$p > 0,05$ : n.s,  $p < 0,05$  \*,  $p < 0,01$  \*\*,  $p < 0,001$  \*\*\*

Tablo 4. Plazma MDA (nmol/ml) değerleri ve gruplar arası karşılaştırmaları



Kontrol grubu ( $1420 \pm 103$  U/gHg) SOD aktivitesi ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu ( $1062 \pm 177$  U/gHg) ve donepezil tanı grubunda ölçülen ( $955 \pm 140$  U/gHg) SOD aktivitesi her iki grupta da anlamlı düzeyde düşük olarak bulundu. (sırasıyla,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ). Rivastigmin 3.ay grubu SOD aktivitesi ( $1296 \pm 232$  U/gHg) rivastigmin tanı grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olarak bulundu ( $p < 0,001$ ). Donepezil 3.ay grubu SOD aktivitesi ( $1105 \pm 120$ ) donepezil tanı grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olarak bulundu ( $p < 0,01$ ). Rivastigmin 3.ay grubu ile kontrol grubu SOD aktivitesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ). Donepezil 3.ay ile kontrol grubu SOD aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ( $p < 0,001$ ) (Grafik 5, Tablo 5).



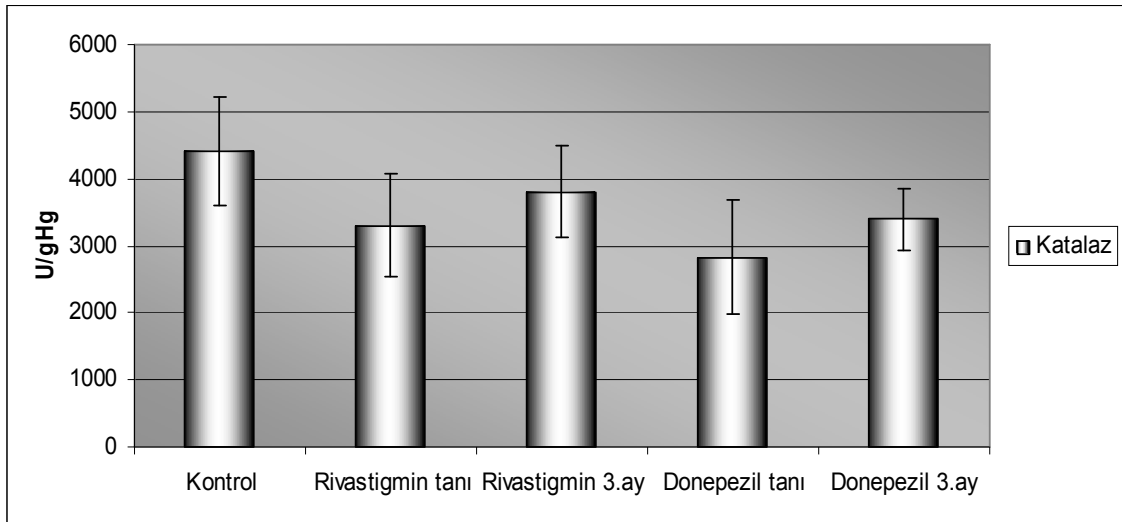
Grafik 5. Eritrosit SOD aktivitesi (U/gHg) düzeyleri

Gruplar	Ort ± SD	Çoklu Karşılaştırma Sonuçları				
		Kontrol	Rivastigmin tanı	Rivastigmin 3.ay	Donepezil tanı	Donepezil 3.ay
Kontrol	1420± 103					
Rivastigmin tanı	1062 ± 177	***			n.s	
Rivastigmin 3.ay	1296 ± 232	n.s	***			*
Donepezil tanı	955 ± 140	***				
Donepezil 3.ay	1105 ± 120	***			**	

$p > 0,05$ : n.s,  $p < 0,05$  \*,  $p < 0,01$  \*\*,  $p < 0,001$ \*\*\*

Tablo 5. Eritrosit SOD aktivitesi (U/gHg) değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması

Kontrol grubu ( $4410 \pm 813$  U/gHg) katalaz aktivitesi ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu ( $3302 \pm 772$  U/gHg) ve donepezil tanı grubunda ölçülen ( $2830 \pm 861$  U/gHg) katalaz aktivitesi her iki grupta da anlamlı düzeyde düşük olarak bulundu. (sırasıyla,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,01$ ). Rivastigmin 3.ay grubu katalaz aktivitesi ( $3808 \pm 674$  U/gHg) rivastigmin tanı grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olarak bulundu ( $p < 0,01$ ). Donepezil 3.ay grubu katalaz aktivitesi ( $3395 \pm 461$  U/gHg) donepezil tanı grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olarak bulundu ( $p < 0,05$ ). Rivastigmin 3.ay grubu ile kontrol grubu katalaz aktivitesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ). Donepezil 3.ay ile kontrol grubu katalaz aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ( $p < 0,01$ ) (Grafik 6, Tablo 6).



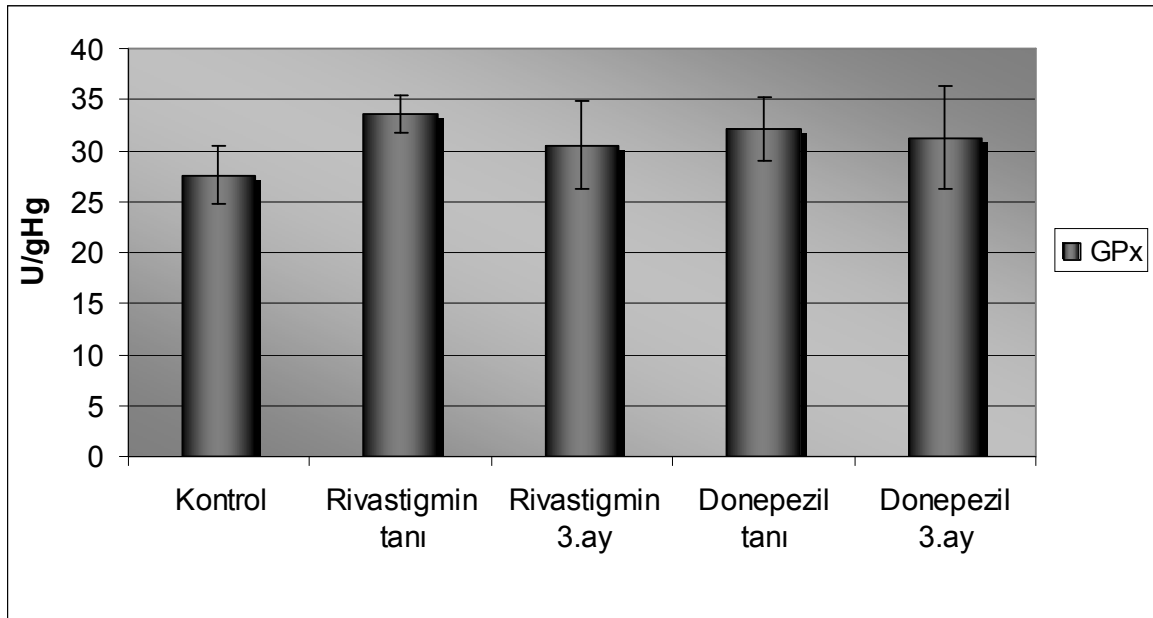
Grafik 6. Eritrosit katalaz aktivitesi düzeyleri

Gruplar	Ort ± SD	Çoklu Karşılaştırma Sonuçları				
		Kontrol	Rivastigmin tanı	Rivastigmin 3.ay	Donepezil tanı	Donepezil 3.ay
Kontrol	4410 ± 813					
Rivastigmin tanı	3302 ± 772	**			n.s	
Rivastigmin 3.ay	3808 ± 674	n.s	**			n.s
Donepezil tanı	2830 ± 861	***				
Donepezil 3.ay	3395 ± 461	**			*	

$p > 0,05$ : n.s,  $p < 0,05$  \*,  $p < 0,01$  \*\*,  $p < 0,001$  \*\*\*

Tablo 6 . Eritrosit katalaz aktivitesi değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması

Kontrol grubu ( $27,61 \pm 2,86$  U/gHg) GPx aktivitesi ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu ( $33,57 \pm 1,88$  U/gHg) ve donepezil tanı grubunda ölçülen ( $32,15 \pm 3,11$  U/gHg) GPx aktivitesi her iki grupta da anlamlı düzeyde yüksek olarak bulundu. (sırasıyla,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ). Rivastigmin 3.ay grubu GPx aktivitesi ( $30,53 \pm 4,36$  U/gHg) rivastigmin tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ). Donepezil 3.ay grubu GPx aktivitesi ( $31,25 \pm 5,01$  U/gHg) ile donepezil tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ). Rivastigmin 3.ay grubu ve donepezil 3.ay grubu GPx aktivitesi kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ) (Grafik 7, Tablo 7).



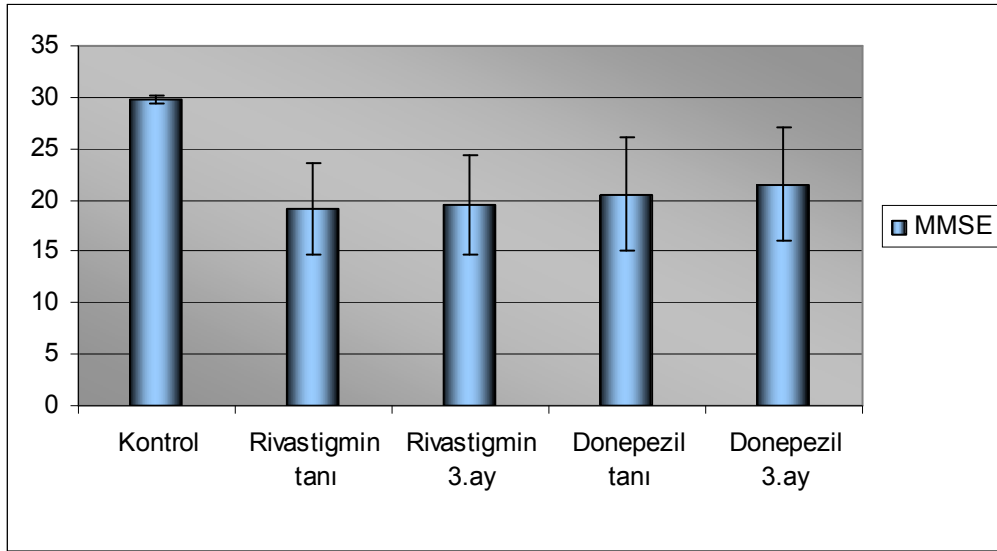
Grafik 7. Eritrosit GPx aktivitesi düzeyleri

Gruplar	Ort ± SD	Çoklu Karşılaştırma Sonuçları				
		Kontrol	Rivastigmin tanı	Rivastigmin 3.ay	Donepezil tanı	Donepezil 3.ay
Kontrol	27,61 ± 2,86					
Rivastigmin tanı	33,57 ± 1,88	***			n.s	
Rivastigmin 3.ay	30,53 ± 4,36	n.s	n.s			n.s
Donepezil tanı	32,15 ± 3,11	***				
Donepezil 3.ay	31,25 ± 5,01	n.s			n.s	

$p > 0,05$ : n.s,  $p < 0,05$  \*,  $p < 0,01$  \*\*,  $p < 0,001$  \*\*\*

Tablo 7. Eritrosit GPx aktivitesi değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması

Kontrol grubu ( $29,82 \pm 0,40$ ) MMSE değerleri ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu ( $19,15 \pm 4,45$ ) ve donepezil tanı grubunda ( $20,54 \pm 5,50$ ) MMSE her iki grupta da anlamlı düzeyde düşük olarak bulundu (sırasıyla,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ). Rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Rivastigmin 3.ay grubu MMSE değerleri ( $19,46 \pm 4,82$ ) rivastigmin tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ). Donepezil 3.ay grubu MMSE değerleri ( $21,54 \pm 5,44$ ) ile donepezil tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ) (Grafik 8, Tablo 8).



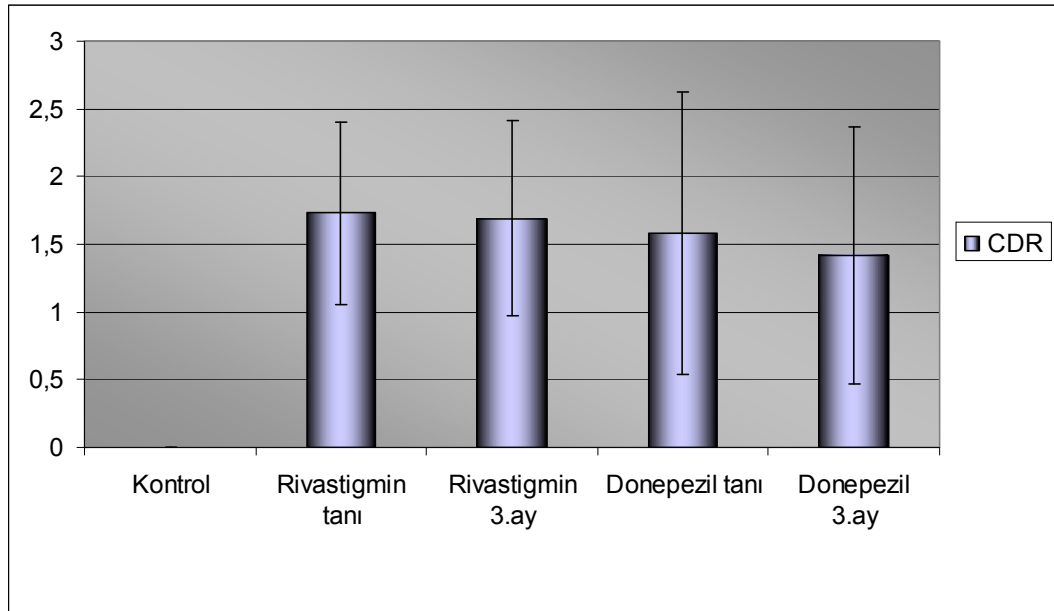
Grafik 8. MMSE düzeyleri

Gruplar	Ort ± SD	Çoklu Karşılaştırma Sonuçları				
		Kontrol	Rivastigmin tanı	Rivastigmin 3.ay	Donepezil tanı	Donepezil 3.ay
Kontrol	29,82 ± 0,40					
Rivastigmin tanı	19,15 ± 4,45	***			n.s	
Rivastigmin 3.ay	19,46 ± 4,82	***	n.s			n.s
Donepezil tanı	20,54 ± 5,50	***				
Donepezil 3.ay	21,54 ± 5,44	***			n.s	

$p > 0,05$ : n.s,  $p < 0,05$  \*,  $p < 0,01$  \*\*,  $p < 0,001$  \*\*\*

Tablo 8. MMSE değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması

Kontrol grubu ( $0 \pm 0$ ) CDR değerleri ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu ( $1,73 \pm 0,67$ ) ve donepezil tanı grubunda ( $1,58 \pm 1,04$ ) MMSE her iki grupta da anlamlı düzeyde yüksek olarak bulundu (sırasıyla,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ). Rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Rivastigmin 3.ay grubu CDR değerleri ( $1,69 \pm 0,72$ ) ile rivastigmin tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ). Donepezil 3.ay grubu CDR değerleri ( $1,42 \pm 0,95$ ) ile donepezil tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ) (Grafik 9, Tablo 9).



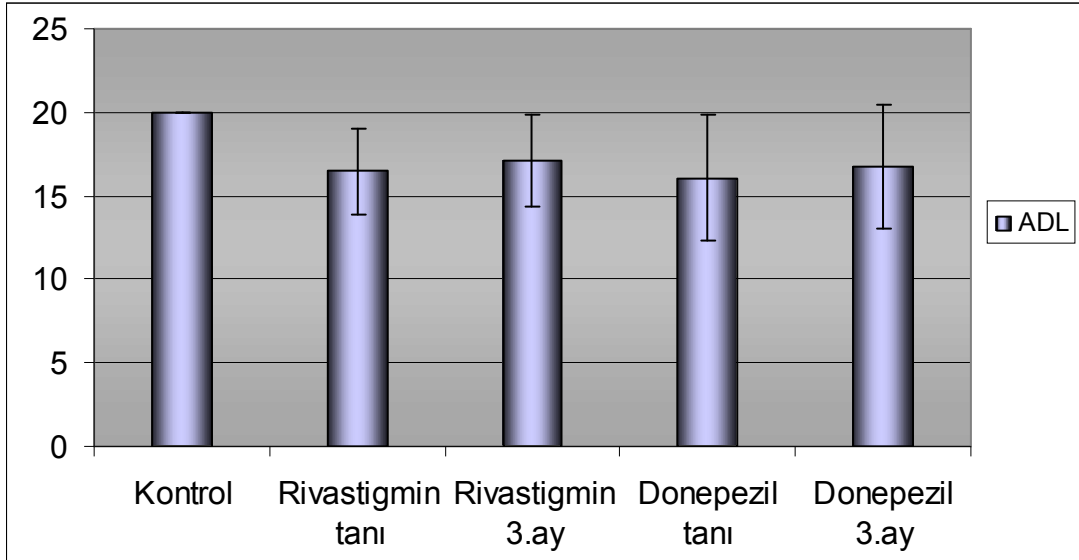
Grafik 9. CDR düzeyleri

Gruplar	Ort ± SD	Çoklu Karşılaştırma Sonuçları				
		Kontrol	Rivastigmin tanı	Rivastigmin 3.ay	Donepezil tanı	Donepezil 3.ay
Kontrol	$0 \pm 0$					
Rivastigmin tanı	$1,73 \pm 0,67$	***			n.s	
Rivastigmin 3.ay	$1,69 \pm 0,72$	***	n.s			n.s
Donepezil tanı	$1,58 \pm 1,04$	***				
Donepezil 3.ay	$1,42 \pm 0,95$	***			n.s	

$p > 0,05$ : n.s,  $p < 0,05$  \*,  $p < 0,01$  \*\*,  $p < 0,001$  \*\*\*

Tablo 9. CDR değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması

Kontrol grubu ( $20 \pm 0$ ) ADL değerleri ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu ( $16,46 \pm 2,54$ ) ve donepezil tanı grubunda ( $16,08 \pm 3,77$ ) Barthel değerleri her iki grupta da anlamlı düzeyde düşük olarak bulundu (sırasıyla,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ). Rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Rivastigmin 3.ay grubu ADL değerlerindeki ( $17,15 \pm 2,76$ ) artış rivastigmin tanı grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). Donepezil 3.ay grubu ADL değerleri ( $16,69 \pm 3,71$ ) ile donepezil tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ) (Grafik 10, Tablo10).



Grafik 10. ADL düzeyleri

Gruplar	Ort ± SD	Çoklu Karşılaştırma Sonuçları				
		Kontrol	Rivastigmin tanı	Rivastigmin 3.ay	Donepezil tanı	Donepezil 3.ay
Kontrol	20 ± 0					
Rivastigmin tanı	16,46 ± 2,54	***			n.s	
Rivastigmin 3.ay	17,15 ± 2,76	***	*			n.s
Donepezil tanı	16,08 ± 3,77	***				
Donepezil 3.ay	16,69 ± 3,71	***			n.s	

$p > 0,05$ : n.s,  $p < 0,05$  \*,  $p < 0,01$  \*\*,  $p < 0,001$  \*\*\*

Tablo 10. ADL değerleri ve gruplar arası karşılaştırılması

## 5.TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisinde kullanılan rivastigmin ve donepezil adlı etken maddeleri içeren ilaçların, Alzheimer hastalarında eritrosit AChE, plazma BuChE ve oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkileri araştırıldı.

Son 10 yılda Alzheimer hastalığı konusunda yapılan araştırmalar oksidatif stres mekanizmaları ve bu mekanizmaların hastalık patogenezindeki rolü üzerine odaklanmıştır. Birçok çalışmada oksidatif stresin ve serbest radikal hasarının Alzheimer hastalığının patogenezinde ve muhtemel etyolojisinde etkili olduğunu gösteren kanıtlar elde edilmiştir (94).

Alzheimer hastalığında oksidatif stres artışını gösteren kanıtlar vardır. Süperoksit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birleşmesi sonucunda en toksik radikal olan hidroksil radikalının üretmeleri, lipid peroksidasyonu ve membran değişimleri, beyinde protein ve DNA oksidasyonun artması, mitokondriyal fonksiyonun değişmesinin muhtemelen solunum zincirinden elektron kaçışına neden olması ve sonuç olarak süperoksit radikalının üretilmesi, ileri glikasyon ürünlerinin ortaya çıkması, MDA, karboniller, peroksinitrit, nörofibriler yumaklarda ve senil plaklarda hem-oksijenaz ve SOD-1, reaktif oksijen ürünlerinin Aβ ve amiloid öncü proteinin karboksi ucu üzerindeki agregasyon yapıcı etkisi ve amiloid peptidin serbest radikal üretebildiği gösterilmiştir (130).

Hem solubl hemde fibriler Aβ'nın oksidatif stres oluşturabildiğine dair artan sayıda kanıt bulunmaktadır. Birçok çalışma reaktif oksijen ürünlerin Aβ fibrilizasyonunda ve nörofibriler yumak oluşumunda rol oynadığını ileri sürer. Aynı zamanda Alzheimer hastalığında reaktif oksijen türleri üretiminin amiloid ve nörofibriler yumak oluşumu ile arttığı ile ilişkili kanıtlar da vardır (21).

β amiloid ve serbest radikal üretimi arasında çift yönlü bir ilişki vardır. Oksidatif süreç yalnızca β-amiloidin agrage β-amiloide dönüşmesi sırasında gerçekleşmez aynı zamanda β-amiloidin kendisinde serbest radikal üretir. β-amiloid vasküler endotel hücrelerle etkileşir süperoksit radikalleri ve lipid peroksidasyonuna neden olan okside

edici ajanlar üretir. Bu veri  $\beta$ -amiloidin serbest radikallerin üretilmesinde ve nörodejeneratif hastalıklarda rol oynadığını göstermektedir (23).

Alzheimer hastalığında  $\beta$ -amiloid peptidin oksidatif stres artışı ve serbest radikal üretiminde etkili olduğu gösterilmiştir. Oksidatif stres artışına serbest radikal üretime neden olan amiloid petid toksisitesinin ve ROS üretimi ile koruyucu sistemler arasındaki dengesizliğin yol açtığı düşünülmektedir. Son yıllarda Alzheimer amiloidosis hayvan modellerinde lipid peroksidasyonun amiloid plak oluşumunu arttırdığını ileri süren bulgular vardır (82). A $\beta$  kendiliğinden peptidil radikalleri veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretebilir (118).

Nöronlardaki A $\beta$  peptid depozisyonuna ilave olarak, A $\beta$  peptid trombositlerde de yüksek düzeylerde üretilir ve kanda nanomolar konsantrasyonda bulunur. Eritrositlerinde fizyolojik düzeylerde A $\beta$  bağladığı belirlenmiştir. Vasküler düz kas hücreleri ve endotelial hücreler yanında dolaşımdaki kan hücreleri de A $\beta$  etkisi ile hasarlanabilir. Daha önce yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar Alzheimer hastalarında eritrositlerin fonksiyonlarının ve bütünlüğünün negatif olarak etkilenebileceğini göstermiştir. Membran proteinlerinin fizyolojik durumundaki değişiklikler; Ca geçirgenliğinin, antioksidan enzim aktivitelerinin, morfolojik yapının değişmesine ve eritrosit/plazma kolin düzeylerinin artmasına neden olur. Hücrelere A $\beta$  girişinin tespit edilmesi, bu peptidlerin eritrositlerde de sitoplazmik enzimlerle etkileşebileceğinin düşünülmesine neden olmuştur (24).

AChE, amiloid  $\beta$ -peptidlerin agregasyonunu ve amiloid oluşumunu artırır. Amiloid oluşumunda AChE'nin periferik anyonik bölgesinin rol oynayabileceği düşünülmektedir. AChE-A $\beta$  kompleksinin amiloid fibrilleri ile kıyaslandığında daha fazla nörotoksik olduğu görülmüştür (119,50). BuChE'inde Alzheimer hastalığında senil plak oluşumunun erken evrelerinde gerçekleşen  $\beta$ -amiloid agregasyonunda rol oynadığını gösteren kanıtlar mevcuttur. Doku kültürü çalışmalarında BuChE varlığında amiloid toksisitesinin ciddi şekilde arttığı saptanmıştır. Bu bulgular uygun olmayan BuChE aktivitesi artışlarının Alzheimer hastalığı progresyonunu ve riskini arttırdığını ileri sürer (17).



Alzheimer tipi demans orta yaşlı ve yaşlı bireylerde görülen mental patolojilerin en yaygın tipidir. Alzheimer hastalıklı bireylerin beyinlerinde saptanan en önemli değişiklikler; nöron ölümü ile sinaps kaybı, amiloid plak oluşumu ve azalmış ACh içeriğidir. Temel tedavi şekli beyin ACh içeriğinin arttırılması amacı ile AChE inhibitörlerinin kullanılmasıdır. Plazma membranlarındaki AChE kolinerjik fonksiyonların değerlendirilmesinde bir belirteç olarak kullanılır. Alzheimer hastalarında kullanılan tedavi edici ajanların etkilerinin değerlendirilmesi amacı ile gerçekleştirilen çalışmalar için eritrosit AChE aktivitesi güvenli bir modeldir (16).

Alzheimer hastalarının beyinlerinde bulunan en önemli değişimler ChAT ve AChE gibi kolinerjik belirteçlerin kaybıdır. ChAT kaybı ve mental durumun bozulması arasında ilişki olduğunun saptanması Alzheimer hastalığında görülen kognitif bozulmanın nedeni olarak kolinerjik hipotezinin ileri sürülmesine yol açmıştır ve bu durum tedavi stratejilerinin temelini oluşturmuştur. Serebrospinal sıvı, plazma, kan hücrelerindeki AChE aktivitesi ve enzimin izoformlarındaki değişimlerin araştırılması; Alzheimer hastalarında santral kolinerjik sistem durumunu yansıtabilecektir. Serebrospinal sıvı örneklerinde yapılan çalışmalarda Alzheimer'lı hastalarda AChE aktivitesinin anlamlı düzeyde azalma (%16) gösterdiği saptanmıştır. Alzheimer hastaları ve kontrol grubu arasında fark olmadığını gösteren çalışmalarda bulunmaktadır (119).

Alzheimer hastalığı sürecinde beyin AChE aktivitesi azalırken BuChE aktivitesi değişmez ya da %40-90 oranında artış gösterir. Sonuç olarak BuChE/AChE aktivitesi oranı sürekli olarak artar. Sağlıklı grupta serebrospinal sıvıda AChE aktivitesinin yaşlanma ile arttığını, orta dereceli Alzheimer hastalarında değişiklik göstermediğini ileri süren çalışmalar vardır. Aynı zamanda Alzheimer hastalarında serebrospinal sıvı AChE aktivitesi azalırken BuChE aktivitesinin arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (38).

Az sayıdaki araştırmada demanslı hastalarda sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında eritrosit AChE aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (22). Literatürde Alzheimer hastalığı ile ilişkili olarak periferik sistemdeki kolinesteraz değişimleri ile ilgili sınırlı sayıda veri olsa da AChE aktivitesindeki azalmanın beyin ile sınırlı olmadığı bilinmektedir (97).

***Çalışmamızda rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubunu oluşturan Alzheimer hastalarının eritrosit AChE aktivitesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde (sırasıyla;  $p<0,001$ ,  $p<0,05$ ) azalma gösterdiği saptandı.***

Marquis ve arkadaşlarının çalışmasından elde edilen bulgular, Alzheimer tipi demans hastalarında serebrospinal sıvı, eritrosit ve plazma kolinesteraz aktivitelerinde sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık olmadığını işaret etmektedir (73).

Hidrojen peroksit tarafından başlatılan lipid peroksidasyonunun AChE aktivitesini etkilediği bilinmektedir. Hidrojen peroksit AChE enzimi üzerinde direkt olarak etki gösterebilir. Eritrosit AChE aktivitesinin  $H_2O_2$  etkisinde inhibe olduğu, düşük hidrojen peroksit konsantrasyonlarında ise aktive olduğu ve aynı zamanda AChE aktivitesinin  $H_2O_2$  tarafından düzenlendiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (81).

Alzheimer hastalarında saptadığımız azalmış eritrosit AChE aktivite bulgusunun artmış lipid peroksidasyonu yada  $H_2O_2$  konsantrasyonu ile açıklanabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda rivastigmin tanı grubu ile kıyaslandığında rivastigmin 3.ay grubu AChE aktivitesindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı değilken ( $p>0,05$ ), donepezil 3.ay grubu AChE aktivitesi donepezil tanı grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmış olarak bulundu ( $p<0,001$ ).

Rivastigmin tedavisi serebrospinal sıvı AChE ve BuChE inhibisyonu yanında plazmadada bu enzimlerin inhibisyonuna neden olur. Bazı araştırmacılar AChE inhibisyonunun ilave nöronal koruma sağlayan APP işleme sürecini doza bağımlı olarak düzenleyebileceğini ileri sürmektedir (114).

Kennedy ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmadan elde edilen veriler, rivastigminin serebrospinal sıvıda önemli derecede (%40) inhibisyona neden olurken eritrosit AChE üzerinde minimal (%3) inhibisyona neden olduğunu göstermektedir (60).

Rivastigmin seçici bir şekilde ve büyük oranda G1 formundaki kolinesterazları inhibe eder. Eritrositlerde ise enzimin yalnızca G4 formu bulunmaktadır. Alzheimer hastalığının ilerleyen evrelerinde bu seçicilik daha da artabilir (36).

Çalışmamızda rivastigmin 3.ay grubunda eritrosit AChE aktivitesinde anlamlı derecede inhibisyon saptanmamasının nedeni rivastigminin seçici olarak G1 izoformu üzerinde inhibisyon göstermesi olabilir.

Darreh-Shori ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada uzun süreli donepezil kullanımının eritrosit AChE aktivitesi üzerinde orta derecede, serebrospinal sıvı AChE aktivitesi üzerinde ise doza bağlı olarak önemli düzeyde inhibisyon sağladığı gösterilmiştir (26).

Alzheimer hastalarında uzun dönem takrin, donepezil ve galantaminin tedavisi sonrasında serebrospinal sıvı AChE aktivitesinde artış olduğu gösterilmiştir (4).

Rogers ve arkadaşları 6 hafta süresince donepezil (5-10 mg/gün) kullanımı sonrasında eritrosit AChE enziminin önemli derecede inhibe olduğunu göstermişlerdir (101).

Sağlıklı bireylerin beyinlerinde BuChE aktivitesi AChE aktivitesinden düşük olmasına rağmen Alzheimer hastalarında BuChE aktivitesi önemli derecede artmıştır. Bu nedenle BuChE inhibisyonu Alzheimer hastalığının progresyonu açısından gün geçtikçe önem kazanmaktadır (10). Hastalığın ileri evrelerinde AChE/BuChE oranı değişir. BuChE ACh'i hidrolize etmek üzere AChE'nin yerine geçebilir. Bu durum enzimin fonksiyonel önemini arttırmaktadır. (17). Aynı zamanda doku kültüründe Aβ'ya BuChE enzim ilavesi sonucunda Aβ nörotoksisitesinin artması, Alzheimer hastalığında BuChE inhibisyonunun terapodik rolüne dikkat çekmektedir (41).

***Çalışmamızda rivastigmin tanı grubu ile donepezil tanı grubunu oluşturan Alzheimer hastalarının plazma BuChE aktivitesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, rivastigmin tanı grubunda enzim aktivitesi artmış olarak ( $p<0,01$ ) bulundu. Donepezil tanı grubunda enzim aktivitesindeki artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).***

Smith ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Alzheimer tipi demanslı hastalarda plazma pseudokolinesteraz aktivitesinin benzer yaştaki kontrol grubuna göre daha yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir (112).

Sirviö ve arkadaşları ileri düzeyde demans hastalarında serebrospinal sıvı BuChE enzim aktivitesinin azalma gösterdiğini plazma ve eritrosit aktivitelerinde değişme olmadığını göstermişlerdir (110).

Inestrosa ve arkadaşları sporadik Alzheimer hastalarında eritrosit BuChE aktivitesinin azama gösterdiğini ileri sürmüşlerdir (49). Chipperfield B ve arkadaşları da Alzheimer tipi senil demanslı hastalarda plazma kolinesteraz aktivitesinin anlamlı düzeyde azaldığını bildirmişlerdir (22).

***Çalışmamızda Alzheimer hastalarında rivastigmin 3.ay plazma BuChE aktivitesi rivastigmin tanı grubu BuChE aktivitesi ile kıyaslandığında anlamlı düzeyde azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ). Donepezil 3.ay plazma BuChE aktivitesi ile donepezil tanı grubu BChE aktivitesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).***

Giacobini ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada rivastigmin tedavisi alan Alzheimer hastalarında plazma BuChE aktivitesinin doza bağımlı olarak inhibe olduğu gösterilmiştir(130).

Amici ve arkadaşları ise 6-12 ay süresince donepezil (5mg günde 1 kez) ve rivastigmin (3-6mg günde iki kez) tedavisinin serebrospinal sıvı BuChE aktivitesinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığını göstermişlerdir (5).

Kennedy ve arkadaşları tek doz 3 mg rivastigmin uygulaması sonrasında plazma ve serebrospinal sıvı BuChE aktivitesinin anlamlı derecede inhibe olduğunu saptamışlardır (60).

Kosasa ve arkadaşları donepezilin yaşlı ratlarda plazma ve karaciğer kolinesterazını inhibe etmediğini gösteren kanıtlar elde etmişlerdir (61).

Çalışmamızın sonuçları Alzheimer hastalarında ACh'in hidrolizinde rol oynayan iki önemli enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre değişiklik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Alzheimer hastalarında azalmış eritrosit AChE aktivitesi ve her ne kadar çalışmamızda donepezil tanı grubunda gösterilemese de rivastigmin tanı grubunda saptanan artmış plazma BuChE aktivitesi, kolinerjik sistemdeki değişiklikleri yansıtır nitelik taşımaktadır. Hastalarda saptanan azalmış AChE aktivitesinin artmış oksidatif

stresle ve bu azalmanın pekçok çalışmada ileri sürüldüğü gibi artmış BuChE aktivitesi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Kolinerjik sistemdeki değişikliklerin düzenlenmesi ve sinaptik ACh düzeylerinin artırılması amacı ile uygulanan rivastigmin ve donepezil tedavisinin eritrosit AChE aktivitesi ve plazma BChE aktivitesi üzerindeki etkileri çalışmamızda gösterilmiştir. Benzer çalışmalardan elde edilen farklı sonuçların tedavi protokolü ve örnekler arası farklılıklardan kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Reaktif oksijen türevlerinin oluşumu sadece DNA'ya hasar vermekle kalmaz aynı zamanda oksidasyona son derece duyarlı olan fosfolipidlerin çoklu doymamış yağ asidi kalıntıları gibi diğer hücrel bileşenlerde de hasara neden olur. Peroksil radikalleri bir kez oluştuktan sonra bir döngüsel tepkime aracılığı ile endoperoksitlere peroksidasyon sürecinin son ürünü MDA olacak şekilde düzenlenebilirler (123). MDA ölçümü, lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde kullanılan metotlardan biridir (71).

Alzheimer hastalığında çeşitli membran fonksiyonlarında rol oynayan beyin fosfolipidlerinde değişiklik olabileceği düşünülmüştür. Fosfolipidler beyinde bol miktarda bulunan araşidonik asit ve doksaheksanoik asit gibi çoklu doymamış yağ asitleri içerir. Çoklu doymamış yağ asitleri reaktif oksijen türevleri tarafından kolaylıkla hidrojen kaybına imkan tanıyan çift bağlarından dolayı serbest radikal hasarına duyarlıdır. Pekçok çalışmada Alzheimer hastalarının beyinlerinde lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiştir (72). Alzheimer hastalarında artmış lipid peroksidasyonu serebrospinal sıvı ve plazmada da belirlenebilir (21).

Orta dereceli kognitif bozukluğu olan hastalarda lipid peroksidasyon ürünlerinin serebrospinal sıvı, plazma ve idrarda anlamlı düzeydeki artışları, lipid peroksidasyonunun hastalığın patogenezindeki erken dönem fizyopatolojik değişiklik olduğunu düşündürmüştür. Beyin diğer dokularla karşılaştırıldığında enerji üretmek için yüksek miktarda oksijen kullanır ve diğer dokulara oranla düşük katalaz ve GPx aktivitesi nedeni ile antioksidan sistem kısmen yetersizdir. Orta dereceli kognitif bozukluğu olan hastalar ile Alzheimer hastalarının enzimatik olmayan antioksidan periferik düzeyleri ve enzimatik antioksidanların aktiviteleri açısından kontrol grubu ile

karşılaştırıldığı bir çalışmada; orta dereceli kognitif bozuklukta ve Alzheimer hastalarında vitamin A, vitamin C, vitamin E, ürik asit düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda her iki hasta grubunda plazma ve eritrosit SOD ve GPx aktivitesinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında her iki hasta grubunda oksidatif stres durumunda aşırı miktarda üretilen serbest radikallere karşı yeterli koruma sağlanamayacağı ileri sürülmüştür (71). Çeşitli çalışmalarda A $\beta$ 'nin lipid peroksidasyonunu arttırarak oksidatif strese artışa neden olduğu gösterilmiştir (21). A $\beta$ 'nin kendisi radikal durumuna dönüşebilir, doğrudan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> düzeylerini arttırabilir, nöronal membranlar ile etkileşerek peroksit ve lipid peroksidasyon oluşumunu tetikleyebilir (128).

***Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hem rivastigmin tanı grubunda hemde donepezil tanı grubunda plazma MDA düzeyleri anlamlı derecede artmış olarak bulundu (sırasıyla, p<0,01, p<0,01).***

Bourdel-Machasson ve arkadaşlarının (15) çalışmalarında da plazma MDA düzeylerinin Alzheimer hastalarında arttığını gösterilmiştir.

Kalman J ve arkadaşlarının (56) yaptığı çalışmadan elde edilen veriler ise Alzheimer hastalarında plazma MDA düzeylerinde değişme olmadığını göstermektedir.

Jeandel ve arkadaşları (54) Alzheimer hastalığı ve artmış plazma MDA düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalar yapmışlardır.

***Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar rivastigmin 3.ay grubunda ve donepezil 3.ay grubunda plazma MDA düzeylerinin anlamlı derecede azaldığını göstermektedir. (sırasıyla, p<0,001,p<0,01).***

Xiao ve arkadaşları (128) AChE inhibitörleri (Huperazin A ve takrin) uygulamasının, A $\beta$  maruziyeti sonucunda PC12 hücrelerinde oluşan oksidatif stresin azaltılmasında etkili olduğunu göstermişlerdir. Her iki kolinesteraz inhibitörünün de A $\beta$ 'nin oluşturduğu aşırı MDA üretimini inhibe ettiğini gösteren kanıtlar elde etmişlerdir.

Svenssen ve arkadaşları (115) da takrin ve donepezilin A $\beta$  tarafından oluşturulan toksisiteye karşı hücreler üzerindeki koruyucu etkilerinin olduğunu göstermişlerdir.

Braginskaya ve arkadaşları (94) yaptıkları çalışmada 3 ay süresince kolinesteraz inhibitörü (amiridine ve gliatiline) alan Alzheimer hastalarında eritrosit AChE aktivitesi inhibisyonu ve azalmış oksidasyon ürünleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişki olduğunu saptamışlardır.

Pillay ve arkadaşları (95) in vitro olarak potasyum siyanide (KCN) maruz bırakılan rat beyin homojenatında lipid peroksidasyonu ve süperoksit anyon üretimi üzerinde ACh'in etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda ACh'in nörotransmitter özelliğinin yanında serbest radikaller tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonunu azaltabilme özelliğinin olduğunu ileri sürmüşlerdir. Aynı zamanda çalışmalarında kolinesteraz inhibitörlerinin kendilerinin serbest radikal temizleyici özelliği de olabileceğini bildirmişlerdir.

$\beta$ -amiloid peptid toksisitesi ve oksidatif stres dışında inflamasyon da Alzheimer hastalığının etyolojisinde rol oynayan bir diğer faktördür. Son yıllarda yapılan yayınlarda inflamasyonun hafifletilmesinde asetilkolinin doğrudan rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. AChE inhibitörlerinin serbest radikallere ve amiloid toksisitesine karşı etkin olduğunu, beyin ve kanda aktive mikroglialardan sitokin salınımını azalttığını işaret eden kanıtlar artmaktadır (117).

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar, Alzheimer hastalarında yüksek plazma MDA düzeyleri, bu hastalarda oksidatif stresin arttığını, 3 ay süresince uygulanan rivastigmin ve donepezil tedavisinin Alzheimer hastalarında lipid peroksidasyonunu anlamlı düzeyde azalttığını göstermektedir. Rivastigmin ve donepezilin, kolinesteraz inhibisyonu sonucunda ACh düzeylerini ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırması ile serbest radikallerin ve amiloid toksisitesinin azaltılmasına bağlı olarak lipid peroksidasyonunda azalmaya neden olabileceğini düşünmekteyiz. Bu etkiler ajanların yapısal özelliklerinden ya da sahip oldukları farklı etkilerden dolayı ortaya çıkmış olabilir.

Meunier ve arkadaşları (77) çalışmalarında farelere intraserebroventriküler A $\beta$ <sub>25-35</sub> peptid enjeksiyonu sonucunda hipokampal lipid peroksidasyon artışının donepezil tarafından önlediğini göstermişlerdir. Donepezil'in  $\sigma_1$  reseptör agonisti olması nedeni ile yeni sentezlenen  $\beta$ -amiloid peptidin toksik etkilerini diğer kolinesteraz inhibitörlerinden (rivastigmin, galantamin, takrin) daha etkin bir şekilde engellediğini gösteren kanıtlar elde etmişlerdir.

***Çalışmamızda rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubunu oluşturan Alzheimer hastalarında kontrol grubuna göre eritrosit SOD aktivitesinin anlamlı düzeyde azaldığı gösterildi (sırasıyla,  $p<0,001, p<0,001$ ). Literatürde Alzheimer hastalığında eritrosit SOD aktivitesi ile ilgili farklı sonuçlar bulunmaktadır.***

Bourdel-Marchasson ve arkadaşları (15) Alzheimer hastalığında eritrosit SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre arttığını, Ceballos-Picot I ve arkadaşları (18) değişmediğini, Rinaldi P ve arkadaşları (100) ise azaldığını ileri sürmüşlerdir.

Rossi ve arkadaşları (102) çalışmalarında, Alzheimer hastalarında eritrosit SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre arttığını göstermişlerdir. Artmış eritrosit SOD aktivitesinin artmış serum bakır (Cu) düzeyleri ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşler. Alzheimer hastalarını bir bakır şelatörü olan D-penisilamin ile 24 hafta tedavi etmişler ve tedavi süreci sonunda eritrosit SOD aktivitesinin azaldığını göstermişlerdir. Elde edilen veriler ile Alzheimer hastalarında Cu homeostazında değişiklik olabileceğini doğrulamışlardır.

Ihara ve arkadaşları (48) yaptığı çalışmada eritrosit SOD aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olarak bulunmuştur. Aynı zamanda Alzheimer hastalarında kontrol grubuna göre kan OH miktarının yüksek düzeyde olduğunu ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunun arttığını göstermişlerdir.

Alzheimer hastalığında A $\beta$ 'nin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ürettiği ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in doza bağlı olarak SOD aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir. Aynı zamanda Cu ve Zn eksikliği de SOD aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır (118,19). Serra J.A. ve arkadaşları (106) demanslı hastalarda SOD düzeylerinin 70 yaşına kadar artış gösterdiğini bu yaştan sonra azalma gösterdiğini bildirmişlerdir. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme



dereceleri aminoasit içeriklerine bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksek olduğundan histidin ve metiyonin gibi aminoasitlere sahip proteinler radikallerden kolaylıkla etkilenebilir (2). Bu veriler çalışmamızda elde ettiğimiz SOD aktivitesindeki azalmayı açıklayabilir. SOD enziminin aktivitesindeki azalma, aşırı serbest radikal üretildiğinde belirli bir kırılma noktasının üzerinde SOD'un hasar verici ajanlara karşı etkin olamamasına ve lipid peroksidasyonunu artmasına neden olabilir.

***Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar rivastigmin 3.ay ve donepezil 3.ay gruplarında SOD aktivitesinde anlamlı düzeyde artış olduğunu göstermektedir (sırasıyla  $p<0,001,p<0,01$ ).***

Literatürde bu konuda yapılmış birkaç çalışma olduğu görülmüştür. AChE inhibitörlerinin nöronal iletinin güçlendirilmesi yanında aynı zamanda hücreleri serbest radikal ile amiloid toksisitesinden koruduğu ve antioksidan üretimini arttırdığı bilinmektedir (117).

PC12 hücreleri ile yapılan bir çalışmada AChE inhibitörleri olan, takrin ve huperazin A'nın SOD aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir. Çalışmadan elde ettikleri verilerle A $\beta$  toksisitesine karşı sağlanan korumanın antioksidan sistem aracılığı ile gerçekleştiğini doğrulamışlardır (128).

Elde ettiğimiz veriler, rivastigmin ve donepezilin bir şekilde antioksidan sistemle doğrudan ya da dolaylı olarak ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu etkilerin ortaya çıkmasında kolinesteraz enzim inhibisyonu, artmış asetilkolin düzeyleri ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> düzeyleri üzerindeki olası etkilerinin rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

***Çalışmamızda rivastigmin tanı ve donepezil tanı grubunu oluşturan Alzheimer hastalarında eritrosit katalaz aktivitesinin kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı düzeyde azalma gösterdiği saptandı (sırasıyla  $p<0,01,p<0,01$ ).***

Perrin ve arkadaşlarının (93) yaptığı çalışmada Alzheimer hastalarında eritrosit katalaz aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğunu, Percy ve arkadaşları (92) ise eritrosit katalaz aktivitesinde değişiklik olmadığını göstermişlerdir. Repetto ve arkadaşları da (98) eritrosit katalaz aktivitesinin Alzheimer hastalarında

kontrol grubuna göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu artışın oksidatif stres durumunun düzenlenmesi amacı ile gerçekleşmiş olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Alzheimer hastalarında temporal bölgede katalaz aktivitesinin anlamlı düzeyde azaldığını gösteren kanıtlarda mevcuttur (70).

Her ne kadar literatürdeki verilerden farklı olsa da Alzheimer hastalarında belirlediğimiz eritrosit katalaz aktivitesindeki azalma, katalazın bir hemoprotein olması ve hem proteinlerinin  $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$  gibi serbest radikallerden önemli ölçüde zarar görmeleri şeklinde açıklanabilir (2). Alzheimer hastalarında elde ettiğimiz azalmış SOD aktivitesi,  $O_2^{\bullet-}$ 'in yeterli düzeyde ortadan kaldırılamadığını göstermektedir.

Çalışmamızda eritrosit SOD ve katalaz aktivitelerinin her ikisinde de azalma olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar Alzheimer hastalığında antioksidan savunmada yetersizlik olduğunu göstermektedir. Alzheimer hastalığında gerçekleşen hücre ölümü, azalmış asetilkolin miktarına bağlı gerçekleşen kolinerjik yetmezlik serbest radikallere karşı antioksidan enzim sisteminin yetersiz kalmasına bağlanabilir.

Çalışmamızda rivastigmin 3.ay ve donepezil 3.ay grubunda eritrosit katalaz aktivitesinde anlamlı düzeyde artış olduğu gösterilmiştir (sırasıyla,  $p<0,01$ ,  $p<0,05$ ). Elde ettiğimiz sonuçlar 3 ay süresince Alzheimer hastalarının rivastigmin ve donepezil ile tedavi edilmesinin enzimatik antioksidan savunmanın güçlenmesine neden olabileceğini göstermektedir.

***Elde ettiğimiz veriler, antioksidan enzimatik savunmanın temel enzimlerinden biri olan GPx aktivitesinin ise rivastigmin tanı ve donepezil tanı gruplarını oluşturan Alzheimer hastalarında anlamlı düzeyde arttığını göstermektedir (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ). Rivastigmin 3.ay ve donepezil 3.ay gruplarında eritrosit GPx aktivitesi ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık yoktu (sırasıyla  $p>0,005$ ,  $p>0,005$ ).***

Anneren ve arkadaşları (7) çalışmalarında Alzheimer hastalarında kontrol grubuna göre eritrosit GPx aktivitesinin arttığını, Bourdel Marchasson ve arkadaşları (15) enzim aktivitesinin değişmediğini göstermişlerdir.

Bir diğer çalışmada da Alzheimer tipi demanslı hastalarda plazma GPx aktivitesinin arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada yüksek GPx aktivitesi ve artmış

selenyum miktarı ile ilişkilendirilmiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in detoksifikasyonunda sitoplazmik GPx'ten daha etkin olduğu düşünülen ekstraselüler GPx'in amiloidin toksik etkilerinden sorumlu olabileceği gösterilmiştir (18).

Alzheimer hastalarında saptadığımız yüksek eritrosit GPx aktivitesi bu hastalarda artmış H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonu, yüksek lipid peroksidasyonu ile açıklanabilir. 3 aylık rivastigmin ve donepezil tedavisinin enzim aktivitesi üzerinde etkisi olmadığı gösterilmiştir.

Huperazin A ve takrin uygulamasının, PC12 hücrelerinde Aβ'nın neden olduğu katalaz ve GPx aktivitesindeki azalmayı önlediğine dair kanıtlar bulunmaktadır (128).

Donepezil tedavisi uygulanan hastaların mini mental durum, kognitif demans evrelendirilmesi ve günlük yaşam becerileri değişiklik göstermezken, rivastigmin tedavisi uygulanan hastaların günlük yaşam becerileri olumlu etkilenmiştir.

*Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler; Alzheimer hastalarında kolinesteraz enzim aktivitelerinde değişimler olduğunu ve oksidatif stresin arttığını göstermiştir. Aynı zamanda rivastigmin ve donepezil'in oksidatif stresin zararlı etkilerinin önlenmesinde etkili olabileceğini gösteren sonuçlar elde edilmiştir. Rivastigmin ve donepezil tarafından oluşturulan kolinesteraz inhibisyonu oksidatif hasara karşı direnç oluşum mekanizmasında rol oynayabilir. Bu nedenle rivastigmin ve donepezil'in Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisinde asetilkolin düzeylerini arttırarak kolinerjik iletinin düzenlenmesine yardımcı olurken oksidatif stres üzerindeki olumlu etkileri ile de tedavinin etkinliğinin arttırılmasında rol oynayabileceği söylenebilir.*

## SONUÇ

Çalışmamızda Alzheimer hastalarına semptomatik tedavi amacı ile uygulanan rivastigmin ve donepezil etken maddelerinin 3 ay sonunda oksidatif stres ve kolinesterazlar üzerindeki etkileri araştırıldı. Bu amaçla plazma MDA düzeyleri ve BChE aktiviteleri ile eritrosit AChE, SOD, katalaz ve GPx aktivitelerini ölçtük. Aşağıda yazılı olan sonuçları elde ettik:

1) Eritrosit AChE aktivitesi rivastigmin tanı ve donepezil tanı grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (sırasıyla,  $p<0,0001$ ,  $p<0,0001$ ) azalma gösterdiği saptandı. Rivastigmin 3.ay grubu eritrosit AChE aktivitesi ile rivastigmin tanı grubu eritrosit AChE aktivitesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). Donepezil 3.ay grubu eritrosit AChE aktivitesi donepezil tanı grubuna göre anlamlı düzeyde ( $p<0,001$ ) düşük olarak bulundu.

2) Plazma BuChE aktivitesi rivastigmin tanı grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ( $p<0,01$ ) yüksek iken donepezil tanı grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark yoktu ( $p>0,05$ ). Rivastigmin 3.ay grubu plazma BuChE aktivitesi rivastigmin tanı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ( $p>0,01$ ) azaldı. Donepezil 3.ay grubu plazma BuChE aktivitesi ile donepezil tanı grubu plazma BuChE aktivitesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

3) Plazma MDA düzeylerinin rivastigmin tanı ve donepezil tanı grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde (sırasıyla,  $p<0,01$ ,  $p<0,01$ ) artış gösterdiği saptandı. Rivastigmin 3.ay grubu plazma MDA düzeylerinin rivastigmin tanı grubu plazma MDA düzeyleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ( $p<0,001$ ) azaldığı bulundu. Donepezil 3.ay grubu plazma MDA düzeylerinin de donepezil tanı grubuna göre anlamlı düzeyde ( $p<0,01$ ) azalma gösterdiği saptandı.

4) Kontrol grubu eritrosit SOD aktivitesi ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubu SOD aktivitesinin her iki grupta da anlamlı düzeyde azaldığı saptandı. (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ). Rivastigmin 3.ay grubu SOD aktivitesinin rivastigmin tanı grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı gösterildi ( $p<0,001$ ). Donepezil

3.ay grubu SOD aktivitesi de donepezil tanı grubuna göre anlamlı düzeyde arttı ( $p<0,01$ ).

5) Kontrol grubu katalaz aktivitesi ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu (ve donepezil tanı grubu katalaz aktivitesinin her iki grupta da anlamlı düzeyde azalma gösterdi (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,01$ ). Rivastigmin 3.ay grubu katalaz aktivitesi rivastigmin tanı grubuna göre anlamlı düzeyde arttı ( $p<0,01$ ). Donepezil 3.ay grubu katalaz aktivitesinin de donepezil tanı grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı gösterildi ( $p<0,05$ ).

6) Kontrol grubu GPx aktivitesi ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubu GPx aktivitesinin her iki grupta da anlamlı düzeyde arttığı gösterildi. (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ). Rivastigmin 3.ay grubu GPx aktivitesi ile rivastigmin tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). Donepezil 3.ay grubu GPx aktivitesi ile donepezil tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

7) Kontrol grubu MMSE değerleri ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu (ve donepezil tanı grubunda MMSE her iki grupta da anlamlı düzeyde düşük olarak bulundu (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ). Rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). Rivastigmin 3.ay grubu MMSE değerleri rivastigmin tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). Donepezil 3.ay grubu MMSE değerleri ile donepezil tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

8) Kontrol grubu CDR değerleri ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubunda MMSE her iki grupta da anlamlı düzeyde yüksek olarak bulundu (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ). Rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). Rivastigmin 3.ay grubu CDR değerleri ile rivastigmin tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). Donepezil 3.ay grubu CDR değerleri ile donepezil tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

9) Kontrol grubu ADL değerleri ile kıyaslandığında rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubunda Barthel değerleri her iki grupta da anlamlı düzeyde düşük olarak bulundu (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ). Rivastigmin tanı grubu ve donepezil tanı grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). Rivastigmin 3.ay grubu CDR değerlerindeki artış rivastigmin tanı grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Donepezil 3.ay grubu CDR değerleri ile donepezil tanı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

## 7. VERİ TABLOSU

Grup	No	Hasta	Yaş	MMSE	MMSE 3.ay	CDR	CDR 3.ay
KONTROL GRUBU	1		70	30		,0	
	2		68	30		,0	
	3		70	30		,0	
	4		68	30		,0	
	5		63	30		,0	
	6		69	29		,0	
	7		72	30		,0	
	8		64	30		,0	
	9		69	29		,0	
	10		62	30		,0	
	11		66	30		,0	
	12		72	30		,0	
	13		63	30		,0	
	14		71	30		,0	
	15		67	30		,0	
	16		70	29		,0	
	17		60	30		,0	
RİVASTİGİN GRUBU	1		68	16	15	2,0	2,0
	2		73	20	19	2,0	2,0
	3		80	19	19	2,0	2,0
	4		70	16	17	2,0	2,0
	5		70	18	20	2,0	2,0
	6		60	24	26	1,0	1,0
	7		79	24	27	1,0	1,0
	8		62	25	24	,5	,5
	9		74	22	19	2,0	2,0
	10		68	18	19	2,0	2,0
	11		72	20	20	2,0	2,0
	12		65	19	20	1,0	,5
	13		78	8	8	3,0	3,0
DONEPEZİL GRUBU	1		80	26	28	1,0	1,0
	2		79	13	12	3,0	2,0
	3		74	28	28	,5	,5
	4		64	21	24	2,0	1,0
	5		70	24	24	,5	,5
	6		65	17	23	2,0	2,0
	7		72	24	23	,5	,5
	8		78	15	16	3,0	3,0
	9		81	15	15	3,0	3,0
	10		66	26	27	,5	,5
	11		73	15	17	2,0	2,0
	12		69	27	26	,5	,5
	13		65	16	17	2,0	2,0

Grup	No	Hasta	BARTHEL	BARTHEL 3.ay	AChE tanı	AChE 3.ay
KONTROL GRUBU	1		20		39,29	
	2		20		32,81	
	3		20		31,74	
	4		20		36,40	
	5		20		40,69	
	6		20		41,86	
	7		20		35,03	
	8		20		36,54	
	9		20		37,88	
	10		20		37,32	
	11		20		42,62	
	12		20		38,00	
	13		20		38,33	
	14		20		36,14	
	15		20		43,21	
	16		20		39,29	
	17		20		42,21	
RİVASTİGİN GRUBU	1		18	18	29,67	24,80
	2		18	18	30,62	29,99
	3		17	18	28,08	27,39
	4		16	17	30,70	23,44
	5		16	16	34,49	31,79
	6		20	20	35,97	33,00
	7		19	20	29,30	31,18
	8		18	20	26,77	21,99
	9		14	14	21,18	30,77
	10		17	18	28,14	27,54
	11		15	16	34,26	32,68
	12		16	18	31,93	29,00
	13		10	10	27,55	28,55
DONEPEZİL GRUBU	1		19	19	30,42	29,19
	2		13	12	29,93	21,86
	3		20	20	28,06	24,20
	4		16	18	34,17	28,98
	5		18	18	29,19	25,76
	6		12	16	36,21	25,13
	7		20	20	37,21	30,82
	8		17	18	24,76	22,61
	9		10	10	39,44	25,27
	10		20	21	33,78	23,76
	11		12	13	40,58	29,08
	12		20	20	39,22	31,59
	13		12	12	38,04	32,31



Grup	No	Hasta	BChE	BChE 3ay	MDA	MDA 3.ay
KONTROL GRUBU	1		1,62		4,3	
	2		1,41		7,6	
	3		1,73		4,2	
	4		1,68		7,8	
	5		1,59		8,1	
	6		1,66		4,7	
	7		1,70		4,4	
	8		1,61		6,2	
	9		1,76		5,8	
	10		1,41		7,6	
	11		1,58		7,4	
	12		1,60		5,3	
	13		1,42		7,2	
	14		1,51		8,6	
	15		1,69		7,1	
	16		1,50		5,7	
	17		1,70		6,2	
RIVASTİGMIN GRUBU	1		1,72	1,44	10,0	7,3
	2		1,58	1,32	7,4	6,2
	3		1,94	1,86	7,9	7,6
	4		1,83	1,80	9,8	5,7
	5		1,68	1,64	9,1	8,2
	6		1,79	1,72	10,1	9,7
	7		1,86	1,68	8,6	6,5
	8		1,79	1,72	7,7	5,0
	9		1,77	1,70	7,3	6,4
	10		1,59	1,83	7,0	5,0
	11		1,62	1,60	8,4	7,0
	12		1,69	1,63	7,7	6,1
	13		1,64	1,56	7,6	6,4
DONEPEZİL GRUBU	1		1,49	1,59	9,2	8,4
	2		1,62	1,09	10,3	6,5
	3		1,79	1,68	10,7	10,2
	4		1,46	1,43	9,6	8,9
	5		1,76	1,62	8,0	5,2
	6		1,55	1,40	6,6	5,8
	7		1,80	1,86	5,5	5,9
	8		1,79	1,75	5,6	4,1
	9		1,80	1,93	7,3	6,4
	10		1,74	2,15	7,9	7,4
	11		1,77	1,76	10,1	8,7
	12		1,64	2,00	7,4	6,6
	13		1,76	1,61	9,0	7,2

## KAYNAKLAR

1. Aikens, J., Dix, T.A., 1991, Perhidroksi Radikali (Hoo<sup>•</sup>) Initiated Lipid-Peroxidation-The Role Of Fatty-Acid Hydroperoxides, *J.Biol.Chem*, 266, 1591-1598.
2. Akkus, I., 1995, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza yayınları, Kuzucular Ofset, Konya, 1-57.
3. Allam, A.R., Sridhar, G.R., Das, U.N., 2007, Elevated butrylcholinesterase and acetylcholinesterase may predict the development of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease, *Medical Hypothesis*, 69, 6, 1272-1276.
4. Almkvist, O., Darreh-Shori, T., Stefanova, E., Spiegel, R., Nordberg, A., 2004, Preserved cognitive function after 12 months of treatment with rivastigmine in mild Alzheimer's disease in comparison with untreated AD and MCI, *Eur J Neurol*, 11, 253-261.
5. Amici, S., Lanari, A., Romani, R., Antognelli, C., Gallai, V., Parnetti, L., 2001, cerebrospinal fluid acetylcholinesterase activity after long-term treatment with donepezil and rivastigmina. *Mech Ageing Dev*, 122, 2057-2062.
6. Andreyev, A.Y., Kushareva, E.Y., Starkov, A.A., 2005, Mitokondriyal metabolism of reactive oxygen species, *Biochemistry (Moscow)*, 70(2), 200-214.
7. Anneren, G., Gardner, A., Lundin, T., 1986, Increased glutathione peroxidase activity in erythrocyte in patients with alzheimer's disease/senil dementia of Alzheimer's type, *Acta Neurol Scand*. 73, 6, 586-9.
8. Aslan, M., Ozben, T., 2004, Reactive Oxygen And Nitrogen Species In Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res*, 1, 2, 111-119.
9. Bagchi, K., Puri, S., 1998, Free radicals and antioxidants in health and disease, *EMHJ*, 4, 2 , 350-360.
10. Ballard, C.G., Greig, N.H., Angela, L., Bongaarts, G., Enz, A., Daversh, S., 2005, Cholinesterases: Roles in the brain during the health and disease, *Curr Alzheimer Res*, 2, 307-318.

11. Beach, T.G., Kuo, Ym., Spiegel, K., 2000, The cholinergic deficit coincides ab deposition at the earliest histopathologic stages of Alzheimer disease, *J. Neuropathol Exp. Neurol.* 59, 308-313.
12. Beutler, E., 1973, *Red cell metabolism a manuel of biochemical method.* 3th.Ed. New York, Grune And Stratton,. 70-74 P.
13. Bolann, B.J., Ulvik, R.J., 1990, On limited ability of superoxide to release iron from ferritin, *Eur J Biochem.* 193:899-904.
14. Borroni, B., Pettenati, C., Bordonali, T., Akkawi, N., Luca, M D., Padovani, A., 2003, Serum cholesterol levels modulate lonterm efficacy of cholinesterase inhibitors in Alzheimer disease, *Neuroscie Lett.* 343, 213-215.
15. Bourdel-Marchasson, I., Delmas-Beauvieux M.C., Peuchant, E., Richard-Harston, S., Decamps, A., Reignier, B., 2001, Antioxidant defences and oxidative stress markers in erythrocytes and plazma from normally nourished elderly alzheimer patients, *Age Aging,* 30,3, 235-241.
16. Braginskaya, F.I., Zorina, O.M., Palmina, N.P., Gaintseva, V.D., Burlakova, E.B., Selezneva, N.D., Kolykhalov, I.V., Gavrilova, S.I., 2001, Some blood biochemistry parameters during the cholinergic treatment of alzheimer's disease, *Neurosci Behav Physiol.*, 31,4, 458-461.
17. Carreiras Mc., Marco Jl., 2004, Recent approaches to novel anti-alzheimer therapy, *Curr Pharm Design.*, 10, 25, 3167-75.
18. Ceballos-Picot, I., Merad-Boudia, M., Nicole, A., Thevenin, M., Hellier, G., Legrain, S., 1996, Peripheral antioxidant enzyme activities and selenium in elderly subjects and in dementia of Alzheimer's type-place of the extracellular glutathione peroxidase, *Free Rad Biol Med.* 20, 4, 579-87.
19. Ceballos-Picot, I., Trivier, J.M., Nicole, A., Sinet, PM., Thevenin, M. 1992, Age-related modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocyte, *Clin Chem.*, 38, 1, 66-70.
20. Chaudiere, J., Ferrari, I., 1999, Intracellular antioxidants: form chemical to biochemical mechanisms, *Food And Chem. Toxicol.*, 37, 949-962.

21. Chauhan, V., Chauhan, A., 2006, Oxidative stress in Alzheimer disease, *Pathophysiology*, 13 ,3, 195-208.
22. Chipperfield, B., Smith T.A.D., Moyes Isabel C. A., 2004, Plazma cholinesterase activity in dementias, depressions and schizophrenia, *Int J Geriatr*, 2, 4, 247-254.
23. Christen Y., 2000 Oxidative Stres And Alzheimer Disease, *Am J Clin Nutr*. 71, 621-9.
24. Clementi, M.E., Martorana, G.E., Pezotti, B.G., Misiti, F., 2004, Methionine 35 oxidation reduces toxic effects of the amyloid  $\beta$ -protein fragment (31-35) on red blood cell, *Int J Biochem Cell Biol.*, 36,2066-2076.
25. Cross, C.E., Halliwell, B, Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.I., Mccord, J.M., Harman, D., 1987, Oxygen radicals and human disease, *Ann Intern Med.*, 107, 4, 526-45.
26. Darreshori, T., Meurling, L., Petterson, T., Hugosson, K., Lindhall, E.H., Andreasen, N., Minthon, L., Nordberg, A., 2006, Changes in the activity and protein levels of CSF acetylcholinesterases in relation to cognitive function of patients with mild Alzheimer's disease following chronic donepezil treatment, *J Neural Transm*, 113, 11, 1791-801.
27. David, G., Wilkinson, P.T., Schwam, E., Parrish, J.P., 2004, Cholinesterase inhibitors used in the treatment of alzheimer's disease. the relationship between pharmacological effects and clinical efficacy, *Drugs Aging*, 21, 7, 453-478.
28. De Gray, A.D., HO<sub>2</sub>·, 2002, The forgotten radical, *DNA Cell Biol.* 21:251-257.
29. Defeng, W., Cederbaum, A.I., 2003, Alcohol, oxidative stres and free radical damage, *Alcohol Res Heath*, 27, 4, 277-284.
30. Demir, H., Turkoglu, V., 2005, Effects of neostigmine methylsulphate on enzyme activity of acetylcholinesterase in rat serum, plazma, muscle and liver in vivo. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 32, 1, 25-30.

31. Droy-Leafix, M.T., Packer, L., 1999, Antioxidant food supplements in human health, (Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T), Academic Pres, California, Usa, 343-357 S.
32. Ellman, G.L., Courtney, K.D., Anders, V., Featherstone, R.M., 1961, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem Pharm.*, 7, 88-95.
33. Elsa, R., Bosak, A., Simeon-Rudolf, V., 2004, Activity of cholinesterases in human whole blood measured with acetylcholine as substrat and ethoprophasine as selective inhibitor of plazma butrylcholinesterase, *Arh Hig Rada Toksikol*, 55, 1-4 .
34. Erek, E., Süleymanlılar, G., 1996, Temel İç Hastalıkları, (İliçin, G., Ed.), Vol 2, Güneş Kitabevi, Ankara, 3997 S.
35. Evans, R.C., Diplock, A.T., Symons M.C.R., 1991 *Techniques in free radical research*, Elsevier Science Publisher, Netherlands,
36. Farlow Mr., 2003, Update On Rivastigmin, *The Neurologist*. 9, 230-234.
37. Geldmacher D.S., Alzheimer demansının güncel tanı ve tedavisi. 1.Baskı, And, İstanbul, 2004.
38. Giacobini, E., Spiegel, R., Enz, A., Veroff, A.E., Cutler, N.R., 2002, Inhibition of acetyl- and butryl-cholinesterase in the serebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease by rivastigmine: correlation with cognitive benefit. *J Neural Transm.*, 109, 7-8, 1053-1065.
39. Golde, T.E., Younkin, S.G., 2001, Presenilins as therapeutic targets for the treatment of alzheimer's disease, *Trends Mol. Med.* 7, 264-269,
40. Golde, T.T., Eckman, C.B., Younki S.G., 2000, biochemical detection of a $\beta$  isoforms: implications for pathogenesis, diagnosis and treatment of alzheimer's disease, *Biochimbiophys. Acta* 1502,172-187.
41. Greig, N.H., Utsuki, T., Qian-Sheng, Yu., Zu, X., Holloway ,H.W., Perry, T., Lee, B., Ingram, D.K, Lahiri, D., 2001, A new therapeutic target in Alzheimer's disease treatment: attention to butrylcholinesterase. *Curr Med Res Opin.*, 17, 3, 159-165.

42. Grisaru, D., Sternfeld, M., Eldor, A., Glick, D., Soreq H., 1999, Structural roles of acetylcholinesterase variants in biology and pathology, *Eur J. Biochem.*, 264, 672-686.
43. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1990, Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, *Methods Enzymol*, 186,1-85.
44. Halliwell, B., 1995, Antioxidant Characterization. Methodology And Mechanism. *Biochem Pharm.*, 49,10, 1341-1348.
45. Halliwell B., 2002, Handbook of antioxidants, (Packer L., Cadenas E., Ed.), 3, Marcel Dekker, New York, 1-46 S.
46. Halliwell, B., 2001, Role of free radicals in the neurodegenerative disease: therapeutic implications for antioxidant treatment, *Drugs&Aging* 18, 9, 685-716.
47. Holley, Ae, Cheeseman, K.H., 1993, Measuring free radical reactions in vivo, *Br Med Bull.* 49, 3, 494-505.
48. Ihara, Y., Hayabara, T., Sasaki, K., Fujisawab, Y., Kawada, R., Yamamoto, T., Nakashima, Y, Yoshimune S., Kawai, M., Kibata, M., Kuroda, S., 1997, Free radicals and superoxide dismutase in blood of patients with Alzheimer's disease and vascular dementia, *J Neuro Sci*, 153, 76–81.
49. Inestrosa, N.C., Alarcon, R., Arriagada, J., Donoso,A., Alvarez, J. Campos,E.O., 1994, Blood markers in alzheimer's disease: subnormal acetylcholinesterase and butrylcholinesterase in lymphocytes and erythrocytes. *J Neurol Sci.* 122, 1,1-5.
50. Inestrosa, N.C., Alvarez, A., Dinamarca, M.C., Perez-Acle, T., Colombres, M., 2005, Acetylcholinesterase-Amyloid- $\beta$ -Peptide ,interaction: Effect of congo red and the role of wnt pathway, *Curr Alzheimer Res* 2, 301-306.
51. Ivanova, E., Ivanov, B., 2000, Mechanisms of the extracellular antioxidant defend, *Exp Pathol Parasitol*, 4, 49-59.
52. Jackson, M.J., Papa, S., Bolanos, J. Bruckdorfer, R., Carlsen H., 2002, Antioxidants, reactive oxygen and nitrogen species, gene induction and mitochondrial function, *Mol Aspects Med*, 23, 209-85.

53. Jann, M.W., Shirley, K.L., Small, G.W., 2002, Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of cholinesterase inhibitors, *Clin Pharmacokinet.* 41, 10, 719-739.
54. Jeandel, C., Nicolas, M.B., Dubois, F., Nabet-Belleville, F., Penin, F., Cuny, G., 1989, Lipid peroxidation and free radical scavengers in Alzheimer disease, *Gerontology*, 35:275-82.
55. Ji, L.L., 1999, Antioxidants and oxidative stress in exercise, *Exp Biol Med*, 222, 283-292.
56. Kalman, J., Dey, I., Ilona, S.V., Matkovics, B., Brown, D., Janka, Z., 1994, Platelet membrane fluidity and plasma malondialdehyde levels in Alzheimer's demented patients with and without family history of dementia. *Biol Psychiatry*, 35, 3, 190-4 .
57. Kar, S., Slowikowski, S.P.M., Westaway, D., Mount, H.T.J., 2004, Interactions between  $\beta$  amyloid and central cholinergic neurons: implications for Alzheimer's disease, *J. Psychiatry Neurosci.* 29,6, 427-41.
58. Karelson, E., Bogdanovic, N., Garlind, A., Wibland, B., Zilmer, K., Kullisaar, T., Tiju, V., Kairane, C., Zilmer, M., 2001, The cerebrovascular areas in normal brain aging and in Alzheimer disease: noticeable differences in the lipid peroxidation level and in antioxidant defence, *Neurochem Res*, 26, 4, 353-261.
59. Karlson J., 1997, Antioxidants And Exercise, *Human Kinetics, Usa.* 26P.
60. Kennedy, J.S., Polinsky, R.J., Johnson, B., Loosen, P., Enz, A., Laplanche, R., Schmidt, D., Mancione, L.C., Parris, W.C, Ebert, M.H., 1999, Preferential cerebrospinal fluid acetylcholinesterase inhibition by rivastigmine in humans, *J Clin Pharmacol.* 19, 6, 513-521,
61. Kosasa, T., Kuriya, Y., Matsui, K., Yamanishi, Y., 1999, Inhibitory effects of donepezil hydrochloride (E2020) on cholinesterase activity in brain and peripheral tissues of young and aged rats. *Eur J Pharm*, 386,7-13.
62. Lachance, P.A., Nakat, Z., Jeong, W.S., 2001, antioxidants: an integrative approach, *Nutrition*, 17, 35-838.

63. Landis, G.N., Tower, J., 2005, Superoxide Dismutase Evolution And Lifespan Regulation, *Mech. Ageing Dev.* 126, 365–379.
64. Larson, R.A., 1997, Naturally Occuring Antioxidants, Lewis Publishers, New York, 25P.
65. Leeuwenburgh, C., Heinecke, W., 2001, Oxidative Stres And Antioxidants In Exercise. *Curr Med Chem*, 8:829-838 .
66. Lieberman, M., Marks, B.D., Marks, A.D., Colleen, S., 2004, mark's basic medicinal biochemistry, 2 Ed, Lippincott William & Willey, USA.
67. Loeckie, L. De Zwart, John, H. N., Meerman, Jan N. M. Commandeur, Nico Vermeulen P. E., 1999, biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med*, Vol. 26, 1/2, 202–226 P.
68. Lovestone, S., 2000, Fleshing out the amyloid cascade hypothesis: the molecular biology of alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci*, 2,2,19 P.
69. Lykkesfeldt, J., Svendsen, O., Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals, *The Vet J.*, 173, 3, 502-11, 2007.
70. Marcus, D.L., Thomas, C., Rodriguez, C., Simberkoff, K., Tsai J.S., Strafaci, J.A., Freedman, M.L., 1998, Increased peroxidation and reduced antioxidant enzyme activity in alzheimer disease. *Exp Neurol*, 150,40-44.
71. Mariani, E., Polidori, M.C., Cherubini, A., Mecocci P., 2005, Oxidative stres in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: An Overview, *J. Chromatogr B*, 827:65-75.
72. Markesbeyr, W.R., 1997, Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med.*, 23, 1, 134-147.
73. Marquis, J.K., Volicer, L., Mark, K.A., Direnfeld, L.K., Freedman, M., 1985, Cholinesterase activity in plazma, erythrocytes and cerrebrospinal fluid of patients with dementia of the alzheimer type. *Biol Psychiatry*. 20, 6, 605-10.
74. Mates, J.M., C. Perez-Gomez, I.N. De Castro, 1999, Antioxidant enzymes and human diseases, *Clin Biochem.*, 32, , 595–603.



75. Mc Cord, J.M., I. Fridovich, 1969, Superoxide Dismutase An Enzymic Function For Erythrocytorein (Hemocytorein), *J. Biol. Chem.* 244, 6045–6049.
76. Mesulam, M.M., 1996, The systems-level organization of cholinergic innervation in the cerebral cortex and its alterations in Alzheimer's Disease, *Prog. Brain Res.* 109, 285-297.
77. Meunier, J., Ieni J., Maurice, T., 2006, The anti-amnesic and neuroprotective effects of donepezil against amyloid  $\beta_{25-35}$  peptide induced toxicity in mice involve an interaction with the  $\sigma_1$  receptor. *Br J Pharmacol.*, 149:998-1012.
78. <http://www.lib.duke.edu/chem110/papers/YousefMohammedMian.htm>
79. Miller, D.M., Buettner, G.R., Aust, S.D., 1990, Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radic. Biol. Med.*, 8,95-108 .
80. Milton, N.G.N., 2004, Role of hydrogen peroxide in the aetiology of alzheimer disease, *Drugs Aging.* 21(2):81-100.
81. Molochkina, E.M., Zorina, O.M., Fatkullina, L.D., Goloschapov, A.N., Burlakova, E.B., 2005, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Modifies membrane structure and activity of acetylcholinesterase, *Chem. Biol. Interact.*, 157-158,353-434.
82. Montilla-Lopez P., Munoz-Agueda C., Lopez M.F., Munoz-Castaneda J.R., Bujalance-Arenas I., Tunez-Finana I., 2002, Comparison of melatonin versus vitamin C on oxidative stress and antioxidant enzyme activity in alzheimer's disease induced by okadaic acid in neuroblastoma cells. *Eur J Pharmacol*, 451:237-243,.
83. Morris, J. C., 1999, Alzheimer hastalığının klinik sunum ve seyri , *Alzheimer Hastalığı* (Terry R.D.), ABD, 11-24, 11S.
84. Neşe Ç., 2003, Butrylcholinesterase: Structure And Physiological Importance. *Turk J Biochem.*, 28(2);54-61,.
85. Nordberg, A., Svenssen, AL., 1998, Cholinesterase inhibitors in the treatment of alzheimer's disease, *Drug Exp.* 19, 6, 465-480.
86. Nordberg, J., Arner, E.S.J., 2001, Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med.*, 31(11):1287-1312.

87. Ohkawa, H, Ohishi, N, Yagi, K., 1979, Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction .Anal Biochem., 95,351-358.
88. Oury, Td, Day, Bj, Crapo Jd., 1996, Extracellular superoxide dismutase: a regulator of nitric oxide bioavailability. Lab Invest, 75: 617-36
89. Öztekin MF., 2000, Alzheimer hastalığının tedavisi, Demans dizisi, 2,66-76.
90. Paglia, De, Valentine, W.N., 1967, Studies on the quantitative and qualitative characterizasyon of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin. Med.70:158-169.
91. Parihar, MS., Hemnani T., 2004., Alzheimer's disease pathogenesis and therapeutic interventions, J Clin Neurosci., 11, 5, 456-467,
92. Percy, M.E., Dalton, A.J., Markoviç, V.D., Mclachlan, D.R., Hummel, J.T., Rusk, A.C., 1990, Red cell superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in down syndrome patients with and without manifestations of alzheimer disease, Am J Med Genet. 35(4):459-67.
93. Perrin, R., Briancon, S., Jeandel, C., Artur, Y., Minn, A., Penin, F., 1990, Blood activity of Cu/Zn superoxide dismutase, glutathion peroxidase and catalase in alzheimer's disease: a case-control study. Gerontology 36(5-6):306-13.
94. Perry, G, Cash, A.D., Smith, M.A., 2002, Alzheimer Disease And Oksidative Stress, J Biomed Biotechnol, 2, 3, 120-123.
95. Pillay, R., Maharaj, D.S., Daniel, S., Daya, S., 2003, Acetylcholine reduces cyanide-induced superoxide anion generation and lipid peroxidation in rat brain homogenates. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry ,27:61-64.
96. Racci, M., Mazzucchelli, M., Porello, E., Lanni, C., Govoni, S., 2004, Acetylcholinesterase inhibitors: novel activities of old molecules, Pharm Res., 50,441-451.
97. Rakonczay, Z., Horvath, Z., Juhasz, A., Kalman, J., 2005, Peripheral cholinergic disturbances in alzheimer disease. Chem Biol Interact., 157-158:233-238.

98. Repetto, M.G., Reides, C.G., Evelson, P., Kohan, S., Lustige.S., Llesuy, S.F., 1999, Peripheral markers of oxidative stress in probable alzheimer disease, Eur J Clin Invest., 29, 643-649.
99. Ridnour, L.A., Thomas, D.D., Mancardi, D., Espey, M.G., Miranda, K.M., Paolucci N., (2004), The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and reactive nitrogen species. putting perspective on stressful biological situations. Biol. Chem. 385, 1, 1-10.
100. Rinaldi, P., Polidori, Mc., Metastasio, A., Mariani, E., Mattioli, P., Cherubini, A., 2003, Plasma antioxidant similarly depleted in mild cognitive impairment and in alzheimer disease, Neurobiol Aging. 24,7, 915-9.
101. Rogers, S.L., Farlow, M.R., Doody, R.S., 1998, A 24 week, double blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease. Neurology. 50,136-45.
102. Rossi, L., Squitti, R., Pasqualetti, P., Marchese, E., Cassetta, E., Forastiere, E., Rotilio, G., Rossini, P.M., Agro A.F., 2002, red cell copper, zinc superoxide dismutase activity is higher in alzheimer's disease and is decreased by d-penicillamine, Neurosci Lett., 329,137-140.
103. Scandalios, J.G., Lingqiang, G., Polidoros, A.N., 1997, Oxidative Stress And The Molecular Biology Of Antioxidant Defenses, (Scandalios J.G), Cold Spring Harbor Laboratory Pres, USA, 345-406 S.
104. Selkoe D.J., (2001), Alzheimer's disease: genes, proteins and therapy. Physiol. Rev. 81:741-766.
105. Selkoe D.J., 1996, Amyloid- $\beta$  Protein And Genetics Of Alzheimer's Disease, J.Biol. Chem, 271:18295-18298.
106. Serra, J.A., Dominguez, Or., Lustig, Es., Guareschi, E.M., Famulari, A.L., Bartolome, E.L., Marchoff E.R., 2001, Parkinson's disease is associated with oxidative stress: comparison of peripheral antioxidant profiles in living Parkinson's, Alzheimer's and vascular dementia patients. J Neural Transm, 108:1135-1148.

107. Seven, A., Candan, G., 1995, Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu. Klinik Gelişim, 8, 3906-3911.
108. Shen Z. X., 2004, Brain cholinesterases: II. the molecular and cellular basis of Alzheimer's disease, Medical Hypotheses. 63: 308-321.
109. Shen Z.X., 2004, Brain cholinesterases: III. future perspectives of ad research and clinical practise, Med Hypotheses. 63, 298-307.
110. Sirviö, J., Kutvonen, R., Soininen, H., Hartikainen, P., Riekkinen, P.J., 1989, Cholinesterases in the cerebrospinal fluid, plazma and erthrocytes of patients with Alzheimer's disease, J Neural Transm. 75,2, 119-27.
111. Slater, T.F. , 1984, Free-Radical Mechanisms İn Tissue İnjury, Biochem J., 222:1-15.
112. Smith, R.C., Ho, B.T., Hsu, L., Vroulis, G., Claghorn, J., Schoolar, J., 1982, Cholinesterase enzymes in the blood of patients with alzheimer's disease, Life Sci, 30, 6, 543-6.
113. Sözmen E. Y., 2002, İnsan biyokimyası, (Onat T., Emerk K., Sözmen E.Y, Ed.), Palme Yayıncılık, Ankara, 666.
114. Standricke J.B., 2004, Pharmacotherapeutic approach to the treatment of Alzheimer's Disease, 2, 2, 119-32.
115. Svenssen, A., Nordberg, A., 1998, Tacrin and donepezil attenuate the neurotoxic effect of  $A\beta_{25-35}$  in rat pc12 cells, Neuroreport, 91, 519-522.
116. Şahin H.A., 2002, Asetilkolin, kolinesterazlar ve alzheimer hastalığı, Demans Dergisi, 2, 69-73.
117. Tabet, N., 2006, Acetylcholinesterase inhibitors for alzheimer's disease, anti-inflammatories in acetylcholine clothing!, Age And Aging. 35, 336-338.
118. Tabner, B.J., Turnbull, S., El-Agnaf, O.M.A., Allsop D., 2002, Formation of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals from  $A\beta$  and  $\alpha$ -synuclein as a possible mechanism of cell death in alzheimer's disease and parkinson's disease, Free Radic Biol Med. 32, 11, 1076-1083.

119. Talesa, V.N., 2001, Acetylcholinesterase in alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev.* 122, 1961-1969.
120. Thacker P.D., 2003, Surprising discovery with alzheimer's medication, *Drug Discovery Today.* 1, 8- 9.
121. Topçuoğlu E.S., Selekler., 1998, Alzheimer Hastalığı, *Geriatri*, 1, 2, 63-67.
122. Uysal M., 1998, Serbest Radikaller, Lipit peroksitleri ve organizmada prooksidan- antioksidan dengeyi etkileyen koşullar, *Klinik Gelişim*, 11, 336-341.
123. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur M., Telser J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39, 1, 44-84.
124. Valko, M., Rhodes, C.J. , Moncol, J., Izakovic, M., Mazura, M., 2006, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chem Biol Interact*, 160, 1–40 .
125. Willcox, J.K., Ash, S.L., Catignani, G.L., 2004, Antioxidants and prevention of chronic disease, *Critica Reviews in Food Science And Nutrition*, 44:275-295 .
126. Winterbourn, C.C., Hawkins, R.E., Brian M, Carrell, R.W., 1975, the estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med.*, 85, 337-342.
127. Worek, F., Mast, U., Kiderlen, D., Diepold, C., Eyer P., 1999, Improved determination of acetylcholinesterase activity in human whole blood. *Clin Chim Acta*, 88:73-90.
128. Xiao, Xq., Wang, R., Tang, X.C., 2000, Huperazine A And tacrine attenuate  $\beta$ -amyloid peptide-induced oxidative injury, *J Neurosci Res.*, 61, 564-549.
129. Yamada, K., Takayagani, M., Kamei, H., Nagai, T., Dohniwa, M., Kobayashi, K., Ohhara, T., Takauma, K., Nabeshima, T., 2005, Effects of memantine and donepezil on amyloid  $\beta$ -induced memory impairment in a delayed-matching to position task in rats, *Behav Brain Res.*, 162, 2,191-9.

130. Zafrilla, P., Mulaero, J., Xandri, J.M., Santo, E., Caravaca, G., Morillas, J.M., 2006, Oxidative stress in alzheimer patients in different stages of the disease, *Curr Med Chem.*, 13,9, 1075-83.
131. Zhu, Y.Z., Huang, S.H., Tan, B.K.H., Sun J., Whiteman M., Zhu Y.C., 2004, Antioxidants in chinese herbal medicines: a biochemical perspective, *Nat. Prod. Rep.* 21:478-489.

## ÖZGEÇMİŞ

**ADI SOYADI** : Halide Edip TEMEL  
**ÜNVAN** : Araş. Gör.  
**GÖREV YAPTIĞI ÜNİVERSİTE** : Anadolu Üniversitesi  
**GÖREV YAPTIĞI FAKÜLTE** : Eczacılık Fakültesi  
**GÖREV YAPTIĞI ANABİLİM DALI** : Biyokimya

**Lisans** : (1995-1999), Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

**Yüksek Lisans** : (2000-2002), ESOGÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD

**Doktora** : (2002-.....), ESOGÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD