

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

ALZHEİMER (AH) HASTALARINDA KAN MDA ve GSH SEVİYELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Hacer ÇULHAOĞLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Aysel GÜVEN

2009-KARS

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Genel Kimya Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde Hacer ÇULHAOĞLU tarafından hazırlanmış olan ‘Alzheimer Hastalarında Kan MDA ve GSH Düzeylerinin Araştırılması’ adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy.....ile kabul edilmiştir.

..../...../ 2009

Adı Soyadı

İmza

Başkan:.....

.....

Üye :.....

.....

Üye :.....

.....

Üye :.....

.....

Bu tezin kabulü Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../ 2009 Gün ve/.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Abdullah DOĞAN
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇİNDEKİLER	I
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
TEŞEKKÜR	V
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	VI
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
1.GİRİŞ	1
1.1. Alzheimer Hastalığı	3
1.1.1. Tanımı	3
1.1.2. Tarihçesi	3
1.1.3. Epidemiyolojisi	3
1.1.4. Alzheimer Hastalığına Etki Eden Faktörler	4
1.1.4.1. Genetik Faktörler	4
1.1.4.2. Çevresel Faktörler	5
1.1.4.2.A. Yaş	5
1.1.4.2.B. Cinsiyet	5
1.1.4.2.C. Eğitim Durumu	5
1.1.4.2.D. Down Sendromu	6
1.1.4.2.E. Kafa Travması	6
1.1.4.2.F. Sigara ve Alkol Kullanımı	6
1.1.4.2.G. Meslekle İlgili Temas Faktörleri	6
1.1.4.2.H. Alüminyum	6
1.1.4.2.I. Serebrovasküler Faktörler	7
1.1.5. Alzheimer Hastalığının Biyokimyasal Mekanizması	7
1.1.6. Alzheimer Hastalığının Evreleri	10
1.1.7. Alzheimer Hastalarında Görülen Bilişsel ve Duygusal Bozukluklar	11
1.2. Serbest Radikaller	13
1.2.1. Lipit Peroksidasyonu	16

1.2.1.1. MDA (Malondialdehit)	16
1.3. Antioksidanlar	20
1.3.1. Glutasyon (GSH)	21
1.3.1.1. Glutasyon Metabolizması	24
1.3.1.2. Glutasyonun Biyokimyasal Önemi	25
1.3.1.3. Glutasyona Bağlı Enzim Sistemleri	26
1.3.1.4. Glutasyon Tayin Yöntemleri	28
1.3.1.4.A. Spektrofotometrik Yöntem	28
1.3.1.4.B. HPLC Yöntemi	28
1.3.1.4.C. Fluorometrik Yöntem	29
2. MATERYAL VE METOT	30
2.1. Materyal	30
2.1.1. Deneyde Kullanılan İnsan Materyali	30
2.1.2. Çalışmada Kullanılan Aletler	30
2.1.3. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler	31
2.1.4. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler	31
2.2. Metod	33
2.2.1. Plazma Lipit Peroksidasyonu (MDA)Tayini	33
2.2.1.1. Prensiip	33
2.2.1.2. Metod	34
2.2.2. Eritrositte GSH Tayini	34
2.2.2.1. Prensiip	34
2.2.2.2. Metod	34
2.3. İstatistiksel Hesaplamalar	35
3. BULGULAR	36
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	39
5. KAYNAKLAR	43
6. ÖZGEÇMİŞ	52

ALZHEİMER HASTALARINDA KAN MDA VE GSH DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışmada Alzheimer hastalarında kan MDA ve GSH düzeylerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Çalışmada Kars yöresinde yaşayan yaşları 65 ve 79 arasında değişen 15 sağlıklı ve 15 alzheimer hastası birey 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 (Berg L 1984) uygulandı.

Daha sonra eritrosit GSH ve plazma MDA düzeylerine bakıldı. Sağlıklı ve Alzheimerlı gruplarda eritrosit GSH ($p < 0.01$) ve plazma MDA ($p < 0.01$) düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sonuç olarak, Alzheimer hastalığının lipit peroksidasyonuna neden olduğu ve bunun sonucunda MDA düzeyinde bir artışın meydana geldiği ve endojen bir antioksidan olan GSH düzeylerinde ise alzheimer hastalarında önemli bir artışın olduğu görüldü.

Anahtar sözcükler: Alzheimer, Malondialdehit (MDA), Redükte Glutasyon (GSH), Lipit Peroksidasyonu.

INVESTIGATION OF THE LEVELS OF BLOOD MDA AND GSH IN ALZHEIMER

ABSTRACT

The focus of this dissertation is the research of MDA and GSH levels in the blood of Alzheimer patients.

15 healthy individuals and 15 Alzheimer patients living in Kars between the ages 65 to 79 were selected for the dissertation. Before taking blood samples from patients who were diagnosed with Alzheimer at Kafkas University Medicine School Neurology Center, they were applied Standardized Mini Mental State Examination (SMMSE) and Clinical Dementia Rating (Berg L 1984).

In the next step, erythrocyte GSH and plasma MDA levels were checked. The statistical difference between the healthy individual and Alzheimer patient Group erythrocyte GSH ($p < 0.01$) and plasma MDA ($p < 0.01$) levels were plausible.

As a result, it was observed that Alzheimer disease caused lipid peroxidation and as a conclusion significantly increased the MDA levels and the GSH, an endogenous antioxidant, levels in the blood of Alzheimer patients.

Key words: Alzheimer, Malondialdehyde (MDA), Reduced Glutathione (GSH), Lipid peroxidation

TEŞEKKÜR

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 Yrd. Doç. Aysel GÜVEN'e, Alzheimer hastalarının bize yönlendirilmesinde yardımcı olan Yrd. Doç. Selen İLHAN ALP'e, deney yapım aşamasında yardımlarını gördüğüm biyolog Kadir ALKIŞ ve Kezban DALGILI'ya, İstatistiksel hesaplamalarda yardımını esirgemeyen Dr.Barış ÖZTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

ÇİZELGELERİNİN LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Çizelge 1. Kontrol grubu eritrosit GSH ve plazma MDA düzeyleri	36
Çizelge 2. Deney grubu eritrosit GSH ve plazma MDA düzeyleri	36
Çizelge 3. Gruptaki eritrosit GSH ve plazma MDA düzeylerinin istatistiksel karşılaştırılması	37

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Şekil 1. Alzheimer (AH) li Hastaların Beyni ile Normal Beynin Karşılaştırılması	7
Şekil 2. Alzheimer (AH) li Hasta Beyni ile Normal Beynin Mikroskopik Yapısının İncelenmesi	8
Şekil 3. İnsandaki B-Amiloid Öncü Proteini (APP) nin Yapısının Temsili Çizimi	8
Şekil 4. Bazı Olgularda Alzheimer Hastalığı Gelişmesine Katılması Olası Basamakların Dizilim Sırası	9
Şekil 5. Serbest Radikallerin Endojen ve Eksojen Kaynakları	13
Şekil 6. Serbest Radikallerin Hücredeki Başlıca Zararlı Etkileri	14
Şekil 7. Malondialdehit (MDA) Yapısı	17
Şekil 8. Lipit Peroksidasyonunun Kimyasal Yolu	19
Şekil 9. Glutasyon'un Yapısı	22
Şekil 10. Glutasyon'un Biyosentezi	22
Şekil 11. Glutasyon'un Metabolizması	24
Şekil 12. Glutasyon (GSH) a Bağlı Enzim Sistemleri	27
Şekil 13. Kontrol Deney Gruplarına Göre MDA Düzeyleri	37
Şekil 14. Kontrol Deney Gruplarına Göre GSH Düzeyleri	38

SİMGELER VE KISALTMALAR

μmol : Mikromol

nmol : Nanomol

ml : Mililitre

°C : Santigrat derece

AH : Alzheimer hastalığı

APP :Amiloid prekürsör protein

Aβ : Amiloid beta

ATP : Adenozin trifosfat

Apo-E4 :Apolipoprotein E' nin 4 alleli

CAT :Katalaz

DNA :Deoksiribo nükleik asit

DTNB :Ditiyobis nitrobenzoik asit

EDTA :Etilendiamin tetraasetik asit

GSH :Redükte glutatyon

GSSG :Okside glutatyon

GSH-Px :Glutatyon peroksidaz

GST : Glutatyon S transferaz

Gly :Glisin

Cys :Sistein

Glu :Glutamat

H₂O₂ :Hidrojen peroksit

HOCl :Hipokloröz asit

LOO· :Peroksil radikali

LOOH· :Lipit hidroperoksit

LPO :Lipit peroksidasyonu

MDA :Malondialdehit

PS1 :Presenilin 1 geni

PS2 :Presenilin 2 geni

ROT :Reaktif oksijen türleri

SOD :Süperoksit dismutaz

SH :Sülfidril

TBA :Tiyobarbitürik asit

TCA :Tiyokloro asetikasit

SMME :Standardize mini mental test

BELG :Klinik demans evreleme ölçeği

1. GİRİŞ

Alzheimer beyinde bazı bölgelerde nöron kaybı ve metabolik aktivitede azalma ile birlikte hatırlamayı, konuşmayı ve duyguları etkileyen ilerleyici dejeneratif bir hastalıktır. Bellek bozukluğu ile başlayan hastalık mental işlevlerinin yerine getirilememesi, kişilik değişiklikleri ile ilerlemekte son evrede de hastalar tam bağımlı hale gelmekte ve bir süre sonra hayatını yitirmektedir (1).

İlerleyen yaşlarda görülen Alzheimer dikkat ve oryantasyon kaybıyla seyreden kavrama hafıza ve sensör yeteneklerinin yavaş yavaş kaybedildiği bir hastalıktır (2,3).

Alzheimer hastalığı ile ilgili yapılan Avrupa çalışmalarında 65 yaş üstü kişilerde hastalık görülme oran %1,5 civarında iken bu oran her 4 yılda bir 2'ye katlanmaktadır.1989 yılında ABD de yapılan bir çalışmada (EVANS ve arkadaşları) Alzheimer hastalığının prevalansı 4 milyon olarak saptanmıştır. Ülkemizde bu konuda yapılmış çalışma olmamakla birlikte 250.000 Alzheimer hastası olduğu ve bu rakamın bilinmeyen olgularla birlikte 400.000 civarında olduğu tahmin edilmektedir (1,4).

Dünyada 15 milyondan fazla bireyi etkileyen bu hastalığın temel patolojik özelliği “ β -amyloid(senile)plaque” olarak adlandırılan hücre dışı protein birikimleri ve tau protein'inin fosforilasyonu sonucu oluşan nörofibriller yumaklardır. Şu ana kadar yapılan çalışmalarda β -amyloid plaklar tarafından oluşturulan serbest radikallerin lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA oksidasyonuna yol açarak Alzheimer hastalığının patolojisine katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (4,5,6).

Oksidatif stres oksidan-antioksidan dengesinin bozulmasıyla oluşan hasar verici durumdur (7). Alzheimer hastalığının patolojisinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı öne sürülmektedir (5, 7, 8, 9).

ROT (Reaktif Oksijen Türleri) eğer antioksidan savunma sistemleri ile ortadan kaldırılamaz ise lipid peroksidasyonu ile hücre hasarına neden olur (10, 11, 12).

Lipit peroksidasyonu olarak membran lipitlerindeki hasar serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır (9). Beyin doymamış yağ asitlerince zengin olduğundan dolayı serbest radikallerin neden olduğu lipit peroksidasyonundan daha çok etkilenir (8).

Organizmada en çok görülen radikal hasarı lipit peroksidasyonu şeklinde olup, membranda doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen çıkarılmasıyla yağ radikali oluşur. Zincir şeklindeki reaksiyonların sonunda aldehitlerin en son basamağında yer alan MDA ise lipit peroksidasyon hasarının tespitinde kullanılır (10,13). Yani MDA, hücre lipitlerinin okside edilerek bozulması sonucu oluşan ana metabolit ve lipit peroksidasyon ürünlerinin %40'ını ifade eder (12,13).

Bütün hücreler oksidan maddelere karşı enzimatik ve enzimatik olmayan anti oksidan maddelerden oluşan bir mekanizmaya sahiptir. Enzimatik olmayan maddelerden en önemlisi GSH'dır. GSH iç ve dış kaynaklı toksik kimyasallara karşı hücrel savunma sisteminde önemli rol oynar serbest radikallerin detoksifikasyonunda hücre içi GSH'ın önemi büyüktür (7,8,10,14). Bir hücrede okside glutatyonun (GSSG) artmış olması oksidasyonun muhtemel bir indeksi olarak kabul edilir. Hücre içi bir anti-oksidan olan GSH'ın azlığı, sistemlerin birçoğunun radikal hasarına karşı hassasiyeti artırır (7,12) .

Bu çalışmadaki amaç; Alzheimer hastalarında MDA ve GSH seviyelerinin belirlenmesidir.

1.1. Alzheimer Hastalığı

1.1.1. Tanımı

İleri yaşlarda kendini gösteren Alzheimer unutkanlık başta olmak üzere çeşitli davranışsal ve zihinsel bozukluklara neden olan kişinin günlük aktivitesini olumsuz etkileyen nörodejeneratif bir hastalıktır (1,15,16).

1.1.2. Tarihçesi

Dr. Alois Alzheimer, 1907 de ilk hastası 51 yaşındaki Auguste D.'yi Tunbingen'de (Almanya) sunmuştur. Daha sonra hastalığa Alzheimer adı verilmiştir. Bu ilk vakada hasta aşırı kıskançlık şikâyeti ile gelmiş olup hastada yüksek beyin akvitilerinde bozukluk görülmüştür. Hastanın beyin biyopsisinde korteks sinir hücrelerinde amiloid plaklar ve nörofibriler yumaklar görülmüştür (1,18,19).

1.1.3. Epidemiyolojisi

Alzheimer hastalığında Avrupa da yapılan EURODERM çalışmalarında hastalığın 60–69 yaşlarında % 0,3 sıklıkta, 70-79 yaşları arasında % 3 sıklıkta, 80-89 yaşları arasında % 20 sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir (20).

ABD de 1989 yılında EVAS ve ARK. tarafından yapılan bir çalışmada 4 milyon hasta saptanmıştır (21). Dünyada 2006 yılı itibariyle yaklaşık 20 milyon AH hastası olduğu tahmin edilmektedir (22).

Çok yakın zamanda sonucu açıklanan dünya çapında yapılan bir çalışmada dünyada 24,3 milyon AH hastası olduğu ve buna her yıl 4,6 milyon yeni hasta eklendiği hesaplanmıştır. Herhangi bir tedavi şekli geliştirilmezse 2040 yılı itibariyle AH hasta sayısının 81,1 milyon olması beklenmektedir (6).

Ülkemizde bu konuyla ilgili çalışma olmakla birlikte yaklaşık 250.000 AH hastası olduğu tahmin edilmektedir (1).

1.1.4. Alzheimer Hastalığına Etki Eden Faktörler

1.1.4.1. Genetik Faktörler

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda Alzheimer'lı hastaların yakınlarında da AH riskinin artmış olduğu gösterilmiştir (23). Çalışmalarında; tek yumurta ikizlerinde AH konkordansı % 59, çift yumurta ikizlerinde % 30 bulunmuştur. Bu sonuç Alzheimer hastalığı olanların yakın akrabalarında görülme şansının yüksek olduğunu gösteren bir delil olarak kabul edilebilir (24).

İkizlerde yapılan bir başka çalışmada ise tek yumurta ikizlerinin birinde hastalık görüldüğünde ikizin diğerinde de görülme olasılığı % 40 olarak saptanmıştır (23). İlk olarak 1932 yılında Schottky tarafından AH sülalelerinin varlığı ortaya konulduktan sonra genetik geçiş daha inanılır hale gelmiştir (25).

AH hastalığına; 21. kromozomdaki amiloid prekürsör protein, 14. kromozomdaki presenilin 1 (PS1) geni, 1. kromozomdaki presenilin 2 (PS2) ve 19. kromozomdaki APO E lokuslarının etkili olduğu düşünülmektedir (26).

60 yaş altında görülen erken başlangıçlı AH hastalığında sorumlu genlerin 1., 14. ve 21. kromozomlarda lokalize olduğu fakat 60 yaş üstünde görülen hastalarda sorumlu genin 19. kromozom üzerinde lokalize olduğu gösterilmiştir (26).

Erken yaşta başlayan AH hastalığının % 50'sinin sebebinin 14. kromozomdaki PS-1 geninden kaynaklandığı gösterilmiştir (27). Ebevyenlerden birisi erken başlangıçlı AH ise hastalığın çocuklarda çıkma ihtimalinin % 40 olduğu gösterilmiştir (25). Geç başlangıçlı Alzheimer hastalığında kesin etkisinin olduğu bilinen gen 19. kromozomda kodlanan (Apo-E4) Apolipoprotein E nin 4 allelidir (28). Apo E nin AH ile ilişkisi pek çok ırkta ispatlanmıştır. Avrupa'da yapılan bir çalışmada Apo E 4 allel sıklığı

kontrollerde % 15 iken AH hastalığı için % 20 bulunmuştur (29). AH hastalarının % 65-75' inde Apo E 4 allel katılımı vardır. Apo E 4 alleli hastalık ihtimalini arttırıp yaşı öne çekmektedir (25).

1.1.4.2. Çevresel Faktörler

1.1.4.2.A. Yaş

AH riskinin yaşla orantılı olarak arttığı ispatlanmıştır. AH 45-65 yaşları arası nadir görülmektedir. ABD de prevalansı 65 yaş ve üzeri için % 10,3, 80 yaş ve üzeri için % 47'dir (17).

1.1.4.2.B. Cinsiyet

AH da cinsiyet önemli bir unsurdur. Kadınlarda erkeklerden 1,5-3 misli daha sık görülmektedir. Kadınlar erkeklerden daha uzun yaşadığı için AH hastalığı kadınlarda daha sık görülmektedir (30). Menopoz sonrası kadınlarda östrojen seviyesi azalmaktadır. Östrojen seviyesindeki bu azalma, kadınlarda bilişsel bozukluklara sebep olmakta ve AH riskini arttırmaktadır (31,32).Yapılan bir çalışmada menopoz döneminde östrojen alan hanımlarda AH riskinin azaldığı gözlenmiştir (33).

1.1.4.2.C. Eğitim Durumu

AH nın düşük eğitim seviyesinde yüksek eğitim seviyesine göre yaklaşık 1,5 kat daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. (34,35). Bu konuda birbiriyle çelişen çalışmalar vardır. Beard ve ark. düşük eğitim düzeyi ile AH arasında bir ilişki saptayamamıştır. Yapılan bir başka çalışmada ise düşük eğitim seviyesindeki hastaların doktora geç dönemde gittiği, eğitim düzeyi yüksek kişilerin daha erken dönemde gittikleri bu yüzden düşük eğitim seviyesindeki kişilerde daha çok rastlandığı bildirilmektedir (36). Yapılan başka bir çalışmada zihinsel aktivite gerektirmeyen işlerde çalışanlarda AH riskinin arttığı bildirilmiştir (37).

1.1.4.2.D. Down Sendromu

Down sendromu ve AH arasındaki ilişki ispatlanmıştır. AH nin genetik faktörleri arasında yer alan APP geni ile Down sendromu geni (Tizami 21) 21.kromozom üzerinde birbirine yakın bölgelerde bulunmaktadır. Bu bilgide AH ile Down sendromu arasındaki ilişkiyi doğrulamaktadır. Bu yüzden ileri yaşlara kadar yaşayabilen Down sendromlularda AH görülür (38).

1.1.4.2.E. Kafa Travması

Mendez ve ark. yaptığı bir çalışmada kafa travmasının AH ile ilişkisinin olmadığını bildirmiştir (39). Bu konuda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Komaya sokacak tek kafa travması ve multipl kafa travmalarının hastalığa yakalanma riskini arttırdığını belirten çalışmalar bulunmaktadır (37).

1.1.4.2.F. Sigara ve Alkol Kullanımı

Yapılan bir çalışmada sigara kullananlarda AH riskinin arttığı belirtilmiştir. Aynı şekilde alkol kullananlarda da AH riskinin arttığı gösterilmiştir. Bunun yanı sıra bu çalışmalarla çelişen çalışma sonuçları da bildirilmiştir (36).

1.1.4.2.G. Meslekler İlgili Temas Faktörleri

Yapılan bir çalışmada yapıştırıcılar, benzen, tolüen, fenoller, alkoller ve ketonlar ile temasta bulunan erkeklerde AH riskinin arttığı gösterilmiştir. Başka bir çalışmada kurşunla fazla temasta bulunanlarda AH riskinin arttığı bildirilmiştir (36,37).

1.1.4.2.H. Alüminyum

Alzheimer hastalığına alüminyumun sebep olduğuna yönelik çalışmalar vardır. Alzheimer hastalığı bulunan kişilerden alınan plaklarda sıklıkla yüksek miktarda

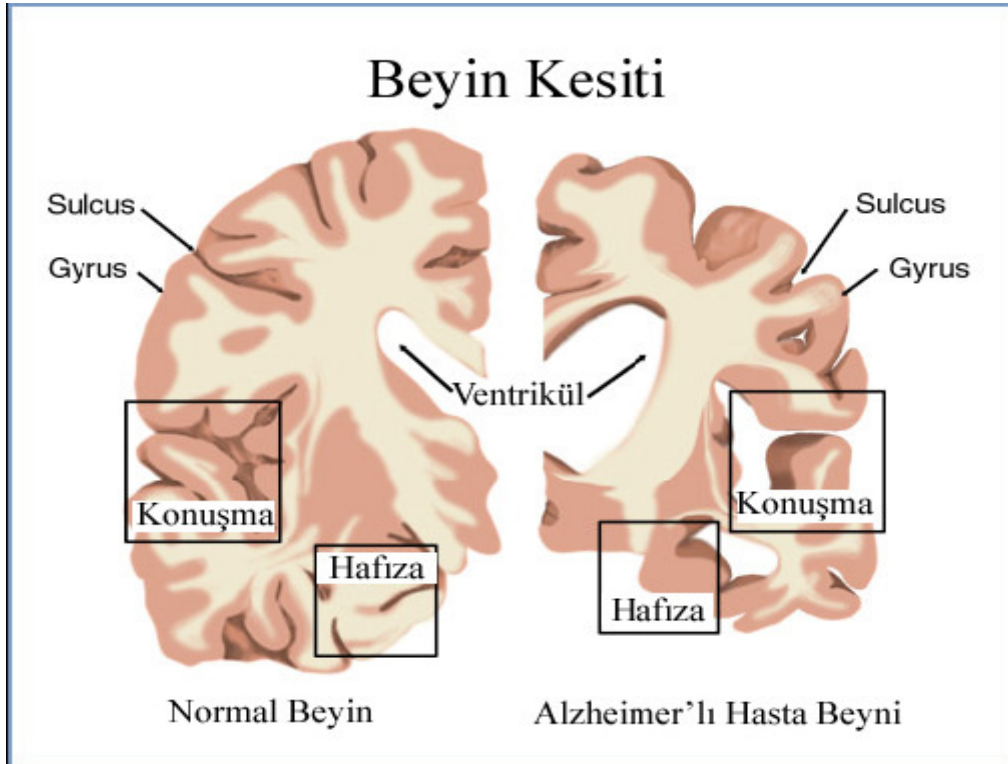
alüminyum saptanmasına bağlı olarak vücuda fazla miktarda alüminyum alınmasının Alzheimer hastalığına neden olabileceği öne sürülmüştür. Ancak bazı hastalarda alüminyum düzeyi yüksekliğinin mi Alzheimer hastalığına yol açtığı, yoksa başka süreçlerin neden olduğu hücre hasarına bağlı olarak mı alüminyumun hücrelerin tarafından tutulmasında artış olduğu açıklanamamaktadır (40).

1.1.4.2.I. Serebrovasküler Faktörler

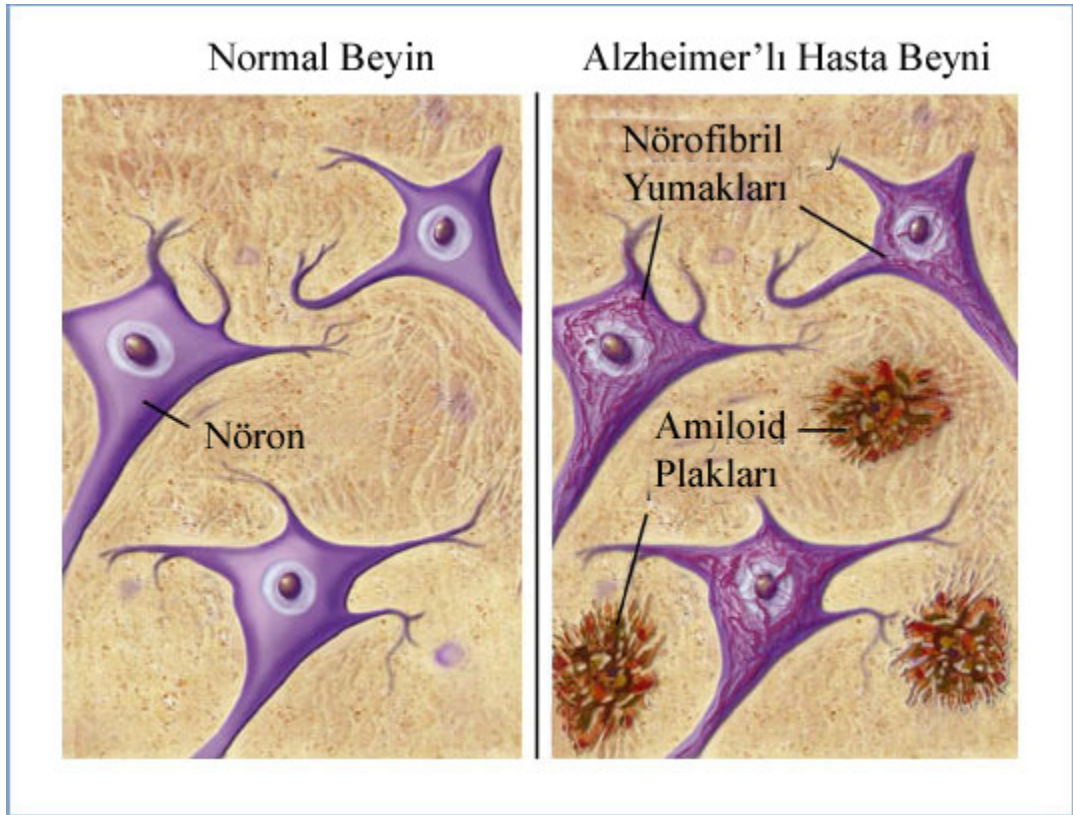
Alzheimer hastalığının patolojisinde son yapılan araştırmalara göre serebrovasküler (beyin damarlarının tıkanması, daralması) faktörlerin önemli olduğu sonucuna varılmıştır (4).

1.1.5. Alzheimer Hastalığının Biyokimyasal Mekanizması

Alzheimer hastalığı beyindeki hücre yapısını bozan nörodejeneratif bir hastalıktır. Alzheimer hastalarında beyinde plaklar, nörofibril yumaklar oluşur, nöron ve sinaps kaybı görülür. AH hastalarının beyinde çeşitli değişiklikler gözlenir. (37,38,41).

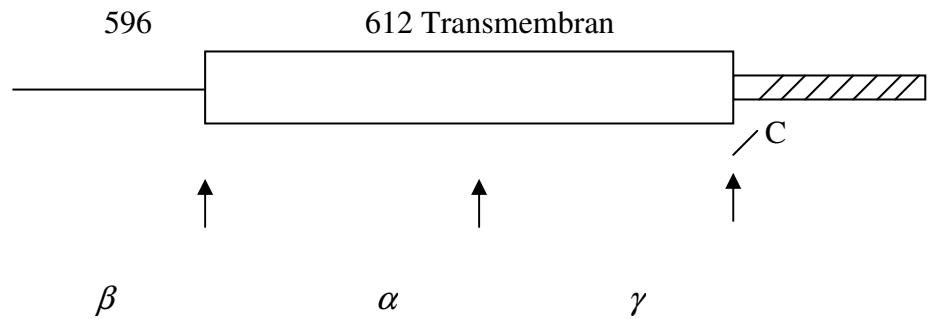


Şekil 1. Alzheimer'lı hasta beyni ile normal beynin karşılaştırılması (42).



Şekil 2. Alzheimer'lı hasta beyni ile normal beynin mikroskopik yapısının karşılaştırılması (43).

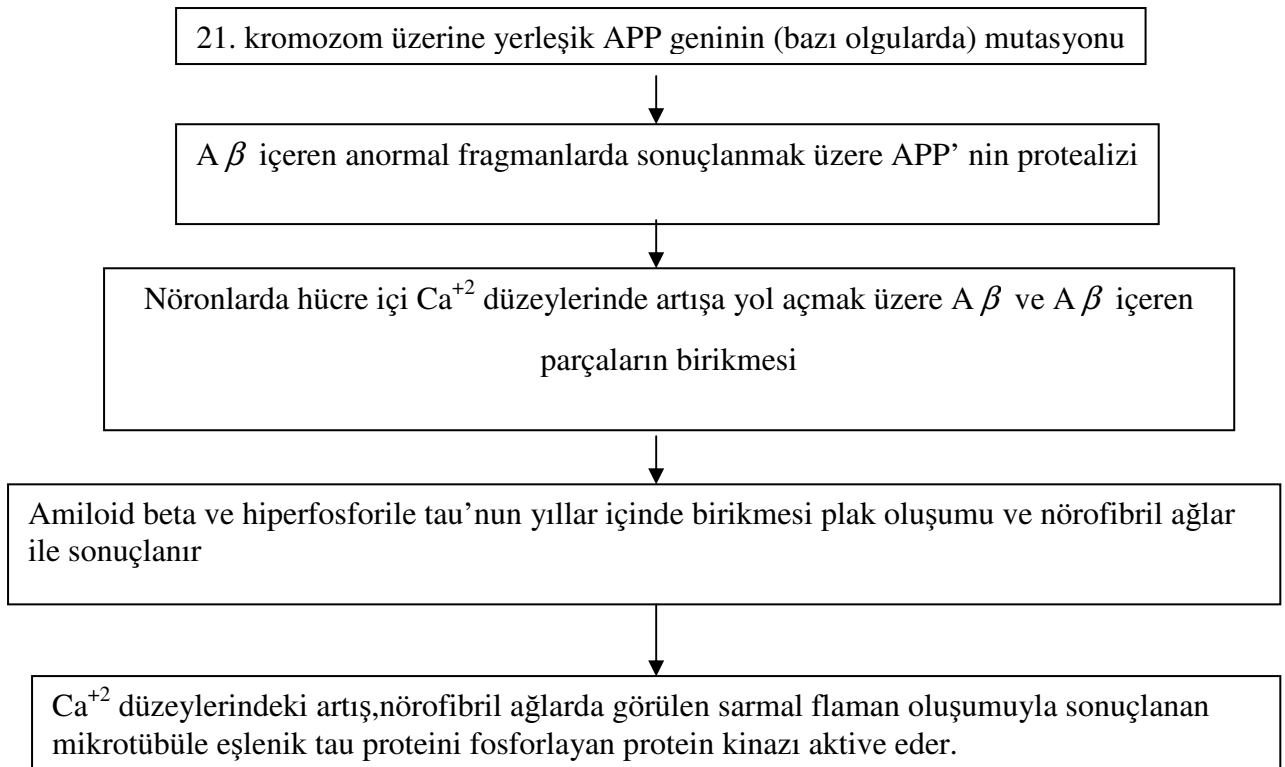
Şekilde de görüldüğü gibi plaklar hücre dışında, nörofibril yumaklar hücre içinde yer almaktadır. Plaklar Amiloid beta proteini içerirler. Amiloid beta birikiminin nöronal fonksiyon bozukluğu oluşturduğu ileri sürülmektedir (44).



Şekil 3. İnsandaki β -amiloid öncü proteini (APP)'nin yapısının temsili çizimi (40).

Amiloid Beta ($A\beta$) 40-42 aminoasitlik bir protein olup, APP (Amiloid Prekürsör protein) 770 aminoasit içeren bir transmembran protein C terminal ucundan proteolitik olarak ayrılmış bir peptittir. APP'nin yıkımından sorumlu proteinaz enzimleri başıca α , β , ve γ sekretaz enzimleridir. Amiloid plak oluşmasına yol açan β sekretaz enzimleri olup, oluşan $A\beta$ suda çözünmeyen bir formda birikerek plak oluşturur (44,38).

AH hastalarında diffüz plak, nöritik plak ve aşınmış plak olmak üzere 3 plak türü vardır. Bu plaklar yalnız AH hastalarında olup başka nörodejeneratif hastalıklarda görülmez (25). AH hastalığındaki bu plaklar zamanla çevresindeki sinir hücrelerini tahrip ederler (65). $A\beta$ veya $A\beta$ içeren parçalar doğrudan veya dolaylı olarak nörotoksittir. Nöronların $A\beta$ 'ye maruz kalmaları sonucu, bunların hücre içi Ca^{+2} yoğunluğunun arttırdığını gösteren bulgular vardır. Ca^{+2} deki artış, tau'nun aşırı fosforillenmesine ve nörofibril yumak oluşmasına yol açar (40).



Şekil 4. Bazı olgularda Alzheimer hastalığı gelişmesine katılması olası basamakları dizilim sırası (40).

Tau proteini mikrotübüllere bağlanan temel olarak nöronların aksonlarındaki proteinleridir. $A\beta$ birikiminin tau'nun aşırı fosforilasyonunda rol oynadığını ileri süren çalışmalar vardır. Taunun aşırı fosforilasyonu sonucu nörofibril yumaklar oluşmaktadır (38). Tau'nun aşırı fosforilasyonu nörodejeneratif hastalıklarla bağlantılıdır (45,46).

Nörofibril yumaklar ise tau proteinini içeren sinir hücrelerinin içinde yer alan paralel çubuk demetleri şekillendirir. Nörofibril yumaklar zamanla içinde bulunan sinir hücrelerini tahrip ederler (41). Zamanla nöron ölümüne neden olurlar (47). Nöron kaybı ile nörofibril yumaklar arasında doğru orantı vardır. Nörofibril yumaklar arttıkça demans da paralel olarak artmaktadır (48). Nörofibrilli yumaklar sadece Alzheimer hastalarında görülmez, parkinson gibi diğer nörodejenaratif hastalıklarda da görülür (37).

1.1.6. Alzheimer Hastalığının Evreleri

Hastalık başlangıcı evreleriyle birlikte 6 devreden oluşmaktadır.

1. Parasemptomatik dönem
2. Preklinik dönem
3. Çok erken Alzheimer hastalığı
4. Hafif dönem
5. Orta dönem
6. Şiddetli dönem (37).

1. Parasemptomatik dönem: Bu dönemde patolojik bulgular başlamamıştır. Başka nedenlerle ölen ve otopsi yapılan kişilerin beyinlerinde yavaş ilerleyen AH hastalığına ait patolojik hastalığın varlığı gösterilmiştir. Bu dönemde günlük aktivitede bozulma yoktur nöropsikolojik değerlendirmelerde bozukluk yoktur. Klinik bulgu yoktur (24).

2. Preklinik dönem: Bozukluklar nöropsikolojik testlerle ortaya çıkar. Günlük hayatta bozulma görülür (49).

3. Çok erken Alzheimer hastalığı: Bu dönemde hafifte olsa işlevsel ve kognitif bozukluklar ortaya çıkar. Hafif unutkanlık ve yeni bilgilerin öğrenilmesinde güçlük ortaya çıkabilir. Kişilerin karar vermede zorlandıkları görülür. İş performansları düşer dikkat eksikliği ve uyum bozukluğu görülür (37,49).

AH'nin 2. ve 3. evreleri hafif kognitif bozulma dönemine girer (HKB). Bu dönemde bunların bir kısmı AH'ye dönüştüğü gibi bir kısmı stabil kalır. AH'ye dönüşme oranı 'The Maya Alzheimer's Disease Center'a göre yıllık % 10 -15 civarındadır' (49).

4. Hafif Alzheimer Hastalığı: Hastalığın semptomları görülmeye başlar yakın geçmişteki olaylar ve konuşulanları hatırlamaz. Alet kullanmada, para işlemleri, hesaplamalarda bozukluk görülür. Kelime bulmada zorluk çeker. Duraklayarak konuşur. Eşyaları kaybetme ve yerini bulmada zorluk çeker.

5. Orta Alzheimer Hastalığı: Günlük yaşam aktivitelerinde mutlaka yardıma muhtaçtır. Basit hesaplamalar yapamaz. Yakın geçmişteki olayları hatırlayamaz. Kızgınlık ve şüphecilik görülür. Orta evre Alzheimer hastalığı biraz daha ağırlaştığında hasta yalnız başına giyinemez, yürüyemez, banyo ve temizliğini yapamaz, uzak bellek çok bozulmuştur. Kişileri karıştırabilir.

6. Şiddetli Alzheimer Hastalığı: Sürekli yardıma muhtaçtır. Bakıcıları tanımaz. Yürümek ve beslenmek için başkasına muhtaçtır. Konuşma kısıtlanır, sonra kaybolur. Konuşma yetenekleri kaybolduğu zaman bağımsız hareket edemezler (37).

1.1.7. Alzheimer Hastalarında Görülen Bilişsel ve Duygusal Bozukluklar

Dış yapıdaki yıpranmamızla birlikte zihinsel kapasitemizde de zamanla bir azalma gözlenir, öğrenme yavaşlar, bilgi işleme hızı düşer. Ancak yaşlanmanın doğal bir sonucu olan bu sorunla bulmaca çözerek, satranç oynayarak, yeni bir dil öğrenmek vb.

etkinliklerle baş edebiliriz (50,51,52). Sağlıklı yaşamada karşılaşılan bilişsel işlevlerdeki azalma ilerleyici değildir (53).

Bunama (demans), zihinsel işlevlerin zamanla azalması, bellek bozuklukları davranış ve kişilik problemlerini içeren, ilerleyici bir hastalıktır. Her yaşlanma demansla sonuçlanmaz, demans bir hastalıktır. Demans görülme sıklığı yaşla birlikte artmaktadır, 65 yaş grubundaki bireylerde % 1-6 iken 85 yaş grubunda % 20'dir. Demans türleri arasında en fazla karşılaşılanı Alzheimer tipi demanstır, tüm demansların % 60-70'i Alzheimer hastalığı başlığı altında toplanır (54,55,56).

Alzheimer hastalığında plaklar ve nörofibril yumaklar gözlenir. Bu plak ve nörofibril yumaklar beyindeki bellekle ilgili bölümlerde oluştuğu için bellek bozuklukları görülür. Beyinde bellek ile ilgili alanlar duygulanım ile ilgili alanlarla ilişkili olduğundan hastada zamanla duygusal bozukluklarda ortaya çıkar (41).

AH de gözlenen duygusal ve davranışsal bozukluklar arasında depresyon, apati, kaygı, kişilik değişiklikleri, huzursuzluk, aşırı hareketlilik, ajitasyon, halüsinasyon, anksiyete, hüznün, intihar düşüncesi, bedensel yakınmalar, hırsızlık hezeyanı, uyku bozukluğu, toplumsal uygunsuzluk, bağırma, ağlama, toplumsal çekiniklik, mekanın yanlış tanınması sayılabilir (53,57).

Belirli yer ve zamandaki olaylara ilişkin otobiyografik nitelikteki bellek olarak tanımlanan episodik bellekte bozulmalar görülür. Dünya hakkındaki genel bilgi ve kavramları içeren bellek olarak tanımlanan semantik bellekte bozulmalar görülür. Tanıma belleğinde AH hastaları uzak geçmişi iyi hatırlayıp yakın geçmişte hatırlama problemleri yaşarken zamanla yakın geçmişte bozulmaların olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (58).

Bellek alanındaki bozulmayı takiben dikkat, yönetici işlevler, dil, görsel ve mekânsal işlevler gibi diğer bilişsel alanlarda da bozulma görülür (59) .

1.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, yapılarında 1,3 gibi tek sayıda elektron içeren, organik veya inorganik kökenli atom veya molekülerdir (60,61,62). Serbest radikaller aşırı reaktiftir. Aerobik metabolizma sonucu oluşabildikleri gibi organizmanın ısı, radyasyon, ısı, hava kirliliğine maruz kalması, sigara ve alkol kullanımı, aşırı egzersiz yapılması, çeşitli maddelerin (antibiyotikler, anestezi vs.) alınması sırasında oluşabilirler (63,64). Bu nedenle serbest radikal oluşturan mekanizmalar endojen ve eksojen olarak ikiye ayrılır (65).

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
* Mitekondriyal elektron transport zinciri	*İlaç oksidasyonları
* Kloroplast elektron transport zinciri	*İyonize radyasyon
*Oksidan enzimler:	*Güneş ışığı
- Ksantin oksidaz	*X-ışınları
- İndolamin dioksijenaz	*UV-ışınları
- Triptofan dioksijenaz	*Isı şoku
-Galaktoz oksidaz	* Glutasyon okside eden maddeler
-Siklooksijenaz	*Ortam havası
- Lipooksijenaz	-Sigara dumanı
- Mono aminooksidaz	-Ozon
* Fagositik hücreler	- Kükürtdioksit
- Nötrofiller	- Egzoz gazları
-Monosit ve Makrofajlar	
-Eozinofiller	
-Endotenyal hücreler	
*Oto-oksidasyon reaksiyonları	

Şekil 5. Serbest radikallerin endojen ve eksojen kaynakları (65).

Moleküler oksijen, oksijenli solunum yapan canlılarda hayatın devamlılığı için gereklidir. Biyolojik sistemlerde çok önemli serbest radikaller oksijen radikalleridir (61,67). Serbest oksijen radikalleri doku ve hücrelerde aerobik metabolizma sırasında elektron taşıma zincirinin bir kısmı olarak oluşurlar (64,66,67).

Bazı reaktif oksijen türleri (ROS); süper oksit radikal ($O_2^{\cdot-}$), Ozon (O_3), singlet oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^{\cdot}), alkoksil radikali (RO^{\cdot}), peroksit (O_2^{-2}), hidroperoksit (HO_2^{\cdot}) tir (11).

Serbest radikallerin pek çok hastalığın oluşturmasında etkili olduğu yapılan son çalışmalarla gösterilmiştir. Bu hastalıklar arasında nörolojik hastalıklar, kas hastalıkları, göz hastalıkları (katarak), kanser, diyabet, kalp hastalıkları, hipertansiyon, Behçet hastalığı, yaşlılık bulunmaktadır (7,69).

- *Proteinlere zarar verirler.
- *Enzimleri inaktive ederler.
- *Membran ve serum lipitlerinde peroksidasyon yaparlar.
- *DNA'da hasar yapar.
- *Mitekondride aerobik solunumu bozarlar
- *Hücre yüzeyindeki reseptörlerde değişiklik yaparlar.
- *Hücrenin K^+ kaybını arttırmaları.
- *Bağ dokusunda harabiyet verirler.
- *Dokularda fagositik artışına sebep olurlar
- *Karbonhidratlara etki ederler.
- *Hücre dışı kollojen doku komponentlerini savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkarlar.
- *Ekstra sellüler etki yaparlar.

Şekil 6. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri (7).

Serbest radikaller lipit, karbonhidrat, protein, nükleik asitler gibi moleküllere zarar verir (7,70). Hücre zarı (membran) nın yapısında lipit vardır. Serbest radikaller membran lipitlerine zarar verirler ki bu etki, lipit peroksidasyonu olarak bilinir. Lipit peroksidasyonu sonucu hücre zarının akışkanlığı ve geçirgenliği değişir (71).

Serbest radikaller organizmadaki proteinlere de zarar verir. Serbest radikaller proteinleri okside edebilir. Oksidasyonda proteinler ve yapısındaki aminoasitler hasar görür. Serbest radikaller enzim ve yapısal proteinlere verdikleri hasardan dolayı, Alzheimer, akciğer hastalığı, katarak, Parkinson gibi pek çok hastalığın başlaması ve ilerlemesine önemli rol oynar (71,72).

Serbest radikaller DNA'ya zarar vererek çeşitli mutasyonların meydana gelmesine yol açar (71,73).

Serbest radikaller monosakkaritlerin otooksidasyonu ve polisakkaritlerin de polimerizasyonu şeklinde karbonhidratlara zarar verir (7).

Vücutta çeşitli sebeplerden dolayı oluşan serbest radikaller vücudun savunma sistemi olan antioksidan savunma sistemleri ile etkisiz hale getirilir. Ancak çeşitli sebeplerden dolayı ROS üretimi arttığında oksidan – antioksidan dengesi bozulur. Aşırı ROS üretilmeye başlar. Serbest oksijen radikallerinin artmasıyla organizmada oluşan hücre ve doku hasarı oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stres Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı gibi nörolojik hastalığın patolojisinde yer aldığı bildirilmektedir (74). Beyin, diğer organlara göre daha çok oksijen kullanmakta ve bu nedenle serbest radikaller daha çok oluşmaktadır (75). Beyinde oksidatif stres artan protein oksidasyonu, lipit peroksidasyonu, DNA ve RNA oksidasyonu olarak kendini gösterir. Beyindeki protein oksidasyonu AH gibi nörodejeneratif hastalıklarda görülen protein birikimlerini oluşturmaktadır (76,77).

Liu ve arkadaşları AH hastalarının beyinde oluşan NFT oluşumunda oksidatif stresin rol oynadığını göstermişlerdir (78).

1.2.1. Lipit Peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan doymamış yağ asitlerinin alkol, aldehit, hidroksi asit gibi ürünlere dönüşmesini içeren kimyasal bir olay olarak tanımlanabilir (61,79). Lipit peroksidasyonu başlama, yayılma ve sonlanma olmak üzere üç aşamada gerçekleşir.

1. Başlama: Lipit peroksidasyonu membrandaki doymamış yağ asitlerinin yan zincirinden bir hidrojenin uzaklaştırılması ile başlar. Bu reaksiyon için demir ve bakır gibi eşlenmemiş elektron içeren geçiş grubu elementleri gereklidir. Bu reaksiyon sonucu karbon merkezli radikal (L.) oluşur. Radikal molekülünün çift bağlarındaki bir takım değişiklikler sonucu konjuge dienler oluşuktan sonra moleküler oksijenle reaksiyona girerek lipit peroksit radikalini (LOO) oluşturur.

2. Yayılma: Lipit peroksil radikal membrandaki proteinlerle veya başka bir lipit peroksil radikali ile reaksiyona girer. Lipit peroksil radikali komşu yan zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırması sonucu yeni lipit peroksil radikali oluşturur. Kopan hidrojenler lipit radikalleri ile (LOOH) lipit hidroperoksitlerine dönüşür. Lipit peroksidasyonu başladıktan sonra çok fazla miktarda yağ asidi zinciri ve hidroperoksitler oluşturur.

3. Sonlanma: Çeşitli demir oluşumları lipit hidroperoksitlerini bozarak lipit peroksidasyonunu bitirirler. Oluşan son ürünler arasında alkol, aldehit, hidroksi asit, eten, pentan yer alır.

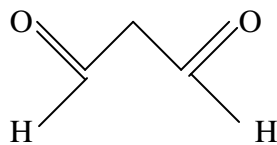
1.2.1.1. MDA (Malondialdehit)

Reaktif oksijen türleri antioksidan savunma sistemleri ile ortadan kaldırılmazsa lipit peroksidasyonu oluşturarak hücreye zarar verir (70).

Lipit peroksidasyonu, hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin reaktif oksijen türleri tarafından oksidasyonun ifade eden kimyasal bir olaydır. Lipit peroksidasyonun artmış olması serbest radikalleri arttığının gösterir (61,80).

Hücre zarının yapısında lipit olduğu için, lipit peroksidasyonu hücre zarına zarar verir. Membran zar yapısı ve fonksiyonları bozulur. Lipit peroksidasyonu sonucu hücre zarının akışkanlığı, geçirgenliği bozulur. Membranda oluşan hasar geri dönüşümsüzdür (7,70).

Lipit peroksidasyonu sonucunda meydana gelen son ürünler arasındaki aldehitler yer alır. Aldehitlerin son ürünü MDA'dır. MDA membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olan toksik bir üründür (81).



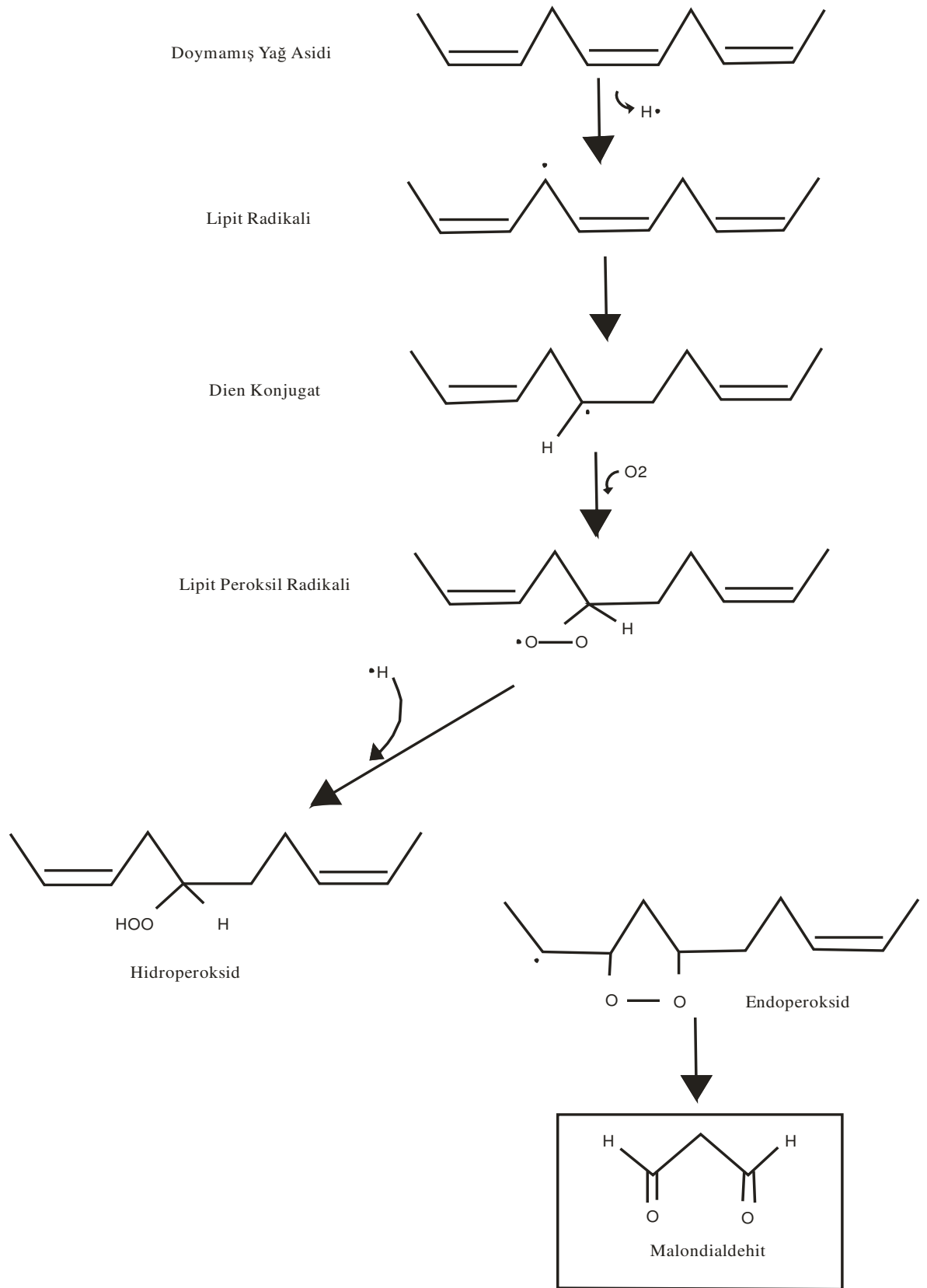
Şekil 7. Manoldialdehit (MDA) yapısı (82).

Membranda iyon transportu, enzim aktivitesi, deformabilite gibi bazı özellikleri değişmesine yol açar. Ayrıca difüze olabildiğinden DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girmektedir. MDA bu özellikleri nedeniyle mutajenik, genotoksik bir bileşiktir (61,83).

MDA'nın artması, lipit peroksidasyonunun arttığını gösteren bir belirteç olmakla birlikte çeşitli rahatsızlıkların ortaya çıktığını haber veren bir işaretçi niteliğindedir. Örneğin; Etil alkol ve sigara dumanına maruz kalınmasının böbreklere yaptığı etkinin araştırıldığı bir çalışmada kontrol grubu, etanol grubu, etanol ve sigara kullanılan grup, sigara kullanan grup olmak üzere 4 gruba ayrılmış olup, MDA seviyesi, kontrol grubuna göre 3 grupta yüksek bulunmuştur (84).

Hemodiyalizli ve sürekli ayaktan diyalizli hastalarda plazma MDA seviyesi ölçülmüş ve kontrol grubuna göre yüksek olduğu bildirilmiştir (85).

Doymamış yağ asitlerinin lipit peroksidasyonu ile oluşan HNE ve MDA nörodejeneratif hastalıklarının başlangıcında ilerlemesinde etkili olmaktadır. Bourdel ve arkadaşları AH'li hastaların plazmalarında MDA'nın kontrollere göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (86). Barnham ve Ark. yaptığı bir çalışmada, MDA'nın AH'li hastaların beyinlerinde artmış olduğu rapor edilmiştir (87).



Şekil 8. Lipit peroksidasyonunun kimyasal yolu (82).

1.3. Antioksidanlar

Serbest radikallerin vücutta meydana getirdiği zararı önlemek amacıyla vücudumuzda enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidanlar olarak tanımlanan savunma sistemleri vardır (70,79).

Antioksidanlar reaktif oksijen türlerini süpürerek lipid peroksidasyonunun oluşmasını engellerler. Antioksidanlar lipitleri, proteinleri, nükleik asitleri, karbonhidratları, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı korumaktadır (88). Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere ikiye ayrılırlar (70,79).

1. Endojen Antioksidanlar

- Glutasyon
- Glutasyon peroksidaz (GSH- PX)
- Glutasyon – S – transferazlar (GST)
- Katalaz (CAT)
- Süperoksit dismutaz (SOD)
- Sistein
- Albumin
- Melatonin
- Metiyonin
- Bilirubin
- Ferritin
- Hemoglobin

2. Eksojen Antioksidanlar

- Gıdalardaki antioksidanlar
- Vitaminler
- İlaçlar (61).

Antioksidanları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Enzimatik Antioksidanlar

- Süperoksit Dismutaz (SOD)
- Katalaz (CAT)
- Glutasyon Peroksidoz (GSH-PX)

Enzimatik olmayan antioksidanlar

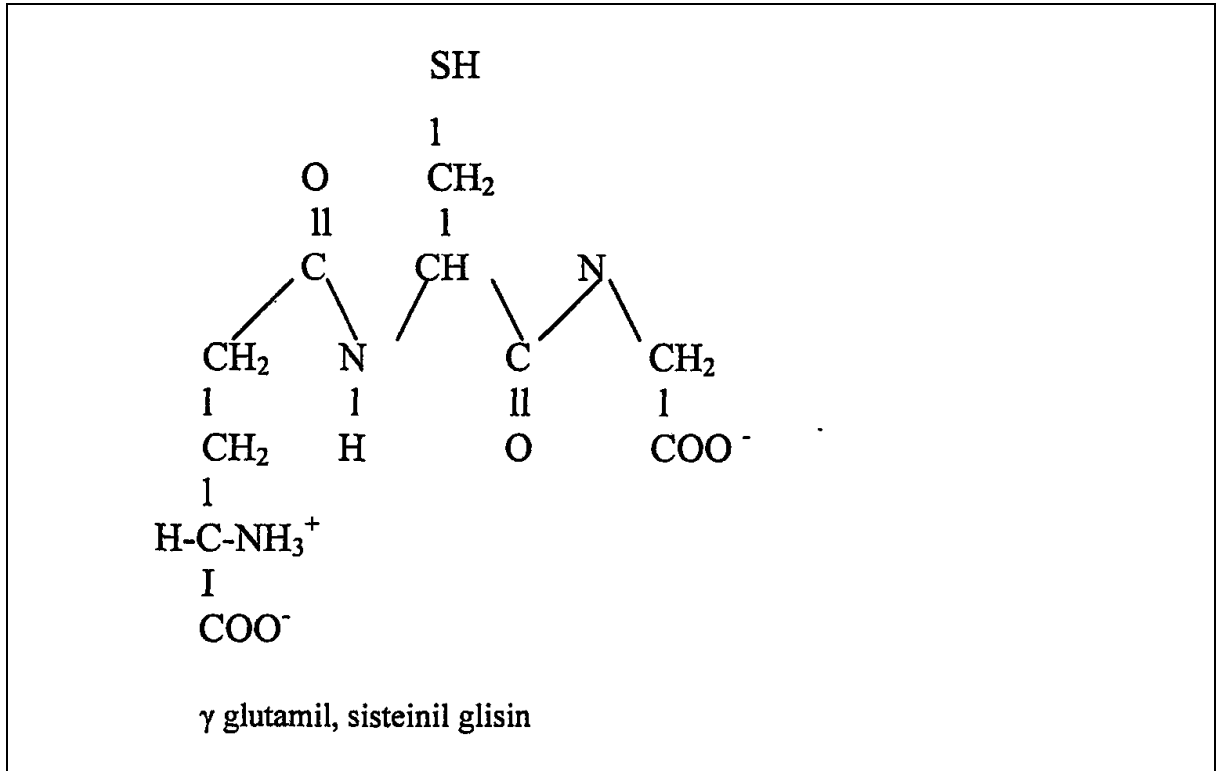
- Askorbikasit (vitamin C)
- Alfatokoferol (vitamin E)
- Glutasyon (GSH) (88).

Antioksidanlar 5 aşamada serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı faaliyet gösterir.

1. Toksik antioksidanların oluşumunun önlenmesi.
2. Oluşan toksik oksidanların tutulması.
3. Daha az reaktif olan radikallerin, daha hasar verici forma dönüşümünün önlenmesi.
4. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasarın tamiri.
5. Hücredeki antioksidanların daha etkili çalışabilmesi için gerekli uygun şartların oluşturulması (89).

1.3.1. Glutasyon (GSH)

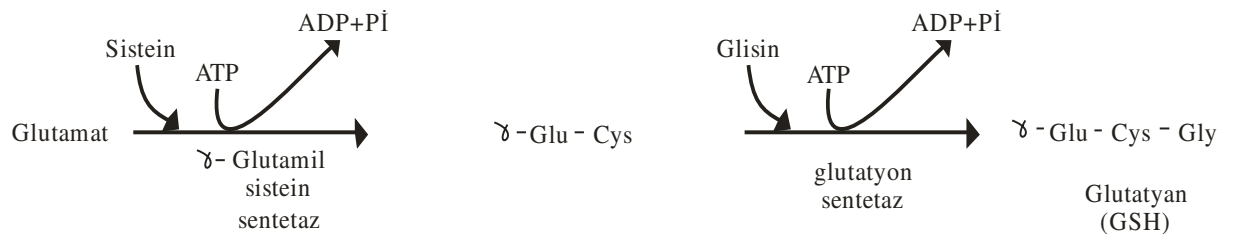
Hopkins tarafından 1921 yılında bulunan glutasyon, önceleri glutamil sisteinden oluşan bir dipeptit zannedilmiştir. Sonraları γ glutamly – sisteinly – glisilin den oluşan tripeptit olduğu anlaşılmıştır. 1935 yılında Harrington ve Mead tarafından γ - L – glutamly – sisteinly – glisin halinde sentezlenmiştir (90) .



Şekil 9. Glutatyonun yapısı (91).

Glutatyon (GSH) serbest radikal ve peroksitlerle tepkimeye girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. GSH hemen hemen bütün organlarda bulunur. Glutatyon, kaslarda, beyinde, böbreklerde, eritrositlerde ve gözde bulunur. Ancak karaciğer ve göz dokusunda yüksek oranda bulunur (7,70).

Glutatyon eritrositlerde aminoasitlerden 2 adımda sentezlenir. İlk adımda γ -glutamil sistein sentetaz enzimi, ikinci adımda glutatyon sentetaz enzimi görev alır. Bu sentezde 1 molekül GSH için 2 molekül ATP hidroliz olur.

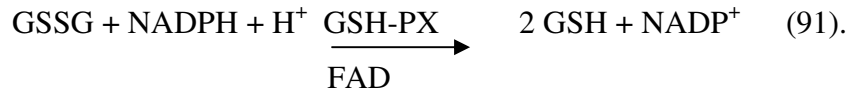


Şekil 10. Glutatyumun biyosentezi (91)

Glutasyonun indirgenmiş glutasyon (GSH) ve yükseltgenmiş glutasyon (GSSG) olmak üzere iki formu vardır. Aerobik koşullarda normal büyümenin ve metabolizmanın sonucunda oluşan toksik peroksitler uzaklaştırılırken eritrositlerdeki glutasyon (GSH) okside formuna (GSSG) çevrilir. Bu tepkimeyi selenyum atomu içeren glutasyon peroksidaz (GSH-PX) katalizler (91).



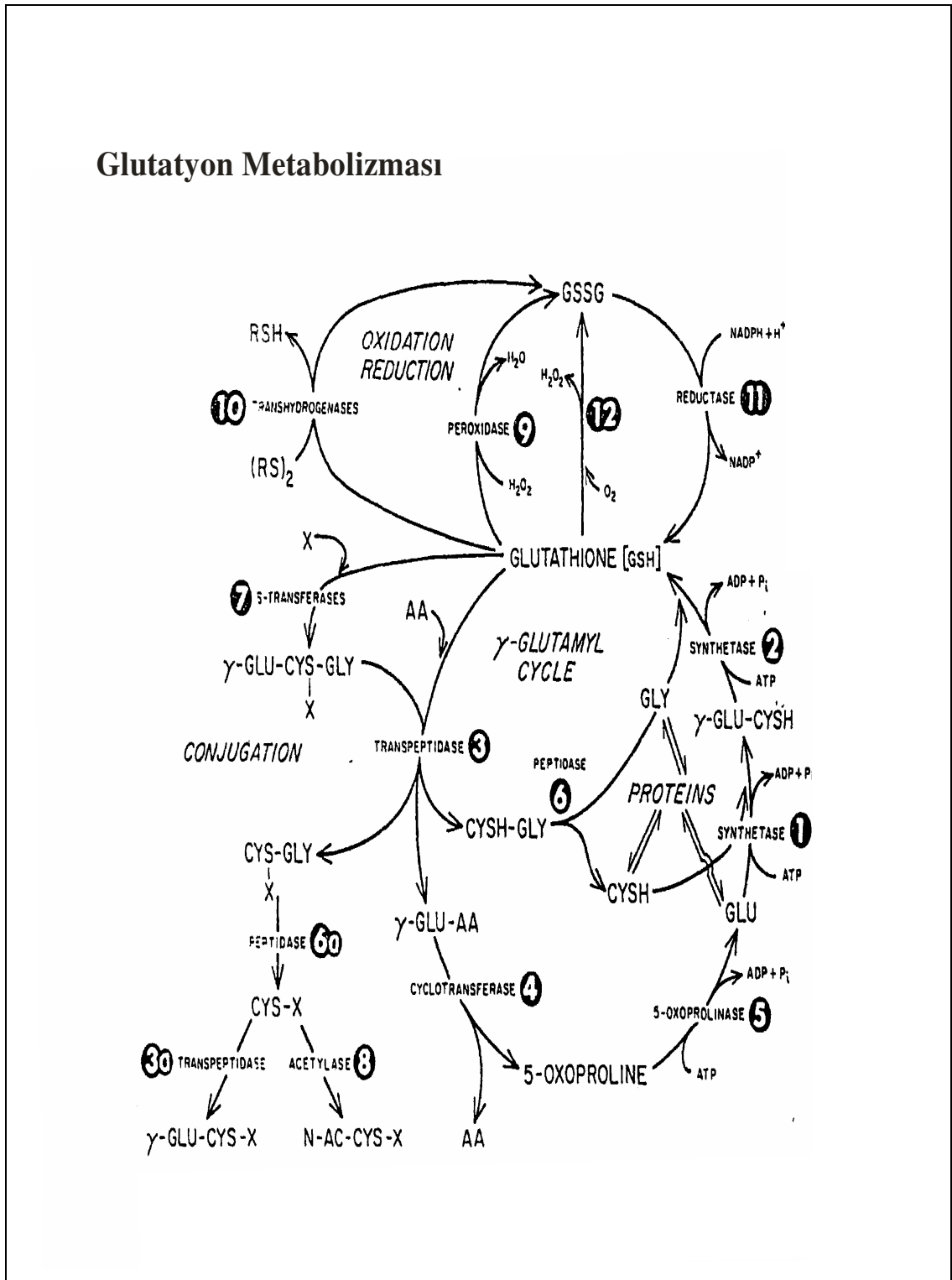
Okside glutasyon (GSSG), indirgenmiş formuna (GSH) dönüşülebilir. GSSG' den GSH dönüşümü yapılabilmesi için gerekli olan NADPH eritrositlerdeki pentozfosfat yolundan sağlanır. Bu tepkimede glutasyon peroksidaz enzimi katalizler.



GSSG' den GSH'ye dönüşümü yeterli düzeyde yapılmazsa toksik maddeler eritrositlerde birikerek oksidatif strese neden olur. Sonuçta zar lipidlerine çeşitli yapısal proteinlere zarar verir (92).

NADPH' in harcanmasıyla GSSG, GSH'a yeniden indirgenirken normal olmayan eritrositlerde glukoz-G- fosfat dehidrogenozin eksikliği NADPH'ın azalmasına neden olarak glutasyon indirgenmesi azalır, eritrosit parçalanır, hemoglobin oksitlenerek bozulur.

1.3.1.1. Glutasyon Metabolizması



Şekil 11. Glutasyon metabolizması (93).

GSH sentez yıkımını içine olan reaksiyon (1-5) ve Meister döngüsü olarak adlandırılan döngü ile aminoasitlerin hücre zarından transportu sağlanır. GSH ve GSSG yıkımını sağlayan gama glutamil transferaz (GGT), γ - glutamil-sistein, glutamit, methionin gibi aminoasitlere, suya veya glutatyona verilir. (Reaksiyon 3)

GSH, GGT ile etkileşerek, γ -glutamil siklo transferazın katkısıyla aminoasitlere ve 5-okso-L-proline dönüşür. (Reaksiyon 4)

5-oksoprolinaz ATP ile 5 –okso-L-prolini, L-glutamata çevirir. (Reaksiyon 5)

Peptidaz, sisteinil gilisini tekrar sistein ve glisine çevirir. (Reaksiyon 6)

GSH ve GSSG bazı bileşiklerde konjuge olurlar ve oluşan 5-konjugatların glutamat kalıntıları γ - glutamil transpeptidaz etkisiyle uzaklaştırılır. (Reaksiyon 3) Parçalanmayı takiben meydana gelen dipeptit (Reaksiyon 6) asetilasyon ile merkapturat' a (Reaksiyon 8) dönüşür.

Hücre içindeki GSH, GSH-PX enzimi ile GSSG' ye dönüşürken H_2O_2 ' ye indirgenmektedir. (Reaksiyon 9)

GSH transhidrojenasyonla GSSG ye dönüşür. (Reaksiyon 10) GSSG NADPH varlığında redükdaz' ın katalizi ile GSH'a dönüşür. (Reaksiyon 11)

GSH'ın GSSG'ye dönüşümü için O_2 gerekli olup H_2O_2 oluşmaktadır. (Reaksiyon 12) (93).

1.3.1.2. GSH' in Biyokimyasal Önemi

Glutasyon, hidrojen alıp verebilme özelliğinden dolayı redoks olaylarında, çeşitli enzim sitemlerinde, eritrositlerde hemoglobinin dönüşümsüz oksitlenmesinde, DNA ve protein sentezinde çeşitli rollere sahiptir (94,95).

Glutasyon serbest radikallere karşı organizmayı koruyan endojen bir antioksidandır. Glutasyon (GSH) hücrelerdeki serbest radikaller ile tepkimeye girerek

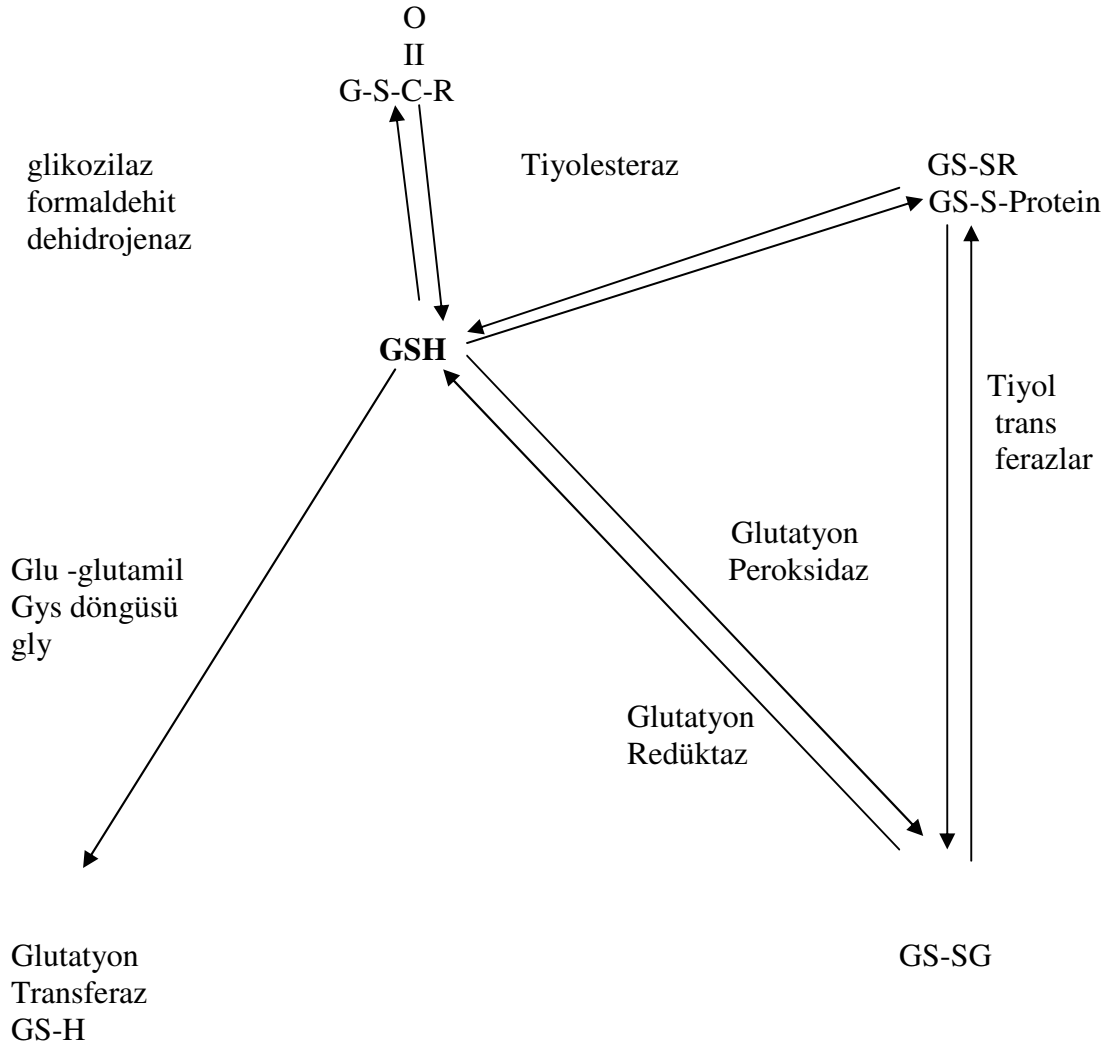
GSSG'ye dönüşür, böylece hücreyi serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı korur. Hücrede çeşitli sebeplerle oluşan serbest radikaller arttığı zaman GSH konsantrasyonu azalırken GSSG konsantrasyonu artmaktadır. Bu nedenle hücrelerde GSH konsantrasyonu azalıp, GSSG konsantrasyonu arttığında çeşitli hastalıkların habercisi olabilmektedir (93).

Glutatyonun organizmadaki biyolojik görevleri

1. Serbest radikal ve peroksitlerin yıkımı
2. Proteinlerdeki –SH gruplarının korunması
3. Organizmaya zararlı bileşiklerin detoksifikasyonu
4. Aminoasitlerin membran transportunda yer alması
5. Disülfit değişim reaksiyonlarına katılması
6. Bazı enzimler için koenzim görevi yapması.

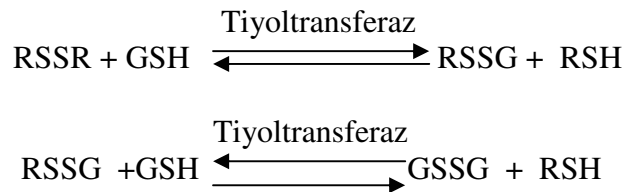
1.3.1.3. Glutatyona Bağlı Enzim Sistemleri

GSH oksijen metabolizması sırasında oluşan zararlı bileşiklerin detoksifikasyonunda GSH ve GSH'a bağlı enzim sistemleri önemli olup aşağıda özetlenmiştir.



Şekil12. Glutatyona (GSH)'a bağlı enzim sistemleri (70).

Tiyol grupları hücre içinde indirgenmiş haldedir. Sistein aminoasidi ve CoA'nın protein sentezi ve bir takım enzimatik reaksiyonlar için indirgenmiş halde bulunması gerekir.



Folmaldehit dehidrogenaz glikozilaza gelince, bu enzimler reaktif aldehitlerin inaktivasyonunu katalizlerler. Reaksiyon esnasında glutasyon tiyol grubu ile aldehit arasında bir tiyohemiasetal türevi meydana gelir. Glutasyon türevi enzimatik reaksiyon

ile bir tiyol estere dönüştürülür. Bu dönüşümde aldehit grubunun yükseltgenmesi, karboksilik asit yükseltgenme düzeyine eşdeğerdir. Kinetik çalışmalarına göre glutatyon formaldehit dehidrogenaz enziminin katalitik mekanizmasında esas aktivatör olarak görülmektedir (70).

1.3.1.4. Glutatyonun Tayin Yöntemleri

1.3.1.4.A. Spektrofotometrik Yöntem

Dokularda geniş bir dağılım gösteren ve bazı önemli biyolojik fonksiyonlara sahip GSH ve türevlerinin miktar tayini çalışmaları GSH'un ilk keşildiği yıllara dayanır. GSH indirgenmiş halde sülfidril ve oksitlenmiş glutatyon (GSSG) olarak da disülfid gruplarına sahip iki şekilde bulunur (82). GSSG'nin miktar tayini GSH'a göre daha güçtür. Bunun nedeni de GSSG'nin normal hücreler içinde ve düşük miktarlarda bulunuyor olmasıdır. GSSG'nin tayini genel olarak GSSG'nin kimyasal elektrolitik ve enzimatik olarak indirgenip GSH'a dönüşmesi ve oluşan GSH üzerinden saptanması esasına dayanır. Enzimatik indirgenme NADH veya NADPH tarafından maya glutatyon redüktazı varlığında oluşturulur. Daha sonra oluşan GSH, 2-nitro-5-benzoik asit ile kromoforik bir bileşik meydana getirir. Bu bileşiğin 412 nm'de spektrofotometrik olarak (ng) düzeyinde saptanması mümkündür (70).

1.3.1.4.B. HPLC Yöntemi

GSH, izokratik ters HPLC metodu ile tümör hücrelerinden sağlanan biyopsi materyalinde ölçülebilmıştır. Materyal sülfosalisilat çözeltisi ile ön işlemden geçirilir. GSH için konjugatlarını elde etmek amacıyla monobromobiman kullanılır. Floresans özellikli GSH konjugatları ters faz oktadesilsilan kolonundan elde edilir. İzokratik koşullar asetonitril/amonyumfosfat tamponu tetrabütülamonyum hidroksit ile sağlanır (70).

1.3.1.4.C. Fluorometrik Yöntem

GSH ve GSSG'nin fluorometrik tayinini oftalaldehit floresans bileşik kullanılarak geliştirmiştir. Bu yöntemde, glutasyon OPT ile pH:8 ve GSSG OPT ile pH:12'de reaksiyona girer. GSH N-etilmaleimit ile kompleks meydana getirir. Bu durumda GSSG'nin ölçümünde GSH'ın girişimi engellenmiş olur. Bu yöntemde GSH ve GSSG için verim %91-100 oranındadır (70).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Deneyde Kullanılan İnsan Materyali

Çalışmamız için gerekli olan kan örnekleri, çevremizde bulunan kişilerden ve Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Kliniğine gelen Alzheimer teşhisi konulmuş kişilerden temin edildi. Çalışma yaşları 65 ve 79 arasında değişen 15 sağlıklı ve 15 alzheimer hastası olmak üzere toplam 30 bireyde yapıldı. Hasta ve kontrol grubundaki kişilere tüm çalışma hakkında bilgi verildi. Hastalardan sabah aç karnına kan örnekleri alınmadan önce Standardize Mini Mental Test (SMMT) ve Klinik Demans Evreleme Ölçeği (Berg L 1984) uygulandı.

Hasta ve sağlıklı grup belirlendikten sonra Vena jugularıs'ten 10 ml'lik EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri 3500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek üstte kalan plazma kısmı kapaklı polipropilen tüplere alındı. Alınan bu plazmalar, manoldialdehit (MDA) düzeyleri belirleninceye kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Plazma kısmı ayrıldıktan sonra altta kalan kırmızı kan hücreleri üç defa serum fizyolojik ile yıkanarak eritrosit paketleri hazırlandı. Bu eritrosit paketleri yine kapaklı polipropilen tüplere alındı ve GSH düzeyleri belirleninceye kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklandı.

2.1.2. Çalışmada Kullanılan Aletler

- . Spektrofotometre (Tecan Spectre III ,A 5082, Uniequip,Austria)
- . Vorteks (Velp Scientifica, ZX³, Italy)
- . Santrifüj (Heliuss, Germany)
- . Çalkalayıcı (Heidolph promax 2020,Germany)
- . Hassas terazi (Precisa 205A SCS Switzerland)
- . PH metre (Orion, 420 A, USA)
- . Manyetik karıştırıcı (Nüve, MK 318, Türkiye)
- . Derin dondurucu (Arçelik, 2560, Türkiye)
- . Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)
- . Ayarlanabilir otomatik pipetler (0.5-10 ml, 10-100 ml, 100-1000ml, Ependorf,

Varipette 4710, Germany)

- . Isı ayarlanabilir su banyosu (Clifton, England)

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeleri

- . Etanol (Merck)
- . TBA (Siğma)
- . TCA (Merck)
- . DTNB (Siğma)
- . Perchloric asit %60 (Merck)
- . Trisma (Merck)
- . KCI (Merck)
- . NaOH (Merck)
- . Na₂HPO₄ (Merck)
- . Vakumlu ve EDTA 'lı kan alma tüpleri ve iğneleri (MN-2118M)
- . 1.5 ml'lik ependorf mikro santrifüj tüpleri
- . Otomatik pipet uçları
- . 10 ml'lik cam ve poly etilen santrifüj tüpleri

2.1.4. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler

- GSH Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler

Trisma

- . 48.46 gr Trisma
- . 1000 ml distile suda çözünür.
- . PH HCl ile 8.9'a ayarlanır.

TBA

- . 0,67 gr TBA
- . 60 ml % 10'luk perklorik asitte çözünür.
- . 100 ml distile su ile tamamlanır.
- . 4 °C' de saklanır.

% 10'luk TCA Çözeltisi

- . 10 mg TCA
- . Distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

DTNB Çözeltisi

- . 0.099 gr DTNB
- . 25 ml absolut metanolda çözünür ve koyu renkli şişede dolapta saklanır.

-MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler**TBA**

- . 0.67 gr TBA
- . 60 ml % 10'luk perklorik asitte çözünür.
- . 100 ml distile su ile tamamlanır.
- . 4 °C'de saklanır.

% 10'luk TCA Çözeltisi

- . 10 mg TCA
- . Distile su ile 100 ml'ye tamamlanır

Renk Ayıracı

. 3 kısım TCA +1kısım TBA

Serum Fizyolojik Su

2.2. Metod

Uygulanan metodların rutin hale getirilmesi için araştırmaya başlamadan önce gerekli ön çalışmalar yapıldı. Araştırmadan daha iyi sonuçların alınması amacıyla en duyarlı metodların kullanılmasına çalışıldı. Hemolizat hazırlanması metodlarda belirtildiği gibi yapıldı.

2.2.1. Plazma Lipit Peroksidasyonu (MDA) Tayini

Plazmada lipit peroksidasyonu (MDA) belirlemek için Placer ve ark. (96)'nın tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı.

2.2.1.1. Prensiptir

PH'ın 3.4 olduğu aerobik bir ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile üst kısımdaki organik tabakanın 100 °C'de inkübasyonu, lipit peroksidasyonunun sekonder birer ürünü olan (MDA) oluşmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturur. Pembe rengin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile lipit peroksidasyonu saptanır.

Standart eğri çizimi için 1,1,3,3 tetraethoxypropane'den 10 ml alındı. Daha sonra 10 ml Absolut etanolde çözünerek +4 °C'de koyu renkli bir şişede saklandı. Bu stok çözeltilerden farklı konsantrasyonlarda çalışma çözeltileri hazırlanarak standart eğri çizildi. Belirlenen absorbans değerleri MDA standart eğrisinden nmol/ml olarak hesaplandı.

2.2.1.2. Metod

Her tüpe 0,2 ml süpernatant üzerine 2 ml renk ayırıcı konuldu ve tüpler portüpe yerleştirildi. Tüplerin ağızlarına tıpa konularak 10 dk kaynar suda kaynatıldı. Tüpler kaynar sudan çıkarıldıktan sonra musluk suyu konulmuş bir kapta 10 dk bekletilerek soğutuldu. Kör içinde yine bir tüpe 0,2 ml serum fizyolojik ve 2 ml renk ayırıcı (3 kısım TCA +1kısım TBA) konuldu. Sonra tüpler 3500 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra tüplerin üzerindeki süpernatanttan 1ml alınıp quartz tüpe konularak 532 nm'de absorban değerleri okundu. Spektrofotometre köre karşı sıfırlandı (96).

2.2.2. Eritrositte GSH Tayini

Eritrositte GSH düzeylerini belirlemek için Sedlak ve Lindsay (97)'inin tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı.

2.2.2.1. Prensip

GSH'ın Sülfidril grubunun asitte çözünerek, tiyol grubunun enzimatik veya kimyasal işlemler ile ölçülmesi bu bileşiğin miktar tayininin temelini oluşturur. Belirlenen absorban değerleri GSH standart eğrisinden $\mu\text{mol/ml}$ olarak hesaplanır.

2.2.2.2. Metod

0,1 ml homojenizat alındı. Üzerine 0,5 ml % 10'luk TCA konuldu ve 3500 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatanttan 0,5 ml alınarak üzerine 2 ml Tampon II konuldu ve hazırlanan DTNB'den 01 ml konularak 5 dk bekletildi. 412 nm'de distile suya karşı okundu. GSH standartlarında aynı protokol gerçekleştirilerek çalışıldı ve standart eğri çizilerek miktar tayini yapıldı (97).

2.3. İstatistiksel Hesaplamalar

Kontrol grubu ve deney grubu arasındaki fark SPSS 16,0 yazılımı kullanılarak One sample t-testi ile analiz edildi. MDA ve GSH analiz sonucu $p < 0,01$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Önemli bir nörolojik hastalık olan Alzheimer hastalığının, kan lipid peroksidasyonu (MDA) ve GSH düzeylerini nasıl değiştirdiğini araştırmak için yapılan bu çalışmada kontrol ve deney grubu olmak üzere iki grup oluşturulmuştur. Gruptaki her bir bireyin eritrosit GSH ve plazma MDA düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları sırasıyla çizelge 1. ve 2.'de sunulmuştur.

Çizelge 1. Konrol grubu eritrosit GSH ve plazma MDA düzeyleri

Örnek no	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
MDA (nmol/ml)	7.72	7.50	7.39	8.91	8.48	6.74	7.61	7.83	8.69	8.37	6.03	7.10	6.90	7.28	7.31
GSH (µmol/ml)	5.77	6.83	5.29	6.78	7.02	6.83	5.19	6.25	6.68	5.82	5.19	6.78	5.91	5.66	6.01

Çizelge 2. Hasta grubu eritrosit GSH ve plazma MDA düzeyleri

Örnek no	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
MDA (nmol/ml)	5,43	8,80	11,96	10,43	13,59	11,52	4,35	6,52	7,17	8,80	10,98	8,26	9,46	7,06	7,83
GSH (µmol/ml)	5,19	4,90	5,67	4,57	5,62	5,43	5,86	6,49	5,67	8,23	5,29	7,65	6,06	9,35	8,35

Çalışmada Alzheimer hastalığı olan grup ile sağlıklı grup karşılaştırıldığında, sağlıklı grupta GSH değeri $6,13 \pm 0,65$ µmol/ml, hasta grupta ise $6,30 \pm 1,43$ µmol/ml olarak tespit edilmiştir. Yine sağlıklı grupta MDA değeri $7,59 \pm 0,78$ nmol/ml iken hasta grupta $8,81 \pm 2,55$ nmol/ml olarak bulunmuştur

Alzheimer' lı grubun eritrosit GSH düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p < 0,01$) göstermiştir. Aynı şekilde alzheimer'li grubun plazma MDA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı bir artış ($p < 0,01$) göstermiştir.

Kontrol ve deney gruplarına ait eritrosit GSH ve plazma MDA düzeylerinin ortalama, standart hata ve gruplar arasındaki önemi çizelge 3’de sunulmuştur.

		Kontrol	Deney	
	N	X± SD	X± SD	P
MDA(nmol/ml)	15	7,59±0,78	8,81±2,55	0,00
GSH(μmol/ml)	15	6,13±0,65	6,30±1,43	0,00

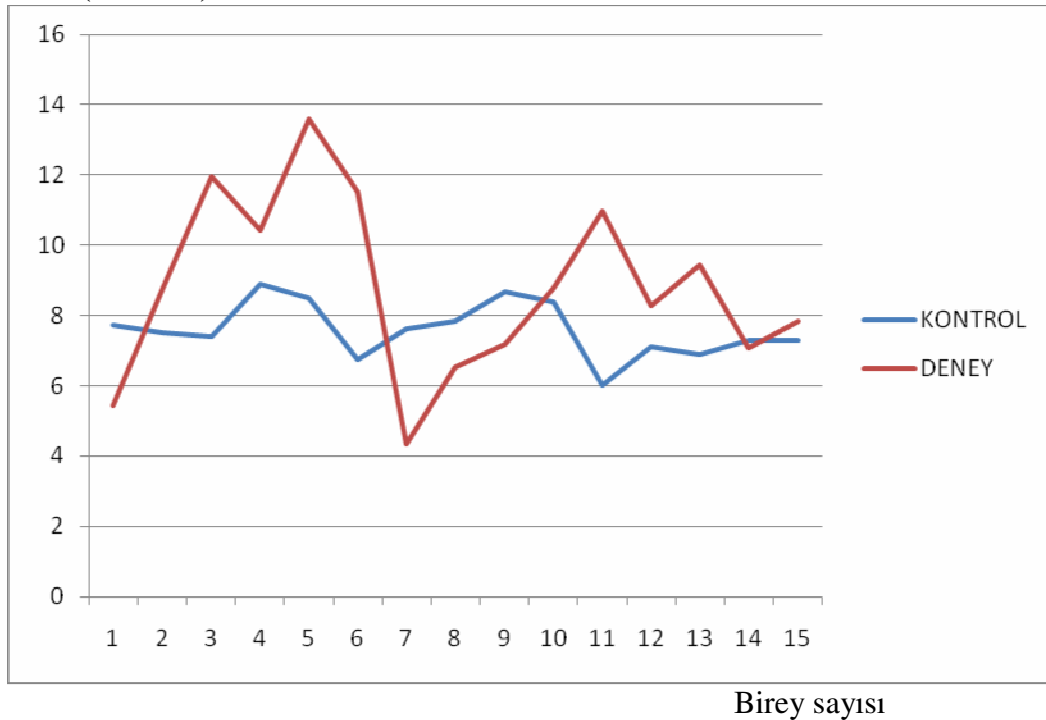
Çizelge 3. Gruplardaki eritrosit GSH ve plazma MDA değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

N: Her gruptaki birey sayısı

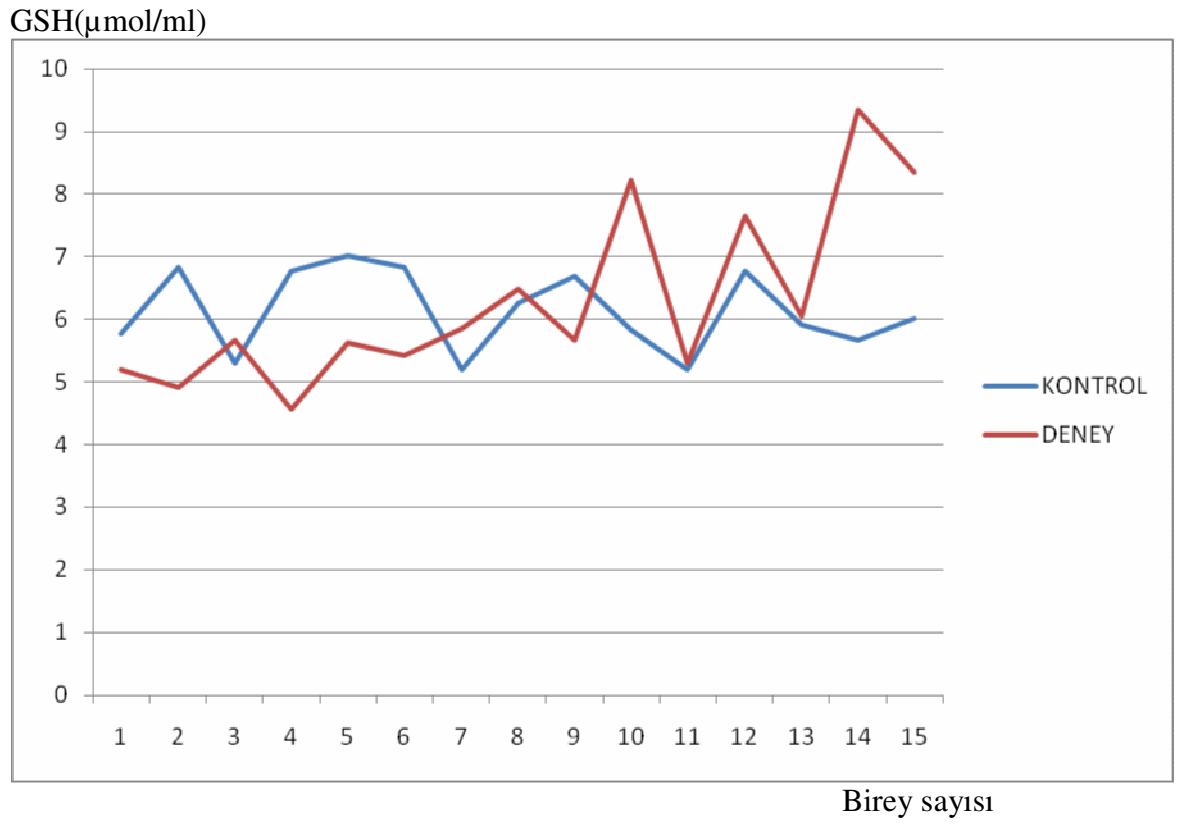
X± SD: Ortalama ± Standart sapma

Ayrıca gruplar arası GSH ve MDA düzeylerinin grafiksel olarak değişimi ise Şekil 13 ve 14’te gösterilmiştir.

MDA(nmol/ml)



Şekil 13. Kontrol ve deney gruplarına göre MDA düzeyleri



Şekil 14. Kontrol ve deney gruplarına göre GSH düzeyleri

4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Serbest radikallerin fazla üretilmesi ya da antioksidan mekanizmalarının zayıflaması olarak tanımlanan ‘oksidatif stres teorisi’ Alzheimer hastalığının patolojisinde yer almaktadır (74). Beyinde oksidatif stres, artan protein oksidasyonu, lipit peroksidasyonu, DNA ve RNA oksidasyonu olarak kendini gösterir (76).

Yapılan çalışmalarda Alzheimer hastalarında lipit peroksidasyon düzeyleri ve antioksidanlar değerlendirilmiştir. Alzheimer hastalığı ile MDA ve GSH arasındaki ilişkiyi araştıran yayınlara bakıldığında MDA ile ilgili çalışmalara yeterli sayıda rastlanmıştır, fakat GSH ile ilgili yeterli çalışmaya rastlanmamıştır. Bu yüzden biz de bu çalışmamızda Alzheimer hastalığının MDA ve GSH değerlerini ne ölçüde etkileyebileceğini araştırdık.

Serbest radikallerin hücreye verdiği hasarın bir göstergesi olan lipit peroksidasyonunun şiddetini belirleyen kriterlerden biri de MDA düzeyidir. Literatürlere göre Alzheimer hastalarında MDA düzeyinin sağlıklı insanlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (99). Çalışmamızda sağlıklı grupta MDA değeri $7,59 \pm 0,78$ nmol/ml, hasta grupta ise $8,81 \pm 2,55$ nmol/ml olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen MDA değerleri literatür çalışmaları ile benzerlik göstermektedir.

Delibaş ve ark. (2002)’nin yaptığı çalışmada 26 Alzheimer türü demans (DAT) hastası seçilip 5 yıl ara ile minimal ruhsal durum muayenesi (MMSE) uygulanıp, MDA ve GSH-Px düzeylerine bakılmıştır. Yapılan çalışmada 5 yıl sonunda bilişsel düzeylerde kötüleşme ve MDA düzeyinde artış olduğu görülmüştür. GSH-Px düzeyinde bir azalma gözlemlenmiştir. Sonuç olarak da DAT hastalarında MMSE ve MDA arasında önemli bir korelasyon gözlemlenmiştir (99). Bu çalışmada, MDA’nın yaş ve hastalığın şiddetine bağlı olarak arttığı görülmektedir. Biz de çalışmamızda bir defa olmak üzere plazma MDA düzeyine bakıp kontrollere göre önemli bir artış olduğunu saptadık. Delibaş ve ark.’nin yaptığı gibi bizde hasta grubumuz ile belirli bir yıl aralığından sonra tekrar plazma MDA düzeylerine baksaydık aynı artışı

gözlemleyebildik. Çalışmamızdaki hasta sayısının az olması nedeniyle yaş grupları oluşturulamamış MDA ile yaş arasındaki korelasyon kurulamamıştır.

Bermejo ve ark.(1997)'nin yaptığı çalışmada Alzheimer tipi demans hastalarında MDA düzeyleri kontrol gruplarına göre yüksek bulunmuştur ($P<0.01$). Bunun sonucunda Alzheimer hastalarında MDA konsantrasyonlarının oksidatif hasarın bir belirteci olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (100). Yapılan bu çalışmada eritrosit içi MDA düzeyi yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve Tiyobarbitürik asit testi (TBA) yöntemleri ile belirlenmiştir. HPLC yönteminin TBA yönteminden daha iyi olduğu da anlaşılmıştır. Çalışmamızda plazma MDA seviyesi TBA testi ile değerlendirildi ve MDA seviyesinde önemli bir artış tespit edilmiştir.

Casado ve ark.'nın Alzheimer demans (AD) ve vasküler demans (VD) hastalarında lipit peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine yapılan çalışmada 50 AD, 50 VD ve 50 kontrol grubu olmak üzere 150 kişi üzerinde çalışılmıştır. Her 3 gruptaki kişilerden; 65/74 yaş arası, 75/84 yaş arası ve 85/94 yaş arası olmak üzere 3 grup oluşturulmuştur. Alzheimer demans ve vasküler demans hastalarında yaşa bağlı antioksidan enzim seviyelerinin düştüğü MDA seviyesinin arttığı tespit edilmiştir ($P<0.001$). Sonuç olarak oksidatif stresin beyinde önemli bir hasara neden olduğu sonucuna ulaşılmıştır (101). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuç Casado ve ark.'nın elde ettiği sonuçtan daha anlamlıdır. Bizim çalışmamızdaki bireyler orta seviyedeki Alzheimer hastalarından, Casado ve ark.'nın çalışmasındaki bireyler ise düşük seviyedeki Alzheimer hastalarından oluştuğu için böyle bir sonuca ulaşılmıştır.

Aybek ve ark. (2006) Apo E-4 alleleline sahip geç başlangıçlı Alzheimer hastalarında oksidan- antioksidan dengesinin araştırıldığı çalışmada; MDA düzeyinin Apo E-4 allelin grup ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($P<0.0001$) (102). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz fark daha anlamlıdır. Bunun nedenini Kars'ta yaşayan bireylerin daha fazla et ağırlıklı beslenmeleri, Denizli'de yaşayan bireylerin ise daha fazla bitkisel ağırlıklı beslenmeleri olabilir fakat çalışmamızda Apo E-4 alleli grup belirlenerek çalışılmamıştır.

Zhiyeou ve ark.(2008) Atorvastatin tedavisinin Alzheimer hastalarındaki oksidatif stres üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada hastalar 4 gruba ayrılmıştır. Normal kan lipit düzeyindeki Alzheimer hastası (A), yüksek kan lipit düzeyindeki Alzheimer hastası (AH), atorvastatin tedavisi gören normal kan lipit düzeyindeki Alzheimer hastası (AT), atorvastatin tedavisi gören yüksek kan lipit düzeyindeki Alzheimer hastası (AHT). Bu gruplardaki MDA düzeylerine bakılmış ve sonuçta en düşük MDA düzeyi atorvastatin tedavisi gören normal kan lipit düzeyinde olduğu gözlenmiştir (103). Bu çalışma sonucunda MDA, kan lipit düzeyi ile artmakta ve atorvastatin tedavisi MDA düzeyinin ise azalmış olduğu anlaşılmıştır. Çalışmamızda kan lipit düzeyleri belirlenerek bir değerlendirme yapılsaydı daha net sonuçlara ulaşılabilirdi. Kars'ta yaşayan hastalarımızın kan lipit düzeyleri, hayvansal kökenli gıdalarla beslendikleri için yüksek olacağından bu beslenme tutumunun MDA düzeylerinin yüksek olmasına yol açabileceğini düşünmekteyiz.

Bazı çalışmalar Alzheimer hastalarında GSH seviyesinin sağlıklı insanlara oranla daha düşük olduğunu bildirmektedir. Alzheimer hastalarında serbest radikallerin etkisi sonucu antioksidan kullanımı artmakta, bunun sonucunda da antioksidanların düzeylerinde azalma olduğu bildirilmiştir (2). Çalışmamızda da GSH değerlerinde bir artış olduğu gözlenmiştir. Sağlıklı grupta GSH değeri $6,13 \pm 0,65$ $\mu\text{mol/ml}$, hasta grupta ise $6,30 \pm 1,43$ $\mu\text{mol/ml}$ olarak tespit edilmiştir. Alzheimer hastalığında asetilkolin seviyesi düşüşüne bağlı olarak glutatyon düzeyinde de azalma olması beklendiği bildirilmektedir (104). Buna bağlı olarak çalışmamıza katılanlarda kullanılan ilaçların asetilkolin düzeyini yükseltmesi ve bu yükselen asetilkolinin glutatyon sentezi için gerekli olan sistein amino asidini sağlaması ile glutatyon sentezinin artmış olacağı düşünülmektedir. Bunun dışında çalışmaya dahil edilen hastaların besin tüketim alışkanlıklarındaki farklılıkların da glutatyon düzeyini etkilediği görülmektedir. Ayrıca serbest radikaller hastalık oluşmasında etkili olduğuna göre organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için glutatyon seviyesinin buna paralel olarak artabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak Alzheimer hastalığının lipit peroksidasyonuna neden olarak MDA seviyesini arttırdığı tespit edildi. Alzheimer hastalığı antioksidan seviyesini azaltmaktadır fakat kullanılan ilaçların asetilkolin düzeyini yükselterek GSH seviyesini arttırdığı tahmin edilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Akyar, İ.; Alzheimer hastalarına bakım verenlerin yaşadığı güçlükler. Hacettepe Ün. ANKARA - 2006
2. Örmən, M.; Parkinson ve Alzheimer hastalarında anti-oksidan parametrelerin serum da incelenmesi. 9 Eylül Ün. İZMİR - 1979
3. Yüksel,M., Haklar,G., Yalçın , S.; Deneysel Alzheimer hastalığı modelinde reaktif oksijen türleri ve nitrik oksit düzeyleri. Geriatri derg.5(2);39-43 2002
4. Öz babalık, D.; Alzheimer demans ve serebral iskemi. Türk serebrovasküler hast.Derg. 2007 13;2;33-35
5. Taylan, N.; Hiperkolesterolemi ve Alzheimer arasındaki ilişkinin moleküler mekanizmasının ve vitamin E rolünün incelenmesi. İstanbul Üniversitesi 2007
6. Selekler ,K.; Alzheimer hastalığında koruyucu faktörler varmı.Geriatri 1(2);63-67 1998
7. Çiğremiş ,Y.; Sigara tiryakilerinde eritrosit içi süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon, peroksidaz aktivitelerinin araştırılması. İnönü Ün. MALATYA 1997
8. Dağlı ve arkadaşları.; Metilglioksal verilen ratlarda karnozinin antioksidan özelliklerinin incelenmesi. Sağlık Bilimleri Derg.14(3) 198-204 ,2005
9. Revan ,S.; Farklı dayanaklılık ve atremanların oksitadif stres oluşumu ve antioksidan düzeyleri üzerine etkisinin araştırılması. Gazi Ün. ANKARA 2007
10. Güven,A.; Kaz karaciğerinde karbontetraklorür ve etil alkol ile oluşturulan doku hasarında GSH,GST ve Se düzeylerinin araştırılması. Kafkas Ün. KARS 2005
11. Ceylan ve arkadaşları; Serbest radikaller ve anestezi. Sendrom Derg. 1996
12. Çiğremiş,Y.; Kronik alkol ve sigara kullanımına maruz bırakılan erkek ratların böbrek dokularının histopatolojik ve MDA,NO,XO,MPO,GSH yönünden incelenmesi. İnönü Ün.2003,
13. Gülbayzar,S.; Yeni doğan bebeklerde kord kanında manoldialdehit (2007)
14. Karafakıoğlu,Y.; Nonilfenoltoksikasyonuna maruz bırakılan ratlarda taurinin, Manoldialdehit,GSH-Px Dismutaz ve nitrik oksit üzerine etkisinin incelenmesi. Kocatepe Ün. AFYON 2007
15. Başgül, E. Karagöz, H. ; Alzheimer Hastalığı ve Anestezi. Anestezi Dergisi 14 (4): 228-231
16. Johson,J.K., Head E., Kim,R., Star,A. CotmanC.W.; Frontal Bir Alzheimer

- Hastalığı Varyantına İlişkin Klinik ve Patolojik Kanıt. Arch neyron 56:1233-9 (1999)
17. Işık,E., Erkeç, C.; Demans in: Işık E.ed.Organik Psikiyatri. İstanbul Tayf Matbaası 73-166 (1999)
18. Prof. Dr. İlkin İçelli Demans ve Komobid Durumları. Psikiyatri Dünyası 5:49-54 (2001)
19. Selekler K. Alzheimer Hastalığı: Patoloji, klinik, tanı ve ayırıcı tanı. Modern Tıp Semineri. 26. Alzheimer ve diğer demanslar. Ed. Kaynak Selekle Ankara: Gümüş Kitapevi Ltd.Sti.(2003)
20. Rocca,W.A.Hofman,A., Bryne,C. ve arkadaşları; frequency and distribution of Alzheimer's disease in Europe: a collaborative study of 1980-1990 prevalence findings The EURODEM Prevalence Research Group Am.nevrol: 30(3): 381-90(1991)
21. Evans,D.A., Funkenstein, H.H., Albert, M.S. Prevalence of Alzheimer's disease in a community population of older persons. Higher than previously reported. JAMA; 262:2551-2556 (1989)
22. Goedert, M. Spillnati, A.,century of Alzheimer's disease.Science, 314 (5800) :p.777-81 (2006)
23. E.Eker Alzheimer Hastalığı ve Diğer demanslar Türkiye Klinikleri DAHili Tıp Bilimleri psikiyatri 1(29):3-16 (2005)
24. Mendez, M.F., Underwood, K.L.Zander, B.A., Mastri, A.R., Sung, J.H., Frey, W.H.: Risk Factors in Alzheimer's Disease: A Clinicopathologic Study Neurology 42:770-775 (1992)
25. Bird, T.D.: Ailevi Alzheimer Hastalığının Klinik Genetiği, Alzheimer Hastalığı, Terry,R.D., Katzman,R., Bick,K.L.,Sisodia SS(Ed). Guruit(H) (Çeviri Editörü) İstanbul Yelkovan yayıncılık 57-66 (2001)
26. Glenner, G.G., Wong,C.W.; Alzheimer disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloidprotein Biochem Biophys. Res Commun 120:885-90 (1984)
27. Cuts, M.,Van Dujin, C.M., Backhovens,H., ve ark. Estimation of the genetic contribution of presenilin-1 and -2 mutations in the population based study of presenile Alzheimer disease, Hum Mol Genel 7,43,51 (1998)

28. Tsohor.Y., Josephs K.A. Cooksson N., Dickson D.W.; Apolipoprotein E. Epsilon 4 allele. AD pathology and clinical expression of Alzheimer's disease Neurology 60 (2) :240-5 (2003)
29. Blacker D., Bertram,L., Savders,A.; Results of a high-resolution genome screen of 437 Alzheimer's disease families Hum Mol Genel 12:23-32 (2003)
30. Henderson, V.W.; Estrogen cannition and a woman's riks of Alzheimer's disease, Am I Med 103(3A):11-8(1997)
31. Solerte, S.B., Fioravanti, M., Racchi, M., Trabucchi,M., Zanetti,O., Govoni, S., Menopause and estrojen defieiciency as a risk factor in dementing illiness, hypothesis on ths biological basis maturitas 31 (2) :95-101 (1999)
32. Rice, M. M., Graves,A.B., mc Curry, S.M., Larson, E. B.; Estrogen replacement therapy and cagnitive function in postmenopavson women without dementia amjmed 103 (3A) : 26-35 (1997)
33. Genazzani, A.R., Spienetti, A., Gallo., Bernardi, E., Menopause and the cenrol neruous system intervention options Maturites 31:103-10 (1999)
34. Kawas, C., Gray, S., Brookmeyer, Fozord, J., Zaderman, " Age specific incidence rates of Alzheimer's disease; The Baltimore Logitudial Study Neurology, 54,2072-1077 (2000)
35. Geguli, M., Dodge, H. H., Chen, P., Belle, S., Dekosky, S. T. Ten years indidence of dementia in a rural elderly US community population: the movies Project. Nevrology 54(5) :1109-16 (2000)
36. Kurt, G., Bora Tokçaer, A., İrkeç, C.; Alzheimer Hastalığn' da Genetik Dışı Etiyolojik faktörler. T. Klinik Nöroloji 2003 , (42)
37. Baysal, A. İ., Yeşilbudak Z., Alzheimer Hastalığının Klinik Bulguları. Türkiye Klinik Nöroloji 2003.(1)
38. Altan, N., Koca., Alzheimer Hastalığında Biyokimyasal Mekanizmalar. T. Klinikleri Nöroloji 2003 (23)
39. Yener G.; Alzheimer Hastalığı ve Frontal Lob Demansın Ayırt Edilmesinde Kantitatif EGG ve Xenon 133-Spect ile ilişkisi, D.E.Ü.T.F. Nöroloji ABD. Uzmanlık Tezi (1994)

40. Harper Biyokimya: Alzheimer hastalığının etiopatogenezi katılan diğer faktörler. Murrey RK, Graner DK, Mayer P, Rodwell V, (Ed). Dikmen N., Özgünen T. (Çeviri Editörü). Nobel Tıp Kitapevi 2004:844-843

41. Karakaş, S., İrkeç,C.; “ Alzheimer Hastalığı Kliniğinin Nöropsikolojik Profili” T.Klinik.5.Nevr (2003) 1

42. AHAF, Cross Section of Normal and Alzheimer’s Brain. Erişim 05/04/2007 about Alzheimer’s American Health Assistance Foundation: <http://www.AHf.org/alzdiz/about/BrainAlzheimer.htm>

43. AHAF, Amyloid Plaques and Neurofibrillary Tangles About Alzheimer’s, American Health Assistance Foundation: <http://www.AHaf.org/alzdis/about/AmyloidPlaques.htm>.

44. hardy J., Selkoe D.J.; The Amyloid Hypothesis Alzheimer’s Disease: Progress and Problems on the Road to Theapeutics Science, 297:353-356, 2002

45. Johnson, G.V.W., Stotthoff, W.; Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction Journal of cell Science, 117:5729, (2004)

46. Auila, J., Lucas, J.J., Perez, M., hernandez, F.; Role of Tau Protein in Both Physiological and Pathological Conditions Physiological Review, 84:361-384 (2004)

47. Mesulam, M.; Davranışsal ve Kognitif Nörolojinin ilkeleri Çeviri Editörü İ. Hakan Gurvit Oxford University Pres.Inc.Yelkovan Yayıncılık (2004)

48. Brion, J. P.; Neurofibrillarytangles and Alzheimer’s disease Evr Neurol 1998.40(3): p. 130-40

49. Selekler, K.; “ AH hastalığı öncesi hafif kognitif bozukluk” Hacettepe Tıp Dergisi 35:199-206 (2004)

50. Karakaş. S., Yalın A., Irak, M., Erzenin, Ö.U.; Digitspan changes from puberty to old age for different levels of education. Developmental neuropsychology 22(2) 423-53. (2002)

51. Karakaş S. Bellek Nedir? Belleğin güçlendirilmesi. Populer Bilim, 68, 22-4 (1999)

52. Karakaş S., İşleyen Bellek Unutmaz. Tempo 33(610) 58-60(1996)

53. Karakaş S., Can,H.; “Bilişsel Alzheimer Tipi Demansa Bağlı değişiklikler. Klinik Psikiyatri 8:37-47 (2005)

54. Media,J.; What you need to know about Alzheimer’s. Hong Kong: New

harbinger Publ (1999)

55. Argiman, J. M., Limon, E; Vila J ve ark. Health related quality of life in carer's of patients with demontia from Pact 21:454-7 (2004)

56. Rees, J., O' Boyle, C., Macdonagh, R.; Quality of life impact of chronic illness on the partners Royal Soc Med 94:563-6 (2001)

57. Yalçın, E.; Yalçın, M.; Dikici, F. M.; ŞAHin, E.M.; “ Alzheimer Hastasıyla Yaşamak” Türk Aile Hek. Derg. 9(4): 167-173 (2005)

58. Hodges, J.R., Salmon D.P., Butters N. Recognition and namig of famus faces in Alzheimer's disease: o congntive analysis. Neuropsychologica, 31:775-788 (1993)

59. Almkuist, O.; neuropsychologica features of early Alzheimer's disease; preclinical and clinicd stages. Acta neurol Scand Suppl 165:63-71 (1996)

60. Slater, F. T.; Free Radical Mechanisms in Tissue İnjury, Biochem. J. , 222, 1-15 (1984)

61. Akkuş, İ. Sernest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya:Mimoza Yayınları (1995)

62. Akyol, Ö., Şizofrenie Oksidatif stres- Kocatepe Tıp Dergisi % /ek sayı 1) 15-25 (2004)

63. Güzel, N. A., Sıçanlarda Akut ve Kronik Egzersizde Askorbik Asit Yüklemesinin Lipit Peroksidasyonuna ve Antioksidan Sisteme Etkisi. Doktora. Ankara. Gazi Üniversitesi (2001)

64. Marini, M., Frabetti, F., Musiani, D., Franceschi, C., Oxygen radicol induce stres proteins and tolerance to oxidative stres in human lymphocytes. Int J Taiat Biol 70:337-50 (1996)

65. Cros C .E, Halliwell, B., Borish, E .T., Pryor, W. A., Ames, B. N., Saul, R. L., McCord, J. M., Harman, D., “Oxygen Radical and Human Disease”, Ann İtern. Med., Oct. 107(4):526-545 (1987)

66. Memişoğulları, R.;Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidan etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi .3 :30-39 (2005)

67. Cheseman, K. H., Slater, T. F.; An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull 49(3) : 481-93 (1993)

68. Banarje, A. K., mandol, A., Chanda, D., Chakraborti, S., Oxident, antioxidant and physicol exercise. *Md Cell Biochem* 253 (1-2): 307-12 (2003)
69. Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T, Hastalıkların tedavisinde reaktif oksijen partikülleri ve antioksidanlar *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantosyon Dergisi* 3-4:96-101 (1997)
70. Güven, A., “ Kaz Karaciğerlerinde Kabonteraklorür (CCl₄) ve Etil Alkol (C₂H₅OH) ile oluşturulan Doku Hasarlarında Redükte Glutasyon (GSH), Glutasyon – S – Trasferoz (GST) ve Selenyum (Se) Düzeylerinin Araştırılması” Doktora tezi, Kafkas Üni. (2003)
71. Radak, Z., Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Ohno, H., Savari, M., et al. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins and DNA in ratskeletal mescle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic Biol Med* (1-29: 69-74(1999)
72. Çakatay, U., Kayalı, R.,; Protein oksidasyonunun klinik önemi *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 35 (3) : 140-9(2004)
73. Wallace, S. S.; biological consequences of free radical damaged DNA basses. *Free Radic. Biol Med* 1-14 (2002)
74. Bulut, S.; Alzheimer Hastalığında Oksidatif Stres T. *Klinik Noroloji* 2003 (1)
75. Russel, J., Oksidative processes and antioksidative defence mechanisms in the aging brain, *FASEBJ* 526-533 (1995)
76. Butterfield, D. A.; Amyloid beta-peptido (1-42) indiced oxidative stres and neurotoxicity: implications for neurodegeneration in Alzheimer’s disease brain. *Dree Radical Research* 36, 1307-1313 (2002)
77. Varadarajan, S., Yatin S., Aksenova M., Butterfield D. A.; Alzheimer’s myloid B-peptide-associated free Radical oxidative stres and neurotoxicity *Journal of Structural Biology*, 130:184-2008 (2000)
78. Liu, Q., Smith, M. A., avila, J., De Bernardis, J., Kansal, M., Takeda, A., Zhu, X., Nunomuro, A., Honda, K., Moreira, P., Olivera, C. R., Santo, M. S., Shimohara, S.; Alzheimer specific epitopes of tau represent lipit peroxida tion- induced conformations, *Free Radical Biology and Medicine* 38:746-754(2005)
79. Yerer, M. B., Aydoğan, S., ”Oksidatif stres ve antioksidantlar”, *Erciyes Üniv. Sağlık Bilimleri Dergisi* 9 (1) 49-53 (2000)

80. Halliwell, B., Chirico, S.; lipid peroxidation; it's mechanism, measurement and significance. *Am.J.Clin. Nutr.* 57:715-725 (1993)
81. Gönenç, A., Özkan, Y. Torun, M.; Plazma Manadialdehyde (MDA) levels in breast aand lung cancer patients. *J.Clin Phamacol and Therapeutics* 26:141-144 (2001)
82. Murray, R. K., Gronner, D. K., Mayes, R. A., Rodwell, V. W., “ Fiyolojik Öneme Sahip Lipitler”, Harper Biyokimyası 24. Baskı, Çev. Diknan, N., Özgüven, T., Barış Kitapevi, İstanbul (1996)
83. Yoneyama, Y., Sawa, R., Suzuki S., Dai, D., Yoneyama,K., Otsubo, Y., Araki,T., “ Relationship Between Monodialdehyde Levels and Adenosine Diamminase Activies in preeclampsia”, *Clin. Chim. Acta.* 322:169-173 (2002)
84. Ermiş, B., Yıldırım.A., Ors. R., Taştekin, A., Özkan B., Akçay F.; “İnfluence of smoking on serum and milk MDA, SOD,GSH-PX and antioxidant potential levels in mothers at the pasportum seventh day” *Andrologia* 2005 37 (4):119-124
85. Özden M., Maral, H., Akaydın, D., Çetinalp, P., Kalender, B.; “Erythrocyte glutathiane peroxidase activity plasma manoldialysis and CAPD pateiens” *clinicol Biochemistry*, 2002, 35:269-273
86. Montihe T. J., Neely M. D., Quinn J. F., Beal M. F., markesbery W. R., Roberts L. J., Morrow J. D.; Lipit peroxidation in aging brain and Alzheimer's Disease *Free Radical Biology and Medicine* 33:620-626 (2002)
87. Barnham K. J., Masters C. L., Bush A. I.; Neurodegenerative diseases and oxidative stres. *Natue Reviews Orug Discovery*, 3: 205-214 (2004)
88. Yalçın, A. S.; Antioksidamşar. *Klinik Gelişim* 1998; 11 (1-2): 342-6
89. Sen CK. Oxidans and antioxidants in exercise. *J. Appl Physial* 79 (3): 675-86 (1995)
90. Barmley, P. M.; Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F. J., Manios, Y., Vitamin E (review).*J. Sci.food Agric.* 80:913-938 (2000)
91. Nelson, D. L., Cox, M. M.; “Kreatin ve Glutatyon Biyosentezi için Aminoasitler gereklidir.” *Lehninger Biyokimyanın İlkleri* 3. Baskı Çev: Kılıç, Prof Dr. Necdet Palme Yayımcılık, Ankara (2004)
92. Ambrosia, G., Santora, G., Tritto., I., et al., “ Effects of is chemia and reperfusion an cardiac toleranc to axidative stres”, *Am J., physiol* 262:H23-H30 (1992)

93. Meister, A., Anderson, M.E.; "Glutathione", *Ann, Rev. Biochem.*, 52:711-760 (1983)
94. Ası, T., "Tablolarda biyokimya", Cilt " , syf:222 (1996)
95. Deneke, S. M., Fanburg, B. L., "Regulation of cellular glutathione", *Am J., Physiol.*, 257:L163-L-173 (1989)
96. Placer ZA., Cushman LL., Johnson BC., "Estimation of Product of Lipid Peroxidation (Malondialdehyde) in Biochemical Systems" , *Anal.Biochem.* 16,359-364,(1966)
97. Sedlak J., Lindsay R. H., "Estimation of Total Protein-bound and Non-protein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent", *Anal.Biochem.*,25:192-205,(1968)
98. Yalçın, E. ,Yalçın B. M., Dikici, F. M.,Şahin, E. M.; Alzheimer hastası ile yaşamak.*Türk Aile Hekimliği Dergisi* 9(4):167-173(2005)
99. Delibaş, N., Özcankaya R., Altunbaş İ.; Clinical importance of erythrocyte malondialdehyde levels as a marker for cognitive deterioration in patients with dementia of Alzheimer type:a repeated study in 5-year interval.*Clinical biochemistry* :35(2) 137-141 (2002)
100. Bermejo, P., Gomez,S. P., Santos, J. Pastor, E., Gil, P., Martin-Aragon S. Determination of malondialdehyde in Alzheimer's disease: A comparative study of high-performance liquid chromatography TBA test .*43(4):218-222 (1997)*
101. Casado, A., Encarnacion, Lopez-Fernandez M, Concepcion Casado M, de la Torre R. *Neurochem Res.* Mar;33(3):450-8 (2008)
102. Aybek, H., Ercan, F., Aslan, D., Şahiner, T.; Determination of malondialdehyde, reduced glutathione levels and APOE4 allele frequency in late-onset Alzheimer's disease in Denizli, Turkey.*doi:10.1016/j.clinbiochem.*(2006)

103. Zhiyou, C., Yong, Y., Yonglong, W.; Atorvastatin attenuates oxidative stress in Alzheimer disease. Journal of medical Colleges of PLA Published by Elsevier Pte Ltd. (2008)

104. Yüksel, N.; Alzheimer hastalığının İlaçla Tedavisi. Klinik Psikiyatri :3: 137-141 (2000)

6. ÖZGEÇMİŞ

Aydın ilinin İncirlioiva ilçesinde 1973 yılında doğdu. İlk ve orta öğrenimini ilçede tamamladıktan sonra 1991 yılında İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü kazandı 1995 yılında ikincilikle Kimya Öğretmeni olarak mezun oldu. 1995 yılında Fen Bilgisi Öğretmeni olarak Bursa'da göreve başladı. Aydın, Erzincan, Tekirdağ ve Çanakkale olmak üzere çeşitli yerlerde görev yaptı. Halen Kars Hüsni M. Özyeğin Anadolu Lisesinde Kimya Öğretmeni olarak görev yapmaktadır. 2007 yılında Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü genel Kimya Bölümünde yüksek lisansa başladı. Evli ve bir çocuk annesidir.