



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ALZHEİMER HASTALIĞI'NDA ADAMTS4, ADAM9
PROTEİNLERİNİN ROLÜ VE ASETİLKOLİNESTERAZ
AKTİVİTESİ İLE İLİŞKİSİ**

Hazırlayan
MEHMET ALİ YILMAZ

Tez Danışmanı
Doç. Dr. M. Hilal ŞEHİTOĞLU

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE-2020



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ALZHEİMER HASTALIĞI'NDA ADAMTS4, ADAM9
PROTEİNLERİNİN ROLÜ VE ASETİLKOLİNESTERAZ
AKTİVİTESİ İLE İLİŞKİSİ**

Hazırlayan
MEHMET ALİ YILMAZ

Tez Danışmanı
Doç. Dr. M. Hilal ŞEHİTOĞLU

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimince desteklenmiştir. Proje No:TYL-2018-2758

ÇANAKKALE-2020

TEZ ONAY FORMU

Kurum Adı : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Tezli Yüksek Lisans Programı
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()
Anabilim Dalı : Tıbbi Biyokimya
Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Mehmet Ali Yılmaz
Tez Başlığı : Alzheimer Hastalığında ADAMTS4, ADAM9 Proteinlerinin Rolü ve Asetilkolin Esteraz Aktivitesi ile İlişkisi
Sınav Yeri : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık, Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı Seminer Salonu
Sınav Tarihi : 08/01/2020

Yukarıda tanıtımı yapılan tez, Tez Sınav Jürisi tarafından okunmuş, kapsam ve kalite yönünden başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Sınav Jürisi

Danışman (Unvan ve Adı)	Kurumu	İmza
Doç. Dr. Müşerref Hilal ŞEHİTOĞLU	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan ve Adları)		
Prof. Dr. Ece ONUR	Manisa Celal Bayar Üniversitesi	
Doç. Dr. Dilek Ülker ÇAKIR	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	

Tez sınav jürisi tarafından başarılı olarak kabul edilen Yüksek Lisans/Doktora Tezi Enstitü Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

THESIS APPROVAL FORM

Institute Name : Çanakkale Onsekiz Mart University Institute of Health Sciences

Programme Name : Master's Program with Thesis

Programme Level : Master of Science (X) Doctor of Philosophy ()

Department : Medical Biochemistry




Student Name and Surname: Mehmet Ali YILMAZ

Title of the Thesis : The Role of ADAMTS4, ADAM9 Proteins in Alzheimer's Disease and Its Relation with Acetylcholinesterase Activity

Examination Place : Çanakkale Onsekiz Mart University Health, Education and Research Hospital Biochemistry Laboratory Seminar Hall

Examination Date : 08/01/2020

We have investigated the present thesis in regard to content and quality and have approved as a Master of Science Thesis.

Supervisor (Title and Name)	Institution	Signature
Doç. Dr. Müşerref Hilal ŞEHİTOĞLU	Çanakkale Onsekiz Mart University	
Members of Examination Jury (Titles and Names)		
Prof. Dr. Ece ONUR	Manisa Celal Bayar University	
Doç. Dr. Dilek Ülker ÇAKIR	Çanakkale Onsekiz Mart University	

The above examination jury decision has been approved by Administrative Board of Health Science Institute, Canakkale Onsekiz Mart University, with decision dated and numbered

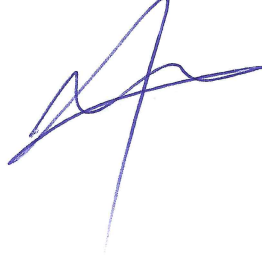
BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi, Madde 8’de belirtilen ve ayrıntılı olarak tanımlanan etiğe aykırı eylemleri (intihal, sahtecilik, çarpıtma, tekrar yayım, dilimleme, haksız yazarlık ve diğer etik ihlali türleri) yapmadığımı onurumla beyan ederim.

Tarih: 21/01/2020

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Mehmet Ali Yılmaz

İmza:



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleőtirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaőan, kendisine ne zaman danıősam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaőadıęımda yanına çekinmeden gidebildiğim danışman hocam Doç. Dr. M.Hilal Şehitoğlu'na teőekkürü bir borç biliyor ve Őükranlarımı sunuyorum. Yüksek Lisans eğitimim süresince bana kattığı her bilgi için Prof. Dr. Dilek lker akır'a teőekkürü borç bilirim. Ayrıca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaőan Doç Dr. Sema Uysal ve Dr. Öğr. Üyesi Hakan Trkn'e teőekkürlerimi sunuyorum. Bu alıőmamız Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından Yüksek Lisans Tez Projeleri kapsamında TYL-2018-2758 kodlu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇ KAPAK	i
TEZ ONAY FORMU	ii
İNGİLİZCE TEZ ONAY FORMU	iii
BEYAN FORMU	iv
TESEKKÜR SAYFASI	v
ŞEKİLLER ve TABLO DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	x
TÜRKÇE ÖZET	xi
İNGİLİZCE ÖZET	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Alzheimer Hastalığı	4
2.1.1. Tanım ve Tarihçe	4
2.1.2. Epidemiyoloji	6
2.1.3. Etiyoloji	7
2.1.3.1. Genetik	7
2.1.3.2. Tetikleyici Faktörler	8
2.1.4. Fizyopatoloji	8
2.1.5. Klinik Bulgular	11
2.1.5.1. Alzheimer Hastalığında Dikkat Edilmesi Gereken Semptomlar	12
2.1.5.2. Değerlendirme Ölçeği	12
2.1.5.2.1. Preklinik Evre Alzheimer Hastalığı	13
2.1.5.2.2. Hafif Bilişsel Bozukluk	13
2.1.5.2.3. Erken Dönem Alzheimer Hastalığı	13
2.1.5.2.4. Orta Dönem Alzheimer Hastalığı	14
2.1.5.2.5. İleri Dönem Alzheimer Hastalığı	14
2.1.5.2.6. Davranış Bozuklukları	15

2.1.5.3. Alzheimer Derneği Rehberliğinde Demans Sendromu ve Olası Alzheimer Hastalığı Tanı Kriterleri	15
2.1.6. Tedavi.....	15
2.1.6.1. Asetilkolinesteraz İnhibitörleri.....	16
2.1.6.1.1.Donepezil.....	17
2.1.6.1.2.Rivastigmin	17
2.1.6.1.3.Galantamine.....	18
2.1.6.2. Glutamat Antagonistleri	18
2.1.6.2.1. Memantin.....	19
2.1.6.3. Psikolojik Belirtilerin Tedavisi	19
2.2. ADAM (Bir Disintegrin ve Metalloproteaz)	20
2.2.1. ADAM9.....	21
2.2.1.1. ADAM9 Yapısı ve Bileşenleri	21
2.2.1.2. ADAM9' un İşlevi.....	23
2.2.1.3. ADAM9 Aktivitesi Regülasyonu	24
2.3. ADAMTS (ADAM + Trombospondin)	25
2.3.1. ADAMTS4	29
2.3.1.1. ADAMTS4' ün Yapısı ve Bileşenleri	29
2.3.1.2. ADAMTS4' ün İşlevi.....	29
2.3.1.3. ADAMTS4 Aktivitesinin Regülasyonu	31
3. GEREÇ ve YÖNTEM	32
3.1. Araştırmanın Türü	32
3.2. Araştırmanın Evreni ve Örneklem Seçimi	32
3.3. Veri Toplama.....	32
3.4. Etik	33
3.5. Çalışmaya Dahil Etme ve Dışlama Kriterleri.....	33
3.6. Veri Toplama Yöntemi.....	33
3.6.1. Kan Alma İşlemi	33
3.6.2. ELISA Yöntemiyle ADAMTS4, ADAM9 Seviyeleri ve Asetilkolin Esteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	34
3.6.2.1. ELISA Yöntemi.....	34

3.6.2.2. ADAMTS4, ADAM9 Seviyeleri ve Asetilkolin Esteraz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	35
3.6.2.3. Standartların Hazırlanması	36
3.6.2.4. ELISA Kitlerinin Çalışma Prosedürü	36
3.6.2.5. Serumda Protein Tayini	37
3.6.2.6. Bradford Yöntemi	37
3.7. Araştırmanın Sınırlılıkları	38
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi	38
4. BULGULAR	39
4.1. ADAMTS4 Seviyeleri ELISA Testi Analiz Sonuçları	39
4.2. ADAM9 Seviyeleri ELISA Testi Analiz Sonuçları	41
4.3. Asetilkolin Esteraz Aktivitesi ELISA Testi Analiz Sonuçları	43
4.4. Bradford Protein Tayini Sonuçları	45
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	53
7. KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	65
EKLER	

ŞEKİLLER ve TABLO DİZİNİ

Şekil 2.2.1. İnsandaki ADAM ailesinin 21 üyesinin metalloproteaz aktiviteleri	.21
Şekil 2.3.1. ADAMTS gen ailesi ve klasifikasyonu	27
Şekil 2.3.2. ADAMTS proteinlerinin yapısı	28
Şekil 2.3.1.1. ADAMTS'nin Tau üretimi üzerindeki etkilerinin gösterimi	30
Şekil 3.1. ELISA Yönteminin genel uygulama basamakları	35
Şekil 4.1.1. ADAMTS4 analizi Kruskal-Wallis Testi gruplar arası anlamlılık değerlendirmesi	39
Şekil 4.1.2. ADAMTS4 Standart Grafiği	40
Şekil 4.1.3. Kontrol, Donepezil kullanan ve yeni tanı Alzheimer gruplarında serum ADAMTS4 seviyeleri	40
Şekil 4.2.1. ADAM9 analizi Kruskal-Wallis Testi gruplar arası anlamlılık değerlendirmesi	41
Şekil 4.2.2. ADAM9 Standart Grafiği	42
Şekil 4.2.3. Kontrol, Donepezil kullanan ve yeni tanı Alzheimer gruplarında serum ADAM9 seviyeleri	42
Şekil 4.3.1. Asetilkolin esteraz analizi Kruskal-Wallis Testi gruplar arası anlamlılık değerlendirmesi	43
Şekil 4.3.2. Asetilkolin Esteraz Standart Grafiği	44
Şekil 4.3.3. Kontrol, Donepezil kullanan ve yeni tanı Alzheimer gruplarında serum asetilkolinesteraz seviyeleri	44
Şekil 4.4.1. Protein analizi Kruskal-Wallis Testi gruplar arası anlamlılık değerlendirmesi	45
Şekil 4.4.2. Bovine Serum Albumin (BSA) standart protein grafiği	46
Şekil 5.1. İnsanın varsayılan işlevsel ADAM ve ADAMTS protein kodlayıcı genlerin kümelenme dendrogramı	48
Tablo 4.1. ADAMTS4, ADAM9 ve Asetilkolin Esteraz seviyeleri; gruplar arası ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerleri	46

SİMGELER ve KISALTMALAR

AH	Alzheimer Hastalığı
AD	Alzheimer's Disease
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
ADAMTS4 Motifs4	A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin
ADAM9	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 9
AChE	Asetilkolin Esteraz
APP	Amiloid Öncü Protein
PSEN1/2	Presenilin 1/2
Aβ	Amiloid Beta
NFY	Nötrofil Yumak
CSPGs	Toplayıcı Kondritin Sülfat Proteoglikanları
ApoE	Apolipoprotein
NO	Nitrik Oksit
BuChE	Bütirilkolin Esteraz
NMDA	N-metil-D-aspartik asit
ICD	Hücre İçi Alan
TIMP	Metalloproteinaz Doku İnhibitörü
CRD	Koni Çubuk Atrofisi
PKC	Protein Kinaz C
SSS	Merkezi Sinir Sistemi
ECM	Ekstraselüler Matriks

ÖZET

Alzheimer hastalığı'nda tedavilerin geliştirilebilmesi için hastalığın patogenezinin aydınlatılması, görüntüleme dışında kanda veya biyolojik sıvılarda tespit edilebilir olması gerekmektedir.

Bu tezin amacı, Alzheimer Hastalığı bulunan bireylerin serumlarında, hastalıkla ilişkili olduğunu düşündüğümüz farklı sınıf metalloproteazların seviyelerini değerlendirmek ve bu protein seviyelerinin tedavi alan hastalardaki değişimini gözlemlemektir. Bu amaçla 120 hasta 2 gruba ayrılmıştır. İlk grup hasta (n=60), ikinci grup ise kontrol (n=60) olarak ayrılmıştır. Kontrol grubu tamamen; Alzheimer olmayan ve dışlama kriterlerine uygun hastalardan seçilmiştir. Hasta grubu ise kendi arasında yeni tanı alan (Alzheimer, n=30) ve ilaç kullanan (Donepezil, n=30) şeklinde ayrılmıştır. Hastalardan onam alındıktan sonra elde edilen serum örneklerinde ADAMTS4, ADAM9 ve Asetilkolin Esteraz enzim aktivite seviyeleri uygun kitler vasıtasıyla ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. İstatistiksel analiz sonucu tüm gruplarda dağılım normal olmadığı belirlenmiş ve Kruskal-Wallis varyans analizi ile gruplar arasındaki farklılığın anlamlılığı değerlendirilmiştir ($p<0,05$). Yeni tanı almış Alzheimer hastalarında ADAMTS4, ADAM9 ve Asetilkolin esteraz seviyeleri kontrol ve Donepezil grubuna göre anlamlı olarak yüksek ($p<0,05$), Donepezil grubu incelendiğinde ilaç tedavisi ile birlikte ADAMTS4, ADAM9 seviyeleri ve asetilkolin esteraz aktivitelerinde belirgin bir düşüklük olduğu görülmüştür. ADAMTS4 ve ADAM9 seviyelerinin, asetilkolin esteraz inhibisyonu ile korelasyon gösterdiği, inhibisyon arttıkça, ADAMTS4 ve ADAM9 seviyelerinin de azaldığı gözlenmektedir. Sonuç olarak beyinde işlevsel olarak yer alan ADAMTS4 ve ADAM9 protein düzeylerinin, asetilkolin esteraz aktivitesine bağlı olarak değiştiği; asetilkolin esteraz enziminin inhibisyonunun Alzheimer Hastalığı'ndaki önemi düşünüldüğünde, serum ADAMTS4 ve ADAM9 seviyelerinin ölçümünün hastalığın patogenezinin aydınlatılmasında önemli bir adım olduğunu göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Alzheimer's Hastalığı, ADAMTS4, ADAM9, Asetilkolin Estera

ABSTRACT

The Role of ADAMTS4, ADAM9 Proteins in Alzheimer's Disease and Its Relation with Acetylcholinesterase Activity.

Besides radiological imaging, identifying new biomarkers which can be defined with blood sample or body fluids is crucial for revealing pathogenesis of Alzheimer disease in order to develop new approaches focusing on underlying causes.

The purpose of this study, measuring different types of metalloproteases, those are considered by us related with Alzheimer disease, in blood serums of patients. Thereafter monitoring the levels of those proteins and their changes in the blood samples of patients who follow medical treatments. For this purpose, 120 patients have divided in two groups and each group named as “patient” group (n=60) and “control” group (n=60). Meanwhile control group has formed with patients are suitable for excluding criterias and didn't get diagnosed Alzheimer disease; patient group has divided two different subgroup: Newly diagnosed (Alzheimer, n=30) and medication user (Donepezil n=30). Activity levels of ADAMTS4, ADAM9 and Acetylcholine Esterase enzyme are measured in blood serum samples, which obtained after taking the informed consent of patients, by using appropriate assay kits with ELISA method. As a result of statistical analysis, distribution was not normal in all groups and Kruskal-Wallis variance analysis was used to evaluate the significance of the difference between the groups ($p < 0.05$). Whereas higher activity levels of ADAMTS4, ADAM9 and Acetylcholine Esterase enzyme were found statistically significant in newly diagnosed Alzheimer group compared with control group and Donepezil group ($p < 0.05$) while more specifically lower activity levels of ADAMTS4, ADAM9 and Acetylcholine Esterase enzyme were detected in Donepezil group. It has shown that ADAMTS4 and ADAM9 levels are correlated with acetylcholine esterase inhibition and ADAMTS4 and ADAM9 levels decrease with increasing inhibition.

As a result; levels of ADAMTS4 and ADAM9 proteins, functionally located in brain, changes depending on Acetylcholine Esterase activity moreover considering the importance of inhibition of acetylcholine esterase in Alzheimer Disease, the measurement of serum ADAMTS4 and ADAM9 levels is an important step in elucidating the pathogenesis of the disease.

Key Words: Alzheimer's Disease, ADAMTS4, ADAM9, Acetylcholine Esterase

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yaşlanan nüfusla beraber Alzheimer hastalığının görülme sıklığı her geçen gün artmaktadır. Şu ana kadar belirli testler ve tedavi yöntemleri olmakla beraber hala kontrol altına alınabilmiş bir hastalık değildir. ADAMTS4 ve ADAM9 proteinlerinin merkezi sinir sisteminde belirli rolleri olduğu gösterilmiştir. Bu doğrultuda Alzheimer Hastalığı'nda yeni tanı ve tedavi yöntemleri geliştirme düşüncesi bu araştırmaya yönelim sağlamıştır. Alzheimer hastalığının oluşumunda önemli risk faktörlerinden birinin yaşlanma olduğu ve hastalığın görülme sıklığının 65 yaş ve üstü bireylerde her beş yılda bir iki katı oranında artış gösterdiği bildirilmiştir (Gao ve ark. 1998, Wang ve Ding 2008, Hattori 2009). Alzheimer hastalığının gelişiminde genetik yatkınlık diğer bir önemli etkidir; Hastalık riskinin birinci derece akrabalarında Alzheimer olan kişilerde artış gösterdiği izlenmiştir (Wang ve Ding 2008, Williamson ve ark. 2009). AH ile amiloid prekürsör protein (APP), PSEN1 ve 2 (presenilin gen ailesi) ve ayrıca apolioprotein bağlantılı bulunmuştur. Erken başlangıçlı Alzheimer oluşumunda APP, PSEN1 ve 2 genlerindeki mutasyonların etkili olduğu, Apolipoprotein E'nin ϵ allelindeki mutasyonunsa AH riskinde artışa sebep olduğu saptanmıştır (Wang ve Ding 2008). Amiloid beta ($A\beta$) peptid seviyelerinin aynı zamanda AH hastalığı ile birlikte 1. kromozomda bulunan PSEN2 ve 21. kromozomda bulunan APP genlerinin mutasyonlarına bağlı olarak artış gösterdiği bildirilmiştir (Ertekin 2007). Bunun yanı sıra Alzheimer hastalığının patogenezinde 14. kromozomda bulunan PSEN1 genindeki mutasyonların da etkili olduğu bildirilmiştir. PSEN1 mutasyonunun sonucunda, amiloid beta proteinin bölünmesinde hatalar ve dolayısıyla toksik Ab üretimi rapor edilmiştir. PSEN1 geninde oluşan mutasyonlar tau proteinlerinin hiperfosforilasyonlarına sebep olurlar. Bununla birlikte nörofibril yumak (NFY) oluşmasını tetiklemektedirler. (Maccioni ve ark 2001).

Bir metalloproteinaz ve disintegrin olan ADAMTS ailesinin ekstraselüler matrikste önemli görevleri olduğu gibi santral sinir sisteminde nöroplastisite/rejenerasyon/inflamasyon ve anjiyojenez gibi birçok patolojik ve fizyolojik süreçte görev alan bir enzim ailesidir (Tang 2001, Lamerchant ve ark. 2013). Birden fazla alt tipi bulunmakla birlikte santral sinir sisteminde ADAMTS1,4, 5 ve 9 alt tipleri bulunmaktadır. Bunların arasında santral sinir sisteminde en sık eksprese

edileni ADAMTS4'tür (Lamerchant ve ark. 2016)ADAMTS4, ADAMTS proteinlerinin agrekenaz ailesindedir. Bir hayvan deneyinde ise amiyotrofik lateral sklerozlu farelerde ADAMTS4 uygulanan farelerin spinal kordlarında nörodejenerasyonun arttığı ve hastalığın daha kötü prognoze olduğu görülmüştür (Lamerchant ve ark. 2013). Yine başka bir çalışmada Alzheimerlı hastaların beyin hücrelerinin immunohistokimyasal yöntemlerle patolojik olarak incelenmesinde ADAMTS4 alt tipinin ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir (Pehlivan ve ark. 2015). Çalışmalarda, ADAMT4'ün CSPGs bozunumu, ADAMTS4'ün aksonal rejenerasyonun inhibisyonunu sağladığı ve bir proteolitik mekanizma yoluyla nörit büyümesini teşvik ettiğini göstermiştir (Cua ve ark. 2013). Spinal kord iskemisi hasarı sonrasında da ADAMTS4 seviyelerinin arttığı bu şekilde gözlenmiştir.

ADAM (a disintegrin and metalloproteas/bir distegrin ve metalloproteaz) protein ailesi, hücre membranında bulunan ve birden fazla sayıda bölgeye sahip çinko bağımlı metalloproteinazlardır. İnsan genomunda 21 ADAM tanımlanmıştır ancak bunlardan sadece 13'ü proteolitik aktiviteye sahiptir ve bu da en azından diğer sekiz üyenin protein-protein etkileşimlerinin biyolojik fonksiyonlarının kritik yönleri olduğunu göstermektedir (Edwards ve ark. 2009). ADAM' lar, hücre dışı matrisin homeostazına, spesifik hücre içi sinyallerin transdüksiyonuna, organogenezin, inflamasyonun, dokunun yeniden biçimlendirilmesine, adezyona ve hücrenin migrasyonuna katkıda bulunan çok fonksiyonlu bir gen ailesidir (Yong ve ark. 2016) ADAM9 proteini ise bir sekretaz aktivitesine sahip olan ve Alzheimer amiloid öncü proteinini (AAP) nonamiloidojenik yola doğru metabolize edebilen tek üyedir. Bu Alzheimer hastalığı sırasında beyni plak oluşumundan potansiyel olarak korur. ADAM9 promoter bölgesi içindeki polimorfizmler, sporadik Alzheimer hastalığına karşı koruma ile ilişkilidir (Cong ve Jia 2009). ADAM proteazlar, APP'den AP proteinlerinin üretimini ve birikimini önler ve amiloidlerin aktivitelerini sinir dokuları üzerindeki potansiyel trofik etkiler ile çeşitli mekanizmalarla antagonize eder (Moss ve ark 2011). Yapılan bir çalışmada Alzheimer hastası bir bireyin temporal beyin bölgesinden alınan dokunun immunohistokimyasal boyama sonrasında ADAM9 seviyesinin arttığı gözlenmiştir.

Bunlardan yola çıkarak Amiloid proteinlerin alt tipleri olan ve fonksiyonel olarak patogenetik süreçlerde rol alan APP amiloid kaskatında önemli yere sahip olan

ADAM9 ile yine merkezi sinir sistemi hasarlarında özellikle ekspresse olduğu kanıtlanmış olan ADAMTS4 proteinlerinin Alzheimer tanısı alan ve ayrıca asetilkolinesteraz inhibitörleriyle tedavisine başlanmış olan hastalarda seviyesinin belirlenmesinin Alzheimer patogenezinin aydınlatılmasında rol oynayacağı gibi, tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde ve olası sonuca göre yeni tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde yol gösterici olması amaçlanmaktadır



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alzheimer Hastalığı

2.1.1. Tanım ve Tarihçe

Yaşlı popülasyonun arttığı toplumlarda demans sıklığı artış göstermektedir. Demans kelimesi köken olarak Latince'deki zihin gelmektedir. Kısaca zihnin yitirilmesidir. Latince de kullanılan şekliyle demans kelimesi “varolan, yerleşmiş, kazanılmış olan zihnin sonradan yitirilmesi” anlamına gelmektedir. Dilimizde ise kısaca “bunama” olarak tarifleyebiliriz. Demans terim olarak ise bir sendromun tanımını yapmak için kullanılmaktadır. Bu tanımı, “yetişkinlerde merkezi sinir sisteminde görülen hasarlanmalara bağlı olarak ortaya çıkan kognitif işlevlerde bozulma” olarak yapabiliriz. Demansı diğer hastalıklardan ayırmak için çeşitli kriterleri kullanırız. Başlangıç şekli, başlangıçtan bugüne kadar geçen süresi önemlidir. Ayrıca demansa spesifik kognitif fonksiyon bozukluklarının sayısı, hastalığın seyri ve şiddeti bu ayrımlar açısından değerlidir (Gürvit 2004).

Demansı bilinci normal olan bir hastada ilk olarak bellek, sonrasında sosyal ve zihinsel ve becerilerde bireyin gündelik yaşantısını etkileyecek düzeyde bozulması olarak tanımlayabiliriz. Öncelikle bellekte bozulma gözlenmesi önemlidir. Zaman içerisinde bellekle beraber dil becerilerinde, dikkatte, algılamada, problem çözme ve görsel-alansal becerilerinde de bozulma gözlenmeye başlanır. İlerleyen dönemde hastanın kliniğinde kişilikte ve süregelen davranışlarında değişiklikler gözlenir. Duygu durum bozuklukları, ajitasyon, halüsinasyonlar ve delüzyon gibi psikiyatrik belirtiler de görülür.

Demansla ilgili bütün tanımlamalar üç temel bulguyu içerir: Bunlardan ilki bireyin sosyokültürel seviyesi ve yaşına göre normalin ötesinde, beklenmeyen ilerleyici bir zihinsel yıkım olmasıdır. İkinci olarak bu bozukluk tek bir nöropsikolojik defisitle değil de bilişsel işlevin birden fazla bölgesini ve kişiliği etkileyerek kendi göstermelidir. Bu bölgeler dil becerileri, dikkat, bellek ve vizüospastal beceri alanlarıdır. Üçüncü olarak ise hastalarda deliryumda görülen bilinç bozukluğu görülmemelidir. Demans tanımı bu şekilde yapıldığı zaman demansı yaşlanmanın normal sürecinden, statik ensefalopatilerden ve bilinç bozukluklarından daha doğru bir şekilde ayırabiliriz (Rossor 2000).

Demansları sınıflandıracak olursak ilk olarak primer demans ve sekonder demans şeklinde sınıflandırabiliriz. Demansın başlıca sebeplerinden olan nörodejeneratif hastalıklar primer grup sayılmaktadır. Nörodejeneratif hastalıklar, genellikle kendine has patoloji ile sinaps ve nöron kaybına yol açarlar. Bu şekilde kognitif fonksiyonların temelini oluşturan limbik ve asosiasyon bölgelerinde dejenarasyona yol açarlar ve bu bölgelerin fonksiyonlarını bozarlar. Bir süre sonra bu durum klinikte karşımıza belli bir yayılım sürecinde olan demans olarak çıkar. Nörodejeneratif süreç, gibi diğer sistemleri de etkileyebileceği gibi izole demans kliniğiyle de karşımıza çıkabilir. Primer demanslar arasında en fazla görülen neden Alzheimer hastalığıdır. Vasküler demans ise en fazla görülen sekonder demans sebebi olarak karşımıza çıkar (Gürvit 2004).

Demansın en sık bilinen ve en sık görülen şekli Alzheimer hastalığıdır. Bütün demanslar arasında %59-70'i Alzheimer Hastalığıdır. AH, en fazla oranda karşılaşılan nörodejeneratif hastalıktır. ABD'de görülen ölüm sebepleri arasında en sık görülen altıncı ölüm sebebidir (Rossor 2000). Sıklığı ise her geçen gün hızla artış göstermektedir. Nörodejeneratif birikim beyinde genellikle orta yaşlarda başlamakla birlikte hastalıkla ilgili ilk bulgular 65 yaşından sonra ortaya çıkmaktadır (Alzheimer's Association 2015). Hem nöropatolog hem de psikiyatr olan Alois Alzheimer (14 Haziran 1864-19 Aralık 1915) ilk defa "presenil dementia" şeklinde vaka yayını yapmıştır. Daha sonra ünlü bir psikiyatrist olan Emil Kraepelin yayımlanan bu vakadaki kişinin klinik durumunu "Alzheimer hastalığı" şeklinde tanımlanmıştır. Frankfurt'ta görev yaptığı süre içerisinde Alois Alzheimer hem kısa süreli hafızla kaybı hem de garip davranışları olan Auguste Deter isimli 51 yaşındaki hastayla karşılaşmıştır. Eter öldükten Alois, Deter'in hasta dosyasını ve otopsi yapmak üzere beynini Nisan 1906 da Münih'e, aktif olarak çalışmakta olduğu Kraepelin'in laboratuvarına getirtti. Bu laboratuvarda hastanın beyinde yeni boya tekniklerinin de yardımıyla nörofibriler yumakları ve amiloid plakları gözlemledi. Kasım 1906'da bir kongrede ilk kez olarak hastalığın klinik semptomlarını ve patolojine ait bulguları sundu. İlk kez Alois tarafından sunulan AH, beyinde bulunan hücrelerde harabiyet yaratarak, bireylerde bellek kaybı ile sosyal ilişkiler, iş yaşamı ve hobilerde değişmeye ve bozunuma sebep olur. Şu ana kadar hastalığı tam olarak düzelten bir tedavi yöntemi bulunamamıştır.

2.1.2. Epidemiyoloji

Alzheimer hastalığında yaşla beraber yıllık insidans ve prevalans hızla artış göstermektedir. Hastalığın insidansı 65-69 yaş aralığında %0,4 olarak gözlenirken bu oran 90 yaşında %10'lara kadar çıkmaktadır. Hastalığın prevalansı ise 65-69 yaş grubundaki hastalarda %2 olarak gözlenirken, 90 ve üzerindeki yaşlarda %25' civarında seyretmektedir. Hastalığın prevalansının 65 yaş üzerinde her 5 yılda iki katına çıktığı gözlenmiştir. Gelişmiş ülkelerde yapılan araştırmalarda 65 yaş ve üzerindeki her 10 bireyden birinde, 85 yaş ve üzerindeki olguların ise üçte birinde demansla ilgili bulguların oluşmaya başladığı gözlenmiştir (Selekler 2010, Corada ve ark. 2010). İstanbul'un Kadıköy ilçesinde yapılan bir çalışmada, daha önce yapılan çalışmalara paralel şekilde 70 yaş üzerindeki Türk bireylerde AH prevalansının %11, demans prevalansının %20 civarında olduğu gösterilmiştir (Gurvit ve ark. 2008).

2010 yılında Uluslararası Alzheimer Derneği tarafından yapılan çalışma bize demansı bulunan hasta sayısının 2010'da 35 milyona yaklaştığını, demansı olan bu hastaların yaklaşık 2/3 ünün de Alzheimer hastası olduğunu göstermiştir. Bu prevalansın dört kat artarak 2050 yılında 106,8 milyon civarında olması beklenmektedir (Brookmeyer ve ark. 2007).

Yaş, Alzheimer Hastalığı oluşmasında en önemli risk faktörüdür. Fakat buna rağmen yaş faktörünün tek başına AH oluşumuna sebep olduğunu düşünmek de doğru değildir. Yaş dışındaki majör risk faktörleri ise; eğitim düzeyinin düşük olması, apolipoprotein gen E4 alelleri (APOE4) varlığı, aile hikayesi, kardiyovasküler risk faktörleri ve hastanın maruz kaldığı orta ya da şiddetli kafa travmalarıdır (Apostolova 2016).

AH erkeklere oranla kadınlarda daha sık karşımıza çıkmaktadır. Tanımlanmış vakaların yaklaşık 2/3'ü kadındır. The Aging, Demographics and Memory Study olarak adlandırılan kısaca ADAMS diyebileceğimiz çalışma grubunun elde ettiği verilere dayanarak demans prevalansının 71 yaş üzerindeki kişilerde erkeklerde %11, kadınlarda %16 olduğunu söyleyebiliriz. Bu farkın oluşmasında kadınlarda yaşam süresinin erkeklere göre daha uzun olmasını sayabiliriz. Bunun yanısıra eğitim düzeyinin düşüklüğü, hormonal sebepler, genetik faktörler ve sosyal etkenler de rol almaktadır. (Plassman ve ark. 2007).

AH, Latin ırkları ve Afrika'ya kıyasla beyaz ırkta daha az gözlenmektedir. Yine bununla birlikte bu ırklarda görülen düşük düzeydeki eğitim, genetik faktörler ve kardiyovasküler sistemle ilgili risk faktörleri etiyojide önemlidir. (Gurland ve ark. 1999, Manly ve Mayeux 2004).

2.1.3. Etiyoloji

Alzheimer hastalığında yaşın önemli bir etyolojik faktör olduğu ve hastalığın prevalansının 65 yaş sonrasında her beş yılda bir iki katına yükseldiği bildirilmiştir (Gao ve ark. 1998, Wang ve Ding 2008, Hattori 2009). Genetik yatkınlık da Alzheimer hastalığının gelişiminde diğer bir önemli etkidir ki birinci derece akrabalarında Alzheimer görülen kişilerde hastalık riskinin artış gösterdiği gözlenmiştir (Wang ve Ding 2008, Williamson ve ark. 2009).

2.1.3.1. Genetik

Alzheimer Hastalığı ile ilişkili çeşitli genler olduğu saptanmıştır. Bunlardan başlıcaları amiloid prekürsör protein (APP), apolipoprotein E(ApoE), presenilin 1(PSEN1), presenilin 2(PSEN2)'dir. Saptanan bu genlerden (APP), PSEN1 ve 2 genlerinde oluşan ve tam penetransı gösterilmiş olan mutasyonlar, tüm olgular içinde %5'lik bir dilime sahip olan erken başlangıçlı Alzheimer Hastalığının oluşumuna sebep olmaktadır. Ayrıca ApoE epsilon 4 (e4) aleli de Alzheimer Hastalığı görülme riskinde artışa sebep olmaktadır (Wang ve Ding 2008).

1. kromozomda bulunan PSEN2 ve 21. kromozomda bulunan APP genlerinin mutasyonlarına bağlı olarak Alzheimer Hastalığı'nda, beta amiloid (Ab) peptid seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (Ertekin 2007). Bunun yanı sıra bu genlerden 14. kromozom üzerinde yer alan PSEN1 geninde oluşmuş olan mutasyonların da AH gelişiminde etkin olduğu gösterilmiştir. PSEN1 geninde meydana gelen mutasyon tau proteinleri olarak adlandırdığımız proteinlerin hiperfosforilasyonlarına sebep olmakta ve nörofibriler yumak (NFY) oluşumunu tetiklemektedir (Maccioni ve ark 2001). Ayrıca PSEN1 geninde oluşan bu mutasyonlar, amiloid prekürsör proteininin yanlış bir şekilde bölünmesine ve toksik Ab üretilmesine yol açmaktadır. Erken başlangıçlı ailesel Alzheimer Hastalığı yaklaşık %70-80 oranında PSEN1 gen mutasyonu ile ilişkilidir. Bu durumun %20' lik diliminin PSEN2 geni mutasyonu ve %2-3'ünün de

APP geni mutasyonuna bağlı olarak geliştiği gösterilmiştir (Edelberg ve Wei 1996, Gilman 1997,35).

19. kromozomda yer alan ApoE genininse Alzheimer Hastalığı'nın geç başlangıçlı formunun patogenizinde yer aldığı rapor edilmiştir (Ertekin 2007). Bahsi geçen ApoE genine ait e2 aleli AH riskini azaltarak koruyucu alel gibi davranırken, e4 alelinin ise AH riskini artışa sebep olduğu gösterilmiştir. ApoE e4 alelinin patogeneizde amiloid plak ve nörofibriller yumak oluşmasına sebep olduğu gösterilmiştir (Kok ve ark. 2009). AH'nın geç başlangıçlı formunun yaklaşık %50-80'ni ApoE geninde oluşan mutasyonlar oluşturduğu gösterilmiştir (Edelberg ve Wei 1996).

2.1.3.2. Tetikleyici Faktörler

Duşuk düzeydeki eğitim seviyesi, Down sendromu, bireyde bilinç kaybı oluşturabilecek kafa travmaları, miyokard infarktüsü öyküsü, aterosklerotik karotid arter hastalığı ve bununla beraber atriyal fibrilasyon Alzheimer hastalığının etyolojisinde rol alan diğer faktörler arasında bulunmaktadır. Ayrıca kronik alkol kullanımının, ileri anne yaşının ve depresyon anamnezinin Alzheimer Hastalığı'nda risk faktörü olarak kabul edilebileceğini ileri süren çalışmalar da bulunmaktadır (Gilman 1997, Topçuoğlu ve Selekler 1998). Balık, sebze, meyve gibi Akdeniz diyeti olarak adlandırılan besinlerle beslenme şeklinin, fiziksel aktivitede bulunmanın ve bilişsel aktivitelerin AH riskini azalttığı ileri sürülmüştür. Alzheimer Hastalığı'nın oluşumunu önlemekte bahsedilen bu faktörler üzerindeki bir kontrolün aktif bir rol oynayabilecekleri ne sürülmüştür (Szekely ve ark 2007).

2.1.4. Fizyopatoloji

Alzheimer hastalığının patolojik bulguları arasında makroskobik bulgular beyin parankiminde atrofi, sulkuslarda ve ventriklerde genişleme, giruslarda daralmadır. (Baysal ve Yeşilbudak 2003). Hastalığın esansiyel mikroskobik değişiklikleri NFY'lar, amiloid plaklar ve nöron kayıplarıdır. Bunlardan nörofibriller yumaklar nöron içerisinde birikim gösterirken, amiloid plaklar ekstrasellüler birikim gösterirler. (Lopes ve ark. 2009). AH'de nörofibriller yumak patolojisinin beyinde klinik belirtilerle aynı doğrultuda bir ilerleme gösterdiği fakat amiloid plakların ise bundan

farklı olduğu klinik semptomlar ile direkt bir ilişki içinde bulunmadığı gösterilmiştir (Duyckaerts ve ark 2009).

Nörofibriler yumaklar, çift sarmal iplikçik yığımlarından meydana gelmektedir. Bu iplikçikler hücre gövdelerinde ve dendritlerde birirmektedir. Ayrıca bu iplikçikler tau proteininin hiperfosforillenmiş şeklini ieririler. Bu protein mikrotübül bağlantılı bir proteindir. (Octave ve Pierrot 2008). Tau proteininin hiperfosforilasyonunun, fosforilyonda düzenleyici rol oynayan çeşitli kinazlar ile fosfatazların aktiviteleri arasındaki dengesizlik durumuna bağlı olarak gerçekleşebileceği ne srlmştir. (Chung 2009). Tau proteininin hiperfosforile olması sonucunda hücre fonksiyonlarında bozukluklar oluşabileceği ve mikrotübüller yapıyla etkileşiminin azalacağı gösterilmiştir (Mohandas ve ark. 2009).

Alzheimer hastalığının patofizyolojisinde Aβ'nın ekstraselüler birikimi önemlidir. Söz konusu Aβ beyinde bulunan senil plaklarda APP'den türemektedir (Octave ve Pierrot 2008). APP iki farklı şekilde metabolize olmaktadır. Bu yollardan ilki non-amiloidojenik yoldur. Bu yolda alfa sekretaz ve gama sekretaz enzimleri APP'yi parçalar. Bu reaksiyon sonucunda meydana gelen ürünlerin toksik özellik göstermediği metabolik yoldur. İkinci yolak olan amiloidojenik yolda ise gama ve beta sekretaz enzimlerinin etkisiyle Aβ 1-40 ve Aβ 1-42 oluşmaktadır. (Hooper 2005, Kolev ve ark. 2009). Nörotoksik Aβ hücresel kompartmanlarda birikir. Biriken bu madde sinaptik ve mitokondriyal hasarlanmaya sebep olur. Tau proteininde hiperfosforilasyon olmasına yol açar ve bu yollarla hücresel fonksiyonlara hasar verdiği gösterilmiştir (Mohandas ve ark. 2009, Reddy ve Beal 2008). Alzheimer hastalığında bazı nromediyatrlerin özellikle de asetilkolinin (ACh) seviyelerinde değişiklikler gözlenmiştir. Asetil kolin fizyolojik koşullarda dikkatin artmasında ve öğrenme evresinde yardımcı olan önemli bir nromediyatrdr. (Fisher 2008). ACh düzeylerindeki değişikliklere kıyasla diğer nromediyatrlerin düzeylerinde gözlenen farkın daha az olduğu gösterilmiştir. (Mattson 2004).

AH'de asetilkolin sentezinde azalma meydana gelmektedir. Bu azalmanın birçok sebebi olduğu gösterilmiştir. Bunlardan ilki kolinasetiltransferaz enzimi miktarının ve bu enzim fonksiyonlarının azalmasıdır. Ayrıca kolin geri alımında azalma olması, akson ve kolinerjik nöronlarda meydana gelen hasarlanmalar, hipokampus ve beyin korteksine projekte olan kolinerjik nöronlarda oluşan kayıplar

da bu azalmada etkilidir. Bu nedenlerin yanısıra Alzheimer Hastalığı'nda presinaptik M2 muskarinik reseptörlerde ve nikotinik reseptörlerde kayıpların olduğu gözlenmiştir. Bu reseptörler bellek ve öğrenmeyle ilgili süreçler üzerinde etkileri olan reseptörlerdir. Bu reseptörlerde kayıplar oluşurken postsinaptik M1 muskarinik reseptörlerin yoğunluk seviyesinin ise değişmeyerek sabit kaldığı gösterilmiştir. (Fisher 2008). Alzheimer hastalığında oluşan kolinerjik defektin, hasta bireylerde izlenen depresyon, anskiyete bozukluğu, ajitasyon, psikoz gibi çeşitli davranışsal ve psikiyatrik bulgularla da bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Grossberg 2002). Bahsedilen bu semptomların gelişmesinde kolinerjik disfonksiyon önemlidir. Ayrıca dopaminerjik ve serotonerjik nörotransmisyonunda oluşan dengesizliklerin ve nöron defektlerinin de önemli olduğu düşünülmektedir (Grossberg 2002)

Alzheimer hastalığının fizyopatolojisiyle ilgili olarak glutaminerjik sistem üzerinde de çalışmalar yapılmıştır. Kronik olarak uyarılmaya maruz kalmış glutaminerjik sistemde intraselüler kalsiyum (Ca^{2+}) konsantrasyonu artar. Bu durum nöronal eksitotoksisiye sebep olur ve bunun sonucunda nöronlarda disfonksiyon görülür ve hücre ölümü meydana gelir. (Hynd ve ark. 2004). Alzheimer hastalığının patofizyolojisinde beyinde meydana gelen Ca^{2+} konsantrasyonundaki artışın Ca^{2+} ile aktive edilen kalpainlerin (nötral proteinazlar) aktivasyonunu artırır. Bunun yanısıra amiloid plaklarla beraber nörofibriller yumak oluşumuna sebep olduğu rapor edilmiştir (Edelberg ve Wei 1996). Diğer bir açıdan, AH'nda nörotoksik $A\beta$ 'nin Ca^{2+} homeostazına olumsuz etki ettiği ve bu mekanizmada bozulmaya sebep olduğu ileri sürülmektedir (Small 2008).

Alzheimer hastalığının etiyopatogenezi ile ilişkili çeşitli hipotezler mevcuttur. Bunlardan bir tanesi de oksidatif stres hipotezidir. Bu hipotezde Alzheimer hastalığında oksidatif hasar miktarında artış olduğu, buna bağlı olarak hastalıkta nöronal dejenerasyon ortaya çıkacağı ve bu durumun ölüme sebebiyet verebileceği öne sürülmüştür. Alzheimer hastalığının etiyopatogenezini açıklarken oksidatif stresin katkısını gösteren çeşitli bulgular mevcuttur. Bunlardan ilki demir, alüminyum ve çivinin konsantrasyonlarının artmasının ve bu durumun alzheimer hastalarının beyinlerinde serbest radikal oluşumunu uyarmasıdır. İkinci olarak ise yağların peroksidasyonu ile birlikte protein ve DNA'da meydana gelen oksidasyonunun artmasıdır. Üçüncü olarak enerji metabolizmasında meydana gelen bozulmalar ve

sitokrom oksidaz C düzeylerindeki azalmadır. Son olarak da nörofibriler yumaklarda ve amiloid plaklarda çeşitli maddelere rastlanmasıdır. Bu maddelerin peroksinitrit, ileri glikozilasyon son ürünleri, süperoksit dismutaz-I, hemoksijenaz-I olduğu gösterilmiştir. (Markesbery 1997, Reddy ve ark. 2009).

Alzheimer hastalığının patogenizini açıklamaya yönelik gerçekleştirilen birtakım çalışmalar ışığında arjinin-NO yolağının Alzheimer Hastalığı'nın patogenezini ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. (Vural ve ark. 2009). Hastalığın ilerleme sürecinde artış gösteren nitrik oksid (NO) seviyesi beyin homeostazında bozulma yol açar ve bu durumun beyinde lezyonlar oluşmasına ve çeşitli patolojilere sebep olduğu rapor edilmiştir. (Aliyev ve ark. 2004). Nitrik oksitin aşırı üretilmesi durumunda oluşabilecek yüksek NO düzeylerini NMDA reseptörlerine bağlı olarak gelişen nörotoksitede etkili olabileceği iddia edilmiştir (Snyder 1992). Gerçekleştirilen çalışmaların ışığında; nitrik oksidin amiloid plak ve nörofibriller yumak oluşumuna sebep olduğu ve nörotoksik A β 'lerin da nitrik oksit seviyelerini arttırdıkları gösterilmiştir. Nitrik oksidin fazla miktarda üretimine bağlı olarak reaktif oksijen türleri oluşur. Bu maddeler çeşitli nörotoksik mekanizmaların aktivasyonunda rol oynar. Ayrıca bu mekanizmalar Alzheimer hastalarında daha önceden belirtilen nöron ve bellekle ilgili kayıplara sebep olabileceği gösterilmiştir. (Law ve ark. 2001).

Bu hipotezlerin yanı sıra çeşitli durumların da AH'nin etiopatolojisi ile ilgili olabileceği ileri sürülmüştür. Bunlar nörotrofik faktörlerde görülen dengesiz dağılım, inflamatuvar süreçlerin, mitokondriyal hasarın, enerji metabolizması bozukluğunun, çeşitli viral hastalıkların ve alüminyum gibi bazı elementlerin neden olabileceği nörotoksitedir.

2.1.5. Klinik Bulgular

Dejeneratif süreç Alzheimer hastalığında çok daha erken dönemde başlamaktadır. Dejenerasyonun başlaması ile klinik bulguların görülmeye başlaması arasında yaklaşık 20-30 yıl gibi bir süre vardır. Hastalık önce hipokampus ve entorinal korteksi tutar. Bu alanlar, bellek işlevlerinin altyapısının oluşturur. İlk bozulmanın bellekte meydana gelmesinin sebebi de budur. Hastalıkta görülen ilerlemeye bağlı olarak dejenerasyon ön ve arka multimodal asosiyasyon kortekse yayılım gösterir. Temporo-parietal korteks, diğer adıyla arka asosiyasyon korteksidir. Bu alan çeşitli durumlara

aracılık eder. Bunlar karmaşık görsel-mekânsal becerilerdir. Diğer bir alan olan ön prefrontal asosiyasyon korteks ise yönetici fonksiyonlara ve karmaşık dikkate aracılık eder. Bu yüzden hastalık ilerledikçe bu bölgelerde görülen dejenerasyona bağlı olarak bu becerilerde ve işlevlerde progresif bir bozulma görürüz (Çınar 2012). Bunlar arasında yeni bilgiler hatırlamakta zorlanma en sık karşılaştığımız bulgudur. Artan dejenerasyona bağlı olarak semptomlarda da artış görülmektedir.

2.1.5.1. Alzheimer Hastalığında Dikkat Edilmesi Gereken Semptomlar (Alzheimer's Association 2012)

- Günlük hayatta aksaklıklara yol açan unutkanlık olması,
- Plan yapmada ve problemlere yaklaşım ve çözümde sıkıntı yaşama,
- Gündelik basit işlerde zorluk yaşama,
- Yer ve zamanla ilgili oryantasyon bozukluğu,
- Vizüel imgeleri anlamada zorlanma,
- Kelimeleri konuşma ve yazmada kullanmada sorun yaşama,
- Geriye doğru adım atamamak, eşyaları nereye koyduğunu unutmak,
- Karar mekanizmasından sorun yaşamak, kararsızlık
- İçine kapanıklaşma, sosyallikten uzaklaşma
- Alışılmış kişiliğin ve mizacın dışında farklı davranışlar.

Eğer hastalık ciddi bir şekilde ilerlemişse özel ilgiye ihtiyaçları olur, yatağa bağımlı bir hayatla karşı karşıya kalabilirler. Bu grupta pnömoni ve vasküler nedenler en fazla oranda görülen ölüm sebepleridir (Çınar 2012).

2.1.5.2. Değerlendirme Ölçeği

Alzheimer Hastalığı'nda evreleme yapılması önemlidir. Genellikle Klinik Demans Değerlendirme Ölçeği ve Global Bozulma Ölçeği'ne göre evrelendirme yapılmaktadır. Buna ek olarak Alzheimer Birliği'nin yayınlamış olduğu rapor ile Alzheimer Hastalığı'nı prelinik dönem, hafif bilişsel bozukluk dönemi ve AH demans dönemi şeklinde de sınıflandırmaktayız (Çınar 2012, Alzheimer's Association 2012).

2.1.5.2.1. Preklinik Evre Alzheimer Hastalığı

Hastada aktif klinik bulgu yoktur. Beyinde, serebrospinal sıvıda ve/veya kanda yapılan incelemelerde hastalığa ait erken dönem belirtileri gösterecek bulgular mevcuttur. Bellek kaybı yoktur.

2.1.5.2.2. Hafif Bilişsel Bozukluk

Hafif bilişsel bozuklukta hastanın subjektif olarak bellekle ilgili şikayetleri mevcuttur. Normal yaşlı popülasyonuna kıyasla bellekle ilgili testlerde sapmalar vardır. Bu sapmalar özellikle sözel epizodik bellekle ilgilidir. Hastanın genel kognitif performansında değişiklik beklenmez normaldir. Bu durumda olan bireyler gündelik işlerini olağan düzeyde devam ettirirler. Bu hastaların kliniğinde demansla ilgili belirtiler gözlenmez. Hafif bilişsel bozukluk olarak sınıfladığımız bu grup heterojen bir gruptur. Bu grup içinde yer alan bireyler farklı şekillerde hayatlarına devam edebilirler. Normal olarak yaşlanabilirler bunun yanı sıra AH ya da vasküler tip demansa evrilebilirler. Bu grup hastada demans yönünde bir dönüşüm olma ihtimali normal popülasyona göre on kat daha yüksektir. (Çınar 2012). Bu bozuklukta semptomlar sinsi olarak başlangıç gösterir. İlerleyici olarak devam eden yıkım yıllarca sürer. Sonrasında semptomlar silik ve belli belirsiz olarak başlar. Gözlenen semptomlar öncelikle ilgisizlik, herhangi bir şeye istek duymama ve unutkanlıktır. Alzheimer Hastalığı klasik olarak ise erken, orta ve ileri evre şeklinde üç evreye ayrılmıştır:

2.1.5.2.3. Erken Dönem Alzheimer Hastalığı

Hastaya demans tanısı konulabildiği en erken evre bu evredir. Bunu Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı-4' deki ölçütleri kullanarak yapabiliriz. Bu ölçütlerde, hastanın bellekle ilgili bölgesinde ve bunun yanı sıra bir bölgede daha bir bozulma saptanabilmelidir. Bu bozulma hastanın gündelik aktivitelerine etki edecek düzeyde olmalıdır. Alzheimer Hastalığının başlangıç şemasıdır. Bellekte görülen bozukluklara ek olarak, soyut düşünme ve dikkat ile ilgili bozukluklar da görülür. Fakat bütün dikkat tipleri bozulmamıştır. Basit dikkat normal olarak devam

etmiştir. Fakat karmaşık dikkatte bozulma meydana gelmiştir. Karmaşık dikkatteki bozulmaya ek olarak hastaların soyut kavramlarla ilgili düşünmesinde bozulmalar olmuştur. Vizüo-spasyal olarak tabir ettiğimiz görsel-mekansal karmaşık algı becerilerinde ise herhangi bir bozulma olmamıştır ve korunmaktadır. Bu evrede çoğunlukla korunan diğer beceriler de dil ile ilgili beceriler ve praksi dir. Hastanın oryantasyon problemi de genellikle gözlenmemiştir. Yer, zaman ve kişilerle ilgili oryantasyon becerisi bu dönemde korunmuştur (Gürvit 2004, Çınar 2012).

2.1.5.2.4. Orta Dönem Alzheimer Hastalığı

Bu dönemde bellek bozukluğu ciddi şekilde artmıştır. Kişinin gündelik hayatına ciddi şekilde etki edecek duruma gelmiştir. Bu hastalarda yeni bilgileri kayıt etmenin yanı sıra, mevcut bilgiyi geri çağırma ve hatırlama işlevlerinde de bozukluklar mevcuttur. Buna bağlı olarak hasta eski bilgilerini geri çağırmayacağı ve hatırlayamayacağı için uzak geçmişine ait olan bilgilere de erişmek zorlaşır. Bu evrede basit dikkatte görülen bozulmaya ek olarak mevcut olan dikkati devam ettirme yetisi de kaybedilmiştir. Soyut düşünme konusundaki yetideki kayıp derinleşmiştir.

Dille ilgili becerilerde isimlendirme bozulmuştur. Yönetici fonksiyonlarla birlikte vizüo-spasyal becerilerde ciddi şekilde bozulmalar mevcuttur. Praksi ile ilgili sorunlar da bu evrede başlar. Oryantasyon kaybıyla beraber hastalarda parmaklardaki ince hareketleri gerçekleştirilmede zorluklar görülür (Gürvit 2004, Çınar 2012).

2.1.5.2.5. İleri Dönem Alzheimer Hastalığı

Bu dönem Alzheimer hastalığındaki en ağır dönemdir. Bir önceki evrede görülen bütün semptomlar çok daha ağır bir şekilde kendini gösterir. Hasta zaman ve mekanla ilgili oryantasyonunu tamamen kaybedebilir. Hastada karakter değişimleri derinleşir. Bellek bu evrede ileri düzeyde hasarlıdır. Hasta uzak geçmişini bile genellikle hatırlayamaz. Basit ya da karmaşık dikkat ayrımı olmaksızın dikkati devam ettirmede ileri düzeyde bozulma mevcuttur. Dille ilgili becerilerdeki bozulma ciddi düzeyde ilerlemiştir. Hastalar konuşabilirler fakat düşündükleri şeyleri anlatamazlar ve anlamlı bir şekilde söze dökemezler. Soyut düşünme ve bunun yanı sıra görsel-mekânsal beceriler nerdeyse sıfır düzeyindedir (Gürvit 2004, Çınar 2012).

2.1.5.2.6. Davranış Bozuklukları

Bu gruptaki bozukluklular sık görülür ve progresiftirler. Bu bozukluklardan apati, anksiyete bozukluğu ve irritabilite erken dönemde gözlenir. Buna ek olarak depresif bulgular ise hafif-orta düzeyin genellikle erken döneminde izlenir. Uyku düzeni ve iştah durumuyla ilgili farklılıklar, algılama bozuklukları görülür. Bununla birlikte dizinhibisyon, algılama bozuklukları, delüzyon, çeşitli halüsinasyonlar, ajitasyon gözlenir (Apostolova 2016).

2.1.5.3. Alzheimer Derneği Rehberliğinde Demans Sendromu ve Olası Alzheimer Hastalığı Tanı Kriterleri

- Hastanın muayenesi ve objektif değerlendirme testleri ile gösterilmiş demansının olması,
 - Hastada en az iki ya da daha fazla sayıda bilişsel kayıp olması,
 - Bilişsel işlevler ve bellekle ilgili progresif bir kayıp olması
- Hastada bilincin normal olması ve bununla ilgili herhangi bir bozukluk olmaması,
- Mevcut klinik durumun 40 yaşından sonra 90 yaşından önce başlaması
- Hasta bilişsel beceri ve bellekle ilgili progresif bir kayıp yaratacak nörolojik veya sistemik bir bozukluğun bulunmaması
- Tanıyı destekleyici diğer bulgular;
 - Algılama, motor yetenekler ve dilde görülen progresif kayıplar
 - Kişinin alışlagelmiş davranışlarında değişiklikler,
 - Günlük işlevlerde bozulma, gündelik işleri düzgün bir şekilde yerine getirememe,
 - Görüntüleme yöntemlerinde serebral parankimal atrofi gibi destekleyici bulgular.

2.1.6. Tedavi

Alzheimer Hastalığı'nda aktif olarak kullanılan birçok ilaç olmasına rağmen hastalığı tamamen tedavi etmek henüz mümkün değildir. Tam olarak kür sağlanamasa da hastanın kognitif fonksiyonlarında görece düzelme sağlamak, duygusal ve psikotik değişikliklerin kontrolünü sağlamak ve hastanın hayat kalitesinde artış sağlamak için çeşitli tedavi yöntemleri uygulanmaktadır (Lleó ve ark. 2006, Williams 2009).

Alzheimer Hastalığı'nın güncel tedavisinde hastanın kognitif bozukluğunu gidermek için kullanılan ilaçlar etkilerini iki temel mekanizma üzerinden göstermektedir. Bunlardan ilki hasta grubun beyinlerinde zayıfladığı gösterilen kolinerjik nörotransmisyonu güçlendirmektir. İkinci grup ilaçlar ise etkilerini artmış olan glutaminerjik nörotransmisyonu zayıflatarak gösterirler (Lleó ve ark. 2006, Bassil ve Grossberg 2009).

Alzheimer hastalığında kullanılan ilaçların tedavi etkinliğini değerlendirmek zordur. Çünkü tedavinin hem kognitif işlevlerde hem de günlük yaşam aktivitelerinde iyileşme gibi klinik olarak gözlenebilen etkilerinin olması gerekir. Asetilkolinesteraz inhibitörlerine ek olarak NMDA reseptör antagonisti olan Memantin'in de hastalığın tedavisinde etkileri gözlenmiştir (Hort ve ark 2010). Hafif-orta evrede asetilkolinesteraz inhibitörlerini kullanırız. Orta-ileri dönem Alzheimer hastalığında ise Memantin tercih edilir.

2.1.6.1. Asetilkolinesteraz İnhibitörleri

Asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri Alzheimer hastalığında çok önemli bir yere sahiptir. Çünkü bellekle ilişkili en önemli nörotransmitter asetilkolindir ve bellek işlevlerinde aktif rol alır. Asetil kolin esteraz inhibe edildiğinde asetilkolin yıkımı azalır. Sonrasında asetilkolinin nöronal sinapstaki düzeyini artırır ve kolinerjik sinapslardaki etki süresini uzatır. Asetilkolinesteraz inhibitörlerinin çeşitli fonksiyonlarda olumlu etkisi gözlenmiştir. Hastaların bilişsel fonksiyonları aktif olarak düzelmiştir. Bununla beraber günlük yaşam aktivitelerinde olumlu değişiklikler görülmüştür ve hastanın klinik durum üzerinde belirgin olumlu etkileri gözlenmiştir. Asetilkolinesteraz inhibitörleri ile ilgili yapılan çalışmalarda plasebo etkisine göre anlamlı düzelme görülmüştür.

Alzheimer hastalığında tedavi etkinliği gösterilmiş asetilkolinesteraz inhibitörleri etkilerini kolinerjik sistem üzerinden göstermektedir. Bu ilaçların mekanizmasında kolinerjik nörotransmisyonu kuvvetlendirirler ve bunu ACh miktarlarının kolinerjik sinapslardaki düzeyini artırarak yapar (Lleó ve ark. 2006, Friedlander ve ark. 2006). Şu ana kadar FDA tarafından onaylanmış asetilkolin esteraz inhibitörleri ise donepezil, takrin, rivastigmin ve galantamindir (Bassil ve Grossberg 2009). Takrinin hepatotoksik ciddi yan etkileri gözlenmiştir. Kullanılan hasta grubunun genellikle

yaşlı populasyon olduğu da dikkate alınınca bu durum ilacın klinik kullanımını sınırlamaktadır (Kelley ve Petersen 2007).

2.1.6.1.1. Donepezil

Donepezil non-kovalent kolinesteraz inhibitörüdür. Güçlü, seçici, non-kompetitif ve hızlı geri dönüşümlü bir inhibitördür. Bu ilaç nöronal asetilkolinesteraza selektiftir. Hastalarda bozulmuş konuşma algısının iyileşmesinde etkilidir (Darreh-Shori ve Soininen 2010) Donepezil, konuşma algısına yakından bağlı nörobilişsel mekanizmaları etkiler Donepezilin en önemli özelliklerinden biri biyoyararlanım oranıdır. Ağız yoluyla kullanıldığında %100 e yakın biyoyararlanımı vardır. Buna ek olarak 70 saatlik yarı ömrü de dikkat çekmektedir. Uzun yarı ömrü ve yüksek biyoyararlanım sebebiyle günde tek doz kullanılır. Hastalığın yan etkileri genelde hafif ya da orta derecedir ve bunlar kalıcı olmayıp geçicidirler. Genelde iştahlık, ishal, bulantı-kusma, yorgunluk, uyku düzensizlikleri ve kaslarda kramplar görülür. Donepezil'e günlük 5mg dozu ile tek doz olarak başlarız. Sonrasında 4-6 hafta bu şekilde kullandıktan sonra tekrar kontrol ederiz. Bu kontrol sonrasında ihtiyaç halinde tedaviye 10mg/gün dozundan devam edebiliriz. Donepezili diğer asetilkolinesteraz inhibitörleri gibi hafif-orta dönem Alzheimerlı hastalarda kullanırız. Bu çalışmada da ilaç kullanan hastalarımız donepezil kullanan hastalardan seçilmiştir.

2.1.6.1.2. Rivastigmin

Rivastigmin, asetilkolinesteraz enzimi psödo-irreversibl olarak inhibe eder. Rivastigmin tartarat, periferik dokulardakine kıyasla beyin için hem AChE hem de BuChE selektifini inhibe eden yalancı, geri dönüşümsüz bir karbamat inhibitörüdür. Rivastigminin kortikal ve hipokampal bölgede daha etkin olduğu ileri sürülmüştür. Bir karbamat olarak, rivastigmin, neredeyse farmakolojik olarak atıl olan ve hızla böbrekler yoluyla atılan bir fenolik bölünme ürününü açığa çıkaran rivastigmin molekülünü parçalayan AChE'ye bağlanır. Karbamat kısmı, ACh'nin hidrolizi sırasında asetat parçası için olduğundan daha uzun süre enzimin estetik bölgesine bağlı kalır, böylece enzim, ana molekül dolaşımından kaybolduktan bir süre sonra inaktive olur. Bu etki mekanizmasının bir başka sonucu da, rivastigminin, inaktivasyon veya eliminasyon için hepatik sitokrom P450 sistemine dayanmamasıdır. Rivastigmin

günde iki kez olarak kullanılmaktadır. Etkisi yaklaşık 10 saat civarındadır. Yapılan çalışmalar ışığında ilacın günlük 6-12mg düzeyinde etkili olduğu saptanmıştır. İlacın ek olarak patch şeklinde deriden emilen formu da mevcuttur.

2.1.6.1.3. Galantamine

Galantamin (4'a,5,9,10,1,12-heksahidro-3-metoksi-11-metil 6H-benzofurol (3'a, 3,2-ef)(2)-benzazepin-6-ol hidrobromür) başlangıçta bir tersiyer alkaloid idi. Şimdilerde sentetik bir işlem geliştirilse de Amaryllidaceae bitkilerinden ve çeşitli nergis türlerinden izole edilmiştir. Miyastenia gravis, glokom, kas gevşetici maddelerin uygulaması gibi fonksiyonel asetilkolin eksikliği ile ilişkili bozuklukların tedavisi için Doğu Avrupa'da 40 yıldan beri mevcuttur. İn vitro ve in vivo çalışmalar, galantaminin oral olarak aktif, geri dönüşümlü, rekabetçi bir beyin AChE inhibitörü olduğunu onaylamıştır. Neredeyse tam oral biyoyararlanımı gösterir, lineer plazma kinetiği vardır ve tutarlı bir yarı ömre sahiptir. Beyin omurilik sıvısına iyi penetrasyon gösterir. Günde iki doz olarak kullanılır (Bickel ve ark. 1991). Butirilkolinesteraz (BuChE) yerine AChE için seçicidir (Fulton ve Benfield 1996). Ayrıca, galantamin, doğal agonist asetilkolin'e submaksimal nikotinik tepkileri allosterik olarak kuvvetlendirir (Maelicke ve Albuquerque 2000). Nikotinik nörotransmisyonun bu artışının sadece in vitro olduğu gösterilmiş, ancak presinaptik nikotinik reseptörlerin aktivasyonunun AD'de eksik olan ve hafıza ve öğrenme ile ilgili olduğu düşünülen asetilkolin ve glutamat salınımını arttırdığı gösterilmiş olduğundan klinik olarak anlamlı olabilir (Francis ve ark. 1999)

2.1.6.2. Glutamat Antagonistleri

Alzheimer hastalığında kullanılan ikinci grup ilaçlar glutamat antagonistleridir. AH'DE görülen nöronal eksitotoksisite, nöron kaybı bunun sonucunda gelişen nöronlardaki fonksiyon bozukluğunda glutaminerjik sistem önemlidir. Eğer glutaminerjik sistem kronik olarak uyarılırsa buna bağlı olarak hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu artarsa bu sonuçlar görülebilir (Lleó ve ark. 2006). Memantin ise Alzheimer hastalığında görülen artmış glutaminerjik aktivitenin azaltılması için geliştirilmiş non kompetitif NMDA reseptör antagonisttir ve FDA onaylıdır (Lleó ve ark. 2006, Kelley ve Petersen 2007).

2.1.6.2.1. Memantin

Alzheimer Hastalığı'nda memantinin terapötik aktivitesinin nörobiyolojik temeli tam olarak anlaşılmamıştır. Bununla birlikte, bir kolinesteraz inhibitörü değildir ve bu nedenle halihazırda AH için kullanılan ilaçlardan farklıdır. Memantinin etki mekanizması, hızlı bloke edici / blokaj açma kinetiği ile gerilime bağlı, düşük orta düzeyde afinite, rekabetçi olmayan bir NMDA reseptörü antagonizmasıdır (Danysz ve ark. 2000). Hızlı açma / kapama kinetiği de önemlidir, çünkü bu, memantin, reseptör üzerinde, glutamat reseptörlerinin patolojik olarak aktive edilmesini engelleyecek kadar uzun süre oturduğu ve daha sonra, glutamat reseptörlerinin fizyolojik aktivasyonu gerektiğinde hızlı bir şekilde ortadan kalktığı anlamına gelir.

Memantin, nöronlarda görülen hücre ölümüne neden olabilecek ve kognitif fonksiyonlarda bozukluk yaratabilecek olan anormal glutamat aktivitesinin etkilerini engeller. Hızlı açma / kapama kinetiği ile birlikte düşük-orta afinite memantin hareketinin anahtarıdır. Çünkü öğrenme ve bellek için gereken NMDA reseptörlerinin fizyolojik aktivasyonunu korurken aşırı glutamatın etkilerini engeller (Danysz ve ark. 2000). Diğer NMDA reseptör antagonistleri gibi, yüksek konsantrasyonlarda memantin de öğrenme ve hafızanın altında olduğuna inanılan sinaptik plastisite mekanizmalarını inhibe eder. Bununla birlikte, daha düşük düzeydeki fakat klinik olarak ilgili konsantrasyonlarda memantin, sinaptik plastisiteyi destekleyebilir ve AH'nin hayvan modellemelerinde hafızayı koruyabilir veya arttırabilir (Rogawski ve Wenk 2003). Ayrıca, memantin, kolinerjik nöronların eksitotoksik yıkımına karşı koruma sağlayabilir. Ancak, AH'ye hem kolinerjik hem de glutamaterjik yaklaşımların hipotezlere dayandığı ve kanıtlanmadığı unutulmamalıdır. NMDA reseptörüne bağlı eksitotoksisite, demansta görülen ilerleyici nöronal kayıpta önemli bir rol oynar ve memantin, zayıf NMDA reseptörü bloke etme özelliği, bunun üzerine hastalık modifiye edici bir aktivite verebilir. Dahası, son zamanlarda yapılan in vitro çalışmalar memantin, beta-amiloid toksisitesini ortadan kaldırdığını ve muhtemelen üretimini inhibe ettiğini göstermektedir.

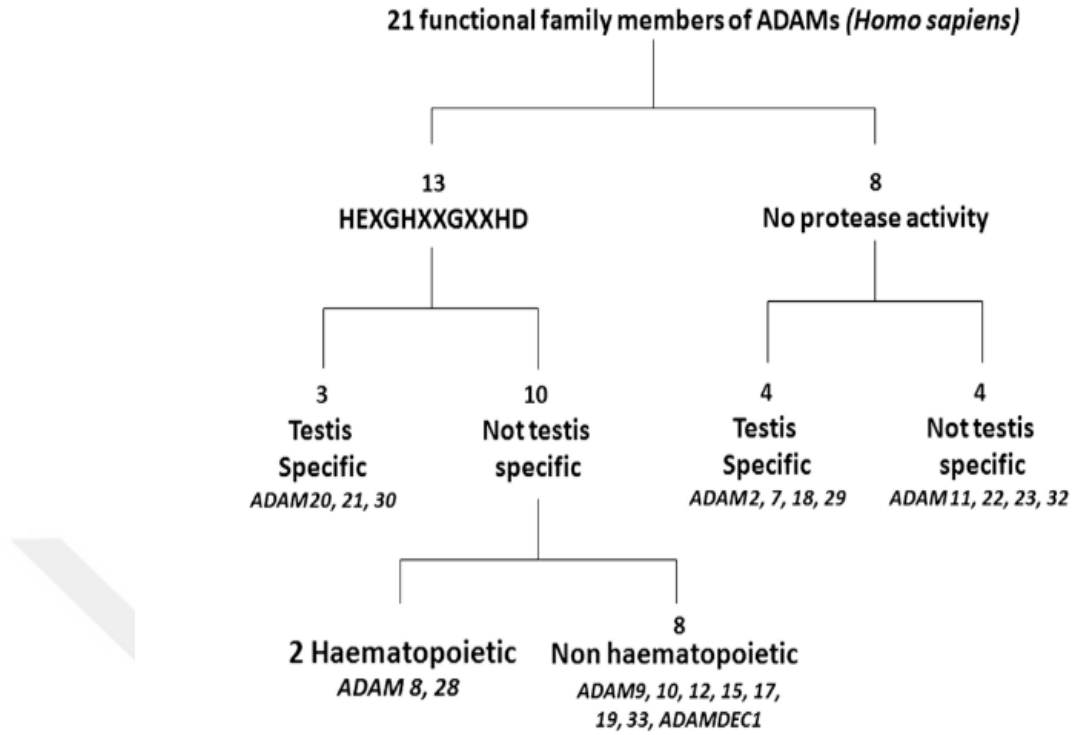
2.1.6.3. Psikolojik Belirtilerin Tedavisi

Alzheimer hastası olan bireylerde sadece zihinsel işlevde olan kayıplar için ilaç kullanılmaz. Bu durumun yanı sıra psikiyatrik belirtiler ve davranış değişiklikleri görülmektedir. Hastalarda agresyon, ajitasyon gibi durumlar gözlenebilir. Bu amaçla hastalarda antidepresan tedavi verilebilir, antipsikotik ya da sedatif ilaçlar kullanılabilir (Kelley ve Petersen 2007).

2.2. ADAM (Bir Disintegrin ve Metalloproteaz)

Katalitik mekanizmaları, substratları ve bazı durumlarda ortak inhibitörlerin bağlanmasından dolayı matriks metalloproteazlarla yakından ilişkili iki proteinaz familyası vardır. Bunlar ADAM ve ADAMTS (ADAM+ trombospondin) aileleridir (Fingleton 2007). ADAM enzimleri adamalizin protein ailesinden Zn^{2+} -bağımlı modüler hücre yüzeyi proteinleridir (Gooz 2010). Ektodomain hücre yüzey proteinlerinin hücre dışı boşluğa uzanan zar proteinin alanı, ekstraselüler kısmıdır. ADAM ailesi transmembranöz proteinlerin ektodomainlerini parçalama veya kırma kabiliyetleri nedeniyle "sheddazlar (dökülme / kırılma)" olarak sınıflandırılırlar (Mezentsev ve ark. 2014). Proteolitik süreç ile membran proteinlerinin serbest bırakılması, parçalanmış substratın aktivitesini düzenleyen posttranslasyonel değişim olarak işlev görür. "Protein ektodomain sheddaz" olarak adlandırılan bu işlem, substrat proteinini aktive edebilir veya etkisiz hale getirebilir veya fonksiyonel özelliklerini büyük ölçüde değiştirebilir (Blobel 2005).

Memeli genomunda, 40 ADAM ve insan genomunda 21 ADAM tanımlanmıştır. Ancak, bu 21 molekülün sadece 13'ü proteolitik olarak aktiftir. ADAM'lar hem adezif hem de proteolitik özelliklere sahip olabilir ve bu nedenle hücre adezyonu ve çeşitli hücre yüzeyi moleküllerinin kırılmasında rol alabilir. Bazı ADAM'lar hücre içi olgunlaşma sırasında metalloenzim domainini kaybeder ve bazıları da proteolitik olarak aktif olmak için gereken katalitik domaindeki Zn^{2+} -bağlayan diziden (HEXXHXXGXXH) yoksundur (ADAM1-7, 22, 23, 29, 31, 32) (Gooz 2010). Bu proteolitik olarak inaktif ADAM'lar, proteolitik kırılma ve dökülme yoluyla hücre yüzeyi moleküllerini aktive etmek yerine adezif özellikleriyle hücre içi iletişimde yer alır.



Şekil 2.2.1. İnsandaki ADAM ailesinin 21 üyesinin metalloproteaz aktiviteleri ve ilgili ekspresyon bölgeleriyle ilişkili şema

Sitokin ve büyüme faktörlerinin sheddazı ile hücre dışı veya hücreler arası sinyal mekanizmalarını başlatır. Bu nedenle ADAM'lar hücre proliferasyonu ve çoğalmasını belirleyen hücre sinyallerinin önemli mediyatörleridir. ADAM'lar fizyolojik ve fizyopatolojik süreçlerde önemli katkıya sahiptir, çeşitli hastaların patogeneziinde aktif rol oynayabilir ve bu sebeple çeşitli hastalıklarda tedavi hedefi olabilirler. Bizde yaptığımız çalışmada çok fonksiyonlu bir protein ailesi olan ADAM'lardan ADAM9'un Alzheimer patogeneziyle ilişkisinin olup olmadığını değerlendirmeyi amaçladık.

2.2.1. ADAM9

ADAM'lar arasında, ADAM9, 10 ve 17'nin APP'yi α -sekretazlar gibi hareket edere in vitro ayırdığı gösterilmiştir (Asai ve ark. 2003). APP, ligandan bağımsız bir şekilde RIPPING işleminden geçer. APP hücre dışı alanının, ya α - ya da β -sekretaz tarafından işlenmesini takiben γ -sekretazlarla intramembran proteolizi izler, ancak, APP durumunda, hücre içi salınan parçanın hücre içi rolü belirsizliğini korur (Lichtenthaler ve ark. 2011). Bununla birlikte, α -sekretazlar tarafından üretilen

fragmanlar fizyolojik iken, β sekretazlar tarafından serbest bırakılanlar Alzheimer hastalığında nörotoksik ve anahtar faktörlerdir (O'Brien ve Wong 2011).

RIP, Notch ve APP ile sınırlı değildir, çünkü bu mekanizma, Adam'lar tarafından değiştirilen diğer birkaç protein için etkindir. ADAM10, Notch2, Notch3, N- ve E-kadherin gibi çeşitli ek proteinlerin RIP işlemine aracılık edebilir ve ADAM17, EpCAM ve ErbB4'ün RIP işlemine aracılık edebilir (Rio ve ark. 2000, Maretzky ve ark. 2005, Reiss ve ark. 2005, Groot ve ark. 2014). İlginç bir şekilde, ADAM'ların karşılıklı bir RIP işlemi için de kanıtlar var. Örneğin, ADAM10'un RIP'si, ADAM9 ile presenilin intramembran proteolizine dayanarak, nükleer zerrecikler (Tousseyn ve ark. 2009) içerisinde yer alan ADAM10 hücre içi alanının (ICD) serbest bırakılmasına yol açabilir. ADAM bölünme bölgeleri genellikle O-glikozilasyon bölgelerine yakındır.

2.2.1.1. ADAM9 Yapısı ve Bileşenleri

ADAM ailesi üyelerinin tek spesifik inhibitörleri, Incyte (Zhou ve ark. 2006) tarafından tarif edilen küçük moleküller ve metaloproteinazların (Kveiborg ve ark. 2010), ADAM17 ve 10 'un prodominleri olan modifiye edilmiş doku inhibitörü kullanılarak protein terapötikleridir (Gonzales ve ark. 2004, Moss ve ark. 2007). Bu nedenle, ADAM9 inhibisyonunda en yüksek özgüllük derecesini kolayca elde etmek için ADAM9'a dayanan bir prodomain yapısını ifade etmek, yeniden katlamak, saflaştırmak ve incelemek için çalışmalar yapıldı. Prodomain elde etmek için ADAM9 ile yapılan inhibisyon çalışmaları ile değerlendirildiği gibi uygun şekilde yeniden katlanmış miligram miktarlarında bazı parametreler değiştirildi. Prodomain'in ADAM9'un spesifik bir inhibitörü olduğunu ve ADAM9'un ADAM10'un hücrel aktivitesini düzenlediğini gösterilmiştir. Ayrıca, proA9, endojen ADAM9 katalizinin spesifik inhibisyonunun, hücrel deneylerde ADAM10 substratlarının dökülmesini arttırdığını göstermek için bir araç olarak da kullanılmıştır. ADAM9'un inhibisyonunun, ADAM10 salınımının önemli ölçüde azalmasına yol açtığı gösterilmiştir (Tousseyn ve ark. 2009, Taylor ve ark. 2009).

TIMP'nin (metaloproteinazların doku inhibitörleri) Matris metaloproteinazına karşı aktif olmasının yanı sıra, ADAM'lara karşı aktif olduğu gösterilmiştir (Brew ve Nagase 2010). İlk ADAM17 inhibisyonunun TIMP-3 tarafından olduğunun keşfedilmesinden sonra (Amour ve ark. 1998) ilave Adam'ların TIMP'ler tarafından

seçici olarak inhibe edildiği gösterilmiştir. Örneğin, ADAM10, TIMP-1 ve -3 ile inhibe edilebilir, ancak TIMP-2 ve -4 ile inhibe edilmez ve ADAM8 ve 9, TIMP'ler tarafından inhibisyona hiç duyarlı değildir (Edwards ve ark. 2008). ADAM9,10 ve -17 prodominleri, aktive edilmiş enzimden salındıktan sonra proteaz aktivitesini inhibe edebilir (Gonzales ve ark. 2004, Moss ve ark. 2007, 2011). Katalitik çinko iyonuna bağlanan, ancak ADAM'lara ve MMP'lere karşı geniş bir inhibe edici spektruma sahip bir dizi sentetik inhibitör tarif edilmiştir. Bu inhibitörlerin çoğunluğu hem MMP'leri hem de ADAM'ları inhibe edebilmesine rağmen, bazıları spesifik Adam'lar için nispeten seçici idi. Bir örnek, ADAM8, 9, 10,17 ve 33'ü inhibe eden, ancak ADAM10 ve 17 için daha düşük IC50 ile olan INCB3619'dur (Fridman ve ark. 2007). Diğer sentetik inhibitörler arasında ADAM9, 10 ve 17 için belirli bir özgüllük derecesini gösteren CGS 27023, GW280264 ve GI254023 bulunur (Ludwig ve ark. 2005).

2.2.1.2. ADAM9' un İşlevi

Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada ADAM9 eksikliği olan fareler, belirgin bir gelişme fenotipi göstermez (Weskamp ve ark. 2002), ancak yetişkinlikte doğumdan 20 ay sonra, fareler retina dejenerasyonu gösterir (Parry ve ark. 2009). Bununla birlikte, ADAM9'un tükenmesi, patolojik uyarımlı retina vaskülarizasyonunda, cilt onarımında ve melanom büyümesinde etkisini göstermiştir (Guaiquil ve ark.2009, Mauch ve ark. 2010).

Çeşitli insan kanserlerinde artmış ADAM8, 9, 10, 15, 17, 19 ve 28 ifadesi vardır (Duffy ve ark. 2011, Saftig ve Reiss 2011). ADAM9 null mutasyonları, kalıtsal ilerleyen bir retinal distrofi olan resesif geçişli kalıtsal koni-çubuk distrofisi (CRD) olan ailelerin hastalarında bulunmuştur. İlginç bir şekilde, ADAM9 eksikliği olan farede erişkinlikte retina dejenerasyonu da saptanmıştır (Parry ve ark. 2009). Beyinde amiloid peptidinin birikmesi, Alzheimer hastalığının gelişmesine yol açmaktadır. Alfa amiloid peptidi, APP β -secretazlar tarafından işlenerek üretilir, ancak çözünür bir APP biçimi, amiloid peptidinin ters etkilerine karşı olan ADAM9, 10 ve 17'nin etkisiyle üretilir (Hotoda ve ark. 2002). Bu nedenle, çeşitli çinko metaloproteinaz aktivitelerinin düzenlenmesi, hastalığın tedavisi için olası alternatif bir tedavi stratejisini temsil edebilir (Gough ve ark. 2011).

ADAM10 nöronlarda esansiyel α -sekretaz olarak tanımlandığından, nöronal ADAM10 aktivitesinin kontrolü Alzheimer hastalığının etiyolojisinde büyük öneme sahiptir (Kuhn ve ark. 2010) ve hücrel ADAM10 seviyelerini artırma girişimleri Alzheimer hastalığında potansiyel terapötik stratejiler olarak kabul edilmiştir (Lichtenthaler ve ark. 2011). SY5Y nöroblastom hücrelerinde spesifik proA9-aracılı ADAM9 katalitik aktivitesinin inhibisyonunun, proteolitik salınımını önleyerek hücre zarı üzerindeki ADAM10 aktivitesini düzenlediği gösterilmiştir. ADAM10 için temel bir sheddaz olan ADAM9'un proA9 inhibisyonu, hücre bazlı analizlerde APP için α -sekretaz aktivitesinde bir artışa neden olur ve ADAM9'un inhibe edilmesini savunarak hücre dışı sAPP'nin hücre dışı seviyelerini arttırır. (Moss ve ark. 2011)

2.2.1.3. ADAM9 Aktivitesi Regülasyonu

ADAM9, ADAM15 gibi, endofilin I ve SH3PX1'e bağlanır. Bu durumda, etkileşimler bu ADAM'ların işlenmemiş, hücre içi formlarını desteklemektedir. Endofilin I ve SH3PX1'in vezikül sınıflandırmadaki potansiyel fonksiyonu göz önüne alındığında, bu etkileşimlerin ADAM olgunlaşması ve / veya subselüler lokalizasyonunun düzenlenmesinde bir rol oynayabileceği tahmin edilmektedir. ADAM9 kuyruğunun membran proksimal bölgesi (Izumi ve ark. 1998), ADAM9'un kuyruğu, bir veya daha fazla serin ve treonin tortusunda in vitro PKC ile fosforile edilebilir. PKC'nin, ADAM9'un plazma membranındaki spesifik bölgelere ve ADAM9'un fosforilasyonu / aktivasyonu üzerine toplanmasına yardımcı olduğu, HB-EGF dökülmesinin meydana geldiği MAD2 ve ADAM17 arasındaki bir ilişkiyi saptamak için 2-hibrid analiz yapıldığında MAD2 β ve ADAM9 arasında (Nelson ve ark. 1999); MAD2, mil düzeneği kontrol noktası mekanizmasının bir bileşeni olduğu gösterilmiştir. MAD2, MAD2 β 'ye %25 benzerlik göstermektedir. Bu dernekler ADAM'ların PXXP motifleri bulunan bölgelerinde meydana gelir, ancak MAD'ler belirgin SH3 alanlarından yoksundur. Belki de bu ilişkilendirmeler, ADAM fonksiyonunu hücre döngüsü ile koordine etmekte ya da MAD'lerin SH3 alanı içeren proteinlerin bağlanması için rekabet ettiği bir düzenleme işleminde rol oynamaktadır

PKC, ADAM9'un sitoplazmik alanı ile doğrudan ilişkilidir ve fosforilat yapar (Izumi ve ark. 1998). ADAM9'un aşırı ekspresyonu, TPA stimülasyonunun yokluğunda HB-EGF dökülmesini uyarırken, ADAM9'un metaloproteaz

mutantlarının ekspresyonu TPA tarafından uyarılan HB-EGF dökülmesini inhibe eder. Bununla birlikte, ADAM9 boş farelerden türetilen fibroblastların hala HB-EGF'yi işlediği bildirilmiştir (Weskamp ve ark. 2002).

2.3. ADAMTS (ADAM+ Trombospondin)

Hücre-Ekstraselüler Matriks (ECM) olarak isimlendirdiğimiz etkileşim birçok fizyolojik süreçte önemli rol oynar (Rocks ve ark. 2008). Hücrelere mekanik olarak destek sağlar. Bunun dışında yara iyileşmesi, programlanmış hücre ölümü, hücre göçü ve embriyogenezde önemli bir yere sahiptir (Kuno ve ark. 1997, Kari ve ark. 2004). ECM'nin önemli olduğu durumlar sadece bu fizyolojik süreçlerle bitmez. Ayrıca AIDS'ten tümörlerin metastazına kadar geniş bir yelpazedeki patolojik süreçlerde de bu etkileşimler önemli bir yere sahiptir (Hatipoğlu ve ark. 2009, Hirohata ve ark. 2002). ECM etkileşimin önemli rol üstlendiği bu patolojik ve fizyolojik süreçlerde hücre dışında ve hücre yüzeyinde bulunan proteazlar önemli bir yere sahiptir (Tang ve Hong 1999, Porter ve ark. 2005, Tang 2001).

ECM proteolitik aktiviteye sahiptir. Bu süreçte çok sayıda molekül görev alır ve proteaz aktivitesine sahiptirler. Çeşitli protein ailelerine ait bu moleküllerin gruplandırılması domain yapılarına göre olur. Bunlardan ilki serin proteaz grubudur. Bu grubun içinde ürokinaz, trombin, plazmin ve Doku plazminojen aktivatörü bulunur. İkinci olarak ise çinko bağımlı endopeptidaz olan matriks metalloproteinazlar (MMP) grubu gelir. Bu grubun 23 üyesi vardır. Bu ilk iki grup geniş spektrumlu proteazlar olarak tanımlanır. Hem ekstraselüler matriks yıkımında hem de kanser metastazında görev alırlar. Üçüncü olarak kemik farklılaşma protein 1/tolloid ailesini sayabiliriz. Bunlar da metalloproteinazlardır. Dördüncü ve son grup ise ADAM grubudur. Bunlar ayrıca MDC (metalloproteaz/disintegrin/sistein) ismiyle de adlandırılırlar. Transmembran glikoproteinleridir. Proteolizde görev alırlar ve hücre-hücre adezyonunda önemli bir yere sahiptirler (Tang ve Hong 1999, Tang 2001, Porter ve ark. 2005, Rocks ve ark. 2008).

ADAM ailesinin üyesi olan proteinler, Zn-bağımlı metalloproteinazlardır. Birden fazla bölgeye sahiptirler ve hücre membranında yer alırlar. "ADAM" kısaltması aslında bize molekülün yapısıyla ilgili bilgi vermektedir. İçerdiği önemli iki bölgeyle ilgili bize bilgi verir. "bir disintegrin ve metalloproteinaz anlamı içerdiği bölgelerden

kaynaklanmaktadır. Adam'lar, yapısında bulunan bu alanlar aracılığıyla, proteinazların ve bununla birlikte adezyon proteinlerinin özelliklerini içerirler. ADAM proteinleri bu özellikleri sayesinde diğer hücre yüzeyinde bulunan proteinlerinden farklılık gösterir. Hücrelerin birbiri ile olan etkileşimi ve hücre-matriks etkileşimlerinde aktif rol oynayıp önemli bir görevi olduğunu düşündürür (Tang ve Hong 1999, Tang 2001, Porter ve ark. 2005).

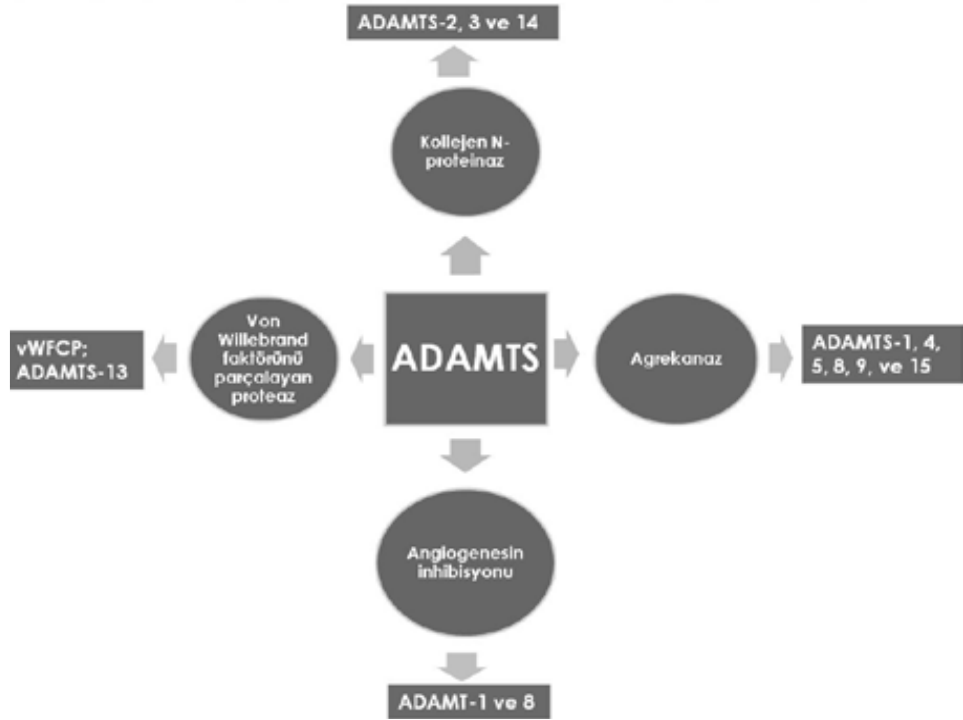
Günümüzde ADAM ailesi proteinleri büyük ölçüde tanımlanmıştır. Sonrasında ADAM ile ilişkili başka bir protein grubu Kuno ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Kuno ve arkadaşları farelere bir hücre hattı enjekte etmişlerdir. Bu şekilde bir kaşeksik kolon kanseri şeması meydana getirmişlerdir. Sonrasında oluşturdukları bu kanser türünde olan genleri tespit etmişlerdir (Kuno ve ark. 1997). Bu çalışmayla beraber, trombospondin tip 1 (TSP1) özellikleri taşıyan yeni bir protein tanımlanmıştır. Bu grup ADAM ailesinin üyeleriyle ciddi bir şekilde benzerlik içindedir. Ayrıca inflamasyonla alakalı olduğu gösterilmiştir. Araştırmanın üyeleri bu yeni protein ailesini ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs) olarak adlandırmışlardır. Adamts'lar ADAM ailesi ile hem benzerlik göstermekte hem de farklılıklar bulunmaktadır. ADAM proteinlerinin sahip oldukları bütün domainleri yapılarında bulundurlar. ADAM proteinleri gibi hücre zarında yer almazlar ve ekstrasellüler matriksten salgılanırlar. Ayrıca kendilerine özgü olan TSP1 motifleri de içerirler. Bundan dolayı ADAM grubuna dahil edilmemişlerdir ve yeni bir protein ailesini meydana getirmişlerdir. (Kuno ve ark. 1997).

İlk üye 1997 de bulunduktan sonra bu aileye her geçen gün yeni üyeler tanımlanmıştır. Bugün insanda 19 tane ADAMTS geni kanıtlanmıştır. Bunlardan üç tanesi ADAMTSL(ADAMTS-like) olarak isimlendirilen genlerdir. Bu genler ADAMTS ile benzer domainlere sahiptir. Bu genler tanımlandıktan sonra gruplandırma da değişmiştir. ADAMTS'ler organogenez, hücre dışında matriksin şekillenmesi gibi birçok önemli olayda görev yaparlar.

Gruplandırılmaları şu şekilde yapılmıştır.

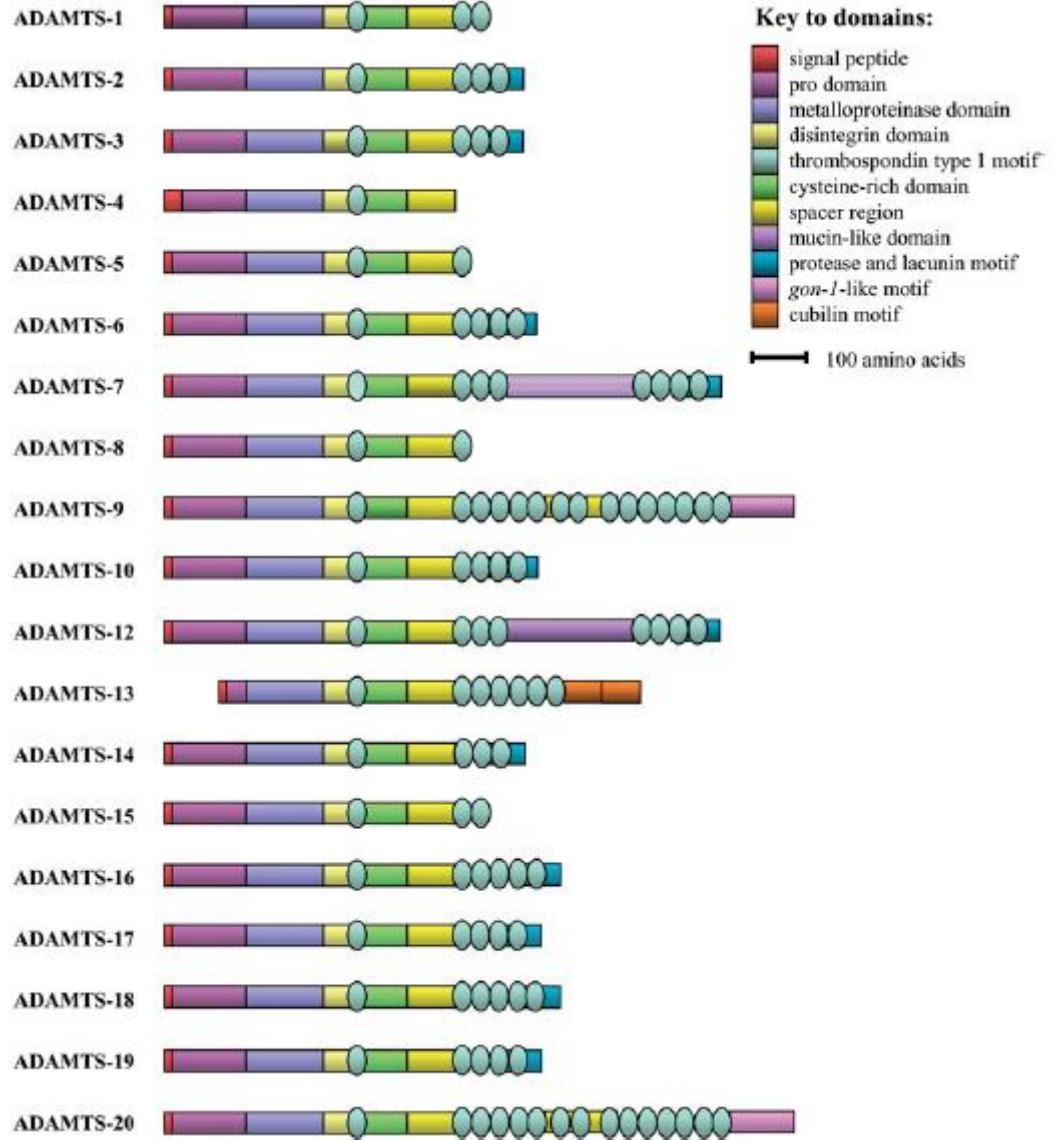
- Protein dizileri
- Substrat tercihi
- Domainlerin organizasyonu
- Gen dizisi korunmuşluğu (Tang ve Hong 1999, Tang 2001, Porter ve ark. 2005, Jones ve Riley 2005).

Bu bilgilerden sonra bu alt gruplardan bahsederek: (Şekil 2) (i); ADAMTS2, 3 ve 14 Kolajen N-proteinazlar grubuna aittir. Bu genler prokollajenin kolajene dönüşmesinde görev yaparlar. N-ucundaki propeptitleri uzaklaştırırlar. (ii) ADAMTS1, 4, 5, 8, 9, ve 15 ise agrekanazlardandır. Bunlar aagrekanaz aktiviteleri sayesinde matriks proteoglikanı olan agrekanın parçalanmasında etkilidirler. Ayrıca bu grubun merkezi sinir sisteminde ek bir rolü olduğu tespit edilmiştir. MSS’de yoğun şekilde eksprese olan brevikanı parçalar. Buna ek olarak kan damarlarında bulunan versikanı da parçalamaktadır. (iii) ADAMTS1 ve 8 ise anjiogenezi inhibe ederler. Son olarak ise ADAMTS13 (vWFCP) ten bahsedebiliriz. Bu gen von Willebrand Faktörünü parçalayan proteaz olarak bilinir. VWF kan pıhtılaşması homeostazında önemli bir yere sahiptir.



Şekil 2.3.1. ADAMTS gen ailesi ve klasifikasyonu

ADAMTS lerin bahsettiğimiz bu işlevleri yanında başka görevleri de vardır.; İnflamasyonda önemli bir yere sahiptirler. Ayrıca organogenez ve fertilitede de etkin rol oynamaktadırlar. Yapılan son araştırmalara göre birçok kanser türünde ve artritte de ADAMTS genlerin ekspresyonları değişkenlik göstermektedir (Jones ve Riley 2005).



Şekil 2.3.2. ADAMTS proteinlerinin yapısı

2.3.1.ADAMTS4

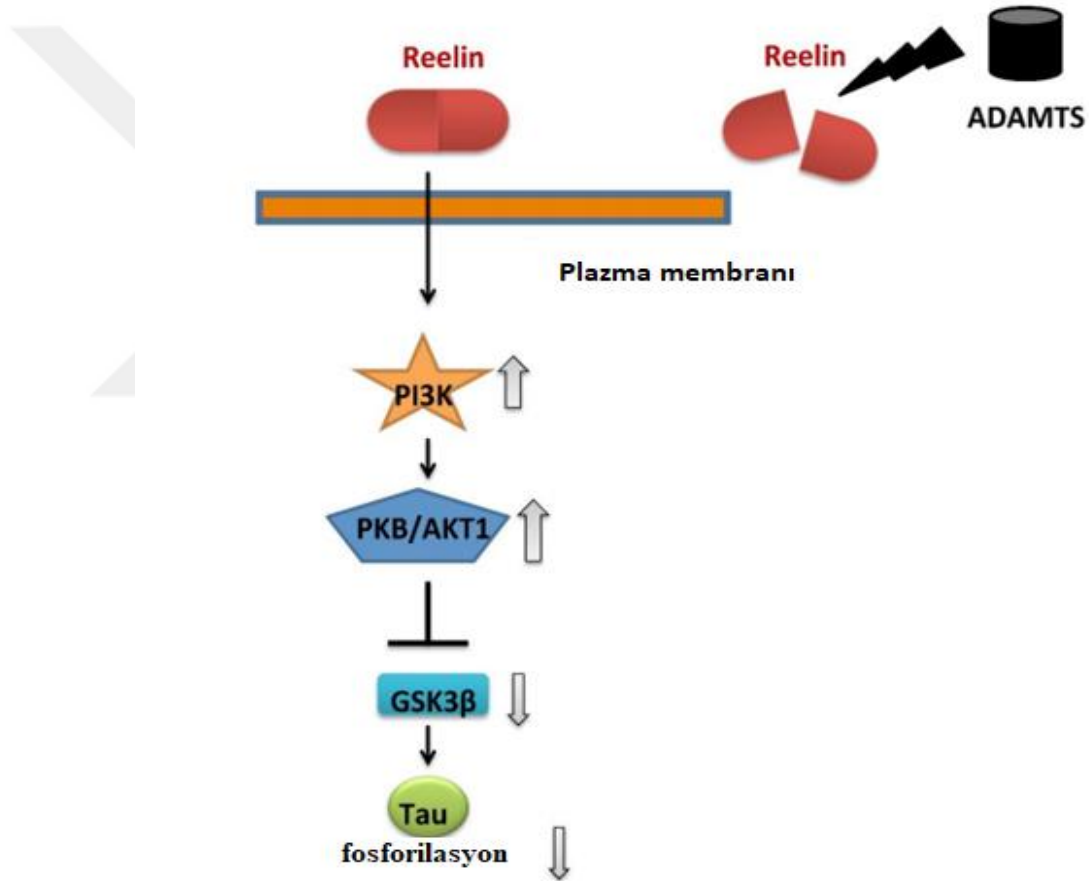
2.3.1.1. ADAMTS4' ün Yapısı ve Bileşenleri

ECM'deki hyalektanların proteolitik bozulmasının, tümü spesifik Glu-X bağları için bir dereceye kadar glutamil endopeptidaz aktivitesi sergileyen ADAMTS metaloproteinaz ailesinin bir alt grubunun aktivitesinden kaynaklandığı görülmektedir (X'in en çok Ala veya Gly olduğu ve bu glikozaminoglikanlar yerine süstitüe edilmiş substratlarda olduğu gözlenmiştir). Böylece, ADAMTS 1, -4 ve -5 “agrekanaz” aktivitesi (Kuno ve ark. 2000, Tortorella ve ark. 1999), ADAMTS 1 ve -4 “versicanase” aktivitesi (Matthews ve ark. 2000) ve ADAMTS4 “brevicanaz” aktivitesi (Matthews ve ark. 2000) sergiler. Bu grup içinde, ADAMTS4'ün her bir alt tabaka için en yüksek düzeyde aktivite gösterdiği görülmüştür ve burada bu etkinliği tanımlamak için “hyalektanaz” teriminin kullanılması önerilmiştir. Ortak substrat özgülükleriyle uyumlu olan ADAMTS 1, -4 ve -5, oldukça yüksek derecede bir dizi homolojisi sergiler ve bu bağlamda, hepsi prokollajen N olan ikinci bir alt grup olan ADAMTS2, -3 ve -14'ten oldukça farklıdır. ADAMTS ailesinin 14 üyesi şimdi klonlanmış ve bazıları eksprese edilmiş ve saflaştırılmış olmasına rağmen, bu proteinazların aktivasyon modu hakkında üretilen hiçbir bilgi yoktur. Aktif ADAMTS4 (agrekanaz-1) başlangıçta sığır nazal kartilaj eksplantlarından bir 62-kDa çiftli protein olarak saflaştırıldı ve daha sonra bir furin klevaj bölgesi olan bir prodomain (rezidü 1-207) içeren bir 837-kalıntı protein olarak klonlandı (133). (Rezidü 208-212), bir katalitik bölge (rezidü 213-440), bir disintegrin benzeri motif (tortular 441-462), bir trombospondin-1 benzeri motif (rezidü 463-547), bir Cys bakımından zengin alan (rezidü 548-694) ve bir C-terminali aralayıcı alanı (rezidü 695-837).

2.3.1.2. ADAMTS4' ün İşlevi

Üzerinde çalışılan agrekanazlar ADAMTS4 ve ADAMTS5'tir. Bu enzimler, Glu373-Ala374 bağında ve daha önce de belirtilen GAG-bağlanma bölgesindeki diğer dört bölgede agrekanı parçalamaktadır. Bu diğer bölgelerin in vitro bölünmesi, Glu373-Ala374 bağında IGD içindeki bölünmeden daha etkili görünmektedir (Sugimoto ve ark. 1999). Tüm bu bölgelerde ADAMTS4 ve ADAMTS5 ile bölünme ile üretilen agrekan fragmanları, agrekan salınımını uyarmak için IL-1 ve tümör nekroz

faktörü ile muamele edilmiş sıgır kıkırdak eksplantlarında tanımlanmıştır (Tortorella ve ark. 2001). ADAMTS4 ve ADAMTS5 ayrıca, ağırlıklı olarak merkezi sinir sisteminde (Matthews ve ark. 2000) ve bununla birlikte kan damarlarında bulunan konvansiyonel olarak kondroitin sülfat proteoglikanları brevicanı parçalayabilir. C terminalinde işlendiğinde, ADAMTS4 ayrıca karboksimetillenmiş transferrin, fibromodulin ve dekora karşı da etkilidir (Kashiwagi ve ark. 2004). ADAMTS4'ün brevicanı bozma kabiliyeti, merkezi sinir sistemi fizyolojisi ve patolojisine neden olabilir (Nakamura ve ark. 2000): örneğin, artan agrekanaz aracılı brevikan bölünme, invaziv gliomaların bir özelliğidir (Matthews ve ark. 2000).



Şekil 2.3.1.1. ADAMTS'nin Tau üretimi üzerindeki etkilerinin gösterimi. Reelin reseptörlerine bağlanır ve fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) ve protein kinaz B'yi (PKB / Akt) aktive eder. Mikrotübül stabilize edici protein tau fosforilasyonunu düzenleyen bir enzim olan glikojen sentaz kinaz 3β'de (GSK3β) belirgin bir inhibisyona yol açar. ADAMTS, Reelin'i sindirdikten sonra, depresyondaki reelin seviyesi, sinyal yolunun sonunda tau fosforilasyonunu artırabilir.

2.3.1.3. ADAMTS4 Aktivitesinin Regülasyonu

ADAMTS protein ailesinin bütün üyeleri öncelikle inaktif şekilde yani pre-pro enzim olarak sentezlenirler. İçeriğinde şu yapıları bulundurlar;

- Bir pro-domain
- Bir metalloproteinaz katalitik domain
- Bir sinyal peptid
- Sisteinden zengin bir domain
- Değişen miktarlarda TS motifi tekrarları
- Bir disintegrin benzeri domain
- Merkezi bir TS (trombospondin tip 1) motifi
- Bir spacer bölgesi

ADAMTS ailesinde bulunan bütün üyeler bu sekiz alana sahiptir. Bu bölgeler dışında, grubun bazı üyeleri farklı beş alandan biri veya birkaçını içerebilirler. Bahsedilen bu alan her zaman molekülün karboksil ucuna yerleşir (Tang ve Hong 1999, Tang 2001, Jones ve Riley 2005).

ADAMTS'lerin gen ifadelerinin düzeyleri birbirinden farklı adımlarda denetlenmekte ve kontrol edilmektedir ADAMTS4, NF factorB (Bondeson ve ark. 2007,2008) transkripsiyon faktörüne bağlıdır. Sitokin kaynaklı inflamasyon yanıtını inhibe edecek bir terapötik stratejinin, NFκB inhibitöründe olduğu gibi ADAMTS4'ü reseptörleri azaltarak düzenlemesi muhtemeldir. Spesifik doku inhibitörleri olarak görev yapan TIMP (Tissue inhibitor of metalloproteinases)'ler matriks proteazlarının kontrolünde önemli rol oynar. Matriks metalloproteazlarından olan ADAMTS 'lerin aktivitesinin denetiminde de önemli bir yerleri vardır. TIMP'ler ADAM proteinlerine olduğu kadar ADAMTS proteinlerine karşı da oldukça seçicidirler (Handsley ve Edwards 2005) Örnek vermek gerekirse TIMP-3, agrekanaz olan ADAMTS4 ve ADAMTS5 'i ciddi bir şekilde inhibe eder. Fakat bu genler TIMP-1, -2 ve -4'e karşı ise duyarsızdırlar. Bu TIMP'ler tarafından inhibe ya da aktive edilemezler (Kashiwagi ve ark. 2001, Hashimoto ve ark. 2003). ADAMTS1, -4 ve -5'in artritlerde aktivitelerinin arttığı bilinen bir durumdur. Bu genlerin artmış olan agrekanolitik aktivitesi katekin galat esterlerince etkin bir şekilde inhibe edilmektedir. Katekin galat esterleri yeşil çayda bulunmaktadır (Vankemmelbeke ve ark. 2003)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Türü

Bu tez çalışması deneysel klinik bir çalışma olup, hastalıkların patogenezinin aydınlatılmasında kullanılan çeşitli biyobelirteçlerin hastalık süreçlerinde nasıl değiştiğini belirlemeye dayanan metotları içermektedir.

3.2. Araştırmanın Evreni ve Örneklem Seçimi

Çalışmamız perspektif deneysel bir çalışmadır. Çalışma hasta ve sağlıklı olmak üzere 2 gruba ayrıldı (n=60). Çalışmada gruplara dahil edilen katılımcı sayısı güç analizi yapılarak belirlendi. Daha önceki çalışmalar göz önünde bulundurularak hasta ve kontrol grupları oranları karşılaştırıldı. %95 güvenle karar verebilmek için tip I hata için 0,05 ve tip II hata için 0,20 seçildi. Dolayısıyla testin gücü %80 olarak belirlendi. Buna göre anlamlı istatistiksel sonuçlar elde etmek ve gruplar arası oranın en az %30 olabilmesi için grup başına düşen minimum denek sayısı 30 olarak belirlendi. Kontrol grubunun hasta gruplarıyla kıyaslamasının kolaylaştırılması ve istatistiksel olarak anlamlı verilere ulaşabilmek için kontrol grubu sayısı 60 olarak belirlendi. Buna ek olarak hasta grubu kendi içinde iki gruba ayrıldı. Benzer demografik özelliklere sahip yeni tanı almış henüz ilaç tedavisi başlanmamış (n=30), daha önceden tanısı konulmuş ve ilaç tedavisi başlanmış hastalara (n=30) ek olarak normal sağlıklı popülasyondan kontrol grubu olarak kan örneği alındı (n=60). Bu kapsamda;

- a) 30 yeni tanı almış ilaç tedavisi henüz başlanmamış hasta grubu (Alzheimer)
- b) 30 daha önceden tanı almış ve ilaç tedavisi kullanan hasta grubu (Donepezil)
- c) 60 sağlıklı birey (Kontrol) grupları olarak belirlendi

3.3. Veri Toplama

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık, Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Ezine Devlet Hastanesi Nöroloji polikliniğinde Alzheimer tanısı konulan, takipleri devam eden ve yine polikliniğe farklı şikayetlerle başvurmuş hastaların aydınlatılmış onamları alındıktan sonra her hastadan sarı kapaklı biyokimya tüplerine 10 ml kan

alındı. Hastalardan kan alma işlemi Alzheimer hastalarının nöroloji polikliniğine başvurma zamanına göre değişmektedir. Hastalardan Kasım 2018-Kasım 2019 tarihini kapsayan zaman aralığında kan alım işlemleri devam etmiştir. Bütün kan toplama işlemi bittikten sonra ADAMTS4, ADAM9 düzeyleri ve asetilkolin esterase aktivitesi ELİSA yöntemiyle ölçüldü.

3.4. Etik

Bu çalışma, 2011-KAEK-27/2018-E.1800111153 numarası ile Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 19.12.2018 tarih ve 22-01 no'lu kararı ile etik kurul onayını almıştır. Ayrıca çalışmamız Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından Yüksek Lisans Tez Projeleri kapsamında TYL-2018-2758 kodlu proje ile desteklenmiştir.

3.5. Çalışmaya Dahil Etme ve Dışlama Kriterleri

Çalışmaya katılımcılar hastalığın prevalansının arttığı 55 yaş üstü bireylerden gönüllü olarak seçilmişlerdir. Araştırılan konu demans sebepleri arasından sadece Alzheimer Hastalığı'nı kapsadığından diğer demans sebepleri araştırma kapsamına alınmamıştır. Araştırmada Alzheimer hastalarının serumunda ADAMTS4 ve ADAM9 düzeylerinin belirlenmesi ve asetilkolinesteraz inhibitörü tedavisinin ADAMTS4 ve ADAM9 seviyelerine olan etkilerinin hastalığın patogenezinin anlaşılmasındaki etkisi araştırıldığı için dışlama kriterleri önemlidir. Araştırmamız Çanakkale 18 Mart Üniversitesi ve Ezine Devlet Hastanesi nöroloji polikliniklerine ayaktan başvurmuş 55 yaş üstü bireyler, Beyin MR veya tomografi görüntülemesi ve nöropsikolojik değerlendirme ile Alzheimer tanısı kanıtlanmış bireyleri kapsamaktadır.

55 yaş altında olan, aktif enfeksiyon varlığı olan, geçici iskemik atak geçiren bireyler, son bir yıl içerisinde derin ven trombozu veya herhangi bir trombotik atak geçiren bireyler ve malignitesi olan bireyler çalışmaya alınmamıştır.

3.6. Veri Toplama Yöntemi

3.6.1. Kan Alma İşlemi

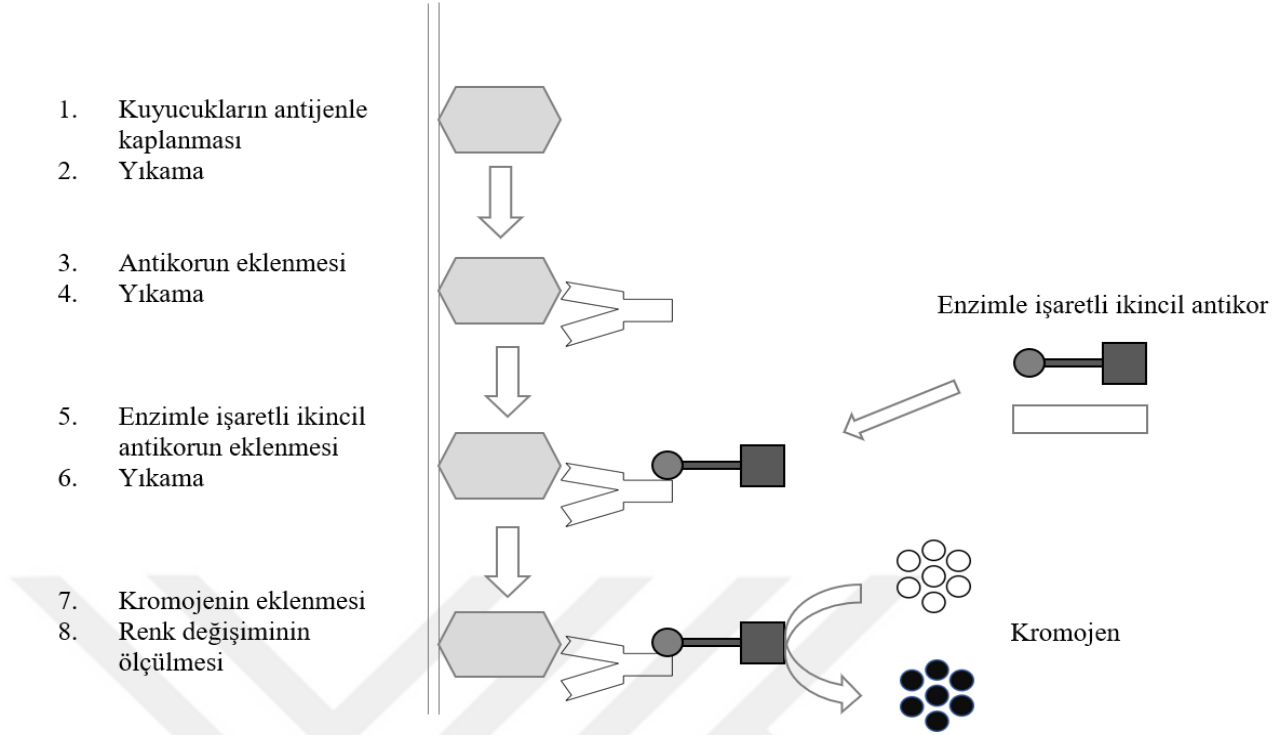
Hastadan kan alınabilmesi için öncelikle kimlik doğrulaması yapılarak on beş dakika kadar dinlendirildi. Uygun kan tüplerine doğru etiketleme yapıp yapılmadığı

kontrol edildi. Çalışacağımız parametreler serumda belirlenebildiğinden dolayı serum ayırmak için sarı kapaklı jelli biyokimya tüpü seçildi. Bilgilendirme yapıldıktan sonra uygun pozisyon sağlandı ve kan alınacak damarın birkaç santim üzerine turnike uygulandı. %70 alkol ile temizlendi ve kuruması beklendi. Adaptör uygulandıktan sonra sarı kapaklı tüp adaptöre yerleştirildi ve istenilen miktarda kana ulaşınca kadar alım devam etti. Turnike çıkarıldıktan sonra iğne damardan çekildi damar kapatıldı. Her bir hastadan 10 ml kan örneği alınıp hemen santrifüj edildi. ELISA testleri için; kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. İlk sulandırmadan sonra tüm bileşenler hafifçe çalkalanarak en az 15 dakika bekletildi. Çalışma dilüsyonları derhal hazırlandı ve kullanıldı.

3.6.2. ELISA Yöntemiyle ADAMTS4, ADAM9 Seviyeleri ve Asetilkolin Esteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.6.2.1. ELISA Yöntemi

ELISA (Enzyme Linked-Immunesorbent Assay), Enzim immunoassay (EIA)'nın heterojen bir türüdür. Antijen veya antikor enzimi ile kompleks oluşturarak substratı ile etkileşir ve reaksiyon sonucu bir renk oluşur. Oluşan rengin optik dansitesi ölçülür ve elde edilen absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlar, saf standartların oluşturduğu absorbans-konsantrasyon grafiğinden yararlanılarak ekstrapolasyonla belirlenir. Böylece bir numune içindeki enzim, protein veya madde miktarı/ miktar değişimi hesaplanabilir.



Şekil 3.1. ELISA Yönteminin genel uygulama basamakları

3.6.2.2. ADAMTS4, ADAM9 Seviyeleri ve Asetilkolin Esteraz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Alzheimer hastalarının serum ADAMTS4 seviyelerinin analizi ticari bir kit olan Abbkine, Inc.-KTE60920, Human adam metallopeptidase with thrombospondin type-I motif-4 (ADAMTS4) ELISA Kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ADAMTS protein ailesi agrekanları, kartilajın büyük bir kısmı olan proteoglikanları, brevikanları, beyin-spesifik ekstraselüler matriks proteinlerini, nörokanları ve versikanları indirger. Çalışmamızda kullandığımız ADAMTS4 kiti sandwich elisa yöntemini kullanır.

ADAM9 seviyeleri Abbkine, Inc.- KTE60917, Human a disintegrin and a metalloprotease 9 (ADAM9) ELISA Kit kullanılarak, kit talimatlarına uygun bir şekilde belirlendi. ADAM9 kiti sandwich elisa yöntemini kullanır. ADAM9 ailesinin üyeleri yılan zehirli disintegrinleri ile yapısal olarak ilişkili zar bağlantılı proteinlerdir ve dölleme, kas gelişimi ve nörojenez de içeren hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerini de içeren çeşitli biyolojik işlemlere dahil edilmiştir.

Asetilkolin esteraz enzim aktivite seviyeleri, Abbkine, Inc.- KTE60878, Human acetylcholinesterase (AChE) ELISA Kit kullanılarak belirlenmiştir. Kit prosedürü izlenerek analiz gerçekleştirilmiştir. Nörotransmitter olarak davranan esterize kolin

bileşiklerini ve asetilkolini parçalayan önemli bir enzimdir. AChE esas olarak nöromüsküler kavşaklarda ve aktivitesinin sinaptik iletimi sonlandırmak için hizmet verdiği kolinerjik tipteki kimyasal sinapslarda bulunur. Karboksilesteraz enzim ailesinin bir üyesidir.

3.6.2.3. Standartların Hazırlanması

ADAMTS4 için standartlar 300 pg/ml- 9,375 pg/ml aralığında hazırlandı. Çoklu plakanın ilk altı kuyucuğuna sırasıyla 300; 150; 75; 37,5; 18,75; 9,375 pg/ml konsantrasyonlarında pipetleme yapıldı. ADAM9 için standartlar 16 ng/ml- 0,5 ng/ml aralığında hazırlandı. Elisa kit içeriğinde bulunan antikor kaplı çoklu plakanın altı kuyucuğuna sırasıyla 16; 8; 4; 2; 1; 0,5 ng/ml konsantrasyonlarında pipetlendi. Asetilkolin esteraz enzimi için ise 2400 nmol/ml- 75 nm/ml aralığında standartlar hazırlandı ve pipetleme sırasıyla 2400; 1200; 600; 300; 150; 75 nm/mol konsantrasyonlarında gerçekleştirildi.

3.6.2.4. ELISA Kitlerinin Çalışma Prosedürü

İlk altı kuyucuğa standartlar (50 µl) eklendikten sonra kör kuyucuğu boş bırakıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa kontrol, ilaçlı-hasta ve ilaçsız-hasta gruplarına ait serum örnekleri 50 µl hacminde pipetlendi. Örneklerin dilüsyona ihtiyaçları olup olmadığı belirlendikten sonra hiçbir seyreltme işlemi yapılmadan işleme devam edildi. Plakalara immobilize olan özgün antikorlarıyla bağlanabilmeleri için 45 dk 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonra Multiplaka Yıkayıcı Biotek 50 TS Cihazı kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak her bir kuyucuk 250 µl yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra tüm kuyucuklara 50 µl HRP-Konjuge Belirleme Antikoru multikanallı pipet vasıtasıyla eklendi. 30 dk 37 °C'de inkübasyon sağlandı. İnkübasyon sonrasında yıkama işlemi tekrarlandı. Kromojen solüsyonları 50 µl olarak sırasıyla çoklu plakanın her bir kuyucuğuna eklendi ve ışıkla teması engellendi. İşlem 15 dk 37 °C'de inkübasyon gerçekleştirildikten sonra yine bütün kuyucuklara 50 µl olacak şekilde durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sona erdi. Durdurma çözeltisi eklenmesi ile plakada maviden sarıya bir renk dönüşümü gözlemlendi. Renk değişimi 15 dk içinde Thermo Scientific™ Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer cihazı ile 450 nm'de ölçüldü ve her bir numunenin absorbans

değeri kaydedildi. Elde edilen veriler yardımıyla serum örneklerindeki ADAMTS4, ADAM9 ve Asetilkolin esteraz aktivite seviyeleri her bir kitin standart konsantrasyonuna karşılık gelen absorbanslar kullanılarak çizilen konsantrasyon-absorbans grafiği üzerinden hesaplandı. Yöntem iki tekrarlı şekilde gerçekleştirildi ve iki çalışmanın ortalaması alındı.

3.6.2.5. Serumda Protein Tayini

Numunelerin protein ve enzim seviyeleri analiz edildikten sonra protein tayini yapılmıştır. Protein tayini Bradford Reagent kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.6.2.6. Bradford Yöntemi

Elde edilen serum örneklerinde toplam protein miktarları Bradford yöntemine göre belirlenmiştir (Bradford, 1976). Bradford reaktifi, çözeltideki protein konsantrasyonunu belirlemek için kullanılır. Prosedür, boya, Brilliant Blue G ve çözeltideki proteinler arasında bir kompleksin oluşumuna dayanır. Boya, Protein-boya kompleksinin 465 ila 595 nm arasında maksimum absorpsiyon göstermesini sağlar. Absorpsiyon miktarı mevcut proteinle orantılıdır. Bradford yöntemi için gerekli olan kimyasal bileşen B6916- Bradford Reagent (3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA) Sigma'dan temin edilmiştir. Bradford Reaktifi seyreltme gerektirmez ve mikro, çok gözlü plaka ve standart analizler için uygundur. Doğrusal konsantrasyon aralığı, standart protein olarak BSA (sığır serum albümini) 0,1-1,4 mg/ml proteindir. Kimyasal prosedüründeki 96 kuyucuklu plakaya uygun protokolü izlenerek protein tayini gerçekleştirilmiştir.

Bradford reaktifi oda sıcaklığına getirilip yavaşça karıştırıldı. BSA standardı farklı konsantrasyonlarda hazırlandı. İlk beş kuyucuğa hazırlanan standartlar 5 µl hacimde eklendi ve bir kuyucuk kör olarak belirlenerek, kör kuyucuğuna numune ve standart içermeyen 5 µl tampon çözelti eklendi. Serum örneklerinden her biri ayrı bir kuyucuğa 5 µl olacak şekilde eklendi ve üzerlerine 250 µl Bradford Reaktifi eklenerek çalkalayıcıda yaklaşık 30 sn karıştırıldı. Hazırlanan plaka 20 dakika oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi. Protein-boya kompleksi 60 dakika stabil kaldığından mümkün olduğunca süre aşılmanmaya dikkat edildi. 20 dakika sonra tüm numuneler

için 595 nm’de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Standartlardan elde edilen konsantrasyon-absorbans değerlerinden standart grafik çizildi. Numunelerin protein konsantrasyonları standart grafiğinden yararlanarak mg/ml protein olarak hesaplandı.

3.7. Araştırmanın Sınırlılıkları

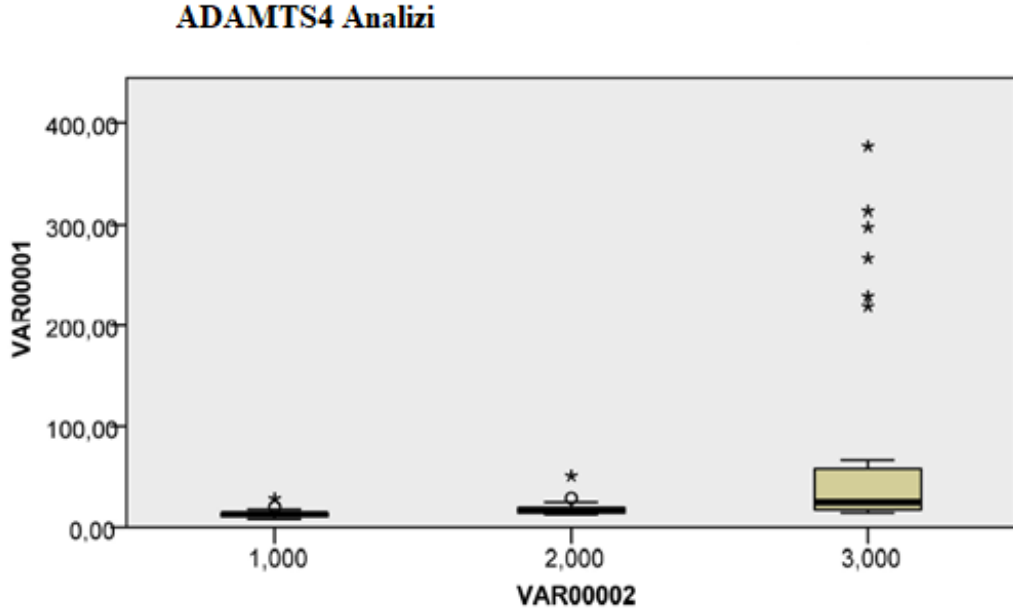
Alzheimer hastalığında ancak beyinde otopsi ile histopatolojik değerlendirmeler yapıldığında gen ekspresyon ve protein düzeyleri net bir şekilde belirlenmektedir. Amacımız kanda biyobelirteç olarak kullanılabilen parametrelere ulaşmaktır. ADAMTS4 ve ADAM9 seviyeleri kanda ilk kez belirlendiğinden, dışlama kriterleri titiz bir şekilde dikkate alınmış olsa da protein seviyelerini değiştiren farklı faktörler de olabilmektedir. Çalışma ileri aşamada hayvan deneyleri ve farklı analiz metotlarıyla desteklenmelidir.

3.8. Verilerin değerlendirilmesi

Çalışma sonucunda elde ettiğimiz ham verilerin analizi IBM SPSS Statistics 22 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm sonuçlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde her bir analiz için, gruplar arasındaki dağılımın normal olup olmadığı belirlendi. Gruplarda örnek sayısı en az bir grup için 50’nin üstünde olduğundan dolayı Kolmogorov-Smirnov testi seçildi. En az iki grup için $p < 0,05$ olduğundan dolayı gruplar arası dağılımın normal olmadığı belirlendi. Buna göre elde edilen veriler değerlendirildiğinde Varyans analizi gerçekleştirildi. Üç grup olduğundan dolayı en uygun test olarak Independent-Sample Kruskal-Wallis testi seçildi. Test sonucuna göre ADAMTS4, ADAM9 ve Asetilkolinesteraz için χ^2 ve p değerleri belirlendi. Buna göre ADAMTS4 için, $\chi^2:38,27$, $p=0,0001$; ADAM9 için $\chi^2:40,176$, $p=0,0001$; Asetilkolin esteraz için $\chi^2:24,606$; $p=0,0001$ bulundu (Şekil 4.1.1., Şekil 4.2.1., Şekil 4.3.1.). Protein analizi sonuçları aynı şekilde değerlendirildi. $\chi^2:6,928$ ve $p=0,031$ olarak bulundu (Şekil 4.4.1.). Bununla birlikte grupların ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum değerleri belirlendi. $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

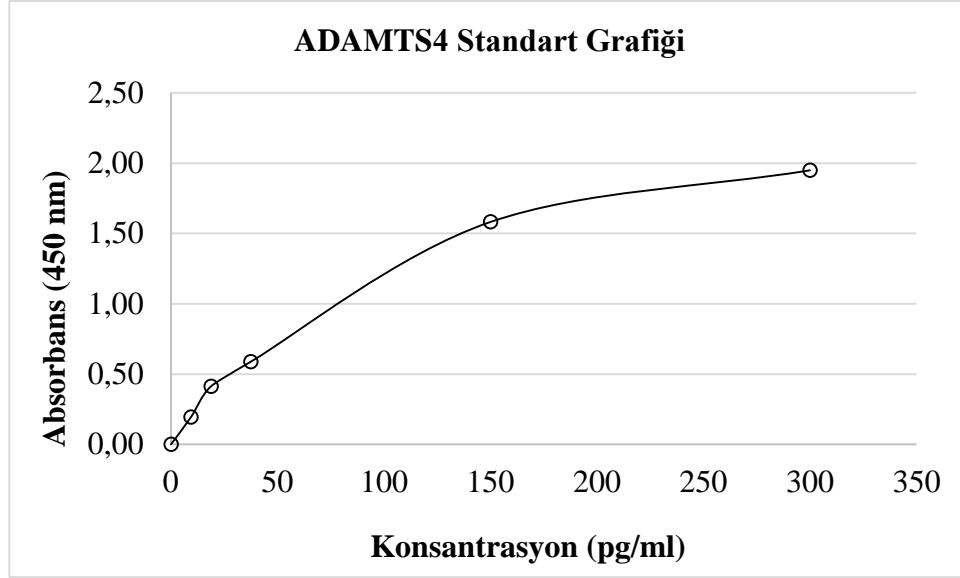
4. BULGULAR

4.1. ADAMTS4 Seviyeleri ELISA Testi Analiz Sonuçları



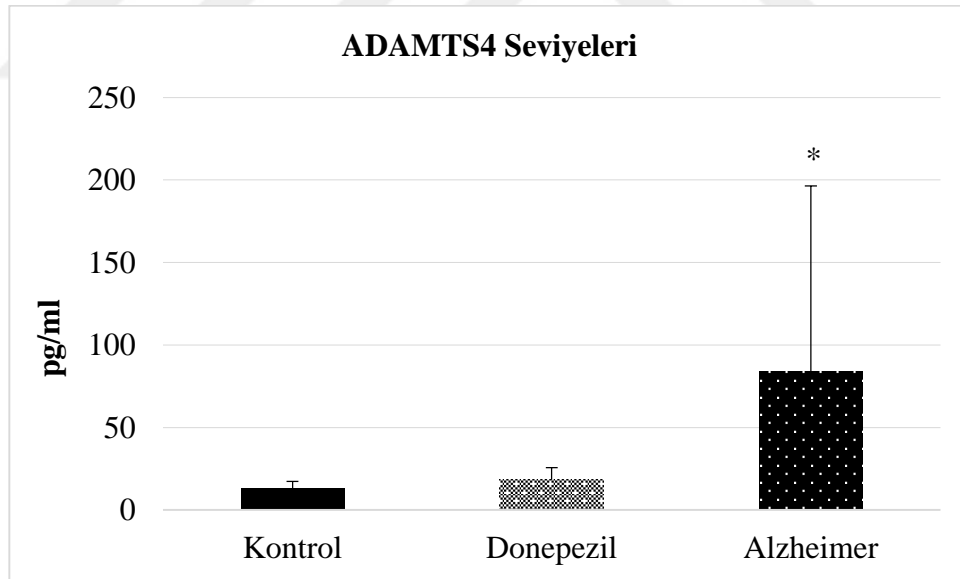
Şekil 4.1.1. ADAMTS4 analizi Kruskal-Wallis Testi gruplar arası anlamlılık değerlendirmesi ($p < 0,05$)

Gruplar arasında dağılım normal olmadığı gözlemlendikten sonra nonparametrik testlerden bağımsız örneklerde Kruskal-Wallis testi uygulandı (Şekil 4.1.1). Donepezil kullanan hastaların ADAMTS4 seviyelerinin Kontrol grubu ile anlamlı fark teşkil etmediği ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p > 0,05$). Bununla birlikte yeni tanı alıp henüz ilaç başlamamış Alzheimer gurubunda ADAMTS4 seviyelerinin anlamlı ölçüde arttığı görülmektedir. Donepezil grubuna göre fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).



Şekil 4.1.2. ADAMTS4 Standart Grafiği

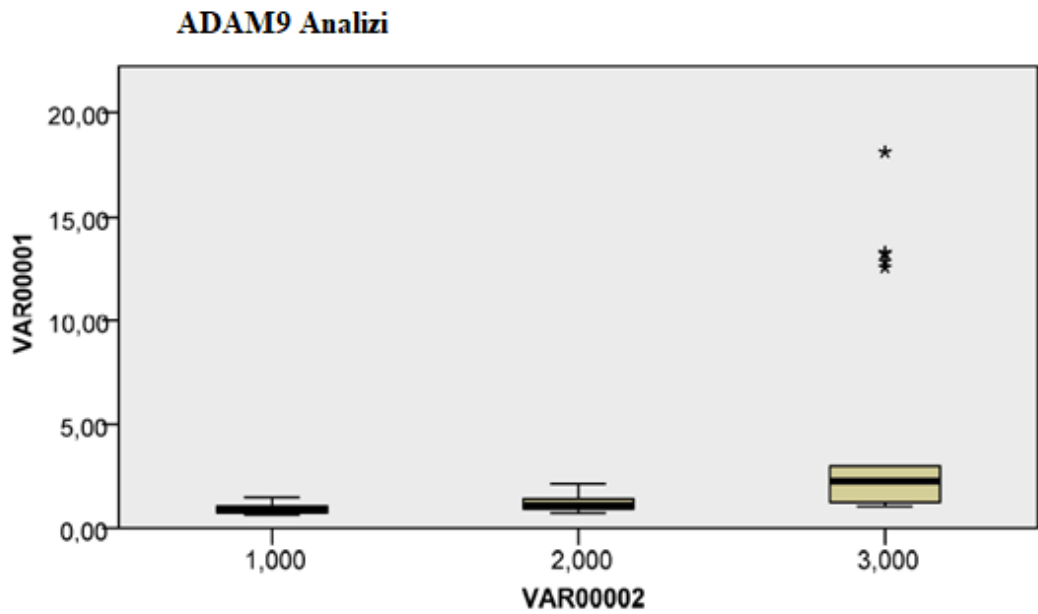
Numuneler içerisinde bulunan ADAMTS4 konsantrasyonları ADAMTS4'ün saf protein standartlarından elde edilen grafik yardımıyla belirlendi (Şekil 4.1.2).



Şekil 4.1.3. Kontrol, Donepezil kullanan ve yeni tanı Alzheimer gruplarında serum ADAMTS4 seviyeleri. Yeni tanı Alzheimer hastalarında gözlenen değer, kontrol ve donepezil gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ($p < 0,05$).

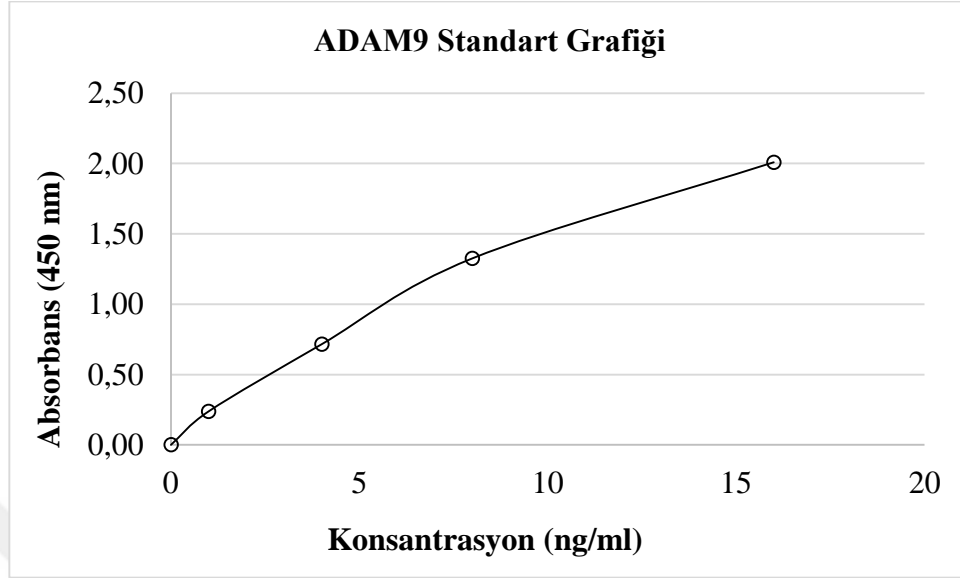
Gruplar arası ortalama ve standart sapma değerleri değerlendirildiğinde kontrol, donepezil ve Alzheimer gruplarında sırasıyla $13,12 \pm 4,28$; $18,30 \pm 7,35$ ve $83,91 \pm 112,51$ pg/ml olduğu görülmektedir. Maksimum değerler kontrol edildiğinde Alzheimer grubunun maksimumunun $376,48$ pg/ml ye ulaştığı gözlenmektedir. Buna kıyasla donepezil kullanan Alzheimer'lı hastada maksimumun $50,51$ pg/ml seviyesinde olduğu belirlenmiştir. İlaç kullanımına bağlı olarak ADAMTS4 seviyelerinin ilaç kullananlarda, ilaç kullanmayanlara göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir (şekil 4.1.3). Tüm değerler Tablo 4.1'de verilmiştir.

4.2. ADAM9 Seviyeleri ELISA Testi Analiz Sonuçları



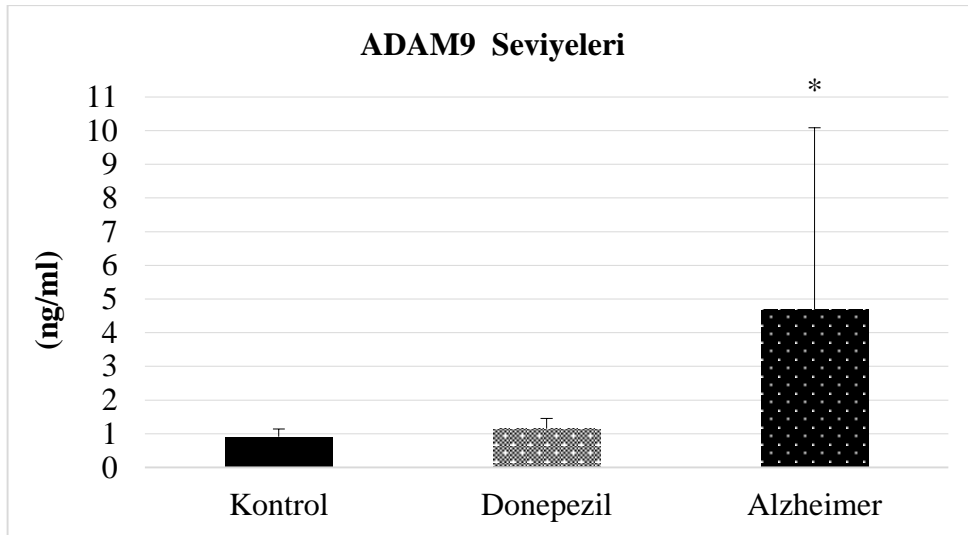
şekil 4.2.1. ADAM9 analizi Kruskal-Wallis Testi gruplar arası anlamlılık değerlendirmesi ($p < 0,05$)

Gruplar arasında dağılım normal olmadığı gözlendikten sonra nonparametrik testlerden bağımsız örneklerde Kruskal-Wallis testi uygulandı. Donepezil kullanan hastaların ADAM9 seviyelerinin Kontrol grubuna yakın olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p > 0,05$). Bununla birlikte yeni tanı alıp henüz ilaç başlamamış Alzheimer grubunda ADAMT9 seviyelerinin anlamlı ölçüde arttığı görülmektedir. Donepezil grubuna göre fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$) (şekil 4.2.1).



Şekil 4.2.2. ADAM9 Standart Grafiği

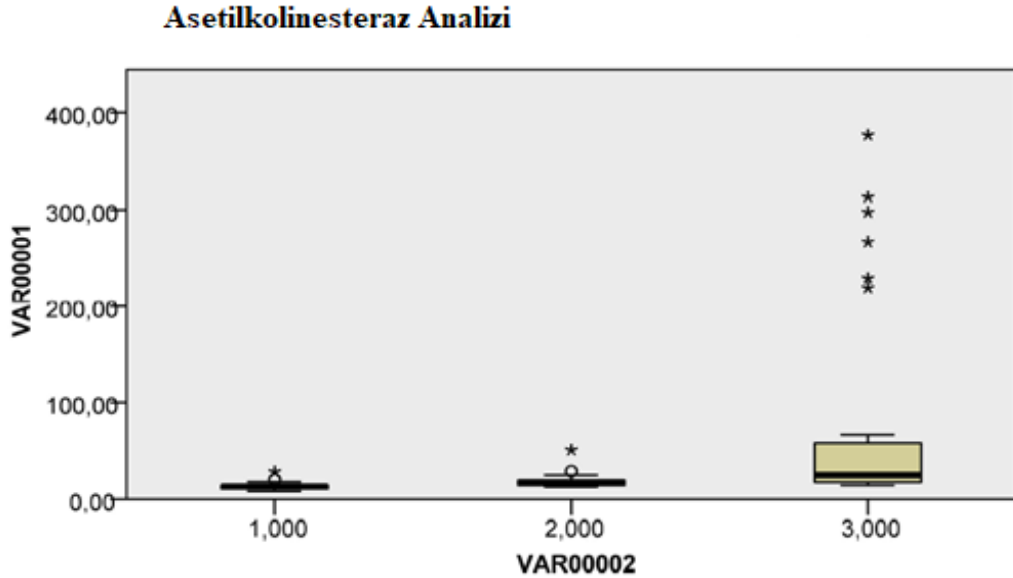
Numuneler içerisinde bulunan ADAM9 konsantrasyonları ADAM9'un saf protein standartlarından elde edilen grafik yardımıyla belirlendi (Şekil 4.2.2).



Şekil 4.2.3. Kontrol, Donepezil kullanan ve yeni tanı Alzheimer gruplarında serum ADAM9 seviyeleri. Yeni tanı Alzheimer hastalarında gözlenen değer, kontrol ve donepezil gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ($p < 0,05$).

Gruplar arası ortalama ve standart sapma değerleri değerlendirildiğinde kontrol, donepezil ve Alzheimer gruplarında sırasıyla $0,91\pm0,23$; $1,15\pm0,30$ ve $4,69\pm5,39$ ng/ml olduğu görülmektedir. Maksimum değerler kontrol edildiğinde Alzheimer grubunun maksimumunun $18,09$ ng/ml' ye ulaştığı gözlenmektedir. Buna kıyasla donepezil kullanan Alzheimer'lı hastada maksimumun $2,13$ ng/ml seviyesinde olduğu belirlenmiştir. İlaç kullanımına bağlı olarak ADAM9 seviyelerinin ilaç kullananlarda, ilaç kullanmayanlara göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir (şekil 4.2.3). Tüm değerler Tablo 4.1'de verilmiştir.

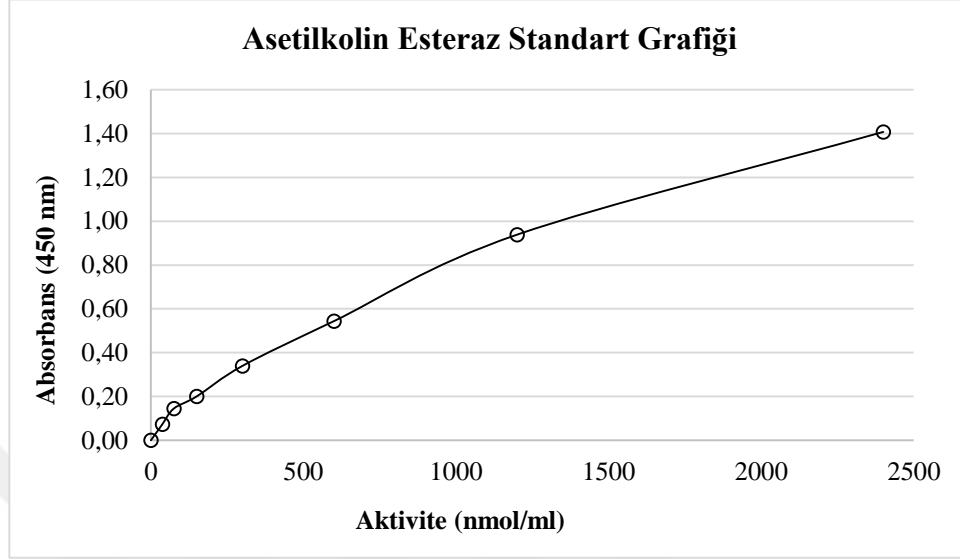
4.3. Asetilkolin Esteraz Aktivitesi ELISA Testi Analiz Sonuçları



şekil 4.3.1. Asetilkolin esteraz analizi Kruskal-Wallis Testi gruplar arası anlamlılık değerlendirmesi ($p<0,05$)

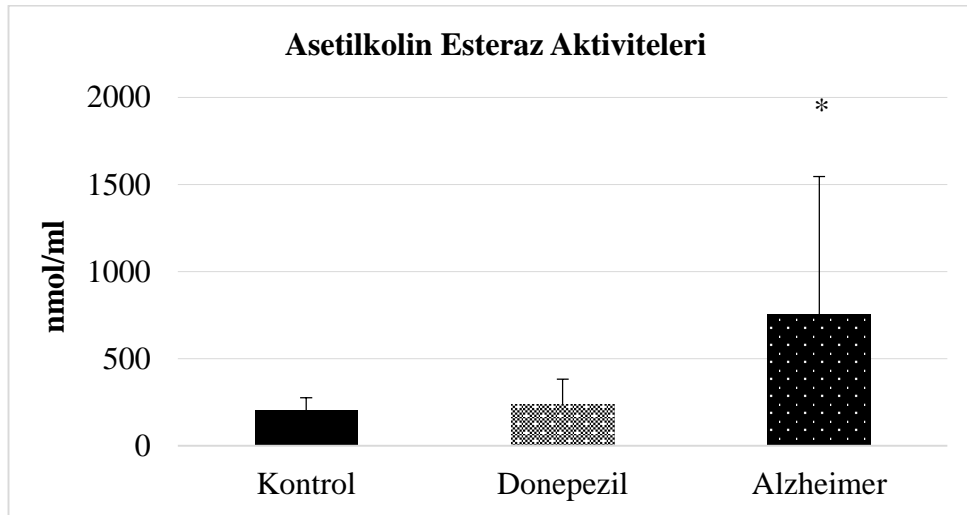
Gruplar arasında dağılımın normal olmadığı gözlendikten sonra nonparametrik testlerden bağımsız örneklerde Kruskal-Wallis testi uygulandı. Donepezil kullanan hastaların Asetilkolin esteraz seviyelerinin Kontrol grubuna yakın olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0,05$). Bununla birlikte yeni tanı alıp henüz ilaç başlamamış Alzheimer gurubunda Asetilkolin esteraz seviyelerinin anlamlı lde arttığı görülmektedir. Donepezil grubuna göre fark istatistiksel olarak anlamlı

bulunmuştur ($p<0,05$). Alınan ilacın Asetilkolin esterazı inhibe ettiğini ve serum seviyelerini söylemek doğru olacaktır (Şekil 4.3.1).



Şekil 4.3.2. Asetilkolin Esteraz Standart Grafiği

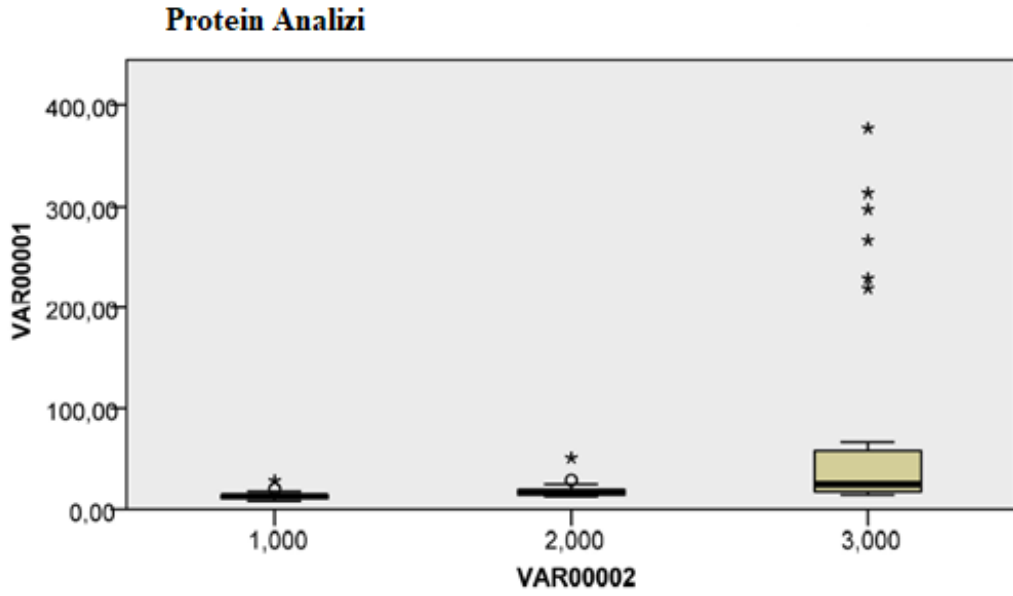
Numuneler içerisinde bulunan Asetilkolin esteraz konsantrasyonları Asetilkolin esterazın saf protein standartlarından elde edilen grafik yardımıyla belirlendi (Şekil 4.3.2).



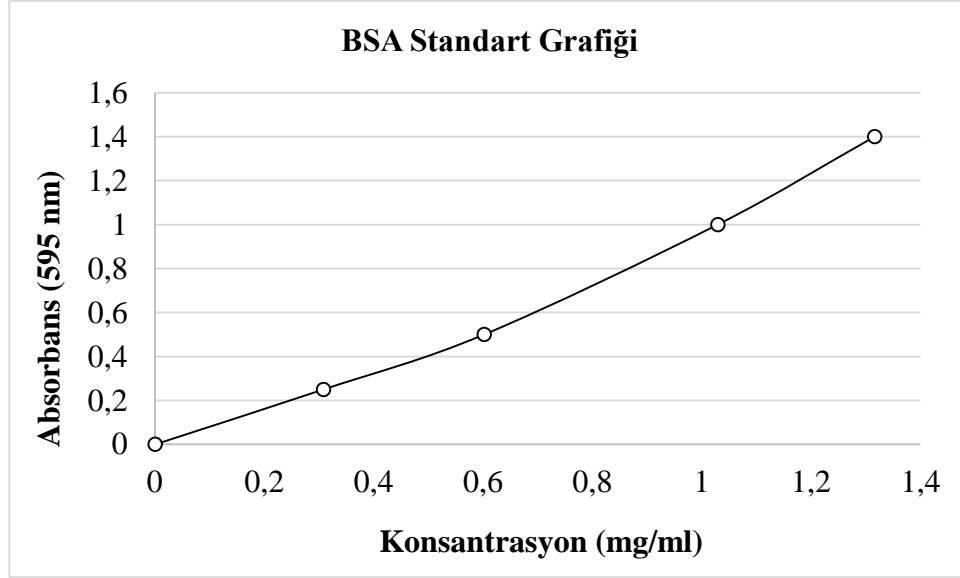
Şekil 4.3.3. Kontrol, Donepezil kullanan ve yeni tanı Alzheimer gruplarında serum Asetilkolin esteraz seviyeleri. Yeni tanı Alzheimer hastalarında gözlenen değer, kontrol ve donepezil gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ($p<0,05$).

Gruplar arası ortalama ve standart sapma değerleri değerlendirildiğinde kontrol, donepezil ve Alzheimer gruplarında sırasıyla $204,90 \pm 71,22$; $238,72 \pm 143,96$ ve $755,57 \pm 790,38$ nmol/ml olduğu görülmektedir. Maksimum değerler kontrol edildiğinde Alzheimer grubunun maksimumunun $2839,17$ nmol/ml' ye ulaştığı gözlenmektedir. Buna kıyasla donepezil kullanan Alzheimer'lı hastada maksimumun $724,17$ nmol/ml seviyesine düştüğü belirlenmiştir. İlaç kullanımına bağlı olarak Asetilkolin estera z seviyelerinin ilaç kullananlarda, ilaç kullanmayanlara göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir (şekil 4.3.3). Tüm değerler Tablo 4.1'de verilmiştir.

4.4. Bradford Protein Tayini Sonuçları



şekil 4.4.1. Protein analizi Kruskal-Wallis Testi gruplar arası anlamlılık değerlendirmesi ($p < 0,05$)



Şekil 4.4.2. Bovine Serum Albumin (BSA) Standart Protein Grafiği

Serum numuneleri içindeki protein seviyeleri Bradford yöntemi ile BSA standart grafiği üzerinden hesaplanmıştır (Şekil 4.4.2). Protein değerleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. ADAMTS4, ADAM9 ve Asetilkolin Esteraz seviyeleri gruplar arası ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerleri

		ADAMTS4 (pg/ml)	ADAM9 (ng/ml)	AChE (nmol/ml)	Protein (mg/ml)
Ortalama ±SS	Kontrol	13,12±4,28	0,91±0,23	204,90±71,22	2,33±0,56
	Donepezil	18,30±7,35	1,15±0,30	238,72±143,96	2,35±0,39
	Alzheimer	83,91±112,51	4,69±5,39	755,57±790,38	2,31±0,97
Ortanca	Kontrol	12,60	0,85	181,50	-
	Donepezil	17,12	1,06	198,05	-
	Alzheimer	24,65	2,25	379,16	-
Minimum	Kontrol	8,04	0,62	112,33	-
	Donepezil	12,20	0,72	69,17	-
	Alzheimer	14,23	1,04	210,05	-
Maksimum	Kontrol	28,03	1,48	369,33	-
	Donepezil	50,51	2,13	724,17	-
	Alzheimer	376,48	18,09	2839,17	-

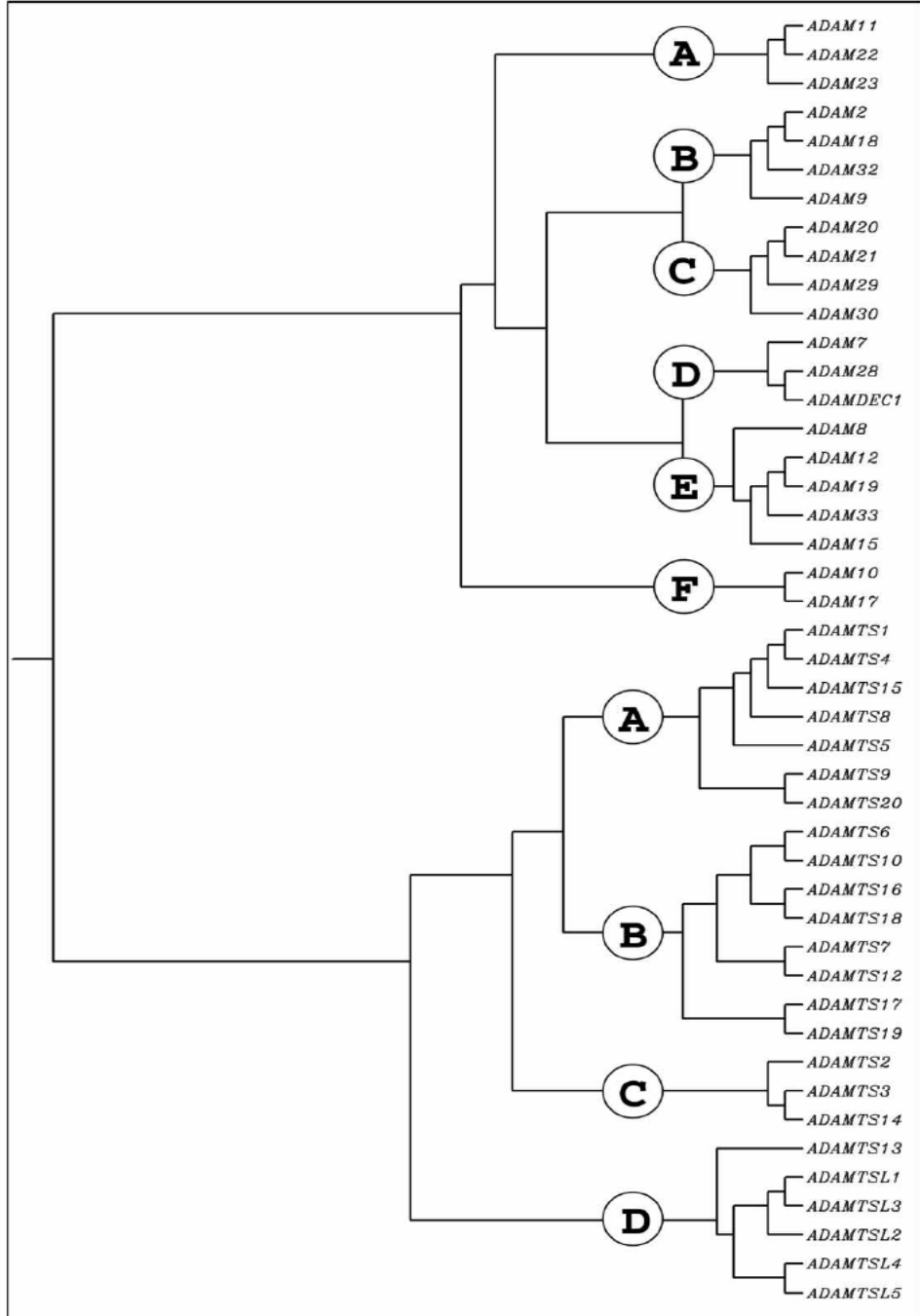
5. TARTIŞMA

Demansın en yaygın şekli olan Alzheimer hastalığı, hafıza kaybına yol açan dejeneratif bir bozukluktur (Alzheimer Association, 2010). Hastalığın iki ana formu vardır. 65 yaşından küçük olanlarda genellikle ailesel AD görülürken, vakaların geri kalanı 65 yaş üstü erişkinlerde görülen sporadik AD olarak adlandırılan türüdür. Alzheimer prevalansı yaş, eşlik eden çeşitli hastalıklar, genetik ve eğitim düzeyi gibi birçok farklı faktör arasında değişmektedir. Otopsi yapmadan Alzheimer Hastalığı'nı kesin olarak teşhis etmenin güvenilir net bir yolu yoktur. Ancak MRI görüntüleme ile birlikte Alzheimer tanısı konumu sağlanabilmektedir. AD için iyileştirici bir tedavi yoktur. Bununla birlikte çeşitli ilaçlar hastalığın seyrini yavaşlatmada etkili olsa da patogenezi tam olarak aydınlatılmadığından dolayı ancak erken teşhis ve tedavi için umut verici araştırma ve geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

Çalışmamızda daha önce kanda belirteç olarak denenmemiş ancak beyinde RNA ve protein ekspresyonları bulunan ADAMTS4 ve ADAM9'un Alzheimer Hastalığında serum seviyelerinin nasıl değiştiğini; hastalıkla ilişkili olan asetilkolinesteraz enzim seviyeleri ile ilişkisini; bir asetilkolin esteraz inhibitörü olan Donepezil kullanan hastalarda tedavi süreci ile birlikte ADAMTS4 ve ADAM9 seviyelerinin nasıl etkilendiğini ve yine ilaca bağlı asetilkolin esteraz enzim aktivitesi değişimi ile birlikte bu protein seviyelerinin ilişkisi araştırdık.

ADAM9, ADAM B alt grubuna dahil olan bir gen-protein grubudur. Dört gen içeren bu alt ailede, ADAM2, ADAM18, ADAM32 ve ADAM9 bulunmaktadır (Şekil 5.1.). Bu alt ailede genlerin ilk üçünde peptidaz aktivitesi yoktur ve sperm gelişimi ve döllenme ile ilişkilidir (Frayne ve ark. 2002). ADAM9, bu alt ailede potansiyel içeren tek gendir ve CT'sinde SH3 bağlanma bölgelerine sahiptir. Ayrıca amiloid öncü proteinini (APP) amiloidojenik olmayan yolda işleyen α -sekretaz aktiviteli proteindir. Potansiyel olarak beyni plakların oluşumunu engellemeye yönelik çalışarak Alzheimer'a karşı hareket eder. ADAM9 promotör bölgesindeki polimorfizmler ailesel olmayan AD'e karşı koruma ile ilişkilidir (Cong ve Jia 2009). Çalışmamızda ADAM9 protein seviyelerinin yeni tanı almış Alzheimer hastalarında yüksek bulunması, ADAM9'un APP oluşumunu engellemeye yönelik ekspresyonunun

arttığını göstermektedir. Bununla birlikte Donepezil kullanan hastaların ADAM9 seviyeleri incelendiğinde ADAM9 protein seviyelerinin azaldığı görülmektedir. İlaç kullanımı ile birlikte ADAM9 seviyeleri normal salgılandığı seviyeye geri dönmektedir diye düşünmekteyiz.



Şekil 5.1. İnsanın varsayılan işlevsel ADAM ve ADAMTS protein kodlayıcı genlerin kümelenme dendrogramı. Dendrogram, ClustalW ve bilinen peptit sekansları kullanılarak oluşturulmuştur.

ADAMTS4, ADAMTS A alt ailesine aittir ve bu alt aile içinde ADAMTS4 ile ilişkili ADAMTS1 ve diğer beş üye bulunmaktadır (Şekil 5.1). Trombospondin içeren bu gruplar, yapısal olarak hücre yüzeylerine ve heparan sülfat, proteoglikanlar, fibronektin, laminin ve kollajen gibi matris makromoleküllere bağlanır (Bornstein 1992). Ekstraselüler matriksin (ECM) kolajen, versican ve agrekan gibi yapısal proteinleri ADAMTS proteazları tarafından bozunduğu belirlenmiştir (Levy ve ark. 2005). Matris metaloproteinazların bir üyesi olarak ADAMTS, ECM'nin bozunması / onarılmasında kritik bir rol oynar. ADAMTS peptidaz enzimlerinin temel substratları, Santral sinir sisteminin (SSS) ECM'nin toplam ayrılmaz bileşenleri olduğu bilinen brevikan, versikan ve agrekan dahil toplayıcı kondroitin sülfat proteoglikanlardır (CSPG) (Yamaguchi 2000, Galtrey ve Fawcett 2007). SSS'deki ADAMTS proteoglikanaz rollerinin nöroplastiklik, inflamasyon, rejenerasyon, remiyelasyon, nörorepair (CSPG degradasyonu) ve anjiyogenez gibi fizyolojik ve patolojik olduğu ileri sürülmektedir (Lemarchant ve ark. 2013). ECM, SSS'nin yapısal ve fonksiyonel gelişimi ve bakımı için önemlidir. Çalışmalarda ADAMTS4 ile CSPG'lerin bozulması aksyon yenilenmesi inhibisyonunun üstesinden geldiğini ve proteolitik bir mekanizma yoluyla nörit büyümesini desteklediğini göstermiştir (Cua ve ark. 2013). ADAMTS4 fosfor birikiminde bir azalmaya neden olduğu ve ADAMTS4 sıçan nöron kültüründe nörit büyümesini arttırdığı gözlenmiştir (Hamel ve ark. 2008). SSS hasarındaki matris olayları ile yürütülen bir başka çalışmada, ADAMTS1 ve ADAMTS4 transkripsiyonunun ve protein ekspresyonunun, IL-1'e yanıt olarak astrosit kültüründe uyarıldığını düşündürmektedir. Bu nedenle, temel agrekanaz ADAMTS1 ve ADAMTS4, yaralanmanın erken evresinde artan proteoglikan bozulmasından sorumlu adaylar olarak gösterilmiştir (Abali ve ark. 2014). Yaptığımız çalışmada ADAMTS4 seviyelerinin hastalığın ilk aşamasında yeni tanı almış Alzheimer grubunda artması literatürdeki çalışmalarla örtüşmektedir. Bununla birlikte asetilkolin esteraz inhibitörü olarak kullanılan Donepezil alan hasta grubunda ADAMTS4 seviyelerindeki azalma tedavi ile birlikte proteoglikanların korunduğunu da düşündürmekte, bununla birlikte hasar düzeyinin yeni tanıya göre değerlendirilmesinde kullanılabilir olduğunu göstermektedir.

Multiple Skleroz (MS) hastalarında yapılan bir incelemede ADAMTS4'ün ekspresyonunun ağırlıklı olarak MS lezyonlarında ekspresyonu yüksek olan astrositler ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Haddock ve ark. 2006). Yine Ajmo ve ark. (2008) yaptığı bir çalışmada ADAMTS4 seviyelerinin ile SSS'de bozulmuş brevikan parçalarının lokalizasyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. ADAMTS4 seviyelerinin Alzheimer grubunda tedavi grubuna göre anlamlı derecede artışı hastalığın patogenezi ile yorumlanabilmektedir.

Reelin ekspresyonunun azalmasına bağlı olarak yapılan bir çalışmada Reelin eksikliği olan transgenik AD farelerde Tau fosforilasyonunu ve hipokampal formasyonda karışıklığı arttırmak için yeterli olan amiloidjenik APP işleme ve amiloid-birikimiyle ilişkili sinaptik disfonksiyon üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (Kocherhans ve ark. 2010). Botella-López ve ark. (2006) AD hastalarının BOS'unda proteolitik Reelin fragmanlarının Western blot tarafından kontrol edilen deneklere kıyasla arttığını bildirmiştir. ADAMTS4 (aggrekanaz-1) ve -5 (aggrekanaz-1), AD ile transgenik farelerde hem C- hem de N-terminal klevaj bölgesinde Reelin'i kestiği belirlenmiştir. Başka bir çalışma, ADAMTS4'ün Reelin'i izoforma özgü bir şekilde parçaladığını bildirmiştir. ADAMTS4 izoformlarının sadece p50 N-terminal bölgesini ve p75 her iki bölgeyi de böldüğü görülmüştür (Hisanaga ve ark. 2012). Bu sonuçlar, Reelin eksikliğinin Tau'nun fosforilasyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar fosforilasyon hipotezini desteklemektedir.

Nardilisin üzerine yapılan bir çalışmada, nardilisin'in ADAM10 ve 17'nin a-sekretaz aktivitesini arttırdığı, böylece muhtemelen amiloid öncü proteininden amiloidojenik fragmanların azaltılmasına katkıda bulunduğu bulunmuştur (Bernstein ve ark. 2009). ADAM10 ve ADAM17 normal yaşlı beynin kortikal bölgelerinde, Alzheimer hastalığında proteaz ifade eden nöronların sayısını arttırmıştır. Nöronların önemli bir kısmının, nardilisini ADAM10 veya ADAM17 ile birlikte eksprese ettiği görülmüştür. ADAM10 ve 17 inflamasyon başlıca olmak üzere sitokin ekspresyonuyla ilişkili olduğundan, IL-1 aracılı olarak ADAMTS4 seviyelerinin artışı ve bununla birlikte amiloid protein birikimine bağlı ADAM9 seviyelerindeki artışın koruyucu etki sebebiyle, gerçekleşen inflamasyona yanıt olduğu söylenebilmektedir.

Asetilkolin esteraz inhibitörlerinin nöroblastoma hücre hattında ADAM10 üzerinde etkilerinin belirlendiği bir çalışmada, Donepezilin ilginç bir şekilde, muamele edilmiş hücreleri, zar bölmelerinde ADAM 10 seviyelerini arttırdığını göstermiştir. Bu etki, tunikamisin veya brefeldin ile ön muamele ile önlenmiş bu da donepezilin ADAM10'un olgunlaşmasını etkilediğini düşündürmektedir. Donepezil'in etkisi, sadece AChE inhibisyonunu değil, aynı zamanda iki önemli AD patogenezinin, yani APP ve alfa sekretazın metabolizmasını içeren çoklu mekanizmalar yoluyla ortaya çıkarmasıdır. Hem AChE hem de muskarinik reseptörleri eksprese eden farklılaşmış nöroblastom hücre hatlarında donepezil, AChE aktivitesini önemli ölçüde inhibe etmiş ve sAPPa'nın sadece muskarinik reseptör yolu yoluyla değil, aynı zamanda hem insandaki metabolik yolunu hem de TACE ve ADAM10 aktivitesini doğrudan artırdığı gözlenmiştir (Zimmermann ve ark. 2004). Yaptığımız çalışmada ADAM9 seviyelerinin Donepezil grubunda azalması, ADAM10 seviyelerinin artmasıyla ilişkili olduğu sonucu çıkarmaktadır.

Merkezi sinir sistemini etkileyen bakteriyel menenjit vakalarında MMP'ler ve ADAM'lar nöroinflamasyon ve nöronal gelişim sırasında merkezi düzenleyiciler ve araçlar olduğundan hasarın önlenmesinin, bu enzimlerin inhibisyonu akut enfeksiyon sırasında umut verici olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte gelişen multipl skleroz hasarında ADAM10 ve ADAM17 seviyelerine bağlı inflamasyonun azaldığı ortaya konmuştur. ADAM9 seviyeleri ve yine plak gelişimi açısından ADAMTS4 seviyeleri değerlendirildiğinde literatürle ilişkili sonuçların elde edildiği görülmektedir.

Fadl ve ark. (2009)'nın ratlarda yaptığı bir çalışmada $AlCl_3$ uygulamasının beyindeki disintegrin ve metaloproteinaz domeni 9 (ADAM9) ile bir disintegrin ve metaloproteinaz domeni 10 (ADAM10) genlerinin ekspresyon seviyelerinde önemli bir düşüşe neden olduğu görülmüştür. AD'nin sıçan modelinin beyin dokusunun histolojik araştırması, hipokampusta nöronal dejenerasyon ve hücrel ve hücrel amiloid plak oluşumu ile fokal hiyalinoz gösterdiği belirlenmiştir. Serrapeptaz ve nattokinaz 45 gün boyunca günlük AD sıçan modeline oral yoldan verilmesi beyin AchE aktivitesi, TGF-y ve IL-6 seviyelerinde önemli bir azalmayla sonuçlanmıştır. Ayrıca, bu enzimlerle yapılan muamele, muamele edilmemiş AD ile indüklenen sıçanlara kıyasla BDNF ve IGF-1 seviyelerinde önemli bir artış sağlamıştır. Hem SP hem de NK, tedavi edilen sıçanların beyin dokusundaki ADAM9 ve ADAM10

genlerinin ekspresyon seviyelerini belirgin şekilde artırabileceği ön görülmüştür. Çalışmamızda Donepezil tedavisi alan hastaların ADAM9 seviyeleri incelendiğinde, inhibitör etkisiyle asetilkolin esteraz aktivitesini azalttığı görülmüştür. Ancak ADAM9 seviyelerinde ise bir azalma görülmüştür. Bunun nedenini hastalığın ilk evrelerinde ADAM9 seviyelerinin koruyucu etkiyle aktivitesinin artmasına bağlamaktayız.

Literatürdeki çalışmalar çoğunlukla inflamasyona yönelik ADAM10 ve ADAM17 seviyeleriyle ilişkili olarak değerlendirildiğinden elde edilen verilerin sekretaz aktivitesi ilişkili yorumlanması bu proteinlerin varlığıyla yorumlanabilmektedir.

Wang ve ark. (2016)'da amiloid prekürsör proteinin amilodojenik olmayan düzenlenmesiyle ilgili çalışmasında amilodojenik olmayan a-sekretaz aktivasyonu gösteren ADAM17, ADAM10 ve ADAM9 genlerinden, ADAM10'un konstitütif APP klevajı gerçekleştirilmesine rağmen, ADAM17 ve ADAM9'un düzenlenmiş işleme yönelik olduklarını belirtmişlerdir. Bu nedenle, a-sekretaz aktivitesinin desteklenmesinin AD'ye karşı tam bir nöroproteksiyon sağladığını ve Ap'yi hafifletmede uygun bir strateji olarak ortaya çıktığını göstermişlerdir. Bu sonuçlar yaptığımız çalışmada ADAM9 seviyelerinin değişiminin kanıtı olarak kabul edilebilmektedir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızda amacımız ADAM9 ve ADAMTS4 seviyelerinin ilaç kullanımıyla birlikte asetilkolin esteraz seviyeleriyle ilişkisini belirlemek dolayısıyla Alzheimer hastalığında ADAMTS4 ve ADAM9 seviyelerinin nasıl değiştiğini belirlemektir. Donepezil asetilkolin esteraz inhibitörü olduğundan dolayı asetilkolin esteraz seviyelerindeki azalma çalışmamızla korelasyon göstermiştir. Literatürdeki çalışmalarla değerlendirildiğinde ADAM9 ve ADAMTS4 seviyelerinin Alzheimer grubunda artması, diğer çalışmalarla örtüşürken; bazı çalışmalarda miktarların azaldığına yönelik farklı yaklaşımlar olduğu görülmüştür. Serum ADAMTS4 ve ADAM9 seviye değişimlerinin beyin dokusundan farklı çıkması, gen ekspresyon düzenlemelerinin ve farklı parametrelere karşı farklı cevapların elde edildiğini göstermektedir. Çalışma sonuçlarımızdan elde ettiğimiz veriler ilk kez kanda ELISA yöntemiyle belirlendiğinden sınırlılıklar arz edebilmektedir. Çalışmaların hayvan deneyleri ile teyiti önem arz etmektedir. Beyin dokularının histopatolojik değerlendirilmesi ve serum değerlerinin birlikte incelenmesi çalışmanın sonuçlarının netleşmesi açısından önemlidir. ADAM9 ve özellikle ADAMTS4 üzerine yapılan çalışmalar literatürde yeterli değildir. Ancak elde ettiğimiz veriler literatüre farklı yaklaşımlar kazandıracak niteliktedir.

7. KAYNAKLAR

- Abali O, Gokce EC, Cemil B, Erdogan B, Yonezawa T, Demircan K. Early induction of ADAMTS 1, 4, 5 and 9 in IL-stimulated mouse astrocytes. *Turk Neurosurg.* 2014; 24: 519-524.
- Ajmo JM, Eakin AK, Hamel MG, Gottschall PE. Discordant localization of WFA reactivity and brevican/ADAMTS-derived fragment in rodent brain. *BMC Neurosci.* 2008; 9:14.
- Aliyev A, Seyidova D, Rzayev N, Obrenovich ME, Lamb BT, Chen SG, Smith MA, Perry G, de la Torre JC, Aliev G. Is nitric oxide a key target in the pathogenesis of brain lesions during the development of Alzheimer's disease? *Neurol Res* 2004; 26(5):547-553.
- Alzheimer's Association. 2010 Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimers Dement.* 2010; 6(2):158-194.
- Alzheimer's Association. 2012 Alzheimer's disease facts and figures *Alzheimers Dement* 2012; 8:131-168.
- Alzheimer's Association. 2015 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* 2015; 11:322-384.
- Amour A, Slocombe PM, Webster A, Butler M, Knight CG, Smith BJ, Stephens PE, Shelley C, Hutton M, Knäuper V, Docherty AJ, Murphy G. TNF-alpha converting enzyme (TACE) is inhibited by TIMP-3. *FEBS Lett.* 1998; 435: 39-44.
- Apostolova LG. Alzheimer's disease. *Continuum (Minneap Minn)* 2016; 22:419-434.
- Asai M, Hattori C, Szabo B, Sasagawa N, Maruyama K, Tanuma S, Ishiura S. Putative function of ADAM9, ADAM10, and ADAM17 as app alpha-secretase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 301:231-235.
- Bassil N, Grossberg GT. Novel regimens and delivery systems in the pharmacological treatment of Alzheimer's disease. *CNS Drugs* 2009;23(4):293-307.
- Baysal Aİ, Yeşilbudak Z. Alzheimer Hastalığının Klinik Bulguları. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi* 2003;1(1):1-5.
- Bernstein HG, Stricker G, Lendeckel U, Bertram I, Dobrowolny H, Steiner J, Bogerts B, Reiser G. Reduced neuronal co-localisation of nardilysin and the putative α -secretases ADAM10 and ADAM17 in Alzheimer's disease and Down syndrome brains. *AGE.* 2009; 31:11-25.
- Bickel U, Thomsen T, Fischer JP, Weber W, Kewitz H. Galanthamine: pharmacokinetics, tissue distribution and cholinesterase inhibition in brain of mice. *Neuropharmacology.* 1991; 30:447-454.

- Blobel CP. ADAMs: key components in EGFR signalling and development. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005;6(1):32-43.
- Bondeson J, Lauder S, Wainwright S, Amos N, Evans A, Hughes C, Feldmann M, Caterson B. Adenoviral gene transfer of the endogenous inhibitor IkappaBalpha into human osteoarthritis synovial fibroblasts demonstrates that several matrix metalloproteinases and aggrecanases are NFkappaB dependent. *J Rheumatol* 2007; 34:523-533.
- Bondeson J, Wainwright SD, Heming M, Hughes CE. The regulation of the ADAMTS4 and ADAMTS5 aggrecanases in osteoarthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26:139-145.
- Bornstein P. Thrombospondins: structure and regulation of expression. *FASEB J.* 1992; 6: 3290-3299.
- Botella-Lopez A, Burgaya F, Gavin R, Garcia-Ayllon MS, Gomez-Tortosa E, Pena-Casanova J. Reelin expression and glycosylation patterns are altered in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci.* 2006; 103: 5573-5578.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976; 72:248-254.
- Brew K, Nagase H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): An ancient family with structural and functional diversity. *Biochim Biophys Acta.* 2010; 1803:55-71.
- Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K, Arrighi HM. Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2007; 3:186-191.
- Chung SH. Aberrant phosphorylation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *BMB Rep.* 2009;42(8):467-474.
- Cong L, Jia J. Promoter polymorphisms which regulate ADAM9 transcription are protective against sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2011; 32(1):54-62.
- Corada MM, Brookmeyer R, Paganini-Hill A, Berlau D, Kawas CH. Dementia incidence continues to increase with age in the oldest old: the 90+ study. *Ann Neurol.* 2010; 67:114-121.
- Cua RC, Lau LW, Keough MB, Midha R, Apte SS, Yong VW. Overcoming neurite-inhibitory chondroitin sulfate proteoglycans in the astrocyte matrix. *Glia* 2013; 61(6): 972-984.
- Çınar N. Alzheimer hastalığında epidemiyoloji ve klinik bulgular. *Türkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics* 2012; 5:1-6.
- Danysz W, Parsons CG, Mobius HJ, Stoffler A, Quack G. Neuroprotective and symptomatological action of memantine relevant for Alzheimer's disease: A unified glutamatergic hypothesis on the mechanism of action. *Neurotox Res.* 2000; 2:85-97.

- Darreh-Shori T, Soininen H. Effects of cholinesterase inhibitors on the activities and protein levels of cholinesterases in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease: a review of recent clinical studies. *Curr Alzheimer Res.* 2010; 7(1):67–73.
- Duffy MJ, Mullooly M, O'Donovan N, Sukor S, Crown J, Pierce A, McGowan PM. The ADAMs family of proteases: New biomarkers and therapeutic targets for cancer? *Clin. Proteomics.* 2011; 8:9.
- Duyckaerts C, Panchal M, Delatour B, Potier MC. Morphologic and molecular neuropathology of Alzheimer's disease. *Ann Pharm Fr.* 2009;67(2):127-135.
- Edelberg HK, Wei JY. The biology of Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev.* 1996; 91(2):95-114.
- Edwards DR, Handsley MM, Pennington CJ. The ADAM metalloproteinases. *Mol Aspects Med.* 2008; 29(5):258-289.
- Ertekin-Taner N. Genetics of Alzheimer's disease: a centennial review. *Neurol Clin.* 2007; 25(3):611-667.
- Fadl NN, Ahmed HH, Booles HF, Sayed AH. Serrapeptase and nattokinase intervention for relieving Alzheimer's disease pathophysiology in rat model. *Hum Exp Toxicol.* 2013; 32(7):721-735.
- Fingleton B. Matrix Metalloproteinases as Valid Clinical Target. *Curr Pharm Des.* 2007; 13(3):333-346.
- Fisher A. Cholinergic treatments with emphasis on M1 muscarinic agonists as potential disease modifying agents for Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics* 2008; 5(3):433-442.
- Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock G. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1999; 66:137-147.
- Frayne J, Hurd EA, Hall L. Human tMDC III: A sperm protein with a potential role in oocyte recognition. *Mol Hum Reprod.* 2002; 8: 817-822.
- Fridman JS, Caulder E, Hansbury M, Liu X, Yang G, Wang Q, Lo Y, Zhou BB, Pan M, Thomas SM, Grandis JR, Zhuo J, Yao W, Newton RC, Friedman SM, Scherle PA, Vaddi K. Selective inhibition of adam metalloproteases as a novel approach for modulating erbb pathways in cancer. *Clin Cancer Res.* 2007; 13:1892-1902.
- Friedlander AH, Norman DC, Mahler ME, Norman KM, Yagiela JA. Alzheimer's disease: psychopathology, medical management and dental implications. *J Am Dent Assoc* 2006; 137(9):1240-1251.
- Fulton B, Benfield P. Galanthamine. *Drugs Aging.* 1996; 9:60-6, 66-67.
- Galtrey CM, Fawcett JW. The role of chondroitin sulfate proteoglycans in regeneration and plasticity in the central nervous system. *Brain Res Rev.* 2007; 54: 1-18.

- Gao S, Hendrie HC, Hall KS, Hui S. The relationships between age, sex, and the incidence of dementia and Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry* 1998; 55(9):809-815.
- Gilman S. Alzheimers disease. *Perspect Biol Med* 1997;40(2):230-245.
- Gonzales PE, Solomon A, Miller AB, Leesnitzer MA, Sagi I, Milla ME. Inhibition of the tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme by its pro domain. *J Biol Chem.* 2004; 279: 31638-31645.
- Gooz M. ADAM-17: The enzyme that does it all. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2010; 45(2):146-169.
- Gough M, Parr-Sturgess C, Parkin E. Zinc metalloproteinases and amyloid beta-peptide metabolism: The positive side of proteolysis in alzheimer's disease. *Biochem. Res. Int.* 2011; 2011: 721463.
- Groot AJ, Habets R, Yahyanejad S, Hodin CM, Reiss K, Saftig P, Theys J, Vooijs M. Regulated proteolysis of NOTCH2 and NOTCH3 receptors by ADAM10 and presenilins. *Mol. Cell. Biol.* 2014; 34: 2822-2832.
- Grossberg GT. The ABC of Alzheimer's disease: behavioral symptoms and their treatment. *Int Psychogeriatr.* 2002; 14:27-49.
- Guaiquil V, Swendeman S, Yoshida T, Chavala S, Campochiaro PA, Blobel CP. ADAM9 is involved in pathological retinal neovascularization. *Mol. Cell. Biol.* 2009; 29:2694-2703.
- Gurland BJ, Wilder DE, Lantigua R, Stern Y, Chen J, Killeffer EH, Mayeux R. Rates of dementia in three ethnorracial groups. *Int J Geriatr Psychiatry.* 1999; 14:481- 493.
- Gurvit H, Emre M, Tinaz S, Bilgic B, Hanagasi H, Sahin H, Gurol E, Kvaloy JT, Harmanci H. The prevalance of dementia in an urban Turkish population. *Am J Alzheimers Dis Other Demen.* 2008; 23:67-76.
- Gürvit HI, Bahar SZ, Öge EA (editörler). Demans sendromu, Alzheimer hastalığı ve Alzheimer-dışı demanslar. *Nöroloji 1.baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004. p.367-415.*
- Haddock G, Cross AK, Plumb J, Surr J, Buttle DJ, Bunning RA. Expression of ADAMTS-1, -4, -5 and TIMP-3 in normal and multiple sclerosis CNS white matter. *Mult Scler.* 2006; 12: 386-396.
- Hamel MG, Ajmo JM, Leonardo CC, Zuo F, Sandy JD, Gottschall PE. Multimodal signaling by the ADAMTSs (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs) promotes neurite extension. *Exp Neurol*, 2008; 210: 428-440.
- Handsley MM, Edwards DR. Metalloproteinases and their inhibitors in tumor angiogenesis. *Int J Cancer.* 2005; 115:849-860.

- Hashimoto T, Wen G, Lawton MT, Boudreau NJ, Bollen AW, Yang GY, Barbaro NM, Higashida RT, Dowd CF, Halbach VV, Young WL. Abnormal expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in brain arteriovenous malformations. *Stroke*. 2003; 34:925-931.
- Hatipoglu OF, Hirohat S, Cilek MZ, Ogawa H, Miyoshi T, Obika M, Demircan K, Shinohata R, Kusachi S, Ninomiya Y. ADAMTS1 is a unique hypoxic early response gene expressed by endothelial cells. *J Biol Chem*. 2009; 284(24):16325-16333.
- Hattori H. Elderly depression and depressive state with Alzheimer's disease. *Nippon Rinsho* 2009; 67(4):835-44.
- Hirohata S, Wang LW, Miyagi M, Yan L, Seldin MF, Keene DR, Crabb JW, Apte SS. Punctin, a novel ADAMTS-like molecule, ADAMTSL-1, in extracellular matrix. *J Biol Chem*. 2002; 277: 12182-12189.
- Hooper NM. Roles of proteolysis and lipid rafts in the processing of the amyloid precursor protein and prion protein. *Biochem Soc Trans* 2005; 33:335-338.
- Hort J, O'Brien JT, Gainotti G, Pirttila T, Popescu BO, Rektorova I, Sorbi S, Scheltens P. EFNS guidelines for the diagnosis and management of Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*. 2010; 17(10):1236-1248.
- Hotoda N, Koike H, Sasagawa N, Ishiura S. A secreted form of human ADAM9 has an β -secretase activity for app. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2002; 293: 800-805.
- Hynd MR, Scott HL, Dodd PR. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 2004; 45(5):583-595.
- Izumi Y, Hirata M, Hasuwa H, Iwamoto R, Umata T, Miyado K, Tamai Y, Kurisaki T, Fujisawa AS, Ohno S, Mekada E. A metalloprotease-disintegrin, MDC9/meltrin gamma/ADAM9 and PKC delta are involved in TPA induced ectodomain shedding of membrane-anchored heparin-binding EGF-like growth factor. *EMBO J*. 1998;17: 7260-7272.
- Jones GC, Riley GP. ADAMTS proteinases: a multidomain, multi-functional family with roles in extracellular matrix turnover and arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2005; 7:160-169.
- Kashiwagi M, Tortorella M, Nagase H, Brew K. TIMP-3 is a potent inhibitor of Aggrecanase 1 (ADAM-TS4) and Aggrecanase 2 (ADAM-TS5). *J Biol Chem*. 2001; 276:12501-12504.
- Kashiwagi M, Enghild JJ, Gendron C, Hughes C, Caterson B, Itoh Y, Nagase H. Altered proteolytic activities of ADAMTS-4 expressed by C-terminal processing. *J Biol Chem*. 2004; 279:10109-10119.

- Kelley BJ, Petersen RC. Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurol Clin* 2007; 25(3):577-609.
- Kocherhans S, Madhusudan A, Doehner J, Breu KS, Nitsch RM, Fritschy JM. Reduced Reelin expression accelerates amyloid-beta plaque formation and tau pathology in transgenic Alzheimer's disease mice. *J Neurosci*, 2010; 30: 9228-9240.
- Kok E, Haikonen S, Luoto T, Huhtala H, Goebeler S, Haapasalo H, Karhunen PJ. Apolipoprotein E-dependent accumulation of Alzheimer disease-related lesions begins in middle age. *Ann Neurol*. 2009; 65(6):650-657.
- Kolev MV, Ruseva MM, Harris CL, Morgan BP, Donev RM. Implication of complement system and its regulators in Alzheimer's disease. *Curr Neuropharmacol*. 2009; 7(1):1-8.
- Kuhn PH, Wang H, Dislich B, Colombo A, Zeitschel U, Ellwart JW, Kremmer E, Rossner S, Lichtenthaler SF. ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive alpha-secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons. *EMBO J*. 2010; 29:3020-3032.
- Kuno K, Kanada N, Nakashima E, Fujiki F, Ichimura F, Matsushima K. Molecular cloning of a gene encoding a new type of metalloproteinase-disintegrin family protein with thrombospondin motifs as an inflammation associated gene. *The Journal of Biological Chemistry*. 1997; 272(1): 556-562.
- Kuno K, Okada Y, Kawashima H, Nakamura H, Miyasaka M, Ohno H, Matsushima K. ADAMTS-1 cleaves a cartilage proteoglycan, aggrecan. *FEBS Lett*. 2000; 478: 241-245.
- Kveiborg M, Jacobsen J, Lee MH, Nagase H, Wewer UM, Murphy G. Selective inhibition of ADAM12 catalytic activity through engineering of tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (TIMP-2). *Biochem J*. 2010; 430(1):79-86.
- Law A, Gauthier S, Quirion R. Say No to Alzheimer's disease: the putative links between nitric oxide and dementia of the Alzheimer's type. *Brain Res Rev*. 2001; 35(1):73-96.
- Lemarchant S, Pomeshchik Y, Kidin I, Kärkkäinen V, Valonen P, Lehtonen S, Goldsteins G, Malm T, Kanninen K, Koistinaho J. ADAMTS-4 promotes neurodegeneration in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Neurodegener*. 2016; 11:10.
- Lemarchant S, Pruvost M, Montaner J, Emery E, Vivien D, Kanninen K, Koistinaho J. ADAMTS proteoglycanases in the physiological and pathological central nervous system. *J Neuroinflamm*. 2013; 10:133.
- Levy GG, Motto DG, Ginsburg D. ADAMTS13 turns 3. *Blood*. 2005; 106: 11-17.
- Lichtenthaler SF, Haass C, Steiner H. Regulated intramembrane proteolysis--lessons from amyloid precursor protein processing. *J Neurochem* 2011; 117:779-796.
- Lleó A, Greenberg SM, Growdon JH. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annu Rev Med*. 2006; 57:513-533.

- Lopes JP, Oliveira CR, Agostinho P. Cell cycle reentry in Alzheimer's disease: a major neuropathological characteristic. *Curr Alzheimer Res.* 2009; 6(3):205-212.
- Ludwig A, Hundhausen C, Lambert MH, Broadway N, Andrews RC, Bickett DM, Leesnitzer MA, Becherer JD. Metalloproteinase inhibitors for the disintegrin-like metalloproteinases ADAM10 and ADAM17 that differentially block constitutive and phorbol ester-inducible shedding of cell surface molecules. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 2005; 8: 161-171.
- Maccioni RB, Muñoz JP, Barbeito L. The molecular bases of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Arch Med Res.* 2001; 32(5):367-381.
- Maelicke A, Albuquerque EX. Allosteric modulation of nicotinic acetylcholine receptors as a treatment strategy for Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol.* 2000; 393:165-170.
- Manly JJ, Mayeux R. Ethnic differences in dementia and Alzheimer disease. In: Anderson NB, Bulatao RA, Cohen B, editors. *Critical perspectives on racial and ethnic differences in health in late life.* Washington, DC: National Academies Press; 2004. p. 95-142.
- Maretzky T, Reiss K, Ludwig A, Buchholz J, Scholz F, Proksch E, de Strooper B, Hartmann D, Saftig P. ADAM10 mediates e-cadherin shedding and regulates epithelial cell-cell adhesion, migration, and beta-catenin translocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005;102: 9182-9187.
- Markesbery WR. Oxidative stress hypothesis in AD. *Free Radic Biol Med* 1997; 23(1):134-147.
- Matthews RT, Gary SC, Zerillo C, Pratta M, Solomon K, Arner EC, Hockfield S. Brain-enriched hyaluronan binding (BEHAB)/brevican cleavage in a glioma cell line is mediated by a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs (ADAMTS) family member. *J Biol Chem.* 2000; 275:22695-22703.
- Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature* 2004; 430(7000):631-639.
- Mauch C, Zamek J, Abety AN, Grimberg G, Fox JW, Zigrino P. Accelerated wound repair in ADAM-9 knockout animals. *J. Investig. Dermatol.* 2010; 130: 2120-2130.
- Mezentsev A, Nikolaev A, Bruskin S. Matrix metalloproteinases and their role in psoriasis. *Gene.* 2014 ;540(1):1-10.
- Mohandas E, Rajmohan V, Raghunath B. Neurobiology of Alzheimer's disease. *Indian J Psychiatry.* 2009; 51(1):55-61.
- Moss ML, Bomar M, Liu Q, Sage H, Dempsey P, Lenhart PM, Gillispie PA, Stoeck A, Wildeboer D, Bartsch JW, Palmisano R, Zhou P. The ADAM10 prodomain is a specific

- inhibitor of ADAM10 proteolytic activity and inhibits cellular shedding events. *J Biol Chem.* 2007; 282:35712-35721.
- Moss ML, Powell G, Miller MA, Edwards L, Qi B, Sang QX, De Strooper B, Teseur I, Lichtenthaler SF, Taverna M, Zhong JL, Dingwall C, Ferdous T, Schlomann U, Zhou P, Griffith LG, Lauffenburger DA, Petrovich R, Bartsch JW. ADAM9 Inhibition Increases Membrane Activity of ADAM10 and Controls α -Secretase Processing of Amyloid Precursor Protein. *J Biol Chem.* 2011; 86(47):40443-40451.
- Nakamura H, Fujii Y, Inoki I, Sugimoto K, Tanzawa K, Matsuki H, Miura R, Yamaguchi Y, Okada Y. Brevican is degraded by matrix metalloproteinases and aggrecanase-1 (ADAMTS4) at different sites. *J Biol Chem.* 2000; 275:38885-38890.
- Nelson KK, Schlondorff J, Blobel CP. Evidence for an interaction of the metalloprotease disintegrin tumour necrosis factor alpha convertase (TACE) with mitotic arrest deficient 2 (MAD2), and of the metalloprotease-disintegrin MDC9 with a novel MAD2-related protein, MAD2beta. *Biochem J.* 1999; 343: 673-680.
- O'Brien RJ, Wong PC. Amyloid precursor protein processing and alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci.* 2011; 34:185-204.
- Octave JN, Pierrot N. Alzheimer's disease: cellular and molecular aspects. *Bull Acad Natl Med* 2008;192(2):323-331.
- Parry DA, Toomes C, Bida L, Danciger M, Towns KV, McKibbin M, Jacobson SG, Logan CV, Ali M, Bond J, Chance R, Swendeman S, Daniele LL, Springell K, Adams M, Johnson CA, Booth AP, Jafri H, Rashid Y, Banin E, Strom TM, Farber DB, Sharon D, Blobel CP, Pugh EN Jr, Pierce EA, Inglehearn CF. Loss of the metalloprotease ADAM9 leads to cone rod dystrophy in humans and retinal degeneration in mice. *Am J Hum Genet.* 2009; 84: 683-691.
- Pehlivan S, Fedakar R, Eren B , Akyol S , Eren F , Inanir NT, Gurses MS, Ural MN, Tagil SM, Demircan K. ADAMTS4, 5, 9, and 15 Expressions in the Autopsied Brain of Patients with Alzheimer's Disease: A Preliminary Immunohistochemistry. *B Clin Psychopharmacol.* 2016; 26(1):1.
- Plassman BL, Langa KM, Fisher GG, Heeringa SG, Weir DR, Ofstedal MB, Burke JR, Hurd MD, Potter GG, Rodgers WL, Steffens DC, Willis RJ, Wallace RB. Prevalence of dementia in the United States: the aging, demographics, and memory study. *Neuroepidemiology.* 2007; 29:125-132.
- Porter S, Clark IM, Kevorkian L, Edwards DR. The ADAMTS metalloproteinases. *Biochem J.* 2005; 386:15-27.
- Reddy PH, Beal MF. Amyloid beta, mitochondrial dysfunction and synaptic damage:

- implications for cognitive decline in aging and Alzheimer's disease. *Trends Mol Med* 2008;14(2):45-53.
- Reddy VP, Zhu X, Perry G, Smith MA. Oxidative stress in diabetes and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2009; 16(4):763-774.
- Reiss K, Maretzky T, Ludwig A, Tousseyn T, de Strooper B, Hartmann D, Saftig P. ADAM10 cleavage of n-cadherin and regulation of cell-cell adhesion and beta-catenin nuclear signalling. *EMBO J.* 2005; 24: 742-752.
- Rio C, Buxbaum JD, Peschon JJ, Corfas G. Tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme is required for cleavage of erbB4/HER4. *J Biol Chem.* 2000; 275: 10379-10387.
- Rocks N, Paulissen G, El Hour M, Quesada F, Crahay C, Gueders M, Foidart JM, Noel A, Cataldo D. Emerging roles of ADAM and ADAMTS metalloproteinases in cancer. *Biochimie.* 2008; 90:369-379.
- Rogawski MA, Wenk GL. The neuropharmacological basis for the use of memantine in the treatment of Alzheimer's disease. *CNS Drug Rev.* 2003; 9:275-308.
- Rossor MN. The Dementias. In: *Neurology in Clinical Practice.* Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Marsden CD (Eds.). Butterworth-Heinemann, U.S.A;2000 p:1701-1718.
- Saftig P, Reiss K. The "a disintegrin and metalloproteases" ADAM10 and ADAM17: Novel drug targets with therapeutic potential? *Eur. J. Cell Biol.* 2011; 90: 527-535.
- Selekler K. Alois Alzheimer ve Alzheimer Hastalığı. *Turkish Journal of Geriatrics.* 2010; 13:9-14.
- Small DH. Network dysfunction in Alzheimer's disease: does synaptic scaling drive disease progression. *Trends Mol Med* 2008; 14(3):103-108.
- Snyder SH. Nitric oxide and neurons. *Curr Opin Neurobiol.* 1992; 2(3):323-338.
- Sugimoto K, Takahashi M, Yamamoto Y, Shimada K, Tanzawa K. Identification of aggrecanase activity in medium of cartilage culture. *J Biochem.* 1999; 126:449-455.
- Szekely CA, Breitner JC, Zandi PP. Prevention of Alzheimer's disease. *Int Rev Psychiatry* 2007; 19(6):693-706.
- Tang BL, Hong W. ADAMTS: A novel family of proteases with an ADAM protease domain and thrombospondin 1 repeats. *FEBS Lett.* 1999; 445: 223-225.
- Tang BL. ADAMTS: a novel family of extracellular matrix proteases. *Int J Biochem Cell Biol.* 2001, Ocak;33(1):33-44.
- Taylor DR, Parkin ET, Cocklin SL, Ault JR, Ashcroft AE, Turner A, Hooper NM. Role of ADAMs in the ectodomain shedding and conformational conversion of the prion protein. *J Biol Chem.*2009; 284: 22590-22600.
- Topçuoğlu ES, Selekler K. Alzheimer disease. *Turkish J Geriatr.* 1998; 1(2):63-67.

- Tortorella MD, Malfait AM, Deccico C, Arner E. The role of ADAM-TS4 (aggrecanase-1) and ADAM-TS5 (aggrecanase-2) in a model of cartilage degradation. *Osteoarthritis Cartilage*. 2001; 9:539-552.
- Tortorella MD, Burn TC, Pratta MA, Abbaszade I, Hollis JM, Liu R, Rosenfeld SA, Copeland RA, Decicco CP, Wynn R, Rockwell A, Yang F, Duke JL, Solomon K, George H, Bruckner R, Nagase H, Itoh Y, Ellis DM, Ross H, Wiswall BH, Murphy K, Hillman MC Jr, Hollis GF, Newton RC, Magolda RL, Trzaskos JM, Arner EC. Purification and cloning of aggrecanase-1: a member of the ADAMTS family of proteins. *Science*. 1999; 284:1664-1666.
- Tousseyn T, Thathiah A, Jorissen E, Raemaekers T, Konietzko U, Reiss K, Maes E, Snellinx A, Serneels L, Nyabi O, Annaert W, Saftig P, Hartmann D, De Strooper B. ADAM10, the rate-limiting protease of regulated intramembrane proteolysis of Notch and other proteins, is processed by ADAMS-9, ADAMS-15, and the gamma-secretase. *J Biol Chem*. 2009; 284: 11738-11747.
- Vankemmelbeke MN, Jones GC, Fowles C, Ilic MZ, Handley CJ, Day AJ, Knight CG, Mort JS, Buttle DJ. Selective inhibition of ADAMTS-1, -4 and -5 by catechin gallate esters. *Eur J Biochem*. 2003; 270:2394-2403.
- Vural H, Sirin B, Yilmaz N, Eren I, Delibas N. The role of arginine-nitric oxide pathway in patients with Alzheimer disease. *Biol Trace Elem Res*. 2009; 129(1- 3):58-64.
- Wang XP, Ding HL. Alzheimer's disease: epidemiology, genetics, and beyond. *Neurosci Bull*. 2008; 24(2):105-109.
- Wang YQ, Qu DH, Wang K. Therapeutic approaches to Alzheimer's disease through stimulating of non-amyloidogenic processing of amyloid precursor protein. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016; 20; 11: 2389-2403.
- Weskamp G, Cai H, Brodie TA, Higashiyama S, Manova K, Ludwig T, Blobel CP. Mice lacking the metalloprotease-disintegrin MDC9 (ADAM9) have no evident major abnormalities during development or adult life. *Mol. Cell. Biol*. 2002; 22: 1537-1544.
- Williams M. Progress in Alzheimer's disease drug discovery: an update. *Curr Opin Investig Drugs*. 2009; 10(1):23-34.
- Williamson J, Goldman J, Marder KS. Genetic aspects of Alzheimer disease. *Neurologis*. 2009; 15(2):80-86.
- Yamaguchi Y. Lecticans: organizers of the brain extracellular matrix. *Cell Mol Life Sci*, 2000; 57: 276-289.

Yong Bae W, Kook Park S, Hun Kim D, Kyung Koh T, Young Hur D, Won Chueh H. Expression of ADAM17 and ADAM10 in nasal polyps. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2016; 6(7):731-736.

Zhou BB, Peyton M, He B, Liu C, Girard L, Caudler E, Lo Y, Baribaud F, Mikami I, Reguart N, Yang G, Li Y, Yao W, Vaddi K, Gazdar AF, Friedman SM, Jablons DM, Newton RC, Fridman JS, Minna JD, Scherle PA. Targeting ADAM-mediated ligand cleavage to inhibit HER3 and EGFR pathways in non-small cell lung cancer. *Cancer Cell.* 2006; 10(1):39-50.

Zimmermann M, Gardoni F, Marcello E, Colciaghi F, Borroni B, Padovani A, Cattabeni F ve Di Luca M. Acetylcholinesterase inhibitors increase ADAM10 activity by promoting its trafficking in neuroblastoma cell lines. *J Neurochem.* 2004; 90, 1489-1499.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Mehmet Ali			Soyadı	YILMAZ
Doğum Yeri	Muğla	Uyruğu	TC	Doğum Tarihi	05/12/1990
E-mail	mehmetali81@gmail.com			Tel	05547133023

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	...
Lisans	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi	2015

İş Deneyimi

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Pratisyen Hekim	ÇANAKKALE EZİNE DEVLET HASTANESİ	2015-...

Yabancı Dil Sınav Notu[#]

KPDS	ÜDS	YDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE
		60						

A-Uluslararası ve Ulusal Yayınları/Bildirileri/Diğer:

B-Katıldığı Uluslararası ve ulusal konferans ve kongreler:

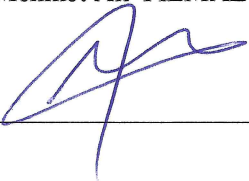

C-Sertifikalar:

- Amerikan Kültür Derneği: İngilizce B2 düzeyi sertifikası
- TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Kamu Hastaneler Kurumu "Acil Tıp Klinik Uyum Eğitim Programı"



SPİRALLİ TEZ KONTROL FORMU

	Evet	Hayır
1) Amblem renkli ve 2x2 cm boyutunda olmalıdır.	✓	
2) Kapakta sadece başlık bold ve 14 punto, diğer yazılar normal renkte ve 12 punto yazılmalıdır.	✓	
3) Tez savunma sınavında kabul edilmiş tezler için, tezin sırtı tez yazım kılavuzuna uygun olarak düzenlenmiş olmalıdır.	✓	
4) Kabul edilmiş tez konusu ile tezin baş sayfasındaki tez konusu aynı olmalıdır.	✓	
5) Beyan eksiksiz ve imzalı olarak Tez Yazım Kılavuzundaki gibi konmalıdır.	✓	
6) Özet ve Summary 250'şer kelimeyi aşmamalıdır. (1 sayfa)	✓	
7) Anahtar kelimeler (en fazla) 5 adet olmalıdır.	✓	
8) İngilizce özetin başında konu başlığı yazılmalıdır.	✓	
9) Metin ve kaynakların tümü 1,5 aralıklı olmalıdır.	✓	
10) Tezde yazım karakteri olarak "Times New Roman" kullanılmalıdır.	✓	
11) Web sayfa kaynakları metin içinde de geçmelidir (parantez içinde güncelleme tarihi ile birlikte). Kaynaklar bölümünde de cümlelerin en sonunda Erişim adresi ve Erişim tarihi sırasıyla verilmelidir.	✓	
12) Çalışmanın Etik Kurul onayı, varsa kurum onayı tezin en arkasına konmalıdır.	✓	

Tarih: 21/01/2020 Mehmet Ali YILMAZ 	Tarih: 21/01/2020 Doç. Dr. M. Hilal ŞEHİTOĞLU 
---	--

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ SİRALLI/CİTLİ TEZ YAZIM KONTROL
LİSTESİ

KONTROL BAŞLIĞI	ÖĞRENCİ	DANIŞMAN
Tez yazımında kullanılan yazı tipi	✓UYGUN	✓UYGUN
Sayfa kenar boşlukları	✓UYGUN	✓UYGUN
Kapak sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
İç kapak sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Onay sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Beyan sayfası içeriği ve düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
İçindekiler sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Teşekkür sayfası	✓UYGUN	✓UYGUN
Türkçe özet	✓UYGUN	✓UYGUN
İngilizce özet	✓UYGUN	✓UYGUN
Simgeler ve kısaltmalar dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Şekiller dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Tablolar dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Tezin ön sayfalarının sıralaması	✓UYGUN	✓UYGUN
Ön sayfaların numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Sayfalarının numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Başlıklarının numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Şekil, resim ve tablo numaralandırması	✓UYGUN	✓UYGUN
Yöntem ve Gereç	✓UYGUN	✓UYGUN
Bulgular	✓UYGUN	✓UYGUN
Tartışma	✓UYGUN	✓UYGUN
Sonuç ve Öneriler	✓UYGUN	✓UYGUN
Kaynaklar	✓UYGUN	✓UYGUN
Atıflar (alıntı ve göndermeler)	✓UYGUN	✓UYGUN
Ekler (etik kurul onayı, vs)	✓UYGUN	✓UYGUN
Tez planı	✓UYGUN	✓UYGUN
Dil (anlatım, yazım –imla)	✓UYGUN	✓UYGUN
Kâğıt ve baskı özelliği	✓UYGUN	✓UYGUN
Tezin son şeklinin elektronik kopyası	✓UYGUN	✓UYGUN
Tarih: 21/01/2020 Mehmet Ali YILMAZ 	Tarih: 21/01/2020 Doç.Dr. M.Hilal ŞEHİTOĞLU 	



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 18920478-050.04.04-E.1800186499
Konu : Başvuru İncelemesi (Doç. Dr. M.
Hilal ŞEHİTOĞLU)

21/12/2018

Sayın Doç. Dr. Müşerref Hilal ŞEHİTOĞLU

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "Alzheimer Hastalığında ADAMTS4, ADAM9 Proteinlerinin Rolü ve Asetilkolinesteraz Aktivitesi İle İlişkisi" başlıklı 2011-KAEK-27/2018-E.1800111153 no'lu projeniz ile ilgili olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun almış olduğu 19.12.2018 tarih ve 22-01 no'lu kararı aşağıdadır.

Bilgilerinize rica ederim.

Karar Tarihi: 19.12.2018

Karar No: 2018-22

Karar01)2011-KAEK-27/2018-E.1800111153 no'lu araştırma ile ilgili olarak, proje yürütücüsü Doç. Dr. M. Hilal ŞEHİTOĞLU'nun çalışması Etik Kurul tarafından değerlendirilmiş olup; yapılan oylamada **“ETİK KURUL ONAYINI ALIR”** kararı verilmiştir.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR
Kurul Başkanı

[Belge Doğrulamak İçin: https://ubys.comu.edu.tr/ERMS/Record/ConfirmationPage/Index](https://ubys.comu.edu.tr/ERMS/Record/ConfirmationPage/Index) adresinden PDATFUC kodu girerek belgeyi doğrulayabilirsiniz.

Adres : Onsekiz Mart Üniversitesi Terzioğlu Yerleşkesi Bilgi İçin İrtibat : Faize Oturan - Sekreter
Çanakkale

e-posta : faizeoturan@comu.edu.tr

Telefon :
Belgegeçer No :
İnternet Adresi :

