TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE TOSİLİZUMAB'IN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ERSİN ASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. H. Kübra Elçioğlu

İSTANBUL-2014

TEZ ONAYI

Kurum	: Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi	: Yüksek Lisans
Anabilim Dalı	: Farmakoloji
Tez Sahibi	: Ersin ASLAN
Tez Başlığı	: Deneysel Alzheimer Modelinde Tosilizumab'ın Etkilerinin Araştırılması
Sınav Yeri	: Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ab.D.
Sınav Tarihi	: 05.12.2014

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	**Kurumu**	**İmza**
Doç. Dr. H. Kübra ELÇİOĞLU	Marmara Üniversitesi	

Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı

Yedek Jüri Üyeleri

Doç.Dr. Mesut SANCAR	Marmara Üniversitesi
Prof. Dr. Levent KABASAKAL	Marmara Üniversitesi

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 10/12/2014 tarih ve 32 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

-Sınav evrakları 3 iş günü içinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.
-Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

ERSİN ASLAN

I. TEŞEKKÜR

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-YLP-120613-0241 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda desteğini esirgemeyen, bilgi ve önerilerinden yararlandığım, öğrencisi olmaktan onur ve mutluluk duyduğum değerli hocam Sn. Prof. Dr. Levent Kabasakal'a ve tez danışmanım Sn. Doç. Dr. H. Kübra Elçioğlu'na, ve Farmakoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Bütün meslek hayatım boyunca desteğini esirgemeyen aileme de teşekkürü bir borç bilirim.

II. İÇİNDEKİLER

I. TEŞEKKÜR ii
II. İÇİNDEKİLER iii
III. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ v
IV. ŞEKİL, RESİM ve TABLOLARIN LİSTESİ vii

1. ÖZET 1
2. SUMMARY 2
3. GİRİŞ ve AMAÇ 3
4. GENEL BİLGİLER 5
4.1. Alzheimer Hastalığı 5
4.1.1. Tarihçe 5
4.1.2. Epidemiyoloji 6
4.1.3. Risk faktörleri 6
4.1.4. Genetik 8
4.2. Alzheimer Hastalığındaki Fizyopatolojik Değişiklikler 9
4.2.1. Amiloid beta agregasyonu ve plak oluşumu 11
4.2.2. Tau hiperfosforilasyonu ile nörofibriler yumak oluşumu 12
4.2.3. Oksidatif stres 13
4.2.4. İnflamasyon ve gliozis 14
4.2.5. Nitrik oksit 15
4.2.6. Sinaptik disfonksiyon ve sinaps kaybı 15
4.2.7. Nöron kaybı 16
4.2.8. İnsülin direnci 17
4.2.9. Kolinerjik innervasyon kaybı ve diğer nörotransmitter sistemler 18
4.3. Alzheimer Hastalığı Patojenezinde Rol Alan Hipotezler 21
4.3.1. Amiloid kaskad hipotezi 22
4.3.2. Tau hipotezi 23
4.3.3. Kolinerjik hipotez 23
4.4. Hastalığın Tanısı ve Evreleri 24
4.5. Alzheimer Hastalığında Semptomatik Tedavi ve Diğer Yaklaşımlar 25

4.5.1. Kolinesteraz inhibitörleri 26
4.5.2. N-Metil-D-Aspartat antagonistleri 28
4.5.3. Diğer tedavi yaklaşımları 29
4.6. Deneysel Alzheimer Modelleri 39
4.6.1. Streptozotosin ile oluşturalan deneysel sporadik Alzheimer hastalığı modeli 40
5. GEREÇ ve YÖNTEM 42
5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler 42
5.2. Araç ve Gereçler 42
5.3. Deney Hayvanları 42
5.4. Deney Grupları 42
5.5. Kullanılan Modeller 43
5.6. Davranış Deneyleri 43
5.6.1. Pasif sakınma testi 43
5.6.2. Morris'in havuz labirenti testi 44
5.7. Histopatolojik Değerlendirme 45
5.7.1. İmmunohistokimyasal çalışma 46
5.8. İstatistiksel Değerlendirme 46
6. BULGULAR 48
6.1. Davranış Deneylerinin Sonuçları 48
6.1.1. Pasif sakınma testinin sonuçları 48
6.1.2. Morris'in havuz labirenti testinin sonuçları 49
6.2. Histopatoloji Değerlendirmelerinin Sonuçları 52
7. TARTIŞMA ve SONUÇ 55
8. KAYNAKLAR 59
9. ÖZGEÇMİŞ 78
10. ETİK KURUL ONAY BELGESİ 79

III. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

Aβ	Amiloid beta
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolin esteraz
AH	Alzheimer hastalığı
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amiloid prekürsör protein
ATP	Adenozin tri fosfat
BACE-1	Beta sekretaz-1(β-site APP-cleaving enzyme-1)
BOS	Beyin omurilik sıvısı
BuChE	Butirilkolinesteraz
CRP	C-reaktif protein
ChAT	Kolin asetiltranferaz
DHA	Doksaheksaenoik asit
EPA	Eikosapentaeonik asit
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration)
HKB	Hafif Kognitif Bozukluk
i.c.v	İntraserebroventriküler
IGF	İnsülin büyüme faktör (Insuline-like growth factor)
IL	İnterlökin
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
JIA	Juvenil idiopatik artrit
LTP	Uzun süreli potansiyalizasyon (Long Term Potentiation)
MAP	Mikrotübül bağlayıcı protein (Microtubule Associated Protein)
mIL-6R	Membrana bağlı IL-6 reseptörleri
NFY	Nörofibriler yumaklar
NGF	Sinir büyüme faktörü (Nerve Growth Factor)
NMDA	N-Metil-D-Aspartat
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit
NSAİİ	Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar

NOS	Nitrik oksit sentaz
PET	Pozitron emisyon tomografi
PSEN1	Presenilin 1
PSEN2	Presenilin 2
RA	Romatoid artrit
ROS	Reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species)
SP	Senil plak
SF	Serum fizyolojik
SH	Standart hata
sIL-6R	Çözülebilir IL-6 reseptörleri
STZ	Streptozotosin
SSS	Santral sinir sistemi
TNF-α	Tümör nekroz faktör-alfa
TCZ	Tosilizumab

IV. ŞEKİL, RESİM ve TABLOLARIN LİSTESİ

İ) ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1. Sağlıklı bir bireyin ve Alzheimer'li hastanın beyin kesitleri

Şekil 2. Alzheimer hastalığında görülen Aβ'nın oluşum mekanizması

Şekil 3. IL-6'nın pleiotropik etkisi ve Tosilizumab'ın etki mekanizması

Şekil 4. Pasif sakınma testinde 1. ve 2. gün sonuçları

Şekil 5. Morris havuz labirenti testinde ilk 4 günün ortalama sonuçları

Şekil 6. Morris havuz labirenti testinde 5. gün ortalama sonuçları

Şekil 7. Kontrol, STZ ve Tosilizumab gruplarında amiloid β ve IL-6'nın immunohistokimya ve Hematoksilen-eozin (H&E) boyamaları

Şekil 8. STZ verilen grupta, amiloid β'nın immunohistokimyasal boyaması sonucunda damarda endotelyal hücrelerde belirgin amiloid birikiminin izlenmesi

İİİ) TABLOLARIN LİSTESİ

Tablo 1. Alzheimer hastalığı için olası risk faktörleri

Tablo 2. Pasif sakınma testi 1. ve 2. gün sonuçları

Tablo 3. Morris havuz labirenti testi ilk 4 günün ortalama sonuçları

1. ÖZET

DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE TOSİLİZUMAB'IN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Öğrencinin Adı: Ersin Aslan

Danışmanı: Doç. Dr. H. Kübra Elçioğlu

Anabilim Dalı: Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı

Amaç: Alzheimer Hastalığı'nda (AH) nöroinflamasyon önemli rol oynamaktadır. Hastalığın patojenezinde artan interlökin (IL)-6'nın pleiotropik aktivite gösteren bir proinflamatuvar olduğu bildirilmiştir. Monoklonal IL-6 reseptör antikoru olan Tosilizumab (TCZ) IL-6 sinyal iletimini inhibe etmektedir. Çalışmamızda streptozotosin (STZ)'nin intraserebroventriküler (i.c.v.) uygulamasıyla oluşturulan Alzheimer modelinde kognitif bozukluklarda Tosilizumab'ın etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada Sprague-Dawley suşu erkek sıçanlar; STZ, kontrol ve STZ+TCZ olmak üzere 3 gruba ayrılmışlardır. Alzheimer modeli oluşturabilmek için, STZ+TCZ ve STZ grubu sıçanlara (3 mg/kg) bilateral STZ i.c.v olarak uygulanmıştır. Tosilizumab 21 gün boyunca tek doz olmak üzere STZ'nin ilk dozundan 1 saat önce i.c.v. olarak kullanılmıştır. Öğrenme ve bellek bozukluğu 15-21. günler arasında değerlendirilmiş ve 21. gün histopatolojik değişimleri incelemek için sıçanlar dekapite edilmiştir. Histopatolojik değişimler hematoksilen-eozin kullanılarak incelenmiştir.

Bulgular: Streptozotosin enjeksiyonu pasif sakınma testinde karanlık bölmeye geçiş süresinde anlamlı bir düşüşe, Morris havuz labirenti testi performansında da anlamlı bir azalmaya neden olmuştur. Tosilizumab uygulanan sıçanlar STZ ile karşılaştırıldığında beyin kesitlerinde; nöronlarda ve kortikal alandaki glial hücrelerde Aβ ve IL-6 düzeylerinin azaldığı görülmüştür.

Sonuçlar: Tosilizumab tedavisinin STZ ile oluşturulan bilişsel bozuklukları ve histopatolojik değişimleri anlamlı ölçüde azalttığı bulunmuştur. Tosilizumab'ın AH üzerindeki koruyucu etkisini araştıran yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar sözcükler: Tosilizumab, Alzheimer, intraserebroventiküler streptozotosin, inflamasyon, öğrenme ve bellek

2. SUMMARY

THE EFFECT OF TOCILIZUMAB IN EXPERIMENTAL ALZHEIMER MODEL

Student's Name: Ersin Aslan

Advisor: Doç. Dr. H. Kübra Elçioğlu

Department: Marmara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology

Purpose: Neuroinflammation plays a pivotal role in the pathogenesis of Alzheimer's Disease (AD). It was suggested that IL-6 shows overespression and pleiotropic activity in AD's brain. Tocilizumab (TCZ) that is a humanized anti-human IL-6 receptor (IL-6R) monoclonal antibody, inhibits IL-6 signal transduction. The aim of our study is to learn that the effect of Tocilizumab on AD cognitive deficits caused by intracerebroventricular (i.c.v.) injection of streptozotocin (STZ).

Methods: Male Sprague-Dawley rats were divided into three different groups: control, STZ and TCZ+STZ. Rats that are in STZ and STZ+TCZ groups, were injected single dosed bilaterally i.c.v STZ (3mg/kg) stereotaxically to induce experimental Alzheimer's disease. We used single dose of i.c.v. TCZ beginning 1 h prior to injection of STZ for 21 days. Behavioral parameters were evaluated between 15st-21st days, and the rats were sacrificed on day 21st to examine histopathological changes. Histopathological changes were examined using hematoxylin-eosin.

Results: STZ injection caused a significant decrease in the mean escape latency in passive avoidance and decreased improvement of performance in Morris water maze tests. Brain sections of TCZ treated rats showed decreased Aβ and IL-6 levels in the neurons and glial cells of cortical area compared to STZ.

Conclusion: Tocilizumab treatment attenuated significantly STZ induced cognitive impairment and histopathological changes. Further studies are warranted to investigate more protective effect about Tocilizumab on AD.

Keywords: Tocilizumab, Alzheimer, intracerebroventricular streptozotocin, inflammation, learning and memory

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Demans, zihin işlevlerinin kaybını niteleyen bir kelimedir. Demansın temel göstergesi, azalan zihinsel becerilerin bir sonucu olarak günlük işlevlerin yapılamaz hale gelmesidir. Dünya nüfusundaki hızlı artışa paralel olarak gelişmekte olan ülkelerde yaşlı nüfus hızla artmaktadır. Dünya nüfusu 1900 yılında 1,6 milyar iken 2014'te 7,2 milyara ulaşmıştır (http://www.aei-ideas.org, Erişim tarihi: 14 Haziran 2014). Ortalama yaşam sürelerinin uzamasıyla nörodejeneratif hastalıkların görülme sıklığı da artmıştır. Bu durum birçok bireyin nörodejeneratif hastalıklar yönünden araştırılmasına yol açmıştır. Geriatrik olgulardaki ölümlerin sebepleri arasında nörodejeneratif hastalıklar ve demans ön sıralarda yer almaktadır. Alzheimer hastalığı, 65 yaş üzeri yaşlılarda demansa neden olan en önemli hastalıklardan biridir. Ülkemizde tahmini olarak 300 bin Alzheimer hastasının olduğu düşünülmekte olup giderek yaşlanan nüfusla birlikte yıllar içerisinde bu hastalığın daha ciddi bir sağlık problemi olacağı öngörülmektedir (http://www.noroloji.org.tr Erişim tarihi: 14 Haziran 2014).

Alzheimer hastalığı demansın en sık sebebi olan; davranışsal ve psikiyatrik belirtiler ile karakterize, günlük yaşam etkinliklerini sürdürme becerilerinde ve bilişsel işlevlerde azalma ile kendini gösteren progresif nörodejeneratif bir hastalıktır. İlk kez 1907 yılında Alois Alzheimer, ilerleyici şuur kaybı, kişilik değişikliği, konuşma bozukluğu ve apraksisi olan bir olgu yayınladığı için hastalık onun adıyla anılmaktadır. Alzheimer hastalığının sıklığı giderek artmakta olup kesin fizyopatojenezi ortaya konulamamıştır. Amiloid beta (Aβ) plak, nörofibriler yumak (NFY) ve hiperfosforile tau proteini ve progresif beyin atrofisi hastalığın en önemli patolojik bulgularıdır. Bunlara ek olarak inflamasyon, oksidatif hasar, glutamat eksitotoksisitesi, insülin direnci, gliozis, granulovakuolar dejenerasyon, kolinerjik kayıp ve sinaps-nöron kaybı gibi faktörlerin de bu nörodejenerasyona katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Nelson ve ark., 2012; Hoozemans ve ark., 2006; Mamelak, 2007; Talbot ve Wang, 2014).

Nöroinflamasyon hipotezine göre Aβ ve NFY'ler kronik inflamatuvar reaksiyonları uyarabilmektedir. İnflamatuvar sitokinler ve stres koşulları, amiloid prekürsör protein (APP)'in amiloidojenik sürecini başlatarak nörotoksik bir protein olan Aβ 42 peptid oluşumunu artırırlar. Bu döngü beraberinde çözülebilir APP üretimini inhibe ederek çözülebilir APP'nin nöron koruyucu etkisini engellemiş olur. Amiloid β, indüklenebilir

NOS (iNOS) ve siklooksijenaz-2 gibi inflamatuvar enzim sistemlerini de aktive etmektedir (Perez ve ark., 2012). Yapılan bir meta analiz çalışmasında Alzheimer hastası olan bireyler kontrollerle karşılaştırıldığında periferal kanda proinflamatuvar sitokinlerden interlökin (IL)-6, tümör nekroz faktör-alfa (TNF-α), IL-1β, IL-12 ve IL-18 yüksek bulunmuştur (Swardfager ve ark., 2010). Diğer bir çalışmada ise IL-1, IL-6 ve TNF-α gibi sitokinlerin Alzheimer'li hastaların beyin, kan ve beyin omurilik sıvısı (BOS)'nda arttığı gösterilmiştir (Perez ve ark., 2012). Bu proinflamatuvar sitokinler sadece nöronal kayba sebep olmakla kalmayıp, aynı zamanda APP süreci ve tau fosforilasyonu gibi nörodejenerasyon yolaklarını da etkileyebilmektedirler (Akiyama ve ark., 2000; Perez ve ark., 2012; Hoozemans ve ark., 2006).

Bir proinflamatuvar sitokin olan IL-6 ile yapılan çalışmalarda Alzheimer'li kişilerin beyinlerinde IL-6 seviyelerinin arttığı (Licastro ve ark., 2000), değişmediği (Angelis ve ark., 1998) ve hatta bazılarında da azaldığını gösteren farklı çalışmalar mevcuttur (Yamada ve ark., 1995). Yapılan bir çalışmada ise Alzheimer'li beyinlerde IL-6'nın aşırı ekpresyonunun; amiloid depozitleri ve plak oluşumu ile ilişki olduğu gözlenmiştir (Akiyama ve ark., 2000). Ayrıca IL-6'nın mikroglia hücrelerini aktive ettiği ve tau hiperfosforilasyonunu arttırdığı da bildirilmiştir. İnterlökin-6'nın hipokampal nöronlar üzerindeki en önemli etkilerinden biri taunun anormal fosforilasyonunu aktifleştirerek Alzheimer hastalığını tetiklemesidir. Bu bilgiler IL-6'nın nöronal dejenerasyon üzerinde etkisi olabileceğini düşündürmektedir (Quintanilla ve ark., 2004).

Tosilizumab (TCZ), rekombinant insan monoklonal antikoru olup IL-6 reseptörlerine bağlanır ve bu yol aracılığıyla sinyal iletimini inhibe eder. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) TCZ'nin Ocak 2010'da TNF-α antagonistine yeterli yanıt vermeyen orta ve şiddetli Romatoid artrit (RA)'li hastalarda IL-6 konsantrasyonlarını azaltarak hastalığın belirtilerini düzeltmede etkin olduğunu onaylamıştır. Bugüne kadar pek çok ilaç denenmiş olmakla birlikte IL-6 reseptör blokörü ilaçların Alzheimer hastalığındaki etkileri üzerine henüz bir çalışma yapılmamıştır. Bu amaçla çalışmamızda sıçanlara intraserebroventriküler (i.c.v.) streptozotosin (STZ) uygulayarak oluşturduğumuz Alzheimer modelinde gelişen kognitif fonksiyonlardaki bozukluk üzerinde IL-6 reseptör blokörü TCZ'nin koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık. Bu çalışmamız Alzheimer hastalığında (AH) belki de yeni bir yaklaşımın başlangıcı olması ümidiyle planlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı ilk 1907 yılında tanımlanan ve demansın en sık nedeni olarak bilinen; davranışsal ve psikiyatrik belirtiler ile karakterize, günlük yaşam etkinliklerini sürdürme becerilerinde ve bilişsel işlevlerde azalma ile kendini gösteren progresif nörodejeneratif bir hastalıktır. Alzheimer hastalığının görülme sıklığı yaşla logaritmik olarak artış göstermektedir. Altmış beş yaş ve üzeri kişilerle yapılan bir çalışmada AH'nin yıllık insidansı 65-70 yaş bireylerde % 0,5, 85 yaş ve üzerinde ise bu oran % 6-8 olarak görülmüştür (Mayeux ve Stern, 2012). Bu sebeple dünyada 15 milyon, Amerika Birleşik Devletleri'nde 4 milyon, ülkemizde de 250.000 demans hastası olduğu düşünülmektedir. Tahmini olarak 2050 yılında 65 yaş üstü nüfusun dünya nüfusunun % 25'ini oluşturacağı düşünülmektedir. Yaşlı nüfustaki artışla orantılı olarak Alzheimer'in gelecekte en önemli sağlık problemlerinden biri olacağı düşünülmektedir (Powers, 1997).

Alzheimer hastalığının henüz kesin fizyopatojenezi ortaya konulamamıştır. Alzheimer hastalığında görülen hücre dışı yerleşimli amiloid plaklar ve hücre içi yerleşimli NFY'ler; kompleman aktivasyonuna, glial hücre aktivitesine bağlı inflamatuvar değişikliklere ve nörotoksik ürünlerin oluşmasına sebep olur (Hopkins ve ark.,1995; Karaman, 2002). Bu nörotoksik ürünler serbest oksijen radikalleri ve yüksek düzeyde glutamat konsantrasyonudur (Glenner ve Wolg, 1984). Progresyonda inflamasyon önemli rol oynadığından non-steroid antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanımı AH için bir risk azaltıcı faktör olarak düşünülmektedir (Glenner ve ark., 1984). İnterlökin-6 özellikle erken plak oluşumunda etkili bir sitokindir. Ayrıca TNF-α ve IL-1 gibi sitokinlerin Alzheimer hastalarında beyinde seviyeleri artmış olarak gösterilmiştir. Mikroglialar, astrositler ve bazı nöronlar inflamatuvar reaksiyonlardan sorumludurlar (Glenner ve ark., 1984).

4.1.1. Tarihçe

İlk kez 1907 yılında Alois Alzheimer, ilerleyici şuur kaybı, kişilik değişikliği, konuşma bozukluğu ve apraksisi olan bir olgu yayınladığı için hastalık onun adıyla anılmaktadır.

Alois Alzheimer, 1901 yılında Frankfurt Akıl Hastanesi'ne yatırılan 51 yaşındaki Auguste Deter ismindeki hastayı incelemeye başladı. Öz bakım yetersizlikleri olan bu hastanın muayenesi yapıldığında hastanın halüsinasyonlar yaşadığı, konuşma ve bellek bozukluğu olduğu görüldü. Nisan 1906'da Auguste Deter vefat etti ve Alzheimer tarafından postmortem beyinde inceleme yapıldı. Alzheimer'in en önemli patolojik bulguları olan NFY'leri ve amiloid plakları özel boyama teknikleri kullanarak tanımladılar. Bu hastalık Alois Alzheimer tarafından ilk defa presenil demansın bir türü olarak isimlendirildi; daha sonra bu hastalık Alois Alzheimer'in ekip arkadaşı olan Emil Kraepelin tarafından Alzheimer hastalığı olarak adlandırıldı (Burns ve ark., 2002; Ramirez- Bermudez, 2012).

4.1.2. Epidemiyoloji

Demansın en sık sebeplerinden biri olan Alzheimer hastalığı ilerleyen yaşla paralel olarak daha sık görülmektedir. Demansın global prevalansı yaklaşık olarak dünyada 24 milyon olarak düşünülmekte ve 2040 yılına kadar her yirmi yılda ikiye katlanacağı tahmin edilmektedir (Christiane ve ark., 2011; Mayeux ve ark., 2012). Delphi'nin yapmış olduğu çalışmaya göre 2001 yılında dünyada varolan demanslı birey sayısı 24,3 milyon iken, bu oranın 2020'de 42,3 milyon olacağı, 2040'da ise 81,1 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir. Yapılan başka bir araştırmaya göre 2010 yılında 36,5 milyon kişi demanslı olarak değerlendirilmekte ve bu sayıya her yıl 7,7 milyon vaka ekleneceği düşünülmektedir (Ortiz ve ark., 2012). Alzheimer hastalığı Amerika'daki ölüm sebepleri arasında 4. sırada yer alırken, maliyeti açısından da 3. sırada yer alan bir hastalıktır. Amerika'da tahmini 4 milyon Alzheimer hastası olduğu düşünülmektedir (Hooijmans ve Kiliaan, 2008). Demansın en yoğun görüldüğü yerler Çin, Batı Pasifik, Batı Avrupa ve ABD'dir (Ballard ve ark., 2011).

4.1.3. Risk faktörleri

Alzheimer hastalığının risk faktörleri kardiyovasküler faktörler ve yaşam biçimiyle ilgili faktörler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Kardiyovasküler risk faktörleri arasında; diyabet, hipertansiyon, yüksek miktarda doymuş yağ tüketimi, inme, konjestif kalp yetmezliği, ateroskleroz, hiperkolestrolemi, vücut kitle indeksi sayılabilir. Yaşam biçimiyle ilgili risk faktörleri arasında; yaşlanma, fiziksel aktivite, depresyon, sigara,

sedanter yaşam tarzı, düşük eğitim seviyesi, alkolizm, genetik, dengesiz beslenme, sosyal çevre ve aile öyküsü sayılabilir (Stefanova ve ark., 2000; Imtiaz ve ark., 2014; De La Torre, 2010). Yapılan bir çalışmada atrial fibrilasyon ve karotis arter yetmezliği ile AH arasında bir ilişki bulunamamıştır (Stefanova ve ark., 2000; Hooijmans ve ark., 2008). Farklı bir araştırmaya göre ise cerrahi ve genel anestezi müdahalesine maruz kalmanın AH için potansiyel bir risk faktörü olduğu öngörülmektedir (Seitz ve ark., 2013) (Tablo 1).

Ayrıca, literatürde hastalığın gelişiminde insülin rezistansının önemli olduğu bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda AH'nin insulin ile olan ilişkisinden dolayı araştırmacılar tarafından Tip III diyabet hastalığı terminolojisi dile getirilmeye başlanmıştır; ancak bu durumun yaşa bağlı insülin rezistans artışından ibaret olabileceğini belirten çalışmalar da vardır (Monte, 2009).

Tablo 1. Alzheimer hastalığı için olası risk faktörleri (Hooijmans ve ark., 2008)

İleri Yaş	Miyokard İnfarktüsü
Aile Hikayesi	Homosistein
ApoE4 Ailesi	Vitamin B_{12} Eksikliği
Down Sendromu	Dislipidemiler
Düşük Eğitim Seviyesi	Hipotiroidizm
Sık Kafa Travması	Enfeksiyonlar
Kadın Cinsiyet	Serum Demir Yüksekliği
Nörotoksinler, Sigara, Alkol	Ferritin Yüksekliği
Serebrovasküler Hastalık	C-reaktif Protein Yüksekliği
Hipertansiyon	Folat Eksikliği
Diyabet Hastalığı	Menopoz

4.1.4. Genetik

Alzheimer hastalığı genetik olarak karmaşık bir yapıya sahiptir. Otozomal dominant geçişten sorumlu olan 3 ayrı gende mutasyon söz konusu olup bunlar; presenilin 1 geni (14. kromozom), presenilin 2 geni (1. kromozom) ve APP genidir (21. kromozom). Bu genlerden kodlanan üç proteinin de normal işlevleri tam olarak bilinmemekle birlikte, nöronal plastisitede rol aldığı düşünülen transmembranal proteinlerdir (Bettens ve ark., 2013). Alzheimer hastalığının sporadik ve ailesel formları vardır. Hastalığın büyük çoğunluğu sporadik olarak geçer. Ailesel Alzheimer hastalığı genetik açıdan heterojen bir hastalıktır. Erken başlangıçlı ailesel Alzheimer hastalığı otozomal dominant karakterli iken; geç başlangıçlı formda genetiğin rolü tartışmalıdır. Erken başlangıçlı otozomal ailesel Alzheimer hastalığından APP, presenilin 1 (PSEN1) ve presenilin 2 (PSEN2) genleri sorumlu iken; geç başlangıçlı sporadik Alzheimer hastalığından apolipoprotein E (ApoE)'nin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Kim Yeo ve ark., 2014; Bertram ve ark., 2010; Bettens ve ark., 2013). Bu genler bilinmekle birlikte hastalığa dair genetik miras tam olarak aydınlatılamamıştır (Bertram ve ark., 2010).

ApoE geç başlangıçlı AH için güçlü bir risk faktörüdür. ApoE lipoprotein metabolizmasının düzenleyicisidir. ApoE geninin 3 alleli bulunur; E2, E3 ve E4. ApoE, Merkezi sinir sisteminde kolestrol transportu, nöroplastisite ve inflamasyonda rol almaktadır. ApoE4, Aβ'ya bağlanarak çözülebilir Aβ'nın klirensini ve plak oluşumunu etkilediği düşünülmektedir. ApoE genotipi ile Aβ 42 ve tau seviyeleri arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Karch ve Goate, 2014; Ballard ve ark., 2011).

Presenilin 1 geni APP'nin yıkımıyla ilgili bir gendir. Presenilin 2 ve APP genindeki mutasyonların Alzheimer hastalarının %5'inde hastalığın sebebi olduğu düşünülmektedir. Presenilin 1 ve presenilin 2 mutasyonları Aβ 42 konsantrasyonunu etkilemektedir. Presenilin proteinleri γ-sekretazı aktive ederek APP'den nörotoksik Aβ oluşumunu artırırlar. Türkiye'de yakın geçmişte yapılan erken başlangıçlı (≤65) demans çalışmasında presenilin gen mutasyonunun prevalansı %24 olarak bulunmuştur (Ballard ve ark., 2011).

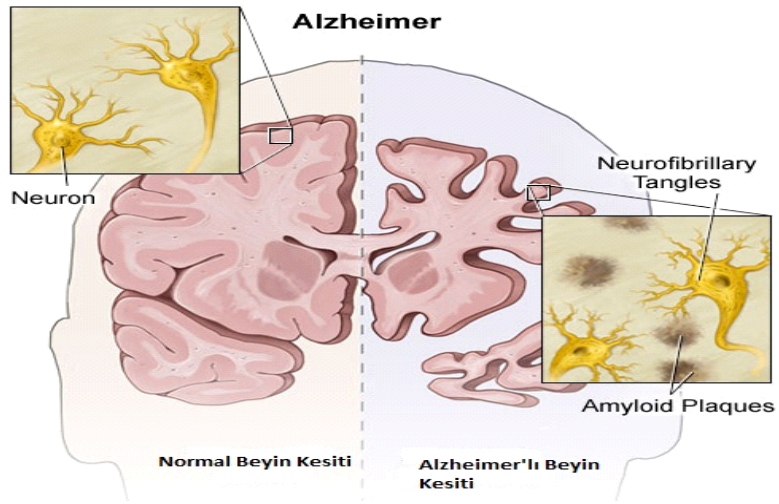
Yapılan bir çalışmaya göre APP'den oluşan Aβ 40 ve Aβ 42 peptidlerinin beyinde depolanması ile Alzheimer hastalığı oluşmaktadır (Hoass, 1996). Amiloid β42 proteini demansın erken dönemlerinde artmakta ve kognitif kapasitedeki azalmayla korelasyon göstermektedir (Kaye, 1998). Bu proteinlerin nöronlarda birikimi senil plaklar, NFY'ler ve nöron kaybına sebep olmaktadır. Nörotoksik etkilere maruz kalan nöronlarda sinaptik disfonksiyon, asetilkolin (ACh) eksikliği ve dejeneratif değişiklikler görülmektedir (Terry, 1999).

4.2. Alzheimer Hastalığındaki Fizyopatolojik Değişiklikler

Alzheimer hastalığında üç ana fizyopatolojik değişim söz konusudur. Bunlar ekstraselüler senil plaklarda amiloid protein birikimi, intranöronal NFY'lerde hiperfosforile tau birikimi ve sinaptik-nöronal dejenerasyondur (Zetterberg ve Blennow, 2013). Alzheimer hastalığında beyin dokusunun histopatolojik olarak değerlendirilmesi kesin tanı için gerekliyse de, bugün modern radyolojik yöntemlerle % 90'nın üzerinde tanı konulabilmektedir. Alzheimer tipi demansı diğer beyin patolojilerinden ayırabilmek için manyetik rezonans görüntüleme, bilgisayarlı tomografi, tek foton emisyon tomografi veya pozitron emisyon tomografi (PET) gibi görüntüleme yöntemlerinden faydalanılmaktadır. İlerleyen beyin atrofisi, serebral giruslarda düzleşme, sulkuslarda ve ventriküllerde genişleme görüntüleme yöntemlerinde izlenebilmektedir. Nöronal görüntüleme yöntemlerinde, AH ve Hafif Kognitif Bozukluğu (HKB) olan hastalar kontrollerle karşılaştırıldığında entorinal korteks ve hipokampüs gibi orta temporal lob yapılarında hacim kayıpları gözlenmiştir (Choo ve ark., 2010; Elshafey ve ark., 2014; Clerx ve ark., 2013; Johnson ve ark., 2012). Alzheimer'de görülen ilk kayıpların medial temporal lop, limbik lob ve entorinal kortekste olduğu düşünülmektedir. Bu bölgeleri hipokampüs, amigdala ve parahipokampüs takip etmektedir. Zamanla neokorteksi kuşatan bir atrofi söz konusudur. Yapılan bir çalışmada medial temporal lob atrofisi AH ile ilişkili bulunmuştur (Clerx ve ark., 2013). Yaşlı demans ve yaşlı kontrollerle yapılan bir çalışmada, demans olan grupta prefrontal korteks hacminde anlamlı küçülmeler görülmüştür (Burgmans ve ark., 2009). Normal yaşlanma sırasında beyin kütlesinde küçük bir kayıp gözlenirken Alzheimer'li beyinde özellikle neokortekste olmak üzere sinir hücrelerinin, sinapsların ve dendritlerin belirgin kaybından dolayı beyin kütlesinin 1/3'ünü kaybettiği gözlenmiştir. Ayrıca postmortem yapılan bir çalışmada da beyincik

toplam hacminde azalmalar izlenmiştir (Wegiel ve ark., 1999). Ancak bu atrofi sadece AH için spesifik karakterde değildir.

Nöron içerisinde birikim gösteren tau hiperfosforilizasyonu sonucu oluşan NFY'ler, hücre dışında biriken amiloid plaklar ve nöron-sinaps kayıpları Alzheimer'in ana patolojik bulgularıdır (Şekil 1) (Wegiel ve ark., 1999; Zetterberg ve ark., 2013; Quintanilla ve ark., 2004).



Şekil 1. Sağlıklı bir bireyin ve Alzheimer'li hastanın beyin kesitleri.

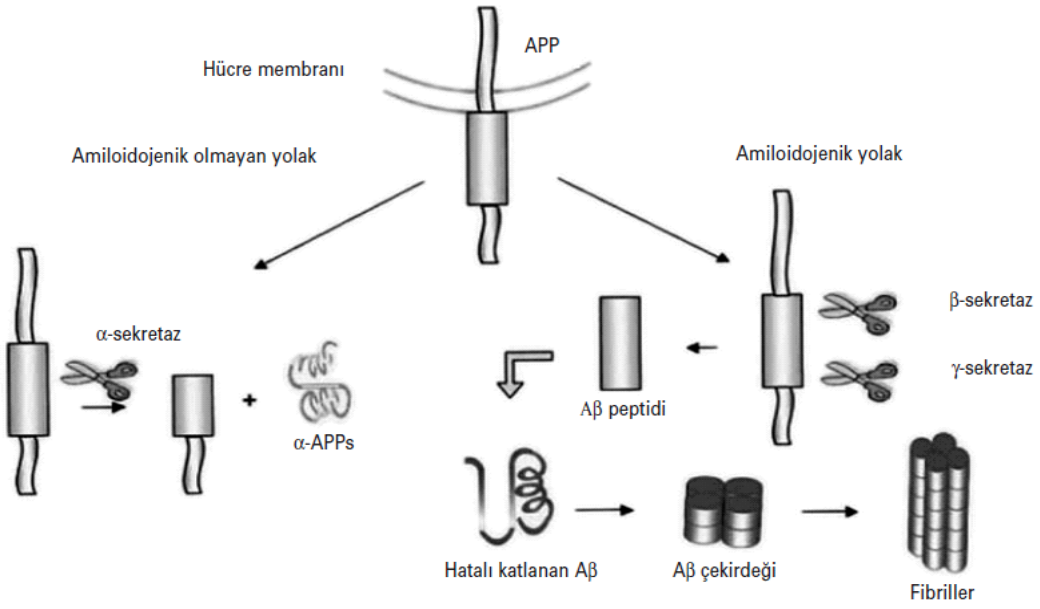
(http://bursanoroloji.net/noroloji.php?id=2 Erişim tarihi: 16.04.2014)

Nörofibriler yumaklar hücre gövdelerinde ve dendritlerde biriken mikrotübül bağlantılı protein olan taunun hiperfosforillenmiş şeklini içerirler. Taunun hiperfosforilasyonunun, fosforilasyonu düzenleyen bazı kinazların ve fosfatazların aktiviteleri arasındaki dengenin bozulması sonucu gerçekleşebileceği düşünülmektedir. Hiperfosforile olan tau proteini mikrotübülleri bağlama özelliğini kaybettiğinden aksonal transportun ve hücresel stabilizasyonun bozulduğu düşünülmektedir (Martin ve ark., 2013; Herrup ve ark., 2013; Iqbal ve Grundke-Iqbal, 2008). Alzheimer hastalığında amiloid prekürsör proteinin metabolizasyonu sonucunda oluşan Amiloid β'nın hücre dışında birikimi görülmektedir. Amiloid prekürsör proteinin iki farklı yoldan metabolizasyonu söz konusudur. Bunlardan biri patolojik olmayan APP'nin γ-sekretaz ve α-sekretaz enzimleriyle ayrıldığı ve oluşan ürünlerin toksik olmadığı yoldur. Diğeri ise amiloidojenik olarak bilinen β ve γ-sekretaz enzimlerinin rol aldığı ve toksik Aβ 40 ve Aβ 42'nin oluştuğu yolaktır (Mizoi ve ark., 2014; Korczyn, 2008). Ancak, NFY'ler

ve senil plak (SP)'lar hem çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda hem de normal yaşlanmada görülebilmektedir (Braak ve Braak, 1991). Bu nedenle bu iki patolojik bulgu Alzheimer tanısı için gerekli ancak yeterli değildir.

4.2.1. Amiloid β agregasyonu ve plak oluşumu

İlk kez 1854 yılında Alman bilim adamı Rudolph Virchow tarafından ortaya atılan amiloid terimi, son yıllarda önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Bunun en önemli sebebi, Alzheimer hastalığında amiloid patojenezinin görülmesidir (Taşkıran, 2007). Alzheimer hastalığındaki temel patolojik değişikliklerden biri olan amiloid plakların ana bileşeni Aβ proteindir. Amiloid β protein, 19. kromozom tarafından kodlanan APP'nin parçalanması sonucu 40-42 aminoasitten oluşan hidrofobik bir transmembran proteinidir. Amiloid prekürsör protein α, β ve γ sekretaz enzimleri aracılığıyla metabolize edilmektedir. Amiloid prekürsör proteinin α ve γ-sekretaz ile parçalanması sonucu çözülebilir APP ya da sAPP adı verilen hücre dışı yerleşimli fizyolojik bir protein oluşur. Çözülebilir APP'nin nöronlar üzerine fizyolojik etkileri olduğu bildirilmiştir. Ancak APP'nin β ve γ-sekretazla metabolize olması sonucunda toksik bir ürün olan Aβ peptid oluşmaktadır. Bu enzimlerden γ-sekretaz her iki yolakta da rol oynamaktadır (Korczyn, 2008) (Şekil 2).



Şekil 2. Alzheimer hastalığında görülen Aβ'nın oluşum mekanizması (Taşkıran, 2007).

Alzheimer hastalığının presemptomatik döneminde PET yardımıyla Aβ 42 görüntülenebilmektedir (Johnson ve ark., 2014). Plazma Aβ 42 seviyesi AH'de klinik çalışmalarda önemli bir belirleyicidir. Amiloid β fibrilleri mikrogliaları aktive ederek klasik proinflamatuvar tepkileri uyarmaktadır. Mikroglialar beyin makrofajları olup nöroinflamasyonda anahtar rol oynamaktadır. Bu durum hem HKB'de hem de AH'de görülmektedir (Herrup ve ark., 2013). Amiloid oluşumu gerçekleşen dokuda, hücreler arası iletişim bozulduğundan, hücre ölümü artmakta ve sonuçta doku ya da organ işlev göremez hale gelmektedir. Amiloid proteinleri, depolandıkları doku, organ ve hastalığa göre farklılık göstermektedir. Romatoid Artrit ve Ailevi Akdeniz Ateşi gibi otoinflamatuvar hastalıklar, Karpal Tünel Sendromu, Korneal distrofiler, Tiroid kanserleri gibi hastalıklarla Alzheimer ve Parkinson gibi nörolojik hastalıklar amiloid gelişiminin görüldüğü diğer hastalıklardır (Knopman ve ark., 2001).

4.2.2. Tau hiperfosforilasyonu ile nörofibriler yumak oluşumu

Nörofibriler yumakların ana bileşeni anormal fosforillenmiş tau proteinidir. Mikrotübül bağlayıcı protein (microtubule associated protein, MAP) ailesinden olan tau 17. kromozom tarafından kodlanmaktadır. Tau proteinleri mikrotübülleri bağlayarak onları stabilize etmekte, böylelikle aksonal transportun sağlanmasında ve hücre iskeletinin bütünlüğünün korunmasında rol almaktadırlar (Martin ve ark., 2013).

Taunun anormal fosforilasyonunun, bazı kinaz ve fosfatazlar arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşabileceği düşünülmektedir. Hiperfosforillenen tau, mikrotübülleri bağlama özelliğini kaybedeceğinden hücresel fonksiyonlarda bozukluklar olabileceği düşünülmektedir. Mikrotübülleri bağlayamayan hiperfosforile tau proteinleri zamanla hücre içinde birikim gösteren NFY'ler haline gelmektedirler.

Hücre ölümüne neden olan bu intraselüler NFY'lere "hayalet yumak" adı da verilmektedir. Yapılan bazı klinik çalışmalarda NFY oluşumunun sinaptik ve nöronal kayba sebep olduğu ve bu durumun beraberinde kognitif bozuklukluğu getirdiği düşünülmüştür. Taunun NFY şeklinde birikimininin uzun yıllar süren bir süreç olduğu düşünülmektedir. Bu amaçla taunun anormal fosforilasyonunu engelleyen tedavi stratejilerinin NFY oluşumunu azaltması ile Alzheimer hastalığının engellenebileceği düşünülmektedir. Spesifik olarak tau kinazların inhibe edilmesi tau hiperfosforilizasyonunu düzenlemenin yollarından biridir (Martin ve ark., 2013). Glial

hücrelerin nörofibriler yumakların etrafında kümelendiği görülmüş olup glial aktivasyonla NFY oluşumu arasında da pozitif korelasyon izlenmiştir (Serrano-Pozo ve ark., 2011). ApoE4 genotipi ile NFY arasında da bir ilişki gözlenmiştir (Nagy ve ark., 1995).

4.2.3. Oksidatif stres

Alzheimer patolojisi ile ilişkili hipotezlerden biri de oksidatif stres hipotezidir. Organizmanın yaşlanması ile ilgili mekanizmalarda oksidatif stres önemli bir rol almaktadır. Reaktif oksijen ürünleri (reactive oxygen species-ROS) aşırı aktif moleküller olup, canlı organizmalarda aerobik metabolizma esnasında oluşabilmektedir. Aerobik organizmaların mitokondrilerinde elektron transferindeki bozukluklarda reaktif oksijen ürünlerinin oluşumu artmaktadır. Reaktif oksijen bileşiklerindeki bu artış; nükleik asit, lipid ve protein gibi hücresel moleküllerde hasar meydana getirirler. Bu hasar antioksidan mekanizmalarla dengelenmeye çalışılmaktadır. Zararlı reaktif oksijen ürünleri ve antioksidan mekanizmaları arasındaki dengesizlik oksidatif strese neden olur ve bu durum oksidatif hasarla sonuçlanır. Postmortem doku çalışmaları Alzheimer'li beyinlerin aşırı oksidatif stres altında olduğunu göstermiştir. Bu durum beyin dokularında hastalık süresince protein oksidasyonu, lipid oksidasyonu, glikooksidasyon DNA ve RNA oksidasyonuyla desteklenmiştir. Oksidatif stres ve ikincil serbest radikallerin üretimi ve birikiminin, nörodejenerasyon ve nöronal ölüme yol açarak Alzheimer hastalığının gelişiminde rol oynayabileceği düşünülmektedir (Yan ve ark., 2013; Gella ve Durany, 2009; Butterfield ve Sultana, 2011).

Yaşla ilgili bellek bozuklukları beyin ve plazma antioksidan mekanizmalarının azalması ile ilişkili bulunmuştur. Antioksidan bir görev üstlenen intraselüler glutatyon konsantrasyonun farklı hayvan modellerinde ve yaşlı memeli beyin bölgelerinde (hipokampüs) artan yaşla azaldığı görülmüştür (Gella ve ark., 2009). Amiloid Prekürsör Protein mutasyonu olan transgenik farelerle yapılan bir çalışmada oksidatif stresin AH patolojisini tek başına açıklayamayacağı anlaşılmıştır (Butterfield ve ark., 2010). Senil plaklar ve Aβ 42'nin serbest radikallerle etkileşmesi, oksidatif strese sebep olarak AH patojenezinde rol alabileceğini düşündürmektedir. Amiloid β 42 lipit tabakasının içine girerek lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır (Butterfield ve ark., 2011). Bunlara ek olarak Alzheimer hastalarında ve sağlıklı bireylerde plazma antioksidan kapasitesi

değerlendirilmiş ve Alzheimer hastalarında plazma antioksidan kapasitesi düşük bulunmuştur (Vural ve ark., 2007). Alzheimer hastalığında oksidatif stresin tedavisi için varolan tedavi yöntemlerinden E vitamini, doğal antioksidanlar ve gıda takviyeleriyle yapılan tedavilerde sınırlı başarılar elde edilmiştir (Yan ve ark., 2013).

4.2.4. İnflamasyon ve gliozis

İnflamasyon; stres, yaralanma, travma ve enfeksiyon gibi çeşitli uyaranlara cevap olarak gelişen kompleks hücresel ve moleküler bir savunma mekanizmasıdır. Alzheimer hastalığının fizyopatolojisi tam olarak anlaşılamamasına rağmen, inflamasyonun patojenezde kritik role sahip olduğu düşünülmektedir. Epidemiyolojik ve genetik kanıtlar Alzheimer hastalığının patolojisinde inflamatuvar aracıların rolü olduğunu göstermiştir. Beyindeki inflamatuvar sinyallerin artışı proinflamatuvar sitokinlerin salınımı, astrosit ve mikroglialaların aktivasyonuyla ilişkili bulunmuştur. İnflamasyon Alzhemer'li beyinlerin özellikle savunmasız bölgelerinde meydana gelmektedir. Merkezi sinir sisteminde astrositler ve mikroglialaların aktivasyonu sitokinler, kemokinler, nörotransmitterler, ROS ve NO gibi moleküllerin salınımına neden olmaktadırlar (Hoozemans ve ark., 2006; Liu ve Chan, 2014). Bu moleküller inflamasyonun erken süreçlerini oluşturmaktadırlar. Beyindeki bu değişimler nörofibriler yumak oluşumunu tetiklemekte, nöron yıkımını ve astrogliozis süreçlerini hızlandırmaktadırlar. Alzheimer'li beyinlerde nörodejenerasyon, nöritler, Aβ depozitleri ve NFY'ler inflamasyonun klasik göstergeleridir. Sitokinler ve kemokinler benzer intraselüler sinyal süreçlerinde rol oynamaktadır. Alzheimer hastalığının patolojisinde hemen hemen bütün sitokinler ve kemokinlerle ilgili çalışmalar yapılmıştır. Alzheimer'li beyinlerle sağlıklı bireylerin beyinleri karşılaştırıldığında; IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-8 ve makrofaj inflamatuvar protein 1-α seviyeleri Alzheimer'li beyinlerde yüksek bulunmuştur (Bradt ve ark., 2000; Heneka, 2006). İnflamasyona periferdeki astrositler ve mikroglialar da sebep olmaktadır. Mikroglialaların fagositozu ve sitotoksisiteyi uyarma gibi çeşitli görevleri vardır. Aktive mikroglialarla yoğun Aβ depozitleri arasında ilişki görülmüştür. Amiloid β peptidleri mikroglialara bağlanarak proinflamatuvar sitokinleri ve fagositozu indüklemektedirler (Liu ve ark., 2014).

4.2.5. Nitrik oksit

Nitrik oksit birçok dokuda çeşitli fizyolojik süreçleri düzenleyen bir sinyal molekülüdür. Nitrik oksit sentaz enzimlerinin aracılık ettiği bir dizi reaksiyon sonucunda L-argininden nitrik oksit oluşur. Nitrik oksit sentaz enzim izoformları üç tanedir. Bunlar; SSS ve bazı periferik dokularda bulunan nöronal NOS (nNOS), immünolojik uyaranlarla indüklenen ve hemen hemen bütün çekirdekli hücrelerde bulunan indüklenebilir NOS (iNOS) ve endotel hücrelerde bulunan endotelyal NOS (eNOS)'tur. Nöronal NOS SSS'de korteks, hipokampüs ve beyincikte geniş alana yayılmıştır. Nitrik oksitin patolojik etkisi yüksek konsantrasyonlarda gözlenmektedir (Lowenstein ve ark., 1994; Chen ve Xiao, 2014; Law ve ark., 2011). Nitrik oksit aynı zamanda hücresel demir metabolizmasının anahtar düzenleyicisidir. Nitrik oksit demir homeostazını regüle ederek hem periferde hem de SSS'de çeşitli fizyolojik ve patolojik durumları kontrol altına almaktadır (Chen ve ark., 2014). Nitrik oksitin hücresel hasar oluşturma özelliği reaktif oksidatif özelliğinden kaynaklanmaktadır. Nitrik oksitin aşırı üretiminin nöronal hasara neden olabileceği düşünülmektedir. Endotelyal NOS daha çok fizyolojik süreçlerde rol almaktadır. Nitrik oksitin, nNOS ve iNOS aracılığıyla aşırı üretimi intraselüler kalsiyum ve amiloid artışıyla aktive olur ve beraberinde oksidatif streste artış gözlenir. Hipotalamus, hipokampüs ve kortekste aktivite gösteren NO, SSS'de endotel hücrelerden, mikroglialardan, astrositlerden ve glutamaterjik nöronlardan salgılanır. Nöronal hücrelerde glutamatın N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptörlerini uyarmasıyla hücre içi kalsiyum miktarı artar. Artan hücre içi kalsiyum nNOS'u aktive ederek nörotoksisiteye sebep olabilmektedir. Kalsiyum hemostazının bozulması NO ve AH arasındaki ilişkiyi destekleyen bir mekanizmadır (Law ve ark., 2011).

4.2.6. Sinaptik disfonksiyon ve sinaps kaybı

Amiloid β oligomerleri ve tau agregatları AH'de sinaptik hasara neden olarak sinaptik plastisiteyi inhibe etmektedir. İlerleyen demans vakalarında oligomer kaynaklı hücre dejenerasyonları ve ölümleri gözlenmektedir (Ferreira ve Klein, 2011). Alzheimer hastalığının erken evrelerinde Aβ oligomerleri sinaptik vezikül proteinlerinin ve glutamat reseptörlerinin transportunu etkileyebilirler. Bu durum geri dönüşümlü fonksiyonel bozukluklarla sonuçlanabilir. Hastalığın orta evrelerinde devreye giren tau

agregatları aksonal transportu etkilemektedir. Bu durum sinaptik kayba ve oksidatif strese neden olur. Presinaptik terminallerin ve dendritlerin kaybı görülür. Son evrede ise nöroinflamasyona bağlı olarak nöronal kayıplar gibi geri dönüşü olmayan değişimler gözlenir (Overk ve Masliah, 2014; Ferreira ve ark., 2011; Mota ve ark., 2014).

Alzheimer hastalığındaki bellek kayıpları neokorteks ve limbik sistemdeki sinaptik kayıplarla ilişkili bulunmuştur. Alzheimer hastalığındaki sinaps kayıpları korteksteki nöronal kayıplardan daha fazladır. Sinaptik kayıplar nöronal hücre ölümlerinin habercisidirler. Alzheimer hastalığındaki sinaps kaybı mekanizması aksonal transport, oksidatif stres, mitokondriyal hasar ve nöroinflamasyonla ilişkili görülmüştür. Sinaptik kayıp klinik olarak demansın derecesi ile ilişkili bulunmuştur (Overk ve ark., 2014; Barrio ve ark., 2006).

4.2.7. Nöron kaybı

Alzheimer hastalığının önemli nöropatolojik belirteçlerinden biri de nöron kaybıdır. Nöronal kayıplarla demansın derecesi arasında ilişki gözlenmiştir. Nöronal kayıplar ilk olarak medial temporal lopta görülmektedir. Alzheimer hastaları ile sağlıklı yaşlılar arasında hücre ölümleri açısından kesin farklılıklar görülmüştür. Alzheimer hastalarındaki bu kayıplar entorinal korteks ve hipokampüste daha yüksek bulunmuştur. Alzheimer hastalarındaki nöronal kayıpların beynin savunmasız alanlarında (entorinal korteks gibi) daha yoğun olduğunu gösteren çalışmalarda vardır (Gómez-Isla ve ark., 1997). Alzheimer hastalarında yapılan başka bir çalışmada locus ceruleus, substantia nigra ve bazal nükleusta nöronal kayıplar gözlenmiştir. Bu kayıplar en çok locus ceruleusta izlenmiştir (Zarow ve ark., 2003). Nöron sayıları ile NFY'ler arasında ters bir ilişki gözlenmiştir. Nörofibriler yumaklar nöron kayıplarının tek sebebi değildir. Hatta, nörofibriler yumakların hiç olmadığı ya da az görüldüğü bölgelerde ciddi nöron kayıpları gözlenebilmektedir (Barrio ve ark., 2006). Nöronal kayıpların miktarı NFY'lerin sayısından daha fazla görülmüştür. Ancak Amiloid β plaklarıyla nöron kaybı arasında bir ilişki bulunamamıştır (Barrio ve ark., 2006; Gómez-Isla ve ark., 1997). Yapılan diğer bir çalışmada da transgenik farelerin çoğu yoğun amiloid plaklar göstermelerine rağmen önemli nöronal kayıplar gözlenmemiştir (Faure ve ark., 2011).

4.2.8. İnsülin direnci

Son zamanlarda yapılan araştırmalar, insülin rezistansı ile AH arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Tip 2 diyabetle kognitif bozulma arasında özellikle sözel bellek açısından bir ilişki olduğu görülmüştür. Alzheimer hastalığında SSS'de düşük insülin konsantrasyonu ve insülin reseptör sayısında azalma gözlenmiştir. Alzheimer hastalarının beyinlerinde son çalışmalar hastalık başlangıcı ile başlayan ve ilerlemesi ile şiddetlenen belirgin insülin ve insülin büyüme faktör (Insuline-like growth factor-IGF) sinyalizasyon bozukluğu varlığını göstermiştir. Ek olarak i.c.v. STZ modelinde de gözlendiği gibi AH'de de, hem insülin hem de IGF sinyalizasyonunun bozulduğu gösterilmiştir. İnsülin ve IGF; nöronlarda büyümeyi, yaşamayı ve oligodendrositlerde miyelin üretiminin sürdürülmesini sağlar. Yapılan çalışmalarda IGF'nin nöron yaşam süresini uzattığı, enerji metabolizmasını uyardığı, nöroprotektif etkili olduğu ve tau proteinlerinin fosforilasyonuyla da nöron hücre iskeletinin korunmasında etkili olduğu saptanmıştır. Tau protein fosforilasyonu nöron hücre iskeletinin korunması için gerekli bir fizyolojik süreçtir ve bu olay insülin ve IGF'nin kontrolü altındadır. İnsülin ve IGF etkisinin bozulması tau'nun hiperfosforilasyonuna neden olmakta; hiperfosforile tau'da nöronda mitokondriyal hasara, oksidatif strese, apoptoza ve nekroza neden olmaktadır. Tüm bu olaylar amiloid plak gelişiminin temelini oluşturmaktadır (Kahn ve ark., 2010).

İnsülinin nöron koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir. AH ile ilgili histopatolojik açıklamalarda olduğu gibi, bu hastalığın lezyonlarının insülin seviyesinin azalmasına ve reseptör fonksiyonlarındaki bozukluklara bağlı olabileceği belirtilmiştir. Beyin insülin seviyesinin azalması; hücre içi glukoz, ACh, kolesterol, adenozin trifosfat (ATP) seviyelerinde bozulma, bozulmuş membran fonksiyonları, amiloid plak oluşumu ve taunun hiperfosforilasyonu ile sonuçlanabilir. Demans ve Parkinson hastalığında da insülin direnci yüksek bulunmuştur. Bu nedenle beyinde bozulan insülin direncinin, nörodejeneratif hastalıkların patojenezinde kritik role sahip olduğu düşünülmektedir (Monte, 2009). İnsülin rezistansı ve IGF nörodejenerasyona öncülük eder. Santral sinir sisteminde nöronların canlılığını sürdürmesi, metabolik aktivitesi ve homeostazı insülin ve IGF-1 aracılığıyla düzenlenir. İnsülin ve IGF-1 öğrenme ve belleğin sürdürülmesi için nötrofin ekspresyonunu ve plastisiteyi düzenler. Çevresel faktörler, nitrozaminler ve genetik faktörler; insülin ve IGF direncine yol açarak nörodejenerasyona sebep olur. Tip 2 DM ve diğer periferik insülin rezistansına bağlı gelişen hastalıklar; artan toksik

lipit ve seramid üretimine bağlı olarak nörodejenerasyonu şiddetlendirmektedir (Monte, 2009).

4.2.9. Kolinerjik innervasyon kaybı ve diğer nörotransmitter sistemler

Kolinerjik kayıp: Bazal ön beyin kolinerjik hücrelerindeki bozulmalar ve kortikal kolinerjik innervasyon AH'nin patolojilerindendir (Grothe ve ark., 2013). Asetilkolin (ACh) hipokampüste rol alan önemli bir nörotransmitterdir. Asetilkolin, asetil transferaz enzimi yardımı ile asetil koA ve kolinden oluşmaktadır. Kolinerjik nöronlar Ach salgılamakta ve Ach iki farklı reseptöre bağlanmaktadır. Bunlar nikotinik ve muskarinik Ach reseptörleridir. Muskarinik reseptörler nöroplastisitede rol alırken, nikotinik reseptörler ise dikkat tonusunun sağlanabilmesi için hücre uyarılabilirliğini artırırlar. Alzheimer hastalarında nikotinik reseptörlerde azalma görülmüştür. Muskarinik reseptörlerle ilgili çalışmalar tartışmalıdır. Asetilkolin esteraz enzimi (AChE) asetilkolini hidrolize ederek sinaptik iletimi engeller. Alzheimer hastalarında ChAT aktivitesinde önemli ölçüde kayıp söz konusudur. Kolinerjik kaybın kognitif bozulmalarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Grothe ve ark., 2013; Pákáski ve Kálmán, 2008). Kolinerjik sistemin APP metabolizmasını etkileyip Aβ üretimine sebep olduğu düşünülmektedir. Ek olarak ChAT aktivitesi ile NFY yoğunluğu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır; ancak anlamlı ilişki olduğuna dair çalışmalar da vardır (Auld ve ark., 2002). Alzheimer hastalarında bazal ön beyinde kolinerjik nöron dejenerasyonu ve ciddi nöron kayıpları gözlenmiştir. Bu nedenle, ACh üretiminde azalma olmaktadır. Hipokampüs ve bazal ön beyin kolinerjik sistem atrofisinin kortikal amiloid birikimini tetiklediği düşünülmektedir (Pákáski ve Kálmán, 2008; Taipel ve ark., 2014; Grothe ve ark., 2013). Bütün korteksin kolinerjik innervasyonu, bazal ön beyindeki Meynert çekirdeği, Broca alanı ve medial septal çekirdekten sağlanır (Auld ve ark., 2002). Bazal ön beyindeki kolinerjik dejenerasyon AH'nin erken evrelerinde görülmektedir (Taipel ve ark., 2014). Erken evrede Alzheimer hastaları sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında Alzheimer hastalarında ön beyin hacminde azalmalar görülmüştür (Grothe ve ark., 2013). Meynert'in bazal nükleusu da taunun anormal fosforilasyonunun ilk gözlendiği yerlerden biridir. Alzheimer hastalarında yapılan post mortem bir çalışmada limbik alanlardaki yaygın NFY oluşumu ve nöron kaybının en çok Meynert çekirdeğinde olduğu görülmüştür (Grothe ve ark., 2013). Yapılan bir meta analiz çalışmasında substantia nigradaki hücre kayıpları; dorsal raphe çekirdeği, bazal nükleus ve locus

ceruleustan daha fazla bulunmuştur (Lyness ve ark., 2003). Kolinerjik bozukluklarla kognitif gerileme ve demans arasında da ilişki olabileceği bildirilmiştir (Auld ve ark., 2002; Grothe ve ark., 2013).

Serotonerjik kayıp: Serotinin hipokampüste yaygın olarak bulunan, öğrenme ve bellekte görevli bir nörotransmitterdir. Raphe çekirdeği serotonin nöronlarının çoğunu içermektedir. Serotonin doğrudan ya da dolaylı yoldan serotonin reseptörlerini uyarmakta ve kolinerjik, glutamaterjik, GABAerjik ve dopaminerjik nörotransmisyon sistemlerini düzenlemektedir. Serotonin öğrenme, kısa ve uzun süreli bellek fonksiyonlarında kritik role sahiptir. Serotonin aktivasyonu ön beyinde ve septumda asetilkolin salınımı üzerinde inhibitör bir etkiye sahiptir (Rodriguez ve ark., 2012; Lanctôt ve ark., 2002). Alzheimer hastalığında serotonerjik aktivasyondan sorumlu dorsal raphe çekirdeğinde Meynert'in bazal nükleusu kadar olmasa da belirgin NFY'ler ve nöronal kayıplar gözlenmiştir. Bu durum serotonerjik nöronların kaybıyla sonuçlanır. Kortikal serotonerjik akson terminallerinde seratoninin salınımı ve geri alımı ileri düzeyde bozulmuştur. Alzheimer hastalığında serotonin metabolizmasının bozulması psikozu da içeren davranışsal bozukluklara sebep olmaktadır. Bu durum AH'deki hem kognitif hem de kognitif olmayan anormalliklerle ilişkili bulunmuştur. Serotonin geri alım inhibitörlerinin Alzheimer hastalığındaki kullanımı hastalarda görülen psikiyatrik semptomlar nedeniyledir (Rodriguez ve ark., 2012). Alzheimer hastalarında düşmanlık, dürtüsellik ve agresyon duygularında artış gözlenmiştir. Davranışsal ve psikotik semptomlar gösteren bir grup Alzheimer hastası ile yapılan bir çalışmada selektif serotonin geri alım inibitörleri kullanılmış ve inhibitör kullanan grupta daha düşük agresyon görülmüştür (Lanctôt ve ark., 2002). İn vivo ve in vitro çalışmalarda serotomimetik ilaçlar ile Aβ birikimi arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (Rodriguez ve ark., 2012; Garcia-Alloza ve ark., 2005).

Noradrenerjik kayıp: Noradrenalinin ana kaynağı locus ceruleustur. Locus ceruleustaki nöradrenalin; öğrenme, bellek ve dikkat ile yakından ilişkilidir. Noradrenalinin; nöroplastisite, nörotrofik faktörler, nörojenez, inflamasyon, enerji metabolizması, oksidatif stres ve eksitotoksisite üzerinde etkileri vardır (Marien ve ark., 2004). Alzehimer hastalığında noradrenalin antiinflamatuvar rol oynamakta olup, AH'de noradrenerjik nöronların kaybı inflamatuvar dengeleri bozmaktadır. Noradrenalin inflamatuvar genlerin astrosit ve mikroglialardaki transkripsiyonunu

azaltmakta ve antiinflamatuvar mekanizmalar aracılığıyla Aβ toksisitesini azaltmaktadır. Noradrenalin kolinerjik ve dopaminerjik nöronları oksidatif stresi azaltarak korumaktadır. Noradrenalin kortikal kolinerjik iletimi regüle etmektedir. Aynı zamanda beyinde dopamin ve glutamat salınımını uyarmaktadır. Alzheimer hastalığında noradrenerjik aktivasyondan sorumlu bir yapı olan locus ceruleusta da dorsal raphe benzeri nörofibriler yumak oluşumu ve nöronal kayıplar oluştuğu bildirilmiştir (Robertson, 2013; McMillan ve ark., 2011; Marien ve ark., 2004).

Dopaminerjik kayıp: Kortikostriatal dopaminerjik ağlar kognitif ve motor süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Kortikostriatal dopaminerjik fonksiyonlar AH'den korunmada ve kognitif olmayan süreçlerde (delüzyon gibi) rol oynamaktadır. Artan striatal dopaminerjik reseptör uyarılabilirliği dikkat performansını artırmak yerine tam tersi bir etki oluşturabilir. Bu durum kortikal dopamin reseptör fonksiyonları ile striatal dopamin reseptör fonksiyonları arasındaki dinamik dengeye bağlı olarak görülür (Pákáski ve ark., 2008). Parkinson, Alzheimer hastalığının ileri dönemlerinde gözlenebilmektedir. Bu duruma genellikle Lewy cisimcikleri ve dopaminerjik nöronlardaki kayıpların neden olabileceği düşünülmektedir (Gürvit, 2004).

Glutamaterjik aşırı stimülasyon: Glutamat reseptörleri hem nöronal hem de glial hücre membranlarında bulunmaktadır. İyonotropik glutamat reseptörleri doğrudan post sinaptik nörondaki katyonların akışına aracılık eder ve böylece membran depolorizasyonu görülür. Metabotropik glutamat reseptörleri dolaylı olarak intraselüler ikincil mesajcı olarak davranmaktadırlar. Glutamat normal beyin fonksiyonlarında önemli bir role sahiptir. Glutamat transmisyonu birçok tehlikeli sonuçlara sebep olabilir. Neokortikal bölgelerde ve hipokampüste glutamaterjik nörotransmisyon ciddi olarak bozulmuştur. Alzheimer hastalığındaki birçok risk faktörü ile glutamat transmisyonu arasında bir ilişki gözlenmiştir (Walton ve Dodd, 2007; Myhrer, 1998). Ekstraselüler glutamat seviyesinin uzun süreli artışı glutamat reseptörlerini aktive eder. Nöronlarda kalıcı lokal depolarizasyona sebep olur. Bu da istenmeyen hücre içi olayları (Na^{+} ve Ca^{+2} akışı olur ve süreç glutamat eksitotoksisitesiyle sonuçlanır) tetikler. Glutamat, plastisiteyle patoloji arasında denge kurmaktadır. Glutamat eksitotoksisitesi AH'yi de içine alan pek çok beyin hastalığında da (epilepsi, Huntington, iskemi ve travma) görülmektedir. Bu tür bir eksitotoksisite nöronda aşırı kalsiyum yüklenmesine sebep olur ve bu durum nörodejeneratif bozukluklarda rol oynamaktadır. Alzheimer

hastalığında görülen glutamat toksisitesinin hastalığın bir sonucu mu yoksa nedeni mi olduğu tartışmalıdır. Glutamat nörotransmisyonundaki değişimlerin ve glutamat-glutamin döngüsünün AH'nin patalojisinde rol aldığı düşünülmektedir. Belki de nöronal yıkımın yaygınlığında ana rol üstlenmektedir (Walton ve ark., 2007). Glutamat bazı postsinaptik reseptörleri uyarır. Bu reseptörler arasında AH patojenezinde rol oynayan NMDA reseptörü de yer almaktadır. Memeli beyinlerinde NMDA reseptörleri L-Glutamat reseptörlerinin ana sınıfını oluşturmaktadırlar. Bu reseptör eksitatör sinapsların post sinaptik membranında yer almakta olup, L-Glutamat ve glisin gibi endojen nörotransmitterler tarafından aktive olmaktadırlar. Bu reseptörler ayrıca K^+, Na^+ ve Ca^{+2} gibi katyonların hareketlerini iletmede aracılık etmektedirler (Hynd ve ark., 2004). Glutamaterjik disfonksiyon AH'nin progresyonunda erken dönemlerde görülmektedir. Glutamaterjik nöronlar AH'de öncelikli olarak zarar görmektedirler. Glutamat iletimi Alzheimer'de temporal, frontal ve hipokampal alanlarda zayıflamaktadır. Bu sebeplerle kompetitif olmayan bir NMDA reseptör antagonisti olan memantinin de AH'deki etkinliği üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Scott ve ark., 2011; Tayeb ve ark., 2012).

4.3. Alzheimer Hastalığı Patojenezinde Rol Alan Hipotezler

Alzheimer hastalığının nedeni henüz bilinmemekle birlikte öne çıkan üç farklı hipotez söz konusudur. İlk hipoteze göre hücre dışında biriken amiloid plaklar hastalığın temel nedenidir. Genellikle amiloid plaklar sinaptik boşluklara yerleşerek hücreler arasındaki bağlantıları engellemekte ve zaman içerisinde hücre ölümleri gerçekleşmektedir. Diğer hipoteze göre ise, taunun hiperfosforilasyonu hastalığın ana nedenidir. Bu görüşe göre, hiperfosforile tau proteinleri mikrotübülleri bağlama yeteneğini kaybetmekte ve NFY'ler halinde birikmektedirler. Bu NFY'ler aksonal transportu engellemekte ve hücre ölümlerine neden olmaktadırlar. Üçüncü hipoteze göre ise, AH semptomlarının oluşmasındaki ana mekanizma kolinerjik transmisyonun azalmasıdır. Bu hipotezi Alzheimer hastalığındaki nöronal kayıpların yaygın olarak kolinerjik nöronlarda görülmesi, Alzheimer hastalığında asetilkolin esteraz enzim aktivitesinin düşük bulunması ve antikolinerjik ilaç kullanan kişilerde bellek bozukluğunun görülmesi desteklemektedir (Sano, 1997; Akiyama ve ark., 2000; Perez ve ark., 2012).

4.3.1. Amiloid kaskad hipotezi

Alzheimer hastalığının patojenezini en iyi açıkladığı kabul edilen hipotez amiloid kaskad hipotezidir. Bu hipoteze göre beyinde amiloid birikimi AH'de merkezi rol oynamaktadır. Bu birikim yok edilebilirse AH gelişme riskinin ortadan kalkacağı düşünülmektedir (Korczyn, 2008). Beyinde Aβ'nın üretimiyle yıkımı arasındaki dengesizlik bu olayı başlatır. Amiloid β oligomerleri direk olarak hipokampüste öğrenme ve bellek için temel mekanizma kabul edilen uzun süreli potansiyalizasyonu inhibe edebilir ve sinaptik fonksiyonu bozabilirler. Ayrıca Aβ agregatlarının birikiminin inflamasyona ve oksidatif strese yol açtığı düşünülmektedir. Dolayısıyla nöronal ve sinaptik fonksiyon bozulmasına bağlı olarak kognitif bozukluklar gelişebileceği bildirilmiştir (Carli ve ark., 1990).

Amiloid hipoteziyle ilgili varolan bilgilerden biri de ailesel AH'de, APP geninin mutasyonunun keşfidir. Bu mutasyonun tüm taşyıcıları amiloid ve AH arasındaki nedenselliğin destekleyicileridir. Nöronlarda hasar meydana geldiğinde bazı proteinlerin aşırı ekspresyonu söz konusu olabilmektedir. Bu proteinlerden bu özelliği bilinen tek molekül APP olup, hasara tepki olarak nöronlar tarafından aşırı eksprese edilmektedirler. APP'nin aşırı ekspresyonu toksik Aβ oluşumunu artırarak senil plak oluşumuna sebep olmaktadır. APP mutasyonu taşıyan transgenik hayvanlar insanlarda görülen Alzheimer hastalığını tam olarak yansıtmamakla birlikte bu hayvanlarda az miktarda NFY oluşumu gözlenmiştir. Sonuç olarak; anti-amiloid tedavilerin transgenik hayvanlarda NFY oluşumunu önleyip önlemediği henüz cevaplanamamıştır. Amiloid β plakları nöronların stres altında olduğunu göstermektedir. Bu sürecin kafa travmasında, HKB'de ve Demans'a benzer patolojilerde (Parkinson, MS gibi) görüldüğü belirtilmiştir (Korczyn, 2008; Johnson ve ark., 2014).

Amiloid hipoteziyle ilgili genlerden biri de PSEN1 genidir. Bu gen γ-sekretaz'ı aktive ederek amiloidin toksik formu olan Aβ 1-42 oluşumuna neden olmaktadır. ApoE ile Aβ arasında bir ilişki bulunamamıştır (Korczyn, 2008). Yine BOS'ta Aβ'nın anormal seviyesi görülmüştür. Hafif Kognitif Bozukluğu olan bazı sağlıklı yaşlılarda PET yardımıyla yapılan çalışmalarda beyinlerinde yüksek miktarlarda amiloid birikimi görülmüştür (Johnson ve ark., 2014).

Amiloid β'nın nöronal hücreler için toksik olduğu gözlemi amiloid hipotezi için güçlü bir tartışma konusudur. Amiloid β'nın AH'nin patojenezinde anahtar rol oynadığı düşünülse de Aβ plakların hastalığın sebebi olduğu kesinlik kazanmamıştır. Bu şüpheler Aβ plak yüküyle AH'de, demansın ilerlemesi ve şiddeti arasında zayıf korelasyon bulunmasıyla artmıştır. Nörofibriler yumakların gelişimi kognitif yeteneklerin düşüşüyle daha güçlü korelasyon göstermektedir (Sano, 1997). Bu hipoteze getirilen en önemli eleştiri bazı yaşlı kişiler hiçbir bilişsel şikâyette bulunmadan veya çok az şikâyetleri olmasına rağmen sinsice yayılan beyin amiloidlerinden ölebilmektedirler. Bu kişilerin amiloid toksisitesine dirençli mi oldukları yoksa gelecekte Alzheimer hastası mı olacakları bir soru işaretidir. Beyin omurilik sıvısındaki Aβ 42 seviyesindeki azalmaların ve PET sonuçlarında beyin parakimasındaki Aβ 42 seviyelerindeki artışların gelecekte oluşabilecek kognitif gerilemeyi ve nörodejenerasyonu destekleyebileceği belirtilmiştir (Zetterberg ve ark., 2013; Johnson ve ark., 2014).

4.3.2. Tau hipotezi

Tau proteini, mikrotübüllerin organizasyonunda ve stabilizasyonunda rol alan ana proteindir. Nörofibriler yumakların ana bileşeni anormal fosforillenmiş tau proteinidir. AH patojenezinde tau hiperfosforilizasyonun mikrotübül stabilitesi ve fonksiyonunu bozmasının yanı sıra toksik fonksiyonlarda da rolü olduğu bilinmektedir. Örneğin tau agregatları apoptozu indüklemektedir; ancak, Aβ'ya benzer bir şekilde, tau proteinin oluşturduğu agregatlardan daha çok, oluşturdukları tau oligomerlerinin nörodejenerasyon ve bellek bozukluğu ile ilişkili olduğu da düşünülmektedir. Ayrıca bunama ile tau birikimi arasında bir ilişki gözlenmiştir (Meraz-Rios ve ark., 2010). Nörofibriler yumakların AH için tek başına yeterli olmayacağını gösteren başka çalışmalar da vardır. Sağlıklı yaşlılarda da tau yolaklarında taunun hiperfosforilizasyonu sonucu tau patolojileri görülebilmektedir (Iqbal ve ark., 2008). Hiperfosforile olan tau hücrelerinin toksik etkilerinin olduğu ve apoptozu indüklediği düşünülmektedir (Avila, 2006).

4.3.3. Kolinerjik hipotez

Kolinerjik hipotez amiloid hipotezinden daha önce geliştirilmiş olup, merkezi sinir sistemindeki kayıpların AH'de görülen kognitif gerilemeye katkıda bulunduğu

düşünülmektedir (Pákáski ve ark., 2008). Bu hipoteze göre, Alzheimer semptomlarının görülmesinde başta kolinerjik sistem olmak üzere bazı nörotransmitter sistemlerinin anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Alzheimer hastalığındaki bellek bozukluğunun ve kognitif gerilemenin özellikle azalan kolinerjik aktivasyondan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Alzheimer hastalığındaki nöronal kayıpların yaygın olarak kolinerjik nöronlarda görülmesi, Alzheimer hastalığında asetilkolin esteraz enzim aktivitesinin düşük bulunması ve antikolinerjik ilaç kullanan kişilerde bellek bozukluğunun görülmesini desteklemektedir (Sano, 1997). Ayrıca kolinerjik iletimin farmakolojik olarak arttırılması ile bilişsel fonksiyonların düzelmesi, hastalıkta kolinerjik sistemin katkısını açıkça ortaya koymaktadır. Ancak 1999 yılında Davis ve arkadaşları ilk olarak kolinerjik kaybın Alzheimer hastalığının erken evresinde gelişmediğini ileri sürerek, ciddi semptomların gelişmesine kadar kolinerjik kayıp olmadığını savunmuşlardır. Alzheimer hastalığının erken evrelerinde görülen semptomların kolinerjik kayba bağlı olmadığı, kolinerjik kaybın hastalığın ileri evrelerinde geliştiği, sadece ileri evrede kolinerjik sistem ve kognitif kayıp derecesinin ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmaların ışığında AH patojenezinin sadece kolinerjik hipotez ile açıklanamayacağı, biraz daha karmaşık olduğu söylenebilir. Günümüzde Alzheimer hastalığının medikal tedavisinde, kolinerjik iletimin arttırılmasıyla hastalığın semptomlarının düzelmesi bu hipotezi desteklemektedir. Bu amaçla kolinomimetik aktivite gösteren ilaçlar, muskarinik ve nikotinik reseptör agonistleri, sinaptik boşluktaki asetilkolin yıkımını azaltan asetilkolin esteraz inhibitörü ilaçlar ve asetilkolin öncü molekülü ilaçlar kullanılmaktadır (Balam ve Arıoğul, 2005; Taipel ve ark., 2014; Grothe ve ark., 2013).

4.4. Hastalığın Tanısı ve Evreleri

Alzheimer hastalığının tanısında öykü önemlidir. Birkaç hasta yakınından ve hastadan hastalığın hikayesi alınmalıdır. Hastanın kullandığı ilaçlar, aile durumu, yatağa bağımlılığı, psikolojik ruh hali, kognitif fonksiyonları, bellek işlevleri mutlaka sorgulanmalıdır. Öykü alındıktan sonra, klinikte objektif sonuçlar elde edebilmek için testler yapılmalıdır. Alzheimer hastalığı klinik olarak 3 evreye ayrılır (Karaman, 2002; Terry, 1999):

Erken evre: İlk evre genellikle önemsenmeyen ve semptomların hafif olarak görüldüğü evredir. Bu evrede yakın dönemle ilgili unutkanlıklar, içinde bulunduğu tarihi ve

mevsimi hatırlamada güçlük, aynı soruları tekrar sormak, eşyaların yerlerini karıştırma, hesaplamada zorlanma, kelimeleri bulmada ve ifade etme zorluğu, kişilik değişikliği, hesaplamada zorlukların olduğu evredir.

Orta evre: Bu evrede günlük yaşam etkinliklerini sürdürme becerilerinde azalma gözlenir. Gece ve gündüzü karıştırma, halüsinasyon, evin yolunu bulamama gibi bellek işlevlerinin kaybolması, aile bireylerinin adlarını unutma, kişilik değişiklikleri, uykusuzluk ve huzursuzluğun geceleri artması, öz bakım yetersizlikleri ve gezinmenin olduğu evredir.

İleri evre: Bu evrede hasta tamamen yatağa bağımlıdır. Hasta idrarını ve dışkısını tutamamakta, tek başına beslenememekte, belirgin davranışsal bozukluklar görülmekte, çevresindeki kişilerle iletişim kuramamaktadır. Hastalık süresi 1,5-15 yıl arasındadır (Waite ve ark., 1999). Ortalama yaşam süresi tanı konulduktan sonra 7-8 yıl arasında değişmektedir (Scinto ve Daffner, 2000).

4.5. Alzheimer Hastalığının Semptomatik Tedavisi ve Diğer Yaklaşımlar

Alzheimer hastalığının patojenezi tam olarak aydınlatılamadığından, günümüzde tedavisi semptomatiktir. Tedavi; hastanın kognitif fonksiyonlarını düzeltmeye, hastalık süresince görülen psikiyatrik problemleri iyileştirmeye ve hastanın yaşam kalitesini arttırmaya yönelik olmalıdır. Hasta, hasta yakını ve hekim arasında; hastalığın prognozunun 2-10 yıl olabileceği, tedavilerin yetersiz kalabileceği ama belirgin faydaları olacağı, hastanın takibi, bakımı ve rehabilitasyonunda güçlüklerin çıkabileceği ilk vizitten itibaren konuşulmalıdır (Karaman, 2002; Terry, 1999).

Alzheimer hastalığının standart ve etkin bir tedavi protokolü yoktur. Temel sorun nöron kaybı ve kolinerjik sistemdeki azalmadır. Kolinerjik etkinliğin arttırılması hastanın yaşam kalitesinde ve hastalığın progresyonunda düzelme sağlarken; hastanın beynindeki nöron kaybı engellenememektedir. Ortaya çıkan davranış bozukluklarının tedavisine katkı açısından kolinesteraz inhibitörlerine devam edilebilir (Farlow ve ark., 1998). Günümüzde tedavide kullanılan ilaçlar AChE inhibitörleri ve NMDA reseptör antagonisti memantindir. Bu ilaçlarla tedavi kognitif bozuklukları hafifletmeye yöneliktir. Ancak kolinerjik temelli tedaviler ideal değildir ve gelecekteki tedavilerin temel patolojik süreçleri çözmesi gerekmektedir. Amiloid β birikimi azaltılarak bu

peptidin bazal nükleustaki negatif etkileri azaltılabilir. Böylece geleneksel kolinerjik tedavilerin etkinliği arttırılabilir (Auld ve ark., 2002).

4.5.1. Kolinesteraz inhibitörleri

Asetilkolinesteraz inhibitörleri AH'nin tedavisinde geniş çaplı olarak kullanılmaktadır. Alzheimer hastalığının tedavisinde kolinerjik temelli tedavilerde ve nikotinik/muskarinik kolinerjik ajanlar kullanılmaktadır. Kolinerjik sistem fonksiyonlarının arttırılması hastalıkta düzelmeler sağlamaktadır. Kolinesteraz inhibitörleri, ACh'nin intrasinaptik yıkılımını geciktirmekte ve sinaptik boşluktaki ACh seviyesini artırarak etkisini uzatmaktadır (Pákáski ve ark., 2008). Ayrıca, muskarinik ve nikotinik etkilerle toksik amiloid prekürsör oluşumunu azaltır, büyüme faktörlerinin sentezini arttırır ve nöronal dejenerasyonu azaltırlar (Doody ve ark., 2001; Sirvio, 1999). Kolinesteraz inhibitörlerinin etkinliği, sağlam kolinerjik nöronların varlığına bağlıdır, bu sebeple tedaviye mümkün olduğunca erken başlanmalıdır ve tedavi aralıksız sürdürülmelidir. Pek çok AChE inhibitörü (donepezil, galantamin ve rivastigmin), hafiften ağıra kadar her evrede AH'lerin semptomlarını düzeltmek için kullanılır (Pákáski ve ark., 2008; Small ve Bullock, 2011). Asetilkolinesteraz inhibitörlerinin; günlük yaşam aktivitelerini, davranışsal semptomları ve kognitif fonksiyonlardaki gerilemeyi düzelttiği görülmüştür; ancak tedaviye başlama zamanı tartışmalıdır. Postmortem veriler neokortikal kolinerjik hasarın erken evre AH'de minimum olduğunu göstermiştir. Bu grup ilaçlar Alzheimer hastalığını tedavi etmez ve Alzheimer hastalığına neden olan hücre hasarı sürecini durdurmaz veya tersine çevirmezler. Sadece hastalığın semptomlarının düzelmesini sağlarlar. Bu grup ilaçların en iyi bilinen yan etkisi gastrointestinal sistem üzerine olan (diyare, bulantı, kusma) yan etkileridir (Small ve ark., 2011; Aisen ve ark., 2008). Bu gruptaki ilaçlara örnek olarak aşağıdaki ilaçlar gösterilebilir:

Tacrine: İlk olarak 1993 yılında piyasaya sunulmuş ama toksik yan etkileri nedeniyle (belirgin hepatotoksisite) günümüzde kullanımı sınırlanmıştır. Günde 4 doz kullanılıp etkisini kolinesteraz enzimini reversibl olarak inhibe ederek gösterir (Tayeb ve ark., 2012).

Galantamin: Daha çok hafif ve orta şiddette Alzheimer hastalığı belirtilerinin tedavisinde kullanılan bir kolin esteraz inhibitörüdür. Nikotinik ACh reseptörlerini uyarır ve AChE enzimini reversibl olarak kompetitif bir şekilde inhibe eder. Günde iki doz olarak verilen ve faydaları gösterilmiş olan reversibl bir AChE inhibitörüdür. Nikotinik reseptörleri düzenler. Aynı zamanda Butirilkolinesterazı (BuChE) inhibe eder. Ortalama günlük doz 16-24 mg olarak kullanılmaktadır (Tayeb ve ark., 2012; Small ve ark., 2011).

Donepezil: Donepezil, piperidin türevi reversibl spesifik AChE inhibitörüdür. Hepatotoksik yan etkilerinin olmaması, kolinesteraz inhibitörleri arasında en az yan etkili ilaç oluşu ve günde tek doz kullanım olanağı, ilacın en önemli avantajlarıdır (Laura ve ark., 1999). Kognitif fonksiyonlarda % 50-70 düzelme sağladığı gösterilmiştir (Rogers ve ark., 1996). Günde 5 mg dozda başlanır ve daha sonra 2-4 hafta içinde hasta tolere ediyorsa, tedavi dozu olan 10 mg gece yatmadan önce tek doz olarak verilir. İlacın 23 mg'lık tek doz kullanımı da mevcuttur. İlacın 10 mg ve 23 mg'lık dozları kıyaslandığında 23 mg'lık grupta kognitif fonksiyonlarda düşük düzeyde düzelme görülmüştür. Donepezilin yararları 3. ayda belirginleşmekte ve 18-24 ay sürmektedir. Donepezil SSS'deki kolinesteraz enzimine çok daha yüksek afinite gösterdiğinden periferik yan etkileri sınırlıdır. Hafif ve orta evre Alzheimer hastalığında tercih edilirken, ileri evre Demans'ta da limbik sisteme olan etkileri ile davranış bozuklukları üzerine olumlu etkileri vardır. Donepezil, galantamin ve rivastigmine kıyasla daha az yan etki göstermekte ve daha iyi tolere edilmektedir (Tayeb ve ark., 2012; Nordberg ve ark., 2009; Aisen ve ark., 2012).

Rivastigmin tartarat: Rivastigmin Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan beyin-selektif asetilkolinesteraz inhibitörü ilaçtır. Asetilkolin esteraz ve BuChE'yi birlikte inhibe eder. Butirilkolinesteraz glial hücrelerde, AChE nöronlarda lokalize olur. Kognitif kapasiteye etkisi, genel olarak % 30-50 düzelme yönündedir. Tedaviye günde iki doz 1,5 mg olarak başlanır ve zamanla günde iki kez 6 mg'a çıkarılır. Rivastigminin bant formları yan etkileri azaltmaktadır (Tayeb ve ark., 2012; Nordberg ve ark., 2009).

4.5.2. N-Metil-D-Aspartat antagonistleri

AH tedavisi için onaylanan Memantin kolinesteraz inhibitörü olmayan ilk farklı ilaçtır. Bu ilaç FDA tarafından 2002 yılında orta ve ağır AH'de kullanılmak üzere onaylanmıştır. Almanya'da 1982'den itibaren parkinson gibi nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan Memantin Türkiye'de 2003 yılında piyasaya verilmiştir. Memantin demansa karşı etkili non-kompetitif NMDA reseptör antagonisti nöroprotektif bir ilaçtır. Hipoksi, iskemi, strok (inme) ve Alzheimer hastalığı gibi akut ve kronik rahatsızlıklarda görülen nörodejenerasyonun, aşırı miktarda salıverilen glutamat ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Glutamik asit beyinde baskın olarak bulunan bir eksitatör amino asittir ve NMDA reseptörlerini stimüle eder. Bu stimülasyon intranöronal kalsiyum konsantrasyonlarının yükselmesine yol açar. NMDA reseptörlerinin memantin tarafından bloke edilmesi intraselüler kalsiyum birikimini azaltır (Aisen ve ark., 2012). Memantin, glutamatın biyolojik aktivitesini düzenler. Glutamat ise NMDA reseptörlerini uyararak öğrenme ve bellek işlevlerinde önemli rol oynadığı düşünülen, beyinde uyarıcı olarak görev yapan moleküllerdir. Glutamat tarafından NMDA reseptörlerinin aşırı uyarılması sonucunda hücreler glutamat toksisitesine bağlı yıkıma uğrayabilirler. Glutamaterjik disfonksiyon, NMDA reseptörlerinin devamlı ve düşük düzeyde aktivasyonuna yol açar. Bu durum, nöronal disfonksiyon yoluyla kognitif bozulmaya sebep olur. Memantin, NMDA reseptörlerinin patolojik aktivasyonunu bloke eder. Memantin, NMDA ve serotonin reseptör antagonistidir. Yarılanma ömrü 60-80 saattir. Parsiyel hepatik yoldan metabolize olur. Memantin daha çok orta ve ağır AH'de; kognisyon ve davranış üzerine etkilidir. Klinik çalışmalarda Memantin kullanan hastalarda kognisyon ve davranışsal gelişmelerle birlikte hastanın bakıma bağımlılığının azaldığı görülmüştür. Memantin ile ACh inhibitörlerinin etkileri benzerdir. Ancak Memantin orta evreden ileri evreye doğru Alzheimer hastalarında kullanılırken ACh inhibitörleri ise hafiften orta evreye doğru kullanılmaktadır (Aisen ve ark., 2012; Tayeb ve ark., 2012). Memantin özellikle nöropsikiyatrik semptomlar için kullanılmakta olup hastalığın progresyonunu ya da sonuçlarını değiştirmemektedir. Klinikte Memantin ve Kolinesteraz inhibitörleri birlikte kullanmaktadırlar. Kolinesteraz inhibitörleri ile kombine kullanımında ileri Alzheimer hastalarında kognitif fonksiyonları, günlük aktiviteleri ve davranışsal semptomları önemli ölçüde düzelttiği görülmüştür. Memantin ile tedavi edilen 350 Alzheimer

hastasının katıldığı randomize kontrollü çalışmada, 24 hafta sonunda plaseboya karşı üstünlüğü gösterilmiştir. Donezepil ile Memantin'i kombine kullanan 404 Alzheimer hastasında yapılan randomize bir çalışmada plaseboya göre etkili ve güvenli oldukları bildirilmiştir (Corey-Bloom ve ark., 1998; Aisen ve ark., 2012; Tayeb ve ark., 2012).

4.5.3. Diğer tedavi yaklaşımları

Antioksidanlar: Alzheimer hastalığında gözlenen nörodejenerasyonda oksidatif stresin hastalığın erken döneminde ortaya çıkması antioksidan ajanların hastalığın progresyonunda etkileri olup olmadığı konusunu tartışmaya açmıştır. Özellikle, vitamin E'nin kandaki majör formu olan alfa-tokoferol, selegilin ve Ginkgo Biloba denenmiştir. Bunlarla birlikte resveratrol, curcumin, flavanoidler ve koenzim Q-10 ile yapılan çalışmalar da vardır (Mecocci ve Polidori, 2012). Alfa-tokoferol'ün demans üzerine olan etkisi tartışmalıdır. Antioksidan tedaviler ileri evre Alzheimer hastalarında etkin olamamaktadır. Antioksidanların birçoğu yüksek dozlarda faydalı olmamakla birlikte toksik özellikler de göstermektedirler. Yapılan bir meta analiz çalışmasında yüksek doz E vitamini ölümlere sebep olabilmektedir (Rijpma ve ark., 2014; LLoret ve ark., 2011). Çift-kör, plasebo kontrollü, çok merkezli bir diğer çalışmada, AH olan 341 kişiye selegilin ve alfa-tokoferol verilmesinin hastalığın progresyonunu yavaşlattığı ancak bilişsel yarar sağlamadığı bildirilmiştir (Sano ve ark., 1997). Buna karşın, çift-kör, plasebo kontrollü 3 yıllık bir çalışmada ise, 769 Alzheimer hastası kişiye verilen alfa-tokoferol'ün demans üzerine etkili olmadığı bildirilmiştir (Petersen ve ark., 2005). Ginkgo Biloba ile ilgili randomize, plasebo kontrollü yapılan ilk çalışmalarda sonuçlar çelişkilidir. Bir polifenol olan resveratrolün AH'nin progresyonunu engellemede faydalı olabileceği düşünülmektedir. Güçlü bir antioksidan ve antiinflamatuvar olan resveratrolün oksidatif stresi, Aβ birikimini ve inflamasyonu azaltabileceği düşünülmektedir. Ancak polifenollerle ilgili çok az klinik çalışma pozitif sonuç göstermiştir. Curcumin ile yapılan bir çalışmada, AH patolojilerinin düzeltilmesinde katkıda bulunmadığı görülmüştür (Choi ve ark., 2012; Mecocci ve ark., 2012; LLoret ve ark., 2011; Çelik ve Uzbay, 2003).

Büyüme faktörleri: Sinir büyüme faktör (NGF- Nerve Growth Factor)'ünün santral sinir sisteminde ve periferal sinir sisteminde önemli bir yeri vardır. Sinir büyüme faktörü SSS'de kolinerjik nöronların yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmelerine

yardımcı olur (Williams ve ark., 2006). Sinir hücresi büyüme faktörünün intratekal ve nazal sprey formları vardır. Kullanımı zor, pahalı ve etkileri tartışmalıdır. Nörotrofik faktörler de Alzheimer hastalarında denenmektedir. Bunlar NGF'nin kendisi olabileceği gibi, NGF'yi stimüle eden (Propentofilin ve İdebenone gibi) ajanlar da olabilir. Kolinerjik nöron kaybı ile seyreden AH'de NGF, kolinerjik fonksiyonları uyararak, hafıza ve kolinerjik dejenerasyon üzerine olumlu etki edebilmektedir (Tuszynski ve ark., 2005). Sinir büyüme faktör bazal ön beyinde kolinerjik nöronlar üzerinde önemli rol oynamaktadır. Alzheimer hastalığında bazal ön beyindeki nöronlar yüksek oranda etkilenmekte olup, NGF bu nöronlarla ilişkili nörodejeneratif bozukluklar için potansiyel bir koruyucu olarak görülmektedir (Mufson ve ark., 1989). Ancak yapılan bir çalışmada NGF'nin plaklar ve yumaklarla ilişkili nöropatolojiyi hızlandırabileceği ve bazal ön beyindeki kolinerjik nöronlarda apoptoza neden olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmada NGF'nin hastalara fayda sağlamadığı görülmüştür. Bunlara rağmen, sinir büyüme faktörü nörodejeneratif hastalıklar ve periferal nöropatiler için umut verici bir farmakolojik tedavi olarak görünmektedir (Williams ve ark., 2006; Mufson ve ark., 1989).

Kolesterol azaltıcı ilaçlar: Statinler, 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A redüktaz enziminin selektif inhibitörü olan hipolipidemik ilaçlardır. Bu gruptaki ilaçlar diğer ilaçlardan farklı olarak LDL kolesterolü düşürmeye yarayan ilaçlardır. Statinler amiloid plak oluşumuna neden olan enzim sistemlerini bozabilirler (Zigman ve ark., 2007). Yapılan bir çalışmada en az altı aylık statin kullanımının AH riskini azaltabileceği görülmüştür (Green ve ark., 2006). Down sendromlu bir hasta grubunda yapılan çalışmada total kolestrol seviyesinin beyin savunmasızlığını arttırdığı ve statin kullanımının Alzheimer riskini azalttığı görülmüştür. Yüksek kolestrol seviyesinin AH riskini iki kat arttırdığı; buna karşın yüksek kolestrolü olup statin kullananların kullanmayanlara göre AH riskinin düşük olduğu bulunmuştur (Zigman ve ark., 2007). Bazı ön çalışmalar statinlerin bu etkileri ile AH gelişiminde önleyici bir rolü olabileceğini düşündürmüştür. Yapılan bir ön çalışmada, 1 yıl süre ile günlük 80 mg Atorvastatin 98 Alzheimer hastası üzerinde denenmiş ve anlamlı klinik düzelme sağladığı bildirilmiştir. Daha sonra 640 hasta üzerinde yapılan çok merkezli, çift-kör, plasebo kontrollü ve uluslararası bir çalışmanın sonuçları ise ön çalışma ile uyumlu

bulunmamış, 80 mg Atorvastatin'in plaseboya bir üstünlük sağlamadığı gözlenmiştir (Feldman ve ark., 2010).

Östrojen: Östrojen'in nöron korunmasını arttırdığı, apaptozu inhibe ettiği, sinaptojenez ve sinaptik plastisite de rol oynadığı düşünülmektedir. Östrojen sinir büyüme faktörünü arttırır, amiloid metabolizmasında rolü vardır ve antioksidan etkileri vardır. Sinir büyüme faktörü ile sinerjistik etki gösterir. Östrojenin AH'de koruyucu etkisinin olduğu (Brenner ve ark., 1994; Henderson, 1997) ve demans gelişme riskini de % 50'lere kadar azalttığını gösteren çalışmalar bildirilmiştir (Karaman, 2002). Ancak bunlardaki hasta sayıları ve çalışma düzenekleri tartışmalıdır. Başlangıçta çelişkili bulgular elde edilmiş olsa da, devam eden randomize kontrollü araştırmalar östrojen replasman tedavisinin AH'nin ne progresyonu ne de bilişsel fonksiyonları üzerine etkili olmadığını göstermiştir. Aksine, östrojen kullanımı, kardiyovasküler hastalık ve demans riskindeki artışla ilişkili bulunmuştur (Mulnard ve ark., 2000; Choi ve ark., 2012; LLoret ve ark., 2011).

Ginkgo Biloba: Ginkgo Biloba bitkisel bir ürün olup in vivo ve in vitro çalışmalarda faydalı etkileri olabileceği düşünülmektedir. Plaseboyla karşılaştırıldığında Ginkgo kullananlarda kognitif gerilme düzeylerinde bir farklılık görülmemiştir (LLoret ve ark., 2011). Başka çalışmalarda da, Gingko Biloba'nın demans ve kognitif bozuklukta klinik olarak bir düzelme sağlamadığı görülmüştür (Kaschel, 2009). Demans tedavisi açısından Gingko Biloba'nın antioksidan özelliklerinin şüpheli olduğu düşünülmektedir.

Omega-3: Omega-3 deniz trigliseridleri omega-3 yağ asitleri olan eikozapentaenoik asit (EPA) ve doksaheksaenoik asit (DHA) trigliseridlerini içerir. İnsanda hipolipidemik (özellikle trigliseritler üzerinde), antiinflamatuvar ve antitrombosit etki gösterirler. Omega-3 yağ asitlerinin AH'deki kognitif fonksiyonlarda rol oynadığını gösteren çalışmalarda vardır (Cole ve ark., 2005). Omega-3 tedavisi pek çok Alzheimer hastasında ve HKB'si olan hastada iyi tolere edilmekte ve ciddi yan etkiler görülmemektedir. Hayvan çalışmalarında DHA'nın hipokampal ACh seviyesini ve onun türevlerini arttırdığı görülmüştür. Deneysel çalışmalarda EPA ve DHA alımının bilişsel fonksiyonları arttırdığı görülmüştür (Chiu ve ark., 2008; Paul ve ark., 2014).

Amiloid oluşumunu etkileyen ilaçlar: Alzheimer hastalığının patojenezinde yer alan amiloid hipotezine göre, Aβ'yı hedef alan tedaviler geliştirilmektedir. Bu tedaviler; amiloid proteinlerinin miktarının azaltılması, öncül proteinin kararlılığının korunması, beta tabakasının oluşumunun engellenmesi, fibril uzamasının engellenmesi ve amiloid bileşenlerinin yıkılması gibi tedavi stratejilerini esas almaktadır. Birçok çalışmada gösterilmiştir ki, amiloid plakların kaldırılması, hastalığın ilerlemesini engellememektedir. Aslında Aβ'nın toksik olup olmadığı ya da hangi tipinin toksik olduğu ve AH patojenezindeki yeri henüz belirsizdir (McLean ve ark., 2012). Öncül madde olan APP'den, sekretaz enzimleri aracılığı ile amiloid protein oluşur. Beta ve gama sekretazların amiloid birikimi ve yıkımı ile ilgili aktiviteyi azalttığı bilinmektedir. Son yıllarda sekretaz inhibitörlerinin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar sürmektedir (Taşkıran, 2007). Amiloid β42 proteinine karşı geliştirilen antikorlar aracılığı ile oluşturulan Alzheimer aşısının kullanımı erken dönemlerde durdurulmuştur. Bu aşının öngörülemeyen ciddi yan etkilere (inflamasyon, ensefalit gibi) sebep olduğu görülmüştür. Amiloid β üretimini azaltan ilaçlar, BACE-1 ve γ-sekretazlardır. Amiloid β oluşumunu engellemek için aktif ve pasif immünizasyon tedavisi yapılmaktadır. Aktif immünizasyon, amiloid hastalıklarının tedavisi için en etkili yöntem olarak gösterilmektedir. Aşılanan hastaların çoğu anti-Aβ antikorları oluşturmuşlardır. Serum anti-Aβ antikorlarının artışıyla hastalığın ilerlemesi arasında ters yönlü bir ilişki görülmüştür. Beyin reaktif anti-Aβ antikorları alan hastalar, almayan hastalara göre anlamlı olarak daha düşük kognisyon göstermişlerdir. İmmün sistemin yönlendirilmesiyle amiloid fibrillerinin ortadan kaldırılabileceğini gösteren bir çalışmada, insan mutant APP geni aşırı ekspre edilen transgenik fareler ile çalışılmış ve aktif immünizasyon yapılan genç farelerde amiloid oluşumu engellenmiştir. Aynı çalışmada yaşlı farelerde ise varolan amiloid plaklarda azalma görülmüştür. Bu çalışmada Aβ aşılamasından sonra kognitif gelişmeler gözlenmiştir (Geylis ve Steinitz, 2006). Ayrıca, 11 aylık yaşlı transgenik farelerin de amiloid patolojileri bu yöntemle azaltılmıştır (Schenk ve ark., 1999). Pasif immünizasyon ise monoklonal antikorlar ya da poliklonal immünoglobulinler ile Aβ birikimini temizlemektir. İntravenöz immünoglobulin antikorları Aβ fibrilasyonuna müdahale etmekte ve nöronları Aβ peptidin toksik etkilerine karşı korumaktadır. Yapılan bir klinik denemede pasif immünizasyon yapılan Alzheimer hastalarında BOS'ta amiloid Aβ peptid seviyesinde anlamlı azalma görülmüştür. Pasif immünizasyon tedavisi, ciddi yan etkiler

göstermeden kognitif fonksiyonlarda iyileşmeler sağlamıştır. (Geylis ve ark., 2006; Geylis ve ark., 2005). Anti-Aβ antikorları, pasif immünize edilen farelerin beyinlerine geçebilmekte ve Aβ plaklarını yeniden dizayn etmektedirler. Monoklonal anti-amiloid antikorlarından bazıları in vivo koşullarda amiloid birikimini etkilemezken in vitro ortamda amilod peptidlerine bağlanmaktadır (Geylis ve Steinitz, 2006). Alzheimer hastalığında denenen monoklonal antikorlar; Bapineuzumab, Solanezumab'dır. Bapineuzumab, hafif ve orta AH'de faz 2 çalışmasında, kognitif verilerde önemli olmasa da iyileşme göstermiştir ve faz 3 çalışması sürmektedir (Mangialasche ve ark., 2010). Bard ve arkadaşları ise Aβ'ya karşı geliştirilen antikorları transgenik farelere i.p. olarak enjekte etmiş, yani pasif immünizasyon yöntemini kullanmışlardır. Üç ay boyunca haftalık aşılamalar yapılan farelerde amiloid patolojisinin azaldığını göstermişlerdir (Bard ve ark., 2000).

B Vitamini, Folat: B vitaminleri homosistein mekanizmalarını etkileyip AH riskini azaltmada ve progresyonunu yavaşlatmada terapötik bir seçenek olarak görülmektedir. Kanda homosistein yükselmesi genetik bozulmalar, B_{12} vitamini ve folat bozukluğu için bir belirteçtir (Aisen ve ark., 2008; Quadri ve ark., 2004). Hafif Kognitif Bozuklukta ve Demans'ta folat seviyesi düşük bulunmuştur. Yapılan minimental testte hiperhomosisteineminin yaşlılarda görülen kognitif gerileme için bir risk faktörü olabileceği gösterilmiştir (Quadri ve ark., 2004). Çalışmalarda homosistein ile amiloid birikimi, glutamat toksisitesi ve kognitif bozukluklar arasında ilişki bulunmuştur. Beyinlerinde amiloid depozitleri olan transgenik farelerle yapılan bir çalışmada, homosistein yükselmesinin hipokampal nöron kaybını uyardığı görülmüştür. Homosistein seviyesi ile AH'deki amiloid peptidler arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Homosistein seviyelerindeki azalma amiloid oluşumunu azaltabilir. Homosistein seviyelerindeki azalma B vitaminleri ile desteklenirse hafiften ortaya Alzheimer hastalarında kognitif gerilemeyi düzeltebileceği düşünülmektedir. Ancak yapılan bir çalışmada yüksek doz B vitamini kullanımının hafif ve orta AH'de kognitif gerilemede etkili olmadığı gösterilmiştir (Aisen ve ark., 2008; Quadri ve ark., 2004). Homosistein yüksekliğinin AH için risk faktörü olabileceği görüşünden yola çıkarak, plazmada homosisteini düşüren B vitamini ve folat gibi bileşikler denenmiş; ancak yakın zamanda yapılan bir çalışmada yüksek doz B vitamini desteğinin bilişsel

fonksiyonlardaki bozulmada belirgin bir yavaşlama sağlamadığı görülmüştür (Aisen ve ark., 2008).

Tau proteinine yönelik tedaviler: Tau, tübüllere bağlanan bir sitoplazmik proteindir. Tau fosforilasyonu ve tau patolojisi arasındaki güçlü ilişki tau kinaz inhibitörlerini potansiyel terapötik olarak düşündürmektedir. Bu amaçla pek çok tau kinaz inhibitörü geliştirilmiştir. Diğer bir tedavi müdahalesi ise çeşitli tau türleri tarafından oluşturulan tau agregasyon sürecinin inhibe edilmesi üzerinedir. Agregasyonun erken inhibisyonu nörodejenerasyonu önlemeyi amaçlayan başarılı farmakolojik tedaviler için kritik rol oynamaktadır. Non-nöroleptik fenotiyazin yapısındaki metilen mavisiyle yapılan bir çalışmada beklenen kognitif iyileşme sağlanamamıştır (Medina ve Avila, 2014; Wischik ve ark., 2014). Şimdiye kadar faz 3 çalışmasına ulaşan tauya yönelik tek ilaç, Valproik asit olmuştur. Ancak bu çalışmada Valproik asitin faydasız olduğu bulunmuştur. Lityum da başarısız olan diğer ilaçtır. Metilen mavisi de anti tau bir madde olup, hayvanlarda tek başına ve Rivastigmin ile birlikte kullanıldığında, öğrenme güçlüklerini ve hafıza bozukluklarını geri çevirmiştir. Faz 2 çalışmasında kısmen faydalı olduğundan faz 3 çalışmaları sürmektedir. Nikotinamid için de faz 2 çalışması yapılmaktadır (Mangialasche ve ark., 2010). Tau hiperfosforilizasyonunu ve tau birikimini hedef alan çeşitli tedaviler olmasına rağmen bunlardan hiçbiri anlamlı bir tedavi sağlamamıştır (Jovanov-Milošević ve ark., 2012).

Metal şelatörleri: Demir, bakır ve çinko gibi metaller, beyindeki birçok metabolik süreç için (miyelinizasyon, nörotransmitter sentezi gibi) gereklidir. Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda beyinde metal birikimi olduğu bildirilmiştir. Bu metaller beyindeki antioksidan enzimlerin görevini yapabilmesi için gereklidir (Gouras ve Beal, 2001). Artan kanıtlar serebral biyometallerden demir, bakır ve çinko homeostazının bozulmasının AH patolojisine katkıda bulanabileceğini göstermiştir. Postmortem Alzheimer'li beyinlerdeki Aβ plakların bu biyometalleri yüksek oranda içerdiği görülmüştür. Bu metalleri içeren Aβ plakların oksidatif stresi tetiklediği ve Alzheimer patolojilerini arttırdığı görülmüştür. Ancak metal şelatörlerinin mekanizması yeteri kadar açık değildir (Dedeoğlu ve ark., 2004).

Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ): Alzheimer hastalığında görülen nörodejenerasyonda inflamatuvar mekanizmaların rolü olduğu bilindiği için

antiinflamatuvar ilaçlarla yapılan çalışmalar da gündemdedir. Bu konudaki klinik çalışmalar antiinflamatuvar ilaç kullanımının AH gelişim riskini azaltıp azaltmadığı yönündedir. Araştırmalara göre NSAİİ veya kortikosteroid kullanımında bu riskin daha düşük olduğuna dair bulgular vardır. Bir siklooksijenaz inhibitörü olan celekoksib, rofekoksib ve naproksen ile yapılan randomize kontrollü bir çalışmada kognitif disfonksiyon ve demans üzerine olumlu etkileri gözlenmemiştir. Bu araştırma inflamasyon inhibisyonunun nörodejeneratif süreçleri azaltabileceği hipotezini desteklememiştir (Ancelin ve ark., 2012; Côté ve ark., 2012). Yapılan diğer bir çalışma NSAİİ ve kortikosteroidlerin AH'nin başlangıcını geciktireceğine dair hipotezi desteklemiştir (Breitner ve ark., 1995). Başka bir çalışma AH'de düzenli olarak kullanılan NSAİİ'lerin AH riskini % 21-27 arasında azalttığını göstermiştir. Bu çalışmada NSAİİ'lerin kognitif bozulmalarda faydalı olabileceği görülmüştür (Côté ve ark., 2012).

Monoklonal antikorlar: Tümör nekroz faktör-α, IL-1 ve IL-6 AH progresyonunda rol oynayan önemli sitokinlerdir. Amiloid proteinine bağlı hasarın inflamasyon aracılığı ile olduğu düşünülmektedir. Nörodejenerasyona yol açan inflamatuvar mekanizmalar; kompleman aktivasyonu, mitokondri aktivasyonu, sitokin reaksiyonları şeklindedir. Senil plaklar, Aβ ve birçok inflamasyon ürününden oluşmaktadır. Bu inflamatuvar mediyatörler, amiloid plağı çözünmez ve kompakt bir hale getirirler (Gauthier, 1999).

Doğal immüniteye aracılık eden sitokinlerden olan IL-6; mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar ve epitel hücreler ile bazı aktive T hücreleri tarafından sentezlenirler. İnterlökin-6, RA'lı eklemlerden alınan inflamatuvar sıvılarda, serumdaki seviyelerinin 1000 katına ulaşan değerlere kadar çıkmıştır. Araştırmalarda RA'lı hastaların serum IL-6 düzeyleri ile C-reaktif protein (CRP), fibrinojen ve haptoglobülin arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle IL-6'nın RA'da akut faz cevabının majör aracısı olduğu düşünülmektedir. İnterlökin-1 ve TNF-α yalnız başlarına hepatositlerden akut faz protein sentezinde çok az role sahip iken, aktive monositler ile beraber IL-6 bulunduran ortam, akut faz protein cevabının ortaya çıkmasında kuvvetli bir uyarıcıdır (Quintanilla ve ark., 2004).

Tümör nekrozis faktör-α; glia, nöron, makrofaj ve diğer immün hücreler tarafından üretilen immün sinyal molekülüdür. Proinflamatuvar fonksiyonlarına ek olarak TNF-α,

beyinde gliotrasmitter olarak görev alır ve beyinde nöronlar arasında sinaptik iletişimi düzenler. Tümör nekrozis faktör alfa sistemik ve immünomodilatör bir sitokin olup genellikle akut faz reaksiyonlarını tetiklemede rol alır. Tümör nekroz faktör-α'nın IL-1 ekspresyonunu arttırarak nöroinflamasyon ve nörodejenerasyona neden olduğu ayrıca amiloid plak, nörofibriler yumak ve lewy cisimciği oluşumu için gerekli öncüllerin üretiminde rol oynadığı düşünülmektedir. Bilimsel çalışmalar BOS'taki TNF-α artışının, AH'nin patofizyolojisindeki sinaptik disfonksiyonda rol oynadığını göstermiştir. Tümör nekroz faktör-α'nın artarak amiloid plak oluşumuna neden olduğu ve bu durumunda kognitif bozukluklara aracılık ettiği gösterilmiştir. Ayrıca başka bir çalışmada Alzheimer hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, Alzheimer hastalarının BOS'unda çözülebilir TNF-α reseptörlerinin ve TNF-α dönüştürücü enzim aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (McAlpine ve ark., 2009; Clark ve ark., 2010).

Etanersept, rekombinant çözülebilir TNF-α reseptör füzyon proteini olup TNF-α'nın aktivitesini bloke eder. Yapılan bir çalışmada 15 Alzheimer hastasına 6 ay boyunca haftada bir Etanersept uygulanmış ve çalışmanın sonucunda perispinal uygulanan Etanersept'in Alzheimer hastalarının kognitif fonksiyonlarında kalıcı iyileşme sağladığı gösterilmiştir. On beş hastadan ikisi üzerinde bu etkilerin dakikalar içinde görüldüğü bildirilmiştir (Griffin, 2008). Başka bir çalışmada ise i.c.v. uygulanan Etanersept'in travmatik beyin hasarı üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Etanersept'in iskemik beyinde; mikroglia, astrosit ve nöron ilişkili TNF-α ekspresyonunu azalttığı izlenmiştir. Çalışma sonucunda Etanersept'in TNF-α'ya bağlı mikroglial ekpresyonu azaltarak travmatik beyin hasarını iyileştirdiği bildirilmiştir (Cheong ve ark., 2013).

Tümör nekrozis faktör-α inhibitörü olan Talidomid kan-beyin bariyerini geçebilir ve mRNA'da TNF-α ekspresyonunu ve TNF-α üretimini doğrudan düzenleyebilir. Bu amaçla yapılan çalışmada Talidomid'in, Transgenik Alzheimer'li sıçanlarda Alzheimer benzer patalojilerini düzelttiği görülmüştür. Yine bu çalışmada Aβ plakların sayısında anlamlı azalmalar izlenmiştir (Shen ve ark., 2011). Talidomid'in Aβ üretimi için APP'den biri olan BACE-1 ekspresyonunu inhibe ettiği, BOS'da BACE-1 ve Aβ seviyelerini azalttığı görülmüştür (Sabbagh ve ark., 2013).

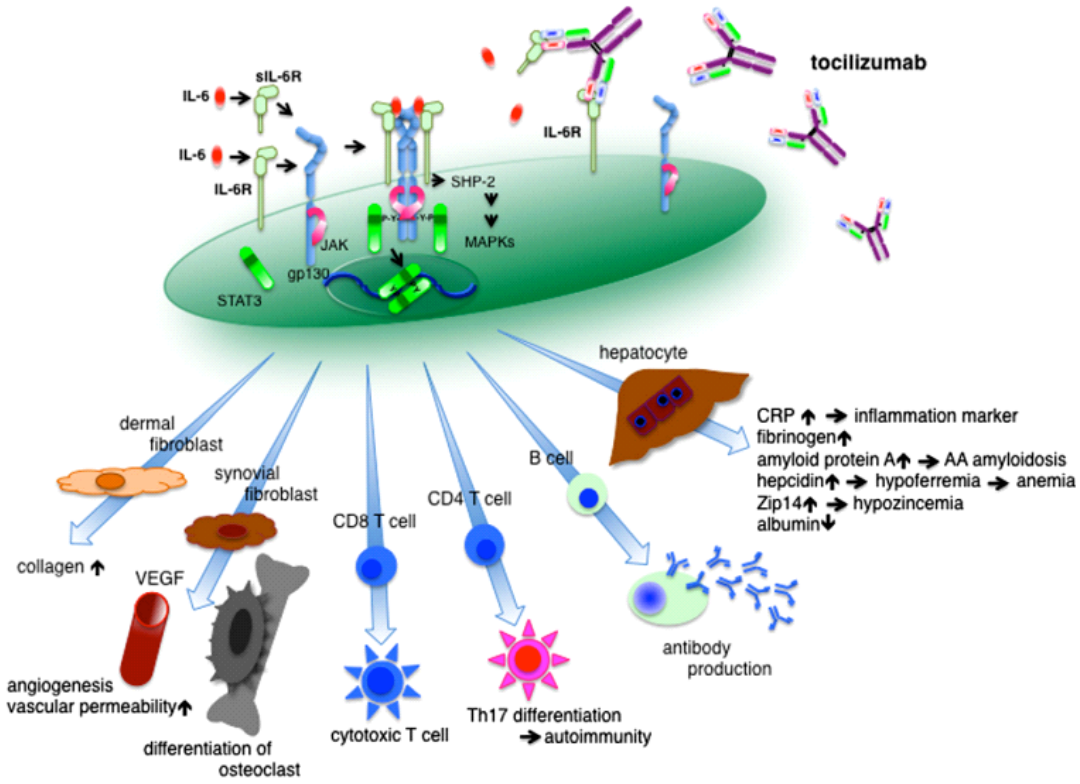
Tosilizumab

Tanımı: İnterlökin-6'nın biyolojik aktivitesi ve hastalıklardaki patolojik rolü nedeniyle, IL-6 blokörleri bazı inflamatuvar ve otoimmun hastalıklarda (kanserlerde dahil olmak üzere) yeni tedavi stratejisi olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla Çin hamster over hücrelerinde rekombinant DNA teknolojisiyle üretilen, insan IL-6 reseptörüne karşı hümanize IgG1 monoklonal antikoru olan TCZ geliştirilmiştir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi TCZ'yi Ocak 2010'da bir veya daha fazla TNF-α antagonistine yeterli yanıt vermeyen orta-şiddetli RA'lı hastalarda hastalığın belirtilerini azaltmak üzere onaylamıştır. Tosilizumab, FDA tarafından Nisan 2011'de, 2 yaşından büyük çocuklarda tek başına veya metotreksat ile birlikte aktif sistemik jüvenil artrit endikasyonu için onaylanmıştır. Japonya'da ve Avrupa'da, RA'da kullanılan dozu 4 haftada bir 8 mg/kg'dır. Serum TCZ konsantrasyonu 1 µg/ml'den fazla olduğunda CRP normal sınırlarda izlenmektedir. Böylelikle CRP konsantrasyonu, IL-6 blokajının derecesini gösteren bir belirteç olarak kullanılmaya başlamıştır (Tanaka ve ark., 2011). Tosilizumab'ın, doza bağımlı olarak 0,1 µg/ml'de çözülebilir IL-6 reseptörüne bağlanarak reseptörü bloke ettiği görülmüştür.

Günümüzde TNF-α antagonisti (Rituksimab, Etenercept, Anakinra gibi) ilaçların kronik romatizmal hastalıklardaki kullanımı ve etkinlikleri önemli olmasına rağmen immün sistemi baskılayıcı özelliğinden dolayı akut enfeksiyonları tetikleyebileceği düşünülmektedir (Patel ve Moreland, 2010). Alzheimer hastalığında bu biyolojik ajanların pek çoğu bugüne kadar denenmiş olmakla birlikte IL-6 reseptör blokörü ilaçların Alzheimer hastalığındaki etkileri üzerine henüz bir çalışma yapılmamıştır. Çalışmamızda TCZ'nin bu hastalıkta diğer monoklonal antikorlara tercih edilebileceğini ve bu ilacın Alzheimer hastalığında faydalı olabileceğini düşündük. Bu amaçla çalışmamızda i.c.v. STZ uygulayarak oluşturduğumuz Alzheimer modelinde gelişen kognitif fonksiyonlardaki azalma üzerinde IL-6 reseptör blokörü TCZ'nin koruyucu etkisini araştırmayı planladık.

Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması: Tosilizumab'ın molekül ağırlığı yaklaşık olarak 150 kDa'dır. Dört polipeptid zinciri birbirlerine disülfit bağlarıyla bağlıdır. Ağır zincirler 448 aminoasit, hafif zincirler 214 aminoasit içerir (Patel ve Moreland, 2010).

Tosilizumab IL-6 reseptörüne bağlanmak için IL-6 ile yarışır. İki IL-6 reseptör alt tipi vardır. Bunlar membrana bağlı ve çözülebilir IL-6 reseptörleridir. Hem çözülebilir IL-6 reseptörlerine (sIL-6R) hem de membrana bağlı IL-6 reseptörlerine (mIL-6R) spesifik olarak bağlanan TCZ'nin, sIL-6R ve mIL-6R aracılı sinyalleri inhibe ettiği gösterilmiştir. Normal koşullarda IL-6 reseptörü, IL-6'yı ve sinyal iletimi için gerekli gp130 olarak adlandırılan bir hücre yüzey proteinini bağlar. Bu gp130 aracılı IL-6 sinyal yolağı, yüzeylerinde IL-6 reseptörü bulunmayan hücrelerde bile etkindir. Tosilizumab gp130 aktivasyonunu önleyerek proinflamatuvar aktiviteyi inhibe etmektedir (Frey ve ark., 2010). Tosilizumab, IL-6 reseptörlerine (sIL-6R ve mIL-6R) spesifik olarak etki gösterirken; IL-6 ailesinin (lösemi inhibitör faktör, onkostatin M ve IL-11) diğer reseptörlerine bağlanamamaktadır (Mihara ve ark., 2005) (Şekil 3). Yapılan başka çalışmalarda ise Romatoid faktör, eritrosit sedimantasyon oranı, CRP, serum amiloid A ve hemoglobin seviyeleri yüksek olan hastalara 4-8 mg/kg dozlarda i.v. kullanıldığında özellikle 8 mg/kg dozda anlamlı azalmalar görülmüştür. Nötrofil sayısını düşürdüğünü bildiren çalışmalar da vardır (Patel ve Moreland, 2010).



Şekil 3. IL-6'nın pleiotropik etkisi ve Tosilizumab'ın etki mekanizması (Tanaka ve ark., 2011).

İnterlökin-6, immünoglobulin salgılanmasının indüksiyonu, T hücre aktivasyonu, hepatik akut faz proteinlerinin indüksiyonu ve hematopoez stimülasyonu gibi sistemik fizyolojik ve patolojik proseslerin düzenlenmesinin yanı sıra lokal parakrin fonksiyonunda yer alan çeşitli hücre türleri tarafından üretilen, çok fonksiyonlu bir sitokindir. İnterlökin-6; inflamatuvar hastalıklar, osteoporoz ve neoplazi gibi hastalıkların patojenezinde yer almıştır.

Farmakokinetiği, metabolizması ve eliminasyonu: Tosilizumab'ın farmakokinetiği, 24 hafta boyunca 4 haftada bir 4 ve 8 mg/kg dozda bir saatlik infüzyon ile tedavi edilen 1793 RA hastasından oluşan bir veri tabanı üzerinde popülasyon farmakokinetik analizi kullanılarak belirlenmiştir. Tosilizumab'ın farmakokinetik parametreleri zaman ile değişmemiştir. Her 4 haftada bir verilen 4 ve 8 mg/kg dozlarda, eğri altındaki alan ve en düşük konsantrasyon (C_{min}) parametrelerinde doza bağlı artıştan daha fazlası gözlenmiştir. Maksimum konsantrasyon (C_{maks}) doza bağlı olarak artmıştır. (Patel ve Moreland, 2010).

4.6. Deneysel Alzheimer Modelleri

Alzheimer hastalığı başta olmak üzere birçok nörodejeneratif hastalığın tedavisine yönelik ilaç geliştirmek, davranışsal değişimler ile beyinde oluşan değişimler arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla bazı genetik, nörolojik ve biyokimyasal deneysel modeller kullanılmaktadır. Bu modellerin başında sıçan modelleri gelmektedir. Sıçanlarda bu şekilde geliştirilen bilişsel bozukluk tabloları hem hastalığın doğasının aydınlatılmasına hem de ilaç geliştirme çalışmalarına katkıda bulunmaktadır (Tariot ve ark., 2000). Bu genetik ve deneysel çalışmaların hastalığın patojenezini anlamada yardımcı olması beklenmektedir (Uzbay, 2003). Bu modellerden bazıları kolinerjik fonksiyon bozukluğu esasına dayanan modeller, transgenik fare modelleri, amiloid β peptid ile ilişkili transgenik olmayan modeller, nörofibriler yumak ile ilişkili modeller, streptozotosin ile oluşturulan deneysel sporadik Alzheimer hastalığı modeli ve alüminyum toksisitesi modelidir. Günümüzde hayvan çalışmalarında sıklıkla deneysel olarak i.c.v STZ modeli tercih edilmektedir. Bu modelin diğer transgenik hayvan modellerine göre üstünlüğü: Alzheimer patolojisindeki değişimlerin hayvanın beyninde herhangi bir yaşam döneminde oluşturulabilmesi; kognitif bozulmalarla ilişkili kimyasal ve yapısal değişimlerin başlangıcının ve ilerleyişinin takip edilebilmesi ve de kognitif bozukluğun

gelişmesini takiben hastalığın ilaçla tedavi potansiyelinin değerlendirilebilmesi için olanak sağlamasıdır (Salkovic-Petrisic ve ark., 2013).

4.6.1. Streptozotosin ile oluşturulan deneysel sporadik Alzheimer hastalığı modeli

İntraserebroventriküler STZ enjeksiyonu: Streptozotosin 2-deoksi-D-glukoz C2 pozisyonuna bağlı nitrozamin metilnitrozüre (MNU)'dir. Metilnitrozüre, DNA hasarına yol açan alkilleyici bir ajan gibi fonksiyon göstermektedir. Klinik olarak antibakteriyel özelliğinin yanı sıra anti-tümör aktivitesi de olan neoplastik bir ajandır (Schein ve ark., 1974; Bolzán ve Bianchi, 2002; Stolinsky ve ark., 1972; Lenzen, 2008). Metabolize olduğunda N-nitrozoüre serbest kalır ve süperoksit, hidrojen peroksit ve NO gibi reaktif oksijen ürünleri üretimi ile DNA hasarına yol açar (Burns ve ark., 1999). Streptozotosin'in yüksek dozlarda paranteral uygulaması seçici olarak insülin üretim ve salgılanmasından sorumlu olan pankreasın β hücrelerinde hasara neden olarak insüline bağlı Tip 1 diyabet modeline sebep olur. (Stolinsky ve ark., 1972; Schein ve ark., 1974; Lenzen, 2008; Tahirovic ve ark., 2007; Salkovic-Petrisic ve ark., 2013). Streptozotosin'in düşük doz ile orta doz arası çoklu parenteral uygulaması ise insülin reseptör sinyallerine zarar vererek insülin direncine neden olmaktadır. İntraserebroventriküler uygulanan Streptozotosin'in düşük dozunun beyin glikoz ve enerji metabolizmasını bozduğu ve bu durumun da ilerleyici bellek bozulmaları, kolinerjik disfonksiyon, oksidatif hasar ve nörodejenerasyon oluşturduğu bildirilmiştir. (Salkovic-Petrisic ve ark., 2013). Ayrıca Alzheimer hastalığında görülen reaktif mikroglia tarafından başlatılan inflamatuvar süreç, oksidatif stres ve miyelin hasarı i.c.v. STZ uygulanan sıçanların beyinlerinde gösterilmiştir. Ayrıca STZ uygulamasının hipokampüste hiperfosforile tau protein ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Meningeal kapillerde Aβ birikiminin bazı belirteçleri de bulunmuştur. Streptozotosin'in i.c.v. enjeksiyonu; öğrenme ve bellek bozukluklarına, biyokimyasal ve morfolojik değişimlere, serbest radikal oluşturarak ATP sentezinin inhibisyonuna, glikoz metabolizmasında bozukluklara, ACh sentezinde inhibisyona sebep olmakta ve bu durum da, hipokampüste azalan ChAT aktivitesiyle desteklenen kolinerjik bozulmalarla sonuçlanmaktadır. 1990'ların ortalarından itibaren STZ'nin TNF oluşumunu etkilediği ve sıçan hipokampüsünde TNF ve IL-1β oluşumunu arttırdığı görülmüştür. Bazı Alzheimer hastalarında uygulanan tedavilere yönelik çalışmalara göre TNF seviyesinin azalması ile insülin rezistansı arasında dolaylı yoldan ilişki olabileceği belirtilmiştir. Bu

bilgiler ışığında bu model insanlarda görülen sporadik AH'nin deneysel modeli olarak karşımıza çıkmaktadır (Ishrat ve ark., 2009; Cummings ve ark., 1998; Tahirovic ve ark., 2007; Clark ve ark., 2012).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Streptozotosin (Sigma) ve Tosilizumab (Roche, ACTEMRA) serum fizyolojikte (SF) çözülerek kullanılmıştır. Streptozotosin 3 mg/kg iki doz, Tosilizumab ise 1,5 mg/kg tek doz i.c.v. ve bilateral olarak uygulanmıştır.

5.2. Araç ve Gereçler

Pasif Sakınma Cihazı
Morris Havuz Labirenti Tankı

5.3. Deney Hayvanları

Bu çalışmada ağırlıkları 250-300 g arasında değişen, standart koşullarda yetiştirilen, suşu Sprague-Dawley olan erkek sıçanlar Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edildi. Deneyler süresince 12 saat aydınlık–12 saat karanlık ve oda sıcaklığı 21±3^{o}C olacak şekilde ayarlandı. Bu çalışmada 24 tane sıçan 3 eşit gruba ayrıldı. Tüm deneyler günün aydınlık döneminde ve sessiz odada gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Deney Hayvanı Etik Kurulu'nun onayı (Karar No: 05.2013.mar) alınarak yapılmıştır (Ek-1).

5.4. Deney Grupları

Grup 1: **Kontrol (K) grubu (n=8):** İntraserebroventriküler SF uygulanmıştır.

Grup 2: **İntraserebroventriküler Streptozotosin grubu (n=8):** Bu gruptaki hayvanlara 3 mg/kg dozda STZ i.c.v. uygulanmıştır.

Grup 3: **STZ+Tosilizumab grubu (n=8):** Tosilizumab i.c.v. STZ uygulamasından 1 saat önce sıçanlara tek doz 1,5 mg/kg dozda i.c.v. olarak uygulanmıştır.

STZ'nin i.c.v. uygulamasından sonra 17.,18., 19., 20. ve 21. günlerde Morris'in havuz labirenti ve 15. ve 16. günlerde pasif sakınma testleri yapılmıştır. Davranış

deneyleri tamamlandıktan sonra (21. gün) hayvanlar dekapite edilerek beyinleri tam olarak çıkartılmıştır. Beyin kesitlerinde histopatolojik olarak Aβ tayini yapılmıştır.

5.5. Kullanılan Modeller

Bu çalışmada Alzheimer modeli oluşturabilmek için i.c.v. STZ bilateral uygulanmıştır.

Lateral ventriküle kanül yerleştirilmesi: Hayvanın her iki lateral ventrikülüne i.c.v. kanül takılması amacıyla deney hayvanının kafatası dış kulak yolundan stereotaksi aletine fikse edilmiştir. Sterotaksi cihazı ile ratların başlarına uygun pozisyon verilip ve kafa derisine orta hat sagital kesi yapılmıştır. Stereotaksi atlasına bakılarak delikler bregmanın 0,8 mm posterioru, 1,5 mm lateral sagital sutur, beyin yüzeyinin 3,5 mm altı olacak şekilde standart koordinatlara göre belirlenenerek dişçi turu ile kafatası delinmiştir. Kanüller, stereotaksi aleti yardımıyla belirlenen koordinatlardaki her iki lateral ventriküle yerleştirilmiştir. Kanülleri sabitlemek için, kanüllerin çevresi akrilik ile sıvanmıştır. Bu sterotaksik uygulama sırasında birinci anestezik madde olarak intraperitoneal ketamin 100 mg/kg dozda, ikinci anestezik olarak klorpromazin 3-5 mg/kg dozda kullanılmıştır. Streptozotosin ve tedavi grubuna bilateral i.c.v. enjeksiyonu ile toplam 3 mg/kg STZ verilmiştir. Bu deney protokolü iki gün sonra tekrarlanmıştır. Tedavi grubuna Tosilizumab i.c.v. STZ uygulamasından 1 saat önce 1,5 mg/kg dozunda birkez i.c.v. olarak uygulanmıştır. Deney sonunda lateral ventriküle metilen mavisi verilerek kanül yerleşimi uygun olmayan sıçanlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

5.6. Davranış Deneyleri

5.6.1. Pasif sakınma testi (Passive avoidance test):

Cezalandırma uygulamasına dayanan Alzheimer oluşturma ve değerlendirme testidir. Bu test öğrenme ve bellek performansını değerlendirmek amacıyla kullanılan önemli bir araştırma metodudur. Bu testte kullanılan düzenek iki bölmelidir. Büyük olan bölme, hayvana elektrik şoku verilen karanlık kısım olup; diğer bölme ise küçük, hayvanın elektrik şoku almadığı aydınlık bölmedir. Pasif sakınma deneyi giyotin bir kapı ile ayrılmış biri aydınlık diğeri karanlık bölmeden oluşmuş bir düzenekte ardışık iki gün yapılmıştır. Aydınlık bölmeye bırakılan hayvanın karanlık bölmeye geçmesi için geçen süre kaydedilmiştir. İki bölmeyi ayıran giyotin kapıdan hayvanın karanlık kısma

geçmesi ve kapının kapanmasının ardından 3 sn sureyle 0,5 mA ayak şoku verilmiştir. Aynı test 24 saat sonra tekrar yapılıp sıçanların 300 sn boyunca karanlık bölmeye geçip geçmediği kontrol edilmiştir. Bu sürenin sonunda karanlık bölmeye geçmeyen hayvanlar öğrenmiş kabul edilmiş ve karanlık bölmeye bu süreden önce geçmeleri durumunda süre kaydedilmiştir.

5.6.2. Morris'in havuz labirenti (Morris Water Mase) testi:

Deney hayvanlarının yer bulmayı öğrenmesi Morris havuz labirenti ile yapılmıştır. Morris'in havuz labirenti 80 cm yüksekliğinde ve 160 cm çapında bir tanktır. Tank, doğu, batı, güney ve kuzey olarak dört kadrana bölünmüştür. Tankın etrafına üç farklı yöne suyun yüzeyindeki sıçanın görebileceği şekilde ayırt edici resimler yerleştirilmiştir. Havuzun içerisine su yüzeyinin 1 cm altında olacak şekilde kaçma platformu rastgele olarak yerleştirilmiştir. Havuz süt tozu ile opaklaştırılmış ve su sıcaklığı 28±1°C olacak şekilde kaçma platformunun 1 cm üzerine kadar doldurulmuştur. Deney hayvanları ardışık 5 gün boyunca, her gün 4 deneme olacak şekilde yüzdürülmüş ve sıçanların su içindeki platformu bulma süreleri ve platformlu yarı alanda geçirdikleri süreler araştırılmıştır. Sıçanlar her bir deneme öncesi 30 dakika dinlendirilmiştir. Sıçanların yer bulma öğrenmeleri; test ve öğrenme fazı olarak iki aşamada araştırılmıştır.

Öğrenme Fazı: Morris havuz labirenti testinin ilk 4 günlük bölümünü oluşturmaktadır. Deney hayvanları 4 gün boyunca güney kadrandan havuza bırakılmıştır. Havuza bırakılan sıçanlar platformu bulabilmeleri için 2 dakika boyunca yüzdürülmüştür. İki dakikalık süre zarfında platformu bulamayan hayvan platforma yönlendirilerek platform üzerine çıkması ve 30 sn boyunca konumunu tanıması sağlanmıştır. Bu denemeler sonucunda, her bir sıçan için platformu bulana kadar geçen toplam süre kaydedilmiştir.

Test Fazı: Testin beşinci gününde platform kaldırılarak sıçanlar 60 sn boyunca tek sefer olacak şekilde yüzdürülmüş ve sıçanların önceden platform olan kadranda geçirdikleri süre kaydedilerek değerlendirilmiştir.

5.7. Histopatolojik Değerlendirme

Alzheimer modelinde demansın morfolojik bulguları farklı beyin bölgelerinden alınan doku örneklerinde incelenmiştir. Perfüzon işlemi iki adet 1 litrelik i.v. serum şişesi ve üç yollu i.v. kanül yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Serum şişelerinden birine % 0,9 NaCl, diğerine ise paraformaldehit fosfat tamponu konulmuştur. Sıçanlara perfüzyon işleminden 15 dakika önce olacak şekilde i.p. heparin verilmiştir. On dakika bekledikten sonra anestezi oluşturmak için 2 mg/kg Na pentotal i.p. olarak uygulanmıştır. Anestezi işlemi gerçekleştikten sonra torakotomi uygulanarak sol ventrikül 22 gauge kelebek iğne yardımıyla kanüle edilerek sabitlenmiştir. Bu işlemi takiben 10 dk boyunca % 0,9 NaCl verilmiştir. Sağ atriumdan akan sıvı berraklaştığında % 0,9 NaCl akan vana kapatılmış ve diğer girişten paraformaldehit fosfat tamponu çözeltisi verilerek perfüzyon tespit işlemi gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık olarak her sıçan için 300 ml sıvı kullanılmıştır.

Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra çıkarılan beyin dokuları % 10 tamponlu formalinde bekletilerek 48 saat boyunca post-fiksasyonları sağlanmıştır. Fiksasyonu tamamlanan dokulara kapalı doku takip cihazında doku takibi uygulanmıştır. Takibin ardından, dokular doku gömme merkezinde parafin blok haline getirilmiştir. Rotary mikrotomda 3-4 μm kalınlığında parafin kesitler hazırlanarak, 37°C'de 1 gece boyunca deparafinize edilmiştir. Deparafinizasyon sonrası dokulara aşağıda gösterilen rutin H&E boyama yöntemi uygulanmıştır.

Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi (H&E)

1. Kesitler iki ayrı ksilende 10'ar dakika bekletildi.
2. Sırasıyla her birinde 10 dip olmak üzere % 96, % 80, % 70 alkollerden geçirildi.
3. Akan su ile yıkandı.
4. Hematoksilende 3 dakika bekletildi.
5. Tekrar su ile yıkanarak nükleusların morartılması sağlandı.
6. Eozinde 30 saniye bekletildi.
7. Akan su ile yıkandı.
8. Sırasyla her birinde 10 dip olmak üzere, % 70, % 80, % 96 alkollerden geçirildi.
9. Ksilene alınarak non-aqueous kapama maddesi ile kapatıldı.

5.7.1. İmmunohistokimyasal çalışma

Dokuda Aβ 1-42 ve IL-6 immünekspresyonunu göstermek amacıyla streptavidin biotin peroksidaz immünohistokimya boyama yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde % 10'luk tamponlu formalinde fikse edilmiş parafine gömülü dokulardan pozitif şarjlı lamlara 3-4 μm kalınlığında kesit alınıp 37°C'de 1 gece boyunca deparafinizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra kimyasal deparafinizasyon amacıyla 3 ayrı ksilenden geçirilip ve azalan dereceli alkollerle hidrate edilmiştir. Endojen peroksidaz aktivitesini baskılamak için hidrojen peroksit ile blokaj uygulanmıştır. Distile suyla yıkanan kesitler, maskelenen antijenleri açığa çıkarmak için pH=6 sitrat tamponu ile mikrodalga fırında muamele edilmiştir. Oda ısısında soğutulan kesitler PBS'ye alınarak yıkama yapılmıştır. Zemin boyanmasını engellemek amacıyla protein blokajı uygulanmış ve süre bitiminde anti-Aβ 1-42 ((polyclonal, dilution: 1/50, Abcam, Cambridge, UK) (+4°C'de 1 gece)) ve anti IL-6 ((monoclonal, dilution: 1/100, Abcam, Cambridge, UK) (oda sıcaklığında 1 saat)) antikorları damlatılarak bekletilmiştir. PBS ile iki ayrı yıkamanın ardından, UltraVision Detection System Anti-Polyvalent HRP (Lab Vision, CA, USA) kit kullanılarak sırasıyla biotinlenmiş sekonder antikor ve streptavidin peroksidaz damlatılmış ve uygun sürelerde inkübe edilmiştir. Son olarak DAB kromojeni ile ekspresyon görünür hale getirilmiştir. Mayer Hematoksilen ile zıt boyama yaparak kesitler yükselen alkol derecelerinden geçirilip ve kapatılan lamlar ışık mikroskobunda değerlendirilmiştir. İmmün boyanmış hippokampal hücreler, x40'lık büyütmede en çok ekspresyon yapan hot point 3 alan seçilerek 2040x1536x24 alan boyutunda sayım yapılmıştır. Resimler, dijital DP70 ile bağlantılı BX-51 mikroskobu (Olympus, Japonya) kullanılarak çekilmiştir. Amiloid-β ve IL-6'nın immunekspresyonu semikantitatif olarak değerlendirilmiştir. Boyanma şiddeti, 0-4 skalası kullanılarak belirlenmiştir (Provias ve Jeynes, 2010).

5.8. İstatistiksel Değerlendirme

Deney sonuçlarından elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analizler "Prism 4-Graph Pad" programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Veriler "ortalama (X) ± standart hata (SH)" olarak sunulmuştur. Verilerin istatistiksel analizinde gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü (ANOVA) veya çoklu varyans analizi (MANOVA) ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası farklılıklar "Tukey's testi" uygulanarak incelenmiştir.

%95 güven aralığında, P<0,05'ten küçük olan veriler ise anlamlılık olarak kabul edilmiştir.

6. BULGULAR

6.1. Davranış Deneylerinin Sonuçları

6.1.1. Pasif sakınma testinin sonuçları

Deney sonuçları öğrenmenin sağlandığı birinci gün ve anlık (kısa süreli ve çalışan bellek) belleğin ve öğrenmenin incelendiği ikinci gün sonuçları olarak sunulmuştur (Tablo 2).

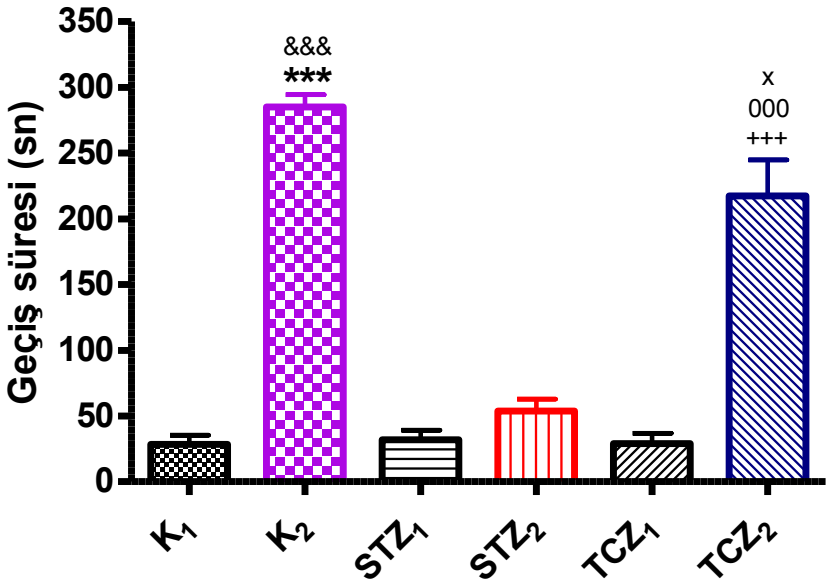
Tablo 2. Pasif sakınma testi 1. ve 2. gün sonuçları

X±SH (N= 8)	K	STZ	TCZ
1.GÜN	28±7,1	35±7,2	29±7,8
2.GÜN	285±9,6$^{***, \&\&\&}$	54±8,9	218±27,4 $^{x, +++, 000}$

***P<0,001 K_1 ve K_2'ye göre karşılaştırmalar; ^{000}P< 0,001 TCZ_1 ve TCZ_2'ye göre karşılaştırmalar; ^{x}P< 0,05 K_2 ve TCZ_2'ye göre karşılaştırmalar; $^{\&\&\&}$P<0,001 STZ_2 ve K_2'ye göre karşılaştırmalar; $^{+++}$P<0,001 STZ_2 ve TCZ_2'ye göre karşılaştırmalar.

STZ'nin i.c.v. uygulamasından sonra 15. ve 16. günlerde pasif sakınma testleri yapılmıştır. Onbeşinci günde karanlık bölmeye geçiş sürelerinin; kontrol, STZ ve TCZ+STZ grupları için farklılık göstermediği, 16.günde ise karanlık bölmeye geçiş sürelerinin STZ grubu için; kontrol (p<0,001) ve TCZ+STZ(p<0,001) gruplarıyla karşılaştırıldığında, anlamlı olarak daha kısa olduğu gözlenmiştir.

Birinci gün değerleri kontrol için 28±7,1, STZ grubu için 35±7,2 ve STZ+TCZ grubu için 29±7,8 idi. İkinci gün sonuçları ise kontrol 285±9,6, STZ 54±8,9 ve STZ+TCZ 218±27,4 idi (Şekil 4).



Şekil 4. Pasif sakınma testinde 1. ve 2. gün sonuçları. Değerler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. ***P<0,001 K_1 ve K_2'ye göre karşılaştırmalar; ^{000}P< 0,001 TCZ_1 ve TCZ_2'ye göre karşılaştırmalar; ^{x}P< 0,05 K_2 ve TCZ_2'ye göre karşılaştırmalar; $^{\&\&\&}$P<0,001 STZ_2 ve K_2'ye göre karşılaştırmalar; $^{+++}$P<0,001 STZ_2 ve TCZ_2'ye göre karşılaştırmalar.

6.1.2.Morris'in havuz labirenti testinin sonuçları

Bu deneyin sonuçları platform varlığında dört günün toplam sonuçları ve platform olmaksızın yapılan beşinci günün sonuçları şeklinde sunulmuştur.

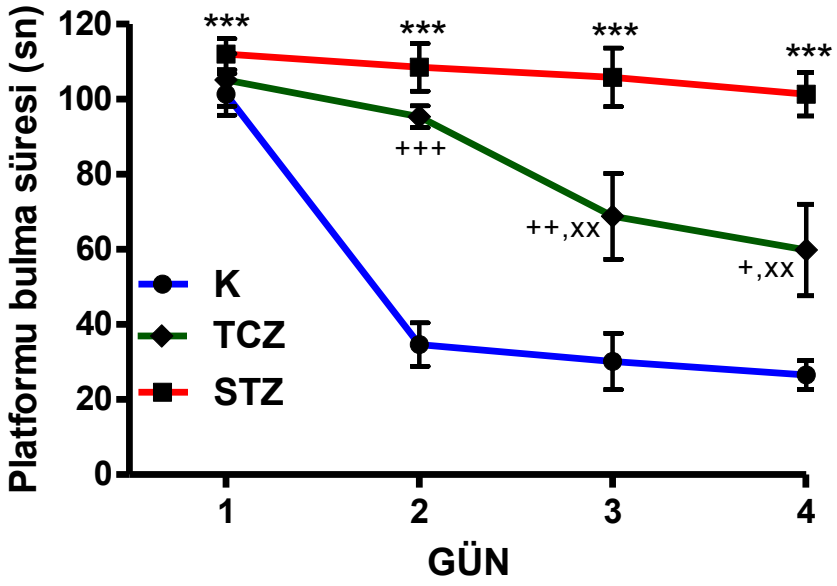
Platformun varlığındaki sonuçlar (Tablo 3):

Tablo 3. Morris havuz labirenti testi ilk 4 günün ortalama sonuçları

X± SH (N= 8)	**1. GÜN**	**2. GÜN**	**3. GÜN**	**4. GÜN**
K	101±5,5	35±5,8	30±7,5	27±3,8
STZ	112±4,1	109±6,3	106±7,8	101±5,8
TCZ	105±7,0	95±2,9	69±11,4	60±12,2

***P<0,001 K ve STZ'ye göre karşılaştırmalar; $^{+++}$P<0,001, $^{++}$P<0,01, $^{+}$P<0,05 K ve TCZ'ye göre karşılaştırmalar; ^{xx}P<0,01 STZ ve TCZ'ye göre karşılaştırmalar.

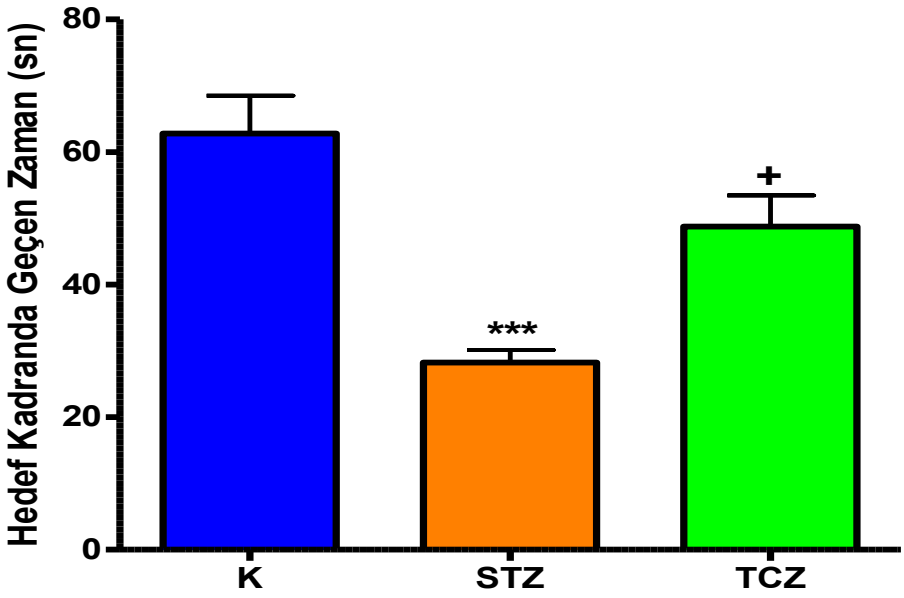
STZ' nin i.c.v. uygulamasından sonra 17., 18., 19., 20. ve 21. günlerde Morris'in havuz labirenti testleri yapılmıştır. Bu testin ilk gününden 4. güne kadar geçen sürede kontrol grubunun Morris havuz labirenti testinde platformu daha kısa sürede bulduğu (p<0,001), STZ grubunda platforma ulaşma süresinde anlamlı bir gelişme olmadığı, TCZ ile tedavi edilen STZ grubunda ise 4.gün ile 1.gün karşılaştırıldığında platformu daha kısa sürede bulduğu görülmüştür (p<0,01) (Şekil 5).



Şekil 5. Morris havuz labirenti testinde ilk 4 günün ortalama sonuçları. Değerler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. ***P<0,001 K ve STZ'ye göre karşılaştırmalar; $^{+++}$P<0,001, $^{++}$P<0,01, $^{+}$P<0,05 K ve TCZ'ye göre karşılaştırmalar; ^{xx}P<0,01 STZ ve TCZ'ye göre karşılaştırmalar.

Platformsuz sonuçlar:

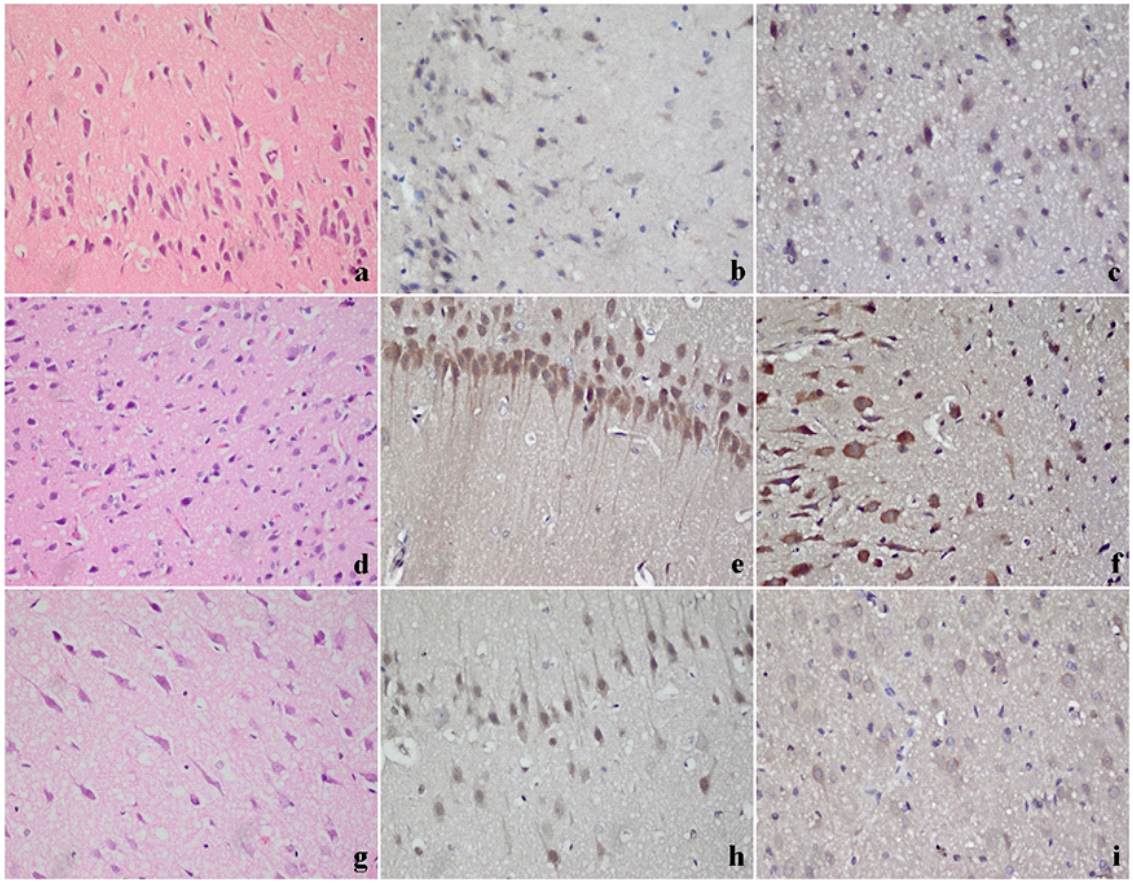
Bu testin 5. gününde sıçanların hedef kadranda geçirdikleri süreler karşılaştırıldığında STZ grubunun; kontrol (***P<0,001) ve STZ+TCZ ($^{+}$P< 0,05) grubuna göre hedef kadranda daha kısa süre kaldığı görülmüştür (Şekil 6).



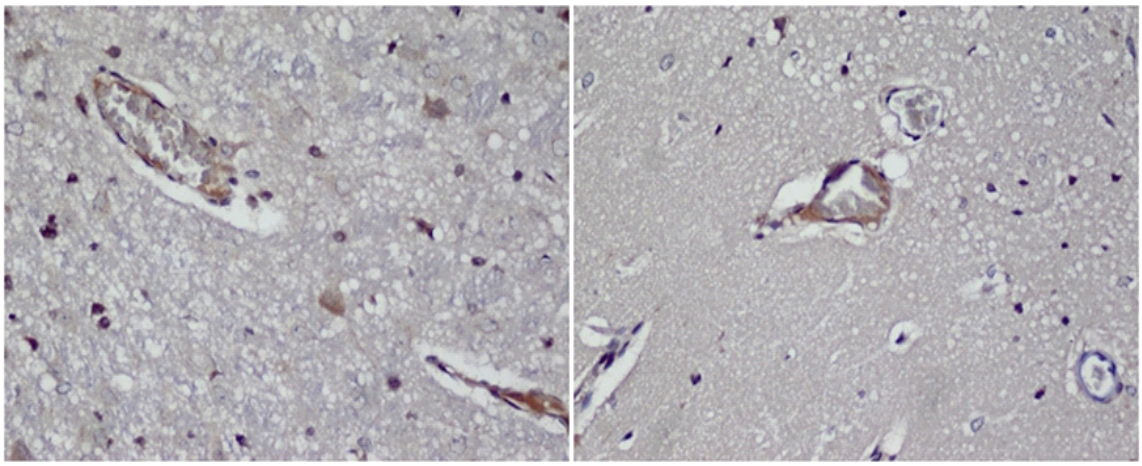
Şekil 6. Morris havuz labirenti testinde 5. gün ortalama sonuçları. Değerler X± SH olarak ifade edilmiştir. ***P<0,001 K ve STZ 'ye göre karşılaştırmalar; $^{+}$P< 0,05; STZ ve TCZ'ye göre karşılaştırmalar.

6.2. Histopatoloji Değerlendirmelerinin Sonuçları

İmmunohistokimya sonuçlarına göre STZ verilen grupta amiloid beta (3,5±0,2) ve IL-6 (2,9±0,4) protein ekspresyonu yoğun bir şekilde immunopozitiflik gösteririken, Tosilizumab'ın verildiği grupta Aβ (1,3±0,1) ve IL-6 (1,5±0,2) immunoreaktivitesinin azaldığı bulunmuştur. Kortikal bölgede nöronlar ve glial hücrelerde Aβ'nın güçlü ekspresyonu bulunmuştur. Nöronlar yoğun immunopozitivite göstermektedir. Boyanma paterni sitoplazmiktir. Subkortikal beyaz madde, glial hücrelerde bazı fokal pozitivite ile daha sınırlı pozitivite göstermiştir (Şekil 7). STZ verilen grupta, damarda endotelyal hücrelerde belirgin amiloid birikimi izlenmiştir (Şekil 8).



Şekil 7. Kontrol, STZ ve Tosilizumab gruplarında amiloid β ve IL-6'nın immunohistokimya ve Hematoksilen-eozin (H&E) boyamaları. (a,b,c) Kontrol grubu, (d,e,f) STZ, (g,h,i) Tosilizumab gruplarını gösterirken bu gruplarda yapılan histokimyasal ve immunohistokimyasal boyamalarında, (a,d,g) H&E boyama, (b,e,h) amiloid β, (c,f,i) IL-6 boyamalarını göstermektedir (x20, büyütme).



Şekil 8. STZ verilen grupta, amiloid β'nın immunohistokimyasal boyaması sonucunda damarda endotelyal hücrelerde belirgin amiloid birikiminin izlenmesi (x40, büyütme).

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bilim dünyasında AH ve sonuçlarının daha iyi anlaşılmaya başlaması hekimlerin ve eczacıların hastalığın tedavisi ile ilgili çabalarını arttırmıştır. Bu nedenle gerek klinik, gerekse deneysel çalışmaların sürekliliği devam etmektedir. Alzheimer hastalığının patojenezi konusunda çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen bu konudaki araştırmalar halen devam etmektedir. Alzheimer hastalığında Aβ peptid, NFY ve hiperfosforile tau proteini en önemli patolojik bulgular olarak kabul edilmektedir. Bunlara ek olarak inflamasyon, oksidatif hasar, glutamat eksitotoksisitesi, insülin direnci, kolinerjik kayıp, ve sinaps-nöron kaybı gibi faktörlerin de bu nörodejenerasyona katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür (Dolatabadi ve ark., 2012; Nelson ve ark., 2012; Mamelak, 2007; Talbot ve Wang, 2014).

Alzheimer hastalığında proinflamatuvar sitokinlerden TNF-α, IL-1 (özellikle IL-1β) ve IL-6'nın BOS'ta arttığı ve inflamasyon oluşturduğu bildirilmiştir. Endotelyal ve mikrovasküler disfonksiyonda TNF-α'nın BOS'ta artarak amiloid plak oluşumuna neden olduğu ve bu durumun da öğrenme ve bellek mekanizmalarındaki bozulmalara aracılık ettiği belirtilmiştir (Zhu ve ark., 2014). Dahası önceki çalışmalarda artan sitokin ekspresyonunun bilişsel bozuklukların ortaya çıkışını hızlandırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle AH tedavisinde proinflamatuvar mediyatörlerin salınımını azaltarak kognitif bozuklukların önlenmesi önemli hedeflerden biridir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda yeni Alzheimer ilaçlarının geliştirilmesinin yanı sıra Talidomid, İnfliksimab ve Etansersept gibi TNF-α inhibitörlerinin de koruyucu etkileri araştırılmaktadır. Alzheimer hastalarına intratekal uygulanan İnfliksimab'ın amiloid plak oluşumunu ve tau hiperfosforilasyonunu azaltarak bilişsel bozukluklar üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir (Chervony ve Ciocon, 2011). Başka bir çalışmada ise; travmatik beyin hasarı geliştirilmiş sıçanlarda i.p. uygulanan Etanersept'in beyin hasarından kaynaklanan motor ve kognitif bozulmaları iyileştirdiği bildirilmiştir (Chio ve ark., 2010). Yapılan farklı bir çalışmada Talidomid'in, transgenik Alzheimer'lı sıçanlarda amiloid plakların sayısında anlamlı azalma yaparak Alzheimer tedavisinde etkili olabileceği bildirilmiştir (Shen ve ark., 2011). Diğer bir çalışmada ise Talidomid'in Aβ üretimi için APP'den biri olan Beta sekretaz-1 (BACE-1: β-site APP-cleaving enzyme) ekspresyonunu inhibe ettiği ve bunun sonucunda BOS'ta BACE-1 ve Aβ seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (Sabbagh, 2013). Yapılan başka bir çalışmada ise TNF-α

inhibitörü olan Talidomid'in, STZ ile oluşturulan Alzheimer modelinde öğrenme ve bellek bozukluklarına karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Elcioglu ve ark., 2013).

IL-6'nın da pleiotropik aktivite gösteren bir proinflamatuvar sitokin olduğu ve sentezinin akut enfeksiyonlarla ve immün sistem aktivasyonuyla arttığı bildirilmiştir. IL-6'nın nöronlar üzerindeki direkt ve dolaylı etkisi membrana bağlı ve çözülebilir IL-6 reseptörleri aracılığıyla olmaktadır. Yapılan çalışmalar IL-6'nın nöronal inflamasyonda astrosit hücrelerinin yıkımını ve akut faz proteinlerinin üretimini arttırdığı gösterilmiştir (Hopkins and Rothwell 1995; Zhang ve ark., 2013). Ayrıca IL-6'nın mikroglia hücrelerini aktive ettiği ve tau hiperforilasyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Bu durum proinflamatuvar sitokinlerden biri olan IL-6'nın kognitif bozulmayla karakterize nöroinflamatuvar hastalıkların patojenezinde rol alabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada artan IL-6 düzeyinin, nöroinflamatuvar hastalıklardaki patalojik rolü nedeniyle bir IL-6 antikoru olan TCZ'nin IL-6 ekspresyonu üzerine etkisi araştırılmıştır.

Tosilizumab rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen bir monoklonal antikor olup etkisini, spesifik olarak IL-6'nın hücre membran yüzeyinde ve hücre içinde bulunan reseptörlerine bağlanarak gösteren IL-6 reseptör blokörüdür. Kronik inflamatuvar hastalıkların tedavisinde IL-6'nın reseptörlerine bağlanmasını engelleyerek biyolojik yanıtı azaltmaktadır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) TCZ'yi Ocak 2010'da TNF-α antagonistine yeterli yanıt vermeyen orta ve şiddetli RA'lı ve JIA hastalarda IL-6 konsantrasyonlarını azaltarak hastalığın belirtilerini düzeltme endikasyonuyla onaylamıştır (Kaly ve Rosner, 2012). Tosilizumab'ın farklı hücre tiplerinde eksprese edilen IL-6 reseptör ekspresyonunu bloke ederek IL-6 sinyal iletimine bağlı inflamatuvar etkileri önlediği, hastalığın semptomlarını düzelttiği ve CRP, serum amiloid A ve beta hücre aktivitesini azaltarak akut faz proteinlerinin aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (Wu ve ark., 2013). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda nöropatolojik hastalıklardan olan Alzheimer, gliobastoma ve multiple sklerozis gibi hastalıklarda farklı monoklonal antikorlar denenmiş; ancak IL-6 reseptör blokörü TCZ'nin Alzheimer hastalığı üzerindeki etkileri ile ilgili henüz bir çalışma yapılmamıştır (Guptarak ve ark., 2013). IL-6 reseptör blokörü Tosilizumab'ın nörolojik hastalıklardaki olumlu etkileri nedeniyle biz de bu çalışmada TCZ'nin deneysel Alzheimer modelindeki etkinliğini araştırdık. Çalışmamız bilgimiz kadarıyla TCZ'nin

deneysel Alzheimer modelinde etkinliğini araştıran ilk çalışmadır. Bu çalışmada i.c.v. STZ uygulamasıyla oluşturulan Alzheimer modelinde kognitif fonksiyonlardaki bozukluğu TCZ'nin düzelttiği görülmüştür. STZ grubundan farklı olarak TCZ tedavisinin pasif sakınma testinde karanlık bölmeye geçiş süresini arttırarak ve Morris'in havuz labirentinde ise platformu bulma süresini azaltarak öğrenme ve bellek bozukluklarını düzelttiği bulunmuştur. Elde ettiğimiz veriler ışığında TCZ'nin kognitif bozukluklardaki etkisinin IL-6 ekspresyonunu reseptör blokajı yaparak sağladığı ve böylece nöronal hasarı engellediği düşünülmektedir.

İntraserebroventriküler STZ modelinde gözlendiği gibi AH'da da, hem insulin hem de IGF sinyalizasyonunun bozulduğu gösterilmiştir. İnsülin ve IGF etkisinin bozulması AH'ye sebep olan kognitif bozulma ve nöronal dejenerasyondan sorumlu tau'nun hiperfosforilasyonuna neden olmakta; hiperfosforile tau da nöronda mitokondriyal hasara, oksidatif strese, apoptoza ve nekroza neden olmaktadır. Tüm bu olaylar Alzheimer hastalığının histopatolojik işaretlerinden biri olan amiloid plak gelişiminin temelini oluşturmaktadır (Gutierres ve ark., 2014; Hsu ve ark., 1998; Nguven ve ark., 2006).

Amiloid plak oluşumu gerçekleşen dokuda, hücreler arası iletişim bozulduğundan hücre ölümü artmakta ve sonuçta doku ya da organ işlev göremez hale gelmektedir. Bir membran proteini olan APP'in yıkım ürünü olan 40-42 aminoasitlik Aβ peptidi, beyin dokusunda ekstraselüler bölgelerde birikerek amiloid oluşumuna sebep olmaktadır. Bu amiloid plaklar distrofik nöritleri, aktive gliaları ve astrositleri içermektedir. Kronik olarak uyarılan glial hücreler; reaktif oksijen türleri ve nitrik oksit gibi toksik maddeleri salgılayarak komşu nöronları yok edebilirler. Kronik inflamatuvar stres; nöronal hücre proteinlerini, nitrik oksit sentaz (NOS) ve reaktif oksijen türlerini aktive ederek mitokondriyal ve aksonal transportta bozulmalara sebep olur (Herrup ve ark., 2013). Alzheimer hastalığında BOS'ta Aβ 42 seviyesi azalırken toplam tau ve hiperfosforile tau'da artış gözlenmiştir (Mizoi ve ark., 2014). Bu proteinlerin nöronlarda birikimi senil plaklar (SP), nörofibriler yumaklar ve nöron kaybına sebep olmaktadır. Önceki çalışmalarda inflamatuvar tepkilerin Aβ ekpresyonunu arttırarak kognitif fonksiyonları etkilediği gösterilmiştir (Zhu ve ark., 2014). Bizim histopatolojik sonuçlarımıza göre TCZ tedavisi ile STZ grubu karşılaştırıldığında tedavinin hipokampüste Aβ depozitlerini ve IL-6'yı azalttığı görülmüştür. Tosilizumab'ın etkisi aynı zamanda

kortikal hücrelerin lineer diziliminde görülmüştür. Histopatolojik bulgularımızı incelediğimizde STZ uygulanan grupta Aβ ve IL-6 protein ekspresyonu yoğun bir şekilde immunopozitiflik gösteririken, TCZ'nin verildiği grupta Aβ ve IL-6 immunoreaktivitesinin azaldığı bulunmuştur. Kortikal bölgede nöronlar ve glial hücrelerde Aβ'nın güçlü ekspresyonu bulunmuştur. Bu çalışman artan Aβ ekspresyonunun, kognitif fonksiyon bozukluğu patojenezinde rol alabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular TCZ'nin bozulmuş öğrenme ve bellek fonksiyonlarını düzeltebildiğini göstermiştir. Histopatolojik sonuçlar öğrenme ve bellek mekanizması ile ilgili sonuçlarımızı desteklemektedir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde TCZ'nin IL-6 reseptörlerini bloke ettiği, böylece IL-6'nın aşırı aktivitesini baskıladığı ve Aβ peptid oluşumunu azaltarak Alzheimer hastalığındaki öğrenme ve bellek bozukluklarına faydalı olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmanın STZ ile oluşturulmuş Alzheimer modelinde TCZ'nin etkinliğini inceleyen ilk çalışma olması bakımından önemli bir çalışma olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışma; IL-6 ile Aβ arasındaki etkileşimin AH'de etkin rolü olduğunu göstermiştir. Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma i.c.v. STZ uygulaması ile oluşturulan deneysel Azheimer modelinde TCZ'nin Morris havuz labirenti ve pasif sakınma testleri ile değerlendirilmiş kognitif bozukluklardaki etkisiyle ilgili yapılmış ilk çalışmadır. AH'de inflamatuvar tepkilerinin azaltılmasında TCZ ve diğer IL-6 reseptör blokörlerinin rolüyle ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

8. KAYNAKLAR

Aisen, P. S., Schneider, L. S., Sano, M., Diaz-Arrastia, R., van Dyck, C. H., Weiner, M. F., ... & Thal, L. J. High-dose B vitamin supplementation and cognitive decline in Alzheimer disease: a randomized controlled trial. Jama 2008; 300(15): 1774-1783.

Aisen, P. S., Cummings, J., & Schneider, L. S. Symptomatic and nonamyloid/tau based pharmacologic treatment for Alzheimer disease. Cold Spring Harbor perspectives in medicine 2012; 2(3): 1-21.

Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., Bradt, B., Bauer, J., Cole, G. M., ... & Wyss–Coray, T. Inflammation and Alzheimer's disease. Neurobiology of aging. 2010; 21(3): 383-421.

Ancelin, M. L., Carrière, I., Helmer, C., Rouaud, O., Pasquier, F., Berr, C., ... & Ritchie, K. Steroid and nonsteroidal anti-inflammatory drugs, cognitive decline, and dementia. Neurobiology of aging 2012; 33(9): 2082-2090.

Angelis, P., Scharf, S., Mander, A., Vajda, F., & Christophidis, N. Serum interleukin-6 and interleukin-6 soluble receptor in Alzheimer's disease.Neuroscience letters. 1998; 244(2): 106-108.

Auld, D. S., Kornecook, T. J., Bastianetto, S., & Quirion, R. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to β-amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. Progress in neurobiology 2002; 68(3): 209-245.

Avila, J. Tau phosphorylation and aggregation in Alzheimer's disease pathology. FEBS letters 2006; 580(12): 2922-2927.

Balam Yavuz B, Arıoğul S. Yaşlıda Demans, Risk Faktörleri ve Tedavisi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri Ünitesi, 2005.

Ballard, C., Gauthier, S.,Corbett, A. ve ark. Alzheimer's disease. Lancet 2011; 377: 1019–1031.

Bard F, Cannon C, Barbour R, et al. Peripherally administered antibodies against amyloid beta-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. Nat Med 2000; 6: 916-919.

Barrio, J. R., Kepe, V., Satyamurthy, N., Huang, S. C., & Small, G. W. Brain pathology and neuronal losses in the living brain of Alzheimer's patients. In International Congress Series 2006; 1290: 150-155.

Berg L, McKeel DW, Miller JP, et al. Clinicopathological studies in cognitively healthy aging and Alzheimer's disease. Arch Neurol 1998; 55: 326-35.

Bertram, L., Lill, C. M., & Tanzi, R. E. The genetics of Alzheimer disease: back to the future. Neuron 2010; 68(2): 270-281.

Bettens, K., Sleegers, K. ve Broeckhoven, C. "Genetic insights in Alzheimer's disease." The Lancet Neurology 2013; 12(1): 92-104.

Bolzán, A. D., & Bianchi, M. S. Genotoxicity of streptozotocin. Mutation Research/Reviews in Mutation Research 2002; 512(2): 121-134.

Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. Acta Neuropathol 1991; 82: 239-59.

Bradt., B. et al. Inflammation and Alzheimer’s disease. Neurobiology of Aging 2000; 21: 383–421.

Breitner, J., Welsh, K. A., Helms, M. J., Gaskell, P. C., Gau, B. A., Roses, A. D., ... & Saunders, A. M. Delayed onset of Alzheimer's disease with nonsteroidal anti-inflammatory and histamine H2 blocking drugs. Neurobiology of aging 1995; 16(4): 523-530.

Brenner DE, Kukull WA, Stergachis A, et al. Postmenopausal estrogen replacement therapy and the risk of Alzheimer's disease. Am J Epidemiol 1994; 140: 262-267.

Burgmans, S., Van Boxtel, M. P. J., Smeets, F., Vuurman, E. F. P. M., Gronenschild, E. H. B. M., Verhey, F. R. J., ... & Jolles, J. Prefrontal cortex atrophy predicts dementia over a six-year period. Neurobiology of aging 2009; 30(9): 1413-1419.

Butterfield, D. A., Galvan, V., Lange, M. B., Tang, H., Sowell, R. A., Spilman, P., ... & Bredesen, D. E. In vivo oxidative stress in brain of Alzheimer disease transgenic mice: requirement for methionine 35 in amyloid β-peptide of APP. Free Radical Biology and Medicine 2010; 48(1): 136-144.

Butterfield, D. A., & Sultana, R. Methionine-35 of Aβ (1–42): importance for oxidative stress in Alzheimer disease. Journal of amino acids 2011; 1-10.

Burns A, Rossor M, Hecker J, et al. The international donepezil study group. The effects of donepezil in Alzheimer's disease. Results from a multinational trial. Dement Geriatr Cog Disord 1999; 10: 237-44.

Burns, A., Byrne, J. ve Maurer, K. Alzheimer's disease. Lancet 2002; 360: 163–165.

Carey-Bloom J, Thal LJ. Monoamine oxidase inhibitors in Alzheimer's disease. Chapman and Hall Medical 1994: 279-94.

Carli C, Kaye JA, Horwitz B. Critical analysis of the use of computer assisted transverse axial tomography to study human brain in aging and dementia of the Alzheimer type. Neurology 1990; 40: 872-83.

Chen, Q., ve Xiao, D. S. Long-term aerobic exercise increases redox-active iron through nitric oxide in rat hippocampus. Nitric Oxide 2014; 36: 1-10.

Cheong, U. C., Chnag, P. C., Chao, M.C., Cheng, C. B., Yang, Z. C. ve Chio, C.C. Etanercept Attenuates Traumatic Brain Injury in Rats by Reducing Brain TNF-α Contents and by Stimulating Newly Formed Neurogenesis. Mediators of Inflammation 2013; 620837, 9**.**

Chervony, D. ve Ciocon J. Cognıtıve Improvement Wıth Intrathecal Admınıstratıon Of Inflıxımab In Awoman Wıth Alzheımer's Dısease. Letters To The Edıtor 2011; 59 (6): 1142-1144.

Chiu, C. C., Su, K. P., Cheng, T. C., Liu, H. C., Chang, C. J., Dewey, M. E., ... & Huang, S. Y. The effects of omega-3 fatty acids monotherapy in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a preliminary randomized double-blind placebo-controlled study. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry 2008; 32(6): 1538-1544.

Choo, I. L., Lee, D. Y., Oh, J. S., Lee, J. S., Lee, D. S., Song, I. C., ... & Woo, J. I. Posterior cingulate cortex atrophy and regional cingulum disruption in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Neurobiology of aging 2010; 31(5): 772-779.

Choi, D. Y., Lee, Y. J., Hong, J. T., & Lee, H. J. Antioxidant properties of natural polyphenols and their therapeutic potentials for Alzheimer's disease. Brain research bulletin 2012; 87(2): 144-153.

Chung, C. C., Lin, W. J., Chang, W. M. et al. Therapeutic evaluation of etanercept in a model of traumatic brain injury. Journal of Neurochemistry 2010; 115: 921-929.

Clark, I. A., Alleva, L. M., & Vissel, B. The roles of TNF in brain dysfunction and disease. Pharmacology & therapeutics 2010; 128(3): 519-548.

Clark, I., Atwood, C., Bowen, R., Paz-Filho, G., & Vissel, B. Tumor necrosis factor-induced cerebral insülin resistance in Alzheimer's disease links numerous treatment rationales. Pharmacological reviews 2012; *64*(4): 1004-1026.

Clerx, L., van Rossum, I. A., Burns, L., Knol, D. L., Scheltens, P., Verhey, F., ... & Visser, P. J. Measurements of medial temporal lobe atrophy for prediction of Alzheimer's disease in subjects with mild cognitive impairment. Neurobiology of aging 2013; 34(8): 2003-2013.

Cole, G. M., Lim, G. P., Yang, F., Teter, B., Begum, A., Ma, Q., ... & Frautschy, S. A. Prevention of Alzheimer's disease: Omega-3 fatty acid and phenolic anti-oxidant interventions. Neurobiology of aging 2005; 26(1): 133-136.

Corey-Bloom JR, Anand R, Veach J, et al. A randomised trial evaluating the efficacy and safety of rivastigmine, a new cholineesterase inhibitör in patients with mild to moderate Alzheimer disease. Int J Geriatr Psycho 1998; 1: 55-64.

Côté, S., Carmichael, P. H., Verreault, R., Lindsay, J., Lefebvre, J., & Laurin, D. Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and the risk of cognitive impairment and Alzheimer's disease. Alzheimer's & Dementia 2012; 8(3): 219-226.

Cummings JL, Vinters HV, Cole GM, et al. Alzheimer's disease. Etiologies, pathpphsyiology, cognitive reserve and treatment oppurtunities. Neurology 1998; 51: 2-17.

Çelik, T., Uzbay, T. Alzheimer Hastalığının Farmakolojik Tedavisinde Yeni Gelişmeler. Demans Dergisi 2003; 3: 48-58.

Davis KL. Alzheimer’s disease: seeking new ways to preserve brain function. Geriatrics 1999; 54: 42-7.

De la Torre, J. C. Vascular risk factor detection and control may prevent Alzheimer's disease. Ageing research reviews 2010; 9(3): 218-225.

Dedeoglu, A., Cormier, K., Payton, S., Tseitlin, K. A., Kremsky, J. N., Lai, L., ... & Huang, X. Preliminary studies of a novel bifunctional metal chelator targeting Alzheimer's amyloidogenesis. Experimental gerontology 2004; 39(11): 1641-1649.

Dolatabadi HRD, Reisi P, Alaei H, Malekabadi HA, Pilehvarian AA. Folic acid and coenzyme Q10 ameliorate cognitive dysfunction in the rats with intracerebroventricular injection of streptozotocin. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 2012; 15: 719-724.

Doody RS. Clinical profile of donepezil in treatment of Alzheimer's disease. Gerontology 1999; 48: 23-33.

Doody RS, Stevens JC, Beck C, et al. Practice parameter: Management of dementia. Report of the Quality Standarts Subscommittee of the American Academy of Neurology. Neurology 2001; 56: 1154-66.

Elcioglu HK, Kabasakal L, Alan S, Şalva E, Tufan T, Karan MA. Thalidomide attenuates learning and memory deficits induced by intracerebroventriculat administration of streptozotocin in rats. Biotechnic and Histochemistrym 2013; 88(3-4): 145-152.

Elshafey, R., Hassanien, O., Khalil, M., Allah, M. R., Saad, S., Baghdadi, M., & El Zayady, M. Hippocampus, caudate nucleus and entorhinal cortex volumetric MRI measurements in discrimination between Alzheimer’s disease, mild cognitive impairment, and normal aging. The Egyptian Journal of Radiology and Nuclear Medicine 2014; 45(2): 511-518.

Farlow MR. Pharmacological treatment of cognition in Alzheimer's disease. Neurology 1998; 51: 36-44.

Faure, A., Verret, L., Bozon, B., El Tannir El Tayara, N., Ly, M., Kober, F., ... & Delatour, B. Impaired neurogenesis, neuronal loss, and brain functional deficits in the APPxPS1-Ki mouse model of Alzheimer's disease. Neurobiology of aging 2011; 32(3): 407-418.

Feldman HH, Doody RS, Kivipelto M, et al; LEADe Investigators. Randomized controlled trial of atorvastatin in mild to moderate Alzheimer disease: LEADe. Neurology 2010; 74 (12): 956-64.

Ferreira, ST., Klein WL. The Ab oligomer hypothesis for synapse failure and memory loss in Alzheimer's Disease. Neurobiology of Learning and Memory 2011; 96: 529–543.

Frey, N., Grange, S., ve Woodworth,T. Population Pharmacokinetic Analysis of Tocilizumab in Patients With Rheumatoid Arthritis. Journal of Clinical Pharmacology 2010; 50,754-766.

Garcia-Alloza, M., Gil-Bea, F. J., Diez-Ariza, M., Chen, C. H., Francis, P. T., Lasheras, B., & Ramirez, M. J. Cholinergic–serotonergic imbalance contributes to cognitive and behavioral symptoms in Alzheimer's disease. Neuropsychologia 2005; 43(3): 442-449.

Gauthier S. Clinical diagnosis and management of Alzheimer disease. Martin Duniz Ltd, 1999.

Gella, A., & Durany, N. Oxidative stress in Alzheimer disease. Cell Adh Migr 2009; 3(1): 88-93.

Geylis, V., Kourilov, V., Meiner, Z., Nennesmo, I., Bogdanovic, N., & Steinitz, M. Human monoclonal antibodies against amyloid-beta from healthy adults. Neurobiology of aging 2005; 26(5): 597-606.

Geylis, V., Steinitz, M. Immunotherapy of Alzheimer's disease (AD): From murine models to anti-amyloid beta (Ah) human monoclonal antibodies. Autoimmunity Reviews 5 2006; 33–39.

Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. Biochem Biophys Res Commun 1984; 120: 885-90.

Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. Biochem Biophys Res Commun 1984; 122: 1131-1135.

Gouras, G. K., Beal, M. F. Metal chelator decreases Alzheimer β-amyloid plaques. Neuron 2001; 30(3): 641-642.

Gómez-Isla, T., Hollister, R., West, H., Mui, S., Growdon, J. H., Petersen, R. C., ... & Hyman, B. T. Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. Annals of neurology 1997; 41(1): 17-24.

Green, R. C., McNagny, S. E., Jayakumar, P., Cupples, L. A., Benke, K., & Farrer, L. A. Statin use and the risk of Alzheimer's disease: The MIRAGE Study. Alzheimer's & Dementia 2006; 2(2): 96-103.

Griffin, S, W. Perispinal etanercept: Potential as an Alzheimer therapeutic. Journal of Neuroinflammation 2008; 5, 1-3.

Grothe, M., Heinsen, H., & Teipel, S. Longitudinal measures of cholinergic forebrain atrophy in the transition from healthy aging to Alzheimer's disease. Neurobiology of aging 2013; 34(4): 1210-1220.

Guptarak J, Wanchoo S, Durham-Lee J, Wu Y, Zivadinovic D, Paulucci-Holthauzen A, Nesic O. Inhibition of IL-6 signaling: A novel therapeutic approach to treating spinal cord injury pain. Pain 2013; 154: 1115-1128.

Gutierres JM, Carvalho FB, Schetinger MR, Marisco P, Agostinho P, Rodrigues M, Rubin MA, Schmatz R, da Silva CR, de P Cognato G, Farias JG, Signor C, Morsch VM, Mazzanti CM, Bogo M, Bonan CD, Spanevello R. Anthocyanins restore behavioral and biochemical changes caused by streptozotocin-induced sporadic dementia of Alzheimer's type. Life Sci. 2014; 96: 7-17.

Gürvit H. Sinir Sisteminin Dejeneratif Hastalıkları. Demans Sendromu, Alzheimer Hastalığı ve Alzheimer dışı demanslar. In: Öge AE; eds. Nöroloji. İstanbul: Nobel Matbaacılık; 2004: 367-415.

Henderson VW. The epidemiology of estrogen replacement therapy and Alzheimer's disease. Neurology 1997; 48: 27-35.

Heneka, MT. Inflammation in Alzheimer's disease. Clinical Neuroscience Research 2006; 6: 247–260.

Herrup, K., Carrillo, M. C., Schenk, D., Cacace, A., DeSanti, S., Fremeau, R., ... & Budd, S. Beyond amyloid: Getting real about nonamyloid targets in Alzheimer's disease. Alzheimer's & Dementia. 2013; 9(4): 452-458.

Hoass C. Presenile because of presenilin: The presenilin genes and early onset Alzheimer's disease. Curr Opin in Neurol 1996; 9: 954-9.

Hooijmans CR, Kiliaan AJ. Fatty acids, lipid metabolism and Alzheimer pathology. Eur J Pharmacol: 2008; 585 (1): 176–196.

Hopkins J. S. and Rothwell J. N. Cytokines and the nervous system I: expression and recognition. Trends in Neurosciences. 1995; 18(2): 83–88.

Hoozemans, J. J. M., Veerhuis, R., Rozemuller, J. M., & Eikelenboom, P. Neuroinflammation and regeneration in the early stages of Alzheimer's disease pathology. International journal of developmental neuroscience. 2006; 24(2): 157-165.

Hsu LJ, Mallory M, Xia Y. Expression pattern of synucleins (non-Abeta component of Alzheimer's disease amyloid precursor protein/alpha-synuclein) during murine brain development. J. Neurochem. 1998; 71: 338-344.

Hynd, M. R., Scott, H. L., & Dodd, P. R. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. Neurochemistry international 2004; 45(5): 583-595.

Imtiaz, B., Tolppanen, A. M., Kivipelto, M., & Soininen, H. Future directions in Alzheimer's disease from risk factors to prevention. Biochemical pharmacology 2014; 88(4): 661-670.

Iqbal, K., ve Grundke-Iqbal, I. Alzheimer neurofibrillary degeneration: significance, etiopathogenesis, therapeutics and prevention. Journal of cellular and molecular medicine. 2008; 12(1): 38-55.

Ishrat, T., Parveen, K., Khan, M. M., Khuwaja, G., Khan, M. B., Yousuf, S., ... & Islam, F. Selenium prevents cognitive decline and oxidative damage in rat model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. Brain research 2009; 1281: 117-127.

Johnson, K. A., Fox, N. C., Sperling, R. A., & Klunk, W. E. Brain imaging in Alzheimer disease. Cold Spring Harbor perspectives in medicine 2012; *2*(4): 1-23.

Johnson, SC., Christian, BT., Okonkwo, OC., Oh, JM., Harding, S., Xu, G., ... & Sager, MA. Amyloid burden and neural function in people at risk for Alzheimer's Disease. Neurobiology of aging. 2014; 35(3): 576-584.

Jovanov-Milošević, N., Petrović, D., Sedmak, G., Vukšić, M., Hof, P. R., & Šimić, G. Human fetal tau protein isoform: Possibilities for Alzheimer's disease treatment. The international journal of biochemistry & cell biology 2012; 44(8): 1290-1294.

Kahn, C. R., & Suzuki, R. Insulin Action in the Brain and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. In Diabetes, Insulin and Alzheimer's Disease 2010; 1-20.

Kaly L, Rosner I. Tocilizumab–a novel therapy for non-organ-specific auroimmune diseases. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2012; 26: 157-165.

Karaman Y. Alzheimer hastalığı ve diğer demanslar. 1. Baskı. Ankara: Lebib Yalkın Matbaası, 2002.

Karch, C. M., & Goate, A. M. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. Biological Psychiatry 2014; 1-9.

Kaschel R. Ginkgo biloba: specifi city of neuropsychological improvement—a selective review in search of differential effects. Human Pyschopharmacology Clin Exp 2009; 24: 345-70.

Kaye JA. Diagnostic challenges in dementia. Neurology 1998; 51(Suppl 1): 45-52.

Kim, D. H., Yeo, S. H., Park, J. M., Choi, J. Y., Lee, T. H., Park, S. Y., ... & Cha, H. J. Genetic markers for diagnosis and pathogenesis of Alzheimer's disease. Gene 2014; 545(2): 185-193.

Knopman DS, Knapp DJ, Gracon SI, et al. Practice parameter: Diagnosis of dementia. Report of the Quality Standarts Subscommittee of the American Academy of Neurology. Neurology 2001; 56: 1143-53.

Korczyn, AD. The amyloid cascade hypothesis. Alzheimer's & Dementia. 2008; 4(3): 176-178.

Lanctôt, K. L., Herrmann, N., van Reekum, R., Eryavec, G., & Naranjo, C. A. Gender, aggression and serotonergic function are associated with response to sertraline for behavioral disturbances in Alzheimer's disease. International journal of geriatric psychiatry 2002; 17(6): 531-541.

Laura PS, Katsz I, Schneider L. Assessing individual patients for cognitive benefits from acetylcholineesterase inhibitors. Alzheimer disease and Associated disorders. 1999; 13: 26-34.

Law, A., Gauthier, S., & Quirion, R. Say NO to Alzheimer’s disease: the putative links between nitric oxide and dementia of the Alzheimer’s type. Brain Research Reviews 2001; 35(1): 73-96.

Lenzen, S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. Diabetologia 2008; 51(2): 216-226.

Licastro F., Pedrini S., Caputo L., Annoni G. Davis, LJ. ve ark. Increased plasma levels of interleukin-1, interleukin-6 and a-1-antichymotrypsin in patients with Alzheimer’s disease: peripheral inflammation or signals from the brain? Journal of Neuroimmunology. 2000; 103: 97–102.

Liu, L., Chan, C. The role of inflammasome in Alzheimer' s disease. Ageing Research Reviews. 2014; 15: 6-15.

LLoret, A., Giraldo, E., & Viña, J. Is antioxidant therapy effective to treat alzheimer's disease? Free Radicals and Antioxidants 2011; 1(4): 8-14.

Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: physiologicmessenger. Ann Intern Med 1994; 120: 227-237.

Lyness, S. A., Zarow, C., & Chui, H. C. Neuron loss in key cholinergic and aminergic nuclei in Alzheimer disease: a meta-analysis. Neurobiology of aging 2003; 24(1): 1-23.

Mamelak, M. Alzheimer's disease, oxidative stress and gammahydroxybutyrate. Neurobiology of aging 2007; 28(9): 1340-1360.

Mangialasche F, Solomon A, Winblad B, Mecocci P, Kivipelto M. Alzheiemr's disease: clinical trials and drug development. Lancet Neurol 2010; 9: 702–16.

Marien, M. R., Colpaert, F. C., & Rosenquist, A. C. Noradrenergic mechanisms in neurodegenerative diseases: a theory. Brain research reviews 2004; 45(1): 38-78.

Martin, L., Latypova, X., Wilson, CM., Magnaudeix, A., Perrin, ML., Yardin, C., & Terro, F. Tau protein kinases: involvement in Alzheimer's disease.Ageing research reviews. 2013; 12(1): 289-309.

Matsuhara E, Hirai S, Amari M, et al. Alpha 1 antichymotripsin as a possible biochemical marker for Alzheimer's disease. Ann Neurol 1990; 28: 561-7.

Mayeux, R., & Stern, Y. Epidemiology of Alzheimer disease. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2012; 1-26.

McAlpine, F. E., Lee, J. K., Harms, A. S., Ruhn, K. A., Blurton-Jones, M., Hong, J., ... & Tansey, M. G. Inhibition of soluble TNF signaling in a mouse model of Alzheimer's disease prevents pre-plaque amyloid-associated neuropathology. Neurobiology of disease 2009; 34(1): 163-177.

McLean, D., Cooke, M. J., Wang, Y., Fraser, P., George-Hyslop, P. S., & Shoichet, M. S. Targeting the amyloid-β antibody in the brain tissue of a mouse model of Alzheimer's disease. Journal of Controlled Release 2012; 159(2): 302-308.

McMillan, P. J., White, S. S., Franklin, A., Greenup, J. L., Leverenz, J. B., Raskind, M. A., & Szot, P. Differential response of the central noradrenergic nervous system to the loss of locus coeruleus neurons in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. Brain research 2011; 1373: 240-252.

Mecocci, P., & Polidori, M. C. Antioxidant clinical trials in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease 2012; 1822(5): 631-638.

Medina, M., & Avila, J. New perspectives on the role of tau in Alzheimer's disease. Implications for therapy. Biochemical pharmacology 2014; 88(4): 540-547.

Meraz-Rios MA, Lira-De Leon KI, Campos-Pena V, De Anda-Hernandez MA, Mena-Lopez R. Tau oligomers and aggregation in Alzheimer's disease. J Neurochem 2010; 112: 1353-67.

Mihara, M., Kasutani, K., Okazaki, M., Nakamura, A. ve ark. Tocilizumab inhibits signal transduction mediated by both mIL-6R and sIL-6R, but not by the receptors of other members of IL-6 cytokine family. International Immunopharmacology 2005; 5, 1731–1740.

Mizoi, M., Yoshida, M., Saiki, R., Waragai, M., Uemura, K., Akatsu, H., ... & Igarashi, K. Distinction between mild cognitive impairment and Alzheimer's disease by CSF amyloid β40 and β42 and protein-conjugated acrolein. Clinica Chimica Acta. 2014; 430: 150-155.

Monte, M. S.Insulin resistance and Alzheimer's disease. BMB Reports; 2009, 42(8): 475-481.

Mota, S. I., Ferreira, I. L., & Rego, A. C. Dysfunctional synapse in Alzheimer's disease–A focus on NMDA receptors. Neuropharmacology 2014; 76: 16-26.

Mufson, E. J., Bothwell, M., & Kordower, J. H. Loss of nerve growth factor receptor-containing neurons in Alzheimer's disease: a quantitative analysis across subregions of the basal forebrain. Experimental neurology 1989; 105(3): 221-232.

Mulnard RA, Cotman CW, Kawas C, et al. Estrogen replacement therapy for treatment of mild to moderate Alzheimer disease: a randomized controlled trial. Alzheimer's Disease Cooperative Study. JAMA 2000; 283 (8): 1007-15.

Myhrer, T. Adverse psychological impact, glutamatergic dysfunction, and risk factors for Alzheimer's disease. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 1998; 23(1): 131-139.

Nagy, Z. S., Esiri, M. M., Jobst, K. A., Johnston, C., Litchfield, S., Sim, E., & Smith, A. D. Influence of the apolipoprotein E genotype on amyloid deposition and neurofibrillary tangle formation in Alzheimer's disease. Neuroscience 1995; 69(3): 757-761.

Nelson, P. T., Alafuzoff, I., Bigio, E. H., Bouras, C., Braak, H., Cairns, N. J., ... & Beach, T. G. Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature. Journal of neuropathology and experimental neurology 2012; 71(5): 1-42.

Nguven JT, Yamani A, Kiso Y. Views on amyloid hypothesisand secretase inhibitors for treating Alzheimer's disease: progress and problems. Curr. Pharm. Des. 2006; 12: 4295-4312.

Nordberg, A., Darreh-Shori, T., Peskind, E., Soininen, H., Mousavi, M., Eagle, G., & Lane, R. Different cholinesterase inhibitor effects on CSF cholinesterases in Alzheimer patients. Current Alzheimer Research 2009; 6(1): 4-14.

Ortiz, S. Luisa, A., Acosta-Castillo, I., Prince, M. "Epidemiology of dementias and Alzheimer's disease."Archives of medical research 2012; 43(8): 600-608.

Overk, C. R., & Masliah, E. Pathogenesis of synaptic degeneration in Alzheimer's disease and Lewy body disease. Biochemical pharmacology 2014; 88(4): 508-516.

Pákáski, M., & Kálmán, J. Interactions between the amyloid and cholinergic mechanisms in Alzheimer's disease. Neurochemistry international 2008; 53(5): 103-111.

Patel, M. A., Moreland W. L. Interleukin-6 inhibition for treatment of rheumatoid arthritis: A review of tocilizumab therapy. Drug Design, Development and Therapy; 2010; 4; 263–278.

Paul, G., Watson, RR. Chapter 19 – Effects of Omega-3 Fatty Acids on Alzheimer's Disease. Omega-3 Fatty Acids in Brain and Neurological Health 2014; 231–235.

Petersen RC, Thomas RG, Grundman M, et al; Alzheimer's Disease Cooperative Study Group. Vitamin E and donepezil for the treatment of mild cognitive impairment. N Engl J Med 2005; 352 (23): 2379-88.

Perez, R. Miguel, J., Morillas-Ruiz JM. "A review: inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines."The Scientific World Journal. 2012; 1-15.

Powers JM. Diagnostic criteria for the neuropathological assessment Alzheimer's disease. Neurobiology of Aging 1997; 18: 21-26.

Provias J, Jeynes B. Immunohistochemical Detection of Receptor-Associated Protein in Normal Human Brain and Alzheimer's Disease Immunohistochemical Detection of Receptor Associated Protein in Normal Human Brain and Alzheimer's Disease. SAGE-Hindawi Access to Research Pathology Research International. 2010; 1- 5.

Quadri, P., Fragiacomo, C., Pezzati, R., Zanda, E., Forloni, G., Tettamanti, M., & Lucca, U. Homocysteine, folate, and vitamin B-12 in mild cognitive impairment, Alzheimer disease, and vascular dementia. The American journal of clinical nutrition 2004; 80(1): 114-122.

Quintanilla, R. A., Orellana, D. I., González-Billault, C., & Maccioni, R. B. Interleukin-6 induces Alzheimer-type phosphorylation of tau protein by deregulating the cdk5/p35 pathway. Experimental cell research 2004; 295(1): 245-257.

Ramirez-Bermudez, J. Alzheimer's disease: critical notes on the history of A medical concept. Archives of medical research 2012; 43(8); 595-599.

Raskind MA, Peskind ER, Wessel T, et al. Galantamine in AD. Neurology 2000; 54: 2261-8.

Reitz, C., Brayne, C., Mayeux, R. "Epidemiology of Alzheimer disease."Nature Reviews Neurology 2011; 7(3): 137-152.

Rijpma, A., Meulenbroek, O., & Rikkert, M. G. M. Cholinesterase inhibitors and add-on nutritional supplements in Alzheimer's disease A systematic review of randomized controlled trials. Ageing Research Reviews 2014; 1-21.

Robertson, I. H. A noradrenergic theory of cognitive reserve: implications for Alzheimer's disease. Neurobiology of aging 2013;34(1): 298-308.

Rodriguez, J. J., Noristani, H. N., & Verkhratsky, A. The serotonergic system in ageing and Alzheimer's disease. Progress in neurobiology 2012; 99(1): 15-41.

Rogers SL, Friedhoff LT, Group DS, et al. The efficacy of donepezile in patients with Alzheimer's disease: Results of US multicenter, randomised, double-blind, placebo controlled trial. Dementia 1996; 7: 293-303.

Sabbagh M. , Decourt, B., Liebsack, C., Sirrel, S. Ve Ark.. Phase II Double-Blınd, Placebo- Controlled Randomızed Trıal Of An Escalatıng Dose Of Thalıdomıde In The Treatment Of Alzheımer’s Dısease: Baselıne Characterıstıcs. Alzheimer's & Dementia; 2013; 9; (4); 285.

Salkovic-Petrisic, M., Knezovic, A., Hoyer, S., & Riederer, P. What have we learned from the streptozotocin-induced animal model of sporadic Alzheimer’s disease, about the therapeutic strategies in Alzheimer’s research. Journal of neural transmission 2013; 120(1): 233-252.

Sano M; Update on treatment of cognitive symptoms in dementia. In: Dementia Update. American Academy of Neurology 49th Annual Meeting, April 12-19, 1997 Boston, MA.

Sano M, Ernesto C, Thomas RG, et al. A controlled trial of selegiline, alpha tocopherol, or both as treatment for Alzheimer’s disease. The Alzheimer’s Disease cooperative study. N Engl J Med 1997; 336 (17): 1216-1222.

Schein, P. S., O'connell, M. J., Blom, J., Hubbard, S., Magrath, I. T., Bergevin, P., ... & DeVita, V. T. Clinical antitumor activity and toxicity of streptozotocin (NSC-85998). Cancer 1974; 34(4): 993-1000.

Schenk D, Barbour R, Dunn W, et al. Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. Nature 1999; 400: 173-7.

Scinto LFM, Daffner KR. Early diagnosis of Alzheimer's disease. Totowa: Humana Press Inc, 2000.

Scott, H. A., Gebhardt, F. M., Mitrovic, A. D., Vandenberg, R. J., & Dodd, P. R. Glutamate transporter variants reduce glutamate uptake in Alzheimer's disease. Neurobiology of aging 2011; 32(3): 553-e1-e11.

Seitz, D. P., Reimer, C. L., & Siddiqui, N. A review of epidemiological evidence for general anesthesia as a risk factor for Alzheimer's disease. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry 2013; 47: 122-127.

Serrano-Pozo, A., Mielke, M. L., Gómez-Isla, T., Betensky, R. A., Growdon, J. H., Frosch, M. P., & Hyman, B. T. Reactive glia not only associates with plaques but also parallels tangles in Alzheimer's disease. The American journal of pathology 2011; 179(3): 1373-1384.

Shen Y., He P., Li R. Novel Roles Of Thalıdomıde In Alzheimer’s Dısease. Alzheimer's & Dementia; 2011; 7;(4);473.

Sirvio J. Strategies that support declining cholinergic neurotransmission in Alzheimer's disease patients. Gerontology 1999; 458 (Suppl 1): 3-14.

Small, G., & Bullock, R. Defining optimal treatment with cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. Alzheimer's & Dementia 2011; 7(2): 177-184.

Stefanova, E., Pavlovic, A., Jovanovic, Z., Veselinovic, N., Despotovic, I., Stojkovic, T., ... & Kostic, V. Vascular risk factors in Alzheimer's disease—Preliminary report. Journal of the neurological sciences 2012; 322(1): 166-169.

Stolinsky, D. C., Sadoff, L., Braunwald, J., & Bateman, J. R. Streptozotocin in the treatment of cancer: Phase II study. Cancer 1972; 30(1): 61-67.

Swardfager, W., Lanctôt, K., Rothenburg, L., Wong, A., Cappell, J., & Herrmann, N. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease.Biological psychiatry. 2010; 68(10): 930-941.

Tahirovic, I., Sofic, E., Sapcanin, A., Gavrankapetanovic, I., Bach-Rojecky, L., Salkovic-Petrisic, M., ... & Riederer, P. Reduced brain antioxidant capacity in rat models of betacytotoxic-induced experimental sporadic Alzheimer's disease and diabetes mellitus. Neurochemical research 2007; 32(10): 1709-1717.

Taipel, S., Heinsen, H., Amaro, E., Grinberg, LT., Krause, B., Grothe, M. Cholinergic basal forebrain atrophy predicts amyloid burden in Alzheimer's disease. Neurobiology of Aging 2014; 35(3): 482-491.

Talbot, K., Wang, H. Y. The nature, significance, and glucagon-like peptide-1 analog treatment of brain insulin resistance in Alzheimer's disease.Alzheimer's & Dementia 2014; 10(1): 12-25.

Tanaka, T., Narazaki M., Kishimoto, T. Anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab, for the treatment of autoimmune diseases. FEBS Letters 2011; 585, 3699–3709.

Tariot PN, Solomon PR, Morris JC, et al. A 5-month randomized placebo-controlled trial of galantamine in AD. Neurology 2000; 54: 2269-76.

Taşkıran Ekim Z, Amiloid birikiminin moleküler temeli ve yeni tedavi yaklaşımları. Hacettepe Tıp Dergisi 2007; 38: 20-25.

Tayeb, H. O., Yang, H. D., Price, B. H., & Tarazi, F. I. Pharmacotherapies for Alzheimer's disease: beyond cholinesterase inhibitors. Pharmacology & therapeutics 2012; 134(1): 8-25.

Terry DR, Katzman R, Bick LK, Sisodia SS. Alzheimer Disease. 2nd ed. 1999.

Tuszynski MH, Thal L, Pay M, et al. A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease. Nat Med 2005; 11 (5): 551-555.

Uzbay, T. Alzheimer Hastalığına Yönelik Çalışmalarda Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri. Demans Dergisi 2003;1: 5-14.

Waite L, Grayson AF, Jorm F, et al. Informant based staging of dementia using the clinical dementia rating. Alzheimer disease and associated disorders. 1999; 13: 34-8.

Walton, H. S., & Dodd, P. R. Glutamate–glutamine cycling in Alzheimer's disease. Neurochemistry international 2007; 50(7): 1052-1066.

Wegiel, J., Wisniewski, H. M., Dziewiatkowski, J., Badmajew, E., Tarnawski, M., Reisberg, B., ... & Miller, D. C. Cerebellar atrophy in Alzheimer's Disease clinicopathological correlations. Brain research 1999; 818(1): 41-50.

Williams, B. J., Eriksdotter-Jonhagen, M., & Granholm, A. C. Nerve growth factor in treatment and pathogenesis of Alzheimer's disease. Progress in neurobiology 2006; 80(3): 114-128.

Wischik, C. M., Harrington, C. R., & Storey, J. Tau-aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. Biochemical pharmacology 2014; 88(4): 529-539.

Wu G, Chai N, Kim I, Klein AS, Jordan SC. Monoclonal anti-interleukin-6 receptor antibody attenuates donor-specific antibody responses in a mouse model of allosensitization. Transplant Immunology 2013; 28: 138-43.

Vural, H., Vural- Demir, C., Yılmaz, N. ve Eren, İ. Alzheimer Hastalığında Total Antioksidan Kapasitenin Araştırılması. Tıp Araştırmaları Dergisi 2007; 5(2): 63-66.

Yamada, K., Kono, K., Umegaki, H., Yamada, K., Iguchi, A., Fukatsu, T., ... & Nabeshima, T. Decreased interleukin-6 level in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer dementia. Neuroscience Letters. 1995; 186: 219-221.

Yan, M. H., Wang, X., & Zhu, X. Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease. Free Radical Biology and Medicine 2013; 62: 90-101.

Zarow, C., Lyness, S. A., Mortimer, J. A., & Chui, H. C. Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson diseases. Archives of neurology 2003; 60(3): 337-341.

Zetterberg, H., & Blennow, K. Biomarker evidence for uncoupling of amyloid build-up and toxicity in Alzheimer's disease. Alzheimer's & Dementia 2013; 9*(*4): 459-462.

Zhang YY, Fan YC, Wang M, Wang D, Li XH. Atorvastatin attenuates the production of IL-1β, IL-6, and TNF-α in the hippocampus of an amyloid β1-42-induced rat model of Alzheimer's disease. Clinical Interventions in Aging 2013; 8: 103-110.

Zhu B, Wang ZG, Ding J, Liu N, Wang DM, Ding LC, Yang C. Chronic lipopolysaccharide exposure induces cognitive dysfunction without affecting BDNF expression in the rat hippocampus. Experimental and Therapeutic Medicine 2014; 7: 750-754.

Zigman, W. B., Schupf, N., Jenkins, E. C., Urv, T. K., Tycko, B., & Silverman, W. Cholesterol level, statin use and Alzheimer's disease in adults with Down syndrome. Neuroscience letters 2007; 416(3): 279-284.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Ersin	**Soyadı**	ASLAN
Doğum Yeri	KARS	**Doğum Tarihi**	20/11/1987
Uyruğu	T.C.	**Tel**	0554 728 02 45
E-mail	ersin1aslan@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Lisans	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2011
Lise	Derince Lisesi	2005

İş Deneyimi

Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl)**
Mesul Müdür Ve Sahibi	Ersin Eczanesi	Devam ediyor

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***
İngilizce	Zayıf	Zayıf	Zayıf

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	73.584	67.838	74.715

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Microsoft Office Programları	İyi

10. ETİK KURUL ONAY BELGESİ

MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	05.2013.mar
	PROJE ADI	Deneysel Alzheimer modelinde Tosilizumab'ın etkilerinin araştırılması.
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Doç.Dr. Kübra ELÇİOĞLU
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	M.Ü Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD
	DESTEKLEYİCİ	.....

KARAR BİLGİLERİ	Tarih 12.04.2013 Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için Kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.
ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.

ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu / EK Üyeliği	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya katılım	İmza
Prof. Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü Tıp Fakültesi ve Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. İnci ALİCAN	Fizyoloji	Yürütücü Sekreteri	Var Yok	Evet Hayır	
Prof. Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü Diş Hekimliği Fakültesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü Tıp Fakültesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Hasan Raci YANANLI	Farmakoloji	M.Ü Tıp Fakültesi	Var Yok	EVET HAYIR	
Vet. Hek. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü Tıp Fakültesi ve Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Sorumlu Veterineri	Var Yok	Evet Hayır	
Öğr. Gör.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü Tıp Fakültesi	Var Yok	Evet Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	İstanbul Hıfzıssıhha Enstitüsü Müdürlüğü, Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Billur AYGÖR	Emekli Memur	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	