



**T.C**

**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

**ALZHEİMER HASTALIĞINDA MIF -173 G>C (RS755622 ) VE  
-794 CATT<sub>5-8</sub> (RS5844572) GEN VARYASYONLARININ  
ANALİZİ**

**Hazırlayan**

**Kübra ŞAHİN**

**Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman**

**Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU**

**TOKAT- 2017**

**ALZHEİMER HASTALIĞINDA MIF -173 G >C (RS755622) VE  
-794 CATT<sub>5-8</sub> (RS5844572) GEN VARYASYONLARININ  
ANALİZİ**

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: 24/08/2017

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Başkan: Doç. Dr. Akın YILMAZ

.....

Üye: Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU

.....

Üye : Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ

.....

Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulunun 08/08/2017 tarih ve 09 sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

Mühür

İmza

Enstitü Müdürü: Prof. Dr. H. Ömer ATEŞ

**T.C.**  
**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE**

Bu belge ile, tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(24/08/2017)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Kübra ŞAHİN

İmzası

**ÖNSÖZ**  
**ALZHEİMER HASTALIĞINDA MIF -173 G>C (RS755622) VE**  
**-794 CATT<sub>5,8</sub> (RS5844572) GEN VARYASYONLARININ**  
**ANALİZİ**

Yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren, manevi desteğini her zaman hissettiğim ve bundan sonraki eğitim hayatım süresince de desteğine ihtiyaç duyacağım danışman hocam **Sayın Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU**'na,

Eğitimim süresince bilgilerinden her zaman faydalandığım Anabilim Dalı Hocalarımız, **Prof. Dr. H. Ömer ATEŞ**, **Yrd. Doç. Dr. Serbülent YİĞİT** ve **Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ**'a, tezimin deney ve yazım aşaması süresince bilgi ve desteklerini esirgemeyen, her konuda sabır ve ilgi ile yaklaşan Anabilim Dalı Asistanlarımız, **Arş. Gör. Nihan BOZKURT**, **Arş. Gör. Saime SEZER SONDAŞ**, **Arş. Gör. Emel ENSARİ** ve eğitimim süresince güzel anlar paylaştığım, maddi ve manevi desteklerini hep hissettiğim sevgili arkadaşlarım **Sema GÜRÜÇ**, **Sümeyya Deniz ÇELİK**, **Çisem Nildem DOĞAN** ve **Sadegül TUNCER**'e, hayatımın her anında bana en büyük sevgi ve hoşgörüyü veren, aileme teşekkürlerimi sunarım...

Kübra ŞAHİN

Tokat, Ağustos 2017

## ÖZET

### ALZHEİMER HASTALIĞINDA MIF -173 G>C (RS755622) VE -794 CATT<sub>5-8</sub> (RS5844572) GEN VARYASYONLARININ ANALİZİ

Demans, bütün dünyada yaşlanan nüfus ve yaşam beklentisinin artması ile giderek yaygınlaşan bir hastalıktır. Yaşlı popülasyonda görülen nörodejeneratif demansların en sık nedeni Alzheimer Hastalığı (AH)'dir. AH'de ortaya çıkan nörodejenerasyonun, hipoksi veya iskemi gibi, beyine yönelik bir saldırıya karşı immün veya inflamatuvar bir yanıt olduğu bulunmuştur. Makrofaj göç inhibe edici faktör (MIF) birçok doku ve hücrede monositler ve makrofajlar dahil bir çok hücre tarafından eksprese edilen proinflamatuvar bir sitokindir. MIF sinyal bileşenleri tıbbi çeşitli alanlarında terapötik müdahale için uygun hedefler olarak kabul edilmiştir. Bu çalışmada MIF promotör bölgesinin iki varyantı olan rs755622 (-173 G>C) ve rs584472 (-794 CATT<sub>5-8</sub>) polimorfik bölgelerindeki değişimlerin AH ile olan olası ilişkisini değerlendirdik. Çalışmaya, AH tanısı alan 170 hasta ve 87 sağlıklı kontrol örneği dahil ettik. MIF -173 G>C polimorfizmi için Real-Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu, -794 CATT<sub>5-8</sub> polimorfizmi için ise Klasik Polimeraz Zincir Reaksiyonu kullandık. MIF rs755622 polimorfizmi için üç, rs5844572 polimorfizmi için beş farklı genotip tespit ettik. Genotip ve allelik dağılım açısından her iki bölge için hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ). Fakat, ikili genotip ve haplotip analizlerinde hasta ve kontrol grubunda anlamlı farklar bulundu. 6/6-GG ikili genotipi hasta grubunda anlamlı derecede daha yüksekti ( $p=0,026$ ). 6/7-GG ve 5/5-GC ikili genotipleri kontrol grubunda anlamlı derecede daha yüksek bulundu (sırasıyla  $p=0,020$  ve  $p=0,04$ ). Sonuçlarımız, MIF genindeki polimorfizmlerin AH ile ilişkili olabileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Alzheimer, MIF, Polimorfizm, Sitokin, Otoimmünite

## ABSTRACT

### ANALYSIS OF MIF -173 G>C (RS755622) AND -794 CATT<sub>5-8</sub> (RS5844572) GENE VARIATIONS IN ALZHEIMER'S DISEASE

Dementia is a group of diseases that are becoming increasingly widespread all over the world due to the aging population. The most common cause of neurodegenerative dementia seen in the elderly population is Alzheimer's Disease (AD). Neurodegeneration in AD, such as hypoxia or ischemia, has been found to be an immunological or inflammatory response to an attack on the brain. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is a cytokine of proinflammatory found in many tissues and cells, such as monocytes and macrophages. MIF associated with acute and chronic inflammation, neoangiogenesis and cancer pathogenesis. In this study, the possible association of changes in the polymorphic regions of the two variants of the MIF promoter region, rs755622 (-173 G>C) and rs584472 (-794 CATT<sub>5-8</sub>), with AD was evaluated. We have investigated 170 patients diagnosed with AD and 87 healthy control samples. The MIF rs755622 polymorphism was investigated by Real-Time PCR method, and rs 5844572 polymorphism by PCR method. Three genotypes for MIF rs755622 polymorphism, and five for rs5844572 polymorphism, were identified. There were no statistical difference between the patient and control groups for both studied regions ( $p > 0,05$ ). But, we have found significant differences between the patient and control group in the binary genotype and haplotype studies. The 6/6-GG binary genotype was significantly higher in the patient group ( $p = 0,026$ ). The 6/7-GG and 5/5-GC binary genotypes were significantly higher in the control group ( $p = 0,020$  and  $p = 0,04$ , respectively). Our results have shown that polymorphisms in the MIF gene may be associated with AD.

**Key Words:** Alzheimer, MIF, Polymorphism, Cytokine, Autoimmunity

## İÇİNDEKİLER

<b>ETİK SÖZLEŞME</b> .....	<b>i</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>ii</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>iii</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ</b> .....	<b>x</b>
<b>1.GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Alzheimer Tanımı ve Tarihçesi .....	3
2.2. Alzheimer Epidemiyolojisi .....	4
2.3. AH’de Tanısal Yöntemler.....	5
2.4. Klinik Belirtileri.....	6
2.5. Alzheimer Patolojisi .....	7
2.6. Risk Faktörleri .....	11
2.6.1. Çevresel Risk Faktörleri .....	11
2.6.2. Genetik Risk Faktörleri.....	14
2.7.1. Senil Plaklar (Amiloid plaklar).....	21
2.7.2. Nörofibriller Yumaklar (NFY) .....	21
2.7.3. Alzheimer ve İnflamasyon Teorisi .....	23
2.8. Alzheimer Tedavisi.....	25
<b>3. SİTOKİNLER</b> .....	<b>26</b>
3.1. MIF .....	28
3.1.1. MIF Sinyal Yolağı .....	29
3.1.2. MIF Gen Yapısı ve Hastalıklarla İlişkisi .....	31
3.1.3. MIF ve AH ilişkisi .....	35
<b>4. MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>37</b>
4.1. ÇALIŞMA GRUPLARI .....	37
4.1.1. Etik Kurul İzni ve Bilgilendirilmiş Onam .....	37
4.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN ALET ve CİHAZLAR .....	37
4.3. ÇÖZELTİLER .....	38

4.3.1. Agaroz jel hazırlanmasında kullanılan kimyasallar;	38
4.3.2. Agaroz Jel Hazırlanmasında Kullanılan Çözeltiler;	39
4.4. PERİFERİK KAN LÖKOSİTLERİNDEN DNA İZOLASYONU	39
4.4.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Sarf Malzemeler	39
4.4.2. Kandan DNA İzolasyonunda Kullanılan Protokol	40
4.5. KANTİTATİF REAL-TİME POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (qPZR).	41
4.5.1. Tagman Hidroliz Prob Tekniği	42
4.5.2. DNA'nın Kantitatif Tayini	42
4.5.3. MIF rs755622 (-173 G>C) Polimorfizminin Real-Time PZR ile Kantitasyon	43
4.6. MIF -794 CATT <sub>5-8</sub> (RS5844572) STR BÖLGESİ İÇİN KLASİK POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU	44
4.7. AGARUZ JEL ELEKROFOREZİ	46
4.8. DNA DİZİLEME	47
4.8.2. PZR Ürünlerinin Saflaştırılması:	51
4.9. İSTATİSTİKSEL BULGULAR	52
<b>5. ARAŞTIRMA BULGULARI</b>	<b>52</b>
5.1. ARAŞTIRMA GRUBUNA AİT BULGULAR	53
5.2. DNA'NIN KALİTATİF TAYİNİ	54
5.3. MIF -173 G>C (rs755622) POLİMORFİZMİNE AİT REAL- TİME PZR VERİLERİ	54
5.4. MIF -173 G>C LOKUSUNUN İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI	55
5.5. MIF -794 CATT <sub>5-8</sub> (rs5844572) POLİMORFİZMİNİN KLASİK PZR VERİLERİ	56
5.6. MIF -794 CATT <sub>5-8</sub> İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI	58
<b>6. TARTIŞMA ve SONUÇ</b>	<b>62</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>85</b>



## TABLOLAR LİSTESİ

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 4.1.</b> Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar .....	38
<b>Tablo 4.2.</b> Real- Time PZR Bileşenler ve Miktarları.....	43
<b>Tablo 4.3.</b> MIF -794 CATT <sub>5-8</sub> Bölgesi için Kullanılan Primer ve PZR Ürün Boyları.....	45
<b>Tablo 4.4.</b> Çalışmada Kullanılan Klasik PZR Bileşenleri ve Miktarları.....	45
<b>Tablo 4.5.</b> MIF -794 CATT <sub>5-8</sub> Bölgesi için Kullanılan PZR Programı.....	46
<b>Tablo 4.6.</b> PCR Bileşenleri.....	51
<b>Tablo 4.7.</b> PCR Programı.....	51
<b>Tablo 4.8.</b> Sekans PZR Bileşenleri.....	52
<b>Tablo 4.9.</b> Sekans PZR Programı.....	53
<b>Tablo 5.1.</b> Tez Çalışmasında Yer Alan Hasta ve Kontrol Gruplarının Cinsiyete Göre Dağılımı.....	54
<b>Tablo 5.2.</b> Tez Çalışmasında Yer Alan Hasta ve Kontrol Gruplarının Yaşa Göre Dağılımı.....	54
<b>Tablo 5.3.</b> -173 G>C polimorfizmine ait genotip ve allel dağılım verileri.....	57
<b>Tablo 5.4.</b> -794 CATT <sub>5-8</sub> polimorfizmine ait genotip ve allel dağılım verileri.....	60
<b>Tablo 5.5.</b> Hasta ve kontrol gruplarının MIF -173 G>C ve MIF -794 CATT <sub>5-8</sub> ikili genotip karşılaştırması.....	61
<b>Tablo 5.6.</b> Hasta ve kontrol gruplarının MIF -173 G>C ve MIF -794 CATT <sub>5-8</sub> allel birlikteliği karşılaştırması ve sıklıkları.....	62

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Türkiye’de Yaşlanmanın Demografisi.....	4
Şekil 2.2. 2010 yılından 2050 yılına kadar Birleşik Devletlerde AH Bulunan Tahmini İnsan Sayısı.....	5
Şekil 2.3. Sağlıklı Bir Beyin (solda) ve Alzheimer'in (sağdaki) Son Safhalarında Geniş Bir Atrofi Bulunan Bir Beyin Kesiti.....	8
Şekil 2.4. Senil Plaklar .....	9
Şekil 2.5. NFY’lar .....	10
Şekil 2.6. Alzheimer ve Demans Risk Faktörleri.....	11
Şekil 2.7. Yaş ve AH .....	12
Şekil 2.8. APOE Geninin e2, e3 ve e4 Varyantlarının ABD Nüfusundaki Tahmini Yüzdeleri.....	16
Şekil 2.9. AH’de Görülen Beta Amiloid Oluşum Mekanizması.....	18
Şekil 2.10. PS ve APP’nin Membran Topolojisi .....	19
Şekil 2.11. AH İle ilişkilendirilen Genler.....	21
Şekil 2.12. Mikrotübül Asosiye Tau Proteinin NFY’ye Evrimi .....	23
Şekil 2.13. Nörodejenerasyon Mekanizması .....	24
Şekil 2.14. Nöroinflamasyon Mekanizması .....	25
Şekil 2.15. AH’nin Yerleşik ve Potansiyel Tedavi Stratejileri.....	26
Şekil 3.1. Enflamasyonlu Beyine Sitokin Salınımı .....	28
Şekil 3.2. MIF Sinyal Yolağı .....	30
Şekil 3.3. MIF Kromozom Yerleşimi .....	32
Şekil 3.4. MIF Promotör Polimorfizmleri .....	32
Şekil 3.5. İnsan MIF Geninin Birincil Yapısal Şeması .....	32
Şekil 4.1. Taqman Hidroliz Prob Tekniği.....	42

<b>Şekil 4.2.</b> MIF -173 G>C Bölgesi için Kullanılan PZR Programı.....	44
<b>Şekil 4.3.</b> MIF -794 CATT <sub>5-8</sub> Bölgesine Ait %5'lik Jel Görünümleri.....	47
<b>Şekil 4.4.</b> Sanger Yöntemi.....	49
<b>Şekil 4.5.</b> Dizi Analizi.....	50
<b>Şekil 4.6.</b> %1'lik Jel Görüntüsü.....	51
<b>Şekil 5.1.</b> Genomik DNA'nın Agaroz Jelde Yürütülmesi .....	55
<b>Şekil 5.2.</b> MIF -173 G >C Polimorfizminin Hasta Bireylerdeki Allel Spesifik Genotiplendirilme Grafiği .....	56
<b>Şekil 5.3.</b> Dizileme Sonucu Elde Edilen ve Marker Olarak Kullanılan 5 Tekrara Ait Dizileme Görüntüsü .....	58
<b>Şekil 5.4.</b> Dizileme Sonucu Elde Edilen ve Marker Olarak Kullanılan 6/7 Tekrara Ait Dizileme Görüntüsü.....	58
<b>Şekil 5.5.</b> Markerlerin Agaroz Jelde Gösterilmesi.....	59

## KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

### Kısaltmalar

**AAH:** Ailesel Alzheimer Hastalığı

**ADRDA:** Alzheimer hastalığı ve İlişkili

Bozukluklar Derneği

**AH:** Alzheimer

**AP-1:** Aktive edici protein

**APC:** Antijen sunan hücreler

**APOE:** Apolipoproteini E

**APP:** Amloid prekürsör protein

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

**BACE:** Beta – bölgesi APP bölücü

**BBB:** Kan Beyin Bariyeri

**BOS:** Beyin omurilik sıvısı

**BT:** Bilgisayarlı Tomografi,

**CAA:** Serebral Amiloid Anjiopati

**c-Jun:** Jun onkogen

**DSM:** Tanısal ve Sayımsal El Kitabı

**DSÖ:** Dünya Sağlık Örgütü

**EBAH:** Erken başlangıçlı Alzheimer

**EDTA:** Etilendiamin Tetra Asetik Asit

**GIF:** Glikozilasyon – inhibe edici faktör

**GM- CSF:** Granulöz makrofaj uyarıcı faktör

**IL:** İnterlökin

**MAP:** Mikrotübül Asosiye Protein

**MIF:** Makrofaj İnhibitör Faktör

**MR:** Manyetik Rezonans

**MS:** Multiple Skleroz

**MSS:** Merkezi Sinir Sistemi

**NFQ:** Non- floresan söndürücü

**NFY:** Nörofibriler Yumak

**NINCDS:** Ulusal Alzheimer ve İnme Enstitüsü

**PHF:** Çift helikal filament

**PS 1 ve 2:** Presenilin 1 ve 2

**PZR:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu

**qPZR:** Real-Time PZR

**RA:** Romatoid Artrit

**SNP:** Tek Nükleotit Polimorfizmi

**SP:** Senil plak

**FAD:** Ailesel AH

**FTD:** Frontotemporal demans



**Simgeler****bç:** Baz Çifti**°C:** Santigrat Derece**gr:** Gram**HCL:** Hidrojen Klorür**kb:** Kilo Baz**kDa:** Kilo Dalton**µg:** Mikrogram**mg:** Miligram**MgCl<sub>2</sub>:** Magnezyum Klorür**ml:** Mililitre**µl :** Mikrolitre**mM:** Milimolar**NaOH:** Sodyum Hidroksit**rpm:** Dakikadaki Devir**sn:** Saniye**U:** Ünite**V:** Volt

## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

Alzheimer hastalığı (AH), beyin işlevlerinde belirgin bozulmaya yol açan, ön planda unutkanlığın olduğu ancak zaman içinde belirgin davranış bozuklukları ve fiziksel kısıtlılıkların eşlik ettiği nörodejeneratif bir hastalık olup, demansın en sık görülen nedenidir (TPD, 2014). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre günümüzde 47,5 milyon kişi demans tanısı almakla birlikte, her yıl 7,7 milyon yeni vaka kaydedilmektedir. Demans vakalarının yaklaşık olarak % 60-70'i AH'ye bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (WHO, 2015).

Epidemiyolojik çalışmalara göre AH çevresel ve genetik faktörlerin etkili olduğu genetik bir hastalıktır (Nazliel, 1999; Mutter ve ark., 2004; De-Paula ve ark., 2012). Otozomal dominant geçişin mevcut olduğunu gösteren olguların bulunması AH etiyolojisinde genetik faktörlerin etkisini ortaya koymuştur (Nazliel, 1999). Bununla birlikte ileri yaş, cinsiyet, ailede AH öyküsü bulunması AH'de rol aldığı düşünülen çevresel faktörlerden birkaçıdır (Calapoğlu ve Calapoğlu, 2009).

AH'de ortaya çıkan nörodejenerasyonun, hipoksi veya iskemi gibi, beyine yönelik bir saldırıya karşı immün veya inflamatuvar bir yanıt olduğu düşünülmektedir. AH, beyindeki dejenerasyona bağlı olarak sitokin denem ve bedeninin savunma düzeneklerini uyaran proteinlerde hızlı bir artışa sebep olmaktadır (Clarkson ve Sutherland, 2005).

MIF (Macrophage migration inhibitory factor- Makrofaj göçü önleme faktörü) doğal ve kazanılmış bağışıklık tepkilerinin inflamatuvar mediatörü olan ve lenfositler tarafından salgılanan bir sitokindir (Calandra ve ark., 1994; Sontas ve ark., 2001; Aeberli, Leech ve Morand, 2006). MIF proinflamatuvar fonksiyonlarının yanında enfeksiyon ve inflamasyon bölgelerinde ihtiyaç duyulan lökositlerin o bölgeye yönlendirilmesini sağlar. MIF bu fonksiyonları sebebiyle ateroskleroz, otoimmün, kanser ve metabolik hastalıklarda önemli bir rol oynar (Zhao ve Yao, 2014).

Literatür taraması sonucunda MIF ve AH arasında yapılan çalışmaların az olduğu, bu durumun farklı etnik kökene sahip bireylerde araştırılmadığı gözlemlendi. Ayrıca MIF'e ait -794 CATT<sub>5-8</sub> polimorfizmi ile AH arasında olası ilişkiyi araştıran bir çalışmanın bulunmadığı saptandı. Yapacağımız çalışma ile Türk toplumunda MIF geni -173 G>C (rs755622) ve -794 CATT<sub>5-8</sub> (rs5844572) varyasyonlarının AH ile olası ilişkisinin araştırılması amaçlandı.





## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. AH Tanımı ve Tarihçesi

AH, beyin sinir hücrelerine veya nöronlara saldıran, bilişsel işlev yetersizliklerinin meydana geldiği (bellek kaybı), düşünce, dil becerileri, ruh ve davranış değişiklikleri ile sonuçlanan ilerleyici, progresif nörodejeneratif bir hastalıktır (<http://www.alzfdn.org/AboutAlzheimers/definition.html>; Özkay ve ark., 2011).

AH farklı moleküler genetik birlikteliklerine göre 5 ayrı grupta incelenir;

1. Sporadik geç başlangıçlı AH (en yaygın),
2. Ailesel geç başlangıçlı AH (az yaygın),
3. Ailesel erken başlangıçlı AH (nadir),
4. Down sendromu ile birlikte olan AH,
5. Diğer dejeneratif hastalıklarla birlikte olan AH (Sezer ve Memiş., 2001).

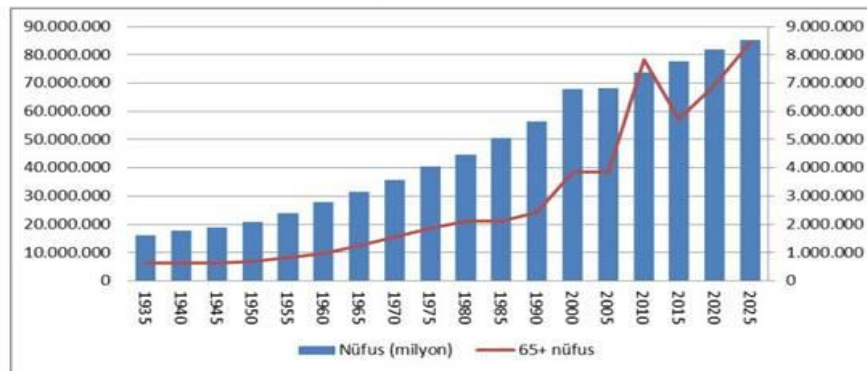
Bir klinik psikiyatrist ve nöroanatomi uzmanı olan Alois Alzheimer, 1906 yılında Tubingen'deki 37. Güney Batı Alman Psikiyatristleri Toplantısında ilk defa "serebral korteksin kendine özgü şiddetli bir hastalık süreci" olarak tanımladığı AH'den bahsetti ve 50 yaşındaki bir kadını tanımladı (Hippius ve Neundörfer, 2003). Alois Alzheimer'in ilk hastasında kocası ile ilgili aşırı kıskançlık belirtileri gözlenmekteydi (Eker, 2008). 5 yıl boyunca ölümüne kadar paranoya, ilerleyici uyku ve hafıza bozukluğu, saldırganlık ve karışıklığa olan ilgisini izledi. Ölümünden sonra yapılan otopsi raporunda beyin histolojisinde belirgin plaklar ve nörofibriler yumaklar gözlemlendi. Alzheimer, 1909'da üç vaka daha yayınladı ve 1911'de yeniden psikolojik muayene olan "plakalı" bir varyasyon yayınladı. Alzheimer, Breslau'daki psikiyatri başkanlığını kazanmasının hemen ardından 51 yaşında, 1915'te öldü (Hippius ve

Neundörfer, 2003). Dr. Alois Alzheimer'in verilerine dayanarak hastalığa "Alzheimer" adını klinik şefi Dr. Emil Kraepelin verdi (Eker, 2008).

## 2.2. AH Epidemiyolojisi

Nörodejeneratif demansların en sık nedeni AH olmakla birlikte tüm demans hastalarının %75'inden sorumludur (Decker ve Muñoz-Torrero, 2016). AH, dünyada 20-30 milyon kişiyi etkileyen, gelişmiş ülkelerde kalp problemleri, kanser ve inmeden sonra ölüme neden olan hastalıklar arasında dördüncü sıradadır (Adlard ve ark., 2005; Eker, 2008). Genel olarak AH'nin prevalansı 65 yaş üstü kişilerde %3-5 iken 85 yaş üstü kişilerde %50'dir (Coon ve ark., 2007; Rege, 2014). Dünyada gelişmiş ülkelerde 65 yaş ve üstü 146 milyon kişinin bulunduğu tahmin edilmektedir ve bu yaş grubunun 2030 yılında 1,4 milyar civarında olacağı düşünülmektedir. DSÖ'nün tahminlerine göre, Türkiye'nin yüzyılın ilk yarısında toplam nüfusu artmaya devam edecek ve 2050 yılına kadar 103 milyonu aşacaktır. Türkiye nüfusunun %4,5'ini 1997 yılında 65 yaş üstü bireyler oluştururken, bu oran 2050 yılında %20,2'ye kadar yükselecektir. Bu büyümeden ötürü demans ve hafif kognitif bozukluk sayısı artacaktır (Şekil 2.1.). Görülen demans vakalarının da %50-70'i AH vakalarıdır ve AH sıklığı her beş yılda bir iki katına çıkmaktadır (Ertekin ve ark., 2015).

Türkiye'de Yıllar İtibariyle Nüfus ve Yaşlı Nüfus Büyüklüğü  
(1935-2025)

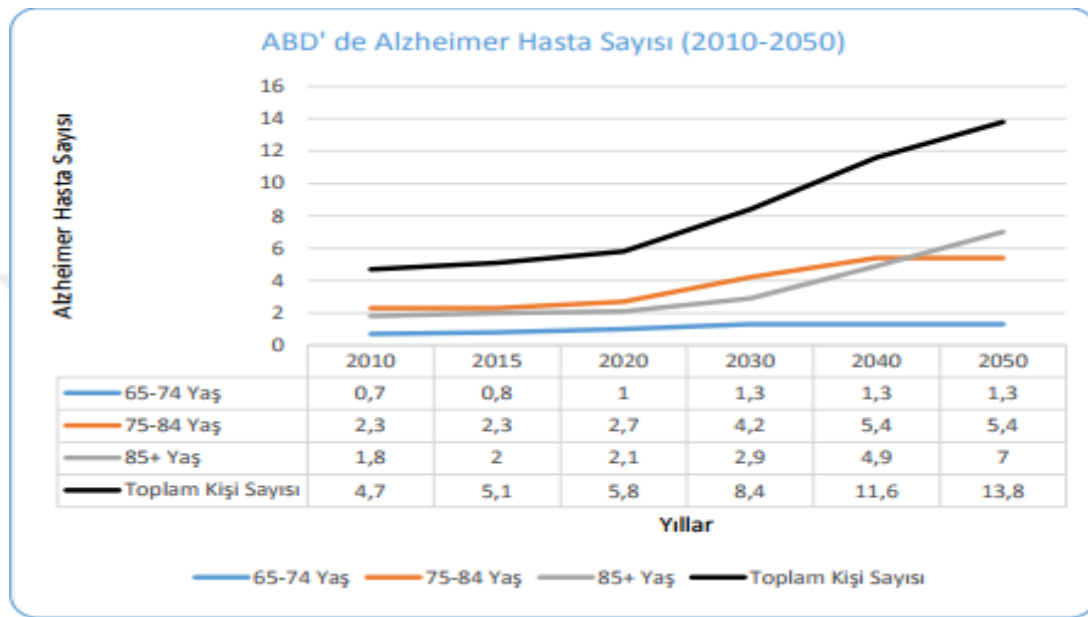


Amme İdaresi Dergisi, Cilt 48, Sayı 1, Mart 2015, s. 35-87. TÜİK verileri

Şekil 2.1. Türkiye'de yaşlanmanın demografisi (Günsoy ve Tekeli, 2015)

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 1997'de AH olan kişi sayısı 2,32 milyon iken, bu sayı 2013 yılında 5,2 milyona çıkmıştır ve 2050 yılına kadar 8,64 milyona

ulaşması beklenmektedir (Şekil 2.2.), (Alzheimer's Disease Facts and Figures., 2013; Polat ve Kumral, 2010). AH'nin tedavisine yönelik yöntemler bulunmadıkça, kişi ve ailenin yaşam kalitesi olumsuz etkilenmekle birlikte dünya çapında önemli bir sağlık ve ekonomik sorun oluşturmaktadır (Polat ve Kumral, 2010; Decker ve Muñoz-Torrero, 2016).



**Şekil 2.2.** 2010 yılından 2050 yılına kadar Birleşik Devletlerde bulunan tahmini AH insan sayısı (<https://www.tkhk.gov.tr>)

### 2.3. AH'de Tanısal Yöntemler

1983 sonbaharında Ulusal AH ve İnme Enstitüsü (NINCDS) ve AH ve İlişkili Bozukluklar Derneği (ADRDA) tarafından kriterlerin oluşturulması ve AH'nin klinik tanıların tanınması için bir grup toplandı. Grup, tıbbi geçmişi, klinik muayene, nöropsikolojik test ve laboratuvar değerlendirmeleri konularını ele almış ve daha sonra Temmuz 1984'te yayınlanan bir rapor üretmiştir. Sıklıkla NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) kriterleri olarak adlandırılan bu rapordaki kriterler oldukça başarılı olmuştur. Bu tanı kriterleri 27 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Bu kriterler muhtemel AH tanısı için güvenilir olmuştur ve bir

düzineden fazla klinik patolojik çalışmada % 81 duyarlılık ve % 70 özgüllük görülmüştür (McKhann ve ark., 2011). Bir diğer ölçüt ise AH için pratik bir referans noktası sağlayan Teşhis ve İstatistiksel El Kitabı (Diagnostic and Statistical Manual) (DSM)'dir. Alzheimer tipi demans için DSM kriterleri; afazi, apraksi, agnozi veya yürütücü işlev bozukluğu gibi bir veya daha fazla bilişsel alanın bozulmasına eşlik eden hafıza bozukluğunun gelişimini içerir. Kognitif bozukluklar, kademeli olup, işlevsel becerileri bozacak derecede ciddidir ve diğer nörolojik veya psikiyatrik bozukluklar tarafından hesaplanamaz. Amerikan Nöroloji Akademisi uygulama parametresi bu kriterlerin güvenilir olduğunu bulmuştur. Bu ölçütlerden faydalanılarak yaşlanma için normal olanın ötesinde hafıza bozukluğu, dikkat, dil, görsel mekansal beceriler veya problem çözme gibi en az bir diğer bilişsel alanın bozulup bozulmadığı değerlendirilebilir ve hekim tarafından AH tanısı konulabilir. Amerikan Nöroloji Akademisi uygulama parametresi, subdural hematoma, neoplazma ve inme gibi potansiyel olarak tedavi edilebilen yapısal lezyonları hariç tutmak için başlangıç olarak AH değerlendirmesinde çoğu durumda bilgisayarlı tomografi (BT) veya manyetik rezonans (MR) yapılmasını önermektedir. Bunlar dışında SPECT-PET (tek foton emisyon tomografi- pozitron emisyon tomografi), AH tanısında yararlı bir yardımcı olabileceği ve AH'yi frontotemporal demans ile ayırt etmede kullanılabileceği söylenmektedir (Kelley ve Petersen, 2007).

#### **2.4.AH'nin Klinik Belirtileri**

AH, başlangıcı sinsi olan bir hastalık olmakla birlikte başlangıç belirtilerinin farkedilemediği ve bilişsel işlevlerdeki azalmanın yavaş yavaş geliştiği bir hastalıktır (Özbakır ve Aydın, 1999). Alzheimer, insanları farklı şekillerde etkiler, fakat en çok rastlanan semptom yeni bilgilerin hatırlanması kabiliyetinin giderek kötüleşmeye başlamasıdır (Alzheimer's disease facts and figures, 2012). Hastalık erken (başlangıç), orta ve geç evrelere ayrılır (Şahin, 2009). AH'nin hafif evresinde, hastalar ilk önce kısa süreli belleklerini kaybeder. Son yıllardaki olayları unutmak eğiliminde iken, yıllar önce yaşanan olayları hala hatırlarlar. Basit hesaplama ve günlük organizasyon giderek

zorlaşmaktadır. Sosyal faaliyetler için giderek pasif hale gelirler ve bazıları depresyon ve kaygı geliştirme eğilimindedir (Sun ve Zhang, 2011). Sorunları planlama veya çözümede zorluklar yaşamaya başlar, önemli tarihleri veya olayları unuttur veya aynı bilgiyi defalarca tekrarlarlar. Aile içi görevlerde, evde, eğitimde, işte dikkat eksiklikleri ve zorlanmalar başlar (Alzheimer's disease facts and figures, 2012; Alzheimer's disease facts and figures 2016). Bu aşamada, hastaların çoğu hala normal günlük aktivitelerini sürdürebilir durumdadırlar (Sun ve Zhang, 2011). Hastalar bu evrede kısmen bağımsızdırlar (Şahin, 2009). Hafif evre genellikle 2-3 yıl sürer (Sun ve Zhang, 2011). Erken dönem bulguları çok belirgin olmamakla birlikte aile bireyleri tarafından da farkedilmesi güçtür (Alzheimer's disease facts and figures, 2016).

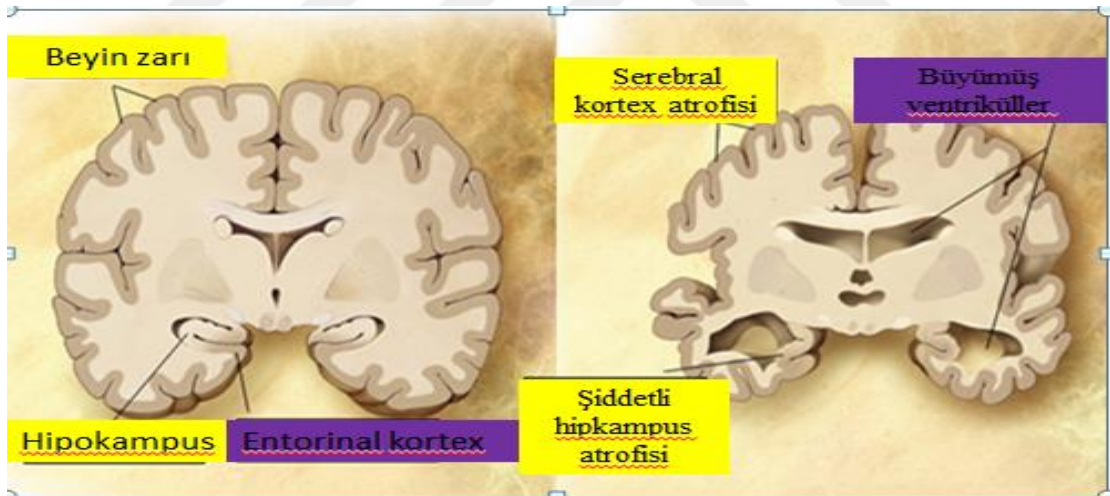
Semptomların hafif ile orta şiddetli arasında ilerleme hızı insandan insana farklılık gösterir. Hastalık ilerledikçe, bilişsel ve işlevsel yetenekler azalmakta, konuşma ve yazma bozuklukları, görsel-uzamsal işlev bozuklukları gibi değişiklikler de ortaya çıkmaktadır (Alzheimer's disease facts and figures, 2016). İleri aşamalarda, insanlar günlük yaşamın temel aktivitelerine, örneğin banyo yapmak, giyinmek, yemek yemek ve tuvaleti kullanmak gibi konularda yardıma ihtiyaç duymaya başlarlar, iletişim yeteneklerini kaybederler, sevdiklerini tanımakta başarısız olurlar ve yatağa bağımlı olarak 24 saat bakıma ihtiyaç duyarlar (Alzheimer's disease facts and figures, 2016). Hastalığın ortalama yaşam süresi tanı konulduktan sonra 8,1 (5-20) yıldır (Selekler, 2010). En çok karşılaşılan ölüm nedenleri pnömonidir (Alzheimer's disease facts and figures, 2016 ).

## **2.5. AH'nin Patolojisi**

Hastalığın patogenezinde rol oynayan faktörleri açıklığa kavuşturmak için A $\beta$  hipotezi, tau hipotezi,  $\beta$ -kolinerjik hipotez ve nöroinflamasyon hipotezi gibi birkaç hipotez öne sürülmüştür (Honarvar, 2016). Kronik ve ilerleyici nörodejeneratif bozukluklar, motor, duyu veya bilişsel sistemlerde seçici ve simetrik nöron kaybıyla karakterizedir. Tüm nörodejeneratif bozuklukların en yaygın özelliği, misfolding, agrega veya ubiquitinasyona uğramış proteinlerin intra veya ekstraselüler birikimiyle oluşan beyin lezyonlarının ortaya çıkmasıdır. AH, Parkinson ve Hungtinton gibi bazı

nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili proteinlerde, sırasıyla, tau/ $\beta$ -amiloid ( $A\beta$ ),  $\alpha$ -sinüklein ve huntingtin gibi, birikimler görülmüştür (Chaudhuri ve Paul, 2006).

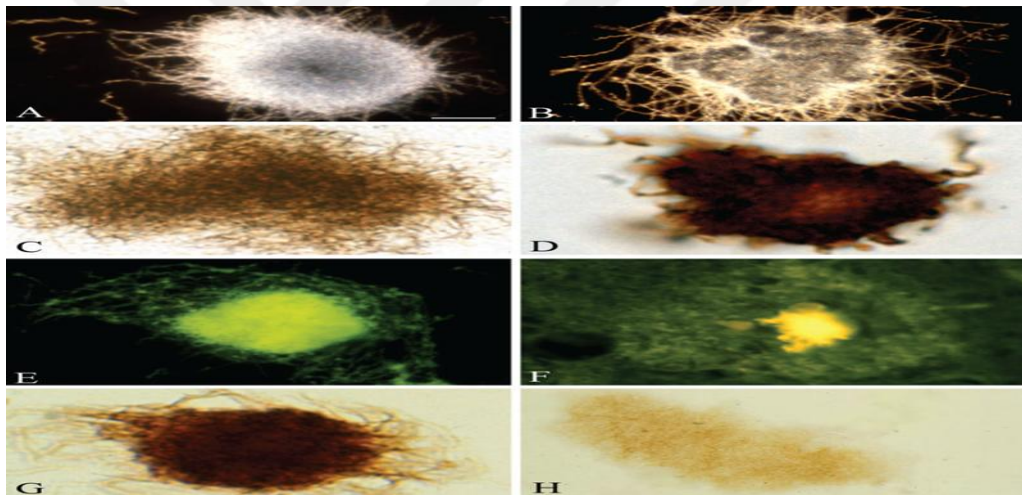
AH'nin makroskopik patoloji bulguları, özellikle korteks ve hipokampusta diffüz atrofidir (Şekil 2.3.), (Selekler, 1998). AH, frontal lob ve temporal lob, entorhinal korteks ve hipokampusu da içeren neokorteksteki nöronları etkiler. Kolinerjik nöronlar gibi limbik alanlar ve amigdala'daki nöronlar, talamusun ön çekirdeği, raphe ve lokus coeruleus da etkilenir. Beyinde etkilenen ilk alanın entorhinal korteks olduğu ve daha sonra nörodejenerasyonun hipokampus ve korteksi etkilediği düşünülmektedir (Sun ve Zang, 2011). Histolojik olarak ise anormal fosforile tau proteini ile beta amiloid peptid çökmesi ve hücre içi yerleşimli nörofibriller yumaklar ile hücre dışı yerleşimli senil plaklar, granülovakuolar dejenerasyon, sinaptik kayıp ve Meynert'in bazal nükleusu, hipokampus, asosiasyon korteksinde kolinerjik hücre kaybı, patoloji bulgularını oluşturur (Selekler 1998; Yerer ve ark., 2012; Nussbaum ve ark., 2013).



**Şekil 2.3.** Sağlıklı bir beyin (solda) ve Alzheimer'ın (sağdaki) son safhalarında geniş bir atrofi bulunan bir beyin kesiti

([http://thebrain.mcgill.ca/flash/d/d\\_08/d\\_08\\_cr/d\\_08\\_cr\\_alz/d\\_08\\_cr\\_alz.html](http://thebrain.mcgill.ca/flash/d/d_08/d_08_cr/d_08_cr_alz/d_08_cr_alz.html))

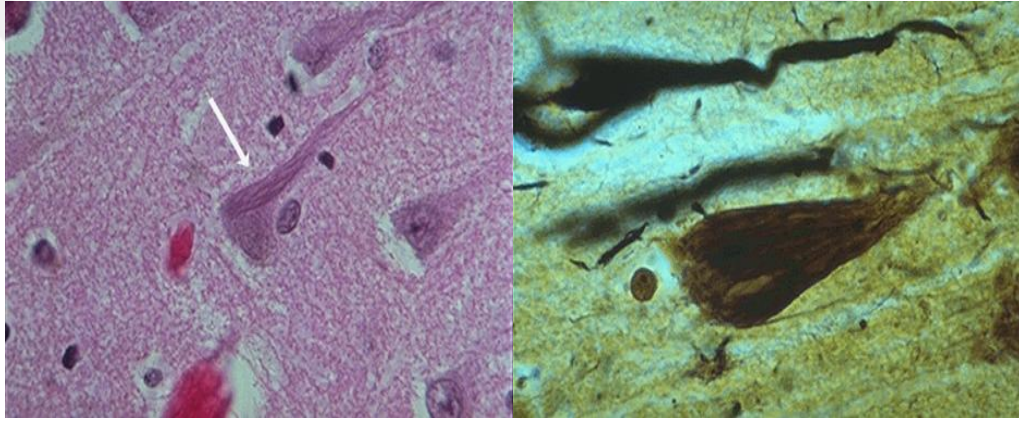
**Senil plaklar**, yaşlı bireylerin ve Alzheimer hastalarının beyinlerinde bulunan en belirgin nöropatolojik değişiklikler arasındadır. Senil plakların tüm alt tipleri, amiloid beta proteini adı verilen birçok yerde bulunan proteinlerden oluşur. Moleküler klonlama çalışmaları amiloid proteininin daha büyük bir prekürsör proteinden (amiloid öncü protein, APP) türetildiğini göstermiştir. Amiloid öncü protein en az üç izoformda bulunur. Bunlar alternatif olarak, kromozom 21'deki tek bir genin kopyalanan transkriptleridir. Klasik senil plak, distrofik nevritik süreçler ve glial hücrelerle çevrelenmiş merkezi bir amiloid çekirdeği içeren kompleks bir lezyondur (Şekil 2.4.), (Pappolla ve ark., 1992).



**Şekil 2.4.** Senil plaklar (Miklossy, 2016) (A)Enfekte olmuş keneden yetiştirilen referans suş B31'in saf B. burgdorferi biyofilmlerinin karanlık alan mikroskobu görüntüleri, (B) Teyit edilmiş kronik Lyme nöroborreliozu olan bir AH hastasının beyninden yetiştirilen ADB1 suşu, (C) ADB2 suşunun Saf B. burgdorferi biyofilmi spiroketlerin saptanması için Warthin ve Starry silver tekniği ile renklendirilmiştir. (D) Pozitif immünreaktivasyon sergileyen anti-OspA monoklonal antikör ile immüno-reklendirme yapılmış ADB2 suşunun Saf B. burgdorferi biyofilmi. (E) In vitro ortamda ADB2 suşunun B. burgdorferi biyofilminin yeşil tioflavin S floresan ile oluşturulmuş şekli. (F) Bir AH hastasının ön korteksindeki bir yaşlılık plakasının thioflavin S floresansı ile gösterimi. (G) In vitro olarak oluşturulmuş B. burgdorferi biyofilm (suş B31) immüno-baskılayıcı APP. (H) ADB1 suşunun in vitro ortamda B. burgdorferi biyofilmi, pozitif bir A immüno-reaksiyon sergilemektedir)



AH beyinlerinde, senil plakların yanı sıra, bir başka çarpıcı patolojik özellik hücre içi yerleşimli **nörofibriler yumaklardır (NFY)** (Şekil 2.5.), (Sun ve Zang, 2011). Nörofibriler yumaklar, nörodejeneratif hastalıkları olan hastaların beyinlerinde en sık rastlanan intranöronal inkübasyondur ve nöronal ölümü ve kognitif defisitleri yönlendirmeye ilişkilendirilmiştir (Cruz ve ark., 2005). Nörofibriler yumaklar ilk kez Alois Alzheimer tarafından özgün otopsi olgusunda piramidal nöronların perikaryal bölgesindeki intranöronal filamentöz inklüzyonlar olarak tanımlanmıştır. Cruz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmaya göre, insanlarda ve farelerde, nöron kaybı, beyin disfonksiyonu ve NFY'ler arasındaki ilişki, NFY'lerin değişmez bir şekilde beyin işlev bozukluğuna ve nörodejenerasyona neden olduğu yönündedir (Cruz ve ark., 2005).



**Şekil 2.5.**NFY'ler (<http://library.med.utah.edu/WebPath/CNSHTML/CNS094.html>)

(<http://library.med.utah.edu/WebPath/CNSHTML/CNS097.html>)

AH'de, bireylerin beyinlerindeki başlıca nöropatolojik bulgulardan bir diğeri de hem neokorteks hem de hipokampusta sinaptik temasların kaybedilmesidir (Scheff ve ark., 2006). Nöritik plaklarda, oluşmuş amiloidin veya çözünür beta peptidin toksik etkilerinden kaynaklanabilen ciddi sinaps kaybı vardır. Fakat plaklar korteks hacminin sadece % 5 ila % 10'unu kaplar, bu nedenle plaklar ve bunların fibriller amiloidleri, kayıp terminallerin yalnızca küçük bir kısmını oluşturur. Bu sinaptik azalma, elektron mikroskopik konfigürasyon ile görülemeyecek kadar amiloid fibriller arasına ve neokortikal nöropiller boyunca eşit olarak dağılır (Robert ve Terry, 2000).



## 2.6. AH İçin Risk Faktörleri

AH'nin nedenleri bugüne kadar net bir şekilde aydınlatılamamıştır. AH'nin genetik anormalliklerden kaynaklanan vakaları hariç olmak üzere, uzmanlar AH'nin diğer yaygın kronik hastalıklar gibi tek bir nedenden ziyade birden çok faktörün sonucu olarak geliştiğine inanmaktadırlar (Alzheimer's Disease Facts and Figures, 2016). AH gelişiminde çevresel ve genetik faktörler etkilidir (Almeida ve Shimokomaki, 1997). AH gelişiminde belirtilen kesin risk faktörü ileri yaş olmakla birlikte (Özkay ve ark., 2011), özellikle erken başlangıçlı AH durumunda aile öyküsü ve çeşitli genetik faktörlerin (ApoE (Apolipoprotein E)  $\epsilon$ 4 aleline sahip olması, APP genindeki mutasyonlar vb) temel olarak etkili olduğu bilinmektedir (Almeida ve Shimokomaki, 1997). Şekil 2.6.'da AH ve demans için risk faktörleri gösterilmiştir.



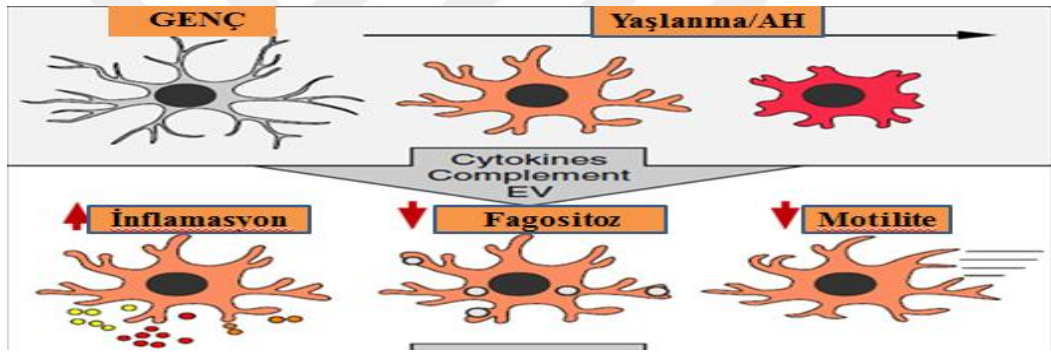
Şekil 2.6. AH ve Demans İçin Risk Faktörleri (Sindi ve ark., 2015)

### 2.6.1. Çevresel Risk Faktörleri

#### 2.6.1.1. Yaş

AH hakkında yoğun çalışmalar olmasına rağmen, AH patogenezinde önemli rol olabilecek erken evre klinik öncesi olaylar ve/veya mekanizmalar hakkında çok az bilgi bilinmektedir. AH olguların çoğu doğada sporadik olmakla birlikte, ileri yaş AH için en iyi bilinen risk faktörüdür, fakat yaşlanmanın normal bir parçası değildir (Şekil 2.7.),

(Alzheimer's Disease Facts and Figures, 2012; Cortese ve Burger, 2016). AH'lerin çoğu 65 veya üstü yaşlarda teşhis edilir fakat nadir olmakla birlikte daha erken yaşlarda da teşhis konulabilir (Alzheimer's Disease Facts and Figures, 2015).Yapılan çalışmalarda beynin yapısal ve işlevsel özelliklerinde hastalığın başlangıç yaşına göre farklı bulgular tespit edilmiştir. 65 yaşından önce başlayan erken başlangıçlı AH'da dil problemleri, afazi, apraksi ve agnosia, görsel uzlamsal disfonksiyon ve yürütücü işlev bozukluğu gibi fokal kortikal belirtilerin geç başlangıçlı AH'a göre daha sık ve klinik olarak daha agresif olduğu bilinmektedir (Kim ve ark., 2005; Kim ve ark., 2016). Fakat, prevalans ve demans insidansı üzerine yapılan çalışmaların çoğu 65 yaşın üzerindeki bireylerde (geç başlangıçlı AH), odaklanma ve hafıza fonksiyonlarında daha baskın bozulmalar gözlemlendiği ve bozulma sıklığının yaşla birlikte iki katına çıktığı rapor edilmektedir (Kim ve ark., 2005; Flier ve ark., 2011).



**Şekil 2.7.**Yaş ve AH (genç mikroglia gri, yaşlanma sırasındaki pro-inflamatuar fenotip (turuncu) ve AH (kırmızı) (Udeochu ve ark., 2016)

### 2.6.1.2. Cinsiyet

AH, kadınlarda erkeklerden daha fazla görülmektedir (Ertekin ve ark., 2015). Amerikadaki 5 milyon AH hastasının 3,2 milyonu kadın ve 1,8 milyonu ise erkektir. AH ve diğer demanslara sahip yaşlı kadınlar arasından büyük bir kısmı, erkeklerden ortalama olarak daha fazla yaşamaktadır (Alzheimer's Disease Facts and Figures, 2013). 2013 yılında yayınlanan Alzheimer's Disease Facts and Figures'e göre yaşa özgü birçok insidans çalışması, AH ya da herhangi bir demans türünde, cinsiyete göre anlamlı bir fark saptamamıştır. Buna göre kadınların erkeklerden daha fazla AH geliştirmesi olası değildir (Alzheimer's Disease Facts and Figures, 2013). 2016 yılında

Pike yaptığı bir çalışmada cinsiyet ve AH arasındaki ilişkide cinsiyet steroid hormonların katkılarını vurgular. Kadınlarda, östrojen üretimini azaltan olaylar genelde artan AH riski ile ilişkilirken, menopoz zamanına yakın olarak uygulanan östrojen esaslı hormon tedavisinin, AH riskini azaltabileceği düşünülmektedir. Erkekler arasında, östrojen yaşa bağlı bir azalma göstermez ve AH riskiyle önemli ölçüde ilişkili değildir. Daha ziyade, yaşa bağlı testosteronun plazmada ve beyinde tükenmesi AH'ye karşı daha fazla savunmasızlığa sebep olur. Hem östrojen hem de androjenler, yetişkin beyinde nöral işlevleri ve resilasyonu artıran ve AH ile ilişkili nöropatolojiyi çok yönlü zayıflatan sayısız koruyucu eylem uygularlar. Yaşlanma, cinsiyet hormonlarının cinsiyet özelliklerine etkisini azaltır ve yaşlanma ile AH arasındaki ilişkiye katkıda bulunduğu hipotezi ileri sürülür. Cinsiyet steroid hormonları, beyindeki gelişimsel cinsel farklılaşma sırasında, organizasyonel etkileriyle AH'deki cinsiyet farklılıklarını aynı anda algılayabilir. Özellikle, erken gelişme sırasındaki cinsel hormon eylemleri, kadın beyinin ilerlemiş yaşta AH gelişimine karşı savunmasız olmasına yol açabilir. Cinsiyet steroidlerinin organizasyonel ve aktivasyon etkilerinin kombine etkileri, AH patogenezinde belirgin cinsiyet farklılıklarına yol açmaktadır görüşü ortaya atılmıştır (Pike, 2017).

### ***2.6.1.3. Diğer Çevresel Risk Faktörleri***

AH'in karmaşık bir etiyojisi vardır. Geçtiğimiz yıllardaki araştırmalar, AH riskini artırabilecek veya azaltabilecek pek çok varsayımsal çevresel faktöre odaklanmıştır. Bunlar sigara kullanımı, doğum anısı, kafa travması, tiroid hastalığı, anti-inflamatuvar ilaçlar, östrojen replasman tedavisi, alkol, mesleki maruziyet, alüminyum, eğitim ve diyetdir (Sleegers ve Duijn, 2001). Bazı çalışmalarda, ileri anne yaşı ve depresyon öyküsünün de AH risk faktörleri arasında yer aldığı düşünülse de, bunların AH ile ilişkileri tartışmalıdır (Selekler ve Topcuoğlu, 1998). Sadece yaş ve genetik yatkınlık arttıkça hastalıkla korelasyon vardır (Sleegers ve Duijn, 2001).

## **2.6.2.Genetik Risk Faktörleri**

### **2.6.2.1. Genetik Yatkınlık (Aile Öyküsü)**

AH'nin gelişiminde önemli etken genetik yatkınlıktır (Özkay ve ark., 2011). Aile öyküsü yaştan sonraki en güçlü risk faktörüdür (Tanzi, 2012). İkizler üzerinde yapılan çalışmalarda, hastalığın oluşumunda genetik faktörlerin %80 oranında risk oluşturduğu saptanmıştır (Coon ve ark., 2007). Alzheimer'li bir ebeveyn, erkek kardeş veya kız kardeşi olan kişilerin hastalığa yakalanma riski, birinci derece akrabalarında AH olmayanlara oranla daha fazla olmaktadır. Birinci dereceden birden fazla AH hastası akrabaya sahip olanlar daha da yüksek risk altındadır. Hastalıklar ve aile ilişkisinde, kalıtım (genetik), ortak çevre ve yaşam biçimi faktörleri veya her ikisi de rol oynayabilir (Alzheimer's Disease Facts and Figures, 2016).

### **2.6.2.2. AH Genetiği**

AH'nin genetiği karmaşıktır ve tam olarak anlaşılamamıştır (Schellenberg, 1995). 100 den fazla mutasyonun etkili olduğu düşünülse de erken başlangıçlı AH'da üç gen üzerinde yoğunlaşmaktadır (Tanzi ve Bertram, 2001). Bu mutasyonların çoğu, kalıtım örüntüsünün otozomal dominant olduğu ve Mendel kurallarını takip ettiği ailesel EBAH (erken başlangıçlı AH) ile ilişkilidir (Bagyinszky ve ark., 2016). Daha yaygın olarak görülen geç başlangıçlı AH ise apolipoprotein E (APOE) genindeki polimorfizm artışı ile ilişkilendirilmiştir. Ancak, genetik faktörlerin tespit edilmesi için yapılan çalışmalara göre dört gen varyasyonunun AH genetiğinde % 30 kadar etkisinin olduğu ve hastalığın oluşmasında daha birçok genetik faktörün etkili olduğu yönündedir (Tanzi ve Bertram, 2001). AH'nin çoğu sporadik olarak görülür. Linkaj çalışmaları AH otozomal dominant geçişinden sorumlu olduğu düşünülen 3 gen göstermektedir: 21. kromozomdaki amiloid prekürsör protein (APP), geni14. kromozomdaki presenilin 1 (PS1) geni ve 1. kromozomdaki presenilin 2 (PS2) geni (Bertram ve Tanzi, 2000; Revett ve ark., 2013). APP, PS1 ve PS2 genlerinde meydana gelen ve tam penetrans gösteren mutasyon olgularının % 5'ni oluşturduğu ve EBAH'a sebep olduğu düşünülmektedir (Bertram ve Tanzi, 2008; Özkay ve ark., 2011; Revett ve ark., 2013). Her üç protein de işlevleri yeterince bilinmeyen transmembran proteinleridir. Bu proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar amiloid metabolizmasını bozarlar ve

EBAH'a yol açarlar (Yazıcı ve Şahin, 2010). Erken başlangıçlı ailesel AH tüm AH olgularının %10'dan fazlasını temsil etmekle birlikte (Leuba ve ark., 1998), bu hastaların da yarısından fazlası APP geni mutasyonuna bağlı olarak ortaya çıkar (Özkay ve ark., 2011).

### 2.6.2.2.1. APOE-ε4 Allelinin Varlığı

Kolesterol taşınmasında görev alan APOE ε4 alleli; sağlıklı bireylerde %16, Alzheimer hastalarında ise %35-50 oranında bulunur (Seleker, 1998). Genetik risk faktörü olarak görülen 19. kromozomdaki APOE kodlayan genin ε4 allelinin geç başlangıçlı AH'den sorumlu olduğu düşünülmektedir (Bertram ve Tanzi, 2008). APOE nin ε2, ε3, and ε4 olmak üzere ortak 3 varyantı vardır (Williamson, 2011). Bir dizi postmortem niceliksel araştırma, APOE ε4 allelinin beyindeki artmış amiloid plak birikimi ile ve serebral amiloid anjiyopati (CAA) şeklinde artmış vasküler amiloid birikimi ile korele olduğunu ortaya koymuştur. Öte yandan, bazı postmortem çalışmalar, APOE ε4 allelinin hastalığın diğer patolojik bulgusu olan artan sayıda NFY'nin oluşmasına sebep olduğunu söylemektedir (Serrano-Pozo ve ark., 2015). Serrano-Pozo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre, APOE ε4 alleli doz bağımlı, ancak orantılı olmayan bir şekilde AH riskini artırır, ε4 alelinin bir kopyasını taşımak, AH gelişimini 3-4 kat arttırabilir. Diğer taraftan, APOE' nin bir varyantı olan ε2 alelinin (koruyucu allel) ise AH'yi geliştirme riskini neredeyse yarı yarıya azalttığı düşünülmektedir (Şekil 2.8.), (Serrano-Pozo ve ark., 2015).

APOE Biçimleri	Yüzde
e2/e2	0.5
e2/e3	11
e2/e4	2
e3/e3	61
e3/e4	23
e4/e4	2

**Şekil 2.8.** APOE Geninin e2, e3 ve e4 varyantlarının ABD Nüfusundaki Tahmini Yüzdeleri (Alzheimer's Disease Facts and Figures., 2016)

#### 2.6.2.2.2. APP Geni

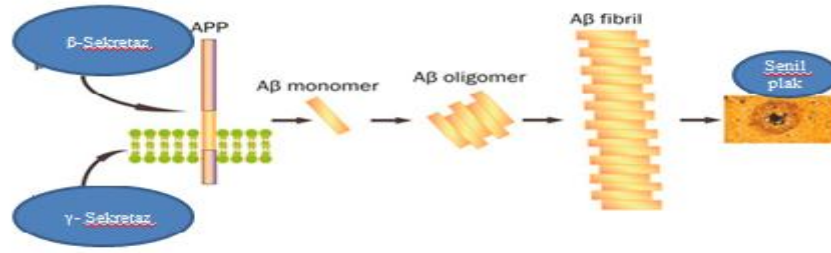
Amiloidoz terimi ile birçok farklı hastalıkta bulunan çok çeşitli hücre dışı protein birikimleri grubu nitelenir (<http://noroloji.blogspot.com.tr/2007/04/alzheimer-hastalii.html>). Amiloidozlar, ekstrasellüler proteinin yanlış katlanmasının belirgin bir rol oynadığı büyük bir hastalık grubunu oluşturur. Fizyolojik katlanmaya paralel veya bunun bir alternatifi olarak ortaya çıkan bu dinamik süreç,  $\beta$ -tabakalı fibriller proteinin demetlerinde dokularda biriken çözünmeyen toksik protein agregatları üretir. Bu amiloid birikintileri, kongo kırmızısı ile boyandıktan sonra kutuplaşmış bir ışık mikroskopu altında çapı 7,5 ila 10 nm arasında, elma yeşili renginde sert ve dallanmayan fibrillerin varlığına göre tanımlanır. Beyin dokusunda amiloid birikimi, dünya çapında 12 milyondan fazla insanı etkileyen AH'nin temelini oluşturur (Merlini ve Bellotti, 2003). Amiloid birikimi gerçekleşen doku veya organda hücresel iletişim ağı bozulmakta, hücre ölümü artmakta ve sonuçta doku (ya da organ) işlev göremez hale gelmektedir (Taşkiran ve Yılmaz, 2007).

Amiloid, merkezi sinir sisteminin vasküler sistemi ile ilişkilidir ve parankimada fokal depolar olarak bulunur. Bu amiloidin ana bileşeni, uzunluğu 39 ile 43 amino asit arasında değişen, AP3 peptidi olarak adlandırılan oldukça hidrofobik bir peptittir. Bu peptidin, 1984 yılında vasküler amiloid birikintilerinden saflaştırılan materyali ile kısmen dizilimi yapılmıştır (Schellenberg, 1995). Tüm amiloid tiplerinde görülen bu karakteristik özellik amiloidin histopatolojik olarak tayinininde kullanılmaktadır (Taşkiran ve Yılmaz, 2007).

Amiloid teorisi AH'de beyindeki patolojik değişikliklerin nedeninin  $\beta$ -amiloid proteini birikimi olduğunu, nörofibriler yumaklar ve damar değişiklikleri gibi diğer bulguların ikincil olarak ortaya çıktığını savunmaktadır (<http://noroloji.blogspot.com.tr/2007/04/alzheimer-hastalii.html>). A $\beta$ , APP'nin ürünlerinden biridir. APP 21. Kromozom üzerinde bulunur, insan APP geni tarafından kodlanır ve 1987 yılında tanımlanan bir transmembran proteindir. APP'nin amiloid prekürsör- benzeri protein 1 ve 2 (APLP1 ve APLP2) (insan), Appl (sinek) ve apl-1 (solucan) içeren küçük bir gen ailesinin üç üyesinden biri olduğu bilinmektedir. Hepsi, geniş bir ekstrasellüler ve kısa bir sitoplazmik bölgeye sahip tip I membran proteinlerini

kodlar. Fakat, sadece tip 1 integral membran proteini olan APP A $\beta$  oluşumuna katılır (Thinakaran ve Koo, 2008).

Amiloid hipotezine dayanarak,  $\beta$ -sekretaz ve  $\gamma$ -sekretaz sırayla APP'yi değiştirir ve beta plaklar olarak adlandırılan çözünmeyen  $\beta$ -tabakalı konformasyon fibrilleri oluşturan amiloid- $\beta$  peptidi üretir (Honarvar, 2016). APP'nin çoğunluğu amiloidojenik olmayan bölünme ürünleriyle sonuçlanacak şekilde  $\alpha$ -sekretaz ile işlenirken, bir miktar  $\beta$ -sekretaz ve  $\gamma$ -sekretaz ile bölünerek A $\beta$  peptidlerinin oluşumuyla sonuçlanır. Son zamanlarda elde edilen kanıtlar, beyindeki fizyolojik fonksiyonların bütünlüğünün kesilmesine neden olan sinaptik disfonksiyona A $\beta$  oligomerlerinin katkısını vurgulamaktadır (Şekil 2.9.), (Honarvar, 2016). Üretilen A $\beta$ 'nin baskın biçimleri A $\beta$ 40 ve A $\beta$ 42 olup, bunlardan birincisi daha yaygındır. Bununla birlikte, A $\beta$ 42'nin daha toksik ürün olduğu düşünülmektedir (Adlard ve ark., 2014). A $\beta$  fibriller ve oligomerler halinde toplanabilir. Aslında olgun nevritik amiloid plaklarını oluşturan büyük fibriller toksik etkiye sahiptir. Bununla birlikte, son yıllarda araştırma odağı A $\beta$  oligomerlerine doğru kaymıştır. Günümüzde, A $\beta$  peptidinin toksik, prefibriler oligomerlere toplanması AH'nin başlangıcında anahtar patojen olay olarak düşünülmektedir. Bu görüşle tutarlı olarak, A $\beta$  oligomerleri şunları yapabilir: 1) AH başlangıç ve ilerlemesinden sorumlu sinaptik disfonksiyon ve nöronal ölümü doğrudan indükte edebilir, 2) AH'nin ilerlemesine katkıda bulunan oksidatif hasar ve iltihaplanma gibi tetikleyici olaylara sebep olabilir (Nie, Du ve Geng, 2011). A $\beta$  monomerlerinin üretimi fizyolojik açıdan önemli bir olay olmasına rağmen, oligomerlere ve fibrillere toplanması patojenik olduğu için agregasyonun engellenmesi (A $\beta$  üretimi korunurken) mekanizmaya dayalı toksisiteye yol açmamalıdır. Dolayısıyla, A $\beta$ 'nin agregasyonunu, özellikle A $\beta$ 42 izoformunu inhibe etme stratejisi, AH için geçerli bir hastalık düzenleyici terapi olarak ortaya çıkmıştır (Nie, Du ve Geng, 2011)



**Şekil 2.9.** AH'de görülen amiloid betanın oluşum mekanizması ( Nie, Du ve Geng, 2011)

### 2.6.2.2.3. PS1 ve PS2 Genleri

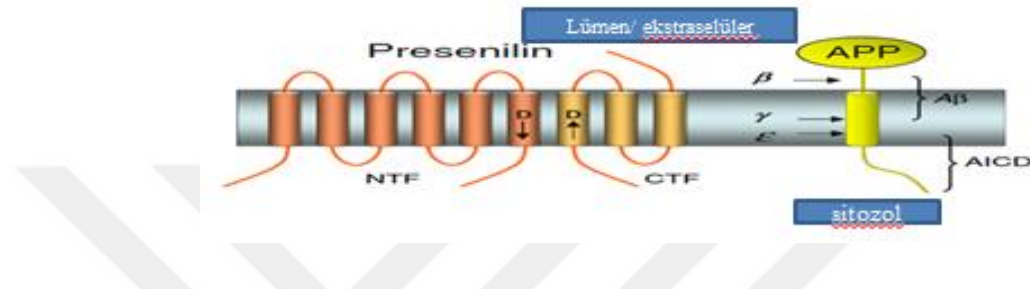
PS1 ve PS2, c-sekretaz proteaz kompleksinin katalitik altbirimini oluşturan heterodimerik presenilin N-terminal ve C-terminal fragmanlarını (NTF / CTF) üretmek için endoproteolize tabi tutulan 50 kDa holoproteinler olarak sentezlenen, oldukça korunmuş transmembran proteinlerdir (Duggan ve ark., 2015). Presenilinler (PS1 ve 2) belleğe, nöronların hayatta kalmasına ve sinaptik mekanizmalara karışabilirler. AH'de PS'lerin tutulumu heterojen olabilir. APP bölünmesi ve nöronal toksisitenin bozulmasına neden olan, gama sekretaz işlev bozuklukları, PS1-2 mutantlarındaki en yaygın mekanizmalar olarak bulunmuştur. Yüksek Aβ42, hastalık ilerlemesi ile ilişkili olabilir, ancak tüm AH vakaları ile ilişkili değildir. Bazı mutasyonlar, gama-sekretaz aktivitesini yok ettiklerinden dolayı 'işlev kaybı' varyantları olarak adlandırılmaktadır. Bu mutasyonlar artmış Aβ 42 / 40 seviyeleri ve sinaptik plastisitede bozulma ile ilişkilendirilmiştir. Ben-Gedalya ve arkadaşları, bazı PS1 (diğer amino asitlerle özellikle proline değişimi) varyantlarının, PS bozulmasını veya şaperonla PS1'in etkileşimini önleyebileceğini ortaya koymuştur (Bagyinszky ve ark., 2016).

Bir transmembran glikoprotein olan Nicastrin, PS1 ve PS2 ile yüksek molekül ağırlıklı kompleksler oluşturur. Nicastrin ayrıca beta-amiloid öncü protein karboksi terminal türevlerine bağlanır ve bu türevlerden Aβ peptit üretimini modüle eder. Nicastrin'in korunmuş hidrofilik bir alanındaki mutasyonları Aβ 42 ve Aβ 40 peptit sekresyonunu artırır. Bu alanda yapılan silinmeler, Aβ üretimini inhibe eder (Şekil 2.10.). Bu nedenle, Nicastrin ve presenilinler, Notch / GLP-1 ve betaAPP gibi



proteinlerin hücre dışı proteolizi için gerekli olan multimerik bir kompleksin muhtemel işlevsel bileşenleri olarak düşünülmektedir (Yu ve ark., 2000).

PS1 ve PS2 tarafından kodlanan proteinler birbirlerine % 67 oranında benzerlik gösterirler ve kodladıkları protein transmembran alanında olasılıkla altı ile sekiz bölgesinde yer alan integral zar proteinleri oldukları öngörülmüştür (Hong ve ark., 1999).



Şekil 2.10. PS ve APP'nin membran topolojisi (Wolfe, 2013)

14. kromozomda yerleşim gösteren PS1 geninde meydana gelen mutasyonlar, APP'nin hatalı bölünmesine ve toksik Aβ üretimine sebep olmaktadır. Ayrıca, PS1 geni mutasyonu tau proteinlerinin hiperfosforilasyonunu sağlayarak NFY oluşumuna katkı sağlamaktadır (Özkay ve ark., 2011). PS1, γ-sekretazın katalitik bileşeni olarak görev yapan bir intramembran proteazdır. PS1 genindeki mutasyonlar ailesel AH'nin en sık nedenidir (Wang ve ark., 2016). EBAH olan ailelerin yaklaşık %47'si PS1 mutasyonlarına atfedilmiştir (Bruni ve ark., 2010). Bagyinszky ve arkadaşlarının 2016'da yaptıkları bir çalışmaya göre PS1'de EBAH için Alzheimer Araştırma Forumu veya Alzforum ve AH ve frontotemporal demans (FTD) mutasyonları veri tabanı tarafından 200 mutasyon bulundurulmuş ve PS1 mutasyonları ile ilişkili hastalık fenotiplerinin agresif olabileceği ve AH'nin ilerlemesinin hızlı bir şekilde gelişebileceği belirtilmiştir. Motor nöron semptomları, FTD ve spastik paraparezi gibi alternatif fenotipler, PS1 mutasyonlu hastalarda da görülmüştür (Bagyinszky ve ark., 2016).

1. kromozom üzerinde bulunan PS2 geni PS1 ile benzer özellikler göstererek APP'nin proteolitik yıkım şeklini değiştirir ve amiloidojenik Aβ üretimini artırır (Sezer

ve Memiş, 2001). Diğer öne sürülen hastalık mekanizmaları, apoptoz, anormal kalsiyum sinyalleme veya b-catenin / Wnt yolu gibi diğer bozuk hücre içi sinyalleme içerir (Li ve ark., 2006). PS2 taşıyıcılarında erken başlangıçlı AH dışında, amiloid anjiyopati, hemorajik inme ve Lewy vücutlu demans gibi çeşitli klinik fenotipler de tanımlanmıştır (Bagyinszky ve ark., 2016).

### 2.6.2.3. Diğer Olası Genetik Yatkınlık Genleri

Yakın zamana kadar, yalnızca APOE geni, tüm AH vakalarının % 95'inden fazlasını oluşturan geç başlangıçlı AH için bir genetik risk faktörü olarak biliniyordu. Bununla birlikte, bu iyi kurulmuş genetik risk faktörüne ek olarak, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları, PALK ve BIN1 gibi geç başlangıçlı AH için genetik risk faktörleri olarak birkaç tek nükleotid polimorfizm tespit etmiştir. Buna ek olarak, bütün genom dizilimi ve ekspres sıralama çalışmaları TREM2 de dahil olmak üzere geç başlangıçlı AH ile ilişkili nadir varyantları tespit etmiştir (Kanatsu ve Tomita, 2017). Bunun dışında AH ile ilişkilendirilen diğer genler, Şekil 2.11'de ayrıntılı bir şekilde gösterilmiştir.

Gen ve Proteinini	Kromozom	Mekanizma	Etki	Risk
APP – Amiloid prekürsör protein	21	Mutasyon/ Duplikasyon	A $\beta$ 40 ve A $\beta$ 42 üretiminde artış	Tam penetrans
PSEN1 – Presenilin 1	14	Mutasyon	A $\beta$ 42 üretiminde artış	Tam penetrans
PSEN2 – Presenilin 2	1	Mutasyon	A $\beta$ 42 üretiminde artış	Tam penetrans
APOE – Apolipoprotein E	19	Polimorfizm $\epsilon$ 2, $\epsilon$ 3, $\epsilon$ 4	A $\beta$ klirensinde bozulma	$\epsilon$ 4: 3.66 (3.30-4.11) $\epsilon$ 3: 0.62 (0.45-0.85)
ACE – Anjiyotensin I converting enzim	17	Polimorfizm C, T	A $\beta$ klirensinde bozulma	0.83 (0.72-0.95)
GAB2 – GRB2 asosiyasyon bağılayıcı protein 2	11	Polimorfizm T, G	A $\beta$ klirensinde bozulma	0.85 (0.76-0.94)
TF – Transferrin	3	Polimorfizm C2, C1	A $\beta$ klirensinde bozulma	1.18 (1.06-1.31)
SORL1 – Sortilin ilişkili reseptör	11	Polimorfizm T, C	A $\beta$ üretiminde artma	1.10 (1.03-1.17)
CLU – Clusterin	8	Polimorfizm T, C	A $\beta$ klirensinde bozulma	0.86 (0.82-0.89)
PICALM – Fosfatidylinositol bağılayıcı klatrin asamble proteini	11	Polimorfizm C, T	A $\beta$ klirensinde bozulma	0.87 (0.83-0.91)
CR1 – Kompleman bileşeni (3b/4b) reseptörü 1	1	Polimorfizm T, C	A $\beta$ klirensinde bozulma	1.18 (1.09-1.28)

**Şekil 2.11.** AH ile ilişkilendirilen Genler  
(<http://www.itfnoroloji.org/demans/demans.htm>)

## 2.7. AH'nin Etiyopatogenezi

### 2.7.1. Senil Plaklar (Amiloid plaklar)

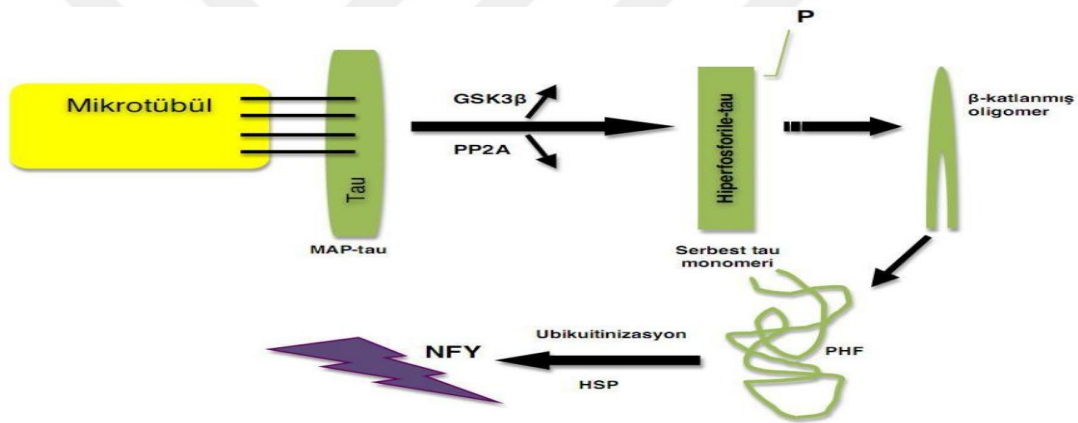
Senil plaklar, AH'li bireylerin beyinlerinde bulunan hücre dışı proteinasöz yataklardır. Bozulmuş nöronlar genellikle beyindeki senil plak bölgesi yakınında görülür. Senil plaklarda distrofik nevrit (sinir iltihabı) vardır. Astrositler ve mikroglia genellikle amiloid birikimleriyle ilişkilidir. Senil plaklardaki primer proteolitik malzeme, APP, bir transmembran proteini olan, 40 ile 42 amino asit içeren bir fibriler peptid olan amiloid  $\beta$  peptididir (Sun ve Zang, 2011). Morfolojilerine göre beyinde 4 tip senil plak bulunur. **(1)Diffüz plaklar**, genellikle A $\beta$ 'nin fibrillere veya birikintilere toplanmadığı, düzensiz şekillere sahip, çapı 10-200  $\mu$ m olan plaklardır (Sun ve Zang, 2011). Diffüz plaklar genellikle non-nevritiktir ve glial cevaplarla veya sinaptik kaybıyla ilişkili değildir. Bu plak tipi, AH'in patolojik tanısı için düşünülmemektedir, çünkü bilişsel bakımdan bozulmamış yaşlı insanların beyinde nispeten yaygın bir bulgudur (Serrano-Pozo ve ark., 2011). **(2)Primitif plaklar**, 20-60  $\mu$ m çapında, A $\beta$  bu plakların yakınında saptanabilen fibriller ve NFY'ler oluşturmaya başlar. Primitive plaklar, nöronal hücre cisimleriyle daha az ilişkilendirilirken astosit ve glial hücreler ile daha fazla ilişkilendirilir. Primitive plaklar yaşlı AH'de görülür. **(3)Klasik plaklar**, AH beyinlerinde plakların en önemli çeşididir. Bu plakların çapı 20-60  $\mu$ m'dir ve A $\beta$  peptidleri açıkça görülebilen agregatlar ve fibril birikimleri oluştururlar. Bu agregatlar sıklıkla distrofik nevritler ve büyük miktarda glial hücrelerle çevrelenmiş merkezi yoğun bir çekirdek yapısına neden olurlar. Klasik plaklar, ilerlemiş ve yaşlı AH hasta beyinlerinde hipokampus ve neokorteks boyunca bulunurlar. **(4)Kompakt plaklar**, çapları 5-15  $\mu$ m olan klasik plaklara benzer ancak çevresindeki distrofik nevritlerden yoksundur (Sun ve Zang, 2011).

### 2.7.2. NFY'ler

AH patolojisinin bir parçası olan erken evre nörofibriller değişiklikler genellikle medial temporal lob yapılarında ortaya çıkar ve epizodik hafıza (anlamsal hafıza) fonksiyonu için eleştirel sinir ağını keser. Bu nedenle, yeni bilgileri öğrenme ve

hatırlama kabiliyetindeki eksikliğin, AH patolojisinin klinik belirteç olması şaşırtıcı değildir (Weintraub ve ark., 2012). AH beyin numuneleri üzerine yapılan yapısal çalışmalar, AH patolojisi için önemli bir kriter olan NFY'lerin öncelikle çift helikal filamentlerden yani yaklaşık 65 nm'lik düzenli bir periyotta helezonik üç boyutlu bir konformasyona sahip çiftler oluşturan (çapı  $\approx 10$  nm olan) fibrillerden oluştuğunu ortaya koymuştur (Serrano-Pozo ve ark., 2011). NFY'lerin temel bileşeni 17. kromozom tarafından kodlanan mikrotübül asosiye bir protein (MAP) olan 68 kDa'lık hiperfosforile 'tau'proteinidir (Sun ve Zang, 2011; Öztürk ve Karan, Klinik Gelişim). Mikrotübüllerin stabilizasyonu, hücre iskeletinin bütünlüğü ve aksonal transportta önemli rol alır (Öztürk ve Karan, Klinik gelişim).

Şekil 2.12'de, NFY'lerin oluşum şekli ayrıntılı bir şekilde gösterilmiştir.

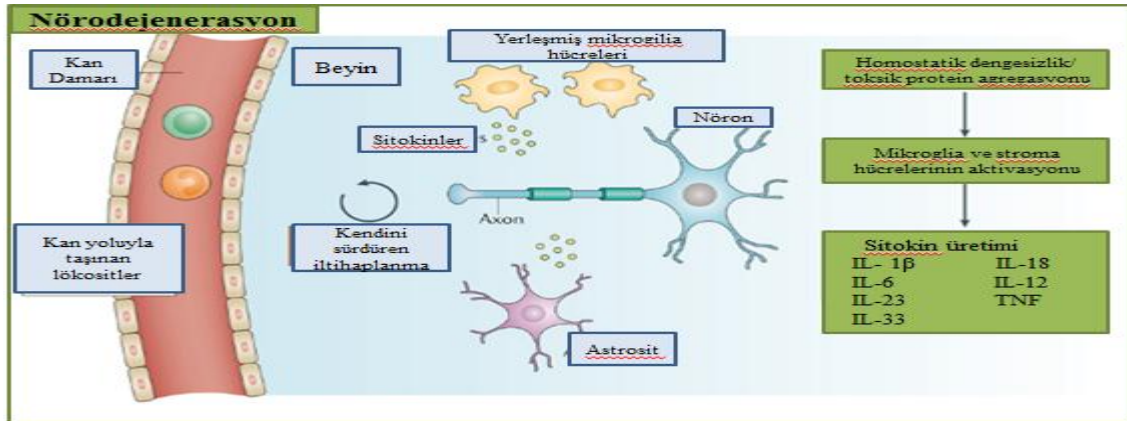


**Şekil 2.12.** Mikrotübül asosiye tau proteinin NFY'ye evrimi  
(<http://www.itfnoroloji.org/demans/demans11.JPG>)

Tau bazlı nörofibriler AH'de karakteristik olmasına rağmen spesifik değildir. AH, Down sendromu, amiyotropik lateral skleroz / parkinsonizm-demans kompleksi, Creutzfeldt-Jakob hastalığı, frontotemporal bunama, Pick hastalığı ve argyrofilik demans gibi hastalıklarda da gözlemlenir. Bu hastalıklar arasında amyotrofik lateral skleroz ve frontotemporal demans en önemli nörofibriler patolojiye sahiptir (Sun ve Zang, 2011).

### 2.7.3. AH ve İnflamasyon Teorisi

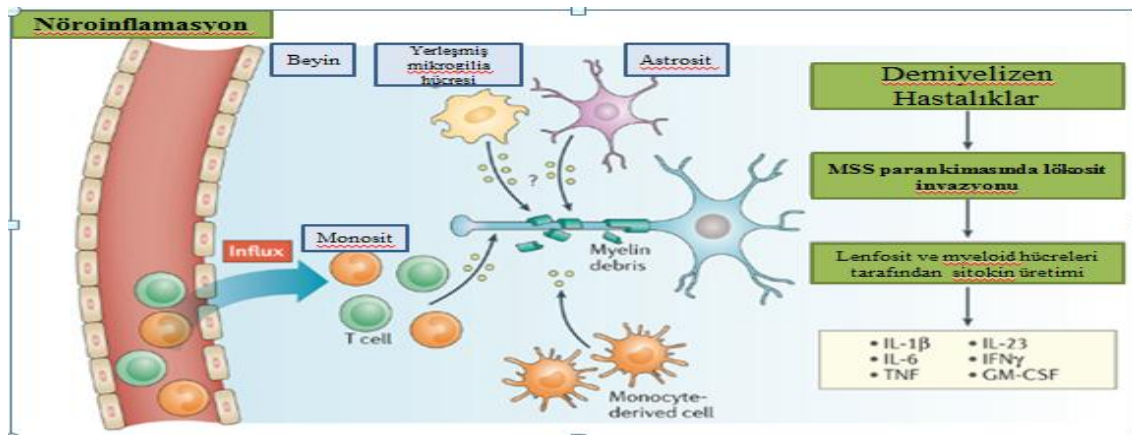
AH'de ortaya çıkan nörodejenerasyonun, hipoksi veya iskemi gibi, beyine yönelik bir saldırıya karşı immün veya inflamatuvar bir yanıt olduğu bulunmuştur. AH'de beyindeki dejenerasyona bağlı olarak akut faz cevabı oluşmaktadır (Clarkson ve Sutherland, 2005). Astrosit ve mikroglia aktivasyonu ve artmış poliferasyon içeren inflamatuvar süreçlerde, artmış kemokin ve sitokin ifadeleri yer almaktadır (Honarvar ve ark., 2016). Bu durum, sitokin denen ve bedeninin savunma düzeneklerini uyaran proteinlerde hızlı bir artışa sebep olmaktadır (Clarkson ve Sutherland, 2005). Akiyama ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmaya göre, amiloid peptid ve inflamatuvar uyaranlarla aktive olan mikroglial hücrelerden sitokinlerin salgılanması, akut faz reaktanları ve komplemanın aktive edilmesiyle inflamasyon oluşması, salınan proinflamatuvar sitokinlerin ve nörotoksinlerin nöronal hasara yol açması ya da şiddetlendirmesi ile hastalık oluşur (Akiyama ve ark., 2000). AH olan bireylerde uzun süreli anti-inflamatuvar ilaç kullanımının AH riskini azalttığı veya başlangıç süresini geciktirdiğini ileri süren çalışmalar bu hipotezi desteklemektedir (Wyss-Coray ve Rogers, 2012). Udeochu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre AH'de mikroglia'nın inflamatuvar profili, yaşla eşleşen normal kontrollerle karşılaştırıldığında, nörodejeneratif hastalık koşulları altında IL-1b, IL-12b ve IL-23'ün daha yüksek transkript düzeylerini ifade eden mikroglia ile bu hipotez daha da şiddetlenir (Udeochu ve ark., 2016). Biriken kantılar, nöroinflamasyonun, AH gibi nörodejeneratif bozukluklarda tau proteinlerinin patolojik birikimi olan tauopati'ye katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. AH'ye bağlı nöroinflamasyona dahil olan beyin hücreleri mikroglia ve astrositleri içerir. Beyindeki en büyük ve en bol nöroglial hücreler olan astrositler AH'de aktive olur ve güçlendirilmiş iltihaplı bir kaskada katkıda bulunurlar. A $\beta$  ve proinflamatuvar sitokinler gibi çeşitli faktörler, astrositleri harekete geçirir. Reaktif astrositler, nörofibriler yumak oluşumunu içeren tauopatiyi hızlandıran nitrik oksit ve interlökin-1 (IL-1) ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinleri üretirler. Bu bulgular nöroinflamasyon ve tauopati arasında muhtemel bir bağlantı olduğunu gösterse de, mikrotübüle bağlı protein tau'nun patolojik birikiminde reaktif astrositlerin direkt rolü konusunda çok az kanıt bulunmaktadır (Li ve ark., 2015). Şekil 2.13'de nörodejenerasyon mekanizması ayrıntılı bir şekilde verilmiştir.



**Şekil 2.13.** Nörodejenerasyon mekanizması (Becher, Spath ve Goverman, 2016)

Enflamatuvar mediatörler, nörodejeneratif koşullarda bol miktarda bulunurken, kan yoluyla taşınan lökositler sadece sınırlı bir katkı sağlamaktadır. Stromal hücreler (örneğin endotel hücreleri ve astrositler) yanı sıra mikroglia (merkezi sinir sistemi -gerekli fagositler) homeostatik dengesizliğe cevap olarak sitokinler üretirler. Bu, AH'de ve amiyotropik yanal sklerozda görüldüğü gibi, anormal şekilde katlanan protein neden olabilir. Erken bir sitokin tepkisinin, homeostatik dengesizliği onarmaya yönelik bir girişim olduğuna dair kanıtlar vardır (Becher, Spath ve Goverman, 2016).

Şekil 2.14'de nöroinflamasyon mekanizması ayrıntılı bir şekilde gösterilmiştir.



**Şekil 2.14.** Nöroinflamasyon Mekanizması (Becher, Spath ve Goverman, 2016).

İnflamatuvar demiyelinizan hastalıklarda (örneğin Multiple skleroz) ve enfeksiyonlarda (örneğin, Bakteriyal ve viral ensefalit) görüldüğü gibi klasik olarak tanımlanmış inflamasyon koşulları, merkezi sinir sistemi parankimini işgal eden lökositler kan-beyin bariyeri (BBB) bütünlüğünün ciddi bir kaybı ile karakterizedir. Burada, lenfositler ve miyeloid hücreler, doku

hasarının ana araçlarıdır ve dokuya, inflamatuvar kaskada yakıt kazandıran sitokinleri gönderirler. IL-1 $\beta$  ve IL-6, iltihaplı MSS'deki tüm hücreler tarafından algılanabilir ve enflamasyon sürecinin merkezinde yer alır. IL-23, T hücreleri tarafından algılanır ve patojenik imzaya yakıt ikmalini yapar. Granuloz-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) inflamatuvar monositlerden türetilen hücreleri doku hasarına neden olarak lisanslar (Becher, Spath ve Goverman, 2016)

## 2.8. AH'nin Tedavisi

Günümüze kadar, asetilkolinesteraz enzimi ve glutamat N-metil-D-aspartat reseptör antagonisinin sadece dört inhibitörü AH tedavisinde onaylanmıştır ve bunların hepsi sınırlı bir süre için bilişsel faktörleri hafifleten semptomatik maddeler olarak kabul edilmiştir. AH patogenezinin altında yatan mekanizmaları ortaya çıkarmak, önemli biyolojik hedefleri ve patolojik olayları tanımlamak ilerlemeyi önleyebilir veya durdurabilir. AH'yi önlemek veya durdurmak için yeni tedavi stratejileri ve hastalık tadil edici ilaçları keşfetmek için son yirmi yılda araştırmalar için büyük ekonomik yatırımlar yapılmıştır. Bu ilaçların yanı sıra erken bir terapötik müdahale sağlayan yeni biyolojik belirteçler ile tanı maddeleri ve yöntemleri de bulunması amaçlanmıştır. Maalesef, 2003'te beşinci anti-AH ilacının piyasaya sürülmesinden sonra etkinlik veya güvenlik sorunlarından ötürü 100'den fazla anti-AH ilaç adayının klinik gelişimi birçok durumda ileri safhada kesilmiş ve AH ilacı geliştirmeye yönelik araştırmalar yavaşlamıştır (Decker ve Muñoz-Torrero, 2016). Şekil 2.15'de tedavi stratejileri ayrıntılı bir şekilde anlatılmaya çalışılmıştır.



Semptomatik	Nöro-koruyucu	Nöro-restoratif	Mekanizma temelli
Kolinergic replasman Kolinesteraz inhibitörleri Takrin Donepezil Rivastigmin Galantamin Glutamaterjik modülasyon NMDA reseptör blokeri Memantin	Anti-oksidanlar E vitamini Serbest radikal gidericiler Ginkgo biloba Anti-apoptikler Kaspaz inhibitörleri İntraselüler Ca <sup>2+</sup> modülatörleri NMDA antagonistleri Naremaxane AMPA antagonistleri Ampalex L tipi Ca <sup>2+</sup> kanal modülatörleri MEM 1003 5 HT <sub>1A</sub> antagonistleri SRA333 WAY100635 5 HT <sub>6</sub> antagonistleri SB-742457 SAM-351 PDE4 antagonistleri AVE8112 MEM1414	Nöron büyüme faktörleri NGF BDNF Östrojen	α-sekretaz aktivatörleri NP-17 β-sekretaz inhibitörleri CTS-21168 HPP854 γ-sekretaz inhibitörleri Semagacestat Aktif immünizasyon ACC-001 CAD106 V-950 Pasif immünizasyon Bapineuzumab LY2062430 Anti-oligomerizatörler PBT-2 Exebryl Scyllo-inositol Şapron destekleyiciler PP2A-y agonistleri Aβ-RAGE bağlantı inhibitörleri TTP488 TTP4000 Aβ-kolinesteraz bağlantı inhibitörleri Posiphen Huperzine-A NP-87 Musküler agonistler AF267B (M1) Nikotinik agonistler MEM3454 (α7) SSR180711 (α7) JNJ-26393406 (α7) Isopropindine (α4β2) Mitokondriyal stabilizatörler Dimebon (safesiprodine) Tau anti-oligomerizatörleri GSK3β inhibitörleri TDZD'ler Tau birikim inhibitörleri Metlen mavisi (Rember) Mikrotübül stabilizatörleri Davunetide

**Şekil 2.15.** AH'nin yerleşik ve potansiyel tedavi stratejileri (<http://www.itfnoroloji.org/demans/tablo16.JPG>) (Yeşil renkli punto ile belirtilenler halen kullanılan tedavi ajanları, kırmızı ile yazılanlar kullanımdan kalkmış veya araştırmalar sonucu negatif bulunmuş ajanlar, mavi renkli olanlar hala klinik araştırmalarla sınan bazı ajanlardır)

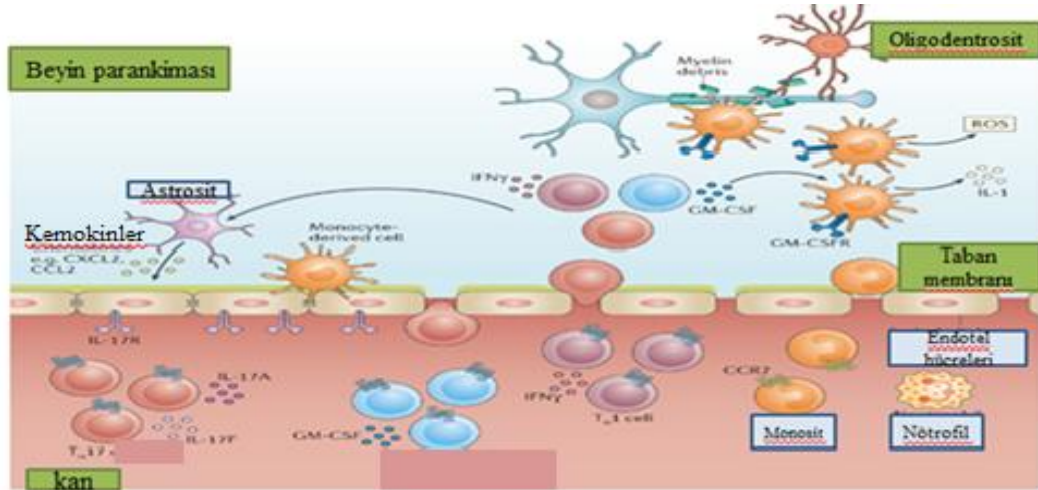


### 3. SİTOKİNLER

Sitokinler, periferik olarak ve merkezi sinir sisteminde hücrel iletişimde önemli araçlar olarak görev yapan, inflamatuvar uyarıcılar sonucunda başlıca monositler olmak üzere pek çok hücre tarafından salınan 10-25 kDa molekül ağırlıklı maddelerdir (Kara ve Müdüroğlu, 2008; Udeochu ve ark., 2016). Sitokin genel bir addir; diğer adlar arasında lenfokin (lenfositler tarafından üretilen sitokinler), monokin (monosit tarafından üretilen sitokinler), kemokin (kemotaktik faaliyet gösteren sitokinler) ve interlökin (bir lökosit tarafından üretilen ve diğer lökositler üzerine etki eden sitokinler) bulunur. Sitokinler, kendilerini salgılayan hücelere (otokrin eylem), yakın hücelere (parakrin eylem) veya uzak hücelere (endokrin eylem) bazı şekillerde etki yapabilir. Hem pro-inflamatuvar sitokinler hem de anti-inflamatuvar sitokinler vardır. Bazı inflamatuvar sitokinler sinir hasarıyla, inflamasyona bağlı santral duyarlılıkla ve karşıt hiperaljezi / allodini gelişimiyle ilişkilidir (Zhang ve An, 2007).

Farklı hücre tiplerinin aynı sitokini salgılaması ya da tek bir sitokin için birkaç farklı hücre tipine (pleiotropi) etki etmesi yaygın bir durumdur. Benzer işlevler farklı sitokinler tarafından uyarılabilir. Bir sitokin, ilave sitokinler yapmak için hedef hüceleri uyarması nedeniyle, çoğunlukla bir kaskat halinde üretilirler. Sitokinler sinerjik veya antagonistik olarak da etki edebilir. Sitokinler birçok hücre popülasyonu tarafından üretilir, ancak baskın üreticiler yardımcı T hüceleri (Th) ve makrofajlardır. Sitokinler, fizyolojik ve patolojik süreçler boyunca periferik sinir dokusunda, yerleşmiş yeni makrofajlar, mast hüceleri, endotel hüceleri ve Schwann hüceleri tarafından üretilir (Zhang ve An, 2007).

Sitokinlerin, beyinde hücrel morfoloji, hücre bölünmesi, immün aktivasyon, hücre göçü ve hücre ölümü gibi çeşitli işlemleri düzenlediği gösterilmiştir. Küresel pro-inflamatuvar beyin sitokin seviyeleri yaşla birlikte artmakta, genç beyine kıyasla yaşlılarda daha iltihaplı bir duruma işaret etmektedir. Udeochu ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları bir çalışmaya göre, mikroglia ekspresyonu ve inflamatuvar sitokinlerin üretilmesi diğer nöroglia hücelerine göre çok daha yüksek olduğu için, mikroglia, yaşa bağlı beyin iltihaplanmasını yönlendiren muhtemel suçludur (Şekil 3.1.), (Udeochu ve ark., 2016)



**Şekil 3.1.** Enflamasyonlu beyine sitokin salınımı (Becher, Spath ve Goverman, 2016).

Aktifleştirilmiş merkezi sinir sistemi-antijen-reaktif T yardımcı hücreleri, hedef antijeni MSS kanalları ile ilişkili antijen sunan hücreler (APC) aracılığıyla tanır. Bu TH hücreleri, sayısız sitokin üretir ve hem astrositler hem de IL-17 ve interferon- $\gamma$  gibi stromal hücreler kan-beyin bariyeri bütünlüğü üzerinde doğrudan etkiye sahiptir. Hem işgalci lökositlerin hem de dokuya yerleşik stromal hücrelerin ürettiği kemokinler, BBB'de lenfositlerin ve miyeloid hücrelerin kronik akınımına neden olur. Patojenik TH hücreleri ve yeni üretilen lökositler bazal zardan geçerek BBB yıkımını tamamladıktan sonra patojenik TH ile GM-CSF salgılanması, monositlere ve monosit kökenli hücrelerin oldukça fagositik hücreler olmasına ve pro-inflamatuar yıkıcı hale gelmesine neden olur. Bu hücreler aynı zamanda iltihaplanmayı ve doku tahribatını daha da artırabilen interaktif-oksijen türlerini (ROS) ve IL-1 gibi sitokinleri üretirler (Becher, Spath ve Goverman, 2016).

### 3.1. MIF

MIF birçok doku ve hücrede monositler ve makrofajlar dahil çeşitli hücreler tarafından eksprese edilen proinflamatuvar bir sitokindir (Li ve ark., 2015), fakat MIF, bilinen sitokinlerden farklı bir özellik taşır (Savaskan ve ark., 2012). MIF diğer sitokinlerin aksine sekresyon için N- terminal lider dizisine ihtiyaç duymadan salınır (Savaskan ve ark., 2012). MIF, interferondan sonra tanımlanan ilk sitokinlerden biridir ve bağışıklık sisteminin anahtar düzenleyicisi olarak kabul edilir. Tarihsel olarak, glikozilasyon-inhibe edici faktör (GIF) olarak da bilinir. MIF başlangıçta, gecikmiş tip hipersensitif cevaplar ve inflamasyon rehberliğinde immünokompetan hücrelerin yer

değiştirmesine yol açan, çeşitli koşullar altında T hücrelerinden türetilmiş bir proinflamatuvar çözünür faktör olarak tanımlanmıştır. Fakat, MIF'in immün düzenleyici etkilere sahip olduğu ve çeşitli vücut sıvıları ve memeli organizma hücrelerinde bile yapısal olarak saptanabilir olduğu çok geçmeden ortaya çıkmıştır. MIF ilk olarak 1989'da T hücrelerinden klonlanmıştır. Bu sayede MIF'in, oksidoredüktaz ve totomeraz gibi enzimatik özellikler sergileyen iki katalitik merkezi olan bir sitokin olduğu sonucuna varıldı. Bu bulgular MIF'nin sadece bir sitokin değil, enzim ve sitokinin muhtemel kombinasyonu "sitozyme" olduğuna dair spekülasyon başlattı (Savaskan ve ark., 2012). MIF, nöroendokrin eksende olduğu kadar, doğuştan edinilmiş bağışıklıkta da önemli bir rol oynamaktadır. Bugüne kadar, MIF'in iltihap, malign transformasyon ve endokrin ve metabolik süreçlerde pleiotropik fonksiyonları indüklediği bilinmektedir (Savaskan ve ark., 2012).

### **3.1.1. MIF Sinyal Yolağı**

MIF, endositoz ile hücreye alınır. Endositoz, ancak hücre dışı bölgedeki MIF konsantrasyonu çok yüksek olduğunda ortaya çıkabilir. Hücre içinde MIF, COP9 yapısal fotomorfojenik homolog altbirim 5 (JAB1) ile etkileşir ve onu devre dışı bırakır. MIF, siklin-bağımlı kinaz inhibitörü 1B'yi (p27KIP1) stabilize ederek JAB1'e bağımlı hücre döngüsü regülasyonunu antagonize eder ve aktive edici protein 1 (AP-1)in Jun onkojen (c-Jun) alt birimi gibi transkripsiyon faktörlerinin JAB1'e bağlı aktivitesini inhibe eder. JAB1, P27KIP1'in, Ubikitin karboksil terminal esteraz L1 (UCHL1) ve Ubikitin Cull / Rbx1 E3 ligaz kompleksinin aracılık ettiği ubiquitin / proteasom yolu aracılığıyla parçalanmasını hızlandıran negatif bir düzenleyicidir. P27KIP1, Siklin E1 - Sikline bağımlı kinaz 2 (CDK2) veya Siklin D (Siklin D1, Siklin D2, Siklin D3) - Siklin bağımlı kinaz 4 (CDK4) komplekslerine bağlanır ve aktivasyonlarını önler, bu hücre döngüsünün G1'deki ilerlemesini kontrol eder. CDK2'ye bağımlı fosforilasyon ve müteakiben ubikitasyon yoluyla tetiklenen p27KIP1'in bozunması, sessiz yapıdan proliferatif duruma hücrel geçiş için gereklidir. JAB1, COP9 signalasom kompleksinin beşinci bileşenidir. JAB1 içeren komplekslerin en az iki değişik formu hücrede bulunur: biri çekirdekte bulunur ve diğeri esas olarak sitoplazmada bulunur. Çekirdekte, JAB1, Exportin 1 (CRM1) ile etkileşime girer ve p27KIP1 nükleer exportu başlatmak için



### 3.1.2.MIF Gen Yapısı ve Hastalıklarla İlişkisi

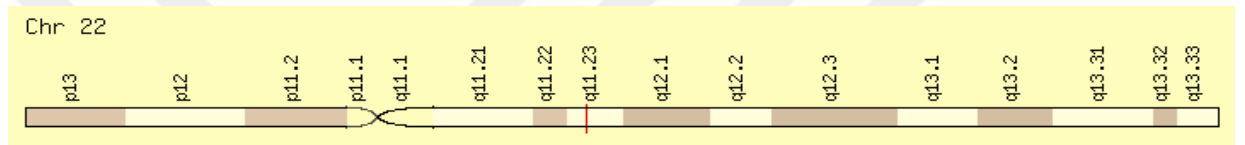
İnsan MIF geninin genomik organizasyonu 1994'te Paralkar ve Wistow tarafından bildirildi (Donn ve Ray, 2004). MIF 22q11.23 kromozom bölgesinde lokalize olmuş, iki intronla ayrılmış, 3 ekzondan oluşan ve 115 aa kodlayan küçük bir genidir (Güven ve ark., 2009; Savaskan ve ark., 2012). Toplam uzunluğu 1kb'den daha küçük olan bu genin ekzon boyutları 205, 173 ve 203 bç'i olup, bu ekzonlar 189 ve 95 bç'lik iki intron tarafından birbirinden ayrılmıştır (Donn ve Ray, 2004). Paralkar ve Wistow tarafından yapılan dizilemeler sonucu MIF'in 250 bç 3'UTR bölgesi ve 1 kb 5' bölgesi tanımlanmıştır. Primer uzatma ve 5'-cDNA uçlarının hızla çoğaltılması, transkripsiyon başlangıç bölgesini haritalamak için kullanılmış ve TATA içinde başlatıcı metioninin 97 bç upstreaminde tek bir yer tespit edilmiştir. Bu yaklaşımlar ek transkripsiyon başlangıç bölgelerinin varlığını dışlayamamıştır. Bol miktarda GC içeriğinden oluşan ve hiç TATA kutusu içermeyen MIF promotörünün anatomisi, birden fazla kopyalama başlangıç bölgesinin varlığını akla getirmektedir (Donn ve Ray, 2004).

MIF geninin ürünü molekül kütlesi 12,5 kDa olan 115 aa kodlayan küçük bir proteindir. Protein oldukça korunmuş olup *Arabidopsis thaliana*, nematodlar ve omurgalılarda homologları bulunmuştur. İnsan ve fare MIF'i arasındaki dizi homolojisi % 89'dur. MIF'in başka herhangi bir protein ile önemli bir dizi homolojisi yoktur. Ayrıca, MIF'in üç boyutlu yapısı, diğer sitokin veya hipofiz hormonlarından farklıdır. MIF ile kısmi yapısal benzerliği paylaşan tek protein, insanlarda bulunan D-dopakrom totomeraz enzimidir (Donn ve Ray, 2004).

İnsan MIF geninde esas olarak bildirilen dört polimorfizm bulunmaktadır. Bunlardan üç tanesi tek nükleotid polimorfizmi (-173 G>C (rs755622), +254 (rs2096525) ve +656 (rs2070766) ), diğeri ise mikrosatellitir (-794 CATT<sub>5-8</sub>). rs 2096525 ve rs2070766 intronlarda bulunurken, rs755622 ve -794 CATT<sub>5-8</sub>, MIF'nin promotor bölgesinde bulunmaktadır (Donn ve Ray, 2004). MIF geninin promotöründe yer alan polimorfizmlerle ilgili yapılan çalışmalarda, rs755622 polimorfizmindeki -173 C alleli, MIF geninin yüksek transkripsiyon aktivitesi ve artmış MIF proteini üretimi ile ilişkilendirilmiştir (Ji ve ark., 2015). Ayrıca araştırmalar -173 C allelinin Aktivatör Protein-4 (AP-4) transkripsiyon faktörü için potansiyel bağlanma bölgesi oluşturduğunu işaret etmektedir (Donn ve ark., 2002). Diğer taraftan, -794CATT<sub>5-8</sub> polimorfizmi

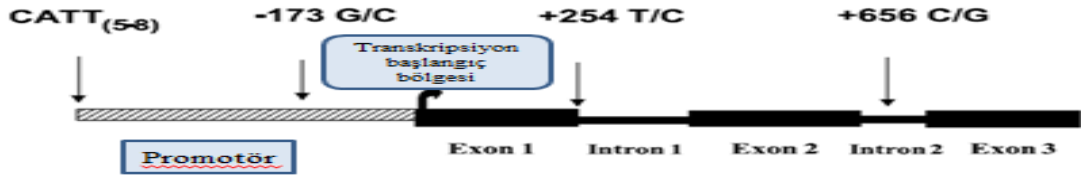
bakımından yapılan çalışmalarda CATT-5 allelini taşıyan genlerin diğer alellere nazaran in vitro olarak bazal ve uyarılmış MIF promotör aktivitesinin en düşük seviyesine sahip olduğu bildirilmiştir (Ji ve ark.,2015).Yapılan çalışmalara göre bu polimorfizmler, MIF gen ekspresyonunu etkiler. -794 CATT<sub>5-8</sub>'de tekrarlanan artış (CATT<sub>5-8</sub>), MIF ekspresyonundaki artışla ilişkilidir ve yüksek CATT<sub>5-8</sub> sayısı duyarlılık ya da otoimmün inflamatuvar hastalık klinik şiddetini etkiler (Yao ve ark., 2016).

Şekil 3.3'de MIF kromozom yerleşimi, Şekil 3.4'de MIF promotör polimorfizmleri, Şekil 3.5'de insan MIF geninin yapısal şeması gösterilmiştir.

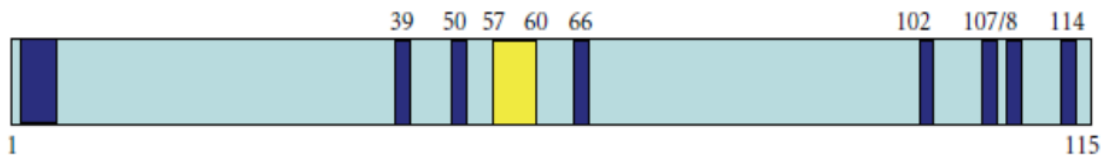


**Şekil 3.3.** MIF kromozom yerleşimi

(<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MIF>)



**Şekil 3.4.** MIF promotör polimorfizmleri (Donn ve Ray, 2004)



**Şekil 3.5.** İnsan MIF geninin birincil yapısal şeması (Savaskan ve ark., 2012)

Sarı bölge CXXC alanını, mavi kutulu alanlar önerilen totomeraz / izomeraz alanlarını ve kümelenmiş amino asitleri (Phe3, Val39, Gly50, Lys66, Asn102, Gly107, Trp108, Phe113 ve Ala114) işaret eder (Savaskan ve ark., 2012)

MIF immün sistemde, monosit, makrofajlar ve T hücreleri tarafından üretilir, TNF- $\alpha$  sentezi için uyarıcıdır ve T hücre aktivasyonuna katkı sağlamak için gereklidir (Sontas ve ark., 2001). Hipofiz hücreleri, T hücreleri, makrofajlar / monositler dahil olmak üzere pek çok hücre içinde mevcut olan enfeksiyon ve strese yanıt olarak salınır (Calandra ve ark., 1994). T ve B lenfositleri, monosit ve makrofajlar, eozinofiller, nötrofiller, mast hücreleri, epitelyal hücreler, ön hipofiz bezi, karaciğer, beyin, böbrek, plasenta, pankreas tarafından MIF'in salgılandığı tesbit edilmiştir Bernhagen ve ark., 1993; Çatak ve ark., 2013). MIF, birçok doku ve hastalıkta eksprese edilir. Anti-glukokortikoid, sürekli bir MAP kinaz aktivasyonu, p-53 kaynaklı büyüme inhibisyonu ve Jab1 transkripsiyonel etkilerinin kontrolünü sağlaması gibi birçok hücrel işleme sahiptir (Bacher ve ark., 2010). Ayrıca benzersiz yapısı ve kemokin benzeri işlevleri ile pleiotropik bağışıklık regülatörüdür. Keşfedildiğinden beri belirlenen fonksiyonları; spesifik olmayan bağışıklık, inflamatuvar hücre alımı ve inflamatuvar tepki olarak belirtilmiştir (Savaskan ve ark., 2012). MIF, iltihaplanma ve bağışıklık yanı sıra büyüme faktörüne bağlı hücre çoğalması, hücre döngüsü, anjiogenezis ve tümörigenezde rol oynayan pluripotent bir sitokindir. MIF, akut ve kronik inflamasyon, neoanjiyogenez ve kanser patogenezi ile ilişkilendirildiğinden beri, MIF sinyal bileşenleri tıbbın çeşitli alanlarında terapötik müdahale için uygun hedefler olarak kabul edilir. Nörodejeneratif ve nöroonkolojik hastalıklarla, MIF oldukça alakalı, ancak halen çok fazla araştırılmayan bir araçtır (Savaskan ve ark., 2012).

MIF sitokininin hastalıklarla olan ilişkisi incelendiğinde, Meksika - Mestizo popülasyonunda yapılan önceki çalışmalarda, MIF promotör polimorfizmlerinin romatoid artrit (RA) ve sistemik lupus eritomatoz gibi otoimmün / inflamatuvar hastalıkların patolojileri için etkili olabileceği tespit edilmiştir (Morales-Zambrano ve ark., 2014). Ayrıca yapılan çalışmalarda, MIF seviyelerinin bağışıklık ve beyin hücreleri ile çeşitli kanser hücrelerine ait inflamasyon bölgelerinde yüksek seviyelerde olduğu gözlenmiştir. MIF'in, hipofiz kaynaklı bir hormon olarak, iltihaplanma, ateroskleroz, kanser gelişimi ve kanser ilerlemesi gibi süreçlere de katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Savaskan ve ark.,2012). Tümör kaynaklı MIF'in, tümör içindeki inflamatuvar hücrelerini kontrol ederek tümör büyümesini ve metastazı teşvik ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Simpson, Templeton ve Cross, 2012). Mittelbronn ve arkadaşlarının 2011'de yaptıkları çalışmaya göre insan malign gliomalarında MIF

ekspresyonu, bağıışıklık kaçışına ve tümör progresyonuna katkıda bulunmaktadır (Mitellbronn ve ark., 2011). Fukaya ve arkadaşlarının 2016 yılında MIF'in p53'ü doğrudan inhibe ederek beyin tümörünü başlatan hücrelerin tümörojenik kapasitesini sürdürdüğüne dair bir çalışma yaptılar (Fukaya ve ark., 2016). MIF genindeki polimorfizmler bakımından yapılan çalışmaları incelediğimizde, Batı Meksika toplumunda -794 CATT<sub>5-8</sub> MIF polimorfizmi ile akut koroner sendromu arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma sonucunda -794 CATT<sub>5-8</sub> MIF polimorfizmi bulunan bireylerin akut koroner sendromuna genetik yatkınlığı olduğu bulunmuştur (Valdes-Alvarado, 2014). Güven ve arkadaşlarının akut lösemili hastalar ile ilgili yaptıkları bir araştırmada -173 G>C MIF polimorfizminde -173 C allelini taşıyan bireylerde hastalık riskinin arttığı bulunmuştur (Güven ve ark., 2009). Lehmann ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada MIF promotor polimorfizmleri (-173 G>C ve -794 CATT<sub>5-8</sub>) ile sepsis ilişkisi araştırılmış ve bu polimorfizmler ile ağır sepsis arasında anlamlı ilişkiler bulunmuştur (Lehmann ve ark., 2009). Otoimmün bir hastalık olan Multiple Skleroz (MS) ile MIF arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada, MS hastalarında -173 CC genotipi istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ve hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Akçalı ve ark., 2010). MIF'in rol oynadığı düşünülen diğer bir hastalık RA'dır ve RA'lı hastaların sinoviyal fibroblastlarında matrix metalloproteinazlarının salınımını artırarak RA'daki doku yıkımına katkıda bulunduğu saptanmıştır (Kim ve ark., 2007). Ayrıca MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> polimorfizmi ile erken başlangıçlı RA arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu tespit edilmiştir ve MIF promotor polimorfizmleri (-173 G>C ve -794 CATT<sub>5-8</sub>) arasındaki bağlantı dengesizliği ile yüksek hastalık aktivitesi ilişkilendirilmiştir (Lamas-Covarrubias ve ark., 2013). 2014 yılında yapılan bir çalışmada otoimmün hepatit hastalarında -794 CATT<sub>5-8</sub> alellinin yüksek ekspresyon gösterdiği bulunmuştur (Assis, 2014). El-Adly ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada MIF -173 G>C polimorfizminin çocukluk çağı astımına karşı duyarlılığı araştırdılmıştır (El-Adly ve ark., 2016). 2016 yılında Salem ve arkadaşları alopesi areatalı hastaların serum ve cilt lezyonlarında MIF düzeylerini değerlendirmiştir (Salem ve ark., 2016). Ayrıca MIF, sistemik lupus eritematoz, sistemik skleroz, atopik dermatit, psoriasis vulgaris, vitiligo vulgaris, büllöz pemfigoid gibi birçok otoimmün deri hastalığı ve birçok doku ile ilişkilendirilmiş olup anlamlı farklılıklar saptanmıştır (Ma ve ark., 2013; Shimizu., 2015).



### 3.1.3. MIF ve AH ilişkisi

AH, Parkinson hastalığı, MS, insan bağışıklık eksikliği-virüs ilişkili bunama ve inme gibi nörodejeneratif bozukluklarda nöroinflamasyon ve nöronal ölüme önemli rol oynayabilen MSS hücrelerinde, kemokinlerin ve reseptörlerinin upregülatör olduklarına ilişkin çalışmalar yapılmış ve desteklenmiştir (Azizi ve ark., 2014). Azizi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada AH'de uzun süreli ve sürekli inflamasyonun sitotoksik etkilere sahip olabildiği, hastalığın şiddetini artırdığı ve hastalığın ilerlemesini hızlandırdığı belirtilmiştir (Azizi ve ark., 2014). İnflamasyon, AH'li hastalarda beynin patolojik açıdan savunmasız bölgelerinde açıkça görülür ve bu durum, lokal çevresel inflamatuvar yanıtların tam karmaşıklığı ile gerçekleşir. Çevrede dejenerasyon gösteren doku ve oldukça çözünmeyen anormal materyallerin birikmesi, iltihaplanmanın klasik uyarıcılarıdır. Benzer şekilde, beyinde hasar gören nöronlar ve nevitler, çözünmeyen amiloid beta peptid yatakları ve nörofibriller yumrular, AH'de inflamasyon için apaçık uyarılara neden olur (Akiyama ve ark., 2000).

İnflamatuvar süreçlerin AH'nin patofizyolojisinde yer aldığını gösteren merkezi olay, mikroglia'nın  $\beta$ -amiloid (A $\beta$ ) ve proinflamatuvar sitokinler gibi çeşitli faktörler tarafından aktive olmasıdır. Senil plakları çevreleyen aktive edilmiş mikroglia hücreleri, IL-1-beta, IL-6 ve TNF-a gibi proinflamatuvar sitokinleri serbest bırakır (Bacher ve ark., 2010). Glutamata bağlı eksitotoksitenin artırılması, uzun süreli potensiyasyonun engellenmesi (nöronal hasardan sonra işlevsel plastisiteyi sınırlar) ve hipokampal nevrojenezin inhibisyonu dahil çeşitli mekanizmalar nöronal ölüm ve işlevsizliğe yol açabilir (Bacher ve ark., 2010).

MIF, proinflamatuvar, hormonal ve enzimatik aktivitelere sahip olan, birçok yerde eksprese edilen bir proteindir. Glukokortikoidlerin etkisini anatagonize eder ve bu nedenle iltihaplanma tepkisinin büyüklüğünü belirlemede merkezi bir rol oynar (Barton ve ark., 2003). İlginçtir ki, MIF, AH plaklarının temel bileşeni olan  $\beta$ -amiloid peptid ile bağlantılı olarak izole edilmekte ve böylece bu nörodejeneratif hastalık için ortaya çıkan bir proinflamatuvar etiyoloji teorisini desteklemektedir. Yakın tarihli bir raporda, AH bireylerin BOS örneklerinde yaşa uygun sağlıklı kontrol hastalarına kıyasla MIF

düzeylerinin belirgin şekilde yükseldiği gösterilmiştir (Bacher ve ark., 2010). Ayrıca bu sitokin, iltihaplanma üzerindeki önemli etkisi ile çoklu organ işlev bozukluğu ve sistemik inflamatuvar cevap sendromunda kritik bir rol oynamaktadır (Çatak ve ark., 2013.)



## 4. MATERYAL VE METOD

### 4.1. ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışmaya; Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı'na başvuran Alzheimer tanısı almış 209 hasta alındı. Nöroloji Polikliniğine başvuran sağlıklı 133 bireyden kontrol grubu oluşturuldu.

#### *4.1.1. Etik Kurul İzni ve Bilgilendirilmiş Onam*

Araştırmaya katılan tüm bireylere araştırma ile ilgili ayrıntılı bilgi verilmiş ve onam formu kan örneği alınmadan önce imzalatılmıştır. Çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi etik kurulu tarafından 04/03/2015 tarih ve 2015/03 sayılı toplantısı 15-KAEK-019 numaralı kararıyla onaylanmıştır.

### 4.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN ALET ve CİHAZLAR

Tez çalışmasında kullanılan cihaz isimleri ve markaları Tablo 4.1. de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar

CİHAZLAR	MARKALAR
Real-Time PZR	(Applied Biosystems Step One Plus)
PZR (Thermal Cycler)	5 Prime Thermal Cycler, 5PRIMEG102
Bilgisayar	Exper, intelcore
Jel Görüntüleme Cihazı	Transilluminator
Santrifüj	Mikro 120, Hettich Zentrifugen
Vorteks	VELP Scientifica, F20220176
Su Banyosu	Memmert
Hassas Terazı	KERN, ABJ 220-4M
Manyetik Karıştırıcı	VELP Scientifica, F20520162
pH Metre	İhanna, 507702
Mikrodalga Fırın	Arçelik MD554
Elektroforez Tankı	Cleaver Scientifica, MHCHOİCE
Elektroforez Güç Kaynağı	Consort, EV26
Buzdolabı	İndesit, TN5 FNF

### 4.3. ÇÖZELTİLER

#### 4.3.1. Agaroj jel hazırlanmasında kullanılan kimyasallar;

1. Agaroj (İnvitrogen, Lot:0000230689)
2. Trizma Baz (Bioshop, Lot: 1L22940)
3. Borik Asit (Carlo Erba, Lot: 0L057180L)
4. EDTA (Amresco, Lot: 3228B038)
5. Ethidium Bromid (Serva, 090107)
6. NaOH (Sodyum Hidroksit) (Riedel- de Haen, Lot: 70440 UN 1823)

#### **4.3.2. Agaroz Jel Hazırlanmasında Kullanılan Çözeltiler;**

1. 100 ml, 0,5M Etilendiamin Tetra Asetik Asit (EDTA) hazırlanması: 18,16 gr EDTA hassas terazide tartılıp, çözünme işlemi için yaklaşık 2g NaOH ilave edildikten sonra 80 ml saf suda çözüp 100 ml'ye tamamlandı ve pH metre (HANNA, 507702) ile pH 8'e ayarlandıktan sonra otoklav yapıldı.

2. 5xTBE (Tris-Borik Asit-EDTA): 54 gr Tris, 27,5 gr Borik asit ve 100 ml hazırlanan EDTA çözeltisinden 20 ml ilave edilip bir miktar saf suda çözüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlandı.

3. Etidyum bromid solüsyonunun (10mg/ml) hazırlanması için; 0,1 gr Ethidium Bromid 10 ml distile su içerisinde bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Kullanılacak tüpler alüminyum folyo ile kaplandı. Oda sıcaklığında veya +4 C de saklandı.

#### **4.4. PERİFERİK KAN LÖKOSİTLERİNDEN DNA İZOLASYONU**

Alzheimer tanısı almış 209 hasta ile 133 kontrol grubundan alınan 5ml kan örnekleri, EDTA'lı tüplere koyularak buzdolabında +4 derecede çalışma yapılincaya kadar saklandı. Bu kandan 200µl alınarak İnvitrogen DNA izolasyon kiti yardımıyla DNA'ları izole edildi.

##### **4.4.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Sarf Malzemeler**

- İnvitrogen DNA izolasyon kiti (Thermo Scientific, Lot: 00169383)
- Mikro pipetler ( Thermo, finnepipette )
- 1,5 ml'lik ependorf tüp
- Pipet Uçları (10 µl, 100 µl,1000 µl )
- Rak

- Etiket
- Filtreli Tüp

#### ***4.4.2. Kandan DNA İzolasyonunda Kullanılan Protokol***

1. EDTA içeren kan örneklerinden 200 µl kan 1,5 ml'lik ependorf tüplere alındı.Üzerine 20 µl RNAz ve 20 µl proteinaz K ilave edildi ve vortekslendi.
2. 240 µl olan karışımın üzerine 200 µl Genomic/Lysis Binding Buffer ilave edilerek homojenizasyon için vorteksleme işlemi yapıldıktan sonra 55 derece sıcaklıktaki su banyosunda 10 dk bekletildi.
3. 440 µl olan karışımın üzerine 200 µl saf etanol (Merck, K3659586) ilave edildikten sonra homojen olana kadar vorteks yapıldı.
4. 640 µl olan karışım filtreli tüpe alınarak 11.000 rpm'de (dakikadaki evir) 1 dk vorteks yapıldı. Böylece DNA'nın filtrede kalması ve diğer moleküllerin filtreden süzülmesi sağlandı.
5. Filtre, temiz bir tüpe alınarak üzerine 500 µl Wash Buffer 1(yıkama solüsyonu 1) ilave edildi ve 11.000 rpm'de 1 dk santrifüj yapıldı.
6. Filtre tekrar temiz bir tüpe alınarak üzerine 500 µl Wash Buffer 2 (yıkama solüsyonu 2) ilave edilip 13.000 rpm'de 3 dk santrifüj yapıldı.
7. Filtre temiz bir ependorf tüpüne alınarak üzerine 200 µl Elution Buffer (ayırıştırma tamponu) ilave edilip 1 dk oda sıcaklığında bekletildi ve 13.000 rpm'de 1 dk santrifüj yapılarak DNA'nın ependorfa sızması sağlandı. Sonuçta ependorf tüpte yaklaşık 25-50 ng/ µl konsantrasyonda 200 µl DNA elde edilmiş oldu.

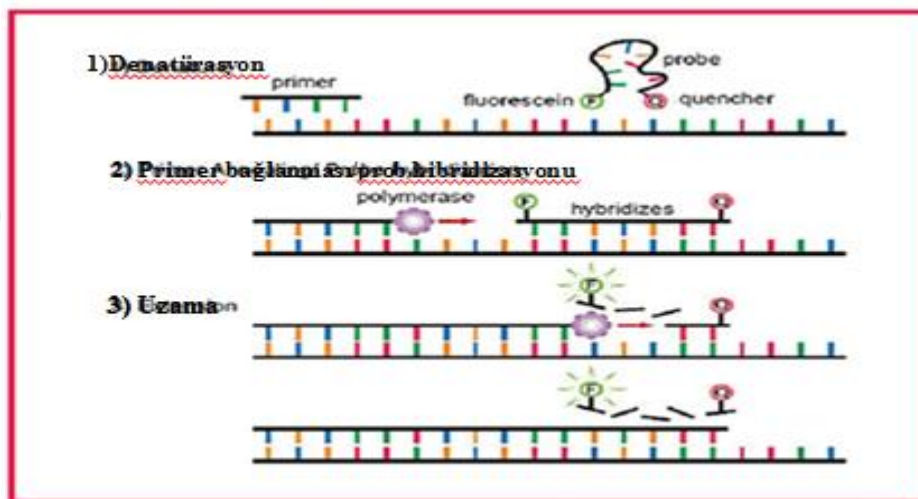
#### 4.5.KANTİTATİF REAL-TİME POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU(qPZR)

Polimeraz zincir reaksiyonunda (PZR) yeni flüoresan teknikleriyle birlikte yeni gelişmeler nicel veya gerçek zamanlı PZR'ın ortaya çıkmasına yol açtı (Ramakers ve ark., 2003). Gerçek zamanlı PZR, yüksek hassasiyet, geniş dinamik algılama alanı ve düşük kontaminasyon riski nedeniyle nükleik asit moleküllerinin spesifik tespiti ve nicelendirilmesi için altın standart olarak kabul görmeye başladı (Yao ve ark.,2006). Bu teknoloji “kinetik PZR” ve “homojen PZR” isimleriyle de tarif edilmektedir (Günel, 2007). Teknik, ürün kısıtlaması, enzim istikrarsızlığı ve reaksiyon bileşenlerinin azalması nedeniyle yanıltıcı olabilecek son nokta analizlerine dayanmadığı için gelişim biyolojisinde ve tıbbi teşhistelerde, diğer kantitatif PZR yöntemlerinden daha fazla tercih edilmektedir (Ramakers ve ark., 2003).

Gerçek zamanlı PZR'de oluşturulan ürün miktarı, oluşmuş ürünün miktarı ile orantılı olarak reaksiyona giren floresan boya ve probaların meydana getirdiği sinyalin reaksiyonun seyri boyunca izlenmesi ile anlaşılır (Kubista ve ark., 2006). Gerçek zamanlı PZR yapısı iki ana gruba ayrılmıştır; Birinci grup, SYBR Green I ve EvaGreen gibi çift sarmallı DNA araya sokma moleküllerini içermekte, ikinci grup fluorofor etiketli oligonükleotidleri içermektedir. Bunlar, PZR reaksiyonunda kullanılan flüoresan moleküllerinin türüne göre üç alt gruba ayrılmıştır: (1) primer probalar (Scorpions, Amplifluor®, LUX™, Cyclicons, Angler®); (2) Hidroliz probalar (TaqMan, MGB-TaqMan, Snake tahlili) ve hibridizasyon probaları (Hybprobe veya FRET Molecular Beacons, HyBeacon™, MGB-Pleiades, MGB-Eclipse, ResonSense®, Yin-Yang veya yer değiştirme); ve (3) nükleik asit analogları (PNA, LNA®, ZNA™, doğal olmayan bazlar: Plexor™ primeri, Tiny-Moleküler Sinyal). Primer probalar, bir primer veya probu tek bir molekülde birleştiren oligonükleotitlerdir ve klasik primerler gibi işlev yaparlar, hibridizasyon probaları ise hedef DNA'ya bağlandığında ışımaya yapar (Navarro ve ark., 2015). Birçok farklı ticari qPZR tipi bulunmakta olup ayırım yapılma kriterleri ve tercih edilme sebepleri “eksitasyon” ve “emisyon” dalga boylarındaki farklılıklar ve hızlarıdır. En çok tercih edilenler “Stratagene M x 3000p, M x 3005p ve M x 4000”, “Applied Biosystems 7300 ve 7500”, “Chromo4”, “Smart Cycler”, “RotorGene”, “LightCycler” dır (Günel, 2007).

#### 4.5.1. Taqman Hidroliz Prob Tekniği

qPZR, bağlanma aşamasında bir PZR ürününün iç bölgesine hibridize olacak şekilde tasarlanmış floresan rezonans enerji transferi (FRET) problemleri kullanır. Bir Taqman floresan probu, 5' ucuna tutturulmuş bir flüorojenik boya (reporter-haberci) ve 3' ucuna bir söndürücü (quencher) molekölü olan lineer bir oligonükleotid içerir. Applied Biosystems küçük oluk bağlayıcı (MGB) problemleri 5' haberci boya ve 3' non-floresan söndürücü (NFQ) içerir. Tamamlayıcı DNA kalıbına hibridleşmeden sonra, uzatma sırasında Taq polimerazın 5'-3' ekzonükleaz aktivitesi tarafından indirgenir ve haberci boya floresan serbest bırakılır ve ışımaya yapar. NFQ, kantitatif olarak daha iyi bir hassasiyetle sonuçlanan düşük arka plan sinyali avantajını sunar (Yao, Nellaker ve Karlsson, 2006). Taqman hidroliz problemlerinin çalışma prensibi Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



**Şekil: 4.1.** Taqman Hidroliz Problemlerinin Temel Çalışma Prensibi ([http://images.slideplayer.biz.tr/11/2947348/slides/slide\\_18.jpg](http://images.slideplayer.biz.tr/11/2947348/slides/slide_18.jpg))

#### 4.5.2. DNA'nın Kantitatif Tayini

Çalışmada kullanılan DNA örneklerinin miktar tayini için Qubit dsDNA BR Assay Kit 500 ssays 2-1000ng (katalog no: Q326853) kit protokolü uygulanmış olup ölçümler kit ile uyumlu Qubit 2.0 Fluometer cihazında hesaplanmıştır.



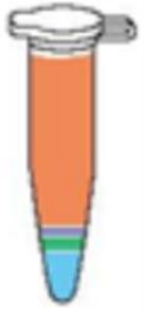
#### 4.5.3.MIF rs755622 (-173 G>C) Polimorfizminin Real-Time PZR ile Kantitasyonu

Bu çalışmada MIF geni -173 G>C polimorfizminin belirlenebilmesi için hedef bölgeye özgü tasarlanan Taqman prob ve primer çiftleri aracılığıyla Real-Time PZR yöntemi kullanıldı..

MIF -173 G>C polimorfizmi için yapılan Real- Time PZR yönteminde kullanılan bileşenler ve miktarları Tablo 4.2.' de verilmiştir.

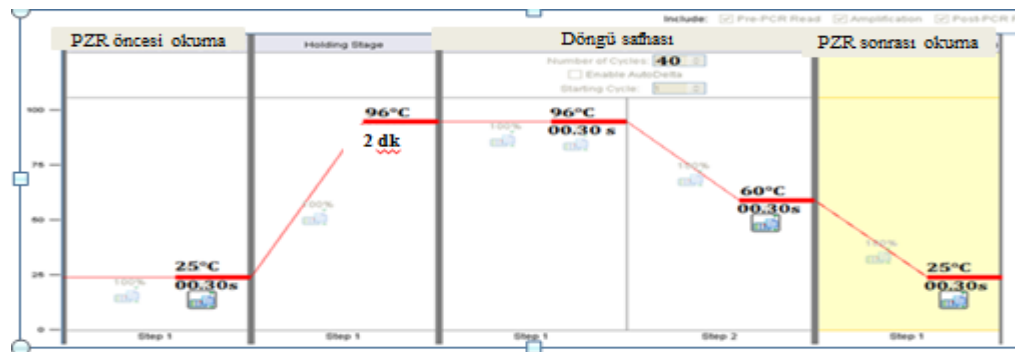
**Tablo 4.2.**Çalışmada Kullanılan Bileşenler ve Miktarları (Applied Biosystems StepOnePlus Real-Time PCR systems)

Bileşenler	Miktar (µl)
Master Mix(2x)	5,50
Assay Mix(20x)	0,55
Sample (10x)	1,10
Su	3,85
<b>Total Miktar</b>	<b>11</b>



Tedarikçi firmanın StepOnePlus Real- Time PZR için önerdiği total hacim her kuyucuk için 20µl olmalıdır. Ancak çalışmamız için seri dilüsyon yaparak kullanılan bileşenlerin miktarları optimize edilmiştir ve total hacim 11µl olarak belirlenmiştir.

MIF -173 G>C polimorfizmi için yapılan Real- Time PZR reaksiyonunda gerekli olan PZR şartları Şekil 4.2.de ayrıntılı olarak gösterilmiştir



**Şekil 4.2.** MIF -173 G>C Bölgesi için Kullanılan PZR Programı (Applied Biosystem StepOnePlus Real-Time PCR systems)

#### 4.6. MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> (RS5844572) STR (Short Tandem Repeats - Kısa Ardışık Tekrarlar) BÖLGESİ İÇİN PZR

PZR, in vitro DNA sentezi ile spesifik DNA sekanslarını üssel olarak büyütmek, çoğaltmak için kullanılan moleküler teknoloji ürünlerinden biridir. PZR üç temel adımda gerçekleşir: 1) DNA fragmanının yüksek ısı ile ayrılması (Denatürasyon), 2) Denatüre DNA zincirlerine iki sentetik oligonükleotid primerin tavllanması (Hibridizasyon) ve 3) Termostabil bir DNA polimeraz ile primer uzatma (Polimerizasyon)'yı içermektedir. Yeni sentezlenen DNA iplikçikleri, sonraki adımlarda DNA sentezinin hedefi olarak kullanılır, çünkü bu üç adım siklus sayısına bağlı olarak tekrarlanır (Henson ve French, 1993). Tüm bu basamaklara amplifikasyon işlemi denir (Ulusoy ve Görgül, 2006). PZR işlemi için hedef DNA kalıbı, çoğaltılacak DNA bölgesine spesifik sentetik primerler, yüksek sıcaklığa uygun Taq polimeraz veya farklı bir polimeraz, deoksinükleotit trifosfat (dNTP), tampon solüsyonu (Ortamın uygunluğunu ve DNA polimeraz için sabit ortam sağlar), iki iyonlu katyonlar (genelde Mg<sup>+2</sup>) gerekmektedir (Sambrook, 2001). Bu çalışmada MIF geni -794 CATT<sub>5-8</sub> polimorfizminin belirlenebilmesi için klasik PZR yöntemi kullanıldı. Bu yöntem için kullanılan primerler Tablo 4.3. de verilmiştir.

**Tablo 4.3.** MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> Bölgesi için Kullanılan Primer ve PZR Ürün Boyları

Gen Adı	SNP ID	Primerler	PZR Ürün Boyları
MIF-794 (CATT <sub>5-8</sub> )	rs5844572	<b>Forward:</b> <b>5'GCCTGTGATCCAGTTGCTGCCTTGTC-3'</b>  <b>Reverse:</b> <b>5'CCACTAATGGTAACTCGGGGACCAT-3'</b>	<b>5 tekrar- 129 bç</b> <b>6 tekrar- 133 bç</b> <b>7 tekrar- 137 bç</b> <b>8 tekrar- 141 bç</b>

Çalışmada kullanılan klasik PZR komponentleri; toplam reaksiyon hacmi içerisinde 0,2 mM olacak şekilde dNTP karışımı (Thermo Scientific,25 mM), 1U Taq DNA Polimeraz (Gene All, Lot: TQ016A28007), 1X Reaction Taq Buffer (Gene All Lot: TB016G15000), 0,8 pmol primerler ve 3µl genomik DNA ve dH<sub>2</sub>O. Son hacim 25 µl olacak şekilde reaksiyon gerçekleştirilir (Tablo 4.4.).

**Tablo 4.4.** Çalışmada Kullanılan Klasik PZR Bileşenleri ve Miktarları

PZR Bileşenleri	Miktarlar (µl/Tüp)
Steril su (dH <sub>2</sub> O)	15,3 µl
Taq Buffer (10xTampon)	2,5 µl
dNTP Mix ( 5mM)	1,0 µl
Pimerler (Forward, Reverse) (20pmol/ µl)	1,0 µl
Taq DNA Polimeraz	0,2 µl
Genomik DNA ( 25-5 ng/ µl)	3,0 µl

Reaksiyon sonucunda -794 CATT<sub>5-8</sub> bölgesi için 129 bç, 133bç, 137 bç, 141 bç. uzunluğunda ürünler beklenmektedir. MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> polimorfizminin belirlenmesi için kullanılan PZR programı Tablo 4.5. de verilmiştir.

**Tablo 4.5.**MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> Bölgesi için Kullanılan PZR Programı

	Sıcaklık °C	Süre	Döngü Sayısı
<b>Ön Denatürasyon</b>	<b>96</b>	<b>2 dk</b>	
<b>Denatürasyon</b>	<b>94</b>	<b>30 sn</b>	
<b>Bağlanma</b>	<b>63</b>	<b>45 sn</b>	<b>40</b>
<b>Uzatma</b>	<b>72</b>	<b>30 sn</b>	
<b>Son Uzatma</b>	<b>72</b>	<b>7 dk</b>	

Uygulanan PZR koşulları ile belirlenen MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> bölgesine ait PZR ürünleri %5 lik 2:3 nusive agaroz jel hazırlanarak jel görüntüleme sitemi yardımıyla görüntülendi.

#### 4.7. AGARUZ JEL ELEKROFOREZİ

Tipik olarak, agaroz jelleri büyük DNA fragmanlarını (200 bç'den büyük) ayırmak için kullanılır. Farklı boyutlarda iki DNA fragmanı arasındaki mesafe, agaroz matrisinin konsantrasyonuna bağlı olarak belirlenebilir. DNA'nın görelî hareketliliği öncelikle jelin agaroz konsantrasyonuna, uygulanan akımın kuvvetine, tamponların iyonik kuvvetine ve DNA fragmanlarının konformasyonuna bağlıdır. DNA molekülleri katılaştırılmış agaroz jelinde oluşan küçük kutucuklardan geçerler. Genel olarak, küçük moleküller daha hızlı hareket eder ve daha uzun olanlardan daha uzağa göç eder, çünkü küçük moleküller, pozitif elektroda doğru hareket etmek için daha az sürtünmeye sahiptir. Düşük jel konsantrasyonu, büyük fragmentler için daha iyi çözünürlük sağlar. Öte yandan, yüksek jel konsantrasyonları, uzun fragmanların göç hızını azaltırken küçük DNA fragmanlarının daha iyi ayrılmasını kolaylaştırır (Lee ve Bahaman., 2010).

Yapılan bu çalışmada -794 CATT<sub>5-8</sub> bölgesine ait PZR ürünleri, Brom Fenol mavisi ve griserol (BBF, Lot: OLB00) içeren takip boyası ile %5'lik nusiv- agaroz jele yüklenerek sonuçları incelendi.

%5'lük Agaroz Jel Hazırlanırken; 3gr agaroz (İnvitrogen, Lot:0000186100) ve 2gr nusiv agaroz (Prona (Gamma Micropor), Lot: 095503PR) hassas terazide tartılıp, 100 ml 1x TBE (200ml 5xEDTA + 800 ml distile su) ilave edilerek karıştırıldı. Daha sonra mikrodalga fırında yaklaşık 2-3 dk ısıtılarak çözünmesi sağlandı. Tamamiyle çözüldükten sonra oda sıcaklığında hafif soğumaya bırakıldı. DNA'nın jel görüntüleme cihazında ışımaya yaparak görünmesini sağlayan yaklaşık 10 µl etidyum bromid hafif soğuyan çözeltiye ilave edildi. PZR ürünlerinin yükleneceği kuyucukların oluşması için elektroforez jel kasetinin iki kenarını kapatmak için yapılmış olan kalın lastik bariyerler takıldı ve taraklar yerleştirildi. Jel kasetinin içerisine çözelti dökülerek donması için yaklaşık 20 dk bekletildi. Hazırlanan % 5'lik agaroz jel, kaset içerisinde elektroforaz tankına yerleştirildi. Elektroforez tankının içine DNA'nın (-) kutuptan (+) kutupa doğru

göç etmesini sağlayan ve elektriksel ortam için gerekli olan 1XTBE çözeltisinden konulup DNA yürütme işlemi yapıldı. MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> bölgesi için yapılan PZR ürünlerinin her birinden ayrı ayrı yüklemek üzere 10 µl alınıp, PZR ürünlerini jelde takip etmek ve ürünlerin jel kutucuklarına oturmasını sağlamak için yaklaşık 1 µl jel yükleme tamponu ile pipetaj yapıldı ve PZR ürünleri jel kuyucuklarına yüklendi. PZR ürünleri arasındaki baz farkları çok az olduğu için 100 Volt'da yaklaşık 3 saat kadar marker eşliğinde yürütüldü. Marker olarak Bölüm 4.8'de anlatıldığı şekilde DNA dizilemesi yapılarak boyları belirlenen örnekler kullanılmıştır

Yürütme işlemi yapıldıktan sonra jel, jel görüntüleme cihazına konarak UV ışığı altında görünür hale getirildi ve Quantum ST4 programında görüntülendi.

#### **4.8. DNA DİZİLEME**

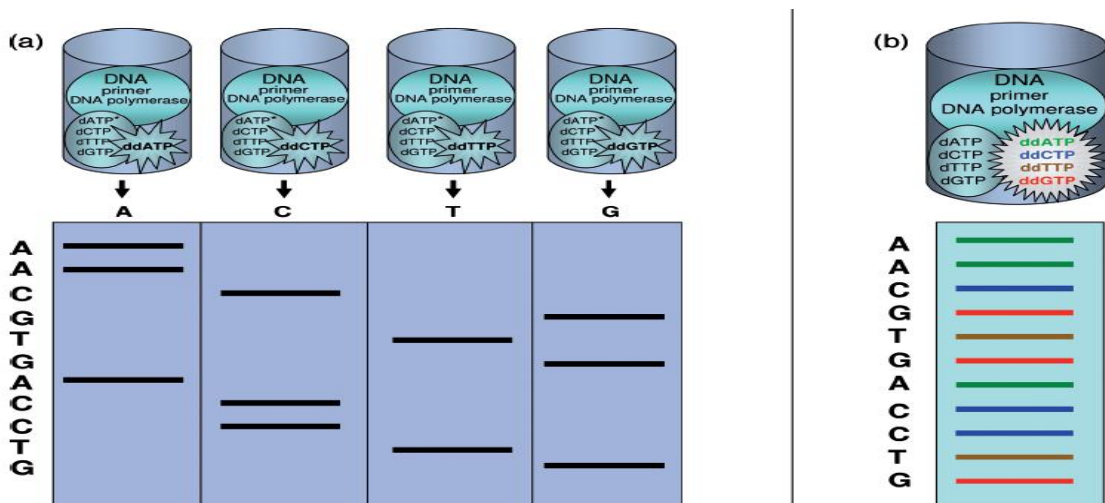
Dizileme, DNA'nın büyük fragmanlarının otomatik sıralanması için kullanılan bir yöntemdir. DNA sekans analizi, moleküler biyologlar için mevcut olan en önemli araçlardan biri haline gelmiştir. Mevcut sıralama teknolojisi, dizi verilerinin hemen hemen her DNA parçasından edinilmesini sağlar. Bu, tüm genlerin ve diğer genomik dizilerin sıralamasını değil aynı zamanda cDNA'nın dizilendirilmesi ile RNA transkript dizisinin tanımlanmasına da sağlar. Geleneksel DNA sıralama teknikleri sekans belirleme yaklaşımlarındaki üç temel adımı paylaşmaktadır. İlk olarak, ilgili restriksiyon enzimi ile DNA'nın iki iplikçiği birbirinden ayrılır ve uygun radyoaktif bir madde veya radyoaktif olmayan maddelerle işaretlenirler. İkinci adım reaksiyon kısmıdır ve burada farklı boylardaki DNA parçaları üretilir. Bu fragmentler, sıralanacak DNA türlerinin eksik kopyalarıdır. Üçüncü adım ise bu DNA fragmentlerini birbirinden ayırabilecek yüksek voltajlı bir elektroforezde yürütülmesidir. Bu işlemde mutlaka ince bir poliakrilamid jel kullanılmaktadır (Rosenthal ve ark., 2000).

DNA dizilemesi için iki temel yöntem kullanılmaktadır:

- 1) Maxam-Gillbert degradesyon yöntemi (kimyasal metod)
- 2) Sanger dideoksi yöntemi (Zincir sonlanması reaksiyonları) (enzimatik metod) (Rosenthal ve ark., 2000).

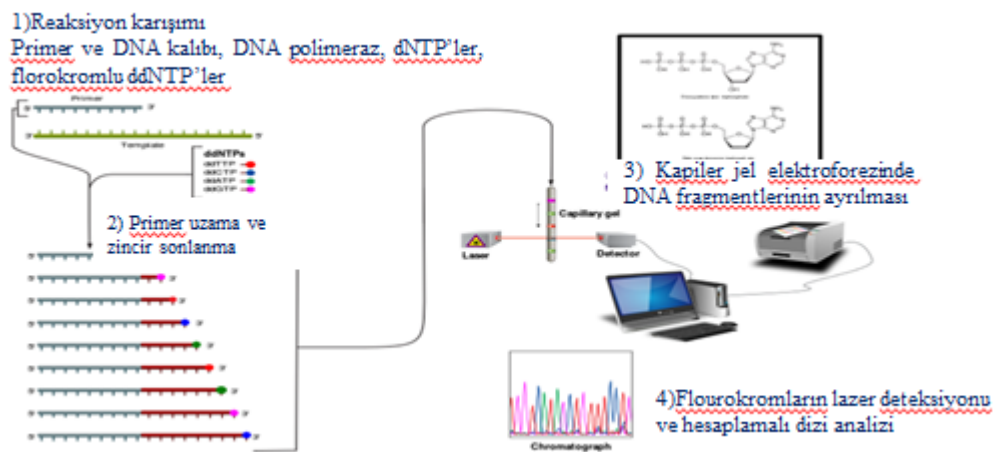
Maxam-Gilbert yöntemi, temeli kimyasal bozunmaya dayanan bir dizileme yöntemidir. Bu yöntemde uçları  $P^{32}$  ile işaretlenmiş DNA, adenin, sitozin, guanin veya timin pozisyonlarına spesifik kimyasal ajanlar kullanarak rastgele kırılma tabii tutulur. Bu yöntemde DNA çift veya tek sarmallı olabilir. Bu yönüyle başlangıçta Sanger yöntemine göre daha fazla tercih edilse de teknik sebepler ve zararlı kimsiyal kullanımından dolayı tercih sebebi olmaktan uzaklaşmıştır (França ve ark., 2002). Sanger yönteminin temeli ise enzimatik DNA sentezine dayanır. Dizisi saptanacak DNA dizisi yeni sentezlenecek DNA dizisi için kalıp olarak kullanılır. Yöntemde DNA polimeraz, dNTP'lerle birlikte ddNTP (Dideoksinükleotidler) leri de substrat olarak kullanır. ddNTPs, DNA zincirlerinin uzatılması için gereken 3 'hidroksil grubundan yoksun oldukları için bir sonraki dNTP'nin 5' fosfatıyla bir bağ oluşturamadıklarından dolayı sonlandırıcı olarak kullanılırlar (Heather ve Chain., 2016).  $P^{32}$  ile işaretli primer DNA sentezi için bir başlangıç noktası sağlayan şablon DNA üzerinde özel bir bölgeye bağlanır. DNA polimerazlarının varlığında, DNA üzerinde deoksinükleosid trifosfatların (dNTP) katalitik polimerizasyonu meydana gelir. Polimerizasyon, enzim büyüyen zincire modifiye bir nükleotit (sonlandırıcı veya ddNTP) ekleyene kadar uzar. Reaksiyonların her birinde çok az miktarda modifiye nükleotit kullanıldığı için yeni zincir sentezi rastgele sonlanarak bir dizi DNA fragmenti meydana gelir. Oluşan bu DNA fragmentleri poliakrilamid jelde yürütülerek dizi analizi sağlanır (França ve ark., 2002).

Şekil 4.3'de Sanger yöntemi ayrıntılı bir şekilde gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Sanger Yöntemi (Men ve ark., 2008).

DNA fragmanlarının floresan saptaması, enzimatik DNA sekans analizinde kullanılan oligonükleotid primerine kovalent bağlı bir florofor vasıtasıyla gerçekleştirilir. A, C, G ve T bazlarına özgü reaksiyonların her biri için farklı renkli bir fluorofor kullanılır. Reaksiyon karışımları birleştirilir ve tek bir poliakrilamid jel tüpünün altında birlikte elektroforezlenir, ayrılan DNA floresan bantları tüpün yakınında tespit edilir ve tüpün dizilimi doğrudan bilgisayar tarafından edinilir (Smith ve ark., 1986). Elektroforetik ünitelerde bulunan lazer ışık kaynağı ile monokromatik bir ışık oluşturulur. Söz konusu DNA' nın bulunduğu jel matriks bu monokromatik ışık ile taranır. Elektroforez süresince DNA' ya bağlanan floresan boya ışık ile taranan bölgeye geldiğinde uyarılır. Uyarılan boya kendi için karakteristik olan dalga boyunda ışığı geri yansıtır. Yansıyan bu ışık demeti bir detektör tarafından kaydedilir. Kaydedilen veriler bilgisayar programları ile değerlendirilerek sonuçlar grafiksel ya da matematiksel olarak bilgisayar ekranına aktarılır (Şekil 4.4.), (Sambrook ve ark., 2001).



**Şekil 4.4.** Dizi Analizinin Şematik Gösterimi (<http://www.evrimagaci.org/makale/22>)

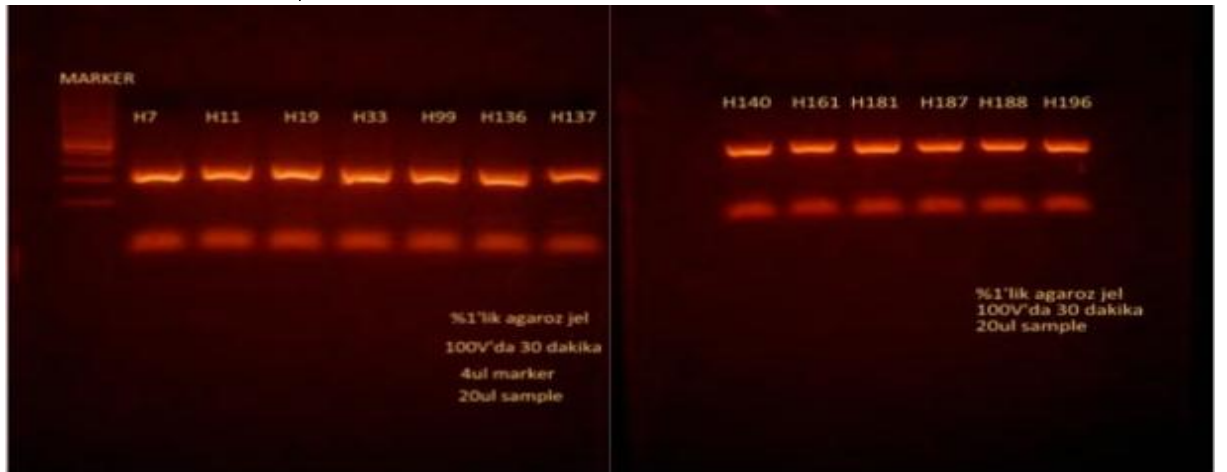
Bu yöntem, bir mikrosatellit olan -794 bölgesine ait DNA boylarını belirleyebilmek için gerekli olan uygun bir marker oluşturmak üzere kullanıldı. Öncelikle MIF geni -794 CATT<sub>5-8</sub> bölgesi için uygun bir primer dizayn edildi. Dizayn edilen primerler ile PZR kuruldu. PZR ürünleri %1 lik jelde (0,4 gr agaroz+ 49 ml TBE+ 2,5 ml gel red eklenerek jel oluşturuldu) görüntülendi. PZR programı, kullanılan reaksiyon bileşimi ve jel görüntüsü sırasıyla tablo 4.6, tablo 4.7 ve şekil 4.5'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

**Tablo 4.6:** PZR Bileşenleri

Bileşen	Miktar
Master Mix (GeneAll, Kot no:544- 005, Lot no: TM016G19001)	10 µl
DNA	2 µl
Primer F (10 pmol)	1 µl
Primer R (10 pmol)	1 µl
dH <sub>2</sub> O	6 µl
Total	20 µl

**Tablo 4.7:** PCR Programı

	Sıcaklık	Süre	Döngü
Ön Denatüasyon	95°C	5 dk	1X
Denatürasyon	95 °C	40 sn	
Bağlanma	55,8 °C	30 sn	35X
Uzatma	72 °C	30 sn	
Son Uzatma	72 °C	5 dk	1X

**Şekil 4.5.** Dizileme Öncesi Yapılan PZR'a ait %1'lik Jel Görüntüleri



#### 4.8.2.PZR Ürünlerinin Saflaştırılması:

Jel görüntüleme cihazı altında istenilen bantlar alkolle temizlenmiş blade ile kesilir. Kesilen jel parçası mikrosantrifüj tüpüne konulur. Hassas terazi de tartılır. Örneğin 100mg ise 300ul (3 volume) GB buffer eklenir. 50°C’de 5-10 dk inkübe edilir. Jel parçasının içerisinde erimesi beklenir. Karışımın rengi sarı olmaya başladığı zaman pipetaj yapılır. 1 volume isopropanol eklenip vorteks yapılabilir. Bu aşamada santrifüj yapılmaz. Mix SV kolona aktarılır.1 dakika santrifüj yapılır. 10.000rpm. 700ul den fazla konulmaz. Eğer fazla ise miktarı aynı işlem iki kere tekrarlanır. Collection tüp yenilenir. Üzerine 500ul GB buffer eklenip 30 saniye santrifüj edilir. Collection tüp yenilenir. Üzerine 700ul NW Buffer eklenir. 30 saniye santrifüj edilir. Collection tüp yenilenir. Herhangi bir wash buffer kalma ihtimaline karşı 1 dk santrifüj yapılır. Temiz kısım etiketli 1.5ml lik eppendorfa aktarılır. Üzerine 50ul EB buffer ya da ddH<sub>2</sub>O eklenir. Yüksek devirde 1 dakika santrifüj edilir. Temiz PZR ürünleri -20°C’de saklanır (Atlas Biyoteknoloji) . GeneAll Gel SV (Cat no: 102-150, Lot no:10215L08056) kiti ile jelden kesilen bantlar saflaştırıldı.

PZR ürünleri saflaştırıldıktan sonra dizileme için uygun koşullar sağlanarak PZR kuruldu ve sonuçlar değerlendirildi. Dizileme için gerekli olan PZR koşulları ve Reaksiyon bileşimi Tablo 4.8 ve Tablo 4.9’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

**Tablo 4.8:** Dizileme PZR için kullanılan bileşenler

<b>PZR BİLEŞENLERİ</b>	
<b>Ürün</b>	<b>Miktar</b>
<b>PZR Ürünü</b>	<b>5µl</b>
<b>Primer (F/R) (3.2 pmol)</b>	<b>1µl</b>
<b>Florasana işaretli Dye Terminatör</b>	<b>1µl</b>
<b>5X sekans buffer</b>	<b>4µl</b>
<b>ddH<sub>2</sub>O</b>	<b>2µl</b>
<b>TOTAL</b>	<b>11µl</b>

**Tablo 4.9:** Dizileme PZR için belirlenen PZR programı

<b>PZR PROGRAMI</b>			
	<b>Sıcaklık</b>	<b>Süre</b>	<b>Döngü</b>
<b>Ön Denatürasyon</b>	<b>95 °C</b>	<b>30 sn</b>	
<b>Denatürasyon</b>	<b>95 °C</b>	<b>10 sn</b>	
<b>Bağlanma</b>	<b>50 °C</b>	<b>5 sn</b>	<b>30X</b>
<b>Uzatma</b>	<b>60 °C</b>	<b>4 dk</b>	

#### **4.9. İSTATİSTİKSEL BULGULAR**

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 16.00 programı ve Winpepi yazılım programı kullanıldı. Tespit edilen genotip dağılımı ve Hardy – Weinberg denkliği, Ki kare testi ile araştırıldı.  $P < 0,05$ 'den küçük bulunan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Her iki polimorfizm için oluşan haplotip ve sıklıklarının belirlenmesinde Arlequin 3.11 yazılım programı kullanıldı.

#### **5. ARAŞTIRMA BULGULARI**

## 5.1. ARAŞTIRMA GRUBUNA AİT BULGULAR

Bu tez çalışmasında, MIF geninin promotör bölgesinde bulunan -173 G>C polimorfizmi Real-Time PZR yöntemi ile -794 CATT<sub>5-8</sub> tekrar bölgesi ise klasik PZR yöntemi kullanılarak belirlendi. Çalışma gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 5.1. ve Tablo 5.2. de verilmiştir.

**Tablo 5.1.** Tez Çalışmasında Yer Alan Hasta ve Kontrol Gruplarının Cinsiyete Göre Dağılımı

	<b>Alzheimer N(%)</b>	<b>Kontrol N (%)</b>	<b>Toplam N (%)</b>
<b>Bireyler</b>	<b>209 (100)</b>	<b>133 (100)</b>	<b>342 (100)</b>
<b>Kadın</b>	<b>102 (48,80)</b>	<b>65 (48,87)</b>	<b>167 (48,83)</b>
<b>Erkek</b>	<b>107 (51,19)</b>	<b>68 (51,12)</b>	<b>175 (51,16)</b>

**Tablo 5.2.** Tez Çalışmasında Yer Alan Hasta ve Kontrol Gruplarının Yaşa Göre Dağılımı

<b>Özellikler</b>	<b>Alzheimer (%)</b>	<b>Kontrol (%)</b>
<b>Yaş (Yıl)</b>	<b>75,70</b>	<b>74,29</b>
<b>Hafif Evre</b>	<b>59 (30,41)</b>	
<b>Orta Evre</b>	<b>78 (40,20)</b>	
<b>Şiddetli Evre</b>	<b>57 (29,38)</b>	
<b>Ortalama Hastalık süresi (Yıl)</b>	<b>4,16</b>	

## 5.2. DNA'NIN KALİTATİF TAYİNİ

Elde edilen genomik DNA'lar % 2'lik agaroz jelde 120V'da 20 dk yürütülerek analiz edildi. Şekil 5.1.'de gösterildi.

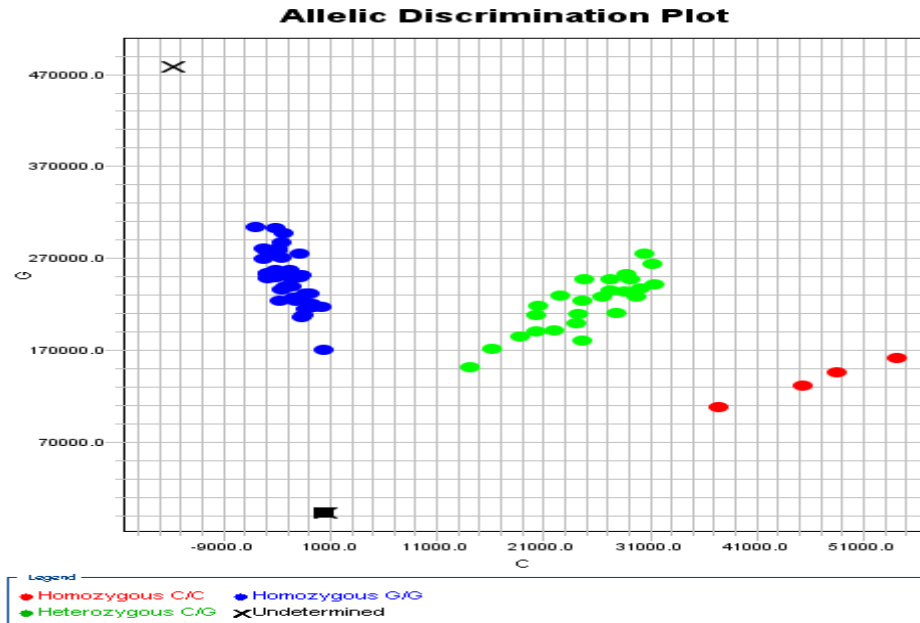


Şekil 5.1. Genomik DNA'nın agaroz jelde yürütülmesi

## 5.3. MIF -173 G>C (rs755622 ) POLİMORFİZMİNE AİT REAL- TIME PZR VERİLERİ

Bu çalışma kapsamında 209 Alzheimer hastası ve 133 kontrol örneği incelenmiş olup, MIF -173 G>C polimorfizmi için 205 hasta ve 130 kontrol örneğinden sonuç elde edilebilmiştir.

Hasta ve kontrol gruplarına ait -173 G>C (rs755622) tek nükleotit polimorfizminin allel spesifik genotiplendirilmesi 'Allelic Discrimination Plot' şekil 5.2'de gösterilmiştir.



● Mavi Etiketli Atasal Prob Homozigot GG

● Kırmızı Etiketli Mutant Prob Homozigot CC

● Yeşil Etiketli Prob Heterozigot GC

■ Negatif Kontrol

X Bilinmeyen

Şekil 5.2. MIF -173 G>C Polimorfizminin Allel Spesifik Genotiplendirilme Grafiği.

#### 5.4. MIF -173 G>C LOKUSUNUN İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI

MIF -173 G>C polimorfizmine ait genotiplendirme için gerçekleştirilen Real-Time PZR sonuçları Şekil 5.2’de gösterildiği gibi mavi renkteki kutucuklar homozigot GG genotipini, kırmızı renkteki kutucuklar homozigot CC genotipini ve yeşil renkteki kutucuklar heterozigot GC genotipini göstermektedir. Hastalarda homozigot GG genotipinin görülme sıklığı %70,73 (145) iken kontrol grubunda görülme sıklığı %60,76 (79); hasta grubunda homozigot CC genotipinin görülme sıklığı %2,43 (5) iken kontrol grubunda görülme sıklığı %3,84 (5); hasta grubunda heterozigot GC genotipinin görülme sıklığı %26,82 (55) iken kontrol grubunda %35,38 (46) olarak belirlenmiştir.

Çalışma grubuna ait allel frekanları incelendiğinde ise hasta grubunda G allelinin görülme sıklığı %84,14 (345), C allelinin görülme sıklığı %15,85 (65) olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise G allelinin görülme sıklığı %78,46 (204), C allelinin görülme sıklığı % 21,53 (56) olarak bulunmuştur.

-173 G>C polimorfizmi genotip ve allel dağılımı bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır. MIF -173 G>C polimorfizmi için genotip ve allel dağılımı Tablo 5.3’de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

**Tablo 5.3.** -173 G>C polimorfizmine ait genotip ve allel dağılım verileri

Sıklığı	Hasta Grubu N: 205 (%)	Kontrol Grubu N: 130 (%)	P
<b>Genotip</b>			
GG	145 (70,73)	79 (60,76)	p=0,060
GC	55 (26,82)	46 (35,38)	
CC	5 (2,43)	5 (3,84)	
<b>Hardy-Weinberg Denklığı</b>	p=0.094	p=0.59	
<b>Allel</b>			
G	345 (84,14)	204 (78,46)	p= 0,064
C	65 (15,85)	56 (21,53)	

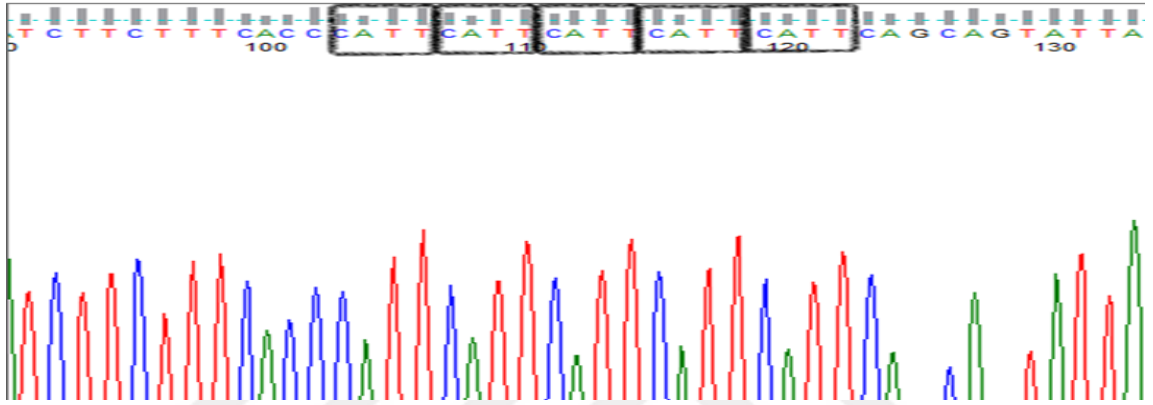
### 5.5. MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> (rs5844572) POLİMORFİZMİNİN KLASİK PZR VERİLERİ

MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> STR bölgesi için çalışılan 209 hasta ve 133 kontrol örneğinden 173 hasta ve 88 kontrol örneği için genotipleme yapılabilmektedir.

MIF promotör bölgesinde yer alan -794 CATT<sub>5-8</sub> bir tekrar bölgesidir ve 5-8 tekrarlarının farklı kombinasyonları beklenmektedir. Ürünler arasında 4 bç gibi küçük bir fark bulunmakta olup bu farkı ayırt edebilmek için poliakrilamid jel gerekmektedir.

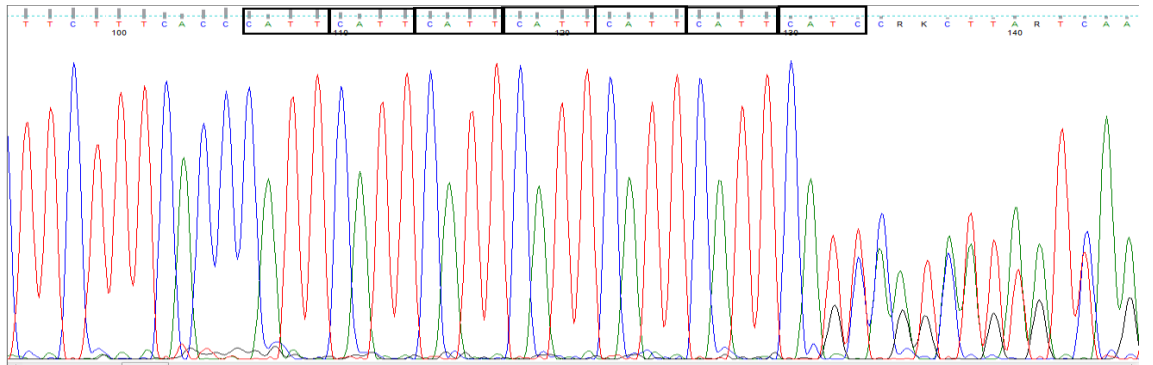
Üniversitemiz imkanları ve bütçemiz dahilinde poliakrilamid jel uygulaması yapılamadığı için DNA dizileme yöntemi kullanılarak ürünlerimizin boyunu belirleyebileceğimiz markerlar oluşturulmak üzere hasta ve kontrol gruplarından seçtiğimiz örneklerimiz dış merkeze (ATLAS Biyoteknoloji) gönderildi. Oluşturulan bu markerler baz alınarak diğer örneklerimize ait sonuçlar değerlendirildi.

Dizileme sonucunda homozigot olarak belirlenen 5 tekrar içeren örnek şekil 5.3.'de verilmiştir.



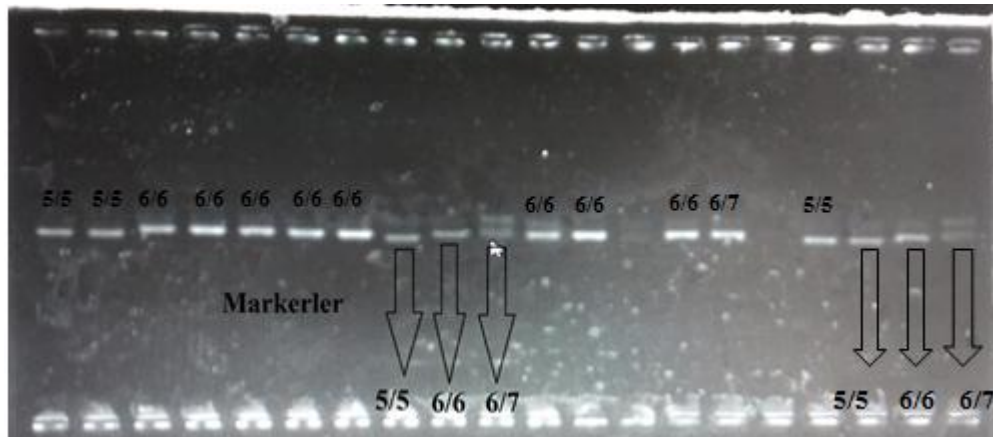
**Şekil 5.3** Dizileme sonucu elde edilen ve marker olarak kullanılan 5 tekrara ait dizileme görüntüsü

Dizileme sonucunda heterozigot olarak belirlenen 6/7 tekrar içeren örnek şekil 5.4.'de verilmiştir.



**Şekil 5.4.** Dizileme sonucu elde edilen ve marker olarak kullanılan 6/7 tekrara ait dizileme görüntüsü

Şekil 5.5’ de dizilemeye gönderilen örneklerden oluşturulan markerler ve belirlenen genotipler gösterilmiştir.



Şekil 5.5. Markerlerin ve genotiplerin Agaroz Jelde Gösterilmesi

### 5.6. MIF -794 CATT<sub>5,8</sub> İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI

MIF -794 CATT<sub>5,8</sub> polimorfizmine ait genotiplendirme bulgularına göre; toplam beş genotip (5/5, 6/6, 5/6, 5/7 ve 6/7) belirlenmiştir. 5/5 genotipinin hastalarda görülme sıklığı %8,09 (14) ve kontrol grubunda görülme sıklığı %15,90 (14); hasta grubunda homozigot 6/6 genotipinin görülme sıklığı %39,30 (68) iken kontrol grubunda %30,68 (27); hasta grubunda heterozigot 5/6 genotipinin görülme sıklığı %37,94 (57) iken kontrol grubunda görülme sıklığı %28,40 (25); hasta grubunda heterozigot 5/7 genotipinin görülme sıklığı %8,09 (14) iken kontrol grubunda %6,81 (6); hasta grubunda heterozigot 6/7 genotipinin görülme sıklığı %11,56 (20) iken kontrol grubunda %18,18 (16) olarak belirlenmiştir. Hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımı bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0,70). Çalışma grubuna ait allel frekanları incelendiğinde ise hasta grubunda 5 allelinin görülme sıklığı %28,61 (99), 6 allelinin görülme sıklığı % 61,56 (213), 7 allelinin görülme sıklığı %9,82 (34) olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise 5 allelinin görülme sıklığı %33,52 (59), 6 allelinin görülme sıklığı % 57,97 (95), 7 allelinin görülme sıklığı %12,5 (22) olarak bulunmuştur (p=0,10). -794 CATT<sub>5,8</sub> STR bölgesi genotip ve allel dağılımı bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır. -794 CATT<sub>5,8</sub> STR bölgesi için genotip ve allel dağılımı Tablo 5.4’de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



**Tablo 5.4.** -794 CATT<sub>5-8</sub> polimorfizmine ait genotip ve allel dağılım verileri

<b>Genotip</b>	<b>Hasta Grubu</b> N: 173 (%)	<b>Kontrol Grubu</b> N:88(%)	<b>p</b>
5/5	14 (8,09)	14 (15,90)	<b>p=0,70</b>
5/6	57 (37,94)	25 (28,40)	
5/7	14 (8,09)	6 (6,81)	
6/6	68 (39,30)	27 (30,68)	
6/7	20 (11,56)	16 (18,18)	
<b>Allel</b>			<b>p= 0,10</b>
5	99 (28,61)	59 (33,52)	
6	213 (61,56)	95 (57,97)	
7	34 (9,82)	22 (12,5)	

Hasta ve kontrol grupları MIF -173 G>C ve MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> bölgeleri ikili genotip ve haplotip açısından da karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmaya incelenen her iki polimorfizm bakımından sonuç elde edilen örnekler dahil edilmiş olup toplamda 170 hasta 87 kontrol karşılaştırılmıştır. Hasta ve kontrol grupları arasında MIF-173 G>C ve MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> ikili genotip açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Tablo 5.5.). Hasta grubunda 6/6- GG ikili genotipi (%31,76) kontrol grubuna nazaran (%18,40) anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ( $p= 0,026$ ). Kontrol grubunda ise 6/7- GG (%6,90) ve 5/5- GC (%5,74) ikili genotipleri hasta grubuna nazaran (sırasıyla, %1,17 ve 0) anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla,  $p=0,020$  ve  $p=0,004$ ). Diğer ikili genotipler açısından da hasta ve kontrol grubunda farklılıklar saptansa da, bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildir.

**Tablo 5.5.** Hasta ve kontrol gruplarının MIF -173 G>C ve MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> ikili genotip karşılaştırması

Genotipler MIF-173/MIF-794	AH 170(%)	Kontrol 87(%)	P	OR; 95%CI
6/6- GG	54 (31,76%)	16(18,39%)	0,026	2,07, 1.10-3,87
5/6- GG	49(28,82%)	21(24,14%)	NA	NA
5/5- GG	13(7,64%)	9(10,34%)	NA	NA
5/7- GG	2(1,17%)	1(1,14%)	NA	NA
6/7- GG	2(1,17%)	6(6,90%)	0,020	0,16, 0,03-0,81
6/6- GC	12(7,05%)	8(9,19%)	NA	NA
5/6- GC	7(4,11%)	4(4,60%)	NA	NA
5/5- GC	0	5(5,74%)	0,004	0,04, 0,00-0,80
5/7- GC	11(6,47%)	4(4,60%)	NA	NA
6/7- GC	15(8,82%)	9(10,34%)	NA	NA
6/6- CC	1(0,5%)	2(2,29%)	NA	NA
5/6- CC	0	0	NA	NA
5/5- CC	0	0	NA	NA
5/7- CC	1(0,5%)	1(1,14%)	NA	NA
6/7- CC	3(1,76)	1(1,14%)	NA	NA

Hasta ve kontrol grupları MIF -173 G>C ve MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> polimorfizmlerinin oluşturdukları haplotipler açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 6-G haplotipinin görülme sıklığı hasta grubunda (0,5494) kontrol grubuna nazaran (0,4406) daha yüksek bulunmuştur ( $p=0,025$ ). Kontrol grubunda ise 7-G (0,00483) ve 5-C (0,0463) haplotipleri hasta grubuna göre (sırasıyla, 0,0126 ve 0,0062) anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla,  $p=0,026$  ve  $p= 0,003$ ). Hasta ve kontrol grubunda diğer haplotipler açısından da farklılıklar bulunmakla birlikte bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Tablo 5.6'da hasta ve kontrol gruplarının MIF -173 G>C ve MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> haplotip karşılaştırması ve sıklıkları gösterilmiştir.

**Tablo 5.6.** Hasta ve kontrol gruplarının MIF -173 G>C ve MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> haplotip karşılaştırması ve sıklıkları

Haplotip	AH	Kontrol	P	OR, 95%CI
5- G	0,2762	0,2928	NA	NA
6 -G	<b>0,5494</b>	<b>0,4406</b>	<b>0,025</b>	<b>1,54, 1.07-2,22</b>
7- G	<b>0,0126</b>	<b>0,0483</b>	<b>0,026</b>	<b>0,25, 0,07-0,83</b>
5- C	<b>0,0062</b>	<b>0,0463</b>	<b>0,003</b>	<b>0,12, 0,03-0,58</b>
6- C	0,0682	0,0939	NA	NA
7- C	0,0874	0,0781	NA	NA

## 6.TARTIŞMA ve SONUÇ

İlk kez 1906'da Alois Alzheimer tarafından tanımlanan AH, anormal tau proteininden oluşan hücre içi serebral nörofibriller yumrular ve amiloid peptidlerdeki ekstraselüler plaklarla kendini gösteren, bilişsel ve davranış bozukluğu ile karakterize edilen ve yavaş yavaş ilerleyen nörodejeneratif bir bozukluktur (Rubin ve Glazer, 2016). AH bunamanın en yaygın nedenidir ve en yaygın nörodejeneratif bozukluktur. Şu anda demans nedeniyle mağdur olan yaklaşık 47 milyon kişinin % 75'inden AH sorumludur ve dünya çapındaki gayri safi yurtiçi hasılanın % 1, 9'unu oluşturan küresel bir maliyeti vardır, dolayısıyla dünya çapında önemli bir sağlık ve ekonomik sorun oluşturmaktadır (Decker ve Muñoz-Torrero, 2016).

AH için prevalans oranları yaşla birlikte katlanarak yükselir ve 65 yaşından sonra belirgin şekilde artar. 60-85 yaş arasındaki AH'nin prevalansında demans prevalansına kıyasla yaklaşık 15 kat artış vardır (Evans ve ark., 1989). AH'de önemli bir faktör olan iltihaplanma kavramı, lezyonlarla ilişkili nörodejeneratif değişikliklerin postmortem bulgularına ve antiinflamatuvar ajanların koruyucu etkisinin epidemiyolojik kanıtı üzerine kurulmuştur. IL-1a, IL-1p, IL-6, TNF-a, a2-makroglobülin (A2M) ve a1-antikimotripsin (ACT) gibi inflamatuvar sitokinler AH'li hastalardan alınan dokularda up-regüle edilir ve AH lezyonlarıyla belirgin şekilde ilişkilidir. AH ile etkilenen beyindeki nörofibriller yumaklar ve senil plaklarla birlikte immunohistokimyasal olarak saptanırlar (McGeer ve McGeer, 2001).

MIF ise doğuştan gelen ve adaptif immünitinin düzenlenmesinde yer alan pleiotropik bir sitokindir. Başlıca faaliyetleri, glukokortikoidlerin bağışıklık-baskılayıcı ve anti-inflamatuvar etkilerini tersine düzenlemek ve makrofajların aktivasyonla indüklenen apoptozunu inhibe etmektir. Hayvan modellerinde MIF'in genetik susturulması, IL1 $\beta$ , IL-12 ve TNF- $\alpha$  gibi monosit / makrofajdan türetilen aracılardan üretiminde global bir azalmaya neden olur ve MIF'in inflamatuvar kaskadın upstream düzenleyicisi olarak rolünü teyit eder. MIF'in ifadesi, insanlarda gecikmiş aşırı duyarlılık ve hücrel bağışıklık ile ilişkilidir. MIF'in inflamasyon sahasında

ekspresyonu, makrofajların konak savunmasını düzenleyici olarak aracı rol oynadığını destekler (Wang ve ark., 2013).

MIF'in inflamatuvar bir sitokin olması, birçok otoimmün inflamatuvar hastalıkla ilişkilendirilmesi AH ve MIF arasındaki olası ilişkiyi akla getirmekte ve araştırma konusu olmaya itmektedir.

Bu tez çalışmasında MIF geninin en yaygın iki varyantı olan MIF -173 G>C ve -794 CATT<sub>5-8</sub> polimorfik bölgelerinin AH ile olan olası ilişkisini değerlendirdik. Yapılan Real-Time PZR ve Klasik PZR verilerine göre her iki polimorfizm ile AH arasında ayrı ayrı anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Fakat yapılan ikili genotip ve allel karşılaştırmasının sonuçları AH ve MIF arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir.

Literatürü taradığımız kadarıyla MIF -173 G>C polimorfizmi ve AH arasında yapılan çalışmaların az olduğu, bu ilişkinin farklı etnik kökene sahip bireylerde araştırılmadığı gözlenmiştir. Ayrıca MIF'e ait diğer bir lokus olan -794 CATT<sub>5-8</sub> STR polimorfizmi ile AH arasında olası ilişkiyi araştıran bir çalışmanın bulunmadığı saptanmıştır.

Çalışmamızın sonuçları daha ayrıntılı incelendiğinde ise MIF -173 G>C polimorfizminin genotip dağılımında hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,060). MIF -173 G>C polimorfizminin ayrı ayrı genotipleri bakımından GG genotipinin hasta grubunda (%70,73) kontrole nazaran (%60,76) daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda ise C alleli içeren genotipler: GC genotipi (%26,82 ve %35,38) ve CC genotipi (%2,43 ve %3,84) daha yüksek bulunmuştur. Fakat her üç genotip bakımından da hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

Allel sıklıkları bakımından G allelinin hasta grubunda (%84,14) kontrole nazaran (%78,46) daha yüksek olduğu bulunmuştur. Genotip ve allel sonuçlarına baktığımız zaman, G allelinin resesif olarak varlığı hastalığa yatkınlıkla ilişkili olabileceği yorumu yapılabilir. Fakat istatistiksel olarak allel dağılımına bakıldığında da anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,064). Her ne kadar elde ettiğimiz sonuçlar MIF rs755622 polimorfizminin AH ile ilişkisi olmadığı sonucunu ortaya çıkarsa da, özellikle

kontrol grubundaki örnek sayımızın görece daha az olması çalışmaların daha fazla sayıda örnekle tekrarlanması ihtiyacını doğurmuştur. Literatürdeki ilgili çalışmalara baktığımız zaman, 2004 yılında Flex ve arkadaşlarının MIF-173 G>C polimorfizminin İtalyan toplumunda 116 AH hastası ve 184 kontrol grubu ile yaptıkları çalışmanın sonuçlarının istatistiksel olarak bizim sonuçlarla uyumlu olduğu (Genotip:  $p=0,93$ , Allel:  $p=0,89$ ), fakat sırası ile GG, GC ve CC genotip dağılımları (Hasta: 68,1%, 25,0%, 6,9%; Kontrol: 69,0%, 23,4 %, 7,6%) ve allel dağılımları (Hasta: G-80,60, C-19,4; Kontrol: G-80,7%, C-19,3%) açısından biraz farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. -173 G>C bölgesi için bulduğumuz sonuçlar Flex ve arkadaşlarının çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında Flex ve arkadaşlarının çalışmasında hem ayrı ayrı genotip, hem de allel sıklıkları bakımından hasta ve kontrol grupları arasında neredeyse hiç fark gözlenmezken, bizim çalışmamızda, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, hasta ve kontrol arasında önemli farklılıklar bulunmuştur.

2014 yılında Flex ve ark.'larının 533 AH hastası ve 713 kontrol grubunun dahil edildiği çalışmada aralarında MIF'in de olduğu birçok gen ile AH ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmada -173 G>C polimorfizmine ait genotip dağılımı incelendiğinde, GG genotipi hasta grubunda %64,0 (341), kontrol grubunda %69,7 (497) olarak, GC genotipi hasta grubunda %30,6 (163), kontrol grubunda %26,4 (188) olarak ve CC genotipi hasta grubunda %5,4(29), kontrol grubu ise %3,9 (28) olarak bulunmuştur. Çalışmada IL6, IL1B, CCL2, CCL3, SELE, ICAM1, MMP3 ve MMP9 gen polimorfizmleri ile AH arasında istatistiksel bir ilişki bulunmasına rağmen MIF'in -173 G>C polimorfizmi ile kesin bir ilişki bulunmamıştır (Flex ve ark., 2014). Bizim çalışma sonuçlarımız ve Flex ve arkadaşlarının çalışma sonuçları karşılaştırıldığında, GC ve CC genotipi bizde kontrol grubunda daha yüksek oranda bulunurken, Flex ve arkadaşlarının çalışmasında hasta grubunda daha yüksek oranda bulunmuştur. GG genotipi ise bizde hasta grubunda yüksek çıkarken, Flex ve arkadaşlarında kontrol grubunda yüksek çıkmıştır. Yapılan çalışmalarda elde edilen farklı sonuçların etnik farklılıklardan, çalışma grubunu oluştururken kullanılan kriter farklılıklarından ve örnek sayısından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Popp ve arkadaşlarının çalışmasında ise MIF üretiminin AH başlangıcında erken düzenlenip düzenlenmediğini belirlemek için ELISA ile MIF düzeyleri

değerlendirilmiştir. Çalışmaya AH hastalığı olan 31 hasta, amnestik hafif bilişsel bozukluğu olan 28 hasta ve bilişsel açıklıkları olmayan 19 kontrol katılmıştır. Ek olarak, hem MIF tarafından yukarı regüle edildiği hem de AH patofizyolojisinde yer aldığı düşünülen inflamatuvar mediatör TNF-a, IL-6 ve IFN-c'nin BOS konsantrasyonları da ölçülmüştür. Beyin omurilik sıvısındaki, MIF seviyeleri karşılaştırıldığında Alzheimer grubunda MIF seviyesinin yüksek olduğu bulunmuştur (Popp ve ark., 2009).

Bacher ve arkadaşları tarafından NCDMS ve DSM-IV Alzheimer tipi demans kriterlerine göre muhtemel AH için klinik tanı ölçütlerini karşılayan 7 hasta ve 7 kontrol hastası ile yapılan çalışmada, kişilerin serebral omurga sıvısında örneklerindeki MIF proteininin yükselmiş seviyeleri araştırılmıştır. ELISA veya Western blot kullanılarak değerlendirilen MIF seviyeleri, kontrol ve hasta grupları karşılaştırıldığında MIF proteinin anlamlı bir artışını göstermiştir ( $p < 0,001$ ). Bu çalışma AH ilerlemesinde merkezi bir rol oynadığı düşünülen, proinflamatuvar MIF ile A $\beta$  agregalarının toksisitesi arasında işlevsel bir bağlantı sağlayan ilk rapordur. Nöronal ve mikroglial hücrelerdeki endojen MIF'in engellenmesi, her iki hücre tipinde A $\beta$ 'ya bağlı toksisiteyi önlemiştir. Sonuçlar, MIF ile AH'in ilerlemesi arasında benzer bir bağlantının in vivo'da var olabileceğini ve A $\beta$ 'nın toksisitesinin direkt olarak artmış MIF ifadesine bağlanabileceğini göstermektedir (Bacher ve ark., 2010).

Çalışmamızın -794 CATT<sub>5-8</sub> STR polimorfizmine ait verileri incelendiğinde, genotip dağılımında hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır ( $p=0,70$ ). MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> polimorfizminin ayrı ayrı genotipleri incelendiğinde hasta grubunda 5/6 genotipi (%37,94), 5/7 genotipi (%8,09), 6/6 genotipi (39,30) kontrol grubuna nazaran (sırasıyla %28,40, %6,81 ve %30,68) daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubunda ise 5/5 genotipi (%15,90) ve 6/7 genotipi (%18,18) hasta grubuna nazaran (sırasıyla, %8,09 ve %11,56) daha yüksek bulunmuştur. Fakat her beş genotip bakımından da hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

Allel sıklıkları bakımından hasta grubunda 6 alleli (%61,56) kontrol grubuna nazaran (%57,97) daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubunda ise 5 alleli (%33,52) ve 7 alleli (%12,5) hasta grubuna nazaran (%28,61 ve %9,82) daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, 6 allelinin varlığı hastalığa yakınlıkla, 5 ve 7

alellilinin varlığı ise hastalığa karşı olan dirençle ilişkili olabilir, yorumu yapılabilir. Fakat, istatistiksel allel dağılımına bakıldığında anlamlı bir fark oluşturmamaktadır ( $p=0,10$ ).

Bu çalışmada ayrıca incelenen lokuslar bakımından ikili genotip ve haplotip karşılaştırması yapılmıştır. Öncelikle her iki lokus bakımından genotipleri tespit edilen örnekler kullanılarak ikili genotipler ve bunların sıklıkları belirlenmiştir. Bu nedenle ikili genotip ve haplotip çalışmasında değerlendirilen örnek sayısı (170 hasta ve 87 kontrol) toplam örnek sayısından daha düşük olmuştur. Tespit edilen 15 ikili genotipten üç tanesinin (6/6-GG, 6/7-GG, 5/5-GC) görülme sıklığı bakımından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir. 6/6- GG ikili genotipi hasta grubunda (%31,76) kontrol grubuna nazaran (%18,40) daha yüksek bulunmuştur ( $p=0,026$ ). Kontrol grubunda ise 6/7-GG (%6,90) ve 5/5- GC (%5,74) ikili genotipleri hasta grubuna nazaran (%1,17 ve 0) daha yüksek bulundu (sırasıyla  $p=0,020$  ve  $p=0,04$ ).

Haplotip çalışmasında ise bu iki polimorfizm bakımından 6 farklı allel birlikteliği saptandı. Bu haplotiplerden 6-G, 7-G ve 5-C haplotipleri Alzheimer hastaları ve sağlıklı bireyler ile kıyaslandığında anlamlı sonuçlar elde edilmiş olup, hastalığa yatkınlık veya hastalığa yakalanma riskine etki edebilir, yorumu yapılabilir. Hasta grubunda 6-G haplotipi (0,5494) kontrol grubuna göre (0,4406) daha yüksek bulunmuştur (0,025). Kontrol grubunda ise 7-G haplotipi (0,0483) ve 5-C haplotipi (0,0463) hasta grubuna nazaran (sırasıyla, 0,0126 ve 0,0062) daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla,  $p= 0,026$  ve  $p= 0,003$ ). MIF G/7 CATT<sub>5-8</sub> ve MIF C/5 CATT<sub>5-8</sub> haplotipleri için OR'ler sırasıyla 0.25 ve 0.12 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre MIF G/6 CATT<sub>5-8</sub> haplotipi artmış AH riski ile MIF G/7 CATT<sub>5-8</sub> ve MIF C/5 CATT<sub>5-8</sub> ise AH riskinde azalma ile ilişkilidir. Bu ikili genotip ve allel birliktelik frekans ve sıklıkları ilk kez Türk toplumunda belirlenmiştir.

Sakaue ve arkadaşlarının 2006 yılında MIF ve obezite ilikisini araştırdıkları çalışmada MIF -173 G>C ile obezite arasında bir ilişki bulunmamıştır. MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> tekrar bölgesinde ise MIF 5-CATT alleli olmayan genotipler obez kişilerde daha sık olarak bulunmuştur. İki promotör polimorfiziminin haplotiplerine bakıldığında sonuçlar MIF G/5- CATT<sub>5-8</sub> ( $p=0,025$ ) ve MIF G/6-CATT<sub>5-8</sub> ( $p=0,028$ )'nin obezite ile



ilişkisinin olduğunu göstermiştir (Sakaue ve ark., 2006). Swanberg ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada önceki çalışmalara dayanarak MIF C/7- CATT<sub>5-8</sub> haplotipinin inflamatuvar artrit, skleroderma, atopi, prostat kanseri, sedef hastalığı, astım ve sistemik lupus eritramatozus ile ilişkisinin olduğu belirtilmiş ve buna dayanarak MIF promotör polimorfizimleri ile kemik mineral yoğunluğu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre MIF C/7-CATT<sub>5-8</sub> haplotipi artan kemik kaybı oranı ile ilişkili olarak bulunmuştur ( $p<0,005$ ) (Swanberg ve ark., 2010). Kim ve arkadaşları 2016 yılında Koreli atopik dermatit hastalarında MIF promotör polimorfizimleri ile total IgE düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Verilere göre MIF -173 C alleli ile MIF C/5-CATT<sub>5-8</sub> ve MIF C/7-CATT<sub>5-8</sub> haplotiplerinin artmış atopik dermatit riski ile ilişkili bulunmuştur (Kim ve ark., 2016). Tüm bu bilgiler haplotip analizinin ne kadar önemli olduğunu ve araştırma sonuçlarını ne kadar etkilediğini göstermiştir.

Sonuç olarak, yaptığımız çalışma MIF -173 G>C polimorfizminin Türkiye’de, MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> STR polimorfizminin ise dünyada AH ile ilişkisinin incelendiği ilk çalışmadır. Her ne kadar tek tek polimorfimleri ile AH arasında ilişki tespit edilemese de, polimorfizmlerin toplumlar arasında farklılık gösterebildiği ve bu farklılıkların önemli olabildiği hem daha önceki çalışmalarda hem de bizim sonuçlarımızda gösterilmiştir. Bu çalışmanın çok önemli diğer bir sonucu da çalışmanın ikinci kısmında yaptığımız ikili genotip ve haplotip analizleri ile ortaya çıkmıştır. Buradan elde ettiğimiz veriler, bir gendeki tek tek polimorfizmlerin çeşitli hastalık veya karakterlere etkisinin incelenmesinin yanı sıra, o gendeki diğer polimorfizmlerle birlikteliğinin etkisinin araştırılmasının çok önemli olduğunu göstermiştir. Nitekim bizim çalışmada incelenen MIF geninin iki lokusunu tek tek ele aldığımızda AH hastalığı ile ilişkili olmadığı sonucu çıksa da, ikili genotip ve haplotip karşılaştırması ile elde ettiğimiz sonuçlar bunun tam tersini işaret etmektedir. Böylece, ikili genotip ve haplotip sonuçlarına göre MIF geninin AH üzerine etkisinin olabileceği sonucu çıkmıştır. Bu sonuçların teyidi için hem polimorfizm çalışmalarının farklı ırk ve etnik kökenlerde farklılık göstermesi hem de farklı genotip ve allel birlikteliği bakımından AH ve MIF ilişkisini araştıran ilk çalışma olması sebebiyle benzer çalışmaların görece daha fazla sayıda ve dengeli bir kontrol grubuyla ve farklı etnik kökenlerde tekrarlanmasına ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

- Adlard, P., Perreau V., Pop, V. ve Cotman, C. 2005. Voluntary Exercise Decreases Amyloid Load in a Transgenic Model of Alzheimer's Disease. *The Journal of Neuroscience*, April 27, 25 (17): 4217– 4221, 4217.
- Adlard, P., Tran, B.A., Finkelstein, D. I., Desmond, P. M., Johnston, LA., Bush, AI. ve Egan, G. F. 2014. A review of  $\beta$ -amyloid neuroimaging in Alzheimer's disease. *Journal List, Front Neurosci*, Volume 8, Article 327.
- Aeberli, D., Leech, M. ve Morand, E. 2006. Macrophage migration inhibitory factor and glucocorticoid sensitivity. *Advance Access publication*, 45: 937–943.
- Akali, A., Pehlivan S., Pehlivan, M., Sever, T. ve Neyal M. 2010. Association of macrophage migration inhibitory factor gene promoter polymorphisms with multiple sclerosis in Turkish patients. *J Int Med Res* 38(1):69-77.
- Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., Bradt, B., Bauer, J., Cole, G. M. ve ark., 2000. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2000 May-Jun;21(3):383-421.
- Almeida, O. P. ve Shimokomaki, C.M. 1997. Apolipoprotein E4 and Alzheimer's Disease *Arg Neuropsiquiatr*, 1997; 55(1): 1-7.
- Alzheimer's disease facts and figures 2012. Alzheimer's Association Report. *Alzheimer's & Dementia* Volume 8, Issue 2, March 2012, Pages 131–168.
- Alzheimer's Disease Facts and Figures 2013. Includes a Special Report on long-distance caregivers. Alzheimer's Association, 2013 Alzheimer's Disease Facts and Figures, *Alzheimer's & Dementia*, Volume 9, Issue 2.

Alzheimer's Disease Facts and Figures 2015. Includes a Special Report on Disclosing a Diagnosis of Alzheimer's Disease. Alzheimer's Association. 2015 Alzheimer's disease Facts and Figures. *Alzheimer's & Dementia* 2015;11(3)332.

Alzheimer's Disease Facts and Figures 2016. Includes a Special Report on the Personal Financial Impact of Alzheimer's on Families. Alzheimer's Association. 2016 Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimer's & Dementia* 2016;12(4).

Assis, D., Leng L., Du, X., Zhang, CK., Grieb, G., Merk, M. ve ark., 2014. The role of macrophage migration inhibitory factor in autoimmune liver disease. *Hepatology* 59(2):580-91.

Azizi, G., Khannazer, N. ve Mirshafiey, A. 2014. The Potential Role of Chemokines in Alzheimer's Disease Pathogenesis. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*® 2014, Vol. 29(5) 415-425.

Bacher, M., Deuster, O., Aljabari, B., Egensperger, R., Neff, F., Jessen, F. ve ark., 2010. The Role of Macrophage Migration Inhibitory Factor in Alzheimer's Disease. *Molmed* 16 ( 3 - 4 ) 116 - 121.

Bagyinszky, E., Park, S. A., Kim, H.J., Choi, S.H., An, S. S. ve Kim, S.Y. 2016. PSEN1 L226F mutation in a patient with early-onset Alzheimer's disease in Korea. *Clinical Interventions in Aging* 2016: 11 1433–1440.

Bagyinszky, E., Youn, Y. C., An, S. S. ve Kim S.Y. 2016. Mutations, associated with early-onset Alzheimer's disease, discovered in Asian countries. *Clinical Interventions in Aging* 2016: 11 1467–1488.

- Barton, A., Lamb, R., Symmons, D., Silman, A., Thomson, W., Worthington J. ve Donn, R. 2003. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene polymorphism is associated with susceptibility to but not severity of inflammatory polyarthritis. *Genes and Immunity* (2003) 4, 487–491.
- Becher, B., Spath, S. ve Goverman, J. 2016. Cytokine networks in neuroinflammation. *Nature Reviews Immunology* (2016) doi:10. 1038/nri.2016.123.
- Bernhagen, J., Calandra, T., Mitchell, R. A. ve ark., 1993. MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxaemia. *Nature*, 365: 756-759.
- Bertram, L. ve Tanzi, R. 2008. Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implication of systematic meta-analyses. *Nat Rev Neurosci* Oct;9(10):768-78.
- Bruni, A.C., Bernardi, L., Colao, R., Rubino, E., Smirne, N., Frangipane, G. ve ark., 2010. Worldwide distribution of PSEN1 Met146 Leu mutation. *Neurology*. 2010 Mar 9; 74(10): 798–806.
- Calandra, T., Bernhagen, J., Mitchell R. ve Bucala, R. 1994. The Macrophage Is an Important and Previously Unrecognized Source of Macrophage Migration Inhibitory Factor. *J. Exp. Med* Volume 179 June, 1895-1902.
- Clarkson, A. ve Sutherland, B. 2005. The biology and pathology of hypoxia-ischemia: an update. *Arch Immunol Ther Exp* 53, 213-225.
- Calapoğlu, N. ve Calapoğlu, M. 2009. Alzheimer hastalığında kemokin ve kemokin reseptörlerinin rolü. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.* 16(4)/ 39-44.
- Coon, K., Myers, M., Webster, J., Pearson, J., Hu Lince, D. ve ark., 2007. A High-Density Whole-Genome Association Study Reveals That APOE Is the Major Susceptibility Gene for Sporadic Late-Onset Alzheimer's Disease. *J Clin Psychiatry*. 68:613–618.

- Chaudhuri, T. K. ve Paul S. 2006. Protein-misfolding diseases and chaperone-based therapeutic approaches. *FEBS J.* 2006 Apr;273(7):1331-49.
- Cortese, G.P. ve Burger, C. 2016. Neuroinflammatory challenges compromise neuronal function in the aging brain: postoperative cognitive delirium and alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research* 2016 Aug 17.
- Cruz, K.S., Lewis, J., Spires, T., Paulson, J., Kotilinek, L., Ingelsson, M. ve ark., 2005. Tau Suppression in a Neurodegenerative Mouse Model Improves Memory Function. *Science.* 2005 July 15; 309 (5733): 476–481.
- Çatak, O., Aydemir, O. ve Üstündağ, B. 2013. Vernal keratokonjonktivitte gözyaşı makrofaj migrasyon inhibitör faktör düzeyleri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 2013; 4 (2): 195-198.
- Decker, M. ve Muñoz-Torrero, D. 2016. Special Issue: 'Molecules against Alzheimer's Molecules 2016, 21, 1736; doi:10.3390/molecules21121736.
- De-Paula, V., Radanovic, M., Diniz, B. ve Forlenza, O. 2012. Protein Aggregation and Fibrillogenesis in Cerebral and Systemic Amyloid Disease. *Subcellular Biochemistry* Vol 65, 329-352.
- Donn, R. P. ve Ray D.W. 2004. Macrophage migration inhibitory factor: molecular, cellular and genetic aspects of a key neuroendocrine molecule. *Journal of Endocrinology* 182, 1–9.
- Donn, R. P., Alourfi, Z., De Benedetti, F., ve ark., 2002. Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene: positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum*, 46: 2402- 2409.

- Duggan, S. P., Yan, R. ve McCarthy, J.V. 2015. A ubiquitin-binding CUE domain in presenilin-1 enables interaction with K63-linked polyubiquitin chains. *FEBS Letters* 589 (2015) 1001–1008.
- Eker, E. 2008. Alzheimer Hastalığı. Türkiye’de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi No:62 •Mart 2008 S:85-110.
- El-Adly, T. Z., Kamal, S., Selim, H.ve Botros, S. 2016. Association of macrophage migration inhibitory factor promoter polymorphism -173 G>C with susceptibility to childhood asthma. *Cent Eur J Immunol.* 2016;41(3):268-272.
- Ertekin, A ., Demir, R., Özdemir, G., Özel, L., Özyıldırım, E. ve Ulvi, H. 2015. An Investigation of the Risk Factors and Prevalence of Alzheimer’s Disease in the Eastern Region of Turkey. *Eur J Gen Med* 2015; 12(2): 144-151.
- Flex, A., Pola R., Serricchio, M., Gaetani E., Proia, A. S., Di Giorgio, A., Papaleo, P., Bernabei, R. ve Pola, P. 2004. Polymorphisms of the macrophage inhibitory factor and C-reactive protein genes in subjects with Alzheimer's dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 18(3-4):261-4.
- Flex, A., Giovannini, S., Biscetti F., Liperoti, R., Spalletta, G., Straface, G., Landi, F., Angelini, F., Caltagirone, C., Ghirlanda, G. ve Bernabei, R. 2014. Effect of proinflammatory Gene Polymorphisms on the Risk of Alzheimer’s Disease. *Neurodegener Dis* 13: 230–236.
- Flier, W., Pijnenburg, Y. A., Fox, N.C. ve Scheltens P. 2011. Early-onset versus late-set Alzheimer's disease: the case of the missing *APOE*  $\epsilon$ 4 allele. *The Lancet Neurology*, Volume 10, Issue 3, March 2011, Pages 280–288.

- Franca, L., Carrilho, E. ve Kist, T. 2002. A review of DNA sequencing techniques. *Quarterly Reviews of Biophysics* 35, 2 (2002), pp. 169–200. " 2002 Cambridge University Press.
- Fukaya, R., Ohta, S., Yaguchi, T., Matsuzaki, Y., Sugihara, E., Okano, H.ve ark., 2016. MIF Maintains theTumorigenic Capacity of Brain Tumor-Initiating Cells by Directly Inhibiting p53. *Cancer Res.* 2016 May 1;76(9):2813-23.
- Günel, T. 2007. Gen Anlatımının Kantitatif Analizi “Real-Time PCR”. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007, 27: 763-767.
- Günsoy, G. ve Tekeli, S., 2015. Nüfusun Yaşlanması ve Ekonomik Büyüme İlişkisi: Türkiye Üzerine Bir Analiz. *Amme İdaresi Dergisi*, Cilt 48, Sayı 1 Mart 2015, s. 35-87.
- Güven, S., Pehlivan, M., Yılmaz, M., Okan, V. ve Pehlivan, S. 2009. Akut lösemilerde MIF genindeki polimorfizmlerinin önemi ve febril nötropenik ataklara etkisi. *Gaziantep Tıp Dergisi* 12009; 15(2): 5-9.
- Heather, J. M. ve Chain, B. 2016. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics* 107 (2016) 1–8.
- Henson, J. M. ve French R. 1993.The Polymerase Chain Reaction and Plant Disease Diagnosis. *Annu. Rev. Phytopathol.* 1993.31:81-109.
- Honarvar, N. M., Saedisomeolia, A., Abdolahi, M., Shayeganrad, A., Sangsari, G. T., Hassanzadeh, Rad, B. H. ve Muench, G. 2016. Molecular Anti-inflammatory Mechanisms of Retinoids and Carotenoids in Alzheimer’s Disease: a Review of Current Evidence. *J Mol Neurosci.* DOI 10.1007/s12031-016-0857-x.
- Hippius, H. ve Neundörfer, G. 2003. The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci.* 2003 Mar; 5(1): 101–108.

- Hong, C.S., Caromile, L., Nomata, Y., Mori, H., Bredesen, DE. ve Koo, EH. 1999. Contrasting Role of Presenilin-1 and Presenilin-2 in Neuronal Differentiation In Vitro. *The Journal of Neuroscience*, January 15, 1999,19(2):637–643.
- Ji, K., Wang, X., Li, J., Lu, Q., Wang, G., Xue, Y. ve ark., 2015. Macrophage Migration Inhibitory Factor Polymorphism Is Associated with Susceptibility to Inflammatory Coronary Heart Disease. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, Volume 2015, Article ID 315174, 6 pages.
- Kanatsu, K.ve Tomita T. 2017. Molecular mechanisms of the genetic risk factors in pathogenesis of Alzheimer disease. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2017 Jan 1;22: 180-192.
- Kara, İ. ve Müdüroğlu, A. 2008. İnflamasyon ve Nörodejeneratif Hastalıklar. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008;28(Suppl):S115-S118.
- Kelley, B. J. ve Petersen, R.C. 2007. Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *Neurol Clin*. 2007 August; 25(3): 577.
- Kim, E. J., Cho S. S., Jeong, Y., Park K. C., Kang, SJ., Kang, E. ve ark.,2005. Glucose metabolism in early onset versus late onset Alzheimer's disease. *Brain*, 128, 1790–1801.
- Kim, M. J, Seo, S.W., Kim, S. T, Lee J.M, Na D.L. 2016. Diffusion Tensor Changes According to Age at Onset and Apolipoprotein E Genotype in Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, Volume 00, Number 00.
- Kim, H. R., Park, M. K., Cho, M. L., Yoon, C. H., Lee, S.H. ve Park, S.H. 2007. Macrophage migration inhibitory factor upregulates angiogenic factors and correlates with clinicalmeasures in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 34(5): 927-36.



- Kubista, M., Andrade, J. M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., Sindelka, R., Sjöback, R., Sjögreen, B., Strömbom, L., Ståhlberg, A. ve Zoric, N. 2006. The real-time polymerase chain reaction. *Mol Aspects Med.* 2006 Apr Jun;27 (2-3):95-125.
- Lehmann, L., Book, M., Hartmann, M., Weber, S., Schewe, J., Klaschik, S., Hoeft, A., Stüber, F. 2009. A MIF haplotype is associated with the outcome of patients with severe sepsis: a case control study. *J Transl Med* 7: 10.
- Llamas-Covarrubias, M., Valle, Y., Bucala, R., Navarro-Hernández, R., Palafox-Sánchez, C., Padilla-Gutiérrez J.ve ark.,2013. Macrophage migration Inhibitory factor (MIF): genetic evidence for participation in early onset and early stage rheumatoidarthritis. *Cytokine* Volume 61, Issue 3, March, Pages 759–765.
- Lee, S.V. ve Bahaman, A.R. 2010. Modified gel preparation for distinct DNA fragment analysis in agarose gel electrophoresis. *Tropical Biomedicine* 27(2): 351–354 (2010).
- Leuba,G., Saini, K.,Schwed, P., Lannfelt, L.ve Savioz, A. 1998.Early onset Alzheimer’s disease in a large Swiss family. *Schweiz Arch Neurol Psychiatr* 1998;149:170-7.
- Li, S. Q., Yu, Y., Han, J., Wang, D., Liu, J., Qian, F., Fan, G., Bucala, R. ve Ye, R. D. 2015. Deficiency of macrophage migration inhibitory factor attenuates tau hyperphosphorylation in mouse models of Alzheimer’s disease. *J Neuroinflammation.* 2015; 12: 177.
- Li, D., Parks, S.B., Kushner, J. D., Nauman, D., Burgess, D., Ludwigsen, S. ve ark., 2006. Mutations of Presenilin Genes in Dilated Cardiomyopathy and Heart Failure. *The American Journal of Human Genetics* Volume 79.

- Ma, L., Xue, H., Guan, X. H., Shu, C. M., Zhang, Y.J., Zhang, J. H. ve An, R. Z. 2013. Relationship of macrophage migration inhibitory factor levels in PBMCs, lesional skin and serum with disease severity and activity in vitiligo vulgaris. *Braz J Med Biol Res.* 2013 May; 46(5): 460–464.
- McGeer, P. L. ve McGeer, G. 2001. Polymorphisms in Inflammatory Genes and the risk of Alzheimer Disease. *Arch Neurol.* 2001;58: 1790-1792.
- Men, A. E., Wilson, P., Siemering, K. ve Forrest, S. 2008. Sanger DNA Sequencing. *Next-Generation Genome Sequencing: Towards Personalized Medicine.* Edited by Michal Janitz Copyright 2008 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim ISBN: 978-3-527-32090-5.
- Merlini, G. ve Bellotti, V. 2003. Molecular Mechanisms of Amyloidosis. *The New England Journal of Medicine,* 349;6.
- McKhanna, G. M., Knopman, D. S., Chertkowsd, H., Hyman, B. T., Jack, C. R., Kawash, C. H. ve ark., 2011. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2011 May; 7(3): 263–269.
- Miklossy, J. 2016. Bacterial Amyloid and DNA are Important Constituents of Senile Plaques: Further Evidence of the Spirochetal and Biofilm Nature of Senile Plaques. *Journal of Alzheimer's Disease* 53 (2016) 1459–1473.
- Mittelbronn, M., Platten, M., Zeiner, P., Dombrowski, Y., Frank, B., Zachskorn, C. ve ark., 2011. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) expression in human malignant gliomas contributes to immune escape and tumour progression. *Acta Neuropathol.* 2011 Sep;122(3):353-65.

- Morales-Zambrano, R., Bautista-Herrera, L., Cruz-Mosso, U., Villanueva-Quintero, G., Padilla-Gutiérrez, J., Valle, Y. ve ark., 2014. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) promoter polymorphisms (-794 CATT<sub>5-8</sub> and -173 G>C): association with MIF and TNF $\alpha$  in psoriatic arthritis. *Int J Clin Exp Med* 7(9): 2605–2614.
- Mutter, J., Naumann, J., Sadaghiani, C., Schneider, R. ve Walach H. 2004. Alzheimer Disease: Mercury as pathogenetic factor and apolipoprotein E as a moderator *Neuroendocrinol Lett* 2004; 25(5):331–339.
- Nazlıel, B. 1999. Alzheimer Hastalığı ve Genetik. *Demans Dizisi* 1: 45-51.
- Navarro, E., Serrano-Heras, G., Castaño, M. J. ve Solera, J. 2015. Real-time PCR detection chemistry. *Clinica Chimica Acta* 439 (2015) 231–250.
- Nie, Q., Du, X. ve Geng, M. 2011. Small molecule inhibitors of amyloid  $\beta$  peptide aggregation as a potential therapeutic strategy for Alzheimer's disease. *Acta Pharmacol Sin.* 2011 May; 32(5): 545–551.
- Nussbaum, J. M., Seward, M. ve Bloom G. S. 2013. Alzheimer Disease. *Prion.* 2013 1 Ocak; 7 (1): 14-19.
- Özbakır, Ş. ve Aydın, H. 1999. Alzheimer Hastalığında Klinik Bulgular. *Demans dizisi* 1999;3: 73-80.
- Özkay, Ü., Öztürk, Y. ve Can, Ö. 2011. Yaşlanan dünyanın hastalığı: Alzheimer Hastalığı. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.* 2011; 18(1)/35-42.
- Öztürk, G. ve Karan, M. 2009. Alzheimer Hastalığının Fizyopatolojisi. *Klinik Gelişim* cilt: 22 / NO:3.

- Pappolla, M. A., Omar, R.A., Sambamurti, K., Anderson, J. P. ve Robakist, N.K. 1992. The Genesis of the Senile Plaque. *American Journal of Pathology*, Vol. 141: 1151-1159, No. 5.
- Pike, C. J. 2017. Sex and the Development of Alzheimer's Disease. *Journal of Neuroscience Research* 95: 671–680.
- Polat, F. ve Kumral E. 2010. Normal and pathologic brain aging. *Ege Tıp Dergisi / Ege Journal of Medicine* 49(3) Ek / Supplement: 3-10, 2010.
- Popp, J., Bacher, M., Kölsch, H., Noelker, C., Deuster, O., Dodel, R. ve Jessen F. 2009. Macrophage migration inhibitory factor in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Journal of Psychiatric Research* 43 (2009) 749–753.
- Ramakers, C., Ruijter, J. M., Lekanne, Depreza, R. H. ve Moorman, A. F. M. 2003. Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data. *Neuroscience Letters* 339 (2003) 62–66.
- Rosenthal, A. ve Brenner, S. 2000. DNA SEQUENCING METHOD
- Rege, S., Geetha, T., Griffin, G., Broderick, T. ve Babu, J. 2014. Neuroprotective effects of resveratrol in Alzheimer disease pathology. *Front Aging Neurosci* sep 11; 6: 218.
- Revett, T.J., Baker, G.B., Jhamandas, J. ve Kar, S. 2013. Glutamate system, amyloid  $\beta$  peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. *J Psychiatry Neurosci*. 2013 Jan; 38(1): 6–23.
- Robert, D. ve Terry, M. D. 2000. Cell Death or Synaptic Loss in Alzheimer Disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. Vol. 59, No. 12. pp. 1118 -1119.

- Rubin, K. ve Glazer, S. 2016. The pertussis hypothesis: *Bordetella pertussis* colonization in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Immunobiology, G Model IMBIO-51552*; No. of Pages 13.
- Sambrook, J. ve Russel, D.W. 2001. *In vitro Amplification of DNA by the Polymerase Chain Reaction. ABD Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd ed. Ed)Cold Spring Harbor Laboratory Press ISBN 0-87969-576-5.*
- Salem, S.A., Asaad, M.K., Elsayed, S.B. ve Sehsah H.M. 2016. Evaluation macrophage migration inhibitory factor (MIF) levels in serum and lesional skin of patients with alopecia areata. *Int J Dermatol.* 2016 Dec;55(12):1357-1361.
- Savaskan, N.E., Fingerle-Rowson, G., Buřhfelder, M.ve Eyupoglu, İ.Y. 2012. Brain Miffed by Macrophage Migration Inhibitory Factor. *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Cell Biology Volume 2012, Article D 139573, 11 pages.*
- Scheff, S.W., Price, D. A., Schmitt, FA. ve Mufson E.J. 2006. Hippocampal synaptic loss in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiology og Aging, Volume 27, Issue 10, Pages 1372–1384.*
- Schellenberg, G. D. 1995. Genetic dissection of Alzheimer disease, a heterogeneous disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Sep 12; 92(19): 8552–8559.
- Selekler, K. ve Topcuoğlu, E., 1998. Alzheimer Hastalığı. *Geriatrici* 1998, Cilt: L, Sayı:2, Sayfa: 63.

- Serrano-Pozo, A., Qian, J., Monsell, S. E., Betensky, R. A., Hyman, B. T. 2015. APOE $\epsilon$ 2 is associated with milder clinical and pathological Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 2015 Jun; 77(6): 917–929.
- Sezer, C. ve Memiş, L. 2001. Alzheimer Hastalığı Histopatolojisi. *DEMANS DERGİSİ* 2001;1: 42-49.
- Shimizu, T. 2005. Role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in the skin. *Journal of Dermatological Science* Volume 37, Issue 2, Pages 65–73.
- Slegers, K. ve Duijn, C.M. 2001. Alzheimer's Disease: Genes, Pathogenesis and Risk Prediction. *Community Genet* 2001;4: 197–203.
- Smith, L.M., Sanders, J.Z., Kaiser, R.J., Hughes, P., Dodd, C., Connell, Cr., Heimer, H., B.H. S., Kent Hood, L. 1986. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature* 321, 674 – 679.
- Simpson, K. D., Templeton, D.J. ve Cross, J.V. 2012. Macrophage Migration Inhibitory Factor promotes tumor growth and metastasis by inducing Myeloid Derived Suppressor Cells in the tumor microenvironment. *J Immunol.* 2012 December 15; 189(12): 5533–5540.
- Sindi, S., Mangialasche F. ve Kivipelto M. 2015. Advances in the prevention of Alzheimer's Disease. *F1000Prime Reports* 2015, 7: 50.
- Serrano-Pozo, A., Frosch, M.P., Masliah, E. ve Hyman, B.T. 2011. Neuropathological Alterations in Alzheimer Disease. Cite this article as *Cold Spring Harb Perspect Med* 2011;1:a006189.

- Santos, L., Hall, P., Metz, C. ve Bucala, R., Morand, E. 2001. Role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in murine antigen-induced arthritis: interaction with glucocorticoids. *Clin Exp Immunol* Feb123(2): 309-314.
- Selekler, K. 2010. Alois Alzheimer ve Alzheimer hastalığı. *Turkish Journal Of Geriatrics Supplement* 3 (9-14).
- Sun, X. ve Zhang, Y. 2011. Amyloid Hypothesis and Alzheimer's Disease. <https://www.researchgate.net/publication/221921333>.
- Şahin, H. 2009. Clinical Symptoms and Course of Alzheimer's Disease. *Turkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics* 2009;2(1):31-5.
- Tanzi, R.E. ve Bertram L. 2001. New Frontiers in Alzheimer's Disease Genetics. *Neuron*, Volume 32, Issue 2, 25 October 2001, Pages 181–184.
- Tanzi, R.E. 2012. The Genetics of Alzheimer Disease. *Journal List, Cold Spring Harb Perspect Med* 2(10); 2012 Oct PMC3475404.
- Taşkıran, Z. E. ve Yılmaz E. 2007. Amiloid birikiminin moleküler temeli ve yeni tedavi yaklaşımları. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2007; 38:20-25.
- Thinakaran, G. ve Koo, E. 2008. Amyloid Precursor Protein Trafficking, Processing, and Function. *Journal Of Biological Chemistry*, •Volume 283•Number 44.
- TPD. 2014. <http://www.psikiyatri.org.tr/news.aspx?notice=1293>. (Erişim: 21.09.2014)
- Udeochu, J.C., Shea, J. M. ve Villeda, S.A., 2016. Microglia communication: Parallels between aging and Alzheimer's disease. *Clinical and Experimental Neuroimmunology* 7 (2016) 114–125.

- Ulusoy, Ö. İ. ve Görgül, G. 2006. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Endotondik Mikrobiyoloji. Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg. Cilt:16, Sayı: 2, Yıl:2006, Sayfa: 61-65.
- Wang, F.F., Huang, X. F., Shen, N., Leng, L., Bucala R., Chen, S. L. ve Lu, LJ. 2013. A genetic role for macrophage migration inhibitory factor (MIF) in adult-onset Still's disease. *Arthritis Research & Therapy* 2013, 15:R65.
- Wang, W., Moerman-Herzog, A. M., Slaton, A., Barger, S. W. 2016. Presenilin 1 mutations influence processing and trafficking of the ApoE receptor apoER2. *Neurobiol Aging*. 2016 Oct 11;49: 145-153.
- Weintraub, S., Wicklund, A.H. ve Salmon, D.P. 2012. The Neuropsychological Profile of Alzheimer Disease. Cite this article as *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:a006171.
- WHO., 2015. Dementia. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/en/>
- Williamson, J., Goldman, J., Phil, M. ve Marder, K.S. 2011. Genetic Aspects of Alzheimer Disease. *Neurologist*. 2009 Mar; 15(2): 80–86.
- Wolfe, M.S. 2013. Toward the structure of presenilin/ $\gamma$ -secretase and presenilin homologs. *Biochimica et Biophysica Acta* 1828 (2013) 2886–2897.
- Wyss-Coray, T. ve Rogers J. 2012. Inflammation in Alzheimer Disease-A Brief review of the basic science and clinical literature. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 Jan;2(1):a006346. doi: 10.1101/cshperspect.a006346.
- Valdes-Alvarado,E.,Munoz- Valle, J., Valle, Y., Sandoval- Pinto, E., Garcia- Gonzalez, I., Valdes-Haro, A. ve ark., 2014. Association between the -794 CATT<sub>5,8</sub> MIF gene polymorphism and susceptibility to acute coronary syndrome in a Western Mexican population. *J Immunol Res*. 704-854.



- Yao, Y., Nellaker, C. ve Karlsson, H. 2006. Evaluation of minor groove binding probe and Taqman probe PCR assays: Influence of mismatches and template complexity on quantification. *Molecular and Cellular Probes*. Volume 20, Issue 5, October 2006, Pages 311–316.
- Yao, J., Leng, L., Sauler, M., Fu, W., Zheng, J., Zhang, Y., Du, X., Yu, X., Lee, P. Ve Bucala, R. 2016. Transcription factor ICBP90 regulates the MIF Promoter and immune susceptibility locus. *Clin Invest*. 2016;126(2):732-744
- Yazıcı, T. G. ve Şahin, H. A. 2010. Alzheimer Hastalığı. *Klinik Gelişim*.
- Yerer, M.B., Aydoğan, S., Köseoğlu, E. ve Baştuğ, R. 2012. Deformability of Erythrocytes and Oxidative Damage in Alzheimer Disease. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi (Journal of Cukurova University Faculty of Medicine)* 2012; 37(2):65-75.
- Yu, G., Nishimura, M., Arawaka, S., Levitan, D., Zhang, L., Tandon A. ve ark., 2000. Nicastrin modulates presenilin-mediated notch/glp-1 signal transduction and betaAPP processing. *Nature*. 2000 Sep 7;407(6800):48-54.
- Zhao, R. ve Yao, W.J. 2014. The functions and clinical studies of macrophage migration inhibitory factor. *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan* Apr; 45(2):93-9.
- Zhang, D. M., Xu, D. H., Sato, C., Rogaeve, E., Smith, M, Janus, C. ve ark., 2000. Nicastrin modulates presenilin-mediated notch/glp-1 signal transduction and betaAPP processing. *Nature*. 2000 Sep 7;407(6800):48-54.
- Zhang, J.M. ve An, J. 2007. Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007; 45(2): 27–37.

<https://www.tkhk.gov.tr/Dosyalar/98f8dcd91e514090804776447e9a3d3c.pdf>

<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MIF>

<http://library.med.utah.edu/WebPath/CNSHTML/CNS094.html>

<http://noroloji.blogspot.com.tr/2007/04/alzheimer-hastalii.html>

[http://thebrain.mcgill.ca/flash/d/d\\_08/d\\_08\\_cr/d\\_08\\_cr\\_alz/d\\_08\\_cr\\_alz.html](http://thebrain.mcgill.ca/flash/d/d_08/d_08_cr/d_08_cr_alz/d_08_cr_alz.html)

<http://www.evrimagaci.org/makale/22>

<http://www.itfnoroloji.org/demans/demans.htm>

<http://www.itfnoroloji.org/demans/tablo16.JPG>.

<http://www.itfnoroloji.org/demans/demans11.JPG>

<http://www.itfnoroloji.org/demans/tablo16.JPG>



## 7. ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Kübra ŞAHİN

**Doğum Yeri:** MERKEZ/TOKAT

**Doğum Tarihi:** 12.09.1989

**Yabancı Dili:** İngilizce

### Eğitim Durumu

Yüksek Lisans: 2013-2017 Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Lisans: 2008- 2012Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

Lise: 2002- 2006 Tokat Mehmet Akif Ersoy Lisesi

### Katıldığı Kongre, Çalıştay veya Sempozyumlar

1. **Kubra Sahin**, Aydın Rustemoglu, Volkan Solmaz, Durdane Aksoy. Effect of MIF rs755622 gene polymorphism on the alzheimer patients. VI. International Congress of Molecular Medicine, 2017. İstanbul/ TURKEY, May 22-25
2. **Kubra Sahin**, Akin Tekcan, Betül Cevik, Aydın Rustemoglu, Serbulent Yigit, Azize Ipekbayrak. The investigation of MDR1 gene C1236T and C3435T polymorphisms on the epilepsy patients. VI. International Congress of Molecular Medicine, 2017. İstanbul/ TURKEY, May 22-25.
3. Aydın Rustemoglu, **Kübra Şahin**, Betül Çevik, Dürdane Aksoy. The Association of MIF Gene Rs755622 (-173 G>C) and Rs 5844572 (-794 CATT) Polymorphisms With The Alzheimer Disease. International DNA Day And Genome Congress 2017. Kırşehir/TURKEY, April 24-28, p60.