

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

ALZHEİMER (AH) HASTALARININ PLAZMASINDA
NİTRİK OKSİT (NO) DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Kezban YILDIZ DALGINLI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Aysel GÜVEN

HAZİRAN-2010
KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Kezban YILDIZ DALGINLI' nın yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "Alzheimer Hastalarının Plazmasında NO Düzeylerinin Araştırılması" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy...birliği.....ile kabul edilmiştir.

28/06/2010

Adı Soyadı

İmza

Başkan: Yrd.Doç.Dr. Ayşel GÜVEN

Üye : Doç.Dr. Süleyman GÜL

Üye : Yrd.Doç.Dr. Davut ATAKIŞI



Bu tezin kabulü Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../2010 tarih ve/.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Abdullah DOĞAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu araştırma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Çalışmada Alzheimer hastalarının plazmasında nitrik oksit düzeyleri araştırılmıştır.

Bu çalışmanın her aşamasında hiçbir yardım ve desteğini esirgemeyen, bilimsel katkı ve önerileri ile bana yol gösteren, çalışmamı yürütme ve sonuçlandırma konusunda olumlu eleştirileri ile beni yönlendiren danışman hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Aysel GÜVEN'e,

Alzheimer hastalarının bize yönlendirilmesinde yardımcı olan Yrd. Doç. Selen İlhan Alp'e, deney yapım aşamasında her türlü desteği sağlayan, çalışmamın her aşamasında yardımlarını gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Onur ATAKİŞİ' ye, İstatistiksel hesaplamalarda yardımını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Barış Öztürk'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme, deney yapım aşamasında yardımcı olan tüm yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkür ederim. .

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	vi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1.GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	1
2. ALZHEİMER HASTALIĞI	3
2.1. Tanımı	3
2.2. Tarihçesi	3
2.3. Epidemiyolojisi	3
2.4. Alzheimer Hastalığı Risk Faktörleri	4
2.4.1. Majör Risk Faktörleri	4
2.4.1.1. Yaş	4
2.4.1.2. Cinsiyet	4
2.4.1.3. Aile öyküsü ve genetik yatkınlık	5
2.4.1.4. Down Sendromu	6
2.4.2. Minör Risk Faktörleri	7
2.4.2.1. Düşük Eğitim Düzeyi	7
2.4.2.2. Kafa Travması	7
2.4.2.3. Depresyon	7
2.4.2.4. Sigara	7
2.4.2.5. Alkol	8
2.4.2.6. Miyokard İnfarktüsü	8
2.4.2.7. Troid Hastalıkları	8
2.4.2.8. Diabetus Mellitus	8
2.4.2.9. Annenin Doğum Sırasındaki Yaşı	8
2.4.2.10. Obesite	8
2.4.2.11. Parkinson Hastalığı ve Lewy Cisimciği Hastalığı	9

2.4.2.12.Homosistein Yüksekliği ve Folik Asit Düşüklüğü	9
2.4.2.13. Menepoz ve Hormon Tedavisi	9
2.4.2.14. Vasküler Faktörler	10
2.4.2.15. Eser Element Toksisitesi	10
2.4.2.16.Organik Solventler ve Çözücü Maddelere Maruziyet	10
2.4.2.17. AH' nın Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres ile ilişkisi	11
2.5. Alzheimer Hastalığının Nöropatolojisi ve Patofizyolojisi	12
2.5.1.Nötrofibriler Yumaklar ve Nötrofil İplikçikler	13
2.5.2. Tau Proteinleri	13
2.5.3. Amiloid β (A β) ve Senil Paklar	13
2.6. Alzheimer Hastalığının Kliniği	14
2.7. Alzheimer Hastalığında Tanı	15
2.8. Alzheimer Hastalığında Tedavi	16
3. NİTRİK OKSİT	17
3.1.Nitrik Oksitin Sentezi	19
3.2.NOS Enziminin İzofomları	21
3.2.1.Nöronal NOS (nNOS Tip I)	21
3.2.2.Uyarılabilen (inducible) NOS (i NOS Tip II)	22
3.2.3. Edotelyal NOS (eNOS veya NOS III)	23
3.3.NO Salınımına Neden Olan Uyarıcılar	25
3.4.NO Donörleri(vericileri)	26
3.5. NOS' ın İnhibitörleri	26
3.6.Nitrik Oksit' in Yıkımı	27
3.7.Nitrik Oksit'in Sinir Sistemindeki Rolü	28
3.8.NO' in MSS' deki Patolojik Rolü	29
4. MATERYAL VE METOT	31
4.1. Materyal	31
4.1.1. Deneyde Kullanılan İnsan Materyali	31
4.1.2.Kan Örneklerinin Alınması	31
4.1.3.Kan Nitrat ve Nitrit Düzeylerinin Ölçülmesi	32
4.1.3.1.Analizler İçin Kullanılan Cihazlar	32
4.1.3.2.Analizler İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler	32

4.1.3.3.Plazmada Nitrik Oksit Tayini	33
4.13.4.Deneyin Prensibi	33
4.13.5.Deneyde Kullanılan Çözeltiler	33
4.1.3.6.Numunelerin Deproteinize Edilmesi	34
4.1.3.7.Nitrat Analizlerinin Yapılışı	34
4.1.3.8.Nitrit Analizlerinin Yapılışı	34
4.1.3.9.Sonuçların Hesaplanması	35
4.1.4. İstatistiksel Analizler	35
4. BULGULAR	36
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
6. KAYNAKLAR	41
7. ÖZGEÇMİŞ	49

ÖZET

ALZHEİMER HASTALARININ PLAZMASINDA NİTRİK OKSİT(NO) DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yaşla ilişkili nörodejeneratif bir hastalık olan Alzheimer hastalığı son yıllarda artış gösteren önemli bir sağlık sorunu olarak görülmektedir. Hastalık üzerinde genetik, fizyolojik, çevresel, sosyal, biyokimyasal ve diğer faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada Alzheimer hastalarının plazmasında NO düzeylerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Çalışmada Kars yöresinde yaşayan yaşları 65 ve 79 arasında değişen 15 sağlıklı ve 15 Alzheimer hastası seçildi. Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji servisinde Alzheimer teşhisi konulmuş olan hastalardan kan örnekleri alınmadan önce Standardize Mini Mental Test (SMMT) ve Klinik Demans Evreleme Ölçeği uygulandı.

Daha sonra plazma NO düzeylerine bakıldı. Sağlıklı ve Alzheimer'lı gruplarda kan plazma NO ($p < 0.01$) düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Anahtar sözcükler: Alzheimer hastalığı, Nitrik oksit (NO).

ABSTRACT

INVESTIGATION OF NITRIC OXIDE (NO) LEVELS IN THE PLASMA OF ALZHEIMER PATIENTS

An age-related neurodegenerative disease, Alzheimer, is seen to be an increasing major health problem in recent years. On disease, genetic, physiological, environmental, social, biochemical, and other factors are thought to play a role.

In this study, it is aimed to investigate NO levels in the plasma of Alzheimer patients. 15 healthy people and 15 Alzheimer patients, whose ages ranged from 65 and 79 and who are living in the region of Kars, are chosen in this study. Standardize Mini Mental Test (SMMMT) and Clinical Dementia Staging Scale are applied to patients who are diagnosed as Alzheimer disease by Kafkas University Faculty of Medicine Neurology Service, before blood samples are obtained. Later, NO levels in their plasmas are researched. The NO($p<0.01$) level difference in the plasmas between healthy and Alzheimer patients' groups are found statistically significant.

Key words: Alzheimer disease, Nitric oxide (NO)

ÇİZELGELERİNİN LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Çizelge 1. Konrol ve hasta grubu plazma NO düzeyleri istatistiksel kıyaslaması	36
Çizelge 2. Gruplarda plazma NO düzeylerinin istatistiksel karşılaştırılması	37

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Şekil 1. Alzheimer beyinde A β (1-42)'nin indüklediği oksidatif stres	12
Şekil 2. Nitrik Oksit Oluşumundaki Kimyasal Reaksiyon	19
Şekil 3. Nitrik Oksit Sentezi	20
Şekil 4. Nitrik oksit sentezleyen enzimler	24
Şekil 5. NO kaynakları ve sentezi	25
Şekil 6. Nitrik oksit' in yıkımı	27
Şekil 7. Kontrol Deney Gruplarına Göre NO Düzeyleri	37

SİMGELER VE KISALTMALAR

μmol	: Mikromol
nm	: Nanometre
ml	: Mililitre
°C	: Santigrat derece
mg	: Miligram
AH	: Alzheimer hastalığı
APP	: Amiloid prekürsör protein
Aβ	: Amiloid beta
Apo-E4	: Apolipoprotein E' nin 4 aleli
ACT	: Antikimotripsin
NO	: Nitrik oksit
ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
NFY	: Nörofibriler yumaklar
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
c(GMP)	: Siklik guanozin monofosfat
NOS	: Nitrik oksit sentetaz
nNOS	: Nöronal NOS
iNOS	: Uyarılabilen (inducible) NOS
eNOS	: Edotelyal NOS
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ATP	: Adenozin trifosfat
NMA	: Monometil-L-arginin
L-NA	: Nitro-L-arginin
L-NAME	: Nitro-L-arginin metil esteri
ONOO⁻	: Peroksinitrit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit

MDA	: Malondialdehit
EGTA	: Etilen glukol tetraasetik asit
NADPH	: Nikodinamid adenin dinükleotit fosfat
SNAP	: S-nitrozo-N-asetilpenisilamin
NOC	: Nitrik oksit vericisi

1.GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

Alzheimer Hastalığı (AH), orta ve ileri yaşlarda görülen, tedavi edilemeyen nörodejeneratif bir hastalıktır. Başta unutkanlık olmak üzere çeşitli zihinsel ve davranışsal bozukluklara yol açan ilerleyici bir beyin hastalığıdır. Alzheimer hastalığının 65 yaş üstü kişilerde görülme sıklığı % 3-11, 85 yaş üzerinde % 20-47' dir [1, 2, 3].

Bugün dört milyon Amerikalı bu hastalığın etkisi altında bulunmaktadır. Her geçen gün bu sayı, nüfusun yaşlanmasına paralel olarak giderek artmaktadır. İnsan ömrünün her geçen gün uzadığı göz önünde bulundurulursa, önümüzdeki on yıl içinde bu sayının altı milyona, 2050 yılında ise on dört milyona çıkacağı ifade edilmektedir [1]. Ülkemizde ise bu hastalığın sıklığı bu alanda henüz epidemiyolojik bir çalışma yapılmadığı için bilinmemektedir [3].

AH' da patolojik olarak, sinir hücreleri içinde ve dışında biriken fibrils proteinler, biriken proteinlerin oluşturduğu senil (nörotik) plaklar ve nörofibriler yumakların varlığı karakteristiktir. Bu plaklar ve yumaklar sebebiyle hücreler ya tamamen yok olur veya büyük oranda fonksiyon kaybına uğrarlar [4,5].

AH' nın genetik incelemelerinde değişik genler tanımlanmıştır. Bu genlerin başında; β -amiloid prekürsör protein (APP), presenilin-1(PS-1), presenilin-2(PS-2), apolipoprotein E(Apo-E) ve antikimotripsin (ACT) genleri bulunmaktadır. PS-1 geni 14 nolu kromozomda, PS-2 geni 1 nolu kromozomda, ApoE geni 19 nolu kromozomda ve β -amiloid prekürsör protein geni 21 nolu kromozomda yer alır [5].

Şu ana kadar bazı çalışmalarda AH' nın serbest radikal oluşumuna neden olduğu postmortem beyin dokularında yapılan incelemelerde gösterilmiş ve buna bağlı patolojik değişiklik tanımlanmıştır [5, 6] .

Beyinde nitrik oksit ve peroksinitrit gibi başka reaktif oksijen ürünü (ROT) kaynakları da bulunmaktadır. [5]. AH patogenezisinde rol oynadığı düşünülen çözünür özellikli A β agregatları nöronal membrana girerek lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, ROT

ve reaktif nitrojen ürünleri oluşumuna yol açtığı ileri sürülmüştür. A β 'nın nitrik oksit sentezini artırdığı, oluşan nitrik oksitin mitokondrilerden sızan süperoksit radikalleri ile hızlı bir şekilde reaksiyona girerek peroksinitrit açığa çıkardığı, peroksinitritin sinaptik membran yapısını bozarak nöron ölümüne sebep olduğu ifade edilmiştir[7].

Bu çalışmada yaşa bağlı nörodejeneratif bir hastalık olan Alzheimer hastalığında NO seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.ALZHEIMER HASTALIĞI

2.1.Tanımı

Alzheimer hastalığı (AH) hafıza, konuşma, yüksek serebral işlevler ve görsel- uzaysal beceriler gibi birden çok sistemi etkileyen, başlangıçta kısa dönemli hafıza kaybı, devam eden süreçte bilişsel işlevlerde ilerleyici yıkım ile devam eden bir beyin hastalığıdır [8].

2.2. Tarihçesi

AH 1907 yılında Alman psikiyatrist Dr. Alois Alzheimer tarafından 51 yaşında Auguste D. Adlı bir kadın hastasında incelenmiştir. Bu kadın hastasında paronoid hezeyanlarla beraber bellek bozukluğu, beyin biopsisinde korteks sinir hücresinde amiloid plakların depolandığı ve hücre içi nörofibriler yumakların biriktiği gösterilmiştir [8].

Ailevi AH 1932 yılında tanımlanmıştır [8]. 1960-1970'lerde serebral kortikal lezyonların yapısı, spesifik nörotransmitterlerde eksiklikler olduğunun farkına varılması sonrasında AH ile ilgili modern çalışmalar yapılmaya başlanmıştır [6].

2.3. Epidemiyolojisi

Dünyada 50 yaşın altında nadir görülen hastalık, 65-74 yaş arasında % 3, 75-84 yaş arasında % 19, 85 yaş üzerinde % 47 oranında görüldüğü ifade edilmiştir [9].

Avrupa da yapılan Avrupa Topluluğu Demans Önleme ve Epidemiyolojisi Birliği (EURODERM) çalışmalarında hastalığın 60-69 yaşlarında % 0,3, 70-79 yaşları arasında % 3, 80-89 yaşları arasında % 20 sıklıkta karşılaştığı bildirilmiştir [10].

Dünyada 24,3 milyon AH hastası olduğu ve her yıl 4,6 milyon yeni hasta eklendiği hesaplanmıştır. Her 20 yılda AH hasta sayısının ikiye katlandığı ve 2040 yılı itibariyle 81,1 milyon olacağı tahmin edilmektedir [11].

Ülkemizde hastalığın sıklığı bu alanda henüz epidemiyolojik bir çalışma yapılmadığı için bilinmemektedir [3].

2.4. Alzheimer Hastalığı Risk Faktörleri

AH' nın kesin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte hastalığa etki eden çeşitli risk faktörleri vardır. Bu risk faktörlerinden; yaş, genetik ve aile öyküsü, apolipoprotein E₄ durumu majör risk faktörleri iken, cinsiyet, düşük eğitim seviyesi, kafa travması, miyokard infarktı, hipotroidi, B₁₂ vitamin eksikliği, toksinlere maruziyet, alkol, sigara, lipid metabolizma bozuklukları, serbest radikaller ve oksidatif stres, inflamasyon, depresyon, diabetes mellitus, obezite, annenin doğum esnasındaki yaşı minör risk faktörleri olarak belirlenmiştir [12].

2.4.1. Majör Risk Faktörleri

2.4.1.1. Yaş

AH' nın en önemli risk faktörleri olarak kabul edilmiştir [13]. Hastalığın görülme sıklığı 60 yaşından önce nadir iken hastalık prevalansı 65-85 yaşları arasında her 5 yılda bir 2 katına çıkmaktadır. Bunun 65 yaş üzeri kişilerde % 3-11, 85 yaş üzeri kişilerde yaklaşık % 50 gibi yüksek bir prevalansa sahip olduğu kaydedilmiştir [3].

Yaşlanmayla geri çağırma, kaydetme, yakın hafızada yavaşlamalar, algılama, hareket ve beceri ile ilgili davranışlarda azalma olduğu bildirilmiştir [15].

2.4.1.2. Cinsiyet

Erkeklerle oranla kadınlarda AH' nın ortaya çıkma riski daha fazla olduğu ifade edilir. AH' nın kadınlarda daha sık görülmesinin nedeni; kadınların daha uzun yaşamasına bağlı olduğu, cinsiyet hormonlarının etkili olduğu ve erkeklerle oranla kadınlarda eğitim seviyesinin daha düşük olması belirtilmiştir [16].

Yine yapılan araştırmalarda AH' nın kadınlarda erkeklerden daha sık görülmesinin sebebi X linked dominant geçişten kaynaklandığı ve pruvat dehidrogenaz kompleks proteinin AH' da az olduğu ve bunun X kromozomunda şifrelendiği belirtilmiştir. Bunun da AH' nın kadınlarda erkeklerle oranla sık görülmesi ile ilişkilendirilmiştir [17].

Yaşlanmayla erkeklerde algılama ve kelime hafızası etkilenirken, kadınlarda dikkat ile ilgili alanlarda yaşa bağlı değişiklikler olduğu ifade edilmektedir.[15].

2.4.1.3. Aile öyküsü ve genetik yatkınlık

Birinci derece akrabada AH öyküsünün bulunması hastalığın gelişme riskini 4 kat artırdığı bildirilmiştir [13]. EUROERM çalışmasında ailesinde birinci derecede bir akrabada demans olanlarda AH relatif risk (RR) 3.4 bulunurken, iki ya da daha fazla yakın akrabasında demans olanlarda relatif risk oranı 7.5 olduğu bildirilmiştir [18].

AH'nın etkilenmiş olguların akrabalarında ortaya çıkması %25-40 iken demansı olmayan kontrollerin akrabalarında %10 ya da daha az olduğu bildirilmiştir. [8]. 60 yaşından önce başlayan vakalarda AH' nın %50'sinden fazlasında aile hikayesi rapor edilmiştir. Erken başlangıçlı tüm Alzheimer olgularında aile öyküsü tek neden olmayıp, ikiz çalışmalarında monozigotik ikizlerle dizigotik ikizler arasında AH için konkordans oranında artış olduğu gösterilmiştir. Monozigot ikizlerde yapılan çalışmalara göre, ikizlerden birinde AH belirtileri görüldüğünde, diğer ikizde de görülme olasılığı yaklaşık %40 olarak gösterilmiştir. Ancak diğer ikizde hastalığın başlaması daha uzun bir zamandan sonra olur. Bu da genetik zeminde çevresel faktörlerin etki göstermesiyle uyumlu görülmüştür [8]. AH' da genetik faktörlerin önemini gösteren en etkileyici delillerden biri de nesiller boyu AH sülalelerinin olmasıdır. İlk kez 1932 yılında çok kuşaklı AH ailesi Schottky tarafından rapor edilmiştir. Bu ailelerin çoğu tek gen otozomal dominant kalıtımla uyumludur; yani birden çok nesil etkilenmiş, kadın ve erkekler eşit olarak tutulmuştur. Erkekten erkeğe geçiş bulunmakta ve etkilenen bireylerin çocuklarında demans gelişme riski % 50 olduğu tespit edilmiştir [8].

AH'nın genetik etiolojisinde rol alan otozomal dominant geçişli ailesel ve erken başlangıçlı olgularda geçişten sorumlu olan dört lokus tanımlanmıştır. Bunlar: 21. kromozomdaki amiloid prekürsör protein (APP), 14. kromozomdaki Presnilin-1 (PS-), 1. kromozomdaki Presenilin -2 (PS-2) ve 19. kromozomdaki Apolipoprotein E(APO E) lokuslarıdır [8]. Bu genlerden üçü olan APP, PS-1,PS-2' genlerinde mutasyon meydana gelmesi ailesel dominant geçişli hastada hastalığın başlangıç ve ölüm yaşına etki ettiği ileri sürülmüştür. Erken başlangıçlı ailesel AH' nın yaklaşık % 10' da APP gen mutasyonu gözlenmiştir. Erken başlangıçlı ailesel AH'da PS-1' deki mutasyonun % 50

oranında olduğu saptanmıştır. PS-1' deki mutasyonun APP' nin proteolitik yıkımını değiştirdiği ve amiloidojenik A β üretimini artırdığı ileri sürülmüştür [9].

Geç başlangıçlı ailesel AH' da PS-2 mutasyonu gözlenmiştir. Bu mutasyonunda PS-1 mutasyonunda olduğu gibi APP' nin proteolitik yıkımını değiştirdiği ve amiloidojenik A β üretimini artırdığı ileri sürülmüştür [9]. Geç başlangıçlı AH' dan sorumlu olan tek gen 19.kromozomda kodlanan, 4 kd ağırlığında olan Apolipoprotein E'nin (APO E)' nin nöronlarda membran fosfolipit ve kolesterol yapımında rol alan bir enzim olan APO E' nin APO E ϵ 4 alelidir. Apo E' nin ϵ 2, ϵ 3, ϵ 4 alelleri vardır. AH gelişme riskinin ϵ 4 alelinde belirgin artış, ϵ 2 alelinde azalma olduğu saptanmıştır. ϵ 4 aleli A β peptit yapısının polimerizasyonu ile A β birikimini kolaylaştırır. Homozigot ϵ 4/ ϵ 4' ün ϵ 3/ ϵ 3' lere göre 19 kat, ϵ 3/ ϵ 4 homozigotlarda ϵ 3/ ϵ 3' lere göre 4,5 kat risk yüksek bulunmuştur. ϵ 2/ ϵ 3 homozigotlarda ϵ 4/ ϵ 4' ün ϵ 3/ ϵ 3' lere göre 2 kat, ϵ 2/ ϵ 4 homozigot ϵ 4/ ϵ 4' lere göre risk düşük bulunmuştur [9].

2.4.1.4. Down Sendromu

AH' da saptanan patolojik bulguların 45 yaş sonrasına kadar yaşayan Down Sendromlularla aynı olduğu saptanmıştır [9].

AH nin genetik faktörleri arasında yer alan APP geni ile Down sendromu geni (Tizami 21) 21. kromozom üzerinde birbirine yakın bölgelerde lokalize olması dikkat çekici olup, AH ile Down sendromu arasındaki ilişkiyi doğrulamaktadır. Bu yüzden ileri yaşlara kadar yaşayabilen Down Sendromlularda AH görülmektedir [1]. Alzheimer hastası olan ailelerde Down Sendromlu çocuk sahibi olma riskinin fazla olduğu bildirilmiştir [13].

2.4.2. Minör Risk Faktörleri

2.4.2.1. Düşük Eğitim Düzeyi

Düşük eğitim seviyesi ve daha fazla bilişsel aktivite gerektirmeyen işlerde çalışan kişilerde yüksek eğitim seviyesi olanlara göre AH ortaya çıkma oranının yaklaşık 1,5 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir [13].

2.4.2.2. Kafa Travması

Bilinç kaybına neden olan kafa travmasının AH' da risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür [13]. Deneysel bir çalışmada, kafa travması sonrasında biyolojik mekanizma açısından beta amiloid ve interlokin salınımının artış gösterdiği ve kafa travmasının bir akut faz reaksiyonuyla AH' nın ilişkili olabileceği bildirilmiştir [19].

2.4.2.3. Depresyon

Beirman ve ark. (2005)'nin kognitif (bilişsel) fonksiyon üzerine etkisinin incelendiği çalışmada depresyonun bilişsel kapasiteyi azalttığı gösterilmiştir [20]. AH ile depresyon arasındaki ilişki üç olası görüşle açıklanmaktadır. Antidepresan ilacın antikolinerjik yan etkileri birinci sebep, AH' da ve depresyonda benzer nörotransmitter bozukluklar ikinci sebeptir. Depresyon öyküsü olan hastaların bilişsel defisitlerinin olması ve depresyon düzeldikten sonra demans için bir zemin yaratması üçüncü sebep olduğu ifade edilmektedir [21].

2.4.2.4. Sigara

Sigara kullanımı ile AH arasında ters bir ilişki olduğu sigara kullanımının Apo E'nin $\epsilon 4$ aleline sahip bireylerde hastalık oluşma riskini azalttığı Apo E'nin $\epsilon 4$ aleline sahip olmayan bireylerde ise hastalık gelişme riskini artırdığı şeklinde ifade edilmiştir [13].

2.4.2.5. Alkol

Orta miktar alkol kullanımının demans ve AH riskini azaltabileceği düşünülürken yüksek alkol kullanımının nörotoksik etkisinin olduğunu bildirilmiştir [22].

2.4.2.6. Miyokard İnfarktüsü

İleri yaşlardaki bireylerde özellikle kadınlarda miyokard infarktüsünün AH riskini 3 kat artırdığı bildirilmiştir. Kroner arterlerinde %75'in üzerinde daralma olan bireylerin beyinlerinde, kroner arter hastası olmayan bireylere oranla diffüz plak oluşumunda artış gözlemlendiği ifade edilmiştir [13].

2.4.2.7. Troid Hastalıkları

Otoimmün troid hastalığı ailesel Alzheimer hastalarında yüksek prevalansa sahiptir. Ayrıca hem hipertiroidizm hem de AH' nın 21. kromozomda lokalize olması hipertiroidizmin AH' la ilişkili olduğunu düşündürmektedir [21].

2.4.2.8. Diabetus Mellitus

AH ile diabetus mellitus arasındaki ilişki hipergliseminin amiloid depolanmasını artırabileceği ve nörofibriler yumaklarda ileri glikozillenmiş ürünlerin bulunması şeklinde açıklanmaya çalışılmıştır. Diabetus mellitus olan bireylerde olmayan bireylere oranla 2 kat daha fazla AH olduğu bildirilmiştir [23].

2.4.2.9. Annenin Doğum Sırasındaki Yaşı

Annesi 15-19 yaşları arasında olan bireylerde AH riskinde artış olduğu ve ileri maternal yaşın da AH riskini artırdığı tespit edilmiştir [24].

2.4.2.10. Obesite

AH için risk faktörü oluşturan faktörlerden bağımsız olarak orta yaşlardaki obesitenin ileri yaşlarda AH ve demans için risk faktörü olduğu bildirilmiştir [25].

2.4.2.11.Parkinson Hastalığı ve Lewy Cisimciği Hastalığı

Alzheimer, Lewy cisimciği ve Parkinson hastalığının her üçünde ortak genetik kökenden gelebileceği düşünülmektedir. Bunun nedeni ise her üç hastalıktada AH' da görülen patolojik bulgular ve Lewy cisimciklerinin bulunması şeklinde belirtilmiştir [21].

2.4.2.12.Homosistein Yüksekliği ve Folik Asit Düşüklüğü

Alzheimer hastalarında homosistein konsantrasyonunun yüksek ve folik asit seviyesininde düşük olduğu bulunmuştur. Bu yüzden AH için kanda homosistein yüksekliği ve folik asit düşüklüğü bir risk faktörü olarak görülmüştür [26]. Homosistein yüksekliği damar duvarlarında kompleks değişikliklere neden olmaktadır. Bu değişikliklerin oksidatif stres, tümör, nekrozis faktör alfa ve nitrik oksit sentezini indükleyerek proinflamatuvar etkiler ile endotel disfonksiyonu olduğu gözlenmiştir. Folat düşüklüğü geri dönüşümsüz demanslar arasında yer aldığı ve kanda folat oranının düşük olması nörotransmitter yapımını ve nöronal membrandaki fosfolipitlerin metilasyonunu düşürdüğü gözlenmiştir [27, 28].

2.4.2.13. Menopoz ve Hormon Tedavisi

Menopoz döneminden sonra palazmada östradiol ve östron olarak bilinen iki temel östrojen düzeyleri düşmektedir. Kadınlarda östrojen deprivasyonunun AH riskini artırdığı, östrojen replasman tedavisinin hastalık riskini azaltabileceği ileri sürülmüştür [29].

Menopozdan sonra kadınlarda östrojenin olmaması ya da düşük olması AH'nın kadınlarda fazla görülme nedeni olabilmektedir [21]. Östrojen uygulaması özellikle hafıza ve reaksiyon zamanlarına pozitif etki yaptığı hormon replasman tedavisinin AH riskini azaltabileceği, doz ve tedavi süresi arttıkça hastalık riski azaldığı ifade edilmiştir [29].

2.4.2.14. Vasküler Faktörler

AH ile vasküler hastalıklar ve vasküler demans arasında patofizyolojik olarak yakın ilişkiler bulunmaktadır. Vasküler risk faktörleri AH' da klinikopatolojik olarak önemli görülmektedir. AH' da histopatolojik olarak mikroenfarktların, arteriosklerotik değişikliklerin, mikrovasküler değişikliklerin, serebral amyloid anjiopatinin, beyaz cevher lezyonlarının olması, ateroskleroz, multipli laküner, hipertansiyon, yüksek kolesterol seviyeleri, insüline rezistans, tip 2 diabet, Apo E₄ interaksyonu, sigara içimi, alkol kullanımı, kronik hipotansiyon gibi risk faktörleri hastalıkta vasküler patojenitenin direkt rol oynadığını ve önemli olduğunu göstermektedir [27]. Amiloid peptid biyolojisi ile ilgili artan veriler, bu maddenin sistemik ve serebral arterlerde daralmalara neden olduğu ve nöronal aktivite tarafından oluşturulan serebral kan akımındaki artışı azalttığını göstermiştir [30].

2.4.2.15. Eser Element Toksisitesi

AH'da oksijen radikallerinin oluşumunu kolaylaştıran ve antioksidan sistemde yetersizliğe yol açan eser elementlerin olduğu belirtilmiştir [31]. Eser elementlerden alüminyum (Al), çinko (Zn), demir (Fe)' nin agregasyonu kolaylaştırdığı, kalsiyum (Ca), kobalt(C), magnezyum(Mn), bakır(Cu), mangan(Mn), sodyum(Na) veya potasyum(K)' un herhangi bir etkisi olmadığı öne sürülmüştür. Ancak daha sonra metallerin agregatuvar etkisinin ortam pH' sı ile sıkı ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Örneğin Cu⁺² 'nin ortam pH' sı 7,4' den 6,8' e düştüğünde A β agregasyonunu artırdığı gözlemlenmiştir [7]. Özellikle eser elementlerden redoks aktif demirin AH patogenezinde önemli rolü olabileceği bildirilmiştir [31].

2.4.2.16. Organik Solventler ve Çözücü Maddelere Maruziyet

Mesleğe bağlı olarak çözücü maddelere temas edenlerde AH riski incelendiğinde yapıştırıcılar ile pestisidlere maruz kalanlarda demans oranlarının yüksek olduğu bildirilmiştir. Benzen, toluen, alkoller ve ketonlar ile temas edenlerde özellikle erkeklerde AH riskinde istatistik yönden önemli derecede artış gözlenmiştir. Ancak mesleki olarak çözücü maddelere maruziyet kalınması üzerindeki bulgular çelişkili olduğu belirtilmektedir [21].

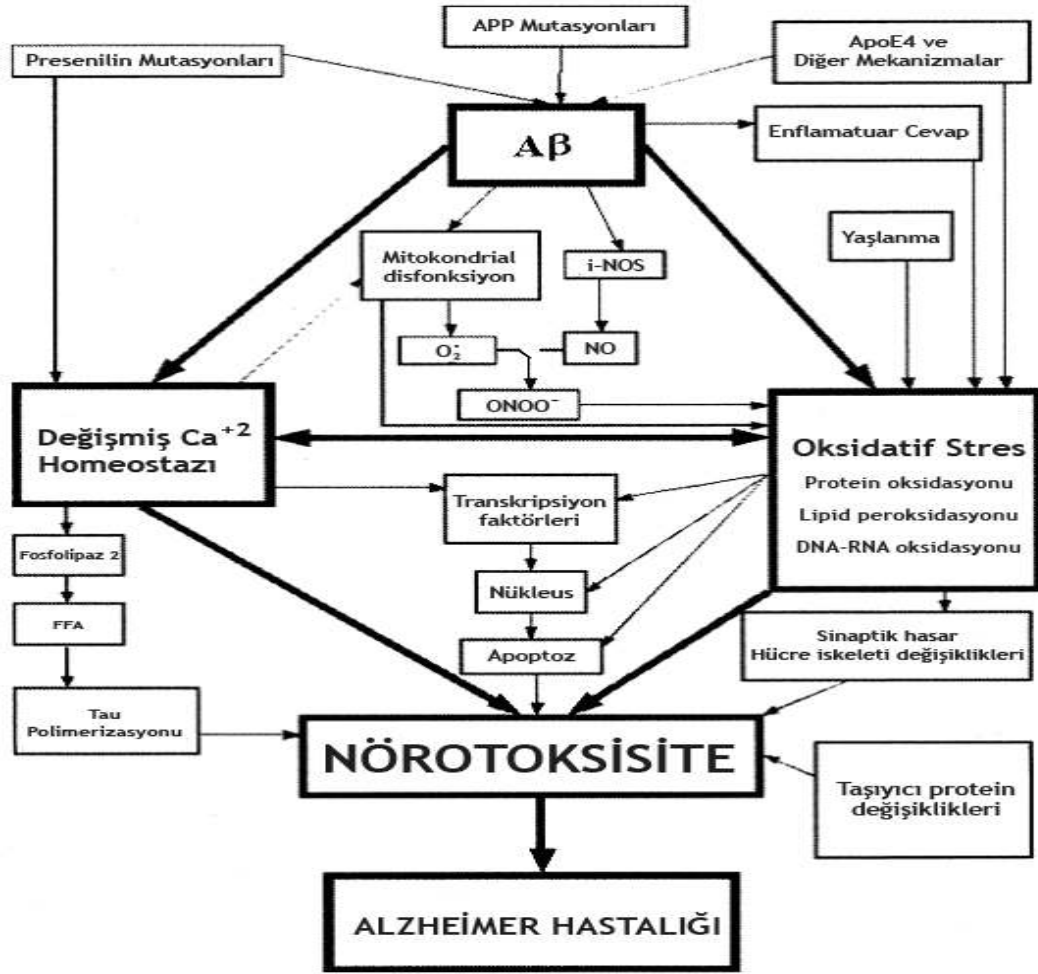
İnorganik kurşuna maruz kalanlarda davranışsal bozukluğu, hafıza ve konsantrasyon bozukluğu, dikkat bozukluğu, ve psikomotor performansta bozukluğa yol açtığı ifade edilmiştir [21].

2.4.2.17. AH' nın Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres ile ilişkisi

Serbest radikaller hücre metabolizması sırasında cereyan eden bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. En önemli serbest radikaller ise oksijenden oluşan serbest radikallerdir. Oksijenin kendisi süperoksit radikali, hidrojen peroksit geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikali önemli reaktif oksijen ürünleridir [26]. Oksijen radikalleri (reaktif oksijen türleri, ROS) kimyasal olarak dengeli olmayan, aşırı reaktif bileşikler olup, hücre ve dokularda aerobik metabolizma sırasında elektron transport zincirinin normal bir parçası olarak üretilmektedir. Serbest oksijen radikallerinin reaktivite özellikleri nedeniyle organizmada herhangi bir zamanda oluşturduğu hücre ve doku hasarı oksidan ve oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır [32]. Oksidatif stresin yaşlanma ile ilişkili fizyolojik ve fiziksel değişikliklerin temelini oluşturduğu Alzheimer' lı beyinlerde ROS kaynaklı stresin varlığı tartışmasız kabul edilmeye başlanmıştır [7].

AH' nın patolojik bulgularında kabul edilen A β özellikle 42 aminoasitlik A β formu nöronal toksisiteye sahip olup serbest radikal ile ilişkili nörodejeneratif mekanizmalara yol açarak lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunu meydana getirdiği ifade edilmiştir. AH' da artan lipid peroksidasyonu ürünleri tüm beyin bölgelerinde (girus hariç) gösterilmiştir [7].

Alzheimer hastalarında beyinde demir alüminyum ve civanın konsantrasyonlarının artması, artmış lipid peroksidasyonu, artmış protein ve DNA oksidasyonu, beyinde bozulmuş enerji metabolizması, nörofibriler yumakta saptanan glikolizasyon son ürünleri, manoldialdehit (MDA), peroksinitrit, karbonil, artmış Nitrik oksit(NO) ve süperoksit radikalinin etkileşimi ile oluşan nöron dejenerasyonu oksidatif stresi destekleyen kanıtlar olduğu bildirilmiştir [6].



Şekil 1: AH'da beyin dokusunda Aβ(1-42)'nin indüklediği oksidatif stres [33]

2.5. Alzheimer Hastalığının Nöropatolojisi ve Patofizyolojisi

Alzheimer hastalarının beyin dokularının makroskopik olarak incelenmesi sonucunda; beyinde atrofi sunucunda küçülme, giruslarda daralma ve sulkuslarda genişleme ve doku kaybına bağlı olarak ventrikül genişlemesi gözlemlenmiştir [34].

Yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda ise, hücre dışında plak adı verilen spesifik amiloid depolanması, hücre içine yerleşmiş senil plak ve nörofibriler yumak (NFY) oluşumu, değişik distrofik nöritler ve nörofil iplikçikleri, selektif nöron kaybı büzülmesi, sinaps kaybı, granülovaküoler dejenerasyon ve amiloid anjiopatiler gözlemlenmiştir [34].

2.5.1. Nörofibriler Yumaklar ve Nötrofil İplikçikler

AH' da patolojik değişimler sonucu oluşan nörofibriler yumaklar (NFY), sinir hücreleri içindeki tau proteinlerinin aşırı fosforile olması ile meydana gelmiştir [9]. NFY' lar hücre iskeletinde değişikliğe yol açarak, aksonal taşımının bozulmasına ve nöronal işlevlerde bozukluğa yol açtığı ifade edilmiştir. NFY' lerin çoğu uzun yıllar süren bir sürecin sonunda nöronların ölmesine neden olduğu ifade edilmiştir [34].

2.5.2. Tau Proteinleri

Tau proteini 17. kromozomda bulunan bir gen tarafından kodlanan molekül ağırlığı düşük bir proteindir. Tau proteinleri, nöronların gövdesinde, merkezi sinir sisteminde bolca bulunup, dentritlerin içine kadar uzanmaktadır. Tau normalde sinir hücresinin iskelet yapısını ayakta tutmayı sağlayan mikrotübül bağlantılı olduğu ifade edilmiştir. Tau proteinlerinin anormal fosforilasyonu çift sarmal iplikçiklere, onların birikimi de nörofibriler yumakları meydana getirmektedir [34, 35].

2.5.3. Amiloid beta(A β) ve Senil Plaklar

Amiloid plaklar hücre dışında bulunan 21. kromozomda kodlanan amiloid prekürsör proteinin (APP) kesilmesi ile oluşan 40-42 aminoasitlik uzunluğunda santral yerleşimli beta amiloid peptid çekirdeği içeren proteindir [34].

A β 'nın 40 aminositten oluşan şekli (A β 1-40) normal beyinlerde bulunurken, 42 aminoasitten oluşan şekli(A β 1-42) ise patolojiktir. AH olan bireylerin beyinlerindeki plaklarda her iki A β şeklide bulunmaktadır. Bunun haricinde AH' nın vücut sıvılarında da A β bulunmaktadır [12].

Beta amiloid proteini nörotoksik etkileri ile hücre membranına ve mikrotübül iskeletine zarar verir. "Amiloid Kaskat Hipotezine" göre A β proteini birikimi patolojik değişikliklerin başlıca nedeni iken nörofibriler yumaklar ve vasküler değişiklikler sekonder sebeplerdir. A β P nöronal hücre ölümüne ve sinaptik kayıba neden olduğu için hastalığın patogenezinin birinci derecede sorumlu tutulmaktadır [1].

2.6. Alzheimer Hastalığının Kliniği

AH' da başlangıçta belirgin bir bulgu olmadığı için klinik olarak gözlenen ilk septomlar sinsisi olarak başlar. Bazen ilk septomlar başlamadan progresif yıkım senelerce sürer, hasta yakınları tarafından dahi fark edilmeyebilir. Hastada, özellikle dikkat eksikliği, bellek bozuklukları, hesap yapma ve problem çözmede bozukluk görülür [36]. Hastaların ortalama yaşam süresi tanı konulduktan sonra 8 yıl olduğu ifade edilmiştir [13].

AH klinik olarak 6 evreye ayrılmaktadır.

1. Preseptomatik Evre: Bu evrede hastalığa ait patolojik değişiklikler başlamasına rağmen, bu dönemde günlük yaşam aktivitelerinde bozulma ve nöropsikolojik değerlendirmelerde bozukluk bulunmamaktadır [37].

2. Preklinik Evre: Bu evrede özellikle hafızada kolaylıkla fark edilmeyen bozukluklar vardır. Ancak nöropsikolojik testlerle ortaya konabilir. Bu dönemde de günlük aktivitelerde bir bozukluk bulunmamaktadır [37].

3. Çok Erken- Şüpheli Evre: Bu evrede kişiler hafif unutkanlık ve beraberindeki karar verme yeteneğinde, evdeki, işindeki ve toplumdaki etkinliklerinde hafif bozulma gösterirler. Bu evre Hafif Kognitif Bozulma (HGB) evresine karşılık gelir. Bu evrede olan bireylerin % 50' den fazlasında daha sonra demans geliştiği belirlenmiştir [34, 37]

4.Hafif(Erken) Evre: Bu evrede hastada yakın bellek bozukluğu belirgindir. Septomlar sinsisi şekilde başlar ve sıklıkla hastalığın başlangıç zamanı kesin söylenmemektedir [38].

5.Orta Evre: Hastalık belirtileri belirginleşir ve daha çok tanı bu evrede konur. Günlük yaşam aktivitelerinde mutlaka yardıma muhtaçtır. Basit hesaplamalar yapamaz. Yakın geçmişteki olayları hatırlayamaz. Orta evre Alzheimer hastalığı biraz daha ağırlaştığında hasta tek başına giyinemez, yürüyemez, banyo ve temizliğini yapamaz, yakın geçmişte yaşanan önemli olayları hatırlayamaz, akraba ve arkadaşlarının yakınlık derecelerini hatırlayamaz [39].

6. Son Evre: Hasta bu evrede yürümek ve beslenmek için sürekli başkasına muhtaçtır. Konuşamama, tam bir bellek kaybı, iştahsızlık, yemek yemeği unutma, idrar ve gaita kaçırma, yakınlarını tanıyamama ya da birbirine karıştırma, uyku iyice bozulmuş olup özellikle geceleri huzursuzluk, yürüme bozulur, hareketler yavaşlar, bölgesel felçler nedeni ile yatağa bağımlı hale geldiği belirtilmiştir. [3, 39].

2.7. Alzheimer Hastalığında Tanı

Alzheimer hastalığının ileri evrelerinde klinik olarak hastalığın tanısını koymak güç değildir. Önemli olan hastalığın erken döneminde tanının nasıl ve hangi yöntemlerle koyulacağıdır. Henüz %100 tanısal doğruluk gösteren bir metod bulunmamaktadır. Kesin tanı otopsi veya biyopsi ile konulmaktadır. Tanılarında yardımcı olabilecek diğer tanısal araçlar, hastalık öyküsü, elektrokardiyografi (EKG), akciğer filmi, nörolojik muayene, psikiyatrik muayene ve psikometrik ölçümler, laboratuvar testleri, yapısal lezyonların belirlenmesi için yapısal görüntüleme yöntemleri olan BT (Bilgisayarlı Tomografi) ve MRG'dir (Manyetik Rezonans Görüntüleme) kullanılmaktadır. Tau proteinlerinin azlığını görebilmek için BOS incelemesi, elektro-ensefalografi (EEG), PET (Positron Emission Tomography) ve SPECT (Single Photon Emission Computerized Tomography), Alzheimer hastalığını normal kontrollerden ve demansın diğer tiplerinden ayırmadaki hassasiyeti %38-95 ve spesifitesi %54-98 arasında bulunmuştur. PET ve SPECT bulguları, özellikle nöropsikolojik değerlendirme bulguları ile birlikte ele alındığında yararlı olmaktadır. Bu tekniklerde görüntü sağlamak için kullanılan radyofarmasötikler beyinde, bölgesel kan akımının, metabolizmanın ve hücreler arası moleküler iletişimin ölçülebilmesini sağlar. Nükleer tıp yöntemleri aracılığıyla Alzheimer hastalığına erken dönemde ve güvenilir bir biçimde tanı koymak olanaklıdır [40, 41, 42].

AH' nın klinik tanısı için yayınlanmış olan ve bugün yaygın biçimde kullanılan tanı testi şunlardır; Ulusal Nörolojik ve İletişim Hastalıkları Enstitüsü ve İnme Alzheimer Hastalığı ve İlişkili Nörolojik Hastalıklar Derneği (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) (NINCDS-ADRA), ve Amerikan Psikiyatri Birliği Mental Bozuklukların

Tanısal ve Sayımsal El Kitabı(DSM-IV) tanı kriterleri kullanılmaktadır Söz konusu kriterler kullanıldığında tanı otopsi bulgularıyla %80-90 oranında uyumlu olmaktadır [41].

2.8. Alzheimer Hastalığında Tedavi

AH' nın kesin nedeni bugün için tam olarak bilinmediğinden tedavi için önerilen kesin bir şekil bulunmamaktadır. Ancak beyin fonksiyonlarındaki gerilemeyi azaltacak veya hastalığın gelişimini yavaşlatacak, hastanın yaşam kalitesini ve işlevselliği en üst düzeye çıkarma yönünde radikal tedavi uygulanmaktadır. Tedavide izlenecek birinci yol; hastalığın bilişsel belirtilerine odaklanmış olup ilaçla yapılan septomatik tedavidir. İkinci yol; hastalığın seyri sırasında erken dönemde görülen kaygı, ajitasyon, depresif belirti gibi bulguların giderilmesini destekleyen uygulamalardır. Ayrıca bellek egzersizleri de demansın ilerlemesini önleyebildiği bildirilmektedir [43, 44].

AH' nın tedavisinde farklı özellikte ilaçlar bulunmaktadır. Bu ilaçlardan nöron kaybı nedeniyle azalan asetilkolin miktarının düzeyini artırarak yeniden dengelenmesini hedefleyen asetilkolini yıkan asetilkolinesteraz inhibitörleri bulunmaktadır. Günümüzde bu amaçla tacrine, donepezil, rivastigmine ve galantamine kullanılmaktadır [40, 45].

Hastalık seyri sırasında sık görülen davranışsal bozuklukların düzenlenmesinde, depresyon ve uyku bozukluklarına yönelik olarak sertralin, citalopram ve fluovetine gibi benzodiazepinler, antidepresanlar ve nöroteptikler kullanılmaktadır. Ayrıca hastalığın tıbbi tedavisinde destekleyici olarak E vitamini, selegiline ve hydergine, serebral vazodilatörler, stimülanlar, L-dopa, vitamin B, C, E ve klorpromazin ile benzeri gibi ilaçlar kullanılmaktadır. Hastalıkta sinir hücresi büyüme faktörü agonistleri ve beta amiloid protein inhibitörlerinin kullanımına yönelik çalışmalar devam etmektedir. Ayrıca hastalığın tedavisinde kullanılmak üzere aşı ve kök hücre çalışmaları devam etmektedir [40, 45].

3. NİTRİK OKSİT

Nitrik oksit basit bir atmosfer atığı olarak düşünölmekteydi. 1980 yılında ABD' de "Endothelium- Derived Relaxing Faktör (EDRF): endotel kaynaklı gevşetici faktör olarak tespit edilen bu ajanın,1986' da nitrik oksit (NO) olabileceği düşünölmüş ve 1987 yılında damar endotelinden endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak bilinen yapının izole edilmesi sırasında nitrik oksit sentetaz (NOS) keşfedilmiş ve daha sonraki yıllarda EDRF' nin NO olduğu tespit edilmiştir [46, 47]

İnsan ve hayvanlarında NO üretebildiklerinin ortaya konması ile 1987 yılına kadar insan vücudunda bulunuş nedeni ve metabolizması hakkında çok az şey bilinen NO' nun fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü anlaşılmış ve 1992' de yılın molekölü seçilmiştir [48].

Nitrik oksit bir adet çiftlenmemiş elektrona sahip olmasından dolayı serbest oksijen radikali bileşigi(ROS) olarak kabul edilmektedir [48]. Nitrik oksit (Azot monoksit(NO)) havada yaygın olarak bulunan azot(N) ve oksijen(O) gazlarının birleşmesiyle oluşur. Kaynağı nitritli ve nitratlı bileşikler yapılarında NO bulunduran diğer moleküllerdir. NO aynı zamanda organizmada da sentez edilebilen, birçok memeli hücre dokusunun fonksiyonlarını düzenlemede rol alan, renksiz, küçük molekülölü, yağda çözöünen, yarı ömrü çok kısa olan O₂ ve CO₂ gibi hücre zarını kolaylıkla geçebilen, reaksiyon yeteneği oldukça yüksek, güçlü bir vazodilatör, önemli bir hücre içi sinyalleme ajanı, atipik bir nörotransmitter, çevresel bir toksin, immünolojik sataşmalarda rol oynayan nonspesfik sitotoksik bir mediatördür [49, 50, 51]

Yüksek derecede reaktif olan yüksek konsantrasyondaki NO oksijensiz ortamda oldukça stabil olup suda erime özelliği gösterirken, düşük konsantrasyondaki NO oksijen varlığında daha stabildir [52]. NO' in sulandırılmış çözeltilerde yarılanma ömrü 10 saniyeden daha kısa iken dokuda 10- 60 saniyelik kısa bir ömrü vardır ve bu daha sonra daha stabil yapılar olan nitrite (NO₂) ve nitrate (NO₃) okside olur [50, 53, 54].

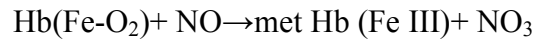
Havadaki NO kısa sürede O₂ ile oksitlenerek nitrojen dioksite (NO₂) dönüşür. Nitrojen dioksit, üzerinde yük taşımaması ve çiftlenmemiş elektron bulundurması, hücreden hücreye hiçbir bariyerle karşılaşmadan kolaylıkla geçmesini sağlamaktadır [52]. Nitrik oksitin bu karakteristik özelliği onu ideal bir moleköl haline getirmektedir. Bu sayede

NO, oksijen, süperoksit radikalleri ve geçiş metalleriyle (demir, bakır, magnezyum gibi) reaksiyona girmektedir [50, 54].

Diğer serbest radikaller düşük konsantrasyonlarda hücreler için zararlı iken NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO bu özellikleri ile çok ideal bir fizyolojik haberci molekülü özelliği kazanmaktadır [50,54].

Düşük konsantrasyonlarda NO, ROT kaynaklı hasara karşı koruyucu olabilirken, yüksek konsantrasyonlarda ise hasarlayıcı etki göstermektedir. Düşük konsantrasyondaki NO, O₂' e nazaran hemoglobine 3000 katlık bir afiniteyle bağlanır. Hemoglobinin oksijen formunda ise NO' i kısa sürede NO₃' e oksitleyerek etkisizleştirmektedir. Özellikle dolaşımdaki oksihemoglobin NO için kuvvetli bir inhibitördür. NO, nitritde (NO₂) okside olabilir. Ancak nitrik tekrar oksitlenerek kısa sürede nitrata(NO₃) dönüşüm göstermektedir [52].

NO' nun önemli bir diğer etkisinde oksihemoglobinle reaksiyona girerek methemoglobine ve NO₃' e dönüşümüdür [52]. Bu tepkime şu şekildedir:



Bu reaksiyon, NO biyoaktivitesinin ve konsantrasyonunu in vivo olarak kontrol edildiği başlıca mekanizmadır [55].

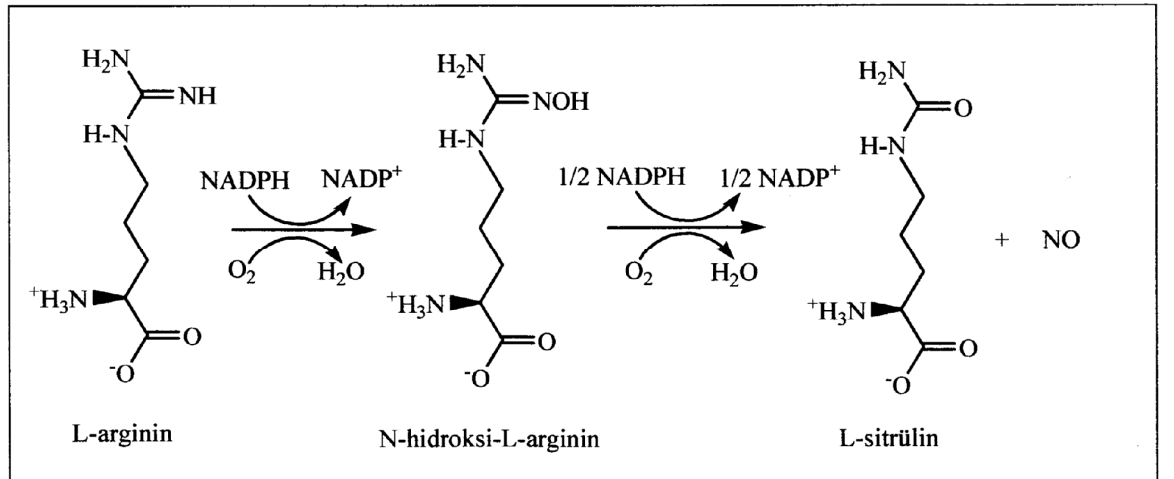
NO' in memeli organizmasında da çok önemli rolü olduğu belirtilmiştir. NO fizyolojik konsantrasyonlarda hemen hemen tüm organ ve sistemlerinde değişik biyolojik etkiler göstermektedir. NO, gastrointestinal hava yolları, kovernoz dokularındaki vasküler düz kasların gevşemesinde, konak savunması ve immüniteyi etkilediği gibi kan damar tonusu ve nöronal ileti dahil bir çok fizyolojik olayların düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. NO' nun merkezi sinir sisteminde fizyolojik ve patolojik rolleri bulunmaktadır. MSS' de, hafızanın şekillenmesinde içeren çeşitli fonksiyonları bir nörotransmitter olarak destekler; periferde ise gastrointestinal, solunum ve genitoüriner sistemle ilgili çeşitli fonksiyonları düzenlemektedir [52].

NO sinir sistemi morfgenezisinde ve sinapların şekillenmesinde rol oynar. Nörotransmitter salınımı ve gen ekspresyonunu düzenleyebilir. Diğer taraftan NO' nun aşırı üretilmesi halinde, çeşitli sinir sistemi hastalıklarında önemli bir nörotoksin olarak karşımıza çıkmaktadır. Myokard fonksiyon bozukluğu, dolaşım yetmezliği, farklı gen disfonksiyonu ile sonlanan durumlara artmış NO foksiyonunun katkısı olduğu gözlenmiştir. Bir başka taraftan artmış NO vazodilasyonu, trombosit agregasyonu engellenmesi ile dokuların mikrosirkülasyonunda rahatlamaya ve sonuçta da dokuların oksijenlenmesi yönünde çok yararlı katkı sağlayabilmektedir [52, 56, 57].

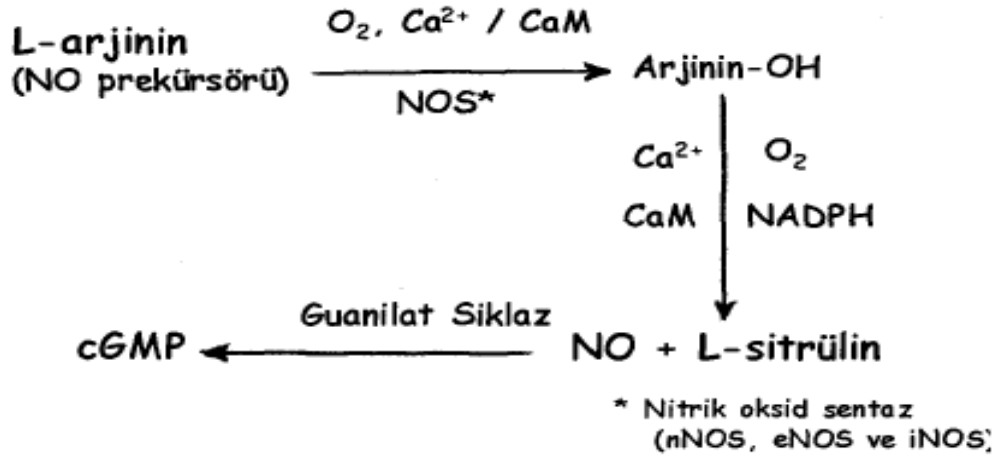
3.1.Nitrik Oksitin Sentezi

Nitrik oksit çeşitli hücre ve dokularda endotel hüre yüzeyine etki eden bir çok fizyolojik ve patolojik uyarılara cevaben küçük bir enzim ailesi olan nikrik oksit sentetaz (NOS) tarafından bir aminoasit olan L-argininden L-sitrülin oluşumu surasınca, L-arginin guanidin nitrojen grubunun hidroksilasyonu ile meydana gelmektedir [57, 58].

Bu tepkimeye moleküler oksijen, NADPH, NOS, kalmodulin ve dört kofaktör olarak bilinen nikotinamid adeninükleotid(NADP), flavin adeninükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN), tetrahidrobiopterin (BH₄)' ve indirgenmiş tiyol, hem molekülüne ihtiyaç vardır [58, 59].



Şekil: 2. Nitrik Oksit Oluşumundaki Kimyasal Reaksiyon [61].



Şekil: 3. Nitrik Oksit Sentezi [62].

Yukarıdaki reaksiyonla üretilen NO, hızla hemoglobin, metilen mavisi, süperoksit anyonu tarafından nötralize edilir veya 10 saniye içinde nitrit ve nitrate dönüşür [59].

NO klasik nöromediatörlerden farklı olarak nöronlarda veziküller içinde depo edilmez, üretilen NO hemen nöron dışına salıverilir ve lipofilik olması nedeniyle salıverildiği hücrenin çevresinde nispeten geniş bir alana yayılır; hücre ve sinir uçlarının içine kolaylıkla girerler [63, 64].

Presinaptik sinir terminalinden salınan glutamat, NMDA reseptörlerine bağlanarak bu reseptörleri aktive eder. Bu durum kalmodulin yolu ile Ca^{+2} , un hücre içine girişini sağlar. Ca^{+2} , NOS enzimini aktive eder ve NO sentezlenir. Üretilen NO presinaptik nörona geri dönerek guanilat siklaz ve c CMP yoluyla glutamat sentezini artırır [49].

Diğer taraftan hücre içi Ca^{+2} , düzeylerini artıran bileşiklerde (asetilkolin, histamin, bradikinin, A-23187, trombin, glutamat, P-maddesi, serotonin, noradranalin, tromboksan, A_2 , endotelin-1, ATP, anjiotensin- II vd) vasküler endotelyumda kalsiyuma bağımlı bir enzim olan e NOS enzimini aktive eder. NO, nitrejik nöronlarda, epitel hücrelerde ve çizgili kaslarda kalsiyuma bağımlı bir şekilde nöronal NOS' dan üretilip salıverilir. NO, ayrıca immunolojik sataşma sonucu Ca^{+2} , dan bağımsız olarak immün sistem hücreleri tarafından da üretilir ve bu hücrelerin selektif olmayan sitotoksik etkilere aracılık eder [51].

Ağızdaki bakteriyel flora tükürükte bulunan nitratı ve daha sonra nitrik oksite dönüştürebilir. Diğer taraftan tükürükteki nitritin yutularak mideye geçmesi sonucunda midenin asid ortamının etkisiyle NO açığa çıkar. Ayrıca iskemik ve hipoksik şartlarda hücre içi pH' nın aside doğru kayması yine nitriti NO' ya çevirebilir [51].

NO, biyolojik aktivitesini temel olarak iki mekanizma ile göstermektedir. Bu mekanizmalar;

1-NO aracılı siklik guanozin monofosfat (cGMP) bağımlı mekanizmalar: NO özellikle nöronlar ve damar düz kas hücre membranında bulunan guanilat siklazı aktive etmektedir. Guanilat siklaz ise GTP ' den bir ikincil haberci olan siklik GMP (cGMP) oluşumunu arttırır. cGMP kendine uyan (kas gevşemesi, sinapstan uyarı geçişi gibi) hücre içi prosesleri regüle eder. Böylece NO, guanilat siklaz aktivitesini etkileyerek damar dilatasyonu, sinirlerden uyarı geçişi gibi fonksiyonları gerçekleştirmektedir [51].

2-cGMP bağımsız mekanizmalar: NO, guanilat siklaz ve cGMP' den bağımsız olarak da bazı etkilere aracılık eder. iNOS ile salıverilen yüksek konsantrasyondaki NO tümör hücreleri üzerinde immun efektör molekül olarak bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [52].

3.2.NOS Enziminin İzofomları

Memelilerde NO sentezleyen üç değişik NOS enzim izoformu vardır. NOS, fiziko kimyasal ve kinetik özelliklerine göre konstitutif ve indüklenbilir olmak üzere iki guruba ayrılır. Tip I NOS (nöronal n NOS) ve Tip III NOS (endotelial-eNOS) genel olarak belirli hücrelerde konstitutif tarzda salgılanmaktadır. Üçüncü izoform olan Tip II NOS (uyarılabilen – iNOS) dur [65].

3.2.1.Nöronal NOS (nNOS Tip I)

Tip I (nNOS) genel olarak MSS' de, serebellum, ön beyindeki nöronlarda bazı otonom sinir uçlarında(non-adrenerjik.non-kolinerjik sinir uçlarından) ve bazı dokularda (akciğer, pankreas, mide ve uterus) haberci molekül olarak bulunan NO sentezinden

sorumludur. [51]. Bu izoenzime özgü genler kromozom 12. üzerinde bulunmuştur [66]. nNOS kalsiyum kalmoduline bağlıdır ve konstitutif tarzda salgılanmaktadır [61].

Travmatik veya iskemik depolarizasyon hücre dışı glutamat seviyeleri, N-metil-D-Aspartat(NMDA) reseptör aktivasyonu ile hücre içine Ca^{+2} akışını artırarak NO sentezinden Ca^{+2} gereksinimini karşılamaktadır [67].

nNOS' tan türeyen NO' nun glial hücrelerde interlekin 6 (IL-6) ve tümör nekroze edici faktör(TNF- α) gibi birkaç proinflamatuvar mediatörün transkripsiyonunu düzenlediği gösterilmiştir [68]. Hem ve demir gruplarının bağlanmasıyla nNOS monomerleri gevşek şekilde yapılar oluşturmaktadır. Hem' in bağlanmasından sonra hücre içi Ca^{+2} seviyesi artmaya başlar. nNOS protein kinaz C tarafından ve c GMP bağımlı protein kinazlar ayrıca Ca^{+2} /kalmodulin cAMP ile fosforilasyonu sonucu inaktive olmaktadır [69, 70].

Merkezi sinir sisteminde nNOS tarafından sentezlenen NO; denge, hafıza oluşumu, uyarı geçişi, koku alma gibi birçok fonksiyonları destekleyen bir nörotransmitter olarak fonksiyon görmektedir ve etki etmektedir [70]. Perifer sinir sisteminde ise nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinirleri etkileyerek vazodilasyon, solunum, genitaürener ve mide, bağırsak fonksiyonlarının regüle edilmesine katkıda bulunmaktadır [71].

Sinir sisteminde nNOS' un yanı sıra efektif ve toksik etkilere karşı oluşan glial aktivasyon durumunda oluşan iNOS' un ürettiği NO' in enfeksiyon ajanlarına karşı mücadelede önemli fizyolojik rol oynadığı tespit edilmiştir. Ayrıca NOS' un aktivasyonuna bağlı olarak oluşan NO' in çeşitli nörolojik hastalıklardan başta Alzheimer hastalığı olmak üzere Parkinson ve Multiple sklerozun patogeneziinde rol oynayabileceği düşünülmektedir [65].

3.2.2.Uyarılabilen (inducible) NOS (i NOS Tip II)

Tip II NOS olarak bilinen bu enzim in vitro endotoksin ve/veya sitokin uygulaması sonrasında nöronlar, düz kas hücreleri, endotelyum, astrositler, nötrofiller, makrofajlar, migroglialarda ve hemen hemen bütün çekirdekli hücrelerde yapılır ve salgılır. iNOS konstitutif tipin aksine hücre içinde bulunmaz. Ancak makrofajlar(monosit, nötrofil,

hepatositler ve diğeri) ve damar endotel hücreleri, spesifik stokinler(IL-1, TNF, IF- γ) ve endotoksinlerde uyarıldığı zaman, iNOS enzimi üretilir ve bir kez üretilince çok fazla miktarda NO sentezi gerçekleştirilmiş olur. iNOS izoformu NO üretimi için tetrahidrobiopterine' e(TBH) ihtiyaç duymaktadır. Kalmoduline çok sıkı bağlandığı için bu enzim kalsiyum bağımlı değildir. iNOS, bakteri lipopolisakkaritleri, proinflatuvar stokinler, interferon- γ veya konsantrasyonda lipopolisakkaritlerle uyarılan makrofajlar çok miktarda NO üreterek yabancı hücrelerde (bakteri, parazit, tümör hücresi), sitostatik ve sitotoksik etki meydana getirirler [52, 58, 73, 74].

İndüksiyon sonrası NO sentezi saatlerce hatta günlerce devam edebilir. Ancak uzun süreli ve aşırı NO sentezi makrofajlar ve diğeri dokularda da harabiyete yol açarak zarar verebilir. Enzim indikasyonu buna bağılı olarak da NO sentezi L- arginin analogları (IL-8, IL-10 ve TGF- β) ve glukokortikoidlerce yavaşlatılarak inhibe edilebilmektedir. Bu indüksiyon nonspesifik hücre immünitesi ile ilişkili bir mekanizmayla meydana gelmektedir [74]. Bu izoenzime özgü genler kromozom 17 üzerinde bulunmuştur. Makrofajlarda üretilen iNOS Ca^{+2} bağımsız olup etki süresince NO' yu nanomolar düzeyde üretmektedirler. Enzimin bu özelliklerinden dolayı indüklenebilir NOS veya kalsiyum bağımsız NOS olarak isimlendirilmiştir [52, 58, 75].

3.2.3. Edotelyal NOS (eNOS veya NOS III)

eNOS belirli hücrelerden konstitutif tarzda üretilerek, aktif hale gelmek için Ca^{+2} ile hem grubu ve NADPH 6(R)-5,6,7,8' in (BH₄)- flavin adeninükleotid ve flavinmononükleotid ile birleşesi gerekmektedir. Bu izoform hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonlarında artışa yol açan fizyolojik uyarılara, agonistlere bir cevap olarak daha az miktarda NO oluşumuna yol açmaktadır [61, 76].

eNOS sinir ve endotel hücreleri ile endokard, miyokard ve trombositlerde sürekli bulunur ve aralıklı olarak küçük miktarda NO üretilir. Bu izoenzime özgü genler kromozom 7 üzerinde bulunmuştur [66, 74].

eNOS, iki globüler protein molekülünden(redüktaz ve oksijenaz segmentleri) oluşmaktadır. Bu iki segment esnek protein yapısı ile bir birine bağlanmıştır. Oksijenaz segmenti, NO üretimi için gerekli olan katalitik merkezden oluşmaktadır. L – arginin,

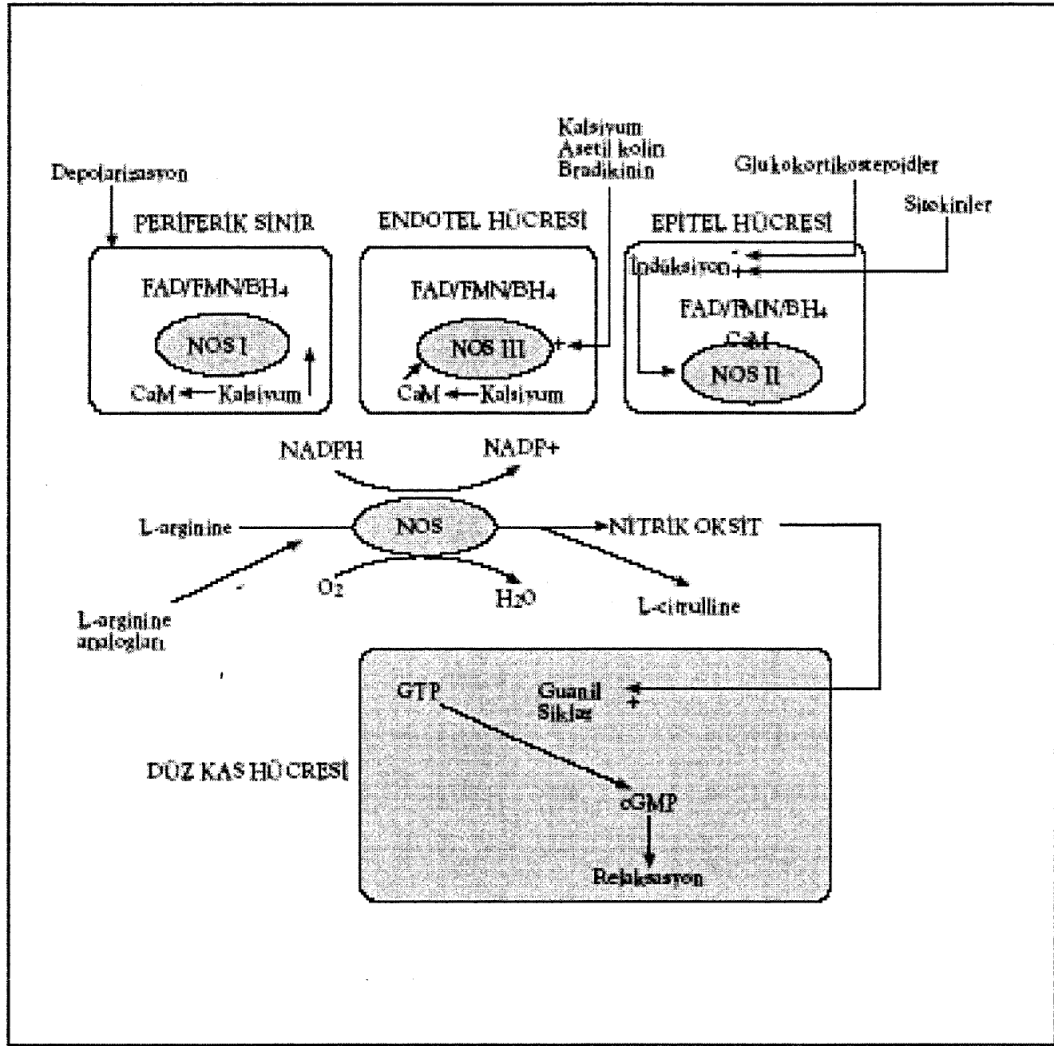
tetrahidrobiopterini (BH₄) bağlar. Redüktaz segmenti, NO sentezi için NADPH'a bağlanarak dehidrojenasyonu katalize etmek için gerekli elektronlar üretmektedir. Elektronlar esnek protein yapıdan oksijenaz segmentine transfer edilir. Bu elektron transferinin aktif hale gelmesi için kalmodulinin (CaM), esnek protein parçasındaki spesifik bağlanma bölgesine kalsiyum aracılığı ile bağlanmasıyla aktive olmaktadır. [77].

Ortamdaki kalsiyum artışı ile kalmodulin eNOS bağlanması uyarılır ve pikomol düzeyde NO sentezi gerçekleşir. eNOS tarafından sentezlenen NO hücre içi ve hücreler arası iletişimde (damar geçirgenliği gibi) fizyolojik olarak aracılık yapmaktadır. eNOS tarafından sentezlenen NO'nun üretimi kalsiyum bağlayan maddeler veya kalmodulin inhibitörleri ile inhibe edilebilir. Çeşitli agonistlerle (örneğin, β - agonistleri) oluşturulan pozitif inotropik etki eNOS aktivasyonu veya NO vericileri ile azalmaktadır [51, 78].

NOS izofor mu	salınım	kaynak	regulasyon	NO miktarı	Kromozom
Tip1 (nNOS)	sürekli	nöron	kalsiyum	Düşük (picomol)	12
Tip2 (iNOS)	indüklendiğinde	Makrofaj, damar düz kası, damar endoteli, hava yolu epitelyumu, immum hücreler, myokard	Stokin, endotoksin, oksidanlar	Yüksek (nanomal)	17
Tip3 (cNOS)	sürekli	Vasküler endotel hücreleri, trombosit, nötrofil	kalsiyum	Düşük (picomol)	7

Şekil.4. Nitrik oksit sentezleyen enzimler

NO: nitrik oksit, NOS: Nitrik oksit sentezleyen enzim, nNOS: nöronal NOS, iNOS : indüklenebilen NOS, eNOS: endotel kökenli NOS [66, 79]



Şekil.5. NO kaynakları ve sentezi [66, 79]

3.3. NO Salınımına Neden Olan Uyarıcılar

NO sentezi damarlarda başlıca kan akımı (shear stres) ile uyarılır. Kan damarlarında kanın akış hızının artması endotel hücreleri üzerinde mekanik bir kuvvet (shear stres) oluşturarak NO sentez ve salınımını artırmaktadır. Bu kan akımı (shear stres) potasyum kanallarının aktivasyonuna neden olarak hiperpolarizasyona, hiperpolarizasyon ise Ca^{+2} girişine neden olarak NO sentezini artırmaktadır. Ayrıca bunların yanında epinefrin, norepinefrin, histamin, vazopressin, asetilkolin, bradikinin, katekolaminler, histamin, serotonin, vazopressin, prostasiklin, ADP, ATP, klonidin, α -uyarıcılar, vazoaktif intestinal peptid, P maddesi, trombin, insülin, endotelin-1 ve 5- hidroksitriptamin, ilaç,

plalet aktive edici faktör, A-23187, tromboksan A₂ gibi moleküller endotel hücre reseptörlerine bağlanarak fosforilaz C enzimini aktive ederek Ca⁺² aracılığı ile e NOS enzim aktivasyonuna yol açarlar. Sonunda NO sentezini artırdığı ifade edilmektedir [51, 77, 80, 81]

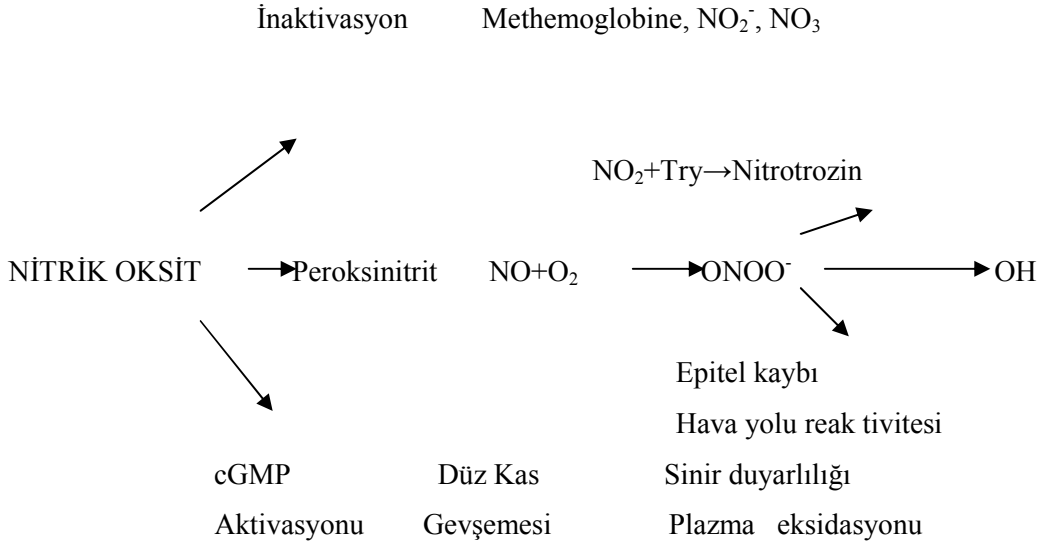
3.4.NO Donörleri(Vericileri)

NO vericileri; L-arginin, nitrogliserin, S, S' nitrozoditiyol, gliko- SNAP- 1, gliko- SNAP- 2, S- nitrozoglutasyon monoetil esteri, dephostatin, molsidomin, N^G- Hiroksil-L- argininmonoasetat tuzu, SNAP (S-nitrozo-N-asetilpenisilamin), SNOG, NOC- 5, NOC- 7, NOC- 9,NOC- 12, Na- nitropurrissid, streptozotosin, S-nitrozokaptopril, organik nitratlar, metal NO-kompleksleri, organik nitritler, N- hidroksil nitrozaminler, N-nitrozaminler, nitrozotiyoller, C-nitrozo bileşikleri, diazitin oksitler, nitrozoiminler, N-hidroksiguanidinler, oksimler, benzofuruksan ve furoksan olduğu belirtilmiştir [81, 82]

3.5. NOS' un İnhibitörleri

NOS' un inhibitörleri arasında substrat analogları (N^G-metil-L-arginin), BH₄ analogları (BH₂, 4-amino-BH₄), hem ligantları (CO, CN⁻, NO-imizidonoller), kalmodulin bağlayan antagonistler (EDTA, EGTA) ve NADPH analogları (difenilen iyodonyum, DPS) sayılabilir. Bunun yanında NO' nu üretilmesi için gerekli L-arginin analogları; L-NMA(monometil-L-arginin), L-NA(nitro-L-arginin), L-NAME(nitro-L-arginin metil esteri. L-arginin analogları olmayan; 7-NI(7-nitroindazol, bu madde daha çok nöronal NOS' u inhibe eder),L-NIO(iminoetil-Larginin), N(1-iminoetil)-l-lizin, L-arginin guanidin kısmına benzeyen markoptoetil guanidin, aminoguanidin,1400W, L-kanavanin(daha ziyade iNOS' u inhibe ederler) ve gukokortikoidler tarafından inhibe edilmektedir [51, 65, 81, 83].

3.6.Nitrik Oksit' in Yıkımı



Şekil :6. Nitrik oksit' in yıkımı [84].

Nitrik oksit oluştuktan sonra yarılanma ömrü çok kısadır, hızla methemoglobin, metilen mavisi, süper oksit anyonu tarafından nötralize edilmekte veya 10 saniye içinde nitrite (NO₂⁻) ve nitrata (NO₃⁻) dönüşerek inaktive olmaktadır [59].

NO; hem serbest radikaller hem de süperoksit tarafından hızla yıkılır. NO süperoksit anyonları (O₂⁻) ile birleşerek peroksinitrite (ONOO⁻) dönüşmektedir. Peroksinitrit, hidroksil radikalleri (OH⁻) ve trozinle (Tyr) birleşerek nitrotrozini oluştururlar. OH⁻ ve ONOO⁻ astım patogeneğinde rol oynayan moleküllerdir. Diğer taraftan NO oluştuktan sonra damar düz kasında "Guanilat Siklazı" aktive ederek cGMP düzeyini artırarak düz kas gevşemesine neden olmaktadır. Solunumla atılan nitrik oksidin potansiyel kaynaklar, pulmoner dolaşım alt ve üst hava yolları ve paranazal sinüslerdir. Diğer taraftan Süperoksit Dismutaz (SOD) gibi süperoksit anyon süpürücüler NO' nun yıkımını yavaşlatıp etkisini potansiyalize ettikleri belirtilmiştir [85, 86].

3.7.Nitrik Oksit' in Sinir Sistemindeki Rolü

NO santral ve periferik sinir sisteminde nonadrenerjik nonkolinerjik sinirlerde hem serbest radikali hem de nörotransmitter olarak işlev gören bir gazdır. NO santral ve periferik sinirlerde katekolaminkerin salgılanmasından sorumludur. NO hücre içi cGMP konsantrasyonunu artırarak fizyolojik etki yapmaktadır. Glutamat tarafından indüklenen sinirsel ileti işleminde NO' nun nörotransmitter olarak görev aldığı ispatlanmıştır [51, 74].

NO, merkezi ve priferik sinir sistemindeki nöron ve glial hücrelerde üretilmektedir. Nöronal NO stoplazmada çözünen bir diğer yapısal tip olan nNOS tarafından sentezlenmektedir [62].

NO, bir sinir hücresinden diğerine difüzyon yolu ile geçer ve kendi için aday bir reseptör bulmuştur. Ayrıca NO' nun sinaptik keseciklerde birikmemesi, ekzositoz yoluyla salınarak, hücre zarındaki reseptör proteinleri üzerine etki gösterir. NO bu özellikleri ile birçok nörotransmitterden farklıdır. Böylece atipik bir nörotransmitter olarak tanımlanarak ikincil mesajcı veya hormon olarak da kabul edilmektedir [87, 88].

NO'nun sentezi MSS'de NMDA reseptörlerinin Glutamat tarafından aktivasyonu ile gerçekleşmektedir. İnvitro spesifik resptör stimülasyonu sonrasında postsinaptik olarak NO salınarak presinaptik nöronları etkiler. Bu etki glutamat salınımını daha fazla arttırmakta ve sonuçta sinaptik geçiş artmaktadır. Glutamatın salgılanması NMDA reseptörlerini stimüle eder. Bu da ilişkili olduğu PSD95 proteini ile nNOS'u aktive ederek sentez edilen NO daha sonra üç boyutlu olarak dağılır ve monoaminerjik varikozitlere ulaşmaktadır [51].

NOS insan ve hayvanların beyin dokusunun her bölgesinde değişen oranda bulunmaktadır. NOS enzimi serebellum(bu kısımda en yüksek), hipokampus, striatum, orta beyin de yüksek oranda bulunurken, medulla oblangatada en düşük, korteks, hipotalamusda düşük oranda bulunmaktadır. NO' nun öğrenme ve bellekte en önemli rol oynayan LTP (longterm potentiation) (hipokampusta) ve LTD' ye (long-term depression) (serebellumda) neden olduğu kanıtlanmıştır. Glutamat, NMDA

reseptörlerini aktive ederek öğrenme ve belleğin temeli olan LTP' yi NO üreterek oluşturduğu belirtilmiştir [51].

NO beyin fonksiyonlarına doğrudan etki etmektedir. nNOS tarafından sentezlenen beyindeki NO, nöroprotektif, nöroplastite, immun yanıt ve serebral kan akımının düzenlenmesine ve hafıza oluşumuna etki etmektedir. En önemli etkileri; denge, ağrı duyusu, görme, bellek, öğrenme, uyanıklık, koku alma, besin ve sıvı alınımları, nörotransmitter salınımının düzenlenmesi, uyarı geçişi, anksiyetenin hafifletilmesi gibi birçok fonksiyonlarda rol aldığı bildirilmiştir [89, 90, 91].

3.8.NO' in MSS' deki Patolojik Rolü

Endojen NO toksik role sahiptir. NMDA gibi glutamat ve aspartat gibi uyarıcı aminoasitlerin normalden fazla salınımı konvilziyon ve nörotoksisiteye neden olmaktadır [72]. Bu aminoasitler tarafından reseptörlerin uyarılması sonucunda NOS aktif hale geçerek, serebral iskemi ve epilepsi gibi durumlarda aşırı NO sentezi ve nöronal defektlere neden olduğu ileri sürülmektedir. Ancak hala bu hipotezler tam olarak kanıtlanamamıştır [51, 52].

Otomik sinirlerde NOS aktivitesinin düzenlenmesinde ki rolü sonucunda, migren, baş ağrısı, hipertrofik pilorik stenozda ve erkeklerde erektil disfonksiyon açığa çıkan patolojik şartlarda önemli etki yapmaktadır [92, 93].

Travma, serebral iskemi ve nöronal hastalıklar gibi patolojik durumlarda eNOS ve cNOS' un arttığı; nöronal hastalıklarda da iNOS' un indüklendiği belirtilmiştir [69, 70].

NO bazı durumlarda glutamerjik uçları etkileyerek glutamat salıverilmesini azaltabilir ve LTP(long term potentiation) üzerinde negatif etki gösterdiği görülmüştür [62].

NO tek başına hem peroksinitrik oluşturarak hem de peroksit ile kombine olarak transmitter salınımı artışını etkileyebilir. Özellikle santral motor nöronların aktivitesini ve vagal stimulusya kardiyak cevabı arttırdığı tespit edilmiştir [74].

NOS enziminin inhibe olduğu durumlarda NO sentezinin azalmasıyla, oluşmasıyla ilgili aksamaların oluşması ve öğrenme fonksiyonunun bozulduğu gösterilmiştir [52].

NO' nun bellek, konvülsiyon, serebral iskemi, nosisepsiyon, öğrenme davranışı, retinada ışık sinyallerini iletme gibib olaylarda rol aldığı ortaya konulmaktadır. Özellikle son yıllarda NO' un depresyon, bipolar afektif bozukluklar, şizofreni, otoizm, migren gibi nöropsikiyatrik hastalıklardaki rolü araştırılmaktadır. Ayrıca beyinde mikroglial hücreler indüklenenbilen NOS' u (iNOS) sentez edebilmektedir. Bu mikroglial hücreler AIDS' de kafıza kaybı, Parkinson, Multipl skleroz ve alzheimer hastalığı patogenezinde rol aldığı ifade edilmektedir [51, 52].

4. MATERYAL VE METOT

4.1. Materyal

4.1.1. Denejde Kullanılan İnsan Materyali

Bu alışma sağlıklı ve Alzheimer hastalığı tanısı konmuş kişiler üzerinde yurutıldı. Araştırmada kontrol ve hasta grubu oluşturuldu. Araştırmaya başlamadan önce hastalar ve kontrol grubundaki deneklerle araştırma öncesi yuz yuze goruşmeler yapılarak, hasta ve kontrol grubundaki kişilere tum çalışma hakkında bilgi verildi.

Kontrol Grubu: Kontrol grubu yaşları 65 ve 79 arasında değişen çevremizde bulunan 15 gonullu kişiden oluşturuldu. Bu kişilerin yaşları ve cinsiyetleri benzerdi. Kontrol grubundan sabah a karnına kan örneklere alınmadan önce Standardize Mini Mental Test (SMMT) ve Klinik Demans Evreleme leği uygulandı.

Hasta Grubu: Hasta grubu Kafkas Unversitesi Tıp Fakultesi Nöroloji Kliniğine gelen Alzheimer teşhisi konulmuş, yaşları 65 ve 79 arasında değişen 15 kişilerden temin edildi. Hastaların yaşları ve cinsiyetleri benzerdi. Hastaların yaşları ve cinsiyetleri benzerdi. Hastalardan sabah a karnına kan örneklere alınmadan önce Standardize Mini Mental Test (SMMT) ve Klinik Demans Evreleme leği uygulandı.

4.1.2. Kan örneklere alınması

Hasta ve sağlıklı grup belirlendikten sonra Vena jugularis'ten 10 ml'lik EDTA'lı tüplere alındı. Kan örneklere alınır alınmaz 3500 rpm'de 5 dakika santrifuj edilerek üstte kalan plazma kısmı kapaklı polipropilen tüplere alındı. Analizler yapıncaya kadar plazmalar -20 0C'de saklandı.

4.1.3.Kan Nitrat ve Nitrit Düzeylerinin Ölçülmesi

4.1.3.1.Analizler İçin Kullanılan Cihazlar

- Mikroplak okuyucu (Moleküler Devices)
- Spectrofotometre (Biyo Tek Power Wise XS)
- Santrifuj (electro-mag)
- Etüv (Nüve)
- Su banyosu (SB100, Nüve)
- Manyetik karıştırıcı (Labinco-532)
- pH metre (Consort C 732)

4.1.3.2.Analizler İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Çinko Sülfat ($ZnSO_4$)
- Sodyum Hidroksit (NaOH) (Merck)
- Vanadyum (III) klorür (VCL_3) (Merck)
- -N-(1-Naftil)etilendiamin dihidro klorür (NEDD) (Merck)
- Sulfanilamid (SULF) (Lancaster)
- Sodyum Nitrit ($NaNO_2$)
- Sodyum Nitrat ($NaNO_3$)

4.1.3.3.Plazmada Nitrik Oksit Tayini

Nitrik oksit düzeyleri Miranda ve ark.,(2001)' nın bildirdikleri yöntemle kolorimetrik olarak tayin edildi [94].

4.1.3.4.Deneyin Prensibi

Nitrat, vanadyum (III) klorür ile nitrite dönüştürülür. Nitritle sülfanilamidin asidik ortamda N-(1- Naftil) etilendiamine dihidroklorür ile reaksiyonu sonucu kompleks ve renkli diazonyum bileşiği oluştu. Oluşan bu renkli kompleks 540 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüldü.

4.1.3.5.Deneyde Kullanılan Çözeltiler

Çinko Sülfat (% 10): Distile suda, 10 g çinko sülfat çözdürülerek hacim 100 ml' ye tamamlandı.

Sodyum Hidroksit (0.3 M): Distile suda, 1.2 g sodyum hidroksit çözdürülerek hacim 100 ml' ye tamamlandı.

Vanadum (III) Klorür(% 0.8): 1 M HCl (hidroklorik asit) 'de, 800 mg vanadyum (III) klorür çözdürülerek hacim 100 ml' ye tamamlandı ve katı partiküller filtreyle uzaklaştırıldı.

Sülfanilamid (%2): % 5'lik HCl' de 2 g sülfanilamid çözdürülerek hacim 100 ml' ye tamamlandı.

NEDD(% 0.1): Distile suda, 100 mg N-(1-Naftil) etilendiamine dihidroklorür çözdürülerek hacim 100 ml' ye tamamlandı ve katı partiküller filtreyle uzaklaştırıldı.

Gries Ayıracı: 50 ml % 0.1 NEDD ve 50 ml % 2 sülfanilamid eşit miktarda karıştırıldı.

Stok Nitrik Çözeltisi (1 mM): Distile suda, 0.0069 g NaNO₂ çözdürülerek hacim 100 ml' ye tamamlandı.

Stok Nitrat Çözeltisi (1 mM): Distile suda, 0.0085 g NaNO₃ Çözdürülerek hacim 100 ml' ye tamamlandı.

Çalışma Standartlarının Hazırlanması: 1000 µM'lık stok nitrit ve nitrat çözeltilerinden 200- 100- 50- 25- 12.5-6.25- 3.125 µM'lık çalışma standartları hazırlanarak kalibrasyon eğrisi çizildi.

2.1.3.6.Numunelerin Deproteinize Edilmesi:

400 µl serumun üzerine 200 µl 0.3 M NaOH ilave edilerek vortekslendi ve 5 dakika beklendikten sonra 200 µl % 10' luk ZnSO₄ eklenerek tekrar vortekslendi. Numuneler 1400 rpm' de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki berrak sıvı analiz için ayrıldı.

4.1.3.7.Nitrat Analizlerinin Yapılışı:

Mikroplak kuyucuklarına 100µl nitrat standartları ve numuneler pipetlendi. Tüm kuyucuklara 100µl VaCl₃ konuldu. Hemen arkasından da 100 µl griess ayırıcı pipetlendi. 30 dakika 37 °C' de etüvde inkübe edildikten sonra absorbanlar 540 nm dalga boyunda okundu.

4.1.3.8.Nitrit Analizlerinin Yapılışı :

Mikroplak 100µl nitrit standartları ve numuneler pipetlendi. Hemen arkasından da 100 µl griess ayırıcı pipetlendi. 30 dakika 37 °C' de etüvde inkübe edildikten sonra absorbanlar 540 nm dalga boyunda okundu.

4.1.3.9.Sonuçların Hesaplanması:

Kalibrasyon eğrisine bakılarak bulunan nitrat ve nitrit konsantrasyonları toplandı ve NO konsantrasyonu bulundu.

Nitrik Oksit (μM)=Nitrat(μM) + Nitrit(μM)

4.1.4. İstatistiksel Analizler

Kontrol grubu ve deney grubu arasındaki fark SPSS 16,0 yazılımı kullanılarak One sample t-test ile analiz edildi. NO analiz sonucu $p<0,01$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

5.BULGULAR

Çalışmamızda Alzheimer hastalığı olan grup ile sağlıklı grup karşılaştırıldığında, sağlıklı grupta NO değeri $28,70 \pm 1,79 \mu\text{M}$, hasta grupta ise $33,52 \pm 4,56 \mu\text{M}$ olarak tespit edilmiştir.

Alzheimer' lı grubun kan plazma NO düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p < 0,01$) göstermiştir.

Kontrol ve deney gruplarının plazma NO düzeylerinin istatistiksel kıyaslaması ortalama, standart hata ve gruplar arasındaki önemi çizelge 1' de görülmektedir.

Çizelge 1. Konrol ve Hasta grubu plazma NO düzeyleri istatistiksel kıyaslaması

Grup Kıyaslamaları	Standart Hata	Ortalamalar Arası fark	% 95 Güven Sınırı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
A	0,44862	28,70329	27,7471	29,6595
B	1,14179	33,52940	31,0957	35,9631

A: Kontrol grubu

B: Hasta grubu

Kontrol ve deney gruplarının plazma NO düzeylerinin ortalama ve standart sapma gruplar arasındaki önemi çizelge 2’de sunulmuştur.

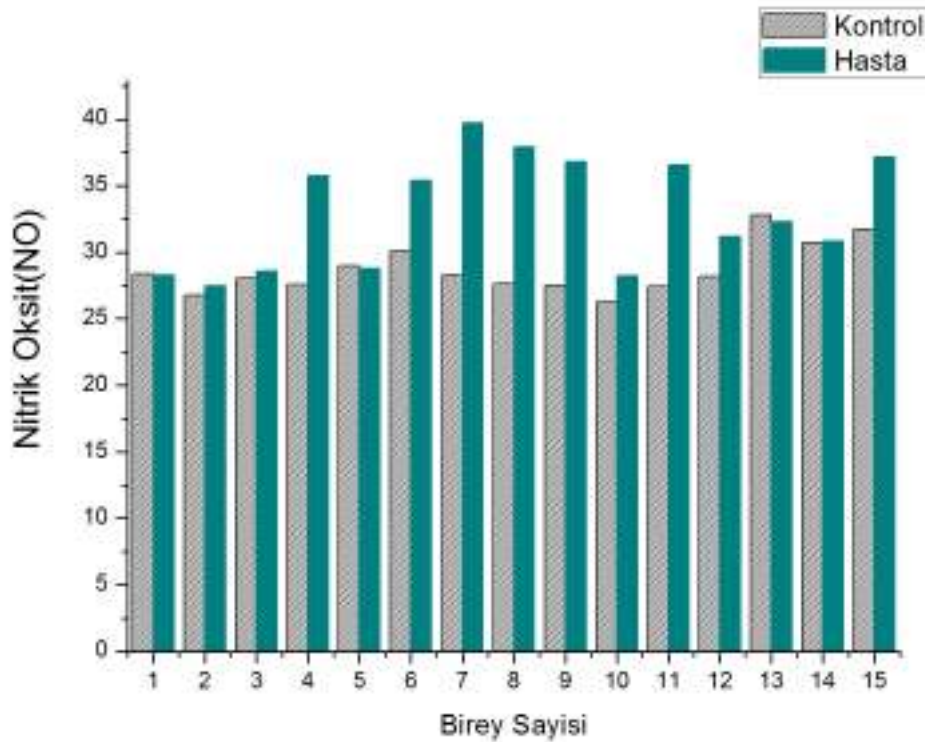
	n	Kontrol X± SD	Deney X± SD
NO($\mu\text{mol/ml}$)	15	28,70 \pm 1,79	33,52 \pm 4,56

Çizelge 2. Gruplardaki plazma NO değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

n:Her gruptaki birey sayısı

X± SD: Ortalama \pm Standart sapma

Ayrıca gruplar arası NO düzeylerinin grafiksel olarak değişimi ise Şekil 7’de gösterilmiştir.



Şekil 7. Kontrol ve deney gruplarına göre NO düzeyleri

6.TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde insanların ortalama yaşam süresinin uzamasına paralel olarak yaşlılarda görülen sağlık sorunlarının prevalansında da artış görülür. Alzheimer hastalığıda bu sağlık sorunlarından biri olmakla beraber yaşlı nüfusunun büyük çoğunluğunu etkileyen ilerleyici bir demanstır [95, 96].

Alzheimer hastalığı yaşlılarda görülen en yaygın nörodejeneratif hastalıklardandır. Hastalık bir kez oluştuktan sonra yerine yenisi konamayan beyin hücrelerinin ölümüne neden olan sonra ilerleyici olarak devam eden ve sonuçta hastanın en temel ihtiyaçlarını bile yapamayacağı ağır bir evre ve ölümle sonlanmaktadır [95, 96].

Bugün dört milyon Amerikalı (75 ile 84 yaş arasındaki her 5 yaşlıdan biri, 85 ve üstü yaşa sahip olanların yarısı) bu hastalığın etkisi altında bulunmaktadır. Her geçen gün bu sayı, nüfusun yaşlanmasına paralel olarak giderek artmaktadır. İnsan ömrünün her geçen gün uzadığı göz önünde bulundurulursa, önümüzdeki on yıl içinde bu sayının altı milyona, 2050 yılında ise on dört milyona çıkacağı ifade edilmiştir [1].

Dünyada yaklaşık 24,3 milyon demans hastası olduğu ve her sene 4,6 milyon yeni olgu eklendiği ortaya konulmuştur. Buda her 7 saniyede bir hasta eklendiği anlamına gelmektedir. Her 20 yılda 2'ye katlanan hasta sayısının, 2040 yılı itibariyle 81,1 milyon olması beklenmektedir [11].

Alzheimer hastlığının etyopatogenezinde fizyolojik, sosyal, çevresel, genetik, biyokimyasal ve diğer faktörlerin rol oynayabildiği düşünülmektedir. Son zamanlarda çalışmalar bu hastalığın etyopatogenezinde biyokimyasal işlemlerin aydınlatılmasına yöneliktir [5, 6].

Alzheimer hastalığının serbest radikal oluşumuna neden olduğu postmortem beyin dokularında yapılan incelemelerde gösterilmiş [5, 6]. Bu çalışmada da Alzheimer hastalarının plazmasında NO düzeyleri yüksek bulunmuştur.

Bugün çalışmalar hızla devam etmektedir. Yapılan çalışmalarda çözümlü özellikli A β agregatları nöronal membrana girerek lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, ROS ve reaktif nitrojen ürünleri oluşumuna yol açtığı, A β nitrik oksit sentezini artırdığı, oluşan nitrik oksit mitokondrilerden sızan süperoksit radikalleri ile hızlı bir şekilde reaksiyona girerek peroksinitrit açığa çıkardığı, peroksinitrit sinaptik terminalde oksidatif hasar oluşumuna katkıda bulunduğu bildirilmiştir [7].

Bizim çalışmamızda da, hasta grupta NO değerinin yüksek tespit edilmiş olması beyinde oksidatif hasar oluşumu ile ilgili olabilir.

Yüksel ve ark.(2002) yaptığı çalışmada sıçan beyninden elde edilen canlı hipokampal kesitler 20 gün süreyle kültür ortamında takip edilmiş ve ardından kültür ortamına kolşisin (10mM) ve lumikolşisin(10mM) eklenerek NO ölçülmüş. Sonuçta kolşisin uygulanan organotipik kesit kültürlerinden NO salınımının, lumikolşisin grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. [97]. Kolşisin uygulanan grupta NO salınımının yüksek olması bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Bu durumda kolşisinin aksonal transportu engellemesiyle birlikte nöronlarda nitrik oksit sentetaz (NOS) aktivasyonuna bağlı olarak NO salınımı artırdığı söylenebilir

Bir diğer çalışmada (Lumne ve ark.(1997)) hipotalamik nukleusta, NOS ekspresyonunu aksotomi ve kolşisin uygulaması sonrasında incelemiştir. Aksonal hasar oluşturulduktan sonra, hipotalamik majör nörosekratuvar nukleusta nöronel NOS(n NOS) ekspresyonunun arttığı gözlemlenmiştir [98]. Hipotalamik majör nörosekratuvar nukleusta nöronel NOS(n NOS) ekspresyonunun artması bizim çalışmamızla benzerlik gösterdiği, aksonal hasar oluşturulmasıyla NOS ekspresyonunun attığı ve buna bağlı olarak NO düzeyinin arttığı kanısına varabiliriz.

Selley (2002)'in yaptığı çalışmada 25 Alzheimer'in hastası ve 25 kontrol grubu için plazma homosistein, ADMA(Asymmetric dimethylarginine) ve nitrik oksit değerlerini analiz etti. Hasta grupta kontrol grubuna göre plazma homosisteini anlamlı olarak yüksek bulurken ADMA ve Nitrik oksitin plazma konsantrasyonunu düşük bulmuştur [99]. Plazma NO konsantrasyonunun düşük bulunması bizim çalışmamızla farklılık göstermektedir. Bu durumda Alzheimer hastalarında sağlıklı insanlara oranla NO

konsantrasyonunu düşük bulunmuş olması hastalığın erken safhasında olması ihtimalini yüksek tutmaktadır.

Ferna'ndez-Vizarra ve ark (2003)' nın yaptığı bir çalışmada Alzheimer hastalarının ölüm sonrası beyinlerinin korteks kısmından alarak NOS izoformları olan (nöronal n NOS) n NOS, (indüklenebilir n NOS) i NOS ve nitrozin- nitrat değerlerini analiz etti. Sonuçta nöron ve glial hücrelerde, nNOS, iNOS ve nitrotyrosine immunoreaktiviteleri görüldüğü kaydedilmiştir [100].

Wong ve ark. (2001)'nin kontrol ve Alzheimer hastalarında yaptığı bir çalışmada Alzheimer hastalarının nöronlarında yayılmış miktarda iNOS bulmuşken, kontrol bireylerde bulunmamıştır [101].

Lüth ve ark.(1999)'ı normal beyin ve Alzheimer' lı beyinde NOS ekspresyonlarını incelemiştir. Sonuçta normal beyin korteksinde nNOS ve iNOS sınırlı miktarda bulunurken Alzheimerli beyin korteksi etkilenmiş olup nNOS ve iNOS yayılmış olduğunu göstermişlerdir [103].

NO değerleri yapılan incelemerde Alzheimer hastalarında sağlıklı insanlara oranla bazen yüksek bazen düşük bulunmuştur. Bu durum hastalığın erken safhasında olması ihtimalini yüksek tutmaktadır [97, 99, 101].

Sonuç olarak yaptığımız çalışmada Alzheimer hastalarında NO düzeyi yüksek saptanmıştır. AH' da artmış NO düzeyinin beyin öğrenme ve hafıza kısmı ile ilgili olan nNOS ve iNOS tarafından artmış olabileceği kanısına varılmıştır. Konunun tam olarak aydınlatılması için denek sayısı artırılması ve NO salan faktörlerin bilinmesi ve kontrol edilmesi gerekir.

7.KAYNAKLAR

- [1] Altan, N., Koca, C., “Alzheimer Hastalığı’nda Biyokimyasal Mekanizmalar”, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Ankara T Klin J Neur 2003.
- [2] Ünlü Akalın, H., Altındaş, H., vd, 2004. “Alzheimer Hastalarının Lenfositlerinde rRNA İfadelenmesinin Araştırılması”, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (E.Ü.Journal of Health Sciences) 13(1) 43-47.
- [3] Topçuoğlu, E.S., Selekler, K., 1998. “Alzheimer Hastalığı”, Turkish Journal of Geriatrics Geriatri 1(2):63-67.
- [4] Price, DL., Aging of the brain and demantia of the Alzheimer type. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM, Principals of Neural science 4th ed. McGraw-Hill, New York, 1149-1161, 2000.
- [5] Smith MA, Rottkamp CA, et al, Oxidative stress in Alzheimer’s disease. Biochim Biophys Acta. 1502: 139-44 (2000).
- [6] Markesbery, WR. , “Oxidative Stres Hypothesis in AD”, Free Radic Biol Med. 23:134-147 (1997).
- [7] Bulut, S., “Alzheimer Hastalığı’nda Oksidatif Stres”, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji AD, Elazığ, T Klin Nöroloji, 2003.
- [8] Koçer, B., Nazlıel. B., “Alzheimer Hastalığı’nda Genetik Faktörler” T Klin Nöroloji, 2003.
- [9] Sezer, C., Memiş, L., 2001. “Alzheimer Hastalığı Histopatolojisi” Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Ankara Demans Derg. 1: 42-49
- [10] Rocca, WA., Hofman, A., et al “Frequency and Distribution of Alzheimer’s Disease in Europe: a collaborative study of 1980-1990 prevance findings The EURODEM Prevalence Research” Group Am.nevrol, 30(3): 381-90 (1991).
- [11] Selekler ,K., 2007. “Alzheimer Hastalığında Koruyucu Faktörler Var Mı”, Turkish journal of Geriatrics Geriatri 10(2) 88-99.
- [12]Yalgın, Ç., “Alzheimer Hastalığında Kolinomimetik Tedavisi” Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2001.
- [13] Selekler, K. , 1998. “Alzheimer Hastalığı” Posyon Dergi Cilt7, Sayı 2.
- [14] Selekler, K., “Alzheimer Hastalığı: Patoloji, Klinik, Tanı ve Ayırıcı Tanı. Modern Tıp Semineri.26. Alheimer ve diğer demanslar”. Ed. Kaynak Selekler: Güneş Kitabevi Ltd. Şti, Ankara, 2003.

- [15] Elwani, O., Madkour, O., et al, "Brain Aging in Normal Egyptians: Cognition, Education, Personality, Genetic and Immunological Study", *J Neurol Sciences*, 211,15-22 (2003).
- [16] Karaman, Y., Alzheimer hastalığı ve diğer demenslar. 1. baskı. Ankara, Lebib Yalkın Matbağası, 2002.
- [17] Hendrie, HC., Epidemiology of Alzheimer's disease. *Geriatrics*, 328:203-205 (1997).
- [18] van Duijn, CM., Clayton, D., et al, Familial aggregation of Alzheimer's disease and related disorders: a collaborative re-analysis of case-control studies. EURODEM Risk Factors Research Group. *Int J Epidemiol*. 20 Suppl 2:S13-20 (1991).
- [19] Mehta, KM., Ott, A., et al, Head trauma and risk of dementia and Alzheimer's disease: the Rotterdam Study. *Neurology*, 53(9):1959-1962 (1999).
- [20] Bierman, E.J.M., Comijs, H.C., et al. "Effects of Anxiety Versus Depression on Cognition in Later Life", *American Journal of Geriatric Psychiatry*, 13(8): 686-693 (2005).
- [21] Kurt, G.S., Bora Tokçaeer, A., vd, "Alzheimer Hastalığı'nda Genetik Dışı Etyolojik Faktörler" *T Klin Nöroloji* 2003.
- [22] den Heijer, T., Geerlings, MI., et al. Higher estrogen level are not associated with larger hippocampi and better memory performance. *Arch Neurol* 60:213-220 (2003).
- [23] Ott, A., Stolk, RP., et al, Diabetes mellitus and the risk of dementia. The Rotterdam study. *Neurology* 13: 159-165 (1999).
- [24] Schupf, N., Kapell, D., et al, Increased risk of Alzheimer's disease in mothers of adults with Down' sendrome. *Lancet* 344: 353-356 (1994).
- [25] Whitmer RA, Gunderson EP., et al. Obesity in middle age and future risk of dementia: a 27 year longitudinal population based study. *BMJ* 330:1360-1362 (2005).
- [26] Akkuş, İ., "Antioksidan Savunma Sistemleri, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri", Mimoza Basımevi, 1995.
- [27] Karaman, Y., 2005. "Yaşlılıkta ve Demanslarda Plazma Homosistein, B vitaminleri Seviyeleri ve Nörokognitif Fonksiyonlar ile İlişkisi", *Turkish Journal of Geriatrics*; 8 (3): 158-164.
- [28] İbrahim, E. , "Alzheimer Hastalarında Kan B₁₂ Vitamini, Folat ve Homosistein Seviyeleri", *Psychiatry in Türkiye / Volume 9 - Number 3*, 2007.

- [29] Bora Tokçaer, A., “Alzheimer Hastalığı’nda Hormonlar ve Menopoz” Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji AD, Ankara, T Klin J Neur, 2003.
- [30] Özbabalık, B. D., 2007. “Alzheimer Demans ve Serebral İskemi”, Türk Serebrovasküler Hastalıklar Dergisi 13:2; 33-35.
- [31] Sevim, S. , Ünal, Ö., vd, 2007. “Normalden Farklı Bakır ve Çinko Düzeyleri Alzheimer Hastalığı İçin Bir Belirteç Olabilir Mi?” Journal of Neurological Sciences [Turkish] 24:(3) 12;197-205.
- [32] Pratico, D., “Alzheimer’s Disease and Oxygen Radicals: new insight”. Biochemical pharmacology. 63: 563-567 (2002).
- [33] Butterfield, DA., Lauderback, CM., “Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer’s disease brain: potential causes and consequences involving amiloid β -peptide associated free radical oxidative stres”, Free Rad Biol Med. 32(11): 1050-1060, 2002.
- [34] Mesulam, MM., “Principles of Behavioral and Cognitive Neurology”, New York, Oxford University Pres; s439–522, 2000.
- [35] Weingarten, M.D., et al., “A Protein Factor Essential for Microtubule Assembly”. Proc Natl Acad Sci U S A, 72(5): p. 1858-62 (1975).
- [36] Öktem, Ö., “Alzheimer Hastalığının Erken, Orta ve İleri Dönemlerinde Genel Kognitif Profil”. N, editörler. Beyin ve Nöropsikoloji. Ankara: Çizgi Yayıncılık, 2003.
- [37] Selekler, K., 2004. “Alzheimer Hastalığının Öncesi: Hafif Kognitif Bozukluk”, Hacettepe Tıp Dergisi; 35:199-206, Cilt 35, Sayı: 4
- [38] Terry, R.D., Katzman, R., et al., “Alzheimer Disease”, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, (2nd edition). Çev edi: Doç. Dr İ. Hakan Gürvit Yelkovan yayıncılık syf: 11–25, 1999.
- [39] Baysal, Aİ., Yeşilbudak Z., 2003. “Alzheimer Hastalığı’nın Klinik Bulguları”, Nöroloji. Türkiye Klinikleri. 1(1):1-5.
- [40] www.gata.edu.tr “Yaşlılarda Demans ve Alzheimer Hastalığını Ne Kadar Biliyoruz?”, Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi Gata Geriatri BD (Erisim tarihi: Subat 2009).
- [41] Uysal Tan, F., Akbostancı, M.C., 2001. “Demanslarda Klinik Ayırıcı Tanı”, Demans dergisi;1: 15-25.
- [42] Gökçora, N., Akdemir. Ö., 2002. “Demansın Değerlendirilmesinde Nükleer Tıp Yöntemleri”, Demans Dergisi; 2: 11-16.

- [43] Başgöl, E., Karagoz, K. , 2006. “Alzheimer Hastalığı ve Anestezi”,Anestezi Dergisi; 14 (4): 228 – 231.
- [44] www.hacettepe.edu.tr Çalış. Ü. , “Alzheimer Tedavisinde Kullanılan İlaçlar” (Erisim tarihi: Mayıs 2010).
- [45] Çelik, T., Uzbay, T., 2003. ”Alzheimair Hastalığının Farmokolojik Tedavisinde Yeni Gelişmeler” Demans Dergisi; 3:48-58.
- [46] Ignarro, LJ., Buga, GM., et al., “Endothelium-Derivied Relaxing Factor Produced and Released From Artery and Vein is Nitric Oxide. Proc Natl Acad Sci; 84: 9265-9 (1987).
- [47] Palmer, RMJ., Ashton, DS., et al, “Vascular Endothelial Cells Synthesize Nitric Oxide From L-Arginine. Nature; 333: 664-6 (1988).
- [48] Nussler, AK., Billiar, TR., Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. J Leukoc Biol;54(2):171-8. (1993).
- [49] Moncada, S., Palmer, R., et al, “Nitric Oxide: Physiology Pathophysiology and Pharmacology”, Pharmacol Rev; 43:109-142 (1991).
- [50] Lowenstein, CJ., Dinerman, JL., et al, Nitric oxide: A physiologic messenger. Ann Intern Med;120: 227-37 (1994).
- [51] Büyükavşar, K., “Nitrik Oksidin Farmokolojisi, Nitrik Oksidin Fizyolojik ve Patofizyolojik Olaylardaki Rolü ”Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Türk Farmokoloji Derneği, Farmokoloji Eğitim Sempozyumları Programları, 2005.
- [52] Türköz, Y. , Özerol, E. , “Nitrik Oksit’in Etkileri ve Patolojik Roller”Journal of Turgut Özal Medical Center 4(4):1997.
- [53] Perk C., Şaroğlu M., vd., “Serum Nitrik Oksit Seviyesi Deri Transplantasyonu Sonrasında Akut Rejeksiyonu Gösteren Bir Kriter Olabilir Mi?” Veteriner Fakültesi Cerrahi ve Morfoloji AD 2002.
- [54] Hakim, T.S., Sugumari, K., et al, “Half Life of Nitrik Oxide in Aqueous Solutions With And Without Hemoglobin”, Pphysiol Meas;17:267- 277 (1996).
- [55] Wink, DA. ,I.Hanbauer, MB., et al ” Chemical Biology of Nitric Oxide: Regulation and Protective and Toxic Mechenisms”, Curr.Topp. Cell. Regul, 34, 159-187 (1994).
- [56] Güray, A., Samancı, N., vd., 1997. “Nitrik Oksit Fizyolojisi ve Klinik Önemi”, T Klin J Med Sci; 17 : 115-119.

- [57] Arto, K., Avela, K., et al, "The Calcium-Dependent Nitric Oxide Production of Human Vascular Endothelial Cells in Preeclampsia". *Am J Obstet Gynecol*; 174 : 1056-1060 (1996).
- [58] Kuyumcu, A., Polat, Düzgün, A., vd, 2004. "Travma ve Enfeksiyonda Nitrik Oksidin Rolü", *Ulus Trama Derg*; 10(3):149- 159.
- [59] Anggard, E., "Nitric oxide; Imediator, Murderer and Medicine" *Lancet*, 343:1199-1206 (1994).
- [60] Ülker, M., Dayan, C., 2006. "İskemik Serobrovasküler Hastalıklarda Serum Nitrik Oksit Düzeylerinin İnme Alt Tipleri ve Lezyon Büyüklüğü ile İlişkisi", *Journal of Turkish Cerebrovascular Diseases*, 12: 1; 15- 20.
- [61] Burgner, D., Rockett, K., et al "Nitric Oxide and Infectious Diseases".*Arch Dis Child*, 81: 185-188 (1999)
- [62] Marangoz. C., 1996 "Nitrik Oksit ve Epilepsi", *OMÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 13(3): 165-183.
- [63] Kennedy, MB., "The Biochemistry of Synaptic Regulation in the Central Nervous System".*Ann Rev Biochem*. 63:571-600 (1994).
- [64] Rand, MJ., Li, CG., "Nitric Oxide As A Neurotransmitter in Peripheral Nerves: Nature of Transmitter and Mechanism of Transmission". *Ann. Rev. Physiol*. 57:659-682 (1995).
- [65] Aladağ, MA., Türköz, Y., vd, 2000. "Nitrik Oksit ve Nörofizyopatolojik Etkileri", *T Klin JMed Sci*,20: 107- 111.
- [66] Marsden, PA., Heng, HHQ., et al. "Structure and Chromosomal Localization of The Human Constitutive Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene", *J Biol Chem*; 268: 17 478- 88 (1993).
- [67] Köse, T., "Deneysel Diffüz Beyin Hasarında Nitrik Oksit Sentetaz İnhibitörü Aminoguanidin'in Etkileri", *Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel ÜniversitesiTıp Fakültesi*, 2006.
- [68] Takahashi, H., Nakanishi, T., et al "Measurement of Serum Levels of Nitrate Ions in Men And Women : Implications of Endothelium-Derived Relaxing Factor in Blood Pleasure Regulation And Atherosclerosis",*J Cardiovasc Phormocol*,12:214-216 (1992).
- [69] Dawson, TM., Dawson, VL., " Nitric Oxide Synthase: Role As A Transmitter/Mediator in Brain and Endocrine System". *Ann.Rev.of.Med*. 47:219-227 (1996).

- [70] Dawson, VL. , Dawson, TM., “ Nitric Oxide Neurotoxicity”.J Chem.Neuroanatomy 10:179-190 (1996).
- [71] Dawson, TM., Dawson, VL., et al, “Anovel Neuronal Mesenger Moleküle in Brain: The Free Radical, Nitric Okside, Ann Neurol .;32:297-311 (1992)
- [72] Tottrup, A., Glavind, EB., et al, “Involvement of Tde L- Arginine- Nitric Oxide Pathway in Internal Analspincter Relaxation, Gastroentology,102;409- 15 (1992).
- [73] Cendan, JC., Topping, DL., et al. “Inflammatory Mediators Stimulate Arginine Transport and Arginine-Derived Nitric Oxide Production in A Murine Breast Cancer Line”. J Surg Res. USA;60(2): 248- 88 (1996).
- [74] Oktar, S., “Klonidin’in Nitrik Oksit Sentaz (NOS) İnhibisyonu Aracılı hipertansiyon, Vasküler Alfa Adrenerjik Reseptörlerin duyarlılıkları ve plazma Nitrit/Nitrat (NOx) Düzeylerine Etkilerinin Arastırılması”Tıpta Uzmanlık Tezi Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2007.
- [75] May G.R, Crook P., et al., “The Role of Nitric Oxide As an Endogenous Regulator of Platelet and Neutrophil Activation Within The Pulmonary Circulation of The Rabbit”. Br J Pharmacol 1991; 102: 759-763
- [76] Andrew, JM. , “Merchanism of Dysfunction of The Nitric Oxide Patway in Vasküler Disease”, nitric oxide: biology and chemistry 2: 101-124 (2002)
- [77] Erdoğan, F., “Metabolik Sendromda Endotel Disfonksiyonu ve Ateroskleroz Riski Arasındaki İlişkinin Oksidatif Stres ve Nitrik Oksit Metabolizması Üzerinden Değerlendirilmesi”, Uzmanlık Tezi, Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2007.
- [78] Stuer, JD., “Mammalian Nitric Oxide Syntases”, Biochimica et Biophysica acta, 1411:217-230 (1999).
- [79] Guilinger, RA, Paradis, IL, et al, “The Importance of Bronchoscopy With Transbronchial Biopsy and Bronchoalveolar Lavage in The Management of Lung Transplant Recipients”. Am J Respir Crit Care Med; 152:2037-43 (1995).
- [80] Engin, D. , Baysal, V. , 1997. “Serbest Radikaller ve Deri” Selçuk Üniv. Tıp. Fak. Derg. 13(3):213-219.
- [81] www.ctf.edu.tr/farma/no.pdf, “**NO donörleri / İnhibitörleri**” (Erisim tarihi: Mart 2010).
- [82] Wang, PG. , Xiami M. , et al, “Nitric Oxide Donors: Chemicals Activites and Biological Applications”, Chem. Rev,102:1091-1134 (2002).

- [83] Kinz, J., "Initial Lesions of Vasküler Aging Disease (arteriosclerosis).", *Gerontology*,; 46:245-300 (2000).
- [84] Avander, Vliet., J P, Eiserich., et al, "Nitric Oxide: A Pro-Inflammatory Mediator in Lung Disease?" *Respir Res*, 1:67-72 (2000).
- [85] Jang, AS., Choi, IS., et al. "Nitric Oxide Metabolites in Induced Sputum; A Marker of Airway Inflammation in Asthmatic Subjects", *Clin Exp Allergy*;29:1136-1142 (1999).
- [86] Radomski, MW., Palmer, RMJ., et al, "The Anti-Aggregating Properties of Vascular Endothelium: Interactions Between Prostacyclin and Nitric Oxide", *Br J Pharmacol.*,92:639-46 (1987).
- [87] Bredt, DS. , Snyder, SH. , "Nitric Oxide a Novel Neuronal Messenger Neuron", 8: 3-11 (1992).
- [88] Dawson, VL., Dawson, M., "Physiological and Toxicological Actions Of Nitric Oxide in The Central Nervous System", *Adv Pharmacol*, 34:323-342 (1995).
- [89] Erbaş, D., "Nitric Oxide". *Gazi Medikal Journal*; 9: 1-11 (1998).
- [90] Savaş, HA. , Herken, H., vd. 2002. "Possible Role of Nitric Oxide and Adrenomedullin in Bipolar Affective Disorder *Neuropsychobiology*", 45:57-67
- [91] Suzuki, E., Yagi, G., et al, "Plasma Nitrate Levels in Depressive States", *J Affect Disord*; 63:221-224 (2001).
- [92] Radegan, G., Saltin, B., "Nitric Oxide in The Regulation of Vazomotor Tone in Human Skeletal Muscle". *Am J of Physiology* June; 276: 1951-60 (1999).
- [93] Bredt, DS., "Endogenous Nitric Oxide Synthesis: Biological Functions and Pathophysiology". *Free Radic Res.* 31(6): 577-96 (1999).
- [94] Miranda. , KM., Espey, MG., et al "A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite" *Nitric Oxide: Biology and Chemistry* Vol. 5, No. 1, pp. 62-71, 2001.
- [95] Vural, H. , 2007 "Alzheimer Hastalığında Total Antioksidan Kapasitenin Araştırılması", *Tıp Araştırmaları Dergisi*,:5(2):63-66.
- [96] Yaka, E. , Yüksel Eğilmez, M., vd 2006. " Alzheimer Hastalığında Beyin Omurilik Sıvısında (BOS) Biyolojik Belirteçler ve BOS'un PC12 Hücre Hattı Canlılığı Üzerine in vitro Etkisinin Değerlendirilmesi" *Turkish Journal of Geriatrics*; 9 (1): 1-7.
- [97] M. Yüksel vd, "Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Reaktif Oksijen Türleri ve Nitrik Oksit Düzeyleri", *Turkish Journal of Geriatrics*, Geriatri 5 (2); 39-43, 2002

- [98] Lumme A. Vanhatalo S., et al, “Expression of nitric oxide synthase in hypothalamic nuclei following axonal injury or colchicine treatment”. *Exp. Neurol.* 144: 248-257 (1997).
- [99] Selley, M.L., “Increased Concentrations of Homocysteine and Asymmetric Dimethylarginine and Decreased Concentrations of Nitric Oxide in The Plasma of Patients With Alzheimer’s Disease”, *Neurobiology of Aging* 24 903–907 (2003).
- [100] Fernándeiz-Vizarra, P. , et al, “ Expression of Nitric Oxide System in Clinically Evaluated Cases of Alzheimer’s Disease”, *Neurobiology of Disease* 15 287–305 (2004).
- [101] Wong, A. , et al, Lüth, HJ. , “Advanced Glycation Endproducts Co-Localize With Inducible Nitric Oxide Synthase in Alzheimer’s Disease”, *Brain Research* 920, 32–40 (2001).
- [102] Lüth, HJ. , “ Aberrant Expression of nNOS in Pyramidal Neurons in Alzheimer’s Disease is Highly Co-Localized With p21ras and p16INK4a” , *Brain Research* 852 45-55 (2000).

6.ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Kezban YILDIZ DALGINLI

Doğum Yeri: KARS/MERKEZ

Doğum Tarihi : 20.07.1984

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Halkalı Toplu Konut Lisesi(K.Çekmece/İstanbul)

Lisans : Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Yayımları (SCI ve diğer)

Diğer konular