

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

AMİLOİD BETA PEPTİD İNDÜKLÜ SİNAPTİK
BOZUKLUKLARIN BİLİŞSEL FONKSİYONLAR
ÜZERİNE ETKİSİ VE BEYİN OSİLASYONLARI İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ

Enis HİDİŞOĞLU

DOKTORA TEZİ

2020-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

**AMİLOİD BETA PEPTİD İNDÜKLÜ SİNAPTİK
BOZUKLUKLARIN BİLİŞSEL FONKSİYONLAR
ÜZERİNE ETKİSİ VE BEYİN OSİLASYONLARI İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Enis HİDİŞOĞLU

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Piraye YARGIÇOĞLU AKKİRAZ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (TDK-2018-3170) ve TÜBİTAK (SBAG 118S225) tarafından desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2020-ANTALYA

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince bilimsel ve akademik açıdan gelişmemi sağlayan, engin bilgi ve deneyimleri ile bana yeni ufuklar açan, eşsiz rehberliği ve sonsuz desteklerinden dolayı öğrencisi olmaktan büyük bir mutluluk duyduğum kıymetli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Piraye YARGIÇOĞLU AKKİRAZ'a,

Lisansüstü eğitimim süresince bilgileri ve rehberlikleri ile desteklerini esirgemeyen başta Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Semir ÖZDEMİR hocam olmak üzere tüm Öğretim Üyelerine ve Asistan arkadaşlarıma, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Erol GÜRPINAR hocam ve kıymetli personeline,

Lisansüstü eğitimim süresince her zaman yanımda olan ve dostluklarını esirgemeyen Erol NİZAMOĞLU, Orhan ERKAN ve Ekrem YAŞAR'a,

Doktora eğitimim süresince manevi desteği ile her daim yanımda olan ve bu süreçte bana karşı göstermiş olduğu sabır ve anlayıştan dolayı benim için çok değerli olan sevgili Mevlüde KÖKSAL'a,

Doktora eğitimim süresince 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında sağlamış oldukları maddi destekten dolayı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na,

Son olarak, hayatım boyunca göstermiş oldukları sonsuz sevgi ve değerli destekleri ve bana olan inançlarından dolayı kelimeleri kullanarak ifade edemeyeceğim kadar çok sevgi ve saygı duyduğum kıymetli annem, babam ve kardeşlerime,

Sonsuz saygı ve teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda farklı dozlarda amiloid beta (A β) peptidinin öğrenme ve hafıza üzerine etkileri ve A β birikimi ile beyin osilasyonlarında meydana gelecek değişimlerin Alzheimer hastalığı (AH)'nın erken evrelerinde gözlenen sinaptik bozuklukların tespit edilmesinde biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağını belirlemek hedeflenmiştir.

Yöntem: Her grupta 15 adet 3 aylık Wistar erkek sıçan olmak üzere, %0.9 NaCl veya A β peptidinin i.h. enjeksiyonu ile Sham (%0.9 NaCl), A β 1 (0.01 μ g/ μ l), A β 2 (0.1 μ g/ μ l) ve A β 3 (1 μ g/ μ l) grupları oluşturulmuştur. İyileşme periyodunu takiben öğrenme ve hafıza testleri gerçekleştirilmiş ve A β birikimi ile indüklenen beyin aktivitesi değişimlerini belirlemek için ise spontan EEG kayıtları alınmıştır. Deney süresinin sonunda sıçanların hipokampus dokusunda biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: A β enjeksiyonu hipokampus A β seviyelerinde önemli artışları indüklemiş ve tanıma hafızasının A β 2 ve A β 3 gruplarında önemli derecede azalmasına neden olmuştur. Bununla birlikte, A β birikiminin hipokampüste olgunlaşmış nöron sayısında, pre- ve post-sinaptik proteinlerin ve öğrenme ile ilişkili proteinlerin ekspresyonlarında önemli azalmaları, astrogial aktivasyonda ise artışı indüklediği gösterilmiştir. Elektrofizyolojik bulgular, A β birikiminin spontan beyin aktivitesinde önemli değişikliklere neden olduğunu ve hipokampal A β birikimi ile hipokampal gama güç değerleri arasında negatif ve teta güç değerleri arasında ise pozitif bir ilişkinin olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca fonksiyonel bağlantı gücünde de anlamlı azalmalar gözlenmiştir. Özellikle de A β enjeksiyonundan sonra frontohipokampal teta koherens gücünde gözlenen değişimin frontotemporal teta koherens değerlerinde gözlenen değişim ile pozitif bir ilişkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: Bulgularımız, A β peptidinin belirli dozlarda AH benzeri moleküler değişiklikler meydana getirdiğini ve bu değişikliklerin ise beyin osilasyonlarının değerlendirilmesi ile tespit edilebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Amiloid beta, öğrenme ve hafıza, EEG, koherens, sıçan

ABSTRACT

Objective: The aim of this thesis is to determine the effects of different doses of intrahippocampal (i.h.) injection of amyloid beta (A β) on learning and memory and whether the changes in brain oscillations induced by dose-dependent accumulation of A β could be used as biomarkers to detect synaptic dysfunctions in the early stages of the Alzheimer's disease (AD).

Method: 3-month-old male Wistar rats were randomly divided into four groups (n=15 per each group) obtained by i.h. injection of saline or A β : Sham, A β 1 (0.01 μ g/ μ L), A β 2 (0.1 μ g/ μ L) and A β 3 (1 μ g/ μ L). After recovery, learning and memory tests were performed and spontaneous EEG recordings were obtained to determine changes in brain activity induced by A β accumulation. At the end of the experiment, the hippocampus tissues were collected for biochemical analysis.

Results: The A β injection induced significant increases in hippocampus A β levels and a significant decrease in recognition memory was observed in A β 2 and A β 3 groups. In addition, we found that A β accumulation induced significant decrement of the number of mature neurons and expressions of pre- and post-synaptic proteins and learning-related proteins, and leads to the increment of the astrogliosis in the hippocampus. Moreover, remarkable alterations induced by A β was observed in spontaneous brain activity, and hippocampal A β levels were negatively correlated with hippocampal gamma power, while they were positively correlated with hippocampal theta power. Also, the A β accumulation has significant adverse effects on functional connectivity. Especially, after the injection of A β , there was a correlation between the changes in frontohippocampal theta coherence and in frontotemporal theta coherence.

Conclusion: Our findings indicate that A β peptide induces AD-like molecular changes at certain doses, and these changes can be detected by evaluating brain oscillations.

Key words: Amyloid beta, learning and memory, EEG, coherence, rat

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Alzheimer Hastalığı	3
2.2. Alzheimer Hastalığı Klinik Özellikleri	3
2.3. Alzheimer Hastalığı Gelişiminde Etkili Risk Faktörleri	4
2.3.1. Genetik Risk Faktörleri	4
2.3.2. Diğer Risk Faktörleri	5
2.4. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi	7
2.4.1. Amiloid Kaskad Hipotezi ve Amiloid Beta Peptidinin Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisindeki Rolü	8
2.4.2. Hiperfosforile Tau Proteinin Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisindeki Rolü	11
2.5. Alzheimer Patolojisinde Sinapslar	13
2.5.1. Hipokampus, Sinaptik Plastisite ve Glutamaterjik Sistem	14
2.5.2. Glutamat Reseptörleri	16
2.5.3. Aβ Peptid Aracılı Sinaptik ve Glutamaterjik Disfonksiyon	21
	iii

2.6.	A β Peptidinin Astrositler Üzerine Etkileri	22
2.7.	Elektroensefalografi	24
3.	GEREÇ ve YÖNTEM	30
3.1.	Gruplandırma	30
3.2.	Deney Protokolü	30
3.2.1.	A β ₁₋₄₂ Peptidinin Hazırlanması	31
3.3.	Cerrahi İşlemler ve Elektrot İmplantasyonu	31
3.4.	Davranış Testleri	32
3.4.1.	Açık Alan Testi	32
3.4.2.	Yeni Obje Tanıma Testi	33
3.5.	Spontan EEG Verilerinin Kayıtlanması	35
3.6.	Spontan EEG Verilerinin Analizi	35
3.6.1.	Güç Spektrum Analizi	36
3.6.2.	Koherens Analizi	36
3.7.	Biyokimyasal Yöntemler	37
3.7.1.	Western Blot Analizi	37
3.7.2.	Antikorlar	38
3.7.3.	Doku Amiloid Beta (A β) Peptid Seviyesinin Tayini	40
3.7.4.	Protein Tayini	40
3.8.	İstatistiksel Analizler	40
4.	BULGULAR	42

4.1.	Genel Görünüm	42
4.2.	A β ₁₋₄₂ ELISA Sonuçları	42
4.3.	Öğrenme Deneyi Sonuçları	43
4.4.	Western Blot Sonuçları	44
4.5.	Spontan EEG Güç Spektrum Analizi Sonuçları	49
4.5.1.	Delta Bandı Güç Spektrum Analizi Sonuçları	50
4.5.2.	Teta Bandı Güç Spektrum Analizi Sonuçları	50
4.5.3.	Alfa Bandı Güç Spektrum Analizi Sonuçları	52
4.5.4.	Beta Bandı Güç Spektrum Analizi Sonuçları	53
4.5.5.	Gama Bandı Güç Spektrum Analizi Sonuçları	54
4.6.	Spontan EEG Koherens Analizi Sonuçları	54
4.6.1.	Delta Bandı Koherens Sonuçları	54
4.6.2.	Teta Bandı Koherens Sonuçları	55
4.6.3.	Alfa Bandı Koherens Sonuçları	56
4.6.4.	Beta Bandı Koherens Sonuçları	57
4.6.5.	Gama Bandı Koherens Sonuçları	57
4.7.	Korelasyon Analizi Sonuçları	58
4.7.1.	Hipokampus A β ₁₋₄₂ Peptid Seviyesi ve Ayrım İndeksi Değişimi Arasındaki İlişki	58
4.7.2.	Hipokampus A β ₁₋₄₂ Peptid Seviyesi ve EEG Aktivitesi Değişimleri Arasındaki İlişki	59
5.	TARTIŞMA	63

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

74

KAYNAKLAR

76

ÖZGEÇMİŞ

103



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. AH ilişkili bilişsel fonksiyonlarda gözlenen bozulmaların gelişimini etkileyebilecek patofizyolojik faktörler arasındaki etkileşim.	5
Şekil 2. 2. AH bireylerin beyinlerinde gözlenen amiloid plaklar ve nörofibriler yumaklar.	8
Şekil 2. 3. Tetramerik GluR2 AMPA reseptörünün yapısı.	18
Şekil 2. 4. NMDA reseptörünün yapısı.	20
Şekil 2. 5. Bir saniyelik örnek EEG sinyal dalga şekli. a) delta dalgası (0,5-3,5 Hz), b) teta dalgası (4-8 Hz), c) alfa dalgası (8-13 Hz), d) beta dalgası (13-30 Hz) ve e) gama dalgası (30-100 Hz). Ölçek çubuğu: 10 μ V.	26
Şekil 3. 1. a) Stereotaksik atlası göre belirlenen temsili elektrot lokasyonları b) Elektrot lokasyonlarının tespit edilmesi için kafa derisinin bistüri yardımı ile orta hattan kesilmesi ve orijin olan bregmanın belirlenmesi.	32
Şekil 3. 2. Açık alan testinde kullanılan 25 eşit kareye bölünmüş 80 cm x 80 cm x 40 cm ebatlarındaki platform.	33
Şekil 3. 3. Yeni obje tanıma testinin şematik gösterimi.	34
Şekil 3. 4. FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2 lokasyonlarından elde edilen 10 s'lik örnek EEG verisi.	35
Şekil 4. 1. Sh ve A β gruplarına ait elektrofizyolojik kayıtlar öncesi alınan vücut ağırlıkları değerleri.	42
Şekil 4. 2. Sh ve A β gruplarına ait hipokampus dokusu A β_{1-42} peptid seviyesindeki değişimleri gösteren ELISA sonuçları.	43
Şekil 4. 3. Sh ve A β gruplarına ait açık alan testi ve yeni obje tanıma testi sonuçları.	44

Şekil 4. 4. Sh ve A β gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) PSD-95, SNAP-25 ve SYP protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüleri ve (B) ekspresyon analizleri.	45
Şekil 4. 5. Sh ve A β gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) GFAP protein ekspresyonunun temsili western blot görüntüsü ve (B) ekspresyon analizleri.	46
Şekil 4. 6. Sh ve A β gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) NR1, NR2A ve NR2B protein ekspresyonlarının temsili Western Blot görüntüleri ve (B) ekspresyon analizleri.	47
Şekil 4. 7. Sh ve A β gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) GluR1 ve GluR2 protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüleri ve (B) ekspresyon analizleri.	48
Şekil 4. 8. Sh ve A β gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) CaMKII ve CREB1 protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüleri ve (B) ekspresyon analizleri.	49
Şekil 4. 9. Sh ve A β gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) NeuN protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüleri ve (B) ekspresyon analizleri.	49
Şekil 4. 10. Sh ve A β gruplarına ait sağ hipokampus bölgesinden kaydedilen delta (0.5-3.5 Hz), teta (4-7.5 Hz), alfa (8-13 Hz), beta (13-30 Hz) ve gama (30-48 Hz) frekans bantlarındaki temsili güç spektrum değişimleri.	51
Şekil 4. 11. Sh ve A β gruplarına ait altı elektrot bölgesindeki (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) spontan EEG delta (0.5-4 Hz) güç değerleri.	50
Şekil 4. 12. Sh ve A β gruplarına ait altı elektrot bölgesindeki (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) spontan EEG teta (4-7.5 Hz) güç değerleri.	52

Şekil 4. 13. Sh ve A β gruplarına ait altı elektrot bölgesindeki (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) spontan EEG alfa (8-13 Hz) güç değerleri.	53
Şekil 4. 14. Sh ve A β gruplarına ait altı elektrot bölgesindeki (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) spontan EEG beta (13-30 Hz) güç değerleri.	53
Şekil 4. 15. Sh ve A β gruplarına ait altı elektrot bölgesindeki (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) spontan EEG gama (30-48 Hz) güç değerleri.	54
Şekil 4. 16. Sh ve A β gruplarına ait delta frekans bandında gözlenen interhemisferik ve intrahemisferik bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri.	55
Şekil 4. 17. Sh ve A β gruplarına ait teta frekans bandında gözlenen interhemisferik ve intrahemisferik bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri.	56
Şekli 4. 18. Sh ve A β gruplarına ait teta frekans bandında gözlenen interhemisferik ve intrahemisferik bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri.	56
Şekil 4. 19. Sh ve A β gruplarına ait teta frekans bandında gözlenen interhemisferik ve intrahemisferik bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri.	57
Şekil 4. 20. Sh ve A β gruplarına ait teta frekans bandında gözlenen interhemisferik ve intrahemisferik bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri.	58
Şekli 4. 21. Hipokampal A β_{1-42} peptid seviyesi ile ayırım indeksi değişimi arasındaki ilişki.	59
Şekil 4. 22. Hipokampal teta gücü ile A β_{1-42} peptid seviyesi arasındaki ilişki.	60
Şekil 4. 23. Hipokampal gama gücü ile A β_{1-42} peptid seviyesi arasındaki ilişki.	60

- Şekil 4. 24.**Frontohipokampal teta koherens değişimleri ile hipokampüs $A\beta_{1-42}$ peptid seviyesi arasındaki ilişki. 61
- Şekil 4. 25.**Frontotemporal teta koherens değişimleri ile hipokampüs $A\beta_{1-42}$ peptid seviyesi arasındaki ilişki. 61
- Şekil 4. 26.**Sol frontotemporal koherens değişimleri ile sol frontohipokampal koherens değişimleri arasındaki ilişki. 62
- Şekil 4. 27.**Sağ frontotemporal koherens değişimleri ile sağ frontohipokampal koherens değişimleri arasındaki ilişki. 62



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3. 1. Deney grupları ve kullanılan A β peptid miktarları.	30
Tablo 3. 2. Çalışmada kullanılan primer antikörlara ait bilgiler	39



SİMGELER ve KISALTMALAR

AH	: Alzheimer hastalığı
Aβ	: Amiloid beta
AICD	: İntraselüler domain APP
AMPA	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-isoksazol-4-propionik asit
APP	: Amiloid prekürsör protein
ApoE	: Apolipoprotein E
Ca⁺²	: Kalsiyum
cAMP	: Siklik adenosin monofosfat
CAMKII	: Ca ⁺² -Kalmodulin Kinaz II
CREB	: cAMP-duyarlı eleman bağlama proteini
C-terminal	: Karboksi terminal
CTF	: C-terminal fragman
EEG	: Elektroensefalografi
ELISA	: Enzim bağlı immünsorbent testi
ER	: Endoplazmik retikulum
GABA	: Gama amino bütirik asit
GFAP	: Glial fibriler asidik protein
Glu	: Glutamat
GluR	: Glutamat reseptörü
i.h.	: İntrahipokampal
KA	: Kainat
LTD	: Uzun süreli depresyon
LTP	: Uzun süreli güçlenme

MCI	: Hafif bilişsel bozukluk
Mg⁺²	: Magnezyum
NeuN	: Nöronal nükleer protein
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NMDAR	: NMDA reseptörü
NR1	: NMDAR-1
NR2	: NMDAR-2
NR3	: NMDAR-3
N-terminal	: Amino terminal
PKA	: Protein kinaz A
PKC	: Protein Kinaz C
PSEN1	: Presenilin 1
PSEN2	: Presenilin 2
PSD-95	: Postsinaptik yoğunluk-95
RNA	: Ribonükleik asit
SCI	: Özel bilişsel bozukluk
SNAP-25	: Sinaptozomal ilişkili protein-25
SYP	: Sinaptofizin
α-APPs	: Alfa sekretuvar APP
β-APPs	: Beta sekretuvar APP

1. GİRİŞ

Alzheimer hastalığı (AH) ilk olarak 1907 yılında Alois Alzheimer tarafından ayrı bir demans tipi olarak tanımlanmıştır. AH serebral kortekste amiloid beta ($A\beta$) peptid birikimi ve yoğun nöron ve sinaps kaybı ile karakterizedir. Özellikle de bilişsel fonksiyonlarla ilişkili beyin bölgelerinde yoğun nöronal ölüm ve sinaptik kayıp gözlenmektedir (Dubravka ve ark., 2001; Gouras ve ark., 2010a; Tomiyama ve ark., 2010). Hastalığın patogenezi açıklamaya yönelik birden çok hipotez ortaya atılmıştır (Kurz ve Perneczky, 2011), fakat AH'nin nöropatolojik mekanizmasına ilişkin literatürde en yaygın kabul gören hipotez amiloid kaskad hipotezidir. Amiloid kaskad hipotezine göre $A\beta_{1-42/43}$ peptid oluşumu, hipokampus, korteks ve beynin diğer yapılarındaki nöronlarda patolojik süreçleri başlatmaktadır (Haass ve Selkoe, 2007; Turner ve ark., 2003). AH'nin nöronal ve bilişsel fonksiyonlardaki etkisini detaylı olarak araştırmak için hayvan modelleri yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Hayvanın beynine nörotoksik $A\beta$ fragmanı olan kümelenmiş $A\beta_{42/43}$ veya $A\beta_{25-35}$ peptid enjeksiyonunun yapılması sıkça kullanılan modellerden biridir. Bu uygulama AH'de gözlenen sitolojik, biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal bozulmalara neden olmakta ve dolayısıyla AH modeli oluşturularak bu hastalıkta meydana gelen değişikliklerin ortaya çıkarılmasını mümkün kılmaktadır (Christensen ve ark., 2008; Klementiev ve ark., 2007). Ayrıca diğer histopatolojik belirteçler ile karşılaştırıldığında $A\beta$ kullanımı AH'nin erken semptomları ile daha iyi korelasyona sahip olduğundan AH ilişkili nöronal disfonksiyonların değerlendirilmesi için oldukça uygun bir modeldir (Lue ve ark., 1999; Naslund ve ark., 2000).

Literatürdeki AH ile ilgili çalışmaların çoğu $A\beta$ birikiminin indüklediği nörodejeneratif süreçler de dahil olmak üzere biyokimyasal mekanizmalar üzerine odaklanmıştır (Benilova ve ark., 2012; Sheng ve ark., 2012). Bu çalışmalar hastalığın bazı yönlerini, genellikle de son aşamalarını açıklamada oldukça kayda değer sonuçlara varmıştır. Ancak hastalığın erken aşamalarında ortaya çıkan patofizyolojik değişimleri bu bulgular ile ilişkilendirmek oldukça zordur. Dahası mevcut çalışmaların sonuçlarına dayandırılmış terapötik yaklaşımlar ise tedavi süreçlerinde hastalığın ilerleme seyrini değiştirme konusunda ya çok az ya da hiç yarar sağlamamıştır (Corbett ve ark., 2012). Farklı bir açıdan AH'ye bakıldığında ise bu hastalık ile ilişkili bilişsel bozuklukların ilişkili sinir ağı disfonksiyonu kapsamında incelenmesi gerektiği fikri

popüler hale gelmektedir (Palop ve Mucke, 2010; Wesson ve ark., 2011). Nitekim klinik semptomlar başlamadan yıllar önce belirli beyin bölgelerinde A β peptid birikimi başlamakta ve buna bağlı olarak da sinaptik disfonksiyonlar gözlenmektedir (Bateman ve ark., 2012; Villemagne ve ark., 2013). Normal yaşlanan beyine göre hastalığın progresyonu ile birlikte yoğun nöronal kayıp ve sinaptik bağlantı sayılarında gözlenen azalmalar sonucunda, bilişsel bozukluklar ve davranışsal değişiklikler daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla hastalığın erken teşhisi için önemli olan konu meydana gelen sinaptik disfonksiyonların kolay ve ucuz bir yöntem ile teşhisinin yapılabilmesi olacaktır. Günümüzde birçok nörolojik hastalığın tespitinde en ucuz ve hastaya acı vermeyen bir yöntem olarak bilinen elektroensefalografi (EEG) metodu, birçok metoda göre üstünlüğünü hala korumaktadır. Bu nedenle, AH'nin erken evrelerindeki sinaptik disfonksiyonların direkt olarak EEG sinyal analizi yöntemi ile tespit edilmesi hastalığın ilerleme seyrinin anlaşılması ve takip edilmesinde önemli bir konudur.

Özet olarak, şu an literatürde AH'nin erken tanısında ve diğer demans türlerinden ayırt edilmesinde EEG biyobelirteçleri düzeyinde çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak bu çalışmaların bulguları ışığında AH erken tanı ve tedavi süreçlerinin ilerleme seyrini net olarak belirlemek mümkün değildir. Bununla birlikte AH'nin erken aşamasında meydana gelen sinaptik disfonksiyonlar ve beyin osilasyonları arasındaki spesifik ilişkiler halen aydınlatılabilmiş değildir. Dolayısıyla literatürde AH'nin erken aşamalarında ortaya çıkan sinaptik disfonksiyonların neden olduğu elektriksel beyin aktivitesi ve işlevsel bütünlüğündeki değişimler hakkında yeterli ve detaylı bilgi mevcut değildir. Ayrıca literatürde, çok düşük miktarlarda A β peptid enjeksiyonu ile indüklenen AH'nin erken aşamalarında oluşacak olan sinaptik disfonksiyonlar, buna bağlı olarak kortikal bölgelerde meydana gelecek olan beynin elektriksel aktivitesindeki muhtemel değişimler ve bu değişimlerin birbirleri ile ilişkisini inceleyen herhangi bir çalışma yoktur. Dolayısıyla çalışmamızda indüklenebilir AH sıçan modeli kullanımı, çok düşük miktarlarda A β peptid birikiminin EEG osilasyonları ile beynin işlevsel bütünlüğü ve sinaptik bağlantılar üzerine etkisini ortaya koymamızı mümkün kılmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alzheimer Hastalığı

AH dünya genelinde en sık görülen nörodejeneratif hastalık olup, yaklaşık olarak tüm demans vakalarının %70'ini oluşturmaktadır (Prince ve ark., 2013). Vasküler demans, fronto-temporal demans, Lewy cisimcikli demans, Parkinson hastalığı demansı beyindeki toksik protein kümelenmelerinin anormal birikimi ile ilişkili olan diğer yaygın demans türleri arasında yer almaktadır. Beyinde toksik protein kümelenmelerinin oluşması çoğu zaman klinik semptomlar ortaya çıkmadan yıllar önce meydana gelmektedir (Ross ve Poirier, 2004). Demansın en belirgin klinik belirtileri, bilişsel fonksiyonlarda kronik ve ilerleyici bir kötüleşmenin ortaya çıkmasıdır. Hafıza oluşumu ve hatırlamadaki erken ve hafif bozulmalardan sonra semptomlar giderek kötüleşir ve davranış, uyum ve dil gibi diğer kognitif fonksiyonlarla birlikte planlama, yargılama ve problem çözme gibi becerileri de etkilemeye başlar (Prince ve ark., 2013).

2018 yılı verilerine göre yaklaşık 50 milyon insan demanstan muzdariptir ve her yıl 10 milyon yeni vaka eklenmektedir. Demanstaki bu dramatik artışın temel sebebi, dünyadaki özellikle de düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşayan yaşlı birey sayısının artmasıdır (Cassani ve ark., 2018). Dünya genelinde demansın maliyeti heterojen bir şekilde dağılmıştır ve en çok düşük ve orta gelirli ülkeleri etkilemektedir. Sonuç olarak, demansın eşit olmayan yükü büyük ölçüde hastalık hakkında daha az farkındalığa sahip olan ve bununla başa çıkma kapasitesi bulunmayan ülkeleri etkilemektedir. Tüm bu durumlar göz önüne alındığında, günümüzde demansın ciddi bir halk sağlığı problemi olduğu kaçınılmaz bir gerçektir. Dolayısıyla böyle bir sorunla başa çıkmak için dünya genelinde AH hakkında farkındalığı artırmak ve hastalıkla ilişkili çalışmaları teşvik ederek klinik semptomlar ortaya çıkmadan hastalığın erken teşhisi için gerekli biyobelirteçlerin tespit edilmesi son derecede önem arz etmektedir.

2.2. Alzheimer Hastalığı Klinik Özellikleri

AH'nin gelişim süreci genellikle klinik olarak üç evrede incelenmektedir ve bunlar klinik öncesi, hafif bilişsel bozukluk (Mild Cognitive Impairment, MCI) ve demans aşamalarıdır. Klinik olarak teşhis edilemese de bilişsel gerileme ya da hafıza kaybı yaşayan insanlar, öznel bilişsel bozukluk (Subjective Cognitive Impairment, SCI)

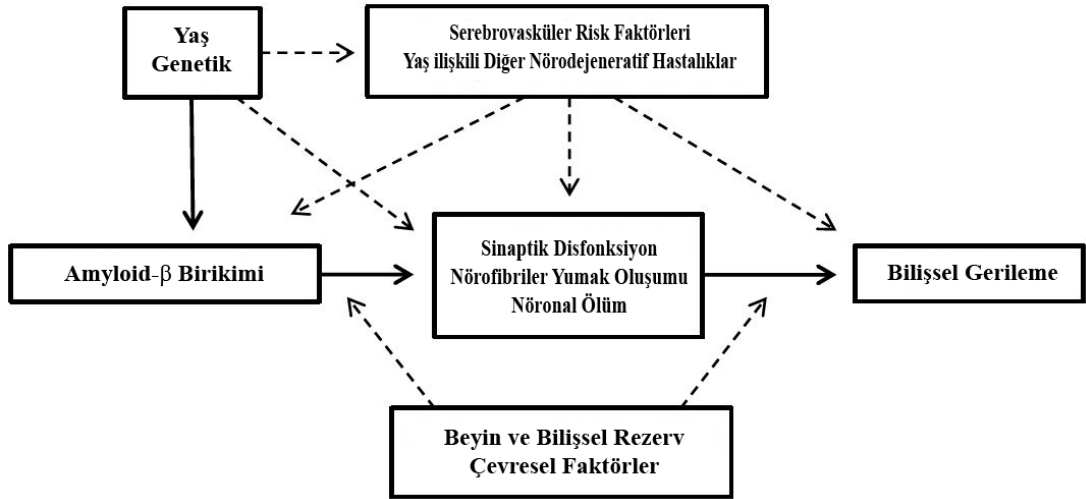
sınıfında yer alırlar. Demans ile normal yaşlanma arasındaki bilişsel durum MCI olarak adlandırılmıştır, ancak tüm MCI hastaları demans geliştirmemektedir. Bu nedenle MCI hastaları günlük yaşamlarında çalışmaya devam edebilirler ve genellikle yardım veya bakıma ihtiyaç duymazlar (Knopman ve Petersen, 2014). Öte yandan, hastalığın progresif doğası nedeniyle evreler ilerledikçe, ciddi bilişsel ve davranışsal problemlerin yaşandığı demans dönemleri (erken, orta ve geç demans) başlamaktadır. Bu ileri evrelerde hastaların bellek kayıpları artmakta, sosyal işlevleri azalmakta ve motor becerileri önemli ölçüde zayıflamaktadır. Geç demans dönemlerinde ise hastalar günlük aktivitelerini ve fizyolojik ihtiyaçlarını karşılayamamakta ve bakıma ihtiyaç duyar hale gelmektedirler (Friedlander ve ark., 2006).

2.3. Alzheimer Hastalığı Gelişiminde Etkili Risk Faktörleri

Son yıllarda yapılan önemli araştırmalara rağmen AH'nin patogenezi halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Literatürdeki araştırmaların sonuçları, AH gelişiminde önemli bir gen-çevre etkileşimi ve çok faktörlü bir nedenselliğin var olduğunu işaret etmektedir. Dünya genelinde gözlenen AH vakalarının çoğu geç başlangıçlı olup, genellikle 65-70 yaşından sonra başlamaktadır. Bununla birlikte vakaların küçük bir kısmı (yaklaşık olarak %5) genetik olarak otozomal dominant geçiş paterni sergiler ve erken başlangıçlı veya ailesel AH olarak adlandırılır. Nöropatolojik olarak her iki AH türü de birbirine oldukça benzerdir ve beyinde toksik protein kümelenmelerinin neden olduğu amiloid plaklar ve nörofibriler yumaklar ile karakterize edilirler. Dolayısıyla, AH patogenezi ve gözlenen bilişsel gerileme hem genetik hem de çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkmaktadır (Sperling ve ark., 2011) (Şekil 2.1).

2.3.1. Genetik Risk Faktörleri

Amiloid prekürsör protein (APP), presenilin-1 (PSEN1) ve presenilin-2 (PSEN2) genlerinde gözlenen mutasyonların, tipik olarak (65 yaş altı) klinik semptomlarla karakterize erken başlangıçlı AH'ye neden olduğu bilinmektedir (Chartier-Harlin ve ark., 1991; Goate ve ark., 1991; Sherrington ve ark., 1995). Bu genler, APP proteininin enzimatik prosesyonu sonucunda oluşacak ürünlerin çeşitliliğinden sorumludur. Dolayısıyla, bu genlerde meydana gelen AH ilişkili mutasyonlar, A β peptidinin yoğun bir şekilde kümelenmesine ve hastalığın çok erken safhalarda başlamasına neden olmaktadır (Bagyinszky ve ark., 2014).



Şekil 2. 1. AH ilişkili bilişsel fonksiyonlarda gözlenen bozulmaların gelişimini etkileyebilecek patofizyolojik faktörler arasındaki etkileşim. Düz çizgiler, AH'nin gelişiminde etkili olan birincil yolları, noktalı çizgiler ise bu yolları etkileyebilecek diğer faktörleri göstermektedir. Şekil (Sperling ve ark., 2011) referanstan düzenlenmiştir.

Öte yandan, kolesterol metabolizmasıyla ilişkili olan apolipoprotein E (ApoE) geni, geç başlangıçlı AH için en güçlü risk faktörüdür (Masters ve ark., 2015). Bu gen bağlanma özellikleri, stabilitesi, üretim hızı ve klirensi birbirinden farklı olan bir veya iki aminoasit rezidüsüne göre farklılık gösteren üç yaygın izoformu ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$) kodlar (Saunders ve ark., 1993). Yapılan çalışmalar sonucunda AH patogeneğinde en etkili izoformun $\epsilon 4$ olduğu ve homozigot ApoE- $\epsilon 4$ aleline sahip bireylerde AH gelişim riskinin 12 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Farrer ve ark., 1997; Khachaturian ve ark., 2004). Ayrıca farklı popülasyonlarda gerçekleştirilen geniş kapsamlı genetik incelemelerde, ApoE- $\epsilon 4$ izoformunun geç başlangıçlı AH vakalarının yaklaşık olarak %50'sinden sorumlu olduğu ve yaşam süresini de önemli derecede azalttığı rapor edilmektedir (Bertram ve ark., 2010).

2.3.2. Diğer Risk Faktörleri

AH gelişiminde yaşlanmanın önemli bir epidemiyolojik risk faktörü olduğu ve 65 yaşından sonra hastalığın görülme sıklığının her beş yılda bir iki katına çıktığı rapor edilmiştir (Ashford, 2004). Öte yandan AH'nin kadınlarda görülme sıklığı daha fazla olduğundan cinsiyetin de önemli bir risk faktörü olduğu, ancak bu durumun kadınların daha uzun yaşam süresine sahip olabileceklerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Literatürdeki çalışmaların bulgularına göre sinir sisteminin gelişimi ve maturasyonu açısından hayati öneme sahip olan intrauterin çevre ve prenatal ve

erken postnatal dönemdeki besin alımı da AH gelişimi için önemli bir risk faktörü oluşturmaktadır (Borenstein ve ark., 2006).

AH gelişiminde bir diğer önemli etken ise kardiyovasküler rahatsızlıklardır. Yüksek tansiyon (Power ve ark., 2011), diyabet (Gudala ve ark., 2013), obezite (Gustafson ve ark., 2009; Luchsinger ve ark., 2012), yüksek kolesterol (Anstey ve ark., 2008) ve sigara içmek (Beydoun ve ark., 2014) gibi çeşitli kardiyovasküler risk faktörleri ile atrial fibrilasyon, koroner kalp hastalıkları ve kalp krizi (de Bruijn ve Ikram, 2014) gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklar AH gelişimini önemli derecede artırmaktadır.

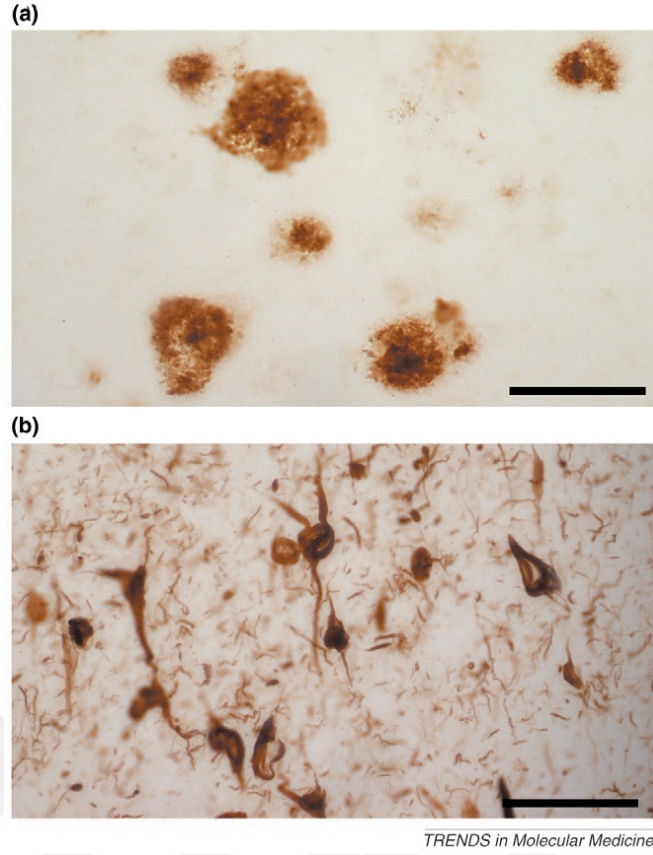
Eğitim düzeyi ile AH gelişimi arasında önemli bir ilişkinin olabileceği literatürdeki çalışmalarda bildirilmektedir (Caamano-Isorna ve ark., 2006; Chen ve ark., 2011). Bu çalışmaların bulgularına göre düşük eğitim seviyesinin AH gelişimi için tutarlı bir risk faktörü olduğu tespit edilmiştir. Yüksek eğitim seviyesinin muhtemelen diğer AH ilişkili risk faktörlerini baskılayarak AH gelişme riski olan hastalarda klinik semptomların başlangıcını geciktirdiği düşünülmektedir. Daha önceki çalışmalarda bilişsel rezervleri güçlendirecek yüksek eğitim düzeylerinin ve yüksek mesleki kazanımın AH gelişimi riskine karşı koruyucu faktörler olduğuna dair güçlü kanıtlar ortaya koyulmuştur (Prince ve ark., 2012; Valenzuela ve Sachdev, 2006).

Öte yandan, depresyon da AH gelişimi için olası bir risk faktörü olarak göz önünde bulundurulmuş ve bu konu hakkında çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Özellikle geç yaşam depresyonunun artmış demans riski ile ilişkili olduğuna dair önemli kanıtlar bulunmaktadır (Diniz ve ark., 2013). Bununla birlikte, geç yaşam depresyonu olarak gözlenen değişimlerin hastalığa yol açan bir neden mi yoksa gelişen patolojik süreçlerin bir sonucu mu olduğu kesinlik kazanmamıştır. Literatürdeki bulgular geç yaşam depresyonunun demansın altında yatan nörodejeneratif süreçler veya klinik öncesi bilişsel bozukluk semptomlarının bir sonucu olarak ortaya çıkan patolojik olaylar dizisinin bir parçası olabileceğini işaret etmektedir. Ancak literatürdeki çalışmalar incelendiğinde bu bulgular ile çelişen farklı sonuçların da olduğu görülmektedir (Daviglus ve ark., 2010). Bu çelişkileri aydınlatmak ve AH etiyolojisinin tam olarak anlaşılmasını sağlamak için çok yönlü tasarlanmış kontrollü deney gruplarını içeren ve her bir değişkenin olası etkilerini araştırmayı hedefleyen orijinal çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.4. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi

AH hafıza kaybını takiben ilerleyen bilişsel bozukluğa paralel olarak davranışlarda ve yaşamsal fonksiyonlarda çok yönlü problemlere yol açan ve ölümle sonuçlanan nörodejeneratif bir hastalıktır. Morfolojik değişimler incelendiğinde girusların daraldığı sulkusların genişlediği kortikal atrofinin ve hidrosefalinin geliştiği görülmektedir. AH, beyin ağırlığında ve hacminde ciddi kayba neden olmakla birlikte belirli beyin bölgelerini diğerlerine oranla daha fazla etkilemektedir. Çoğunlukla etkilenen bölge temporal lob (hipokampus, parahipokampus ve amigdala) olup takiben frontal ve parietal lob gelmektedir. Oksipital lob ve motor korteks genellikle bu hastalıktan çok fazla etkilenmez (Dubravka ve ark., 2001).

AH'nin major histopatolojik bulgularını Şekil 2.2'de görüldüğü gibi ana bileşeni A β peptidi olan ekstraselüler yerleşimli amiloid plaklar ve intraselüler yerleşimli hiperfosforile tau protein kümelerinden oluşan nörofibriler yapılar oluşturmaktadır (Selkoe, 2011). Ancak bu histopatolojik değişimler AH patolojisindeki en erken olaylardan olan sinaptik disfonksiyon ve dejenerasyondan yıllar önce meydana gelmektedir (Knobloch ve Mansuy, 2008). Yapılan görüntüleme çalışmaları sonucunda, nöritik dejenerasyon ve nihayetinde nöronal ölümün gerçekleşmesinin, sıklıkla hastalığın ilerleyen aşamalarında daha belirgin olan beyin atrofisine neden olduğu tespit edilmiştir (Knobloch ve Mansuy, 2008). Amiloid plak yoğunluğu ile bilişsel bozukluk arasında zayıf bir ilişkinin gözlenmesi, diğer patolojik özelliklerin de göz önünde bulundurulması gerekliliğini ortaya koymaktadır (Soldano ve Hassan, 2014). Sinaps sayısındaki azalma AH'de gözlenen bilişsel gerileme ile yüksek derecede korelasyona sahiptir (Terry ve ark., 1991), ancak günümüzde hala AH'de gözlenen sinaptik dejenerasyonun altında yatan nedenler tam olarak aydınlatılamamıştır.



Şekil 2. 2. AH bireylerin beyinlerinde gözlenen amiloid plaklar ve nörofibriler yumaklar. (a) AH beyinlerinde birikmiş olan amiloid plakların temsili bir mikrofotoğrafi. Amiloid plaklar, anti-A β 42 spesifik antikor kullanılarak immün boyama yöntemi ile görselleştirilmiştir. Ölçek çubuğu 125 μ m. (b) Nörofibriler yumakların temsili bir mikrofotoğrafi. Nörofibriler yumaklar anti-PHF1 spesifik antikor kullanılarak immün boyama yöntemi ile görselleştirilmiştir. Ölçek çubuğu 62.5 μ m. (LaFerla ve Oddo, 2005).

2.4.1. Amiloid Kaskad Hipotezi ve Amiloid Beta Peptidinin Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisindeki Rolü

Mevcut biyokimyasal ve nöropatolojik çalışmaların bulguları ve risk faktörleri göz önünde bulundurularak, AH patogenezi açıklamak için çeşitli hipotezler ortaya atılmıştır. İlk olarak 1991 yılında Hardy ve Allsop, amiloid kaskad hipotezinde AH'nın temel nöropatolojik mekanizmasının amiloid plakların temel bileşeni olan A β peptidinin birikimi olduğu ve nörofibriler yumaklar, nöron ölümü ve vasküler hasar gibi patolojik değişimlerin amiloid birikimine ikincil olarak geliştiğini öne sürmüşlerdir (Hardy ve Allsop, 1991).

Amiloid prekürsör protein, amiloid kaskad hipotezinin merkezinde yer alan ve AH bireylerin beyinlerinde bulunan amiloid plakların birincil bileşeni olan 37-49 aminoasit rezidüsüne sahip A β peptidinin temel kaynağıdır (Nunan ve Small, 2000). APP, özellikle AH patolojisinde birincil derecede etkilenen bölgelerdeki nöronlar

olmak üzere birçok dokuda eksprese edilen integral membran proteinidir. Bu protein membranı boylu boyuna geçen büyük bir alan, ekstraselüler kısımda bulunan glikozile amino terminal (N-terminal) uç ve daha küçük bir sitoplazmik karboksi terminal (C-terminal) olmak üzere üç bölgeden oluşur. APP'nin fizyolojik önemi ve fonksiyonu henüz tam olarak bilinmese de yapılan çalışmalarda sinaptik oluşum ve onarım (Priller ve ark., 2006), anterograd nöronal taşıma (Turner ve ark., 2003) ve demir atılımı (Duce ve ark., 2010) gibi birçok önemli fizyolojik süreçte regülatör protein olarak görev aldığı gösterilmiştir. APP amiloidojenik ve nonamiloidojenik olmak üzere iki alternatif yolla proteolitik yıkıma uğrayabilir. İlk olarak alfa-sekretaz (nonamiloidojenik yolak) veya beta-sekretaz (amiloidojenik yolak) ile parçalanır ve bu işlem sonucunda membrana bağlı alfa- veya beta-C terminal fragmanları (CTF) üretilir. Alfa-sekretaz APP'nin A β bölgesini etkileyerek 83 aminoasit diziliimli C83 ile alfa sekretuar APP (s-APP α)'yi oluşturur. Sağlıklı bir kişide beyinde α -sekretaz aktivitesi baskın olup s-APP α salınımı daha fazladır. Muskarinik asetilkolin reseptörlerinin aktivasyonuna yanıt olarak s-APP α 'nın üretimi artmakta, bu da nöronal aktivitenin alfa-sekretaz enzim aktivitesini ve baskınlığını artırdığını göstermektedir (Haass ve ark., 1995). Beta-sekretaz enzimi ise APP'nin amino terminalini etkileyerek 99 aminoasit diziliimli C99 fragmanı ile beta APP (s-APP β)'yi oluşturur. Daha sonraki süreçte ise alfa- ve beta-CTF'ler kompleks bir yapıya sahip olan ve PSEN1, PSEN2, nikastrin ve APH-1 olmak üzere önemli dört proteinden oluşan gama-sekretaz enzimi ile sırasıyla P3 (3 kDa) ve A β (~4 kDa) peptitlerine yıkılır (Iwatsubo, 2004; Kahle ve De Strooper, 2003). Özellikle de, beta-sekretaz enziminin proteolitik aktivitesi sırasında oluşan C99 fragmanı gama-sekretaz enzimi ile birden fazla alandan yıkıma uğrayarak 43, 45, 46, 48, 49 ve 51 aminoasitlik fragmanlara dönüştürülür ve daha sonra endositik kompartımanlarda nihai ürün olan sırasıyla 38, 40 ve 42 aminoasit rezidüsüne sahip A β ₁₋₃₈, A β ₁₋₄₀ ve A β ₁₋₄₂ peptidleri oluşturulur (Olsson ve ark., 2014; Takami ve ark., 2009). Hastalığın etiyolojisinde önemli rol alan amiloid plaklar, A β peptid adı verilen yaklaşık olarak 4 kDa ağırlığındaki bu proteinlerden oluşan kompakt, küresel ekstraselüler çöktillerdir (Glennner ve Wong, 1984). Bu ekstraselüler oluşumlar genellikle hipokampus ve amigdala gibi limbik beyin bölgelerinde ve ayrıca hafıza ile ilişkili kortikal ve subkortikal bölgelerde bulunur ve bu bölgelerde patolojik süreçleri başlatır. Amiloid plak birikimleri " β sheet" yapısında olduğundan kolayca polimerize olarak hızla kümeler oluştururlar. Fibriler yapı ve plak oluşturma bakımından, formlar arasında da ciddi farklılıklar söz konusudur. Yüksek

hidrofobikliği nedeniyle A β ₁₋₄₂ peptidi, diğer formlara kıyasla kümelenerek birikme eğilimi en yüksek olan peptid türüdür (Jarrett ve ark., 1993). Bu birikimlerin çözülebilirlikleri oldukça az olup mikroskopla incelendiğinde filamentler şeklinde izlenirler ve proteoglikan ve apolipoproteinler gibi diğer proteinlerle birleşerek sitotoksik özellik gösterirler. Bunların yanı sıra, gama-sekretaz enzimin proteolitik aktivitesi ile C99'dan intraselüler domain APP (AICD) salınır ki, bu da nükleusa yerleşerek apoptotik genlerin indüksiyonu dahil birçok gen ekspresyonun düzenlenmesinde rol alır (Lu ve ark., 2000).

Literatürdeki çalışmalardan elde edilen bulgular APP ve A β peptidinin AH patolojisinde nedensel role sahip olduğu ve amiloid kaskad hipotezi için genetik dayanakların varlığı görüşünü desteklemektedir. APP'nin β -sekretaz parçalama bölgesine yakın A673T mutasyonu, A β üretiminde yaklaşık olarak %40'luk bir azalmaya neden olup ve AH'ye karşı koruyucu etki oluştururken (Jonsson ve ark., 2012), erken başlangıçlı AH'ye neden olduğu bilinen tüm genler APP veya prosesi ile ilişkili olmakta ve aşırı A β üretimine neden olmaktadır. Geç başlangıçlı AH'de ise A β 'nın birikmesi ve toplanması, beyinden A β 'nın etkili bir şekilde uzaklaştırılamaması veya bertaraf edilmemesinin bir sonucu olarak gelişmektedir (Selkoe, 2011; Selkoe ve Hardy, 2016). APP geni veya prosesinde rol oynayan sekretazlarda mutasyon oluşturulmuş transgenik hayvanlar, AH benzeri semptomların yanı sıra patolojik ayırt edici özelliklerin birçoğunu geliştirmekte ve özellikle de A β ₁₋₄₂ peptid seviyesinde önemli artışa neden olmaktadır ve dolayısıyla bu yöntemlerle oluşturulan modeller AH çalışmaları için son derece uygundur. A β peptidinin nöronal aktivitenin düzenlenmesinde rol aldığı ve toksik birikiminin nöronal aktivitede artışa neden olarak sinaptik depresyona yol açtığı düşünülmektedir. Bu aşırı nöronal aktivite devamında daha fazla A β peptid üretimine yol açarak nörodejeneratif bir döngüyü tetikleyebilmektedir. Ayrıca bu bulgular amiloid kaskad hipotezini daha da güçlendirmektedirler (Carrillo-Mora ve ark., 2014). Bununla birlikte, A β peptid birikimleri tüm AH bireylerin beyinlerinde gözlenmesine rağmen AH bireylere özgü bir belirteç değildir, diğer nörodejeneratif hastalıklara sahip kişilerde ve bilişsel olarak normal ve sağlıklı yaşlılarda bile ortaya çıkabilir. Bu durum amiloid kaskad hipotezini zayıflatan önemli bir husustur. Öte yandan, AH ilişkili amiloid plaklar lokal mikroglia ve astrositleri aktive etmekte ve bu hücrelerden salınan moleküller nöronlarda toksik etkiler yaratmaktadır. Ayrıca AH ile ilişkili olmayan amiloid plaklar da yaygındır ki,

bunlar inflamasyon ve glial aktivasyon gibi AH hastalarında gözlenen amiloid plakların sergilediği bazı özelliklerinden yoksundurlar (Hardy ve Selkoe, 2002; McLean ve ark., 1999; Naslund ve ark., 2000).

Mevcut bilgimiz doğrultusunda A β peptidlerinin hücre dışında ve hücre içinde birikmeye başladığını söylemek mümkündür. Nihayetinde amiloid plakların oluşmasını sağlayan aşırı A β peptid birikimi mikro çevredeki değişiklikler ile kolaylaştırılabilir (Karran ve ark., 2011; Li ve ark., 2012). İlk zamanlarda tüm bulgular nöronal hasarın ve buna eşlik eden bilişsel bozukluğun plaklardan kaynaklandığı fikrini desteklemekte idi, fakat daha önce de bahsedildiği gibi plak yükü ve bilişsel bozukluk arasındaki zayıf korelasyon araştırmacıları amiloid plak gelişiminin AH etiolojisindeki rolünü yeniden sorgulamaya itmiştir (Lesne ve ark., 2013). Son zamanlarda yapılan deneysel çalışmaların bulguları doğrultusunda AH'de gözlenen nöronal hasarın amiloid plak kaynaklı olmadığı, bunun yerine A β oligomerlerinin etkin bir rol aldığı yaygın olarak kabul edilmektedir (Gavello ve ark., 2018; Lesne ve ark., 2013). Halen bu konu tam olarak aydınlatılamasa da bazı araştırmacılar tarafından, A β peptidinin hücre içi birikiminin hastalığın erken evrelerinde rol aldığı, doğrudan nörotoksositeye neden olduğu ve AH patolojisini başlattığı bildirilmiştir (Gouras ve ark., 2010b; Hidisoglu ve ark., 2018; Naslund ve ark., 2000). Ayrıca AH transgenik farelerde yapılan bir çalışma sonucunda sinaps hasarı ve hafıza bozukluğunun hücre içi amiloid yükü ile yüksek derecede korelasyona sahip olduğu, ancak plak yükü ile ilişkili olmadığı da kanıtlanmıştır (Tampellini ve ark., 2010). Nitekim deneysel çalışmalar amiloid plakların nöronal ölüm sonrası hücre içinde birikmiş intranöronal A β 'nın hücre dışı ortama salınması sonucunda oluştuğunu göstermektedir (Gouras ve ark., 2000). Tüm bu durumlar göz önüne alındığında, amiloid kaskad hipotezi sadece hücre dışı plak oluşumunu dikkate alıp, bu durumun AH etiolojisinde önemli olduğunu vurguladığından dolayı yetersiz kalmaktadır ve yeni bulgular doğrultusunda güncellenmesi gerekmektedir.

2.4.2. Hiperfosforile Tau Proteinin Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisindeki Rolü

Amiloid kaskad hipotezi günümüzde hala mevcut hipotezler arasında en kabul görmüş ve patolojiyi açıklama açısından en etkili olanıdır. Buna rağmen, mevcut çalışmaların bulguları doğrultusunda bu hipotezin tek başına hastalığın kompleks patolojisini tam olarak açıklayamadığı giderek daha da fazla fark edilmektedir. Tau proteini aracılı

dejenerasyonun yanı sıra kolinerjik, inflamatuvar, enerji metabolizması değişiklik ve oksidan hasar ile ilişkili patolojiler olmak üzere diğer bazı yollardaki anormallikler de doğrudan veya dolaylı olarak A β yolağını etkileyerek, AH patolojisinde önemli rol almaktadırlar (Kanaan ve ark., 2011).

AH patolojisi detaylı incelendiğinde birçok proteinde morfolojik ve konformasyonel değişimlerin olduğu gözlenmektedir. Aşırı amiloid plak oluşumlarının yanı sıra intraselüler ortamda tau proteininin hiperfosforile olması sonucunda biriken ve hastalığın en önemli histopatolojik belirteçlerinden bir diğeri olan nörofibriler yapıda yumaklar (NFT) oluşmaktadır (Nisbet ve ark., 2015). Hastalıkla ilişkili nöronal sitoskelet hipotezinde tau proteininde gözlenen anormal posttranslasyonel değişikliklerin ve devamında oluşan NFT'lerin AH patolojisinin indüklenmesinde nedensel role sahip olduğu öne sürülmektedir. Normal fizyolojik koşullar altında, tau proteini nöronlarda daha çok mikrotübüllerde bulunur ve stabilizasyonunda rol alır, aksonal transportu düzenler ve çeşitli proteinlerle etkileşerek bir sitoskelet proteini olarak görev yapar. Ancak, AH patolojisi sırasında tau proteininin hiperfosforile olması fizyolojik fonksiyonunu kaybetmesine ve kümelenmesine neden olur (Brandt ve Leschik, 2004). Yanlış katlanmış, aşırı kümelenme göstermiş hiperfosforile tau proteini, bir sitoskelet proteini olarak rolünü yerine getiremez ve hatta genel aksonal transportu bozabilir. Bu durum sinapslara enerji ihtiyacını karşılayacak olan mitokondri ve temel gerekli reseptörlerin taşınmasını olumsuz yönde etkileyerek sinaptik fonksiyonların bozulmasına neden olur (Ebner ve ark., 1998; Kanaan ve ark., 2011).

A β peptidinin bazı toksik etkilerini tau aracılığı ile gerçekleştirdiğine inanılmaktadır ve bu iki proteinin toksik formları arasında ciddi bir etkileşim bulunmaktadır. A β ve hiperfosforile tau proteini, AH gelişiminde hem ayrı hem de ortak sinerjik patolojik fonksiyonlara sahiptir (Nisbet ve ark., 2015). Yapılan bir çalışmada, insan amiloid plaklarından elde edilen A β peptidlerinin, sıçan beynine enjeksiyonunun AH benzeri tau patolojisine ve nöronal kayba neden olduğu gösterilmiştir (Frautschi ve ark., 1991). Ayrıca, AH transgenik farelerde, hiperfosforile tau seviyelerini düşürmeye yönelik yapılan bir çalışmada, A β seviyelerinde anlamlı bir değişiklik olmaksızın, endojen tau seviyesindeki azalma sonucunda bilişsel fonksiyonlarda önemli derecede iyileşme gözlemlendiği, erken mortalitede azalma ve eksitotoksiteye karşı koruma

sağlandığı tespit edilmiştir (Roberson ve ark., 2007). Dahası, yapılan bir çalışmada hem APP hem de tau mutasyonu oluşturulmuş çift transgenik farelerin, tek transgenik farelere göre daha fazla tau patolojisi sergiledikleri gösterilmiştir (Lewis ve ark., 2001). Aynı şey, APP, presenilin ve tauda mutasyon oluşturulması ile hipokampus bölgesinde artmış nöronal kayıp gösteren transgenik fareler için de geçerlidir (Heraud ve ark., 2014; Liu ve ark., 2018). Sonuç olarak, A β toksisitesi tau aracılı ortaya çıkıyormuş gibi gözlenmektedir. Ancak, tau patolojisi var olan A β toksisitesinin etkisini artırarak, sinapsları A β toksisitesine karşı daha duyarlı hale getirebilir ki, bu durumda kısır bir döngüye neden olabilir (Ittner ve Gotz, 2011). Tüm bu çalışmalar, AH patolojisinde A β peptidlerinin toksik birikiminin kilit rol oynadığına işaret ederken, hem sinaptik fonksiyonlar ve nöronal etkileşim gibi mekanizmalarda hem de gözlenen patolojinin etkinliğinin artırılmasında tau proteinin de önemli rol aldığını ortaya koymaktadır.

2.5. Alzheimer Patolojisinde Sinapslar

Sinaps terimi, ilk olarak Charles Sherrington tarafından bir nöronun başka bir nöronla iletişim kurduğu özel temas alanını tarif etmek üzere kullanılmıştır. Daha sonra bu alan Ramon y Cajal tarafından ışık mikroskobu düzeyinde histolojik olarak başarılı bir şekilde tanımlanmıştır (Kandel ve ark., 2000). Başlangıçta tüm sinapsların fonksiyonlarını elektrik iletimi ile yerine getirdiği düşünülüyordu. Ancak, 1920’lerde Otto Loewi, kimyasal bir bileşik olan asetilkolinin (ACh) vagus siniri aracılığı ile kalbe giden sinyalleri ilettiğini gözlemledi. Loewi’nin kalpteki bu keşfi 1930’larda kimyasal sinyallerin, sinir-kas sinapsları dahil olmak üzere diğer tüm sinapslarda elektriksel faaliyetler üretebileceği konusunda önemli tartışmalara neden olmuştur. 1950 ve 1960’lı yıllarda deneysel metodolojilerdeki gelişmeler sayesinde bu tartışmaya bir son verilmiş ve elektriksel ve kimyasal olmak üzere iki tür sinaps olduğu sonucuna varılmıştır (Kandel ve ark., 2000). Elektriksel sinapslarda “gap junctionlar” olarak bilinen geçiş yolları komşu nöronların sitoplazmalarını bağlar ve iyonların bir hücreden diğerine çift yönlü geçişine izin verirler. Elektriksel sinapslar erişkin memeli sinir sisteminde yaygın değildir. Tipik olarak dendrodentritik temas bölgelerinde bulunmaktadır ve nöronal popülasyonun aktivasyonunu senkronize ettikleri düşünülmektedir. Elektriksel sinapslardan ziyade sinaptik ileti nörotransmitterlerin salınımı ile gerçekleşen kimyasal sinapslar aracılığı ile sağlanır. Bir kimyasal sinaps akson terminali olarak adlandırılan aksonun son bölgesini, yaklaşık 50 nm

genişliğindeki sinaptik aralığı ve postsinaptik hücre grubundaki reseptör grubunu içermektedir. Akson terminali kimyasal nörotransmitter molekülleri ile dolu vezikülleri içermektedir. Akson terminaline bir aksiyon potansiyeli ulaştığında meydana gelen elektriksel potansiyel değişiminden dolayı bu veziküllerin salınımı için uygun şartlar sağlanır ve veziküller içeriğini sinaptik aralığa bırakır. Kimyasal haberciler de denilen nörotransmitter moleküller postsinaptik bölgedeki reseptörlerle etkileşime girerek sinyalin bir sonraki nörona aktarılmasını sağlarlar. Dolayısıyla, sinyal iletiminde son derece etkili rol alan kimyasal sinapslarda gözlenen kayıplar veya yapısal ve fonksiyonel bozukluklar beynin nöronal ağ aktivitesinde bozukluklara neden olarak AH gibi birçok nörodejeneratif hastalığın temelini oluşturmaktadırlar.

2.5.1. Hipokampus, Sinaptik Plastisite ve Glutamaterjik Sistem

Hipokampus, serebral hemisferlerin her birinde bulunan, medial temporal lobda yerleşik ön beynin bir parçasıdır. Aynı zamanda limbik sistemin bir parçası olan hipokampus, deneyime dayalı öğrenme, hafızanın kodlanması ve konsolidasyonun oluşmasından sorumlu CA1, CA2 ve CA3 olmak üzere farklı nöronal hücre tabakalaşmasından meydana gelen üç ana alt alandan oluşmaktadır. Hipokampüste major eksitator nörotransmisyon glutamat reseptörleri aracılığı ile gerçekleştirilir. Hipokampus bölgesindeki glutamaterjik nörotransmisyonda meydana gelen değişiklikler genellikle demans gelişimine neden olarak çeşitli nörolojik hastalıklarla sonuçlanmaktadır. Ayrıca, hipokampus hasarı sonucunda uzaysal hafızanın bozulduğu da Morris ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (Morris, 1982). Dolayısıyla, glutamaterjik nörotransmisyon nihayetinde demans gelişiminin gözlemlendiği AH progresyonunda da son derece önemlidir. Hem uzaysal hem de bağlamsal bellek oluşumunda yer alan önemli bir beyin bölgesi olan hipokampus aynı zamanda zengin bir çeşitlilik gösteren inhibitör nöronlara da ev sahipliği yapar. Bilgi depolama bağlamında geliştirilen sinaptik plastisite kavramı için hipokampus temel oluşturmaktadır ve ilk olarak burada tanımlanarak önemli ölçüde karakterize edilmiştir (Bliss ve Gardner-Medwin, 1973).

Sinaptik plastisite ve bellek arasındaki olası nedensel bağ, Morris ve arkadaşları tarafından sinaptik plastisite ve bellek hipotezi olarak ortaya atılmıştır. Aktivite bağımlı sinaptik plastisite, bellek oluşumu sırasında uygun sinapslarda indüklenir ve bu durum sinaptik plastisitenin gözlemlendiği beyin bölgesinin aracılık ettiği bellek tipinin

oluşması için gerekli ve yeterlidir (Martin ve ark., 2000). Aktivite bağımlı sinaptik plastisite türü olan uzun süreli güçlenme (LTP), hipokampus aracılı çeşitli bellek formlarında önemli bir rol oynamaktadır. LTP, bir saatten fazla süren tetanik uyarımdan sonra bir sinapsın kimyasal kuvvetindeki artış olarak tanımlanmaktadır. Deneysel olarak, nöronun bir dizi kısa süreli ve yüksek frekanslı elektriksel uyarımı sinapsın etkinliğinde dakikalardan saatlere kadar sürebilen güçlenme meydana getirebilir. LTP'nin altında yatan moleküler mekanizmaları ortaya çıkarmak amacıyla yapılan çalışmalar, belleği geliştirmek için çeşitli moleküler araçların geliştirilmesine imkan sağlamıştır. Bu çalışmalar neticesinde, hipokampüste gözlenen LTP'nin belleğin nörofizyolojik bir karşılığı olduğu öne sürülmektedir (Bliss ve Richter-Levin, 1993). Tetanik kısa süreli, yüksek frekanslı elektriksel uyarım paterni, uyarımın verildiği yolda saatlerce süren LTP'yi indüklemek için kullanılırken, sadece test uyarımı verilen kontrol bölgesinde LTP indüklenen bölgedeki kadar bir güçlenme meydana gelmez. Bu durum öğrenme ve hafıza oluşumunda gerekli olan LTP'nin önemli bir özelliğini ortaya koymaktadır. LTP kısa süreli erken evre ve uzun süreli, gen transkripsiyonu ve protein sentezi gerektiren geç evre olmak üzere iki fazdan oluşmaktadır (Pang ve Lu, 2004; Voronin ve ark., 1995). LTP'nin indüksiyonu glutamat reseptörlerinin bir alt sınıfı olan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin aktivasyonunu gerektirir. Kısa tetanik uyarımı takiben oluşan postsinaptik depolarizasyon NMDA reseptörlerinin voltaj bağımlı magnezyum (Mg^{+2}) bloğunu uzaklaştırır ve bu durum post-sinaptik nöronda NMDA reseptörü aracılı Ca^{2+} akışıyla sonuçlanır (Pang ve Lu, 2004). Post-sinaptik mekanizmalar LTP indüksiyonu için ayrıca kalsiyum/kalmodulin kinaz II (Ca^{+2} /kalmodulin bağımlı protein kinaz, CAMKII) aktivasyonu ile gerçekleşen postsinaptik α -amino-3-hidroksi-5-metil-isoksazol-4-propionik asit (AMPA) reseptörlerinin membrana lokalizasyonunun gerekliliğini ortaya koymaktadır. LTP'nin indüksiyonundan sonra saatlerce varlığını koruyabilmesi siklik adenosin monofosfat (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) bağımlı protein kinazların aktivasyonu ile sağlanmaktadır ki bu durumda ribonükleik asit (RNA) ve proteinlerin sentezi ile sonuçlanır (Lu ve Hawkins, 2002). LTP'nin saatlerce ortamda var olmasını sağlayan çeşitli yollar mevcut olabilir ancak sinaptik seviyede kalıcı yapısal değişikliğin oluşumunu sağlayan gen ekspresyonu kaskatında birincil transkripsiyon faktörünün cAMP-duyarlı eleman bağlama proteininin (cAMP-responsive element binding protein, CREB) olduğu düşünülmektedir (Impey ve ark., 1996). Öte yandan postsinaptik yoğunluk-95 (PS95) proteininin de nöronal gelişim

sırasında NMDA ve AMPA reseptörleri ile etkileşimi ve fonksiyonel etkileri nedeni ile glutamaterjik sinapslarda meydana gelen sinaptik plastisitede önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Sinaptik plastisitenin moleküler mekanizmaları için verilen tüm bu bilgiler göz önüne alındığında hem LTP'nin oluşumu hem de varlığını sürdürmesi sırasında gerekli olan CAMKII, CREB ve PSD-95 proteinlerinin ekspresyonlarının AH patolojisinde önemli bir role sahip olan A β peptid birikiminden nasıl etkilendiğini ortaya koymak A β peptidinin hipokampal nöronlar üzerindeki toksisitesinin anlaşılmasında literatüre önemli bilgiler sunacaktır.

2.5.2. Glutamat Reseptörleri

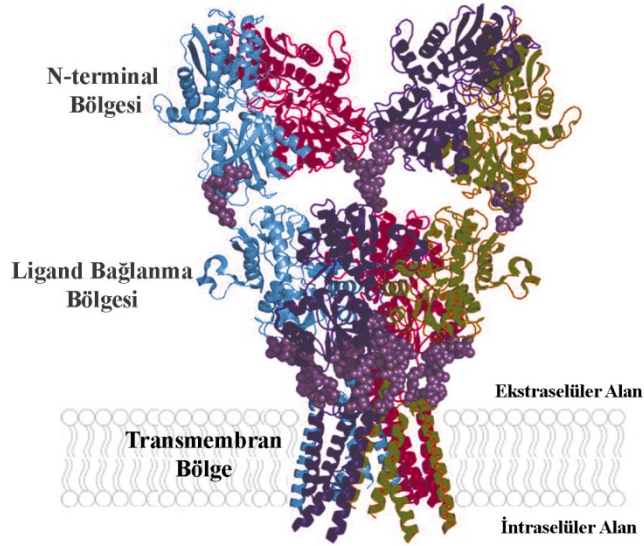
Glutamat reseptörleri, merkezi sinir sisteminde nöronlarda ve astrosit membranlarında lokalizasyon gösteren ve uyarıcı nörotransmisyonunda önemli rol alan reseptör türleridir. Bu reseptörler etkilerini ligand kapılı iyon kanalları ve G-protein bağlı reseptörler aracılığıyla gösterirler. Doğrudan iyon kanal formasyonu bulunan ve aktivitesini iyon geçişi ile gösteren glutamat reseptörleri iyonotropik glutamat reseptörleridir ve metabotropik reseptörlere göre daha hızlıdır. Aktivitesini G-proteinleri üzerinden yani dolaylı olarak iyon kanalları üzerinden gerçekleştirenler ise metabotropik glutamat reseptörleri olarak adlandırılırlar. Bu reseptörlerin aktivasyonu bazal uyarıcı sinaptik iletim, sinaptik plastisite ve öğrenmenin altında yatan mekanizmalardan sorumludur. Tüm bu özellikler göz önüne alındığında bu reseptörler epilepsi, AH ve psikiyatrik hastalıklar gibi merkezi sinir sistemi rahatsızlıklarına yönelik tedavi yaklaşımları için de potansiyel hedef oluşturmaktadırlar.

İyonotropik glutamat reseptörleri dörtlü multimerik yapıdadırlar ve farmakolojik yapısal benzerliklerine ve ligand tercihlerine göre üç grup (AMPA, NMDA ve KA reseptörleri) içinde incelenirler. Tüm iyonotropik glutamat reseptör alt birimleri ortak bir temel yapıya sahiptirler. Gama amino bütirik asit (GABA) reseptörü gibi diğer ligand kapılı iyon kanallarındakine benzer şekilde iyonotropik glutamat reseptör alt birimleri dizilimin merkezi kısmında dört adet hidrofobik bölge (TMI-IV) içerirler. Bununla birlikte, diğer reseptör alt birimlerine zıt olarak TMII domeini bu reseptör alt birimlerinde ekstraselüler N-terminal ve intraselüler C-terminal bölgelerini içeren yeniden giriş halkası oluşturur. Ek olarak diğer ligand kapılı iyon kanalları alt birimlerinde hücre içinde bulunduran TMIII ve TMIV arasındaki uzun döngü bu reseptör ailesinde hücre yüzeyi ile etkileşir ve N-terminalinin yarısı ve C-terminalinin tamamı

ile bağlanma bölgesi oluşturlar. Farklı tiplerde iyonotropik glutamat reseptörleri arasında AMPA tipi ve kainat (KA) tipi reseptörleri memeli merkezi sinir sistemindeki hızlı sinaptik iletimin çoğunluğuna aracılık eden reseptör türleri arasında yer alırken, NMDA tipi reseptörler sinaptik fonksiyonların modülasyonunda önemli olan yavaş sinaptik bileşenlerden sorumludurlar. KA reseptörleri NMDA tipi olmayan diğer iyonotropik glutamat reseptörleridir (Monaghan ve ark., 1989). Bu reseptörlerin iyon geçişine izin veren açıklıkları AMPA reseptörlerinin açıklıklarına kıyasla çok daha kısadır. Ca^{+2} 'ye geçirgenlikleri genellikle çok azdır ancak alt birimler ve RNA düzenlemeleri ile bu geçirgenlik özellikleri farklılık gösterebilir. KA reseptörleri hem pre- hem de post-sinaptik nörotransmisyonunda rol oynarlar fakat AMPA reseptörleri ile karşılaştırıldığında sinaptik fonksiyonlar açısından öneminin daha az olduğunu söylemek mümkündür. Öte yandan, KA reseptörlerinin diğer iyonotropik glutamat reseptör türlerine göre beyindeki dağılımının daha sınırlı olduğu ve işlevinin iyi tanımlanmadığı gözlenmektedir.

AMPA Reseptörleri

Bazal sinaptik iletim, sinaps stabilizasyonu ve sinaptik plastisiteye aracılık eden AMPA tipi glutamat reseptörü, dört alt birimden oluşan (GluR1-4) heterotetramerik yapıya sahip NMDA tipi olmayan iyonotropik glutamat reseptörüdür ve işlevlerinin büyük bir çoğunluğu belirlenmiştir (Şekil 2.3) (Keinanen ve ark., 1990). Postsinaptik membranın dinamik bir bileşeni olarak AMPA reseptörleri, sinaptik aktivitedeki değişikliklere yanıt olarak hızlı translokasyon gerçekleştirebilir. Bireysel AMPA reseptörlerinin translokasyonunun gerçekleşeceği bölgeleri kontrol eden moleküler ve hücrel mekanizmalar açığa çıkarılmaya başlanmıştır. Çoğu proteinde olduğu gibi, AMPA reseptörleri de endoplazmik retikulumda (ER) sentezlenir ve golgi aygıtına taşınır. Nöronlar proteinlerin golgiden çıktıktan sonra hedef bölgelerinde dizildiği ve nakledildiği oldukça polarize hücrelerdir. AMPA reseptörlerinin membran hedeflemesinde veya membranın hangi bölgesine lokalize olacağı birçok yolk ve karmaşık mekanizmalar tarafından belirlenmektedir.



Şekil 2. 3. Tetramerik GluR2 AMPA reseptörünün yapısı. N-terminal bölgesi hücre dışı alanda, C-terminal bölgesi ise hücre içi alanda bulunmaktadır. Şekil (Hansen ve ark., 2010) referanstan revize edilmiştir.

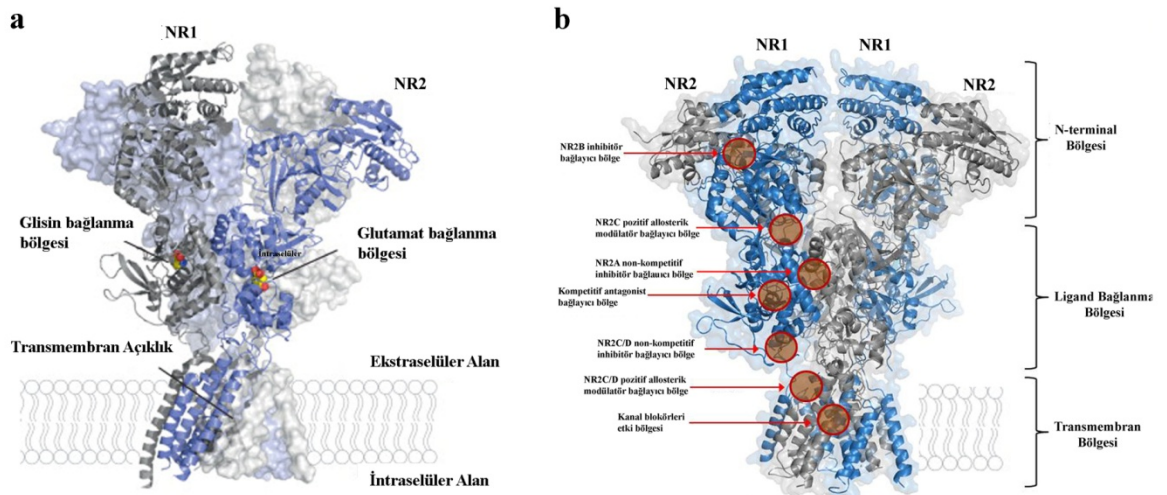
AMPA reseptör alt birimlerinin C-terminali üzerinde protein kinaz A (PKA), protein kinaz C (PKC) ve CaMKII için çeşitli fosforilasyon alanları tanımlanmıştır (Greengard ve ark., 1991). AMPA reseptör alt birimlerinin özellikle de GluR1'in fosforilasyonu kanal aktivasyonunu güçlendirir ve tek kanal iletkenliği, kanalın açılma frekansı ve ortalama açık kalma zamanını artırır (Banke ve ark., 2000; Derkach ve ark., 1999; Greengard ve ark., 1991). Bunlara ek olarak, AMPA reseptör alt birimlerinin C-terminal uçları birçok sinyalizasyon yolağında etkin rol alır ve çeşitli proteinlerle etkileşime girerek farklı fonksiyonların yerine getirilmesini sağlar. AMPA reseptörleri merkezi sinir sisteminde hızlı eksitator sinaptik iletimden sorumludur ve bu reseptörlerin modülasyonu eksitator iletimdeki plastisitenin altında yatan nihai mekanizmadır. Bir uyarıya yanıt olarak ortaya çıkan postsinaptik bölgedeki değişikliklerin büyüklüğü ya postsinaptik bölgedeki AMPA reseptörlerinin sayısına ya da o bölgede eksprese edilen AMPA reseptörlerinin tek kanal iletkenliğine bağlıdır. Bu değişikliklerin LTP'nin altında yatan temel mekanizmalar olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Benke ve ark., 1998). Son zamanlarda AMPA reseptör yanıtını artırmak için tetanik uyarıya yanıt olarak yüksek bir iletkenliğe sahip Ca^{+2} geçiren AMPA reseptörlerin membrana eklenmesiyle mümkün olacağı açıklığa kavuşturulmuştur. Dolayısıyla, bir sinapsın genel iletkenliği mevcut reseptörlerin şekil değiştirmesinden ziyade sinaptik bölgede yeni reseptörlerin yer alması ile artırılabilir (Plant ve ark., 2006; Terashima ve ark., 2004). Böylece sinaptik plastisitedeki veya

sinaps sayısındaki değişimler dolaylı olarak sinaptik bölgede bulunan proteinlerdeki değişimler ile belirlenebilir.

NMDA Reseptörleri

NMDA reseptörü glutamat bağımlı iyon kanalı ailesinin bir diğer üyesidir. Reseptör, oksitleyici maddeler, protonlar, çinko, poliaminler, protein kinazlar, kalmodulin ve en önemlisi Mg^{+2} tarafından sıkı bir şekilde düzenlenen yüksek Ca^{+2} geçirgenliğine sahip bir katyon seçici kanalı oluşturur (Dingledine ve ark., 1999). Dinlenim membran potansiyeli değerlerinde kanal kuvvetli bir şekilde voltaja bağlı olarak hücre dışı fizyolojik Mg^{+2} konsantrasyonu ile bloke edilir. Reseptör aktivasyonu hücre membranının kısmi depolarizasyonu sonucunda kanal üzerindeki Mg^{+2} bloğunun kaldırılması ve kanal boyunca iyon akışının gerçekteşmesi ile sağlanır (Wollmuth ve ark., 1998). Bu özellik reseptörün Hebbian tarzı sinaptik plastisite modelinde bahsedilen pre- ve post-sinaptik aktivite için gerekli olan detektör gibi davranmasına neden olur. Hücre içi bölgeye Ca^{+2} girişine karşılık gelen çeşitli seviyelerde sinaptik NMDA reseptör aktivasyonu çoklu etkilere yol açabilir. Düşük NMDA reseptör aktivasyonu sinaptik iletimi baskılayabilirken yüksek Ca^{+2} girişine karşılık gelen yüksek NMDA reseptör aktivasyonu sinaptik fonksiyonları güçlendirebilir (Cummings ve ark., 1996; Zucker, 1999) ve bunların yanı sıra çok yüksek seviyelerde Ca^{+2} girişi de hücre ölümüne neden olabilir (Choi, 1995). Dolayısıyla belirli bir sinapsta NMDA reseptörlerinin sayısı ve aktivasyon dereceleri Ca^{+2} girişini düzenlemek adına çok iyi kontrol edilmelidir. NMDA reseptörleri tetramer kompleks olup NMDA-R1 (NR1) alt birimleri ve bir veya daha fazla NMDA-R2 (NR2) alt birimlerinden oluşan heteromultimer bir yapıya sahiptir (Şekil 2.4) (Dingledine ve ark., 1999; Wollmuth ve Sobolevsky, 2004). NR1 alt birimleri glisin bağlanma bölgeleri içerirken NR2 alt birimleri glutamat bağlayıcı bölgelere sahiptir. NR1 alt birimi sekiz farklı ekleme varyasyonu oluşumuna neden olan tek bir gen tarafından kodlanır (Zukin ve Bennett, 1995) ve çinko, poliaminler ve PKC tarafından reseptörün modülasyonu gibi bazı özellikler NMDA-R kompleksine farklı ekleme varyantlarının dahil edilmesiyle değiştirilebilir (Dingledine ve ark., 1999; Zukin ve Bennett, 1995). Buna karşın NR2 alt birimleri (NR2A-D) dört farklı gen tarafından kodlanır ve ekspresyonları bölgesel ve gelişimsel olarak düzenlenmektedir. NR2 alt birimleri kanalın ortalama açık kalma süresi, iletkenliği ve Mg^{+2} duyarlılığı gibi önemli biyofiziksel özellikleri değiştirme potansiyeline sahiptir (Dingledine ve ark., 1999;

Ishii ve ark., 1993). NMDA-R3 (NR3) alt birimlerinin NR1 ve NR2 alt birimleri ile bir araya geldiği ve bazı kanal özelliklerini modüle ettikleri gösterilmiştir (Ciabarra ve ark., 1995; Das ve ark., 1998). Sonuç olarak NR1, NR2 ve NR3 alt birimlerinin farklı kombinasyonları ile oluşturulmuş bir reseptör kompleksi kanal özelliklerinin regülasyonuna önemli ölçüde katkı sağlamaktadır. Postsinaptik yoğunluk farklı iyonotropik ve metabotropik reseptörler, sinyal yolları ve çeşitli proteinlerden oluşmuş uyarıcı sinapsların postsinaptik membranının altında bulunan proteini bir yapıdır (Kennedy, 1998; Walikonis ve ark., 2000). NMDA reseptörleri postsinaptik yoğunluk bölgesinin ayrılmaz bir parçasıdır ve sinaps oluşumu ve nöronal bağlantının gelişmesi için gerekli temel yapı taşlarındandır. NMDA reseptörlerinin sinapslara ve sinaps stabilizasyonuna hedeflenmesi diğer proteinler ile bir dizi etkileşimine bağlıdır. Transgenic hayvan çalışmalarında NMDA reseptörlerinin C-terminal bölgesinin sinaps stabilizasyonu ve trafiğinde önemli olduğu ortaya koyulmuştur (Steigerwald ve ark., 2000). Özellikle de NR2 alt birimleri C-terminali reseptör trafiği, lokalizasyonu ve internalizasyonu üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. NR2 alt birimleri arasındaki global benzerliğin çok yüksek olması gerçeğine rağmen bu benzerlik C-terminallerinde yaklaşık olarak %20-30 civarındadır ki bu durum da alt birimler aracılığı ile regülatör proteinlerle farklı etkileşimlere girdiğini göstermektedir (Ishii ve ark., 1993). Bu nedenle farklı alt birimler sadece reseptörün özelliklerini düzenlemekle kalmaz aynı zamanda enzimleri postsinaptik yoğunluk bölgesine alarak hücre içi sinyal yolları işlevinin yanı sıra sinapslarda reseptör trafiği, yüzey ekspresyonu ve internalizasyonunu da düzenlerler.



Şekil 2.4. NMDA reseptörünün yapısı. a) NR1 alt birimi glisin bağlanma bölgesi içerirken, NR2 alt birimi glutamat bağlanma bölgesi içermektedir. b) NR2 alt birimi üzerinde ligand bağlama bölgeleri kırmızı ile gösterilmiştir. Şekil (Strong ve ark., 2014; Zhu ve Paoletti, 2015) referanslardan revize edilerek hazırlanmıştır.

2.5.3. Aβ Peptid Aracılı Sinaptik ve Glutamaterjik Disfonksiyon

Sinapslar presinaptik ve postsinaptik bölümlerden oluşan hafıza oluşumu ve bilgi aktarımına aracılık eden sinir sisteminin temel birimlerdir. AH'de hafıza oluşumu ve bilgi aktarımı için hayati öneme sahip olan bu yapıların sayısında ve morfolojisinde önemli değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Hipokampus ve neokortekste gözlenen sinaptik kayıp AH'nin erken aşamalarında Aβ peptid birikiminin neden olduğu hemen hemen ilk patolojik değişim olarak ortaya çıkmaktadır ve hastalarda gözlenen bilişsel fonksiyonlardaki gerileme ile pozitif bir ilişkiye sahiptir (Terry ve ark., 1991). Sinaptik patoloji sinapslarda anormal değişikliklerin eşlik ettiği küçük sinaptik veziküllerin ve sinaptik peptid ve proteinlerin ana bileşenlerinin kaybı ile karakterizedir (Lassmann ve ark., 1993). Sinaptozomal ilişkili protein-25 (presinaptik protein, SNAP-25), PSD-95 (postsinaptik protein) ve sinaptofizin (SYP) gibi çeşitli sinaptik proteinlerin AH beyinlerinde önemli derecede azalma gösterdiği rapor edilmiştir (Arendt, 2009; Davies ve ark., 1987). Çalışmalar AH beyinlerindeki tüm kortikal alanlar arasında sinaptik proteinlerin kaybindan en fazla etkilenen bölgenin hipokampus ve en az etkilenenin ise oksipital korteks olduğunu ortaya koymuştur (Koffie ve ark., 2011). Ayrıca AH hayvan modellerinde LTP ve LTD'nin yanı sıra sinaptik iletimdeki bozuklukların da baskın olduğu rapor edilmektedir (Haass ve Selkoe, 2007). Bu sonuçlar AH'de sinaptik fonksiyonlarda işlevsel bozuklukların olduğunu göstermektedir. Neokortikal sinaptik kaybın büyük bir kısmı çoğunlukla subkortikal bağlantılardan ziyade kortiko-kortikal asosisasyon liflerinin dejenerasyonundan kaynaklanmaktadır (Arendt ve ark., 1995). AH'de gözlenen sinaptik ve dendritik kayıp normal yaşlanmada gözlenenden daha fazla ve hızlıdır ancak diğer nörodejeneratif hastalıklara göre progresyonu yavaş olan bir hastalıktır (Terry, 1994). Sinaptik disfonksiyon hastalık progresyonunun erken döneminde görülür. Bununla birlikte, nöron ölümü büyük sinaps kaybını açıklamak için yeterli değildir. Bu durum sinapsların nöronal ölümden önce selektif olarak azaldığını düşündürmektedir. Aslında AH patolojisi sırasında mevcut olan sağlıklı nöronların sinaptik bağlantı sayılarında azalmalar olduğu bildirilmiştir. AH'de gözlenen hafıza kaybı sinaps-nöron oranının yaklaşık olarak %50 azaldığı geniş ölçekli nörodejenerasyondan önce meydana gelen sinaptik işlev bozukluğu ile ilişkili olabileceği ve nihayetinde %10-20 arasında kortikal nöron kaybı ile sonuçlanacağı daha önceki bir çalışmada gösterilmiştir (Chen ve ark., 2000). Dolayısıyla subkortikal bölgelerde Aβ peptid indüklü meydana gelen sinaptik bozukluklar kortikal nöronlarda da dejenerasyona ve sayıca azalmaya neden olmaktadır. Öte yandan transgenik

hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda hafıza bozukluklarının amiloid plak oluşumları ile zayıf korelasyona sahip olduğu ve bilişsel bozuklukların plak oluşumundan önce meydana geldiği tespit edilmiştir (Jacobsen ve ark., 2006; Mucke ve ark., 2000). Bu durum plak oluşumundan ziyade A β peptidlerinin daha toksik olduğunu ve sinaptik fonksiyonları etkileyebileceğini göstermektedir. Nitekim A β antikorları transgenik farelerin beyinlerindeki plak sayılarında azalma olmaksızın sinaptik işlev bozukluklarını önemli derecede azaltmış ve hafıza problemlerinin ortadan kalkmasını sağlamıştır (Dodart ve ark., 2002; Kotilinek ve ark., 2002; Yang ve ark. 2019).

2.6. A β Peptidinin Astrositler Üzerine Etkileri

Merkezi sinir sistemi nöronlar ve nöroglialar olmak üzere farklı iki tip hücresel elemanlardan oluşur. Nöroglia terimini ilk olarak Rudolf Virchow, “nöron tarafından işgal edilmeyen alanı dolduran” beyin bağ dokusu olarak tanımlamıştır (Somjen, 1988). Kettenmann ve Verkhratsky ayrıca nörogliaların sinir sistemi elemanlarını bir arada tuttuğunu ve MSS'ye bütünlük kazandırdığını rapor etmişlerdir (Kettenmann ve Verkhratsky, 2008). MSS'deki glial hücreler, çoğunlukla makrofajlar (astrosit, oligodensrositler, NG2 hücreleri ve endipimal hücreler) ve beyin dokusu immünitesini oluşturan mikroglialar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Mikroglialar miyeloid progenitör hücrelerden oluşurken, makrofajlar nöroepitelyal kökenlidirler.

Astrositler hücre gövdesinden radyal olarak çıkan dallanmaları sayesinde yıldız şeklindeki bir morfolojiye sahiptirler ve isimlerini bu morfolojik yapılarından alırlar. Genellikle ara filamanların ve astrositlerde spesifik olarak eksprese edilen glial fibriler asidik proteinin (GFAP) varlığı ile tanımlanırlar. Astrositler farklı anatomik, biyofiziksel ve antijenik özelliklere sahip heterojen bir dağılım gösteren destek hücreleridir (Kimelberg, 2004). MSS'de bulundukları konuma göre farklı isimlendirilmiş astrositler bulunmaktadır, ancak genel olarak gri cevherde protoplazmik, beyaz cevherde ise fibröz astrositler olarak isimlendirilmektedirler. Protoplazmik astrositler, hücre gövdesinden uzanan, kan damarları üzerinde son ayak oluşturan ve nöronlarla etkileşime giren birçok dallanmalara sahiptir. Fibröz astrositler ise, ranvier düğümlerindeki aksonal bölgeyi kaplayan veya kan damarları üzerinde son ayakları oluşturan daha uzun fakat daha az sayıda dallanmalara sahiptirler. Astrositler nöronal gelişim, sinaptogenezis, kan beyin bariyerinin oluşumu ve sürdürülmesi,

ekstraselüler ortamdaki iyonların ve nörotransmitterlerin homeostazisinin sağlanması, metabolik artıkların ortamdaki uzaklaştırılması gibi beyin dokusunun fizyolojik çevresinin oluşturulmasında birçok önemli fonksiyona sahiptirler (Wang ve Bordey, 2008). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, astrosit bulunmayan nöronal kültür ortamına göre astrositleri içeren eş kültürlü nöronlarda sinaps sayılarının önemli derecede arttığı gözlenmektedir. Öte yandan astrositler, sinaps oluşumu sırasında gerekli olan proteinler ve sinaptik veziküller gibi presinaptik elemanların sentezini destekleyen kolesterolü üretir ve salgırlar. Tüm bu bulgular astrositlerin fonksiyonel sinaps oluşumu ve korunması için kritik öneme sahip olduğunu göstermektedir (Ullian ve ark., 2001).

Nörolojik hastalıklar, rejeneratif ve dejeneratif süreçler arasındaki dengenin bozulmasının yanı sıra aynı zamanda beyin homeostazında ve sinaptik bağlantılarda meydana gelen değişimlerden köken alırlar (Rodriguez ve ark., 2009; Verkhratsky ve ark., 2012). Beyin homeostazı genellikle astrositler tarafından sağlanır ve bu nedenle astrositlerde meydana gelen değişimler nörolojik hastalıkların tetikleyicisi olabilirler (Verkhratsky ve ark., 2010). Akut veya kronik beyin hasarı reaktif astroglia olarak bilinen spesifik bir astroglial reaksiyona neden olur (Pekny ve Nilsson, 2005; Pekny ve ark., 2014). Reaktif astroglia hücreler hipertrofi, GFAP ekspresyonunda önemli artış ve genişlemiş bir hücre gövdesi ile birlikte buradan çıkan uzantıların sayısının artması ve genişlemesi ile kendini gösterir. Aslında, reaktif astroglia glial skar oluşumu ile hasarlı bölgeyi izole ederek, kan beyin bariyerinin bütünlüğünü sağlar ve lezyonlu bölgedeki sinir devresinin yeniden düzenlenmesini kolaylaştırarak beyni korur (Sofroniew, 2009). Reaktif astroglia, hasarın şiddeti ile kademeli bir artış gösterir. Hafif ile orta dereceli astroglia nörit gelişimi ve sinaptogenezi indükleyen ve böylece sinaptik ağların yeniden şekillenmesini sağlayan trombospodin ve laminler gibi çeşitli moleküllerin üretilmesine katkıda bulunur. Bunun yanı sıra şiddetli astroglia lezyonlu bölgeyi izole ederek hasar ve iltihaplanma sınırı olarak hizmet eden glial skar oluşumu ile sonuçlanır (Sofroniew, 2009; Sofroniew ve Vinters, 2010). Sinir sistemini koruyucu etkinliğinin yanı sıra, inflamasyonu güçlendirecek sitokin sekresyonunda artış, glutamat kaynağı haline gelerek aşırı uyarılabilirliğin oluşması, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ile oksidatif stres ve nörotoksitenin indüklenmesi ve laktik asit artışı ile iskemik hasarın şiddetlenmesi gibi çeşitli yollarla zararlı etkiler oluşturabilirler (Brambilla ve ark., 2009; Sofroniew ve Vinters, 2010).

Dahası, aralarındaki gap junction bağlantıları sayesinde zararlı sinyal moleküllerinin daha uzak noktalara yayılmasına ve geniş çaplı bir hasarın oluşmasına neden olabilirler (Rossi ve ark., 2007; Thompson ve ark., 2006).

Alzheimer hastaları üzerinde yapılan postmortem histolojik ve proteomik çalışmaların sonuçlarında entorhinal korteks başta olmak üzere hemen hemen tüm korteks bölgelerinde yoğun GFAP pozitif astrositlerin gözlenmesinin yanı sıra GFAP ekspresyonlarında da önemli artışların olduğu belirlenmiştir (Kashon ve ark., 2004; Simpson ve ark., 2010). Öte yandan, entorhinal korteks GFAP yüzey yoğunluğunun da AH'lerde sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bu durum reaktif astrogliozisin bir özelliği olan astrositik hipertrofinin gerçekleştiğini ortaya koymaktadır (Vanzani ve ark., 2005). Dahası GFAP ekspresyonundaki bu artış hastalığın erken evrelerinde dahi gözlenmektedir ve demans ve bilişsel bozuklukla iyi bir korelasyona sahiptir. Bunlara ek olarak in vivo olarak A β peptid enjeksiyonu yapılan deneylerde, A β peptidinin enjeksiyon bölgelerinde ve yakın çevrede astrogliozisi indüklediği rapor edilmiştir (Perez ve ark., 2010; Sipos ve ark., 2007; Wang ve ark., 2018). Bu özelliğinden dolayı GFAP ekspresyonundaki değişimin AH'nin erken aşamalarını tespit etmede kullanılabilecek bir belirteç olabileceği fikri ön plana çıkmaktadır. Aynı zamanda GFAP ekspresyonunun ve dolayısıyla A β peptidinin neden olduğu hasarın elektriksel beyin aktivitesi üzerinde ortaya çıkardığı etkileri net bir şekilde belirleyebileceğimiz düşünülmektedir.

2.7. Elektroensefalografi

Elektroensefalografi tarihi 1929 yılında, beyin aktivitesi sırasında oluşan ve mikrovolt (μ V) mertebesinde olan elektriksel potansiyel farkın hassas bir galvanometre vasıtasıyla tespit edilebileceğini keşfeden Hans Berger ile başlamıştır. Berger çalışmalarında, gözleri kapalı olan deneklerden 8-12 Hz frekanslı Berger dalgaları veya diğer adı ile alfa dalgaları adı verilen ritmik elektriksel beyin aktivitelerini kaydetmeyi başarmıştır. Beynin elektriksel aktivitesinin ölçümleri Berger'den yaklaşık 50 yıl önce ilk olarak fizikçi Richard Caton tarafından 1875 yılında intrakranyal olarak gerçekleştirilmiş olsa da Berger'in keşfi, ölçüm şeklinin noninvaziv ve ekstrakranyal bir teknik olması açısından klinisyenler ve psikiyatrisiler tarafından çok önemli bir yöntem olarak kabul görmüş ve keşfinden itibaren birçok

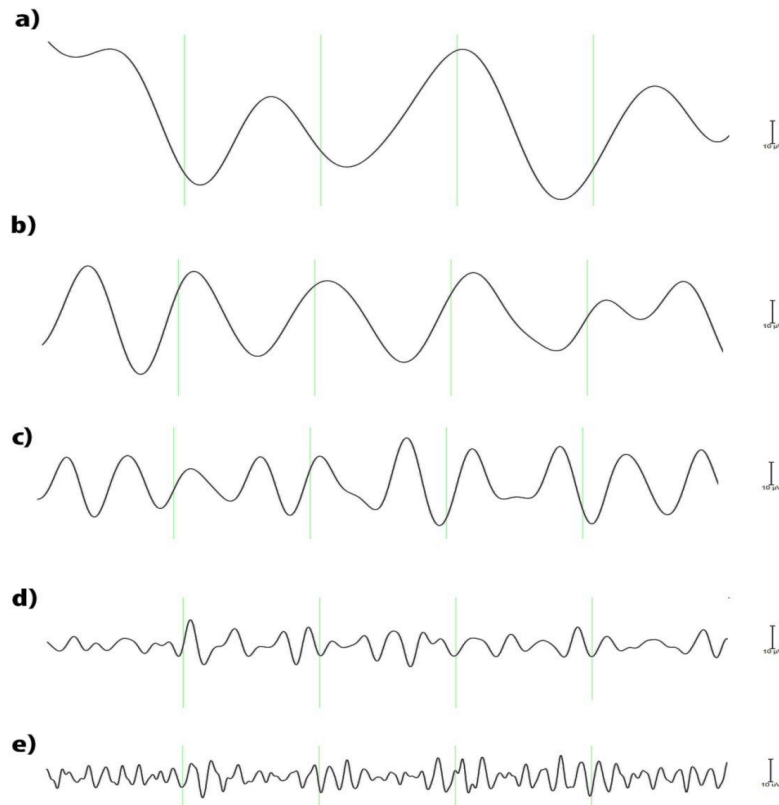
nörodejeneratif hastalığın teşhisinde ve takibinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Acedo ve Morano, 2013).

Normal beyin fonksiyonları sürekli bir elektriksel aktivite ortaya çıkarır. Bu elektriksel aktivitenin ana kaynağı hücresel seviyedeki biyokimyasal süreçler tarafından oluşturulan iyonik akımlardır (da Silva, 2013). Beynimizin kendiliğinden süregelen bu elektriksel aktivitesine spontan beyin aktivitesi adı verilmektedir. Spontan beyin aktivitesinin kafa derisi yüzeyine yerleştirilen yüzeyel elektrotlar aracılığı ile kaydedilmesi EEG yöntemi olarak bilinmektedir. Tek bir nöron tarafından oluşturulan voltaj dalgalanmaları yüzeyel EEG elektrotları tarafından tespit edilebilecek büyüklükte bir değişim meydana getiremez. Bu aktivitelerin kayıtlanabilmesinde beynin mükemmel bir mimariye sahip olmasının büyük bir önemi vardır. Uygun histolojik düzen sayesinde oluşacak olan voltaj değişimleri uygun koşullarda birbirlerini sönmek yerine güçlendirebilir. Fakat nöromimari tek başına EEG kayıtlanması için yeterli değildir. Bu elektriksel aktivitelerin yüzeyden gözlemlenebilmesi için milyonlarca nöronun eş zamanlı aktivitesi gerekir ki bu durum da nöronal senkronizasyon olarak adlandırılır. Dolayısıyla hem nöromimari hem de nöronal senkronizasyon beyin dalgalarının yüzeyel elektrotlar aracılığı ile kayıtlanabilmesi için gerekli şarttır (Cohen, 2017; da Silva, 2013). Öte yandan yüzeyel olarak yerleştirilen elektrotlar altında bulunan nöronal kümelerdeki elektriksel potansiyel değişimlerini detekte ettiğinden sinyalin büyüklüğü ve şekli, aktivitenin kaydedildiği nöronal kümelere olan uzaklığa göre değişmektedir. Potansiyel genlik değişimleri için uzaklık çok önemli bir faktör olduğundan beyindeki tüm nöronlar EEG sinyalleri üzerinde aynı paya sahip değildir. Yüzeyel elektrotlarla elde edilen EEG sinyali, çoğunlukla elektrota yakın komşu bölgelerde meydana gelen elektriksel aktivite değişimleri hakkında bilgi içermektedir. Ayrıca yüksek frekanslı elektriksel aktivitenin önemli ölçüde filtre edilmesine neden olan elektrot ile nöronal kümeler arasında bulunan yumuşak doku ve kafatasından kaynaklanan kemik dokusu EEG sinyallerinde bilgi kaybına neden olmaktadır. Dolayısıyla EEG sinyalleri, doğrudan kortikal nöronların kolektif davranışlarını temsil ederken, subkortikal yapılarıdaki elektriksel aktivite değişimleri hakkında kesin bilgiler vermemektedir.

EEG sinyallerinin değerlendirilmesinde frekans ve genlik değerleri incelenerek beyin aktivitesi durumu hakkında bilgiler elde edilmektedir. Ancak, genellikle frekans ana

parametre olarak kullanılmakta ve bu frekans değerleri yaşı, duyuşsal uyarı, kişinin uyarılmışlık durumu, psikolojik hal, beyin hastalıkları, lezyonlar ve çeşitli kimyasallardan etkilenmektedir. Klinik bir EEG aktivitesi tipik olarak 0,5 Hz ile 100 Hz frekans aralığında ve 10 ile 100 mikrovolt arasında bir genliğe sahiptir. EEG aktivitesi, Şekil 2.5’de gösterildiğı gibi frekans bantlarına göre delta, teta, alfa, beta ve gama olmak üzere beş frekans bandında sınıflandırılmaktadır (da Silva, 2013).

Delta (δ) dalgası: Delta dalgaları 0,5 ile 3,5 Hz frekans aralığında ritmik aktivite gösteren 20 ile 200 mikrovolt arasında genliğe sahip beyin aktivitesine karşılık gelmektedir. Delta dalgalarının gözlenme durumu yaşa göre farklılık göstermektedir. Bebeklik döneminde sağlıklı bireylerde gözlenirken, yetişkinlerde derin uyku haricinde gözlemlenmesi ciddi bir beyin lezyonunun varlığını işaret etmektedir. Bu dalga formu yetişkinlerde baskın olarak frontal beyin bölgesinde gözlemlenirken çocuklarda posterior beyin bölgesinden kaydedilmektedir (Pizzagalli, 2007).



Şekil 2. 5. Bir saniyelik örnek EEG sinyal dalga şekli. a) delta dalgası (0,5-3,5 Hz), b) teta dalgası (4-8 Hz), c) alfa dalgası (8-13 Hz), d) beta dalgası (13-30 Hz) ve e) gama dalgası (30-100 Hz). Ölçek çubuğu: 10 μ V.

Teta (θ) dalgası: Teta dalgaları frekans aralığı 4 ile 8 Hz olan beyin aktivitesine karşılık gelmektedir. Bu dalga formu yetişkinlerde ve büyük çocuklarda uyku sırasında gözlenirken uyarılmışlık ve duygusal stres durumunda belirginleşir. Teta dalgaları yoğun olarak temporal ve parietal bölgelerde 5 ile 10 mikrovolt genliğinde kaydedilirler (Pizzagalli, 2007). Yetişkinlerde aktivite durumuna göre iki tip teta dalgası gözlemlenir (Schacter, 1977). İlk tip tüm beyin bölgelerinde yaygın bir dağılım gösterir ve azalmış uyarılmışlık, uykuya dalma, bilişsel bozukluk ve demans ile ilişkili iken, ikinci tip teta dalgası ise teta akım yoğunluğu ve glikoz metabolizması ile pozitif korelasyona sahip olan anterior singulat cortex bölgesi kaynaklı olup frontal orta hat içinde dağılım gösterdiğinden frontal orta hat teta olarak adlandırılır. Bu dalga, dikkat, zihinsel çaba ve uyaran işleme gibi faaliyetlerle ilişkilendirilmiştir (Onton ve ark., 2005).

Alfa (α) dalgası: Bu ritmik aktivite sağlıklı yetişkinlerde uyanık, gözler kapalı ve rahat bir durumdayken ortaya çıkar. Normal genlik aralığı yaklaşık olarak 20 ile 200 mikrovolt arasında olan, 8 ile 13 Hz frekans aralığına sahip ve baskın olarak oksipital bölgede gözlenen beyin aktivitesidir (Niedermeyer, 1993). Alfa dalgası gözlerin açılması, ani uyaran ve dikkatle kaybolur ve bu durum desenkronizasyon veya alfa blokajı olarak adlandırılır. Alfa ritmi, alfa1, alfa2 ve alfa3'ü içeren alt bileşenlerden oluşmakta olup, bunların spektral bant güçlerinde meydana gelen değişimler demansın şiddeti hakkında bilgi vermektedir (Moretti, 2012).

Beta (β) dalgası: Beta dalgalarının frekansı alfa dalgalarından daha yüksektir ve 13 ile 30 Hz arasında bir frekans aralığına sahiptir. Ancak bu dalgaların genlikleri alfa dalgalarından daha düşük olup 5 ile 10 mikrovolt arasında bir değer almaktadır (Pizzagalli, 2007). Beta dalgaları bilişsel aktivite ve merkezi sinir sisteminin uyarımı ile ortaya çıkarken baskınlığı dikkat ve uyanıklık ile artar. Genellikle parietal ve frontal bölgelerde baskın olarak ortaya çıkarlar. Bilişsel bozukluk sırasında beta dalgalarının genliğinde ve frekans değerlerinde önemli derecede azalmalar gözlenir (Murthy ve Fetz, 1992).

Gama (γ) dalgası: Gama dalgasının frekansı 30 ile 100 Hz arasında değişmektedir. Bu dalga formu, objeleri, sesleri ve dokunma duyusunu tanımak için kısa süreli hafıza aktivitesi gibi duyuusal bilgi işleme durumlarında somatosensöriyel kortekste, teta

dalgaları ile ilişkili olduğunda ise bilişsel gerileme ile ilişkili patolojik durumların varlığında kaydedilmektedir (Pizzagalli, 2007).

EEG sinyallerinin farklı bilişsel fonksiyonlar hakkında bilgi vermesinin yanı sıra, genel olarak beynin işlevsel bütünlüğü, fizyolojik süreçler ve beyinde meydana gelen patolojik durumlar hakkında önemli bilgiler içerdiği kanıtlanmıştır (da Silva, 2013). Elektrofizyolojik çalışmalar ile AH'lerin EEG aktivitesinin yavaşladığı ve ayrıca düşük frekanslı osilasyonların gücünde artış gözlenirken, yüksek frekanslı osilasyonların gücünde ise azalma olduğu tespit edilmiştir (Huang ve ark., 2000; Jelic ve ark., 1996). Öte yandan yüksek frekanslı bileşenlerin gücündeki azalma ile bilişsel bozukluklar arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu da rapor edilmiştir (Jeong, 2004). Ayrıca, teta ritmi osilasyonlarının gerek insanlar gerekse diğer canlılarda birçok farklı bilişsel süreçle yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (Buzsaki, 2002; Lega ve ark., 2012). Yapılan bir çalışmada teta gücündeki artışın, AH sonucu elektriksel beyin aktivitesinde meydana gelen en önemli EEG değişimi olduğu bildirilmiştir (Wolf ve ark., 2003). Jelic ve arkadaşları 2000 yılında yayınladıkları bir çalışmada orta derecede kognitif bozukluğa sahip kişilerin temporal ve oksipital elektrot bölgelerinde sağlıklı kontrollere göre daha yüksek teta gücüne sahip olduklarını göstermişlerdir (Jelic ve ark., 1996). Hem spontan EEG hem de olaya ilişkili potansiyel (OİP) çalışmalarında, AH'de beyin bölgeleri arasında işlevsel bağlantısallığın bozulduğuna dair bulguların olduğu da gözlenmektedir. İşlevsel bağlantısallığın derecesinin belirlenmesi için koherens analizi yöntemi kullanılmaktadır. Kortikal bölgeler arasında koherens derecesinin düşmesi, ilgili bölgeler arasında işlevsel bağlantısallığın azaldığı anlamına gelmektedir. Dolayısıyla koherens derecesi, ilgili bölgelerin işlevsel bütünlüğünü değerlendirmede kullanılabilecek önemli bir elektrofizyolojik parametredir. Bu kapsamda, Adler ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları bir çalışmada Alzheimer hastalarında spontan EEG verilerinin analizi sonucunda global teta gücünün arttığı ve sol temporal lob alfa koherensi ile hemisferler arası teta koherenslerinin azaldığını göstermişlerdir. Araştırmacılar global teta gücünün ve sol temporal lob alfa koherenslerinin AH'nin erken tanısı için önemli parametreler olduğuna işaret etmektedirler (Adler ve ark., 2003). Bir başka çalışmada ise AH'de olayla ilişkili delta, teta ve alfa koherenslerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azaldığı, ancak uyarılmış potansiyellerde hasta ve kontrol grupları arasında koherensler açısından bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Basar ve ark., 2010). Son zamanlarda yapılan bir

Çalışmada ise yine EEG parametreleri kullanılarak orta dereceli bilişsel bozukluğa (MCI) sahip insanların hastalık seyri takip edilmiş ve AH'ye dönüşümleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu alışmada Poil ve arkadaşları, beta frekans aralığının MCI-AH dönüşümünü belirlemede kullanılabilecek bir parametre olduğunu göstermişlerdir (Poil ve ark., 2013).

Özet olarak, şu an literatürde çok az sayıda çalışmada AH'nin erken tanısında ve diğer demans türlerinden ayırt edilmesinde EEG biyobelirteçleri düzeyinde araştırma yapılmıştır. Ancak bu çalışmaların bulguları ışığında AH erken tanı ve tedavi süreçlerinin ilerleme seyrini net olarak belirlemek mümkün olmamakla birlikte, AH ve beyin osilasyonları arasındaki spesifik ilişkiler halen aydınlatılabilmiş değildir. Dolayısıyla literatürde AH'nin neden olduğu beynin işlevsel bütünlüğindeki değişimler hakkında yeterli ve detaylı bulgu bulunmamaktadır. Çalışmamızda çok düşük miktarlarda Aβ peptid enjeksiyonu ile mimik edilen AH'nin erken aşamalarında oluşacak olan sinaptik disfonksiyonlar, plastisite değişimleri ve Aβ peptid aracılı nöronal hasarın biyokimyasal olarak araştırılmasının yanı sıra kortikal bölgelerde meydana gelen elektriksel beyin aktivitesindeki değişimler ve bu değişimlerin birbirleri ile ilişkisi elektrofizyolojik bulgular ile tespit edilmeye çalışılmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı ve Deney Hayvanları Ünitesinde gerçekleştirilen çalışmamızda toplamda 60 adet 3 aylık erkek Wistar sıçan kullanılmıştır. Bu çalışma için gerekli olan etik onay Akdeniz Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Yerel Komitesi'nden (Etik Onay Tarihi ve Numarası: 24.01.2018/2018.01.006-9) alınmıştır. Sıçanlar üzerinde yapılan tüm deney protokolleri Akdeniz Üniversitesi Kurumsal Hayvan Bakımı ve Kullanım Kurulu tarafından belirlenen standartlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

3.1. Gruplandırma

Her grupta 15 hayvan olacak şekilde aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi toplam dört grup oluşturulmuştur.

Tablo 3. 1. Deney grupları ve kullanılan A β peptid miktarları.

Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Sham (Sh)	A β 1	A β 2	A β 3
5 μ l %0,9 NaCl	0,01 μ g/ μ l x 5 μ l A β ₁₋₄₂ peptid	0,1 μ g/ μ l x 5 μ l A β ₁₋₄₂ peptid	1 μ g/ μ l x 5 μ l A β ₁₋₄₂ peptid

3.2. Deney Protokolü

İndüklenebilir AH sıçanlar için A β peptid enjeksiyonu modeli kullanılmıştır. Bu modelde hayvan beynine nörotoksik A β fragmanı olan A β _{42/43} veya A β _{25/35} peptid enjeksiyonu yapılmaktadır. Bu uygulama sitolojik, biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal bozulmalara neden olmakta ve dolayısıyla AH modeli oluşturularak bu hastalıkta meydana gelen değişikliklerin ortaya çıkarılmasını mümkün kılmaktadır (Christensen ve ark., 2008; Klementiev ve ark., 2007). Deney gruplarının oluşturulması sırasında, AH grupları için Amiloid- β ₁₋₄₂ peptidi (Sigma, Missouri, United States) ve Sh grubu için ise serum fizyolojik (%0.9 NaCl) Tablo 3.1'de belirtilen miktarda kullanılmıştır.

3.2.1. A β ₁₋₄₂ Peptidinin Hazırlanması

A β ₁₋₄₂ peptidi sıçanlarda AH modeli oluşturmak için nörotoksik ajan olarak kullanılmıştır. A β ₁₋₄₂ peptidi, enjeksiyondan önce 2 gün boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakılarak oligomerik yapıların oluşması için bekletilmiştir.

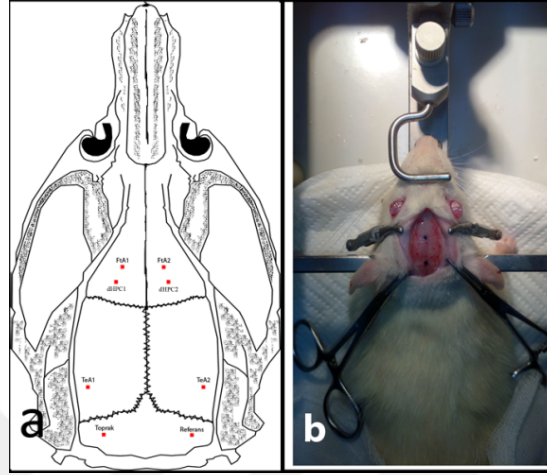
3.3. Cerrahi İşlemler ve Elektrot İmplantasyonu

Tüm sıçanlarda anestezi ketamin (50 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) maddelerinin serum fizyolojik içinde çözülerek intraperitoneal (i.p.) uygulanması ile oluşturulmuş ve vücut sıcaklığı anestezi esnasında azalacağından dolayı sürekli kontrol edilerek 36-37°C arasında sabit tutulmuştur (Bretteville ve ark., 2012). Sıçanların kafa derisi orta hattın bistüri ile kesilerek açıldıktan sonra referans nokta olan bregma tespit edilmiştir. Stereotaksik atlası göre (Paxinos, 2006), A β ₁₋₄₂ peptidi bilateral olarak orijin bregma olmak üzere antero-posterior, AP= -3,24 mm, medio-lateral, ML= -2,5 ve 2,5 mm ve dorso-ventral, DV= -3,50 mm koordinatlarında bulunan dorsal hipokampus bölgesine Hamilton mikro şırıngası (26G) kullanılarak 1 µl/dk hızında enjekte edilmiş ve enjeksiyonun ardından şırınga 5 dk boyunca belirlenen bölgede bırakılmıştır. Deney grupları indüklenebilir AH modeli için (A β 1, A β 2 ve A β 3 grupları) bilateral olarak dorsal hipokampus bölgesine toplamda 5'er µl olmak üzere hazırlanmış olan A β ₁₋₄₂ peptidi 0,01 µg/µl, 0,1 µg/µl ve 1 µg/µl konsantrasyonlarında üç farklı dozda, Sh grubundaki sıçanlara ise aynı hacimde serum fizyolojik (%0,9 NaCl) enjekte edilerek elde edilmiştir.

Enjeksiyonların ardından Şekil 3.1'de gösterilen lokasyonlara kayıt elektrotları implante edilmiştir. Kayıt elektrotları bilateral olarak frontal (AP:4.5 mm, ML: +2 ve -2 mm) ve temporal (AP:-8,0 mm, ML: +6,6 ve -6,6 mm) korteks bölgelerine, referans elektrot serebellum (AP:-12,72 mm, ML: 2,5 mm) ve toprak elektrot ise (AP:-12,72 mm, ML: -2,5 mm) koordinatları üzerine yerleştirilmiştir (Meeren ve ark., 2002; Paxinos, 2006). Ayrıca hipokampus CA1 bölgesindeki subkortikal elektriksel aktivite kaydı için tungsten elektrotlar bilateral olarak dorsal hipokampus bölgelerine (CA1 alanı AP: -3,8 mm, ML: +2 ve -2 mm, DV: 2,5 mm) yerleştirilmiştir. Daha sonra dişçi akriliği kullanılarak elektrotların üstü kapatılmış ve konektör bağlantısı için rehber kanül (MS363, Plastics One Inc. USA) dışarıda bırakılmıştır.

Ameliyattan sonra 3 gün boyunca sıçanlara 100.000 U/gün penisilin ve aneljezi için oral olarak 200 mg/kg parasetamol uygulanarak iki hafta boyunca iyileşmeleri

beklenmiştir. Bu süreler boyunca sıçanlar her kafeste bir hayvan olacak şekilde 12 saatlik aydınlık/karanlık siklusunda tutulmuşlardır. Ayrıca tüm hayvanlar ticari sıçan yemi ve musluk suyu verilerek beslenmiş ve vücut ağırlıkları günlük olarak kaydedilmiştir. Sıçanların iyileşmelerinin ardından davranış testleri gerçekleştirilmiş ve spontan EEG kayıtları alınmıştır.



Şekil 3. 1. a) Stereotaksik atlası göre belirlenen temsili elektrot lokasyonları b) Elektrot lokasyonlarının tespit edilmesi için kafa derisinin bistüri yardımı ile orta hattın kesilmesi ve orijin olan bregmanın belirlenmesi.

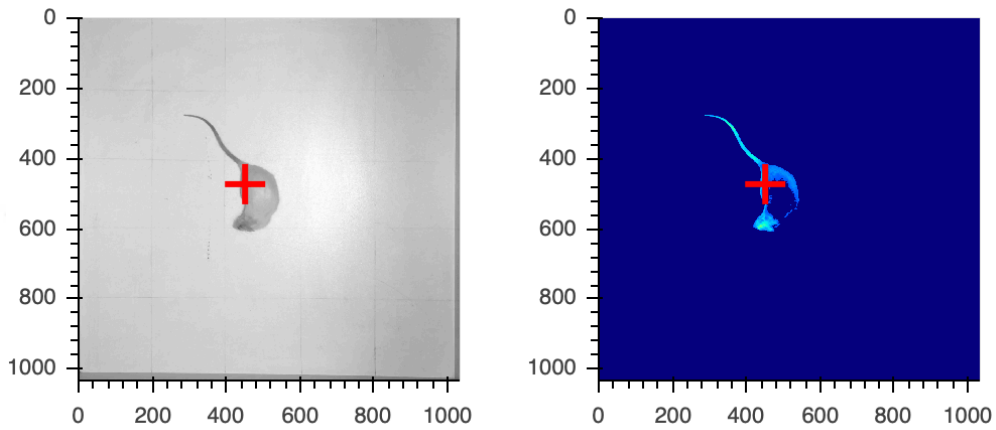
3.4. Davranış Testleri

Projemizde sıçanların çok düşük dozlarda A β peptid enjeksiyonuna karşı vermiş oldukları davranışsal yanıtlar açık alan testi (Open Field Test, OFT) ve yeni obje tanıma testi (Novel Object Recognition Test, NOR) ile değerlendirilmiştir. A β peptid enjeksiyonunun lokomotor aktivite üzerindeki etkisi OFT testi ile değerlendirilmişken öğrenme ve hafıza üzerine etkisi NOR testi ile değerlendirilmiştir. Bu testler için kullandığımız düzenek 80 cm x 80 cm x 40 cm boyutlarından oluşan ve açık merkezli bir platformdur. Platform merkezinden 200 cm yukarıya yerleştirilmiş 60 W'lık bir lamba ile aydınlatılmıştır. Tüm sıçanların araştırmacıya alışmasını sağlamak amacıyla beş gün boyunca günde beş dakika olmak üzere ele alıştırma işlemi yapıldıktan sonra davranış testlerine başlanmıştır ve deneyler ses yalıtımı yapılmış odada gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. Açık Alan Testi

OFT, hem sıçanlarda hem de farelerde genel aktivitenin miktarı, kalitesi ve keşif davranışlarını ölçmek için çok yaygın bir şekilde kullanılan bir testtir. Sıçanların keşif davranışlarının değerlendirilmesi davranış testlerinin sonuçlarının sıçanların

lokomotor aktivitesindeki değişikliklere bağlı olup olmadığını kontrol etmek için kullanılmıştır. Kullanılan düzeneğ 80 cm x 80 cm x 40 cm boyutlarında ve homojen olarak aydınlatılmış bir kutudan ve tavana asılı bir kamera sisteminden oluşmaktadır. OFT, 09:00-11:00 saatleri arasında gerçekleştirilmiştir. Hayvanların keşif davranışlarını ölçmek için platformun tabanı 25 eşit kareye bölünmüş ve sıçanlar tek tek bu platformun merkezine yerleştirilerek davranışları 5 dakika boyunca video kamera ile kayıt altına alınmıştır (Şekil 3.2) (Volosin ve ark., 1988). Kayıt sonunda her bir hayvanın horizontal düzlemdeki hareketleri (geçilen kare sayısı), vertikal düzlemdeki hareketleri (arka ekstremiteleri üzerinde yükselme, ayaklanma) ve defekasyon sayıları görsel olarak tespit edilmiş ve grup karşılaştırılmalarında kullanılmıştır. Lokomotor aktivite geçilen kare sayısı ile çevreyi keşfetme davranışı ise arka ekstremiteleri üzerinde yükselme sayısı ile doğru orantılıdır. Defekasyon sayısı ise hayvanın emosyonel durumu hakkında bilgi vermektedir.



Şekil 3. 2. Açık alan testinde kullanılan 25 eşit kareye bölünmüş 80 cm x 80 cm x 40 cm ebatlarındaki platform. x ve y eksenleri görüntü analizi kolaylığı açısından piksel olarak ölçeklendirilmiştir. 200 piksel 16 cm'ye karşılık gelmektedir.

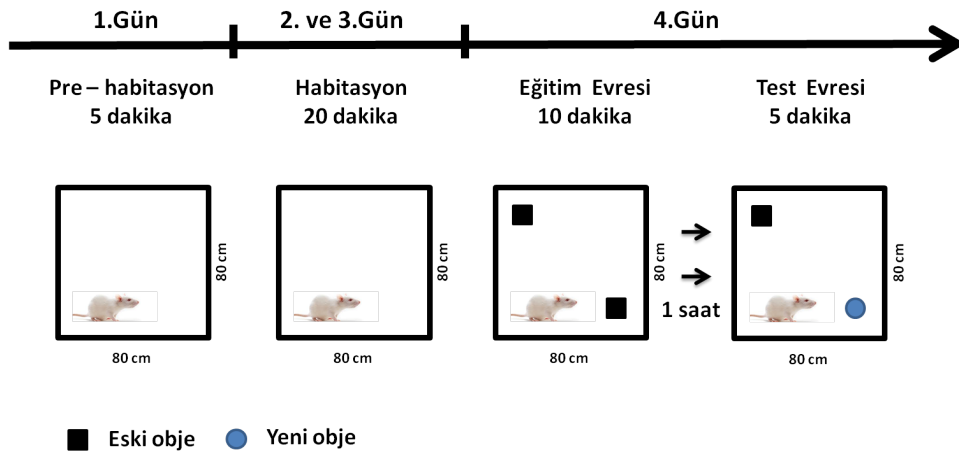
3.4.2. Yeni Obje Tanıma Testi

NOR testi, Zhang ve arkadaşların (2012) tanımladığı protokolün modifikasyonu ile oluşturulmuştur (Zhang ve ark., 2012). Detaylı test protokolü Şekil 3.3'de şematik olarak sunulmuştur. Sistem, 80 cm x 80 cm x 40 cm boyutlarında, eşit olarak aydınlatılmış bir kutudan oluşmaktadır ve deneyler ses yalıtımı yapılmış odada gerçekleştirilmiştir. Deney protokolü, pre-habitasyon, habitasyon, eğitim evresi ve test evresi olmak üzere dört aşamadan oluşmaktadır. Birinci günde sıçanlar deneyden 30 dakika önce deney odasına getirilerek çevreye alışmaları sağlanmıştır. Ardından

sıçanlar kutunun içerisine konularak 5 dakika boyunca serbestçe kutu içerisini incelemelerine izin verilmiştir (pre-habitsasyon). Deneyin ikinci ve üçüncü günlerinde yani habitsasyon aşamasında ise her gün 20 dakika olmak üzere sıçanlar boş kutunun içerisine konularak kutuya alışmaları sağlanmıştır. Habitsasyon süreçlerinden sonra deneyin dördüncü gününde eğitim aşamasını takiben test aşamaları gerçekleştirilmiştir. Eğitim aşamasında birbirinin aynı iki obje kutu içerisine zıt köşelerde ve köşelerden eşit uzaklıkta olacak şekilde yerleştirilmiştir. Bu aşamada sıçanların 10 dakika boyunca objeleri incelemeleri sağlanmıştır. Eğitim aşaması tamamlanan sıçanlar tekrar kafeslerine konulup 1 saat sonra test aşamasına geçilmiştir. Test aşamasında objelerden biri yeni bir obje ile değiştirilmiştir ve sıçanların 5 dakika boyunca objeleri incelemeleri sağlanmıştır. Test aşamasında sıçan davranışları video kamara ile kaydedilmiştir ve bu kayıtlar sıçanların objelerle geçirdikleri süreleri belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Bu işlemler her bir sıçan için ayrı ayrı olarak yapılmıştır ve her sıçandan sonra koku izini yok etmek amacıyla %70'lik etanol ile sistem ve objeler temizlenmiştir.

Hafıza gücünü gösteren ayırım indeksi yeni ve eski objeyi inceleme süresi arasındaki farkın her iki objeyi incelerken harcanan toplam süreye bölümünün 100 ile çarpılması ile hesaplanmıştır.

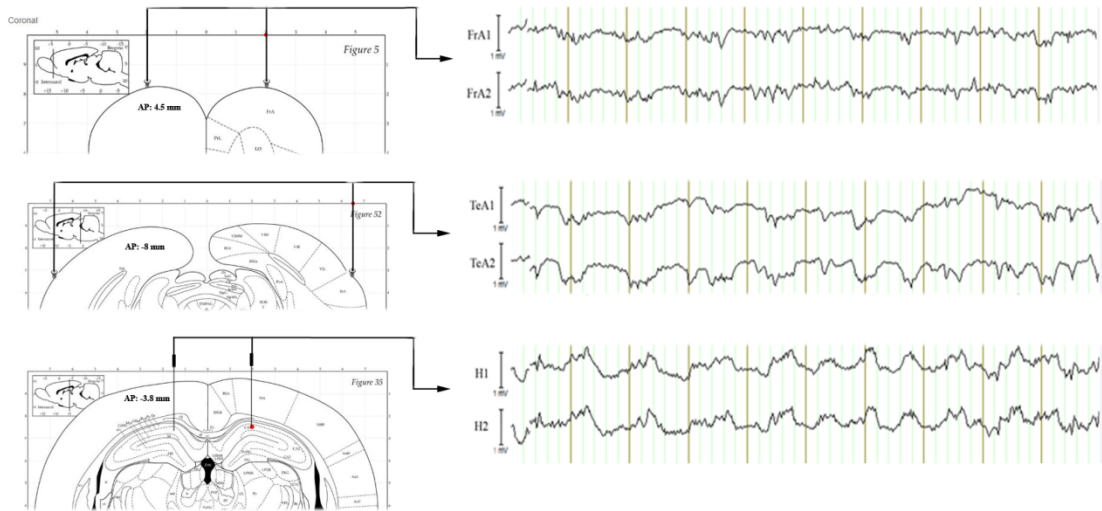
$$\% \text{Ayırım indeksi: } (\text{Süre}_{\text{yeni}} - \text{Süre}_{\text{eski}}) / (\text{Süre}_{\text{yeni}} + \text{Süre}_{\text{eski}}) \times 100$$



Şekil 3.3. Yeni obje tanıma testinin şematik gösterimi. Boş kutuda pre-habitsasyon ve habitsasyon aşamalarını takiben, sıçanlar eğitim ve test aşamalarına alınmıştır. Eğitim aşamasında birbirinin aynı obje çiftinin 10 dakika incelenmesinden 1 saat sonra sıçanlar test aşamasına (5 dakika, farklı iki obje) alınmıştır. Sıçanların objelerde geçirdikleri süreler video kamara ile kaydedilmiştir.

3.5. Spontan EEG Verilerinin Kayıtlanması

Sıçanların kayıt öncesinde, ses ve elektromanyetik gürültüsü zayıflatılmış, loş olarak aydınlatılmış faraday kafesinden oluşan kayıt odasında 30 dakika boyunca ortam koşullarına adapte olmaları sağlanmıştır. Adaptasyon sürecinin ardından spontan EEG aktivitesi hayvanlara anestezi uygulanmadan yukarıda belirtilen koordinatlara yerleştirilen paslanmaz çelikten yapılmış vida elektrotları (E363/20/1.6/SP, Plastics One INC. USA) ve hipokampüse yerleştirilen tungsten elektrotlar (Harvard Apparatus, 72-0375, Massachusetts, USA) aracılığıyla bir saat boyunca alınmıştır (Brainamp EEG/EP Amplifier, Brain Products, Munich, Germany). Bu kayıtlara ait 10 s'lik örnek EEG trasesi Şekil 3.4'de gösterilmiştir. Tüm elektrotların empedansları 5 kOhm'dan az olacak şekilde ayarlanmıştır. BrainVision Recorder (Brain Products, Munich, Germany) cihazı kullanılarak EEG verileri 0,01-250 Hz 48 dB/oktav band ile filtre edildikten sonra 1 kHz örnekleme hızı ile sayısallaştırılarak bilgisayara kaydedilmiştir.



Şekil 3. 4. FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2 lokasyonlarından elde edilen 10 s'lik örnek EEG verisi.

3.6. Spontan EEG Verilerinin Analizi

Spontan EEG verilerinin analizi çevrim-dışı (off-line) olarak gerçekleştirilmiştir. EEG verilerinin bilgisayara kaydedilmesinden sonra 60 dakikalık potansiyel kayıtları 30'ar dakikalık zaman pencerelerine bölünmüş ve ilk 30 dakikalık kayıt sıçanların sisteme adapte olmaları için geçen süre olarak ayarlandığından analizler için sadece son 30 dakikalık EEG verileri kullanılmıştır. Kaydın son 30 dakikasında elde edilen EEG verilerine 50 Hz'lik notch filtre uygulandıktan sonra 2 s'lik eşit segmentlere bölünmüş

ve ardından bu traselerin göz ile kontrolü yapılarak kayıt esnasında sinyale karışmış olabilecek gürültülerin (artefaktların) temizlenmesi sağlanmıştır. Her bir grup için yaklaşık olarak 200 artefaktan arındırılmış zaman penceresi rastgele seçilerek matematiksel analizler için kullanılmıştır.

3.6.1. Güç Spektrum Analizi

Spontan EEG verileri içindeki farklı frekanstaki osilasyonları birbirinden ayırmak için güç spektrumu analizinde Fourier Dönüşümü (FD) yöntemi kullanılmıştır. Fourier analizi zaman ortamındaki sinyali frekans ortamına dönüştüren matematiksel bir yöntemdir. Tüm veriler Brain Vision Analyzer II (Brain Products, Munich, Germany) programı yardımıyla ilgilenilen frekans dilimine göre dijital olarak filtrelenmiştir. Frekans dilimleri için genel ortalamalar tek tek sıçanların her bir durum ve bölgeye karşılık gelen genlik frekans karakteristiklerinin ortalamalarına dayanarak hesaplanmıştır. Çalışmamızda kullandığımız güç spektrumu, otokorelasyon fonksiyonu kullanılarak elde edilir. Otokorelasyon fonksiyonu, bir verinin, örneğin $x(t)$, t ve $t+\tau$ zamanındaki (τ =gecikme zamanı) değerlerinin birbirleri ile çarpımının tüm T zamanına bölünerek ortalama alınması ile elde edilir. Zaman fonksiyonunun frekans içeriğinin bir ölçüsüdür.

$$R_{xx}(T) = \lim_{T \rightarrow \infty} 1/T \int_0^T x(t)x(t + \tau)dt$$

Güç spektral yoğunluk fonksiyonu ise otokorelasyon fonksiyonunun Fourier Dönüşümüne (FD) uğratılması ile elde edilir ve aşağıdaki formül ile hesaplanır. Burada görülen t , zamanı; f , frekansı; R_{xx} , zaman bölgesindeki sinyali, S_{xx} ise frekans bölgesindeki sinyali göstermektedir.

$$S_{xx}(f) = 2 \int_{-\infty}^{+\infty} R_{xx}(T) \exp(-i2\pi fT) dT$$

3.6.2. Koherens Analizi

Koherens analizi iki EEG elektrodu arasında belirli bir frekansta açığa çıkan bağlantıyı gösteren bir ölçümdür. Dolayısıyla bu ölçümü kullanarak farklı elektrot çiftleri veya elektrot lokasyonları arasındaki işlevsel bağlantısallığın derecesini belirlemek mümkündür. Delta, teta, alfa, beta ve gama frekanslarındaki koherens ölçümleri interhemisferik FrA1-FrA2, TeA1-TeA2 ve H1-H2 ve intrahemisferik olarak FrA1-

TeA1, FrA1-H1, TeA1-H1, FrA2-TeA2, FrA2-H2 ve TeA2-H2 elektrot çiftleri arasında değerlendirilmiştir. Koherens değerleri 0-1 arasında değer alır ve yüksek koherens değeri, analizi gerçekleştirilen iki beyin bölgesi arasında yüksek bağlantının olduğunu ve dolayısıyla ilişki derecesinin kuvvetli olduğunu ifade eder. Matematiksel olarak irdelendiğinde, koherens fonksiyonu, $x(t)$ ve $y(t)$ gibi iki sinyalin arasındaki ilişkiyi ölçen bir fonksiyondur ve aşağıdaki formül ile ifade edilir.

$$C_{xy}(f) = \frac{|P_{xy}(f)|^2}{P_{xx}(f)P_{yy}(f)}$$

$C_{xy}(f)$, $x(t)$ ve $y(t)$ arasındaki çapraz spektral yoğunluk fonksiyonunu, $C_{xx}(f)$ ve $C_{yy}(f)$ ise sırası ile $x(t)$ ve $y(t)$ 'nin güç spektral yoğunluk fonksiyonlarını ifade etmektedir. Çapraz korelasyon veya çapraz güç spektrumu olarak da adlandırılan çapraz spektral yoğunluk fonksiyonu, $x(t)$ 'nin t zamanındaki ve $y(t)$ 'nin $t+\tau$ zamanındaki değerlerinin birbirleri ile çarpımının tüm T zamanına bölünerek ortalama alınması ile bulunur ve sonuç olarak kompleks bir fonksiyon elde edilir. $x(t)$ ve $y(t)$ sinyalleri ilişkili sinyaller ise 1'e yakın veya 1, değil ise 0'a yakın veya 0 olur. Çalışmamızda farklı elektrot bölgeleri arasındaki koherens değerleri yukarıdaki formül ile BrainVision Analyzer programı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.7. Biyokimyasal Yöntemler

Elektrofizyolojik kayıtların alınmasının ertesi günü ürethan anestezisi (i.p. %20'lik, 5 ml/kg) altında kardiyak kanül yerleştirilmiştir. Kanül aracılığıyla verilen heparinli izotonik ile beyin dokuları perfüze edilerek kandan arındırılmıştır. Bu işlemten sonra beyin dokuları sıvı nitrojen içerisinde dondurularak Aβ peptid seviyelerinin ölçümü ve NR1, NR2A, NR2B, GluR1, GluR2, CAMKII, CREB1, NeuN, PSD-95, SNAP25, SYP ve GFAP proteinlerinin ekspresyonlarının western blot tekniği ile değerlendirilmesi için -80°C'de saklanmıştır.

3.7.1. Western Blot Analizi

Sıvı nitrojen içerisinde dondurulmuş hipokampus numuneleri 250 mg'a 1.5 ml olacak şekilde proteaz inhibitör kokteyl (cOmplete Mini, EDTA-free protease inhibitor cocktail, 11836170001 Roche) tabletleri ilave edilen liziz tampon (50 mM Tris-HCl, 100 µM EDTA, 100 µM EGTA, %1 NP-40 Tergitol, %0.1 SDS, %0.1 Sodyum Deoksikolat, pH:7.4) ile homojenize edilmiştir. Homojenizasyonun ardından parçalanmış doku numuneleri +4°C sıcaklıkta 10000 x g'de 30 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra süpernatantlar elde edilmiştir. Alınan süpernatantlarda modifiye

Bradford yöntemine dayanan ticari bir kit ile protein miktarları ölçüldükten sonra süpernatantlar 250 µl'lik ependorflara konularak -80 °C'de tutulmuşlardır. NR1, NR2A, NR2B, GluR1, GluR2, CAMKII, CREB1, NeuN, PSD-95, SNAP25, SYP ve GFAP proteinlerinin ekspresyonlarının tayini SDS poliakrilamid jel elektroforezi ile gerçekleştirilmiştir. Bakılacak olan proteinin moleküler ağırlığına göre %8 ile %15 arasında konsantrasyona sahip jeller hazırlanmıştır. Her bir kuyucuğa eşit miktarda (30 µg) protein yüklenerek yaklaşık 2 ile 3 saat arasında bir süreyle 150 V 30 mA'de proteinlerin ayrıştırılması sağlanmıştır. Jel elektroforezi ile ayrıştırılan proteinler hızlı transfer sistemi (Trans-Blot Turbo BioRad) kullanılarak (25 V, 2 mA ve 20 dakika) poliviniliden diflorür (PVDF) membrana transfer edilmiştir. Transferin ardından membranlar 1 saat boyunca % 3-4'lük yağsız kuru süt tozu solüsyonu ile bloklanmış ve ardından 3 kez 5'er dakika yıkandıktan sonra her bir protein için oluşturulan çalışma dilüsyonlarında primer antikorlar ile oda sıcaklığında 2 saat boyunca inkübasyona bırakılmışlardır. Primer antikorlama sonrasında yıkama işlemi aynı şekilde yapıldıktan sonra primer antikora uygun olarak goat anti-mouse veya goat anti-rabbit IgG ile birleşen horseradish peroksidaz sekonder antikorlar kullanılmıştır. Son olarak, bağlı antikorlar kemiluminesans tabanlı HRP substrat sistemi (Pierce) kullanılarak tespit edilmiştir. Membranlar daha sonra karanlık odada filme (GE Healthcare Life Sciences, Amersham, UK) maruz bırakılıp, ardından tarama işlemi yapıldıktan sonra ImageJ yazılımı kullanılarak protein ekspresyonlarının analizi gerçekleştirilmiştir. Protein ekspresyonu, hedef protein ekspresyonunun GAPDH ekspresyonuna oranı olarak verilmiştir.

3.7.2. Antikorlar

Bu çalışmada kullanılan primer antikorlar Tablo 3.2' de marka-katalog numaraları, moleküler ağırlıkları ve dilüsyon oranları ile birlikte verilmiştir.

Tablo 3. 2. Çalışmada kullanılan primer antikorlara ait bilgiler

Primer Antikorlar	Marka-Katalog	Moleküler Ağırlığı	Dilüsyon
NR1	ABCCAM Anti-NMDAR1 antibody ab52177 Rabbit polyclonal	105 kDa	1/1000
NR2A	ABCCAM Anti-NMDAR2A antibody ab133265 Rabbit monoclonal	165 kDa	1/1000
NR2B	Cell Signaling Anti-NMDA Receptor2B (GluN2B) antibody #14544 Rabbit monoclonal	190 kDa	1/1000
GluR1	Santa Cruz Bio. GluR-1 (E-6) antibody Sc-13152 Mouse monoclonal	106 kDa	1/250
GluR2	Santa Cruz Bio. GluR-2 (7G6) antibody Sc-517265 Mouse monoclonal	100 kDa	1/250
CaMKII	Santa Cruz Bio. CaMKII (G-1) antibody Sc-5306 Mouse monoclonal	50 kDa	1/200
CREB1	Santa Cruz Bio. CREB-1 (D-12) antibody Sc-377154 Mouse monoclonal	43 kDa	1/250
NeuN	Boster Biological Technology Anti-NeuN Rabbit monoclonal Antibody #M11954	50 kDa	1/2000
PSD-95	Santa Cruz Bio. PSD-95 (2Q128) antibody Sc-71935 Mouse monoclonal	95 kDa	1/5000
SNAP-25	Santa Cruz Bio. SNAP-25 (20) antibody Sc-136267 Mouse monoclonal	25 kDa	1/2000
SYP	Santa Cruz Bio. SYP (4H255) antibody Sc-58301 Mouse monoclonal	38-48 kDa	1/500
GFAP	ABCCAM Anti-GFAP antibody ab7260 Rabbit polyclonal	55 kDa	1/10000
GAPDH	Thermo Scientific GAPDH Loading Control Antibody (MA5-15738) Mouse monoclonal	37 kDa	1/10000

3.7.3. Doku Amiloid Beta (A β) Peptid Seviyesinin Tayini

Hipokampus dokularında A β peptid seviyesinin tayini dokuya uyumlu ticari bir kit (Cat. AS-55554, SensoLyte Anti-Mouse/Rat β -Amyloid (1-42) Quantitative ELISA*Colorimetric*) kullanılarak yapılmıştır.

3.7.4. Protein Tayini

Hipokampus numunelerinde protein tayini modifiye Bradford yöntemine dayanan bir kit ile yapılmıştır (Bradford, 1976).

Reaktifler:

1. Standart solüsyon: 2 mg/ml sığır serum albümin (Albümin Bovine, Sigma A-8022)
2. Coomassie Plus Protein Assay Reagent (CPPA, Pierce-1856210) reaktifi

İşlemler:

1 μ l doku süpernatantı 999 μ l distile su ile sulandırıldıktan sonra (1:1000) üzerine 1 ml CPPA reaktifi eklenerek karışımın 595 nm'de absorbans değerleri spektrofotometrik olarak okunmuştur. Standart çalışması ise numune yerine artan konsantrasyonlarda (0, 2, 4, 8, 12, 16, 20 μ g/ μ l) 1:1000 sulandırmaya sahip BSA kullanılarak yapılmıştır. Ardından oluşturulan standart eğrisi kullanılarak dokulardaki protein miktarları hesaplanmıştır.

3.8. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel değerlendirme SPSS 23 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. ELISA verileri tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve onu takiben Tukey Post hoc testi ile incelenmiştir. Western Blot sonuçları Kruskal Wallis analizi ve onu takiben Mann-Whitney U Testi ile analiz edilmiştir.

Elektrofizyolojik parametreler deney grupları (Sham, A β 1, A β 2, A β 3,) olgular arası faktör, güç verileri için elektrot bölgeleri (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1, ve H2), koherens verileri için elektrot çiftleri (FrA1-TeA1, FrA1-H1, TeA1-H1, FrA2-TeA2, FrA2-H2, TeA2-H2, FrA1-FrA2, TeA1-TeA2 ve H1-H2) aynı olgu grubu içi faktörler olmak üzere tekrarlı ANOVA (rANOVA) testiyle değerlendirilmiştir. Greenhouse-Geisser düzeltilmiş p değerleri dikkate alınmış ve Post hoc analizler Bonferroni testi ile yapılmıştır. Bunlara ek olarak hipokampus A β 1-42 peptid seviyesi, öğrenme

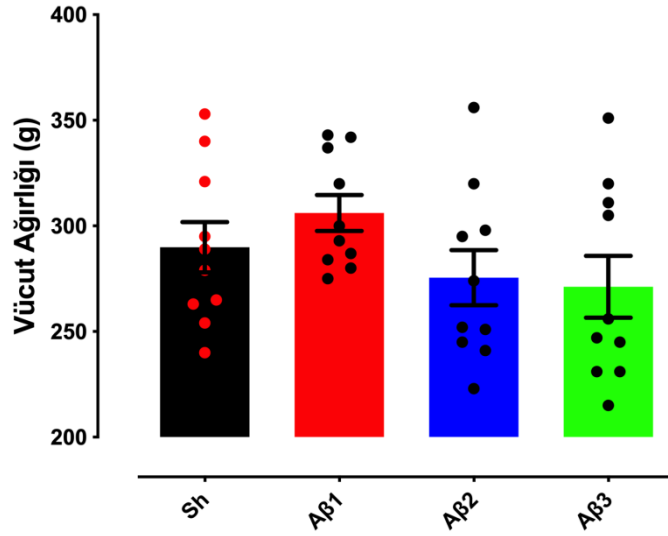
sonuçları ve spontan EEG aktivitesi değışimleri arasındaki ilişkiyi incelemek için ise Pearson korelasyon analizi kullanılmıştır. $p<0.05$ 'i sağlayan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Genel Görünüm

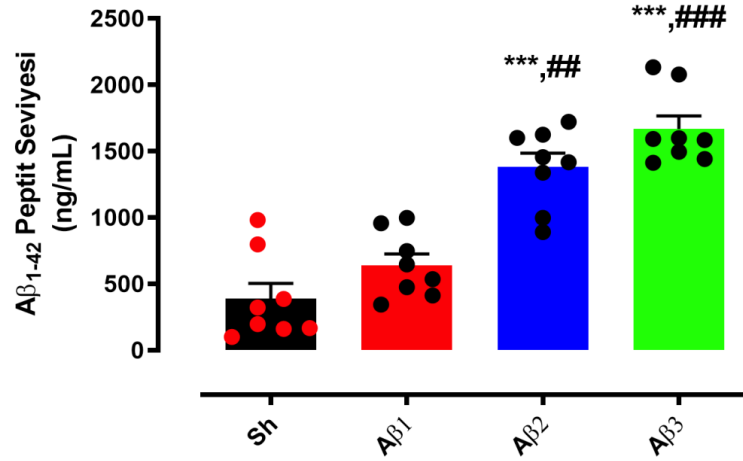
Deney süresince hayvanların genel görünüm ve davranışlarında herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Tüm deney gruplarında ağırlık artışı gerçekleşmiş, ancak ağırlık değişimlerinin ve yem tüketimlerinin gruplar arasında anlamlı bir fark göstermediği saptanmıştır. Elektrofizyolojik kayıtlar öncesi elde edilen vücut ağırlıkları Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4. 1. Sh ve Aβ gruplarına ait elektrofizyolojik kayıtlar öncesi alınan vücut ağırlıkları değerleri. Çalışmaya dahil edilen sıçanların vücut ağırlıkları arasında anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

4.2. Aβ₁₋₄₂ ELISA Sonuçları

Tek yönlü ANOVA ile yapılan analizlerde Aβ₁₋₄₂ düzeyi incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir [$F(3,28)= 34,96$ $p<0,001$]. Post hoc testler Aβ₁₋₄₂ düzeyinin Aβ₂ ve Aβ₃ gruplarında Sh ve Aβ₁ gruplarına göre anlamlı düzeyde arttığını göstermektedir (Sh grubuna kıyasla ***: $p<0,001$; ###: $p<0,001$ ve #: $p<0,01$ Aβ₁ grubuna kıyasla). Sh ve Aβ gruplarına ait hipokampus dokusunda gözlenen Aβ₁₋₄₂ peptid seviyesindeki değişimleri gösteren ELISA sonuçları Şekil 4.2’de ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

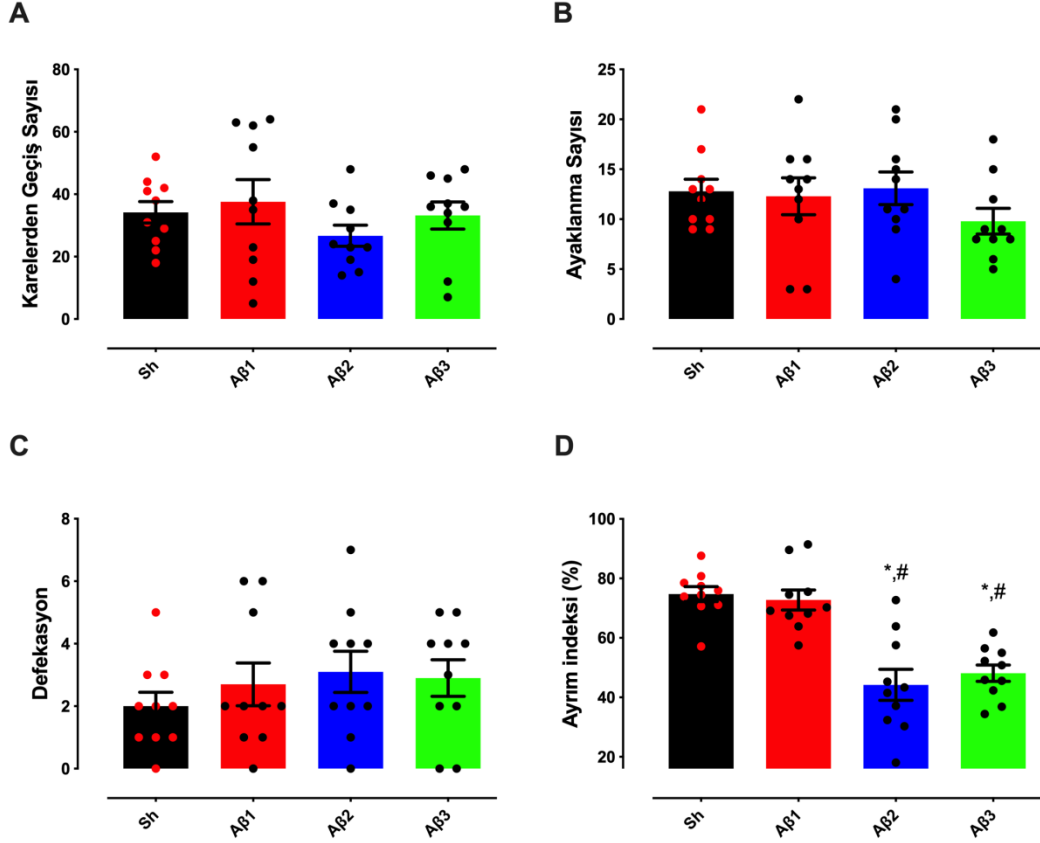


Şekil 4. 2. Sh ve Aβ gruplarına ait hipokampus dokusu Aβ₁₋₄₂ peptid seviyesindeki değişimleri gösteren ELISA sonuçları. Aβ-2 ve Aβ-3 gruplarında Sh ve Aβ-1 gruplarına kıyasla hipokampus Aβ₁₋₄₂ peptid seviyesinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (***: p<0,001 Sh grubuna kıyasla; ###: p<0,001 ve #: p<0,01 Aβ1 grubuna kıyasla). Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

4.3. Öğrenme Deneyi Sonuçları

Çok düşük ve farklı dozlardaki intrahipokampal Aβ uygulaması sonrasında sıçanların lokomotor aktiviteleri, keşif davranışları ve emosyonel durumları OFT ile incelenmiştir. Locomotor aktivite değişimleri için karelerden geçiş sayısı, keşif davranışı için ayaklanma sayıları ve emosyonel durumlarının değerlendirilmesi için ise defekasyon sayıları belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler (Tek Yönlü ANOVA) sonucunda beş dakika içerisinde sıçanların karelerden geçiş sayısı (Şekil 4.3A), ayaklanma (Şekil 4.3B) ve defekasyon (Şekil 4.3C) sayılarında gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir (p>0,05).

İntrahipokampal Aβ uygulamasının obje tanıma hafızasına etkisi NOR testi ile belirlenmiştir. Test (hatırlama) günü elde edilen kayıtlar incelenerek her bir objede geçirilen süre ve objeleri incelerken geçirilen toplam süre belirlenmiştir. Bir nesnenin incelenmesi, sıçanın burnunu nesneye 1 cm'den az olacak şekilde uzatması veya objeye dokunması olarak tanımlanmıştır. Objeye tanıma paradigmasında test günü elde edilen % "ayırım indeksi" verileri tek yönlü ANOVA ile incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılıkların olduğu tespit edilmiştir [F(3,36)=19,54 p<0,001]. Post hoc testler sonucunda ise ayırım indeksinin Aβ₂ ve Aβ₃ gruplarında Sh ve Aβ₁ grubuna göre anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir (p<0,05) (Şekil 4.3D).



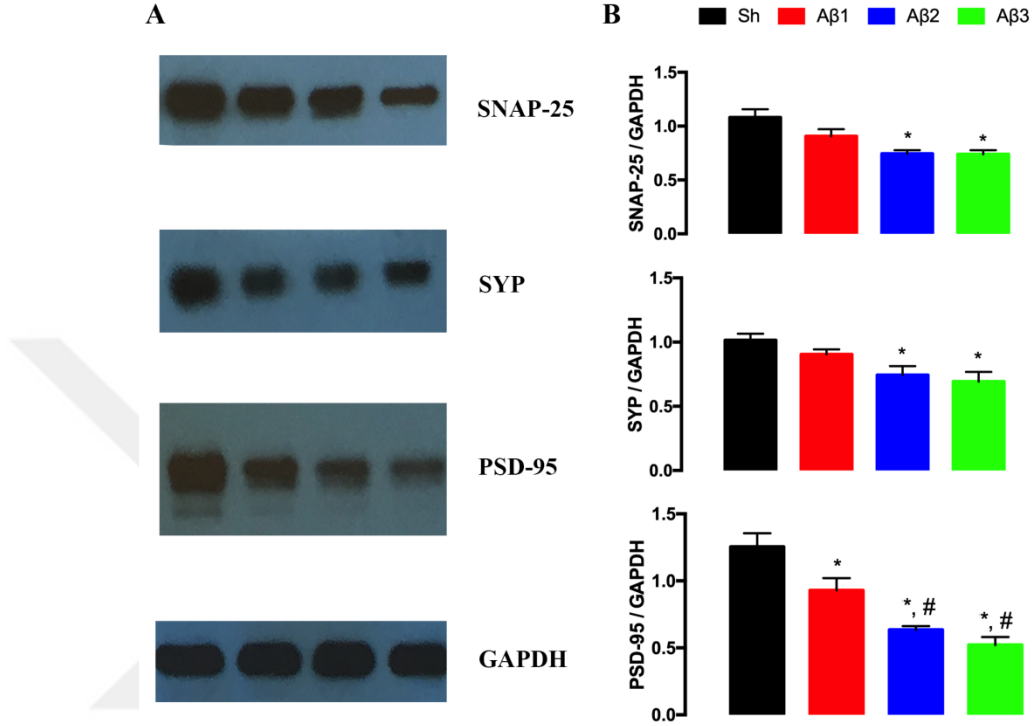
Şekil 4.3. Sh ve Aβ gruplarına ait açık alan testi ve yeni obje tanıma testi sonuçları. (A) Sıçanların horizontal düzlemdeki hareketleri (5 dakika içinde geçilen kare sayısı), (B) Vertikal düzlemdeki hareketleri (5 dakika içinde arka ekstremiteleri üzerindeki yükselme sayıları), (C) defekasyon sayıları ve (D) ayırım indeksi sonuçları. Sh grubuna kıyasla *: $p < 0,05$; Aβ1 grubuna kıyasla #: $p < 0,05$. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata şeklinde verilmiştir.

4.4. Western Blot Sonuçları

Western blot ile elde edilen protein bantlarının non-parametrik olarak analizi neticesinde Kruskal Wallis testi tüm proteinler için gruplar arasında istatistiksel fark olduğunu göstermiştir ($\chi^2(3)_{PSD-95} = 12.507$, $\chi^2(3)_{SNAP-25} = 9.750$, $\chi^2(3)_{SYP} = 8.89$, $\chi^2(3)_{GFAP} = 11.801$, $\chi^2(3)_{NR1} = 13.169$, $\chi^2(3)_{NR2A} = 10.213$, $\chi^2(3)_{NR2B} = 8.436$, $\chi^2(3)_{NeuN} = 11.891$, $\chi^2(3)_{GluR1} = 10.368$, $\chi^2(3)_{GluR2} = 12.162$, $\chi^2(3)_{CREB1} = 8.735$, $\chi^2(3)_{CaMKII} = 10.412$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney-U testi ile yapılmıştır.

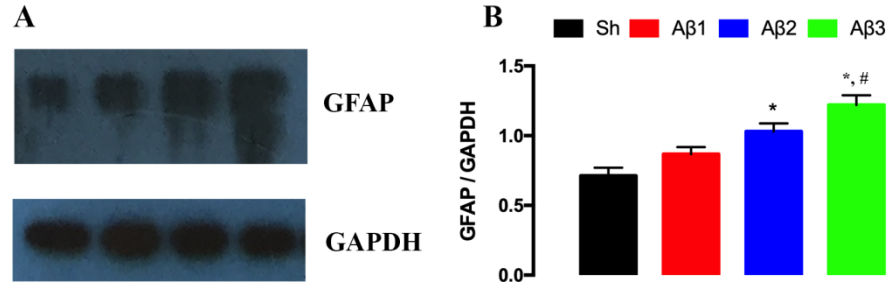
PSD-95 protein düzeyinin tüm Aβ gruplarında Sh grubuna göre ($p < 0,05$), Aβ2 ve Aβ3 gruplarında ise Aβ1 grubuna göre anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır ($p < 0,05$). SNAP25 protein düzeyi incelendiğinde ise Aβ2 ve Aβ3 gruplarında Sh grubuna göre anlamlı azalma bulunmuş ($p < 0,05$), Aβ grupları arasında ise herhangi bir fark izlenmemiştir. SYP protein düzeyinin Aβ2 ve Aβ3 gruplarında Sh grubuna göre

anlamli derecede azaldigi tespit edilmiştir ($p<0,05$). Sh ve A β gruplarına ait hipokampus dokusundaki PSD-95, SNAP-25 ve SYP protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüleri ve ekspresyon analizleri Şekil 4.4’de ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.



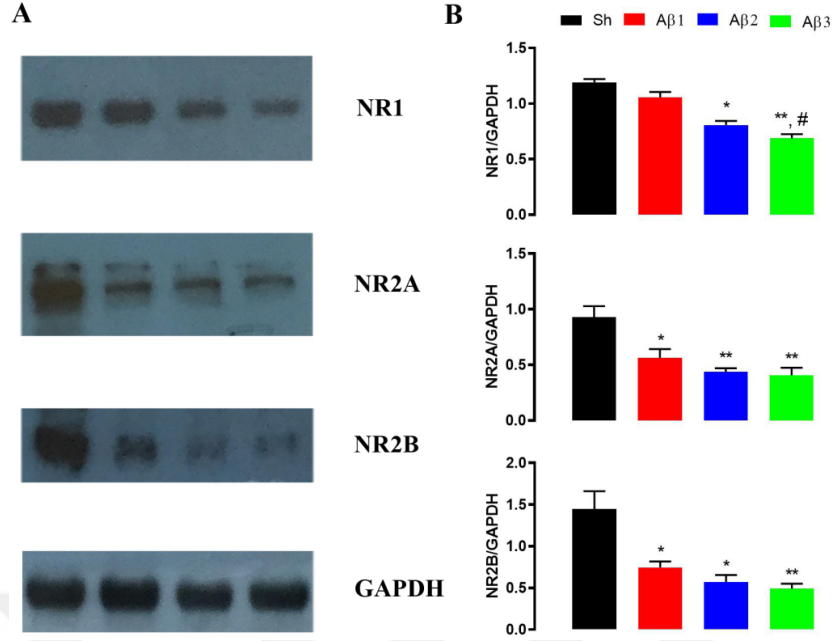
Şekil 4. 4. Sh ve A β gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) PSD-95, SNAP-25 ve SYP protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüleri ve (B) ekspresyon analizleri. Her bir proteinin ekspresyonu referans protein olan GAPDH’ye göre normalize edilmiştir. Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Sh grubuna kıyasla *: $p<0,05$; A β 1 grubuna kıyasla #: $p<0,05$. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

GFAP ekspresyonları değerlendirildiğinde ise A β 2 ve A β 3 gruplarında Sh grubuna göre anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$). Öte yandan A β grupları arasındaki karşılaştırmalarda da protein düzeyinin A β 3 grubunda A β 1 grubuna göre anlamlı derecede azaldığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Sh ve A β gruplarına ait hipokampus dokusundaki GFAP protein ekspresyonunun temsili western blot görüntüsü ve ekspresyon analizleri Şekil 4.5’de ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.



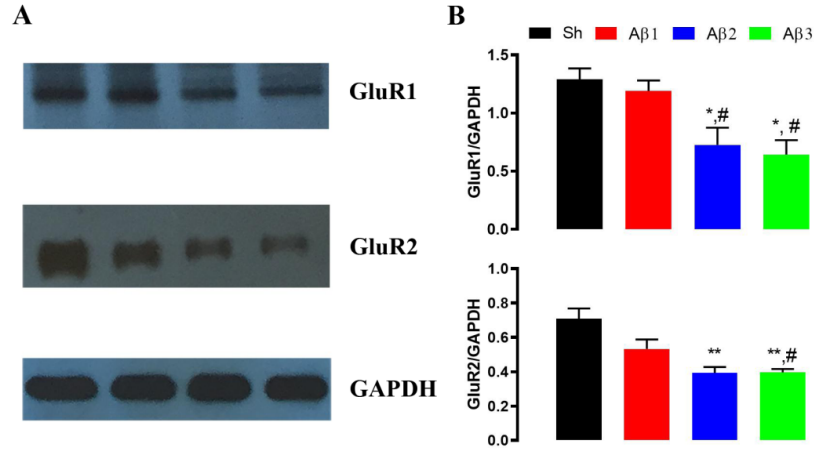
Şekil 4. 5. Sh ve Aβ gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) GFAP protein ekspresyonunun temsili western blot görüntüsü ve (B) ekspresyon analizleri. GFAP protein ekspresyonu referans protein olan GAPDH'ye göre normalize edilmiştir. Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Sh grubuna kıyasla *: $p < 0,05$; Aβ1 grubuna kıyasla #: $p < 0,05$. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

NMDA reseptör alt birimlerinden olan NR1, NR2A ve NR2B proteinlerinin ekspresyonlarındaki değişimler Western Blot tekniği ile incelenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda NR1 protein seviyesinde Aβ2 ($p < 0,05$) ve Aβ3 ($p < 0,01$) gruplarında Sh grubuna göre anlamlı derecede azalmalar gözlenmiştir. Aβ grupları arasındaki karşılaştırmada ise sadece Aβ3 grubunda Aβ1 grubuna göre anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir ($p < 0,05$). NR2A protein seviyesinde Aβ1 ($p < 0,05$), Aβ2 ($p < 0,01$) ve Aβ3 ($p < 0,01$) gruplarında Sh grubuna göre anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir. Aβ grupları arasındaki karşılaştırmada ise anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Öte yandan, NR2B alt birim seviyesinde ise Aβ1 ($p < 0,05$), Aβ2 ($p < 0,05$) ve Aβ3 ($p < 0,01$) gruplarında Sh grubuna göre anlamlı derecede azalmalar gözlenirken, Aβ grupları arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir. Sh ve Aβ gruplarına ait hipokampus dokusundaki NR1, NR2A ve NR2B protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüsü ve ekspresyon analizleri Şekil 4.6'da ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 4. 6. Sh ve Aβ gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) NR1, NR2A ve NR2B protein ekspresyonlarının temsili Western Blot görüntüleri ve (B) ekspresyon analizleri. Protein ekspresyonları referans protein olan GAPDH'ye göre normalize edilmiştir. Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Sh grubuna kıyasla *: $p<0,05$, **: $p<0,01$; Aβ1 grubuna kıyasla #: $p<0,05$. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

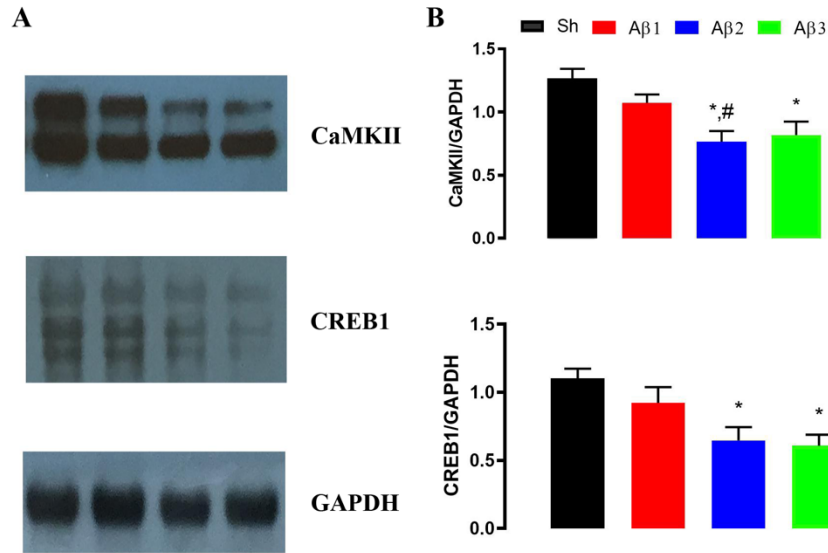
Çok düşük ve farklı dozlardaki intrahipokampal Aβ uygulamasının ardından AMPA reseptör alt birimlerinden olan GluR1 ve GluR2 proteinlerinin ekspresyonlarındaki değişimler de incelenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda GluR1 protein ekspresyonlarının Aβ2 ve Aβ3 gruplarında, Sh ve Aβ1 gruplarına göre anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Öte yandan GluR2 ekspresyonları incelendiğinde Aβ2 ve Aβ3 gruplarında Sh grubuna göre ($p<0,01$), Aβ3 grubunda ise Aβ1 grubuna göre ($p<0,05$) anlamlı bir azalma saptanmıştır. Sh ve Aβ gruplarına ait hipokampus dokusundaki GluR1 ve GluR2 protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüsü ve ekspresyon analizleri Şekil 4.7'de ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 4. 7. Sh ve Aβ gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) GluR1 ve GluR2 protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüleri ve (B) ekspresyon analizleri. Protein ekspresyonları referans protein olan GAPDH'ye göre normalize edilmiştir. Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Sh grubuna kıyasla *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$; Aβ1 grubuna kıyasla #: $p < 0,05$. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

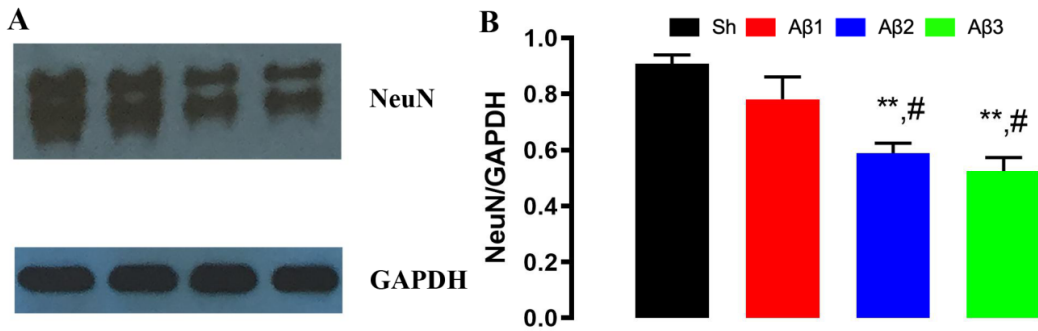
Çok düşük ve farklı dozlardaki intrahipokampal Aβ uygulamasının ardından öğrenme ve sinaptik plastisite ile yakından ilişkili proteinler olan CaMKII ve CREB1 protein düzeylerindeki değişim western blot tekniği ile incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda CaMKII ekspresyon düzeylerinde tüm Aβ gruplarında Sh grubuna göre bir azalma gözlenmiştir ancak bu değişim Aβ2 ve Aβ3 gruplarında anlamlı bir düzeye ulaşmıştır ($p < 0,05$). Aβ grupları arasındaki karşılaştırmada ise Aβ2 grubunda Sh grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Öte yandan, CREB1 protein ekspresyonlarında ise Aβ2 ve Aβ3 gruplarında Sh grubuna göre anlamlı bir azalma izlenirken ($p < 0,05$), Aβ grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Sh ve Aβ gruplarına ait hipokampus dokusundaki CaMKII ve CREB1 protein ekspresyonlarının temsili Western Blot görüntüsü ve ekspresyon analizleri Şekil 4.8'de ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

İntrahipokampal enjeksiyonun nöronal kayıp üzerine etkisini incelemek için ağırlıklı olarak postmitotik nöronların çekirdeğinde bulunan ve dolayısıyla nöronlara spesifik bir belirteç olan (Verdiev ve ark., 2009) NeuN proteininin ekspresyon değişimleri incelenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda Aβ2 ve Aβ3 gruplarında, Sh ($p < 0,01$) ve Aβ1 ($p < 0,05$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı azalmalar tespit edilmiştir.



Şekil 4. 8. Sh ve Aβ gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) CaMKII ve CREB1 protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüleri ve (B) ekspresyon analizleri. Protein ekspresyonları referans protein olan GAPDH'ye göre normalize edilmiştir. Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Sh grubuna kıyasla *: $p < 0,05$; Aβ1 grubuna kıyasla #: $p < 0,05$. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

Sh ve Aβ gruplarına ait hipokampus dokusundaki NeuN protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüsü ve ekspresyon analizleri Şekil 4.9'da ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 4. 9. Sh ve Aβ gruplarına ait hipokampus dokusundaki (A) NeuN protein ekspresyonlarının temsili western blot görüntüleri ve (B) ekspresyon analizleri. Protein ekspresyonları referans protein olan GAPDH'ye göre normalize edilmiştir. Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Sh grubuna kıyasla **: $p < 0,01$; Aβ1 grubuna kıyasla #: $p < 0,05$. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

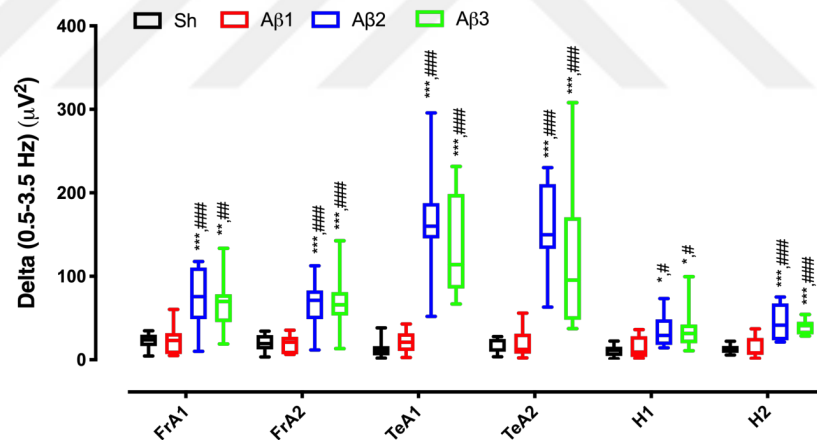
4.5. Spontan EEG Güç Spektrum Analizi Sonuçları

Sh ve Aβ gruplarına ait sağ hipokampal bölgeden elde edilen beş farklı frekans bandını gösteren güç spektrumu Şekil 4.10'da verilmiştir. Tüm deney grupları için spontan EEG yanıtlarındaki delta, teta, alfa, beta ve gama bantlarına ait spektral güç değerleri ortalama ve minimum-maksimum değerler olarak Şekli 4.11, 4.12, 4.13, 4.14 ve

4.15’de gösterilmiştir. Bu değerler her bir sıçan için 2 saniyelik süpürümlerde gerçekleştirilen HFD analizlerindeki ilgili bandın pik değerlerinin belirlenip tüm grubun ortalaması alınarak elde edilmiştir.

4.5.1. Delta Bandı Güç Spektrum Analizi Sonuçları

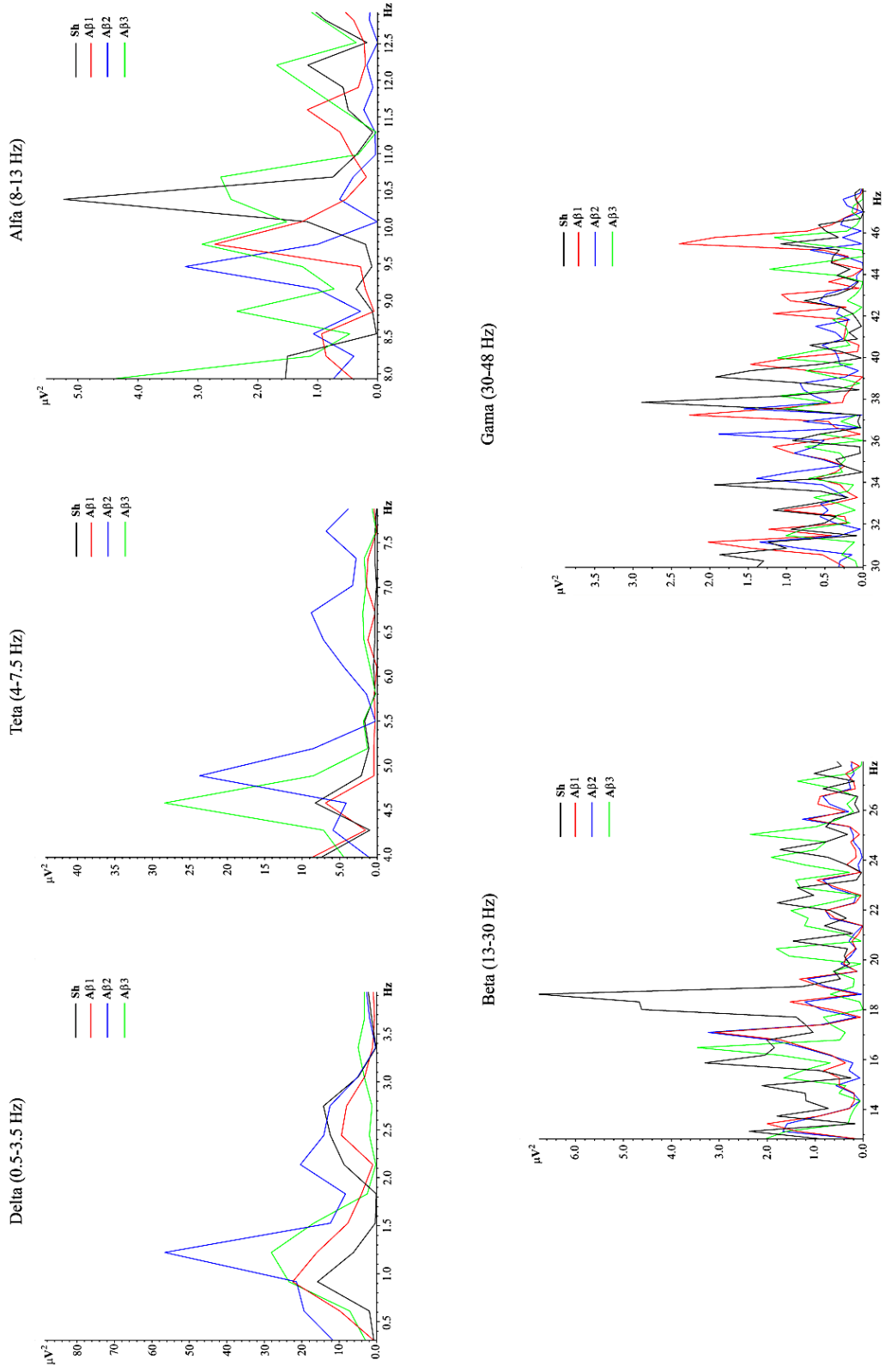
İstatistiksel olarak incelendiğinde tekrarlı varyans analizi (ANOVA) testinde gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir [$F(3,43)= 46,12$ $p<0,001$]. Post hoc testler sonucunda delta güç değerlerinin A β 2 ve A β 3 gruplarında Sh ve A β 1 gruplarına göre anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. İlâveten bölge [$F(5,39)= 14,28$ $p<0,001$] ve bölge x grup [$F(15,123)= 2,46$ $p<0,01$] etkileşiminin anlamlı olduğu saptanmıştır. Ancak post hoc testler delta gücünün tüm bölgelerde A β 2 ve A β 3 gruplarında Sh grubuna göre anlamlı derecede arttığını göstermektedir. A β grupları arasındaki karşılaştırmalarda ise delta güç değerlerinin tüm bölgelerde A β 2 ve A β 3 gruplarında A β 1 grubuna göre anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir. Sh ve A β grupları için altı farklı elektrot bölgesinden (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) elde edilen delta güç spektrum sonuçları Şekil 4.11’de verilmiştir.



Şekil 4. 10. Sh ve A β gruplarına ait altı elektrot bölgesindeki (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) spontan EEG delta (0,5-4 Hz) güç değerleri. ***: $p < 0,001$ ve *: $p < 0,05$ (Sham grubuna kıyasla); ###: $p < 0,001$, ##: $p < 0,01$ ve #: $p < 0,05$ (A β 1 grubuna kıyasla). Sonuçlar ortalama ve minimum-maksimum değerler olarak verilmiştir.

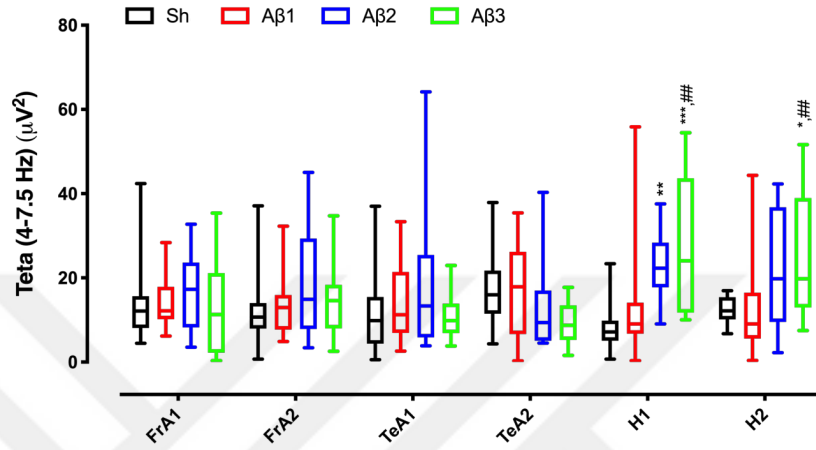
4.5.2. Teta Bandı Güç Spektrum Analizi Sonuçları

Tekrarlı ANOVA testinde gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir [$F(3,54)= 3,60$ $p<0,05$]. Post hoc testler sonucunda teta güç değerlerinin A β 2 ve A β 3 gruplarında Sham grubuna göre anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. Ayrıca bölge x grup [$F(15,156)= 2,05$ $p<0,05$] etkileşiminin anlamlı olduğu saptanmıştır.



Şekil 4. 11. Sh ve A β gruplarına ait sağ hipokampus bölgesinden kaydedilen delta (0,5-3,5 Hz), teta (4-7,5 Hz), alfa (8-13 Hz), beta (13-30 Hz) ve gama (30-48 Hz) frekans bantlarındaki temsili güç spektrum değişimleri.

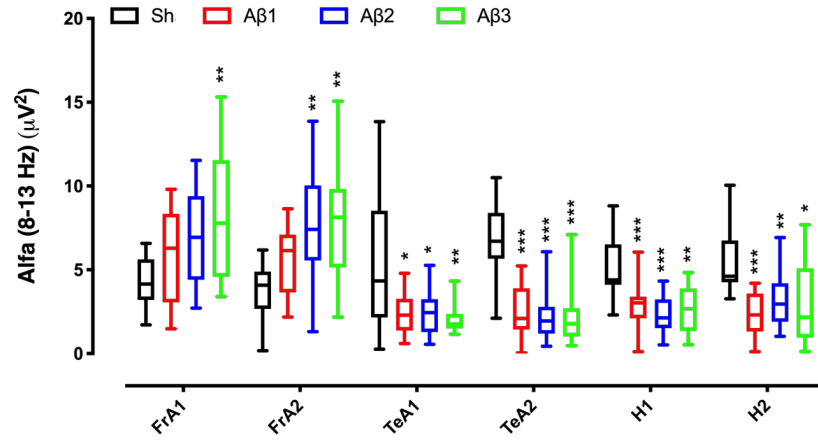
Post hoc testler teta gücünün H1 bölgesinde A β 1 grubuna göre A β 2 ve A β 3 gruplarında; H2 bölgesinde Sh grubuna göre A β 3 grubunda anlamlı derecede arttığını göstermektedir. Sh ve A β grupları için altı farklı elektrot bölgesinden (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) elde edilen teta güç spektrum sonuçları Şekil 4.12’de verilmiştir.



Şekil 4. 12. Sh ve A β gruplarına ait altı elektrot bölgesindeki (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) spontan EEG teta (4-7,5 Hz) güç değerleri. ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$ ve *: $p < 0,05$ (Sham grubuna kıyasla); ##: $p < 0,01$ (A β 1 grubuna kıyasla). Sonuçlar ortalama ve minimum-maksimum değerler olarak verilmiştir.

4.5.3. Alfa Bandı Güç Spektrum Analizi Sonuçları

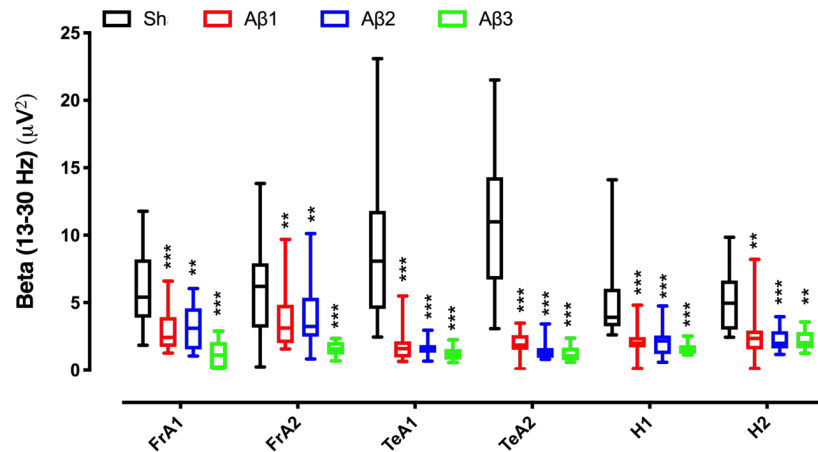
İstatistiksel analizlerde tekrarlı ANOVA neticesinde gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır [$F(3,48) = 5,46$ $p < 0,01$]. Post hoc testler sonucunda alfa güç değerlerinin A β 1 grubunda Sh grubuna göre anlamlı derecede değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca bölge [$F(5,44) = 17,03$ $p < 0,001$] ve (bölge x grup) [$F(15,138) = 2,83$ $p < 0,01$] etkileşiminin anlamlı olduğu saptanmıştır. Post hoc testler alfa gücünün Sh grubuna göre FrA1 bölgesinde A β 3 grubunda, FrA2 bölgesinde A β 2 ve A β 3 gruplarında arttığını, TeA1, TeA2, H1 ve H2 bölgelerinde ise Sh grubuna göre tüm A β gruplarında anlamlı derecede azaldığını göstermektedir. A β grupları arasındaki karşılaştırmalarda ise anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sh ve A β grupları için altı farklı elektrot bölgesinden (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) elde edilen alfa güç spektrum sonuçları Şekil 4.13’de verilmiştir.



Şekil 4. 13. Sh ve Aβ gruplarına ait altı elektrot bölgesindeki (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) spontan EEG alfa (8-13 Hz) güç değerleri. ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$ ve *: $p < 0,05$ (Sham grubuna kıyasla). Sonuçlar ortalama ve minimum-maksimum değerler olarak verilmiştir.

4.5.4. Beta Bandı Güç Spektrum Analizi Sonuçları

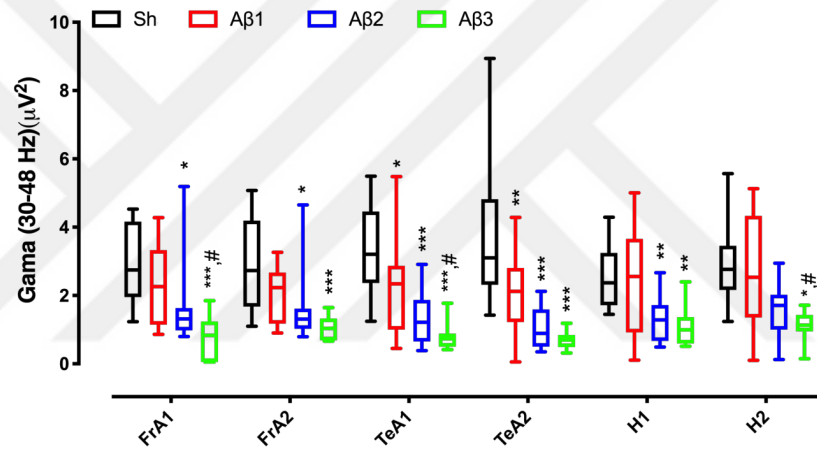
Tekrarlı ANOVA testi sonuçları gruplar arasında anlamlı bir değişim olduğunu göstermektedir [$F(3,49) = 42,91$ $p < 0,001$]. Ayrıca bölge [$F(5,45) = 8,53$ $p < 0,001$] ve bölge x grup [$F(15,141) = 4,54$ $p < 0,001$] etkileşiminin anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Post hoc testler beta gücünün tüm bölgelerde Aβ gruplarında Sh grubuna göre anlamlı derecede azaldığını göstermektedir. Aβ grupları arasındaki karşılaştırmalarda ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Sh ve Aβ grupları için altı farklı elektrot bölgesinden (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) elde edilen beta güç spektrum sonuçları Şekil 4.14’de verilmiştir.



Şekil 4. 14. Sh ve Aβ gruplarına ait altı elektrot bölgesindeki (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) spontan EEG beta (13-30 Hz) güç değerleri. ***: $p < 0,001$ ve **: $p < 0,01$ (Sham grubuna kıyasla). Sonuçlar ortalama ve minimum-maksimum değerler olarak verilmiştir.

4.5.5. Gama Bandı Güç Spektrum Analizi Sonuçları

İstatistiksel analizlerde tekrarlı ANOVA neticesinde gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır [$F(3,44)= 22,99$ $p<0,001$]. Bölge [$p>0,05$] ve bölge x grup [$p>0,05$] etkileşimlerinde anlamlı değişim bulunmamıştır. Post hoc testler sonucunda gama gücünün TeA1 ve TeA2 bölgelerinde tüm A β gruplarında; FrA1, FrA2 ve H1 bölgelerinde A β 2 ve A β 3 gruplarında, H2 bölgesinde ise A β 3 grubunda Sh grubuna göre anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir. A β grupları arasındaki karşılaştırmalarda ise sadece FrA1, TeA1 ve H2 bölgelerinde A β 1 grubuna göre A β 3 grubu gama güç değerlerinde anlamlı düzeyde azalmalar tespit edilmiştir. Sh ve A β grupları için altı farklı elektrot bölgesinden (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) elde edilen gama güç spektrum sonuçları Şekil 4.15’de verilmiştir.



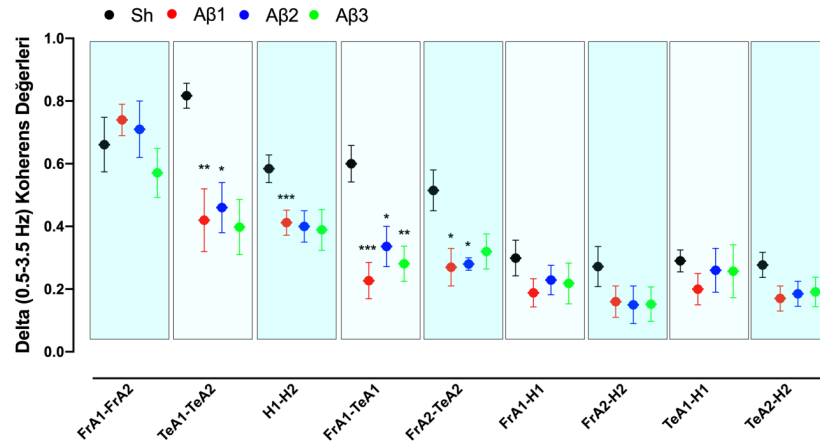
Şekil 4. 15. Sh ve A β gruplarına ait altı elektrot bölgesindeki (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) spontan EEG gama (30-48 Hz) güç değerleri. ***: $p<0,001$, **: $p<0,01$ ve *: $p<0,05$ (Sham grubuna kıyasla); ##: $p<0,01$ ve #: $p<0,05$ (A β 1 grubuna kıyasla). Sonuçlar ortalama ve minimum-maksimum değerler olarak verilmiştir.

4.6. Spontan EEG Koherens Analizi Sonuçları

4.6.1. Delta Bandı Koherens Sonuçları

İstatistiksel analizlerde tekrarlı ANOVA testinde gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir [$F(3,36)= 4,32$ $p<0,05$]. Post hoc testler delta koherens değerlerinin A β gruplarında Sh grubuna göre anlamlı derecede azaldığını göstermektedir. Ayrıca bölge [$F(8,29)= 28,20$ $p<0,001$] ve bölge x grup [$F(24,93)= 1,76$ $p<0,05$] etkileşiminin anlamlı olduğu saptanmıştır. Post hoc testler Sh grubuna göre kıyaslandığında delta bandı koherens değerlerinin (FrA1-TeA1) elektrot çiftinde tüm A β gruplarında, (FrA2-TeA2) ve (TeA1-TeA2) elektrot çiftlerinde A β 1 ve A β 2 gruplarında, (H1-H2) elektrot çiftinde ise A β 1 grubunda anlamlı düzeyde azaldığını

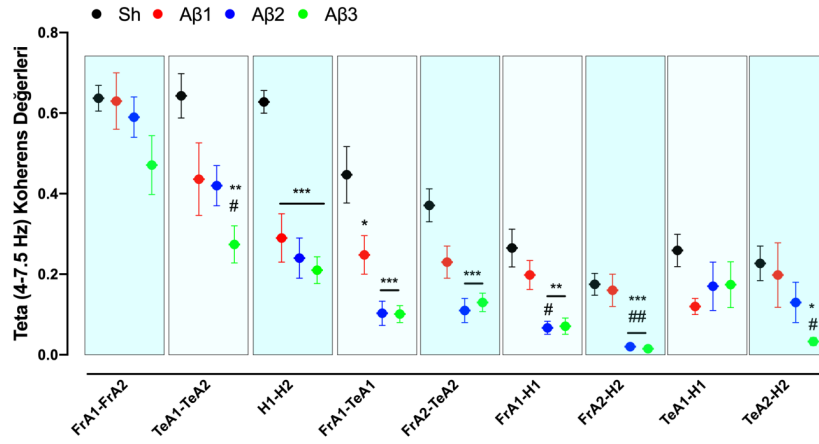
göstermektedir. Sonuçlar, dokuz farklı elektrot çifti için oluşturulan delta bandı koherens değerlerini gösteren Şekil 4.16'da ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 4. 16. Sh ve Aβ gruplarına ait delta frekans bandında gözlenen interhemisferik ve intrahemisferik bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri. ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$ ve *: $p < 0,05$ (Sham grubuna kıyasla). Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

4.6.2. Teta Bandı Koherens Sonuçları

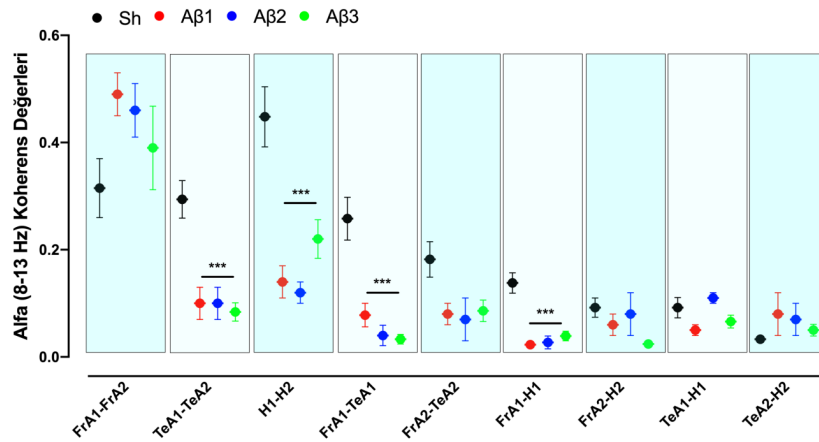
Tekrarlı ANOVA testinde gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir [$F(3,36) = 15,04$ $p < 0,001$]. Post hoc testler teta bandı koherens değerlerinin Aβ2 ve Aβ3 gruplarında Sh grubuna göre ve Aβ3 grubu teta bandı koherens değerlerinin ise Aβ1 grubuna göre anlamlı derecede azaldığını göstermektedir. Ayrıca bölge [$F(8,29) = 51,21$ $p < 0,001$] ve (bölge x grup) [$F(24,93) = 2,70$ $p < 0,001$] etkileşiminin anlamlı olduğu belirlenmiştir. Post hoc testler neticesinde teta bandı koherens değerlerinin Sh grubuna göre: (FrA1-TeA1) ve (H1-H2) elektrot çiftlerinde tüm Aβ gruplarında; (FrA1-H1), (FrA2-TeA2) ve (FrA2-H2) elektrot çiftlerinde Aβ2 ve Aβ3 gruplarında; (TeA1-TeA2) elektrot çiftinde ise sadece Aβ3 grubunda anlamlı düzeyde azaldığı saptanmıştır. Aβ grupları arasındaki karşılaştırmalarda Aβ2 teta bandı koherens değerlerinin Aβ1 grubuna göre (FrA1-H1) elektrot çiftinde; Aβ2 ve Aβ3 grupları teta bandı koherens değerlerinin Aβ1 grubuna göre (FrA2-H2) elektrot çiftinde; Aβ3 grubu teta koherens değerlerinin Aβ1 grubuna göre (TeA2-H2) ve (TeA1-TeA2) elektrot çiftlerinde anlamlı şekilde azaldığı gözlenmiştir. Sonuçlar, dokuz farklı elektrot çifti için oluşturulan teta bandı koherens değerlerini gösteren Şekil 4.17'de ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 4. 17. Sh ve Aβ gruplarına ait teta frekans bandında gözlenen interhemisferik ve intrahemisferik bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri. ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$ ve *: $p < 0,05$ (Sham grubuna kıyasla). ##: $p < 0,01$ ve #: $p < 0,05$ (Aβ1 grubuna kıyasla). Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

4.6.3. Alfa Bandı Koherens Sonuçları

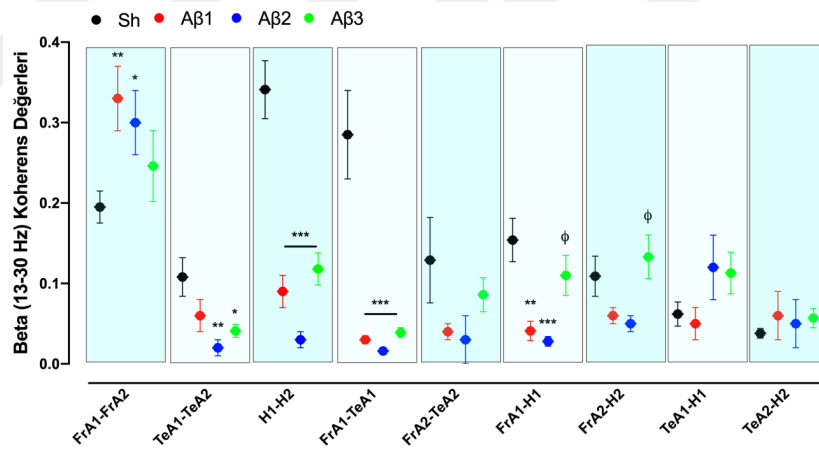
Tekrarlı ANOVA testinde gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir [$F(3,36) = 15,21$ $p < 0,001$]. Post hoc testler alfa bandı koherens değerlerinin tüm Aβ gruplarında Sh grubuna göre anlamlı derecede azaldığını göstermektedir. Ayrıca bölge [$F(8,29) = 29,05$ $p < 0,001$] ve (bölge x grup) [$F(24,93) = 3,00$ $p < 0,001$] etkileşiminin anlamlı olduğu belirlenmiştir. Post hoc testler neticesinde alfa bandı koherens değerlerinin Sh grubuna göre: (FrA1-TeA1), (FrA1-H1), (TeA1-TeA2) ve (H1-H2) elektrot çiftlerinde tüm Aβ gruplarında anlamlı düzeyde azaldığı bulunmuştur. Sonuçlar, dokuz farklı elektrot çifti için oluşturulan alfa bandı koherens değerlerini gösteren Şekil 4.18’de ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 4. 18. Sh ve Aβ gruplarına ait teta frekans bandında gözlenen interhemisferik ve intrahemisferik bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri. ***: $p < 0,001$ (Sham grubuna kıyasla). Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

4.6.4. Beta Bandı Koherens Sonuçları

Tekrarlı ANOVA testinde gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir [$F(3,36)= 8,55$ $p<0,001$]. Post hoc testler beta bandı koherens değerlerinin tüm A β gruplarında Sh grubuna göre anlamlı derecede azaldığını göstermektedir. Ayrıca bölge [$F(8,29)= 20,53$ $p<0,001$] ve (bölge x grup) [$F(24,93)= 3,49$ $p<0,001$] etkileşiminin anlamlı olduğu belirlenmiştir. Post hoc testler neticesinde beta bandı koherens değerlerinin Sh grubuna göre: (FrA1-TeA1) ve (H1-H2) elektrot çiftlerinde tüm A β gruplarında azaldığı; (FrA1-H1) elektrot çiftinde A β 1 ve A β 2 gruplarında azaldığı; (FrA1-FrA2) elektrot çiftinde A β 1 ve A β 2 gruplarında arttığı; (TeA1-TeA2) elektrot çiftinde A β 2 ve A β 3 gruplarında anlamlı düzeyde azaldığı saptanmıştır. A β grupları arasındaki karşılaştırmalarda ise A β 3 grubu beta bandı koherens değerinin A β 2 grubuna göre (FrA1-H1) ve (FrA2-H2) elektrot çiftlerinde anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir. Sonuçlar, dokuz farklı elektrot çifti için oluşturulan beta bandı koherens değerlerini gösteren Şekil 4. 19'da ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

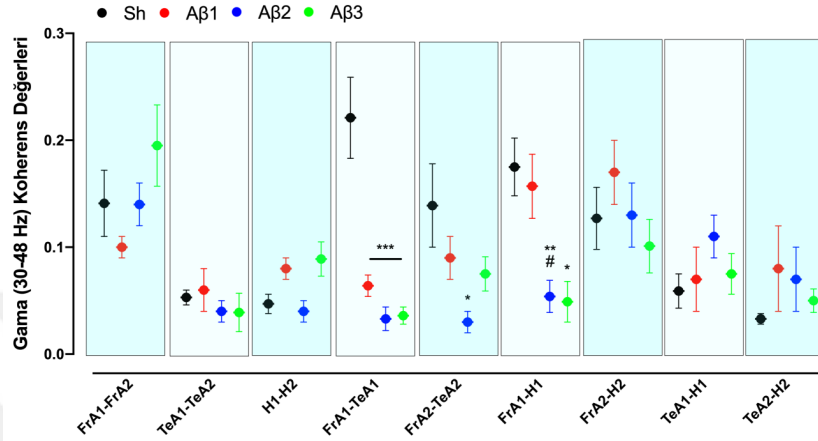


Şekil 4. 19. Sh ve A β gruplarına ait teta frekans bandında gözlenen interhemisferik ve intrahemisferik bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri. ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$ ve *: $p < 0,05$ (Sham grubuna kıyasla). Φ : $p < 0,05$ (A β 2 grubuna kıyasla). Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

4.6.5. Gama Bandı Koherens Sonuçları

Tekrarlı ANOVA testinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır [$p>0,05$]. Ancak bölge [$F(8,29)= 5,56$ $p<0,001$] ve (bölge x grup) [$F(24,93)= 3,21$ $p<0,001$] etkileşiminin anlamlı olduğu saptanmıştır. Post hoc testler neticesinde gama bandı koherens değerlerinin Sh grubuna göre: (FrA1-TeA1) elektrot çiftinde tüm A β gruplarında; (FrA1-H1) elektrot çiftinde A β 2 ve A β 3 gruplarında; (FrA2-TeA2)

elektrot çiftinde ise sadece A β 2 grubunda anlamlı düzeyde azaldığı saptanmıştır. A β grupları arasındaki karşılaştırmalarda ise gama bandı koherens değerlerinde A β 2 grubunda A β 1 grubuna göre (FrA1-H1) elektrot çiftinde anlamlı düzeyde azalma tespit edilmiştir. Sonuçlar, dokuz farklı elektrot çifti için oluşturulan gama bandı koherens değerlerini gösteren Şekil 4.20’de ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

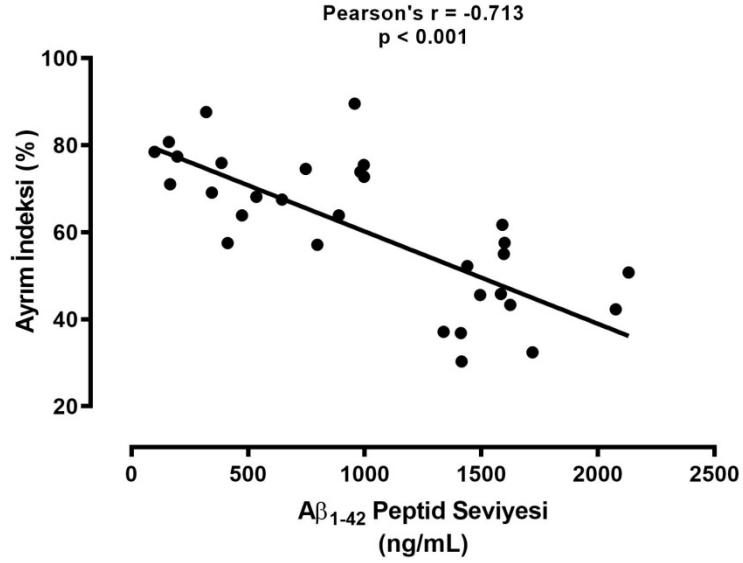


Şekil 4.20. Sh ve A β gruplarına ait teta frekans bandında gözlenen interhemisferik ve intrahemisferik bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri. ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$ ve *: $p < 0,05$ (Sham grubuna kıyasla). #: $p < 0,05$ (A β 1 grubuna kıyasla). Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

4.7. Korelasyon Analizi Sonuçları

4.7.1. Hipokampus A β ₁₋₄₂ Peptid Seviyesi ve Ayrım İndeksi Değişimi Arasındaki İlişki

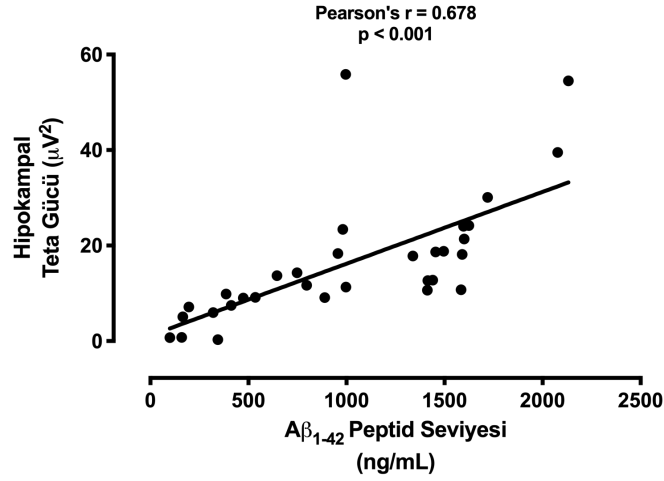
Hipokampus dokusu A β ₁₋₄₂ peptid seviyeleri ile ayrım indeksinde gözlenen değişiklikler arasındaki ilişkiyi tespit etmek için Pearson korelasyon analizi kullanılmıştır. Yapılan analiz sonucunda hipokampus A β ₁₋₄₂ peptid seviyesi ile ayrım indeksinde gözlenen değişimler arasında negatif bir ilişkinin (Pearson $r = -0,713$, $p < 0,001$) (Şekil 4.21) olduğu tespit edilmiştir. Korelasyon analizinin sonuçları hipokampal A β ₁₋₄₂ peptid seviyesinin artışına bağlı olarak kısa süreli hafızada anlamlı bozuklukların ortaya çıktığını göstermektedir.



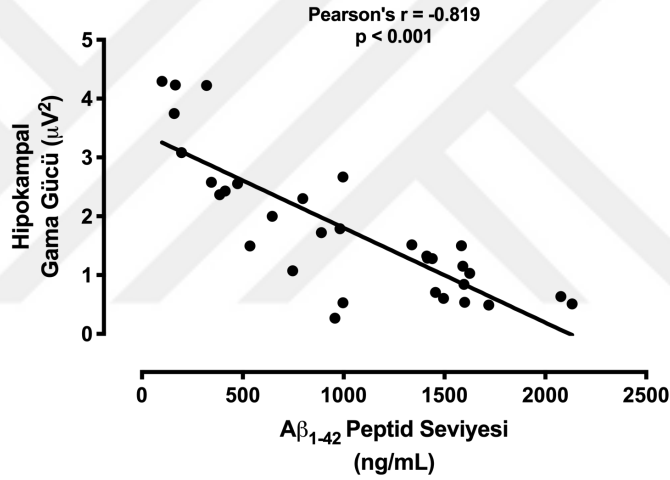
Şekil 4. 21. Hipokampal $A\beta_{1-42}$ peptid seviyesi ile ayırım indeksi değişimi arasındaki ilişki. Pearson korelasyon analizi hipokampal $A\beta_{1-42}$ peptid seviyesi artışı ile ayırım indeksi değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olacağını göstermektedir.

4.7.2. Hipokampus $A\beta_{1-42}$ Peptid Seviyesi ve EEG Aktivitesi Değişimleri Arasındaki İlişki

Spontan EEG aktivite değişimleri ve hipokampus dokusu $A\beta_{1-42}$ peptid seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştırmak için Pearson korelasyon analizi kullanılmıştır. Yapılan analiz sonucunda hipokampus $A\beta_{1-42}$ peptid seviyesi ile hipokampal teta gücü arasında pozitif bir ilişkinin (Pearson $r = +0,678$, $p < 0,001$) (Şekil 4.22), hipokampal gama güç değişimleri arasında ise negatif bir ilişkinin (Pearson $r = -0,819$, $p < 0,001$) (Şekil 4.23) olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç hipokampus $A\beta_{1-42}$ peptid seviyesi artışının teta gücünde anlamlı bir artışa neden olacağını gösterirken, gama gücünde bir azalma ile sonuçlanacağını göstermektedir. Diğer frekans bantlarında gözlenen güç değişimleri ile hipokampus $A\beta_{1-42}$ peptid seviyesi arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı gözlenmiştir ($p > 0,05$).

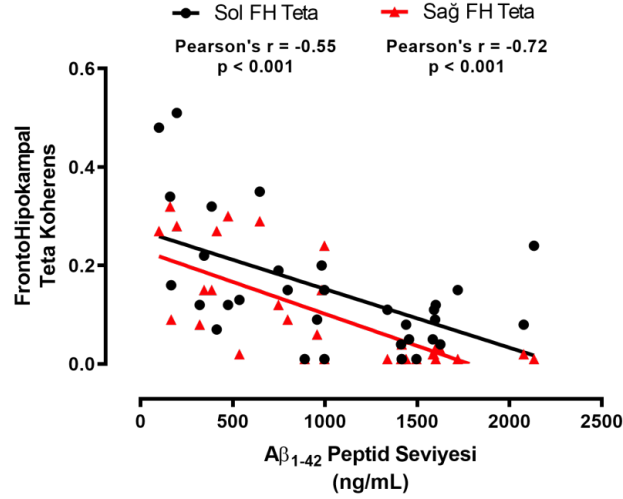


Şekil 4. 22. Hipokampal teta gücü ile A β_{1-42} peptid seviyesi arasındaki ilişki. Pearson korelasyon analizi hipokampal A β_{1-42} peptid seviyesi artışı ile hipokampal teta gücü değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olacağını göstermektedir.

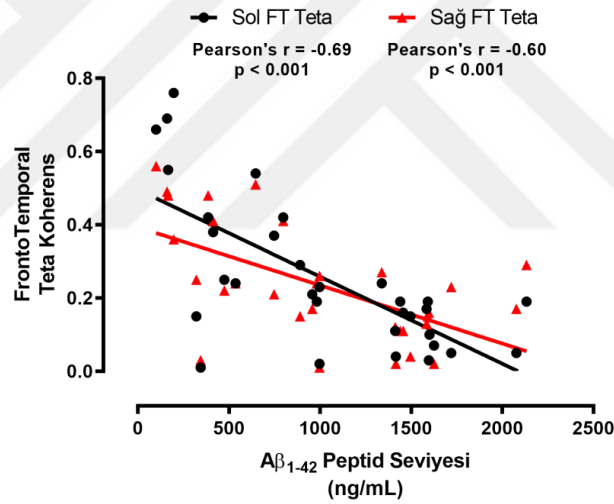


Şekil 4. 23. Hipokampal gama gücü ile A β_{1-42} peptid seviyesi arasındaki ilişki. Pearson korelasyon analizi hipokampal A β_{1-42} peptid seviyesi artışı ile hipokampal gama gücü değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olacağını göstermektedir.

Hipokampus dokusu A β_{1-42} peptid seviyelerinin farklı beyin bölgeleri arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri ile ilişkisini araştırmak için hipokampus A β_{1-42} peptid seviyesi ile koherens değişimleri arasındaki ilişki Pearson korelasyon analizi ile incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda hipokampus A β_{1-42} peptid seviyesi ile hem frontohipokampal teta koherens değişimleri (Sol FH; Pearson $r=-0,55$, $p<0,001$, Sağ FH; Pearson $r=-0,72$, $p<0,001$ (Şekil 4.24)) hem de frontotemporal teta koherens değişimleri (Sol FT; Pearson $r=-0,69$, $p<0,001$, Sağ FT; Pearson $r=-0,60$, $p<0,001$ (Şekil 4.25)) arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki tespit edilmiştir.

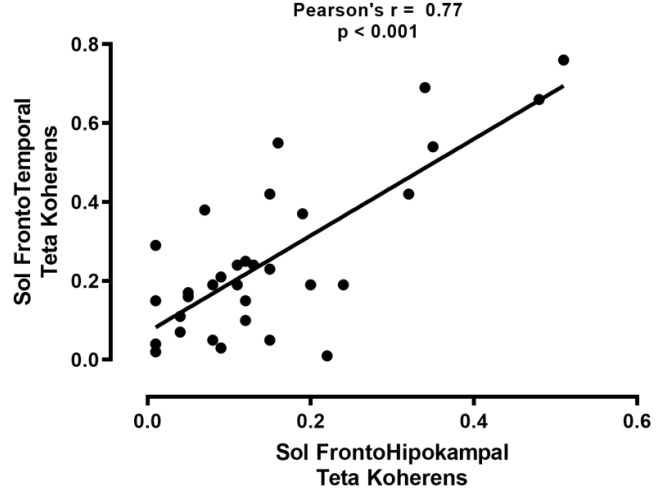


Şekil 4. 24. Frontohipokampal teta koherens değişimleri ile hipokampus Aβ₁₋₄₂ peptid seviyesi arasındaki ilişki. Pearson korelasyon analizi hipokampal Aβ₁₋₄₂ peptid seviyesi artışının frontohipokampal teta koherens değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmayı indüklediğini göstermektedir.

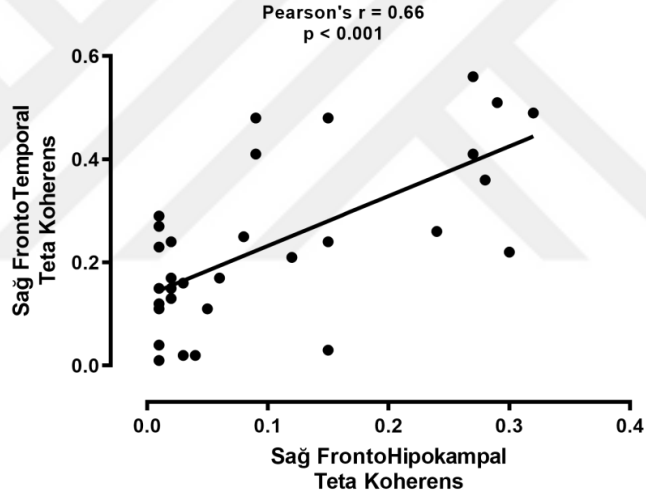


Şekil 4. 25. Frontotemporal teta koherens değişimleri ile hipokampus Aβ₁₋₄₂ peptid seviyesi arasındaki ilişki. Pearson korelasyon analizi hipokampal Aβ₁₋₄₂ peptid seviyesi artışının frontotemporal teta koherens değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmayı indüklediğini göstermektedir.

Bu ilişki saptandıktan sonra frontohipokampal teta koherens değişimleri ile diğer elektrot çiftleri arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri Pearson korelasyon analizi ile araştırılmıştır ve frontohipokampal teta koherens değişimleri ile frontotemporal teta koherens değişimleri arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir (Sol; Pearson $r=0,77$, $p<0,001$ (Şekil 4.26), Sağ; Pearson $r=0,66$, $p<0,001$ (Şekil 4.27)). Diğer elektrot çiftleri için yapılan analiz sonuçlarında herhangi bir ilişkinin olmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$).



Şekil 4. 26. Sol frontotemporal koherens değışimleri ile sol frontohipokampal koherens değışimleri arasındaki ilişki. Pearson korelasyon analizi sol frontotemporal teta koherens değışimleri ile sol frontohipokampal koherens değışimleri arasında pozitif bir ilişkinin olduğunu göstermektedir.



Şekil 4. 27. Sağ frontotemporal koherens değışimleri ile sağ frontohipokampal koherens değışimleri arasındaki ilişki. Pearson korelasyon analizi sağ frontotemporal teta koherens değışimleri ile sağ frontohipokampal koherens değışimleri arasında pozitif bir ilişkinin olduğunu göstermektedir.

5. TARTIŞMA

A β peptid birikimi, nörofibriler yumak oluşumu ve nörodejenerasyon ile ilişkili progresif bilişsel gerileme AH'nin temel bulguları arasında yer almaktadır. Ancak literatürdeki çalışmalar incelendiğinde hem nöronal kayıp hem de bilişsel bozukluklar meydana gelmeden önce hastalığın erken aşmalarında genellikle sinaptik disfonksiyonlar ortaya çıkmaktadır ve sinaptik disfonksiyonlar ise A β peptid birikimi ile pozitif bir korelasyona sahiptir (Ingelsson ve ark., 2004; Masliah ve ark., 2001; Reddy ve ark., 2005; Tu ve ark., 2014). Çalışmamızda AH'nin erken aşamalarında meydana gelen sinaptik disfonksiyonları indüklemek ve sonrasında bu bozuklukların beyin osilasyonları ile deteksiyonunu yapabilmek için üç farklı dozda ve çok düşük miktarlarda oligomerik A β_{1-42} peptidi (0,01 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 0,1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ve 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) intrahipokampal olarak enjekte edilmiştir. İntrahipokampal enjeksiyon sonrasında hipokampus A β_{1-42} peptid seviyesinde meydana gelecek artışı teyit etmek ve ileriki analizlerde davranış parametreleri ve beyin osilasyonlarında gözlenen muhtemel değişimler ile A β_{1-42} peptid seviyesi arasındaki ilişkiyi kurmak amacıyla ELISA yöntemi ile hipokampus dokusundaki A β_{1-42} peptid seviyesi ölçülmüştür. Analizler neticesinde intrahipokampal enjeksiyon sonrasında sıçanların hipokampus dokusunda A β_{1-42} peptid seviyesinde önemli değişikliklerin olduğu tespit edilmiştir. Sh grubuna göre kıyaslandığında tüm A β gruplarında artış gözlenmiştir, ancak bu artış sadece 0,1 ve 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dozlarında oligomerik A β_{1-42} peptid enjeksiyonundan sonra istatistiksel olarak anlamlı seviyeye ulaşmıştır.

Literatürde birçok çalışmada transgenik AH farelerde hipokampal amiloid patolojisi ile bilişsel performanslarda gözlenen gerilemeler arasındaki ilişki araştırılmış, ancak çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda uzaysal hafıza bozukluklarının amiloid plak yükü ile yüksek derecede bir korelasyona sahip olduğu bildirilirken (Chen ve ark., 2000; Gordon ve ark., 2001), diğer çalışmalarda bilişsel fonksiyonlarda gözlenen gerilemenin amiloid plak oluşumundan ziyade intraselüler A β peptid seviyesindeki artış ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (LaFerla ve ark., 2007; Lesne ve ark., 2013; Zheng ve ark., 2012). Literatürdeki bu çelişkili durumu aydınlatabilmek için, A β_{1-42} peptid aracılı davranış parametrelerinde gözlenecek muhtemel değişimler OFT ve NOR testi ile araştırılmıştır. OFT test sonuçlarına göre hayvanların lokomotor aktiviteleri, keşifsel davranışları ve emosyonel durumlarının A β_{1-42} peptid

enjeksiyonundan etkilenmediği, ancak öğrenme ve özellikle de tanıma hafızasının bir belirteci olan yeni nesneyi keşfetme eğiliminin ölçüldüğü NOR testi sonuçlarına göre ise oligomerik A β ₁₋₄₂ peptid enjeksiyonunun tanıma hafızasını önemli ölçüde etkilediği tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda ayırım indeksi değerlerinin A β 2 ve A β 3 gruplarında Sh ve A β 1 gruplarına göre anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Bu veriler, 0,1 μ g/ μ l dozunda intrahipokampal A β ₁₋₄₂ peptid enjeksiyonunun bilişsel fonksiyonlarda belirgin bozulmaların meydana gelmesine neden olacak patolojik evrelerin başlaması için yeterli bir miktar olduğunu göstermektedir. Bu bilgilere ek olarak hipokampal A β ₁₋₄₂ peptid seviyesi ile bilişsel fonksiyonlar arasındaki ilişki bağıntı analizi ile değerlendirilmiş ve hipokampal A β ₁₋₄₂ peptid seviyesi artışı ile ayırım indeksi değerlerinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Pearson $r = -0,713$, $p < 0,001$). Sonuç olarak projemizin bulguları hipokampal A β ₁₋₄₂ peptid seviyesi ile bilişsel fonksiyonlarda gözlenen değişimler arasında güçlü bir ilişkinin olduğunu göstermektedir. Nitekim projemizin bulgularının plak oluşumundan ziyade artan A β peptid seviyesinin AH'de gözlenen erken bilişsel gerilemeden sorumlu en önemli etken olduğunu öne süren çalışmalar ile de uyum içerisinde olduğu gözlenmiştir (LaFerla ve ark., 2007; Lesne ve ark., 2013; Mucke ve ark., 2000; Selkoe, 2011; Selkoe ve Hardy, 2016; Zheng ve ark., 2012).

Hipokampal A β ₁₋₄₂ peptid seviyesinin belirlenmesinden sonra A β ₁₋₄₂ peptid enjeksiyonu ile indüklenen nöronal kayıp ve sinaptik proteinlerin ekspresyonundaki değişimler western blot tekniği ile araştırılmıştır. Projemizde hipokampus dokusunda nöronal kaybı belirlemek amacıyla sadece olgunlaşmış postmitotik nöronlara spesifik olan NeuN proteininin ekspresyon değişimleri incelenmiştir. Yapılan analiz sonucunda NeuN protein ekspresyonunda A β 2 ve A β 3 gruplarında Sh ve A β 1 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bu durum A β ₁₋₄₂ peptid enjeksiyonunun belirli bir dozdan sonra anlamlı bir seviyede nöronal kayba neden olduğunu göstermektedir. Nitekim bu sonuç davranış parametrelerinde gözlenen değişimler ile de paralellik göstermektedir. Öte yandan sinaptik bağlantılardaki kayıpları tespit etmek için ise postsinaptik bölge için PSD-95 proteini, presinaptik bölge için ise SNAP-25 ve SYP protein ekspresyonları ana sinaptik belirteçler olarak değerlendirilmiştir. Postsinaptik bölgede protein organizasyonunun düzenlenmesinde, sinaptik gelişmede ve nöronal plastisitede PSD-95 ekspresyonunun ve fonksiyonunun kritik bir rolü olduğundan A β tarafından indüklenen patolojik olaylar dizisinde PSD-

95 proteininin önemli bir ara eleman olduğu rapor edilmektedir (Batarseh ve ark., 2017). Ayrıca, literatürdeki çalışmalarda A β birikiminin PSD-95 ekspresyonunu önemli derecede azalttığı da bildirilmiştir (Almeida ve ark., 2005; Batarseh ve ark., 2017). Bu duruma ek olarak AH bireylerin beyinlerindeki SNAP-25 ve SYP ekspresyonlarında normal bilişsel fonksiyon gösteren sağlıklı kontrollere göre önemli derecede azalma gözlenmiştir ve bu azalmanın A β peptid birikiminin indüklediği patolojik olaylar aracılı gerçekleştiği düşünülmektedir (Ingelsson ve ark., 2004). Başka bir çalışmada ise yedi gün boyunca oligomerik A β ile inkübe edilen SH-SY5Y-APP hücrelerinde PSD-95 ekspresyonunda bir azalma olduğu ancak SNAP-25 ekspresyonunda herhangi bir değişiklik gözlenmediği rapor edilmiştir (Batarseh ve ark., 2017). Projemizde de literatürdeki bu çalışmalar ile uyumlu olarak A β_{1-42} enjeksiyonunun sinaptik proteinler üzerinde baskılayıcı bir etkisinin olduğu gözlenmiştir. 0,1 ve 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dozlarında intrahipokampal oligomerik A β_{1-42} peptid enjeksiyonu yapılan gruplarda bakılan tüm proteinler için ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Ancak 0,01 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ konsantrasyonunda sadece PSD-95 proteini ekspresyonunda anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Çok düşük konsantrasyonlarda oligomerik A β_{1-42} peptid enjeksiyonu postsinaptik bölgede protein ekspresyonlarını etkilerken, presinaptik bölgede herhangi bir etkisinin olmaması A β_{1-42} peptidinin öncelikle postsinaptik bölgeyi hedef aldığını düşündürmektedir.

Literatürdeki çalışmaların sonuçları doğrultusunda AH'nin progresyonunda yer alan patolojik olaylar dizisinde eksitotoksik bir bileşenin olduğu yaygın bir şekilde kabul edilmektedir. Glutamat reseptörleri hem fizyolojik sinaptik plastisite hem de eksitotoksik nöronal ölümde merkezi bir rol oynamaktadır. Daha önceki bir çalışmada sıçanlardan izole edilen primer hipokampal nöron kültüründe 10 μM A β uygulamasının NMDA reseptör ekspresyonunda özellikle NR2A alt biriminden zengin olan sinaptik NMDA reseptörlerinin ekspresyonunda önemli derecede azalmalara neden olduğu rapor edilmiştir (Liu ve ark., 2010). Başka bir çalışmada ise hem kortikal nöron kültüründe hem de transgenik APP farelerde A β peptid aracılı NR1 ve NR2B reseptör alt tiplerinin endositozunun gerçekleştiği rapor edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada hem öğrenme ve hafıza ile ilişkili süreçlerde önemli bir rol alan hem de nöronal sağ kalım için gerekli olan transkripsiyon faktörü CREB fosforilasyonunda da NMDA aracılı önemli azalmalar tespit edilmiştir (Snyder ve ark., 2005). Başka bir çalışmada ise AH bireylerin hipokampus dokularında CREB fosforilasyonunda önemli

azalmalar tespit edilmiş ve A β peptidinin nöronal gelişim ve sağ kalım üzerindeki azaltıcı etkileri bu transkripsiyon faktöründe gözlenen değişimler ile ilişkilendirilmiştir (Yamamoto-Sasaki ve ark., 1999). Nitekim bu çalışmalarla paralel olarak intrahipokampal oligomerik A β_{1-42} peptid enjeksiyonu yapılan gruplarda glutamat reseptörleri ve öğrenme ve hafıza ile ilişkili protein ekspresyonlarında Sh grubuna kıyasla önemli azalmaların olduğu gözlenmiştir. NR1 protein ekspresyonunda sadece 0,1 ve 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dozlarında anlamlı azalmalar tespit edilirken, sırasıyla sinaptik ve ekstrasinaptik NMDA reseptör alt birimlerinden olan NR2A ve NR2B protein ekspresyonlarında uygulanan tüm dozlarda anlamlı azalmalar gözlenmiştir. NR1 alt biriminde gözlenen değişime benzer olarak AMPA reseptör alt birimlerinden olan GluR1 ve GluR2 ekspresyonlarında da 0,1 ve 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dozlarında intrahipokampal oligomerik A β_{1-42} peptid enjeksiyonu sonrasında anlamlı azalmalar tespit edilmiştir. Bu sonuç glutamat reseptörlerinin özellikle NMDA reseptörlerinin farklı alt birimlerinin A β_{1-42} peptid indüklü nörotoksositeye karşı farklı duyarlılıklara sahip olduğunu ve NR2 alt birimlerinin diğer alt birimlere göre daha düşük dozlarda A β_{1-42} peptid tarafından etkilenebileceğini göstermektedir. Öte yandan intrahipokampal oligomerik A β_{1-42} peptid enjeksiyonu sinaptik plastisitenin oluşumu ve korunumu için kritik öneme sahip olan CaMKII ve CREB1 proteinlerinin ekspresyonlarında Sh grubuna göre A β_2 ve A β_3 gruplarında anlamlı azalmalara neden olmuştur. Nitekim bu bulgular hem postmitotik olgunlaşmış nöronlar için bir belirteç olan NeuN protein ekspresyonunda hem de öğrenme parametrelerinde gözlenen değişim ile paralellik göstermektedir. Sonuç olarak projemizin bulguları hem öğrenme gibi bilişsel fonksiyonların moleküler mekanizmasındaki patolojik süreçlerin hem de nöronal dejenerasyonun belirli bir A β_{1-42} peptid konsantrasyonundan sonra ortaya çıkacağını göstermektedir.

Daha önceki çalışmalarda AH'nin erken aşamalarında A β peptid birikimlerinin, reaktif astrositler tarafından çevrelendiği bildirilmiştir (Carter ve ark., 2012; Kamphuis ve ark., 2012). Reaktif astrogliazis glial skar oluşumu ile hasarlı bölgeyi izole eder ve hasarın şiddeti ile kademeli bir artış gösterir. Reaktif astrogliazis ise GFAP ekspresyonu artışı ile karakterize edilebilir. Nitekim literatürdeki çalışmalarda GFAP ekspresyonunun A β peptid miktarı ile yüksek korelasyona sahip olduğu gösterilmiştir (Hanzel ve ark., 1999; Vehmas ve ark., 2003). Bununla birlikte, son yıllarda reaktif astrogliazisin A β birikimini sınırlandırdığı ve koruyucu etkisinde de GFAP

ekspresyonunun önemli bir rolünün olduğu gösterilmiştir (Chakrabarty ve ark., 2010; Furman ve ark., 2012). Bu bulgularla uyumlu olarak projemizde A β ₁₋₄₂ enjeksiyonu yapılan tüm gruplarda GFAP ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir ancak bu artış Sh grubuna kıyasla A β 2 ve A β 3 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı seviyeye ulaşmıştır. Öte yandan A β 1 grubuna göre ise A β 3 grubunda istatistiksel bir artış tespit edilmiştir. Bu değişimler literatürde rapor edilen A β peptid artışının GFAP ekspresyonunu kademeli olarak artırdığı görüşünü desteklemektedir. GFAP ekspresyonundaki bu artış A β birikiminin neden olduğu beyin homeostazisinde meydana gelen değişime karşı savunma mekanizması olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak çalışmamızın bulgularından yola çıkarak 0,01 μ g/ μ l dozunda A β ₁₋₄₂ enjeksiyonunun hipokampus dokusunda GFAP ekspresyonundaki değişim ile ölçülebilecek büyüklükte bir hasar oluşturmadığını söylemek mümkündür.

Projemizin ikinci basamağında çok düşük dozlarda ve farklı miktarlarda intrahipokampal oligomerik A β ₁₋₄₂ peptid enjeksiyonunun beyin elektriksel aktivitesi üzerine etkilerini incelemek için serbest gezen sıçanlarda altı farklı beyin bölgesine (FrA1, FrA2, TeA1, TeA2, H1 ve H2) kronik olarak implante edilmiş elektrotlar aracılığı ile spontan EEG kayıtları alınmıştır. Spontan beyin aktivitesi delta (0,5-3,5 Hz), teta (4-7,5 Hz), alfa (8-13 Hz), beta (13-30 Hz) ve gama (30-48 Hz) bantları olmak üzere beş farklı frekans bandına bölünmüş ve bu frekans bantlarında spektral güç analizleri yapılarak gruplar arasındaki farklılıklar tespit edilmeye çalışılmıştır. Daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak (Babiloni ve ark., 2010; Ponomareva ve ark., 2008; Stam, 2010), projemizde A β ₁₋₄₂ enjeksiyonu yapılan gruplarda Sh grubuna göre elektriksel beyin aktivitesinde bir yavaşlama gözlenmiştir. Düşük frekans bantların gücünde bir artış gözlenirken yüksek frekans bantların gücünde bir azalma tespit edilmiştir. Ayrıca intrahipokampal oligomerik A β ₁₋₄₂ peptid enjeksiyonu sonrasında spontan EEG aktivitesinde koherens analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analiz herhangi bir frekansta iki farklı beyin bölgesinden elde edilen EEG sinyalleri arasındaki uyumun veya fonksiyonel eşleşmenin normalize edilmiş bir ölçüsüdür (Andrew ve Pfurtscheller, 1996; Rappelsberger ve Petsche, 1988). Dolayısıyla fonksiyonel eşleşme (Gerloff ve ark., 1998; Thatcher ve ark., 1986), iki farklı beyin bölgesi arasındaki karşılıklı bilgi alışverişi (Rappelsberger ve Petsche, 1988) ve kortikal sinir yollarının bütünlüğü hakkında bilgi veren bir endeks olarak yorumlanabilmektedir. Nitekim yapılan analizler sonucunda intrahipokampal oligomerik A β ₁₋₄₂ peptid enjeksiyonu

sonrasında genel olarak farklı beyin bölgeleri arasındaki fonksiyonel bağlantı seviyesinde de azalmalar olduğu gözlenmiştir.

Spontan EEG aktivitesi delta güç değerlerinin analizi sonucunda bölge ve bölge x grup etkileşimlerinin anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Delta güç değerlerinin incelenen tüm bölgelerde $A\beta_2$ ve $A\beta_3$ gruplarında Sh ve $A\beta_1$ gruplarına kıyasla anlamlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir. Delta gücünde gözlenen bu artışın daha önceki çalışmalar ile uyum içinde olduğu gözlenmektedir (Babiloni ve ark., 2010; Coben ve ark., 1983). Nitekim literatürdeki çalışmalarda ise spontan EEG aktivitesi delta güç yanıtlarının AH'lerde sağlıklı kontrollere kıyasla önemli ölçüde arttığı rapor edilmiştir. Kortikal gri cevher atrofisi, beyaz cevherin tek başına veya gri cevherle birlikte beyaz cevherin de etkilendiği hastalıklarda da delta aktivitesinde bir artış olduğu rapor edilmiştir (Babiloni ve ark., 2013; Coben ve ark., 1983; Gloor ve ark., 1977). Delta aktivitesi artışı bu tip hastalıklarda subkortikal bağlantılarda veya subkortikal ve kortikal bölgeler arasındaki bağlantılarda meydana gelen anormallikleri yansıtmaktadır. $A\beta_{1-42}$ uygulanan gruplarda meydana gelen değişimler, $A\beta_{1-42}$ peptidinin subkortikal ve kortikal seviyedeki bağlantılarda bozulmalara neden olabileceğini düşündürmektedir. 0,01 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ konsantrasyonda oligomerik $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonu yapılan sıçanlarda delta aktivitesi yönünden herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Ancak farklı beyin bölgeleri arasındaki fonksiyonel bağlantı değişimleri değerlendirildiğinde ise sol frontotemporal delta koherens değerlerinin tüm $A\beta_{1-42}$ dozlarında, sağ frontotemporal ve interhemisferik temporal bölgeler arasında 0,1 ve 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dozlarında anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Buna ek olarak 0,01 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dozunda $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonu ile hipokampal bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantılarda da bir bozulma gözlenmiştir. Bu durum delta güç değerlerinde bir değişim meydana gelmeden önce hipokampal bölgeler ve sol frontotemporal bölgeler arasında karşılıklı bilgi alışverişinde bir bozulma olacağını göstermektedir. Dolayısıyla çalışmamızın bulguları çok düşük dozlarda hipokampal $A\beta_{1-42}$ deteksiyonunun sol frontotemporal delta koherens değişimleri ile yapılabileceğini ve delta bandı spektral güç değerlerinde önemli bir değişim gözlenecek patolojinin oluşması için hipokampal $A\beta_{1-42}$ peptid miktarının belirli bir değerin üzerinde olması gerektiğini düşündürmektedir. Sonuç olarak daha önceki çalışmamızın (Hidisoglu ve ark., 2018) bulguları ile de uyumlu olarak bu banttaki spektral güç değişimleri değerlendirilerek $A\beta_{1-42}$ peptid miktarının

(intrahipokampal enjeksiyon ile 0,1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ve intraserebroventriküler enjeksiyon ile 4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) tahmini bir deęerinin elde edilebileceęi dūřūnūlmektedir.

Literatūrdeki alıřmalar gōz ōnūne alındıęında AH bireylerde yavař frekans bantlarından olan teta gū aktivitesinde anlamlı bir artıř olduęu rapor edilmiřtir (Musaeus ve ark., 2018; Klimesch, 1999). Ōte yandan MCI bireylerin temporal ve oksipital korteks bōlgelerinde yūksək teta gūcūne sahip oldukları bildirilmiřtir. Projemizden elde edilen spontan EEG aktivitesi teta gū deęerleri incelendięinde ise intrahipokampal oligomerik $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonu sonucunda hipokampū teta aktivitesinde anlamlı deęiřimler olduęu tespit edilmiřtir. 0,1 ve 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ konsantrasyonlarında $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonu hipokampal bōlgelerde teta gū deęerlerinde anlamlı bir artıřı indūklemiřtir ve yapılan regresyon analizi sonucunda bu artıřın hipokampal $A\beta_{1-42}$ miktarı ile pozitif bir korelasyona sahip olduęu tespit edilmiřtir. Ancak frontal ve temporal korteks bōlgelerinde herhangi bir deęiřim gōzlenmemiřtir. Bu durum çok dūřūk dozlarda (0,01 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) intrahipokampal oligomerik $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonunun bōlgesel olarak teta aktivitesinde bir deęiřim indūklerken global olarak dięer beyin bōlgelerinde herhangi bir deęiřime neden olmadıęını gōstermektedir. Ōte yandan yapılan koherens analizleri sonucunda ise intrahipokampal oligomerik $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonu sonrasında hipokampal bōlgeler arasında teta koherens deęerlerinde anlamlı bir azalmanın yanı sıra sol ve saę frontotemporal bōlgeler ve sol ve saę frontohipokampal bōlgeler arasında da teta koherens deęerlerinde anlamlı bir azalma gōzlenmiřtir ve frontohipokampal teta koherens deęiřimleri ile frontotemporal teta koherens deęiřimleri arasında pozitif bir iliřkinin olduęu tespit edilmiřtir. Dahası teta gū deęiřimleri ve hipokampal $A\beta_{1-42}$ arasındaki iliřkiye benzer olarak hipokampal $A\beta_{1-42}$ miktarının artıřı ile hem frontohipokampal bōlgeler hem de frontotemporal bōlgeler arasındaki fonksiyonel baęlantı gūcūnde de anlamlı bir azalmanın indūklendięi tespit edilmiřtir. Ayrıca, kemirgenler ūzerine yapılan çalıřmalarda yavař EEG bileřeni olan teta osilasyonlarının hipokampū kaynaklı olduęu bildirilmiřtir (Fox ve ark., 1986; Mitchell ve Ranck, 1980). Bu bulgulardan yola çıkararak teta osilasyonlarının hipokampal orijinli olması nedeniyle hipokampal bōlgelerde gōzlenen teta gū artıřının AH'nin erken dōnemlerinde gōzlendięini ve frontotemporal teta koherens deęiřimlerinin ise AH'nin erken dōnemleri için elektrofizyolojik bir belirteç olarak kullanılabileceęini sōyleyebiliriz (Musaeus ve ark., 2018).

Dinlenme durumu beyin dinamiğinde baskın ritim olan alfa bant aktivitesi (8-13 Hz) tüm beyin bölgelerinde yaygın bir şekilde gözlenmekle birlikte hafıza ve bilişsel durumlar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Klimesch, 1997, 1999; Klimesch ve ark., 1998). Dinlenme durumu EEG analizleri ile AH'nin erken aşamalarında alfa ritminin yavaşlamasının yanı sıra bu bant aktivitesinde bir güç azalmasının olduğu ve daha düşük frekanslı beyin aktivitelerinin baskın hale geldiği belirlenmiştir (Brenner ve ark., 1986; Dierks ve ark., 1993; Garces ve ark., 2013). Alfa bant aktivitesinin talamokortikal nöronların oksipital kortekse projeksiyonundan köken aldığı daha önceki bir çalışmada gösterilmiştir (Babiloni ve ark., 2015). Literatürdeki hesaplamalı modelleme çalışmaları ve kortikal bölgeler arasındaki işlevsel bağlantısallığın ölçüldüğü fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRI) çalışmalarında ise AH bireylerde bu alfa bant aktivitesi bağlantılarının bozulabileceği bildirilmiştir (Bhattacharya ve ark., 2011; Zhou ve ark., 2013). Bu bilgilerle uyum içerisinde olarak intrahipokampal oligomerik A β ₁₋₄₂ enjeksiyonu sonrasında tüm beyin bölgelerinde yaygın olarak alfa bant aktivitesinde anlamlı değişimler gözlenmiştir. Ancak gözlenen bu değişim bölgesel farklılık göstermektedir. Frontal bölgelerde alfa bant aktivitesinde tüm dozlarda bir artış gözlenmesine karşılık bu artış ancak 0,1 μ g/ μ l konsantrasyonundan sonra istatistiksel olarak anlamlı hale gelmiştir. Öte yandan temporal ve hipokampal bölgelerde kullanılan tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Delta ve teta bant aktivitesi güç değerlerinde gözlenen değişimin aksine alfa bant aktivitesi güç değerlerinde hem hipokampal bölgelerde hem de temporal bölgelerde 0,01 μ g/ μ l dozunda anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Bu sonuç alfa bant aktivitesi güç değerlerinin daha düşük dozlardaki A β ₁₋₄₂ miktarına dahi duyarlı olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla alfa bant aktivitesinin hastalığın erken aşamasının belirlenmesi için elektrofizyolojik bir belirteç olarak kullanılabileceği fikrini ön plana çıkarmaktadır. Dahası gözlenen bölgesel farklılıklardan dolayı yüksek dozlarda hipokampal A β ₁₋₄₂ birikimi ile de tüm beyin bölgelerinde alfa bant aktivitesinde anlamlı değişimlerin ortaya çıkacağı düşünülmektedir. Nitekim literatürdeki insan çalışmaları ile de bu fikir desteklenmektedir (Fernandez ve ark., 2006; Lopez-Sanz ve ark., 2016). Örneğin MCI hastalarında yapılan bir magnetoensefelografi (MEG) çalışmasında alfa bant aktivitesi güç değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir ki bu değişimin demans öncesi aşamada gerçekleşebileceği belirtilmiştir (Fernandez ve ark., 2006). Başka bir MEG çalışmasında ise öznel bilişsel gerileme gösteren sağlıklı yaşlılarda, yaş ve cinsiyet uyumlu kontrol gruplarına göre

bağıl alfa gücünde yaygın ölçekli bir azalma tespit edilmiştir, ancak alfa pik frekansında herhangi bir yavaşlama gözlenmemiştir. MCI hastalarında ise hem alfa gücünde azalma hem de alfa pik frekansında bir yavaşlama tespit edilmiştir (Lopez-Sanz ve ark., 2016). Ayrıca yapılan koherens analizi sonucunda ise interhipokampal ve intertemporal bölgeler arasında alfa koherens değerlerinde azalma gözlenmiştir. Buna ek olarak sol frontotemporal bölgeler arasında da anlamlı koherens düşmeleri tespit edilmiştir. Adler ve arkadaşları tarafından 2003 yılında yapılan bir çalışmada AH'lerde sol temporal alfa koherens değerlerinde anlamlı bir azalmanın gözlemlendiği rapor edilmiştir (Adler ve ark., 2003). Hem projemizin bulguları hem de literatürdeki bu çalışmaların sonuçlarından yola çıkarak sol hemisfer bölgesinde yer alan nöron gruplarının ve aralarındaki fonksiyonel etkileşimin $A\beta_{1-42}$ toksisitesinden önemli ölçüde etkilendiğini söylemek mümkündür.

Spontan EEG aktivitesinin hızlı frekans bileşenlerinden olan beta osilasyonlarının etkin sensörimotor ve işleyen bellek, obje tanıma ve algı gibi bilişsel fonksiyonların sürdürülmesinde önemli bir rol aldığı düşünülmektedir (Donner ve ark., 2007; Engel ve Fries, 2010; Pfurtscheller ve ark., 1996; Sehatpour ve ark., 2008; Tallon-Baudry ve ark., 2001). Ayrıca beta frekans aralığındaki beyin aktivitesi klasik olarak motor fonksiyonlarla da ilişkilendirilmektedir. Mevcut çalışmaların bulguları AH'nin erken aşamalarında motor fonksiyonlarda da önemli bozulmaların gerçekleşebileceğini göstermektedir (Pettersson ve ark., 2005; Sheridan ve ark., 2003). Bu bilgilere ek olarak birçok çalışmada AH ve MCI bireylerde sağlıklı kontrollere göre beta frekans bandında bir yavaşlama ve güç spektrum değerlerinde önemli ölçüde bir azalma gözlemlendiği rapor edilmiştir (Babiloni ve ark., 2004; Dierks ve ark., 2000; Huang, Wahlund, ve ark., 2000). Literatürdeki bu çalışmalarla uyumlu olarak intrahipokampal oligomerik $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonundan sonra kullanılan tüm dozlarda spontan EEG beta frekans bandı güç değerlerinde hem hipokampal hem de frontal ve temporal bölgelerde anlamlı azalmalar tespit edilmiştir. Alfa bandında gözlenen değişimin aksine frontal bölgelerde dahi çok düşük dozlarda $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonu anlamlı değişimleri indüklemiştir. Bu sonuç EEG'nin hızlı frekanslı bileşenlerinden olan ve motor ve bilişsel fonksiyonlarla ilişkili birçok farklı nöral ağın etkileşiminden köken alan beta aktivitesinin $A\beta$ ilişkili patolojiden yaygın bir şekilde etkilendiğini göstermektedir. Ancak yapılan regresyon analizi sonucunda hipokampal $A\beta_{1-42}$ miktarı ve beta aktivitesi güç değişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit

edilememiştir. Bu durum beta aktivitesi güç değişiminin çok düşük dozlarda $A\beta_{1-42}$ ile indüklendiğini ve belirli bir miktardan sonra bu değişimin saturasyona uğradığını düşündürmektedir. Öte yandan oligomerik $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonu hipokampal bölgeler arasında beta koherens değerlerinin düşmesine neden olmuştur. Bu değişime paralel olarak oligomerik $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonu sol ve sağ frontotemporal ile temporal bölgeler arasında da beta koherens değerlerinde anlamlı bir azalmayı indüklemiştir. Ancak frontal bölgeler arasında ise beta koherens değerlerinde 0,01 ve 0,1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dozlarında anlamlı bir artış gözlenirken 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dozunda herhangi bir değişim tespit edilememiştir. Literatürdeki AH ve MCI çalışmalarının bulguları (Michels ve ark., 2017; Stam ve ark., 2003) ile kısmen çelişkili olan frontal bölgeler arasındaki bu konnektivite artışının henüz klinik semptomlar gelişmeden önce çok düşük dozlarda $A\beta_{1-42}$ birikiminin indüklediği patolojiye karşı gelişen adaptif mekanizmaların aktivasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Spontan EEG aktivitesinin yüksek frekanslı bileşenlerinden olan gama osilasyonlarının (>30 Hz) algısal ve bilişsel süreçleri yansıttığı düşünülmektedir. Beyinde nöral aktivasyonun kesin zamanlaması ve entegrasyonu başarılı bilgi işleme süreçleri için oldukça önemlidir. Daha önceki çalışmalarda nöral ağların kesin zamanlanması ve entegrasyonu sürecinde ise gama osilasyonlarının önemli bir rolünün olduğu vurgulanmıştır (Basar ve ark., 2001; Singer ve Gray, 1995). Sonuç olarak gama bant aktivitesi belirli bilgi işleme süreçlerinde yer alan nöral ağlarda alt işlemleri senkronize etmek için oluşturulan elektriksel beyin aktivitesi olarak düşünülebilir (Kaiser ve Lutzenberger, 2003). Öte yandan gama osilasyonları neokorteksin çeşitli bölgeleri, entorhinal korteks, hipokampus, striatum ve talamus gibi birçok çeşitli kortikal ve subkortikal bölgelerde tanımlanmıştır (Chrobak ve Buzsaki, 1998; Fries ve ark., 2001; Gray ve ark., 1989; Mann ve ark., 2005; Pinault ve Deschenes, 1992; Sirota ve ark., 2008; Tort ve ark., 2008). Nitekim AH ile ilişkili patolojik süreçlerde hafıza ve bilişsel fonksiyonlarla yakından ilişkili bu bant aktivitesinde önemli değişikliklerin gözlenebileceği düşünülmektedir. Ancak literatürdeki insan ve hayvan çalışmalarında gama bandı spektral güç değerlerinin azaldığını veya arttığını gösteren çelişkili çalışmalar bulunmaktadır (Driver ve ark., 2007; Koenig ve ark., 2005; Missonnier ve ark., 2010; van Deursen ve ark., 2008). Farklı dozlarda intrahipokampal oligomerik $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonu yapılan projemizde, kullanılan tüm dozlarda temporal bölgelerde gama güç değerlerinde azalma indüklenmişken, 0,1 ve 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dozlarında sadece

hipokampal ve frontal bölgelerde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Bu farklılık intrahipokampal oligomerik $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonunun temporal bölgelerde gama üreten lokal nöral ağ kümelerinin yoğun bir şekilde bulunduğunu düşündürmekte ve enjeksiyonun çok düşük dozlarda dahi bu bölgede etkin bir şekilde patolojiye neden olduğunu göstermektedir. Bunlara ek olarak yapılan regresyon analizi sonucunda hipokampal $A\beta_{1-42}$ miktarı ile hipokampal spontan EEG gama güç değerleri arasında negatif bir ilişki tespit edilmiştir. Bu sonuç hipokampal gama güç değerlerinde gözlenen değişimin doğrudan hipokampal $A\beta_{1-42}$ miktarı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Ancak Driver ve arkadaşları tarafından APP transgenik farelerin hipokampus kesitlerinde yapılan bir çalışmada, kainat uygulaması ile indüklenen gama yanıtlarının spektral analizi sonucunda gama güç değerlerinde $A\beta_{1-42}$ birikiminden bağımsız olarak bir azalma tespit edilmiştir (Driver ve ark., 2007). Çalışmamızın bulguları ile çelişkili bu sonucun hem kullanılan deney hayvanı türü ve modelinin hem de kayıt protokolünün farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Öte yandan intrahipokampal $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonu sonrasında diğer frekans bantlarında olduğu gibi gama frekans bandında da uygulanan tüm $A\beta_{1-42}$ dozlarında sol frontotemporal konnektivitede anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bu sonuç genel olarak $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonunun çok düşük dozlarda dahi sol hemisferde frontal ve temporal bölgelerde etkileşimde bulunan nöral ağ kümelerinin senkron aktivitesini güçlü bir şekilde bozduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak projemizin ana bulguları aşağıdaki gibi özetlenmiştir.

- Hipokampal $A\beta_{1-42}$ peptid birikimi tanıma belleğinde anlamlı düzeyde bir azalmaya neden olmuştur. Ayrıca, hipokampal $A\beta_{1-42}$ peptid seviyesi ile bilişsel fonksiyonlarda gözlenen bu değişimler arasında güçlü bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir.
- NR2A ve NR2B reseptör alt tipleri NR1, Glu1 ve Glu2 reseptör alt tiplerine göre $A\beta$ patolojisine karşı daha duyarlıdır.
- $A\beta$ patolojisi öncelikle postsinaptik proteinleri hedef almaktadır.
- Nöronal dejenerasyon ve sinaptik plastisitede etkili rol alan proteinlerin ekspresyonları belirli bir $A\beta_{1-42}$ peptid dozundan sonra anlamlı düzeyde değişim göstermektedir.
- Hipokampus dokusunda reaktif astrogliozis belirli bir $A\beta_{1-42}$ peptid dozundan sonra gerçekleşmektedir.
- Sol frontotemporal bölgeler arasındaki fonksiyonel bağlantı $A\beta_{1-42}$ peptid birikiminden önemli ölçüde etkilenmektedir.
- Global olarak spektral delta bandı güç değerlerinde anlamlı bir değişim gözlenecek patolojinin oluşması için hipokampal $A\beta_{1-42}$ peptid miktarının belirli bir değerin üzerinde olması gerekmektedir.
- $A\beta_{1-42}$ peptid aracılı teta güç değişimleri hipokampal bölgeler ile sınırlıdır ve hipokampal peptid miktarı ile güçlü bir korelasyon göstermektedir. Bunun yanı sıra hipokampal $A\beta_{1-42}$ peptid artışı frontotemporal teta koherens gücünde anlamlı bir azalmayı indüklemektedir ve bu değişimlerin AH'nin erken dönemleri için elektrofizyolojik bir belirteç olabileceği düşünülmektedir.

- Hipokampal $A\beta_{1-42}$ peptid enjeksiyonu alfa bant aktivitesi güç değerlerinde bölgesel farklılıkları indüklemektedir.
- EEG'nin hızlı frekanslı bileşenlerinden olan ve motor ve bilişsel fonksiyonlarla ilişkili birçok farklı nöral ağın etkileşiminden köken alan beta salınımları $A\beta_{1-42}$ ilişkili patolojiden yaygın bir şekilde etkilenmektedir.
- Hipokampal $A\beta_{1-42}$ miktarı ile hipokampal gama güç değerleri arasında negatif bir ilişki tespit edilmiştir. Bu sonuç hipokampal gama güç değerlerinde gözlenen değişimin doğrudan hipokampal $A\beta_{1-42}$ peptid miktarı ile ilişkili olduğunu göstermektedir.



KAYNAKLAR

- Acedo, L., Morano, J. A. Brain oscillations in a random neural network. *Mathematical and Computer Modelling*. 2013; 57: 1768-1772.
- Adler, G., Brassen, S., Jajcevic, A. EEG coherence in Alzheimer's dementia. *Journal of Neural Transmission*. 2003; 110: 1051-1058.
- Almeida, C. G., Tampellini, D., Takahashi, R. H., Greengard, P., Lin, M. T., Snyder, E. M., Gouras, G. K. Beta-amyloid accumulation in APP mutant neurons reduces PSD-95 and GluR1 in synapses. *Neurobiology of Disease*. 2005; 20: 187-198.
- Andrew, C., Pfurtscheller, G. Event-related coherence as a tool for studying dynamic interaction of brain regions. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1996; 98: 144-148.
- Anstey, K. J., Lipnicki, D. M., Low, L. F. Cholesterol as a risk factor for dementia and cognitive decline: a systematic review of prospective studies with meta-analysis. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2008; 16: 343-354.
- Arendt, T. Synaptic degeneration in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*. 2009; 118: 167-179.
- Arendt, T., Bruckner, M. K., Bigl, V., Marcova, L. Dendritic reorganisation in the basal forebrain under degenerative conditions and its defects in Alzheimer's disease. III. The basal forebrain compared with other subcortical areas. *Journal of Comparative Neurology*. 1995; 351: 223-246.
- Ashford, J. W. APOE genotype effects on Alzheimer's disease onset and epidemiology. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2004; 23: 157-165.
- Babiloni, C., Binetti, G., Cassetta, E., Cerboneschi, D., Dal Forno, G., Del Percio, C., Rossini, P. M. Mapping distributed sources of cortical rhythms in mild Alzheimer's disease. A multicentric EEG study. *Neuroimage*. 2004; 22: 57-67.

- Babiloni, C., Carducci, F., Lizio, R., Vecchio, F., Baglieri, A., Bernardini, S., Frisoni, G. B. Resting state cortical electroencephalographic rhythms are related to gray matter volume in subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Human Brain Mapping*. 2013; 34: 1427-1446.
- Babiloni, C., Del Percio, C., Boccardi, M., Lizio, R., Lopez, S., Carducci, F., Frisoni, G. B. Occipital sources of resting-state alpha rhythms are related to local gray matter density in subjects with amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 2015; 36: 556-570.
- Babiloni, C., Visser, P. J., Frisoni, G., De Deyn, P. P., Bresciani, L., Jelic, V., Nobili, F. Cortical sources of resting EEG rhythms in mild cognitive impairment and subjective memory complaint. *Neurobiology of Aging*. 2010; 31: 1787-1798.
- Bagyinszky, E., Youn, Y. C., An, S. S. A., Kim, S. The genetics of Alzheimer's disease. *Clinical Interventions in Aging*. 2014; 9: 535-551.
- Banke, T. G., Bowie, D., Lee, H. K., Huganir, R. L., Schousboe, A., Traynelis, S. F. Control of GluR1 AMPA receptor function by cAMP-dependent protein kinase. *Journal of Neuroscience*. 2000; 20: 89-102.
- Basar, E., Basar-Eroglu, C., Karakas, S., Schurmann, M. Gamma, alpha, delta, and theta oscillations govern cognitive processes. *International Journal of Psychophysiology*. 2001; 39: 241-248.
- Basar, E., Guntekin, B., Tulay, E., Yener, G. G. Evoked and event related coherence of Alzheimer patients manifest differentiation of sensory-cognitive networks. *Brain research*. 2010; 1357: 79-90.
- Batarseh, Y. S., Mohamed, L. A., Al Rihani, S. B., Mousa, Y. M., Siddique, A. B., El Sayed, K. A., Kaddoumi, A. Oleocanthol ameliorates amyloid-beta oligomers' toxicity on astrocytes and neuronal cells: In vitro studies. *Neuroscience*. 2017; 352: 204-215.
- Bateman, R. J., Xiong, C., Benzinger, T. L., Fagan, A. M., Goate, A., Fox, N. C., Morris, J. C. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2012; 367: 795-804.

- Benilova, I., Karran, E., De Strooper, B. The toxic Abeta oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes. *Nat Neurosci.* 2012; 15: 349-357.
- Benke, T. A., Luthi, A., Isaac, J. T. R., Collingridge, G. L. Modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. *Nature.* 1998; 393: 793-797.
- Bertram, L., Lill, C. M., Tanzi, R. E. The genetics of Alzheimer disease: back to the future. *Neuron.* 2010; 68: 270-281.
- Beydoun, M. A., Beydoun, H. A., Gamaldo, A. A., Teel, A., Zonderman, A. B., Wang, Y. Epidemiologic studies of modifiable factors associated with cognition and dementia: systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health.* 2014; 14: 643.
- Bhattacharya, B. S., Coyle, D., Maguire, L. P. A thalamo-cortico-thalamic neural mass model to study alpha rhythms in Alzheimer's disease. *Neural Netw.* 2011; 24: 631-645.
- Bliss, T. V., Gardner-Medwin, A. R. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol.* 1973; 232: 357-374.
- Bliss, T. V., Richter-Levin, G. Spatial learning and the saturation of long-term potentiation. *Hippocampus.* 1993; 3: 123-125.
- Borenstein, A. R., Copenhaver, C. I., Mortimer, J. A. Early-life risk factors for Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2006; 20: 63-72.
- Bradford, M. M. Rapid and Sensitive Method for Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing Principle of Protein-Dye Binding. *Anal Biochem.* 1976; 72: 248-254.
- Brambilla, R., Hurtado, A., Persaud, T., Esham, K., Pearse, D. D., Oudega, M., Bethea, J. R. Transgenic inhibition of astroglial NF-kappa B leads to increased axonal sparing and sprouting following spinal cord injury. *Journal of Neurochemistry.* 2009; 110: 765-778.

- Brandt, R., Leschik, J. Functional interactions of tau and their relevance for Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*. 2004; 1: 255-269.
- Brenner, R. P., Ulrich, R. F., Spiker, D. G., Scwabassi, R. J., Reynolds, C. F., Marin, R. S., Boller, F. Computerized Eeg Spectral-Analysis in Elderly Normal, Demented and Depressed Subjects. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1986; 64: 483-492.
- Bretteville, A., Marcouiller, F., Julien, C., El Khoury, N. B., Petry, F. R., Poitras, I., Planel, E. Hypothermia-induced hyperphosphorylation: a new model to study tau kinase inhibitors. *Sci Rep*. 2012; 2.
- Buzsaki, G. Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*. 2002; 33: 325-340.
- Caamano-Isorna, F., Corral, M., Montes-Martinez, A., Takkouche, B. Education and dementia: a meta-analytic study. *Neuroepidemiology*. 2006; 26: 226-232.
- Carrillo-Mora, P., Luna, R., Colin-Barenque, L. Amyloid beta: multiple mechanisms of toxicity and only some protective effects? *Oxid Med Cell Longev*. 2014; 2014: 795375.
- Carter, S. F., Scholl, M., Almkvist, O., Wall, A., Engler, H., Langstrom, B., Nordberg, A. Evidence for astrogliosis in prodromal Alzheimer disease provided by 11C-deuterium-L-deprenyl: a multitracers PET paradigm combining 11C-Pittsburgh compound B and 18F-FDG. *Journal of Nuclear Medicine*. 2012; 53: 37-46.
- Cassani, R., Estarellas, M., San-Martin, R., Fraga, F. J., Falk, T. H. Systematic Review on Resting-State EEG for Alzheimer's Disease Diagnosis and Progression Assessment. *Dis Markers*. 2018; 2018: 5174815.
- Chakrabarty, P., Ceballos-Diaz, C., Beccard, A., Janus, C., Dickson, D., Golde, T. E., Das, P. IFN-gamma promotes complement expression and attenuates amyloid plaque deposition in amyloid beta precursor protein transgenic mice. *Journal of Immunology*. 2010; 184: 5333-5343.

- Chartier-Harlin, M. C., Crawford, F., Houlden, H., Warren, A., Hughes, D., Fidani, L. Early-onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the beta-amyloid precursor protein gene. *Nature*. 1991; 353: 844-846.
- Chen, C. F., Huang, S. W., Son, N. T., Chang, L. Y. Mapping double-cropped irrigated rice fields in Taiwan using time-series Satellite Pour l'Observation de la Terre data. *Journal of Applied Remote Sensing*. 2011; 5.
- Chen, G., Chen, K. S., Knox, J., Inglis, J., Bernard, A., Martin, S. J. Morris, R. G. A learning deficit related to age and beta-amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nature*. 2000; 408: 975-979.
- Choi, D. W. Calcium - Still Center-Stage in Hypoxic-Ischemic Neuronal Death. *Trends Neurosci*. 1995; 18: 58-60.
- Christensen, R., Marcussen, A. B., Wortwein, G., Knudsen, G. M., Aznar, S. Abeta(1-42) injection causes memory impairment, lowered cortical and serum BDNF levels, and decreased hippocampal 5-HT(2A) levels. *Experimental Neurology*. 2008; 210: 164-171.
- Chrobak, J. J., Buzsaki, G. Gamma oscillations in the entorhinal cortex of the freely behaving rat. *Journal of Neuroscience*. 1998; 18: 388-398.
- Ciabarra, A. M., Sullivan, J. M., Gahn, L. G., Pecht, G., Heinemann, S., Sevarino, K. A. Cloning and Characterization of Chi-1 - a Developmentally-Regulated Member of a Novel Class of the Ionotropic Glutamate-Receptor Family. *Journal of Neuroscience*. 1995; 15: 6498-6508.
- Coben, L. A., Danziger, W. L., Berg, L. Frequency analysis of the resting awake EEG in mild senile dementia of Alzheimer type. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1983; 55: 372-380.
- Cohen, M. X. Where Does EEG Come From and What Does It Mean? *Trends in Neurosciences*. 2017; 40: 208-218.
- Corbett, A., Smith, J., Ballard, C. New and emerging treatments for Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother*. 2012; 12: 535-543.

- Cummings, J. A., Mulkey, R. M., Nicoll, R. A., Malenka, R. C. Ca²⁺ signaling requirements for long-term depression in the hippocampus. *Neuron*. 1996; 16: 825-833.
- da Silva, F. L. EEG and MEG: Relevance to Neuroscience. *Neuron*. 2013; 80: 1112-1128.
- Das, S., Sasaki, Y. F., Rothe, T., Premkumar, L. S., Takasu, M., Crandall, J. E., Nakanishi, N. Increased NMDA current and spine density in mice lacking the NMDA receptor subunit NR3A. *Nature*. 1998; 393: 377-381.
- Davies, C. A., Mann, D. M., Sumpter, P. Q., Yates, P. O. A quantitative morphometric analysis of the neuronal and synaptic content of the frontal and temporal cortex in patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*. 1987; 78: 151-164.
- Daviglus, M. L., Bell, C. C., Berrettini, W., Bowen, P. E., Connolly, E. S., Jr., Cox, N. J., Trevisan, M. NIH state-of-the-science conference statement: Preventing Alzheimer's disease and cognitive decline. *NIH Consens State Sci Statements*. 2010; 27: 1-30.
- de Bruijn, R. F., Ikram, M. A. Cardiovascular risk factors and future risk of Alzheimer's disease. *BMC Med*. 2014; 12: 130.
- Derkach, V., Barria, A., Soderling, T. R. Ca²⁺/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999; 96: 3269-3274.
- Dierks, T., Ihl, R., Frolich, L., Maurer, K. Dementia of the Alzheimer-Type - Effects on the Spontaneous Eeg Described by Dipole Sources. *Psychiatry Research-Neuroimaging*. 1993; 50: 151-162.
- Dierks, T., Jelic, V., Pascual-Marqui, R. D., Wahlund, L., Julin, P., Linden, D. E., Nordberg, A. Spatial pattern of cerebral glucose metabolism (PET) correlates with localization of intracerebral EEG-generators in Alzheimer's disease. *Clinical Neurophysiology*. 2000; 111: 1817-1824.

- Dingledine, R., Borges, K., Bowie, D., Traynelis, S. F. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological Reviews*. 1999; 51: 7-61.
- Diniz, B. S., Butters, M. A., Albert, S. M., Dew, M. A., Reynolds, C. F., 3rd. Late-life depression and risk of vascular dementia and Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of community-based cohort studies. *Br J Psychiatry*. 2013; 202: 329-335.
- Dodart, J. C., Bales, K. R., Gannon, K. S., Greene, S. J., DeMattos, R. B., Mathis, C., Paul, S. M. Immunization reverses memory deficits without reducing brain A β burden in Alzheimer's disease model. *Nature Neuroscience*. 2002; 5: 452-457.
- Donner, T. H., Siegel, M., Oostenveld, R., Fries, P., Bauer, M., Engel, A. K. Population activity in the human dorsal pathway predicts the accuracy of visual motion detection. *J Neurophysiol*. 2007; 98: 345-359.
- Driver, J. E., Racca, C., Cunningham, M. O., Towers, S. K., Davies, C. H., Whittington, M. A., LeBeau, F. E. Impairment of hippocampal gamma-frequency oscillations in vitro in mice overexpressing human amyloid precursor protein (APP). *European Journal of Neuroscience*. 2007; 26: 1280-1288.
- Dubravka, C., Milica, S., Slobodan, D. Neuropathological hallmarks of Alzheimer's disease. *Archive of Oncology*. 2001; 9: 195-199.
- Duce, J. A., Tsatsanis, A., Cater, M. A., James, S. A., Robb, E., Wikke, K., Bush, A. I. Iron-export ferroxidase activity of beta-amyloid precursor protein is inhibited by zinc in Alzheimer's disease. *Cell*. 2010; 142: 857-867.
- Ebneth, A., Godemann, R., Stamer, K., Illenberger, S., Trinczek, B., Mandelkow, E. Overexpression of tau protein inhibits kinesin-dependent trafficking of vesicles, mitochondria, and endoplasmic reticulum: implications for Alzheimer's disease. *J Cell Biol*. 1998; 143: 777-794.
- Engel, A. K., Fries, P. Beta-band oscillations--signalling the status quo? *Curr Opin Neurobiol*. 2010; 20: 156-165.

- Farrer, L. A., Cupples, L. A., Haines, J. L., Hyman, B., Kukull, W. A., Mayeux, R., van Duijn, C. M. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. JAMA. 1997; 278: 1349-1356.
- Fernandez, A., Hornero, R., Mayo, A., Poza, J., Gil-Gregorio, P., Ortiz, T. MEG spectral profile in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. Clinical Neurophysiology. 2006; 117: 306-314.
- Fox, S. E., Wolfson, S., Ranck, J. B. Hippocampal Theta-Rhythm and the Firing of Neurons in Walking and Urethane Anesthetized Rats. Experimental Brain Research. 1986; 62: 495-508.
- Frautschy, S. A., Baird, A., Cole, G. M. Effects of injected Alzheimer beta-amyloid cores in rat brain. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991; 88: 8362-8366.
- Friedlander, A. H., Norman, D. C., Mahler, M. E., Norman, K. M., Yagiela, J. A. Alzheimer's disease - Psychopathology, medical management and dental implications. Journal of the American Dental Association. 2006; 137: 1240-1251.
- Fries, P., Reynolds, J. H., Rorie, A. E., Desimone, R. Modulation of oscillatory neuronal synchronization by selective visual attention. Science. 2001; 291: 1560-1563.
- Furman, J. L., Sama, D. M., Gant, J. C., Beckett, T. L., Murphy, M. P., Bachstetter, A. D., Norris, C. M. Targeting astrocytes ameliorates neurologic changes in a mouse model of Alzheimer's disease. Journal of Neuroscience. 2012; 32: 16129-16140.
- Garces, P., Vicente, R., Wibrál, M., Pineda-Pardo, J. A., Lopez, M. E., Aurteneixe, S., Fernandez, A. Brain-wide slowing of spontaneous alpha rhythms in mild cognitive impairment. Frontiers in Aging Neuroscience. 2013; 5.
- Gavello, D., Calorio, C., Franchino, C., Cesano, F., Carabelli, V., Carbone, E., Marcantoni, A. Early Alterations of Hippocampal Neuronal Firing Induced by Abeta42. Cerebral Cortex. 2018; 28: 433-446.

- Gerloff, C., Richard, J., Hadley, J., Schulman, A. E., Honda, M., Hallett, M. Functional coupling and regional activation of human cortical motor areas during simple, internally paced and externally paced finger movements. *Brain*. 1998; 121 (Pt 8): 1513-1531.
- Glenner, G. G., Wong, C. W. Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1984; 122: 1131-1135.
- Gloor, P., Ball, G., Schaul, N. Brain Lesions That Produce Delta Waves in Eeg. *Neurology*. 1977; 27: 326-333.
- Goate, A., Chartier-Harlin, M. C., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*. 1991; 349: 704-706.
- Gordon, M. N., King, D. L., Diamond, D. M., Jantzen, P. T., Boyett, K. V., Hope, C. E., Arendash, G. W. Correlation between cognitive deficits and A beta deposits in transgenic APP+PS1 mice. *Neurobiology of Aging*. 2001; 22: 377-385.
- Gouras, G. K., Tampellini, D., Takahashi, R. H., Capetillo-Zarate, E. Intraneuronal beta-amyloid accumulation and synapse pathology in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*. 2010a; 119: 523-541.
- Gouras, G. K., Tampellini, D., Takahashi, R. H., Capetillo-Zarate, E. Intraneuronal beta-amyloid accumulation and synapse pathology in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*. 2010b; 119: 523-541.
- Gouras, G. K., Tsai, J., Naslund, J., Vincent, B., Edgar, M., Checler, F., Relkin, N. R. Intraneuronal Abeta42 accumulation in human brain. *American Journal of Pathology*. 2000; 156: 15-20.
- Gray, C. M., Konig, P., Engel, A. K., Singer, W. Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. *Nature*. 1989; 338: 334-337.

- Gudala, K., Bansal, D., Schifano, F., Bhansali, A. Diabetes mellitus and risk of dementia: A meta-analysis of prospective observational studies. *J Diabetes Investig.* 2013; 4: 640-650.
- Gustafson, D. R., Backman, K., Waern, M., Ostling, S., Guo, X., Zandi, P., Skoog, I. Adiposity indicators and dementia over 32 years in Sweden. *Neurology.* 2009; 73: 1559-1566.
- Haass, C., Lemere, C. A., Capell, A., Citron, M., Seubert, P., Schenk, D., Selkoe, D. J. The Swedish mutation causes early-onset Alzheimer's disease by beta-secretase cleavage within the secretory pathway. *Nat Med.* 1995; 1: 1291-1296.
- Haass, C., Selkoe, D. J. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8: 101-112.
- Hansen, K. B., Furukawa, H., Traynelis, S. F. Control of Assembly and Function of Glutamate Receptors by the Amino-Terminal Domain. *Molecular Pharmacology.* 2010; 78: 535-549.
- Hanzel, D. K., Trojanowski, J. Q., Johnston, R. F., Loring, J. F. High-throughput quantitative histological analysis of Alzheimer's disease pathology using a confocal digital microscanner. *Nat Biotechnol.* 1999; 17: 53-57.
- Hardy, J., Allsop, D. Amyloid Deposition as the Central Event in the Etiology of Alzheimers-Disease. *Trends in Pharmacological Sciences.* 1991; 12: 383-388.
- Hardy, J., Selkoe, D. J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science.* 2002; 297: 353-356.
- Heraud, C., Goufak, D., Ando, K., Leroy, K., Suain, V., Yilmaz, Z., Brion, J. P. Increased misfolding and truncation of tau in APP/PS1/tau transgenic mice compared to mutant tau mice. *Neurobiology of Disease.* 2014; 62: 100-112.
- Hidisoglu, E., Kantar-Gok, D., Er, H., Acun, A. D., Yargicoglu, P. Alterations in spontaneous delta and gamma activity might provide clues to detect changes

induced by amyloid- administration. *European Journal of Neuroscience*. 2018; 47: 1013-1023.

Huang, C., Julin, P., Jelic, V., Dierks, T., Winblad, B., Wahlund, L. O. Temporal lobe atrophy and spatial aspects of brain electrical activity in Alzheimer's disease. *Alzheimers Reports*. 2000; 3: 275-280.

Huang, C., Wahlund, L., Dierks, T., Julin, P., Winblad, B., Jelic, V. Discrimination of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment by equivalent EEG sources: a cross-sectional and longitudinal study. *Clinical Neurophysiology*. 2000; 111: 1961-1967.

Impey, S., Mark, M., Villacres, E. C., Poser, S., Chavkin, C., Storm, D. R. Induction of CRE-mediated gene expression by stimuli that generate long-lasting LTP in area CA1 of the hippocampus. *Neuron*. 1996; 16: 973-982.

Ingelsson, M., Fukumoto, H., Newell, K. L., Growdon, J. H., Hedley-Whyte, E. T., Frosch, M. P., Irizarry, M. C. Early A beta accumulation and progressive synaptic loss, gliosis, and tangle formation in AD brain. *Neurology*. 2004; 62: 925-931.

Ishii, T., Moriyoshi, K., Sugihara, H., Sakurada, K., Kadotani, H., Yokoi, M. Molecular characterization of the family of the N-methyl-D-aspartate receptor subunits. *Journal of Biological Chemistry*. 1993; 268: 2836-2843.

Ittner, L. M., Gotz, J. Amyloid-beta and tau--a toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2011; 12: 65-72.

Iwatsubo, T. The gamma-secretase complex: machinery for intramembrane proteolysis. *Curr Opin Neurobiol*. 2004; 14: 379-383.

Jacobsen, J. S., Wu, C. C., Redwine, J. M., Comery, T. A., Arias, R., Bowlby, M., Bloom, F. E. Early-onset behavioral and synaptic deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006; 103: 5161-5166.

- Jarrett, J. T., Berger, E. P., Lansbury, P. T. The Carboxy Terminus of the Beta-Amyloid Protein Is Critical for the Seeding of Amyloid Formation - Implications for the Pathogenesis of Alzheimers-Disease. *Biochemistry*. 1993; 32: 4693-4697.
- Jelic, V., Shigeta, M., Julin, P., Almkvist, O., Winblad, B., Wahlund, L. O. Quantitative electroencephalography power and coherence in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Dementia*. 1996; 7: 314-323.
- Jeong, J. S. EEG dynamics in patients with Alzheimer's disease. *Clinical Neurophysiology*. 2004; 115: 1490-1505.
- Jonsson, T., Atwal, J. K., Steinberg, S., Snaedal, J., Jonsson, P. V., Bjornsson, S., Stefansson, K. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature*. 2012; 488: 96-99.
- Kahle, P. J., De Strooper, B. Attack on amyloid. *EMBO Rep*. 2003; 4: 747-751.
- Kaiser, J., Lutzenberger, W. Induced gamma-band activity and human brain function. *Neuroscientist*. 2003; 9: 475-484.
- Kamphuis, W., Mamber, C., Moeton, M., Kooijman, L., Sluijs, J. A., Jansen, A. H., Hol, E. M. GFAP isoforms in adult mouse brain with a focus on neurogenic astrocytes and reactive astrogliosis in mouse models of Alzheimer disease. *Plos One*. 2012; 7: e42823.
- Kanaan, N. M., Morfini, G. A., LaPointe, N. E., Pigino, G. F., Patterson, K. R., Song, Y., Binder, L. I. Pathogenic forms of tau inhibit kinesin-dependent axonal transport through a mechanism involving activation of axonal phosphotransferases. *Journal of Neuroscience*. 2011; 31: 9858-9868.
- Kandel, E. R., Schwartz, J.H., Jessel, T.M. (2000). *Principles of Neural Science* (4th Edition ed.). United States of America: McGraw-Hill Companies.
- Karran, E., Mercken, M., De Strooper, B. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2011; 10: 698-U1600.

- Kashon, M. L., Ross, G. W., O'Callaghan, J. P., Miller, D. B., Petrovitch, H., Burchfiel, C. M., White, L. R. Associations of cortical astrogliosis with cognitive performance and dementia status. *Journal of Alzheimers Disease*. 2004; 6: 595-604; discussion 673-581.
- Keinanen, K., Wisden, W., Sommer, B., Werner, P., Herb, A., Verdoorn, T. A., Seeburg, P. H. A Family of Ampa-Selective Glutamate Receptors. *Science*. 1990; 249: 556-560.
- Kennedy, M. B. The postsynaptic density at glutamatergic synapses. *European Journal of Neuroscience*. 1998; 10: 207-207.
- Kettenmann, H., Verkhratsky, A. Neuroglia: the 150 years after. *Trends Neurosci*. 2008; 31: 653-659.
- Khachaturian, A. S., Corcoran, C. D., Mayer, L. S., Zandi, P. P., Breitner, J. C., Cache County Study, I. Apolipoprotein E epsilon4 count affects age at onset of Alzheimer disease, but not lifetime susceptibility: The Cache County Study. *Arch Gen Psychiatry*. 2004; 61: 518-524.
- Kimelberg, H. K. The problem of astrocyte identity. *Neurochemistry International*. 2004; 45: 191-202.
- Klementiev, B., Novikova, T., Novitskaya, V., Walmod, P. S., Dmytriyeva, O., Pakkenberg, B., Bock, E. A neural cell adhesion molecule-derived peptide reduces neuropathological signs and cognitive impairment induced by A beta(25-35). *Neuroscience*. 2007; 145: 209-224.
- Klimesch, W. EEG-alpha rhythms and memory processes. *International Journal of Psychophysiology*. 1997; 26: 319-340.
- Klimesch, W. EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis. *Brain Res Brain Res Rev*. 1999; 29: 169-195.

- Klimesch, W., Doppelmayr, M., Russegger, H., Pachinger, T., Schwaiger, J. Induced alpha band power changes in the human EEG and attention. *Neurosci Lett.* 1998; 244: 73-76.
- Knobloch, M., Mansuy, I. M. Dendritic spine loss and synaptic alterations in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol.* 2008; 37: 73-82.
- Knopman, D. S., Petersen, R. C. Mild Cognitive Impairment and Mild Dementia: A Clinical Perspective. *Mayo Clin Proc.* 2014; 89: 1452-1459.
- Koenig, T., Prichep, L., Dierks, T., Hubl, D., Wahlund, L. O., John, E. R., Jelic, V. Decreased EEG synchronization in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiology of Aging.* 2005; 26: 165-171.
- Koffie, R. M., Hyman, B. T., Spires-Jones, T. L. Alzheimer's disease: synapses gone cold. *Molecular Neurodegeneration.* 2011; 6.
- Kotilinek, L. A., Bacskai, B., Westerman, M., Kwarakbayashi, T., Younkin, L., Hyman, B. T., Ashe, K. H. Reversible memory loss in a mouse transgenic model of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience.* 2002; 22: 6331-6335.
- Kurz, A., Pernecky, R. Novel insights for the treatment of Alzheimer's disease. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry.* 2011; 35: 373-379.
- LaFerla, F. M., Green, K. N., Oddo, S. Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci.* 2007; 8: 499-509.
- LaFerla, F. M., Oddo, S. Alzheimer's disease: A beta, tau and synaptic dysfunction. *Trends in Molecular Medicine.* 2005; 11: 170-176.
- Lassmann, H., Fischer, P., Jellinger, K. Synaptic pathology of Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci.* 1993; 695: 59-64.
- Lega, B. C., Jacobs, J., Kahana, M. Human hippocampal theta oscillations and the formation of episodic memories. *Hippocampus.* 2012; 22: 748-761.

- Lesne, S. E., Sherman, M. A., Grant, M., Kuskowski, M., Schneider, J. A., Bennett, D. A., Ashe, K. H. Brain amyloid-beta oligomers in ageing and Alzheimer's disease. *Brain*. 2013; 136: 1383-1398.
- Lewis, J., Dickson, D. W., Lin, W. L., Chisholm, L., Corral, A., Jones, G., McGowan, E. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science*. 2001; 293: 1487-1491.
- Li, J., Kanekiyo, T., Shinohara, M., Zhang, Y., LaDu, M. J., Xu, H., Bu, G. Differential regulation of amyloid-beta endocytic trafficking and lysosomal degradation by apolipoprotein E isoforms. *Journal of Biological Chemistry*. 2012; 287: 44593-44601.
- Liu, D., Lu, H., Stein, E., Zhou, Z., Yang, Y., Mattson, M. P. Brain regional synchronous activity predicts tauopathy in 3xTgAD mice. *Neurobiol Aging*. 2018; 70: 160-169.
- Liu, J., Chang, L., Roselli, F., Almeida, O. F., Gao, X., Wang, X., Wu, Y. Amyloid-beta induces caspase-dependent loss of PSD-95 and synaptophysin through NMDA receptors. *Journal of Alzheimers Disease*. 2010; 22: 541-556.
- Lopez-Sanz, D., Bruna, R., Garces, P., Camara, C., Serrano, N., Rodriguez-Rojo, I. C., Maestu, F. Alpha band disruption in the AD-continuum starts in the Subjective Cognitive Decline stage: a MEG study. *Scientific Reports*. 2016; 6.
- Lu, Y. F., Hawkins, R. D. Ryanodine receptors contribute to cGMP-induced late-phase LTP and CREB phosphorylation in the hippocampus. *J Neurophysiol*. 2002; 88: 1270-1278.
- Lu, Y. M., Mansuy, I. M., Kandel, E. R., Roder, J. Calcineurin-mediated LTD of GABAergic inhibition underlies the increased excitability of CA1 neurons associated with LTP. *Neuron*. 2000; 26: 197-205.
- Luchsinger, J. A., Cheng, D., Tang, M. X., Schupf, N., Mayeux, R. Central obesity in the elderly is related to late-onset Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2012; 26: 101-105.

- Lue, L. F., Kuo, Y. M., Roher, A. E., Brachova, L., Shen, Y., Sue, L., Rogers, J. Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *American Journal of Pathology*. 1999; 155: 853-862.
- Mann, E. O., Suckling, J. M., Hajos, N., Greenfield, S. A., Paulsen, O. Perisomatic feedback inhibition underlies cholinergically induced fast network oscillations in the rat hippocampus in vitro. *Neuron*. 2005; 45: 105-117.
- Martin, K. C., Barad, M., Kandel, E. R. Local protein synthesis and its role in synapse-specific plasticity. *Curr Opin Neurobiol*. 2000; 10: 587-592.
- Masliah, E., Mallory, M., Alford, M., DeTeresa, R., Hansen, L. A., McKeel, D. W., Jr., Morris, J. C. Altered expression of synaptic proteins occurs early during progression of Alzheimer's disease. *Neurology*. 2001; 56: 127-129.
- Masters, C. L., Bateman, R., Blennow, K., Rowe, C. C., Sperling, R. A., Cummings, J. L. Alzheimer's disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2015; 1: 15056.
- McLean, C. A., Cherny, R. A., Fraser, F. W., Fuller, S. J., Smith, M. J., Beyreuther, K., Masters, C. L. Soluble pool of Abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1999; 46: 860-866.
- Meeren, H. K. M., Pijn, J. P. M., Van Luijckelaar, E. L. J. M., Coenen, A. M. L., da Silva, F. H. L. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *Journal of Neuroscience*. 2002; 22: 1480-1495.
- Michels, L., Muthuraman, M., Anwar, A. R., Kollias, S., Leh, S. E., Riese, F., . . . Hock, C. Changes of Functional and Directed Resting-State Connectivity Are Associated with Neuronal Oscillations, ApoE Genotype and Amyloid Deposition in Mild Cognitive Impairment. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2017; 9: 304.
- Missonnier, P., Herrmann, F. R., Michon, A., Fazio-Costa, L., Gold, G., Giannakopoulos, P. Early disturbances of gamma band dynamics in mild cognitive impairment. *J Neural Transm (Vienna)*. 2010; 117: 489-498.

- Mitchell, S. J., Ranck, J. B. Generation of Theta Rhythm in Medial Entorhinal Cortex of Freely Moving Rats. *Brain Research*. 1980; 189: 49-66.
- Monaghan, D. T., Bridges, R. J., Cotman, C. W. The excitatory amino acid receptors: their classes, pharmacology, and distinct properties in the function of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1989; 29: 365-402.
- Moretti, D. V. Scalp EEG markers in subjects with cognitive impairment and Alzheimer's disease. *International Journal of Psychophysiology*. 2012; 85: 350-350.
- Morris, R. G. M. New Approaches to Learning and Memory. *Trends Neurosci*. 1982; 5: 3-4.
- Mucke, L., Masliah, E., Yu, G. Q., Mallory, M., Rockenstein, E. M., Tatsuno, G., McConlogue, L. High-level neuronal expression of A beta(1-42) in wild-type human amyloid protein precursor transgenic mice: Synaptotoxicity without plaque formation. *Journal of Neuroscience*. 2000; 20: 4050-4058.
- Murthy, V. N., Fetz, E. E. Coherent 25- to 35-Hz oscillations in the sensorimotor cortex of awake behaving monkeys. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992; 89: 5670-5674.
- Musaeus, C. S., Engedal, K., Høgh, P., Jelic, V., Morup, M., Naik, M., Andersen, B. B. EEG Theta Power Is an Early Marker of Cognitive Decline in Dementia due to Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimers Disease*. 2018; 64: 1359-1371.
- Naslund, J., Haroutunian, V., Mohs, R., Davis, K. L., Davies, P., Greengard, P., Buxbaum, J. D. Correlation between elevated levels of amyloid beta-peptide in the brain and cognitive decline. *JAMA*. 2000; 283: 1571-1577.
- Niedermeyer, E. EEG and clinical neurophysiology at Johns Hopkins medical institutions: roots and development. *J Clin Neurophysiol*. 1993; 10: 83-88.
- Nisbet, R. M., Polanco, J. C., Ittner, L. M., Gotz, J. Tau aggregation and its interplay with amyloid-beta. *Acta Neuropathologica*. 2015; 129: 207-220.

- Nunan, J., Small, D. H. Regulation of APP cleavage by alpha-, beta- and gamma-secretases. *FEBS Lett.* 2000; 483: 6-10.
- Olsson, F., Schmidt, S., Althoff, V., Munter, L. M., Jin, S., Rosqvist, S., Lundkvist, J. Characterization of intermediate steps in amyloid beta (A β) production under near-native conditions. *Journal of Biological Chemistry.* 2014; 289: 1540-1550.
- Onton, J., Delorme, A., Makeig, S. Frontal midline EEG dynamics during working memory. *Neuroimage.* 2005; 27: 341-356.
- Palop, J. J., Mucke, L. Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks. *Nature Neuroscience.* 2010; 13: 812-818.
- Pang, P. T., Lu, B. Regulation of late-phase LTP and long-term memory in normal and aging hippocampus: role of secreted proteins tPA and BDNF. *Ageing Res Rev.* 2004; 3: 407-430.
- Paxinos, G. W. C. (2006). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (Sixth ed.).
- Pekny, M., Nilsson, M. Astrocyte activation and reactive gliosis. *Glia.* 2005; 50: 427-434.
- Pekny, M., Wilhelmsson, U., Pekna, M. The dual role of astrocyte activation and reactive gliosis. *Neurosci Lett.* 2014; 565: 30-38.
- Perez, J. L., Carrero, I., Gonzalo, P., Arevalo-Serrano, J., Sanz-Anquela, J. M., Ortega, J., Gonzalo-Ruiz, A. Soluble oligomeric forms of beta-amyloid (A β) peptide stimulate A β production via astrogliosis in the rat brain. *Experimental Neurology.* 2010; 223: 410-421.
- Pettersson, A. F., Olsson, E., Wahlund, L. O. Motor function in subjects with mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2005; 19: 299-304.

- Pfurtscheller, G., Stancak, A., Jr., Neuper, C. Post-movement beta synchronization. A correlate of an idling motor area? *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1996; 98: 281-293.
- Pinault, D., Deschenes, M. Voltage-dependent 40-Hz oscillations in rat reticular thalamic neurons in vivo. *Neuroscience.* 1992; 51: 245-258.
- Pizzagalli, D. A. Electroencephalography and High-Density Electrophysiological Source Localization. *Handbook of Psychophysiology*, 3rd Edition. 2007; 56-84.
- Plant, K., Pelkey, K. A., Bortolotto, Z. A., Morita, D., Terashima, A., McBain, C. J., Isaac, J. T. R. Transient incorporation of native GluR2-lacking AMPA receptors during hippocampal long-term potentiation. *Nat Neurosci.* 2006; 9: 602-604.
- Poil, S. S., de Haan, W., van der Flier, W. M., Mansvelder, H. D., Scheltens, P., Linkenkaer-Hansen, K. Integrative EEG biomarkers predict progression to Alzheimer's disease at the MCI stage. *Frontiers in Aging Neuroscience.* 2013; 5.
- Ponomareva, N. V., Korovaitseva, G. I., Rogaev, E. I. EEG alterations in non-demented individuals related to apolipoprotein E genotype and to risk of Alzheimer disease. *Neurobiology of Aging.* 2008; 29: 819-827.
- Power, M. C., Weuve, J., Gagne, J. J., McQueen, M. B., Viswanathan, A., Blacker, D. The association between blood pressure and incident Alzheimer disease: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiology.* 2011; 22: 646-659.
- Priller, C., Bauer, T., Mitteregger, G., Krebs, B., Kretschmar, H. A., Herms, J. Synapse formation and function is modulated by the amyloid precursor protein. *Journal of Neuroscience.* 2006; 26: 7212-7221.
- Prince, M., Acosta, D., Ferri, C. P., Guerra, M., Huang, Y., Llibre Rodriguez, J. J., Liu, Z. Dementia incidence and mortality in middle-income countries, and associations with indicators of cognitive reserve: a 10/66 Dementia Research Group population-based cohort study. *Lancet.* 2012; 380: 50-58.

- Prince, M., Bryce, R., Albanese, E., Wimo, A., Ribeiro, W., Ferri, C. P. The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis. *Alzheimers & Dementia*. 2013; 9: 63-75.
- Rappelsberger, P., Petsche, H. Probability mapping: power and coherence analyses of cognitive processes. *Brain Topography*. 1988; 1: 46-54.
- Reddy, P. H., Mani, G., Park, B. S., Jacques, J., Murdoch, G., Whetsell, W., Manczak, M. Differential loss of synaptic proteins in Alzheimer's disease: Implications for synaptic dysfunction. *Journal of Alzheimers Disease*. 2005; 7: 103-117.
- Roberson, E. D., Scarce-Levie, K., Palop, J. J., Yan, F., Cheng, I. H., Wu, T., Mucke, L. Reducing endogenous tau ameliorates amyloid beta-induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science*. 2007; 316: 750-754.
- Rodriguez, J. J., Jones, V. C., Verkhatsky, A. Impaired cell proliferation in the subventricular zone in an Alzheimer's disease model. *Neuroreport*. 2009; 20: 907-912.
- Ross, C. A., Poirier, M. A. Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat Med*. 2004; 10: S10-S17.
- Rossi, D. J., Brady, J. D., Mohr, C. Astrocyte metabolism and signaling during brain ischemia. *Nat Neurosci*. 2007; 10: 1377-1386.
- Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D., George-Hyslop, P. H., Pericak-Vance, M. A., Joo, S. H. Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*. 1993; 43: 1467-1472.
- Schacter, D. L. EEG theta waves and psychological phenomena: a review and analysis. *Biol Psychol*. 1977; 5: 47-82.
- Sehatpour, P., Molholm, S., Schwartz, T. H., Mahoney, J. R., Mehta, A. D., Javitt, D. C., Foxe, J. J. A human intracranial study of long-range oscillatory coherence across a frontal-occipital-hippocampal brain network during visual object processing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105: 4399-4404.

- Selkoe, D. J. Alzheimer's disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011; 3.
- Selkoe, D. J., Hardy, J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med.* 2016; 8: 595-608.
- Sheng, M., Sabatini, B. L., Sudhof, T. C. Synapses and Alzheimer's disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012; 4.
- Sheridan, P. L., Solomont, J., Kowall, N., Hausdorff, J. M. Influence of executive function on locomotor function: divided attention increases gait variability in Alzheimer's disease. *Journal of the American Geriatrics Society.* 2003; 51: 1633-1637.
- Sherrington, R., Rogaev, E. I., Liang, Y., Rogaeva, E. A., Levesque, G., Ikeda, M., St George-Hyslop, P. H. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature.* 1995; 375: 754-760.
- Simpson, J. E., Ince, P. G., Lace, G., Forster, G., Shaw, P. J., Matthews, F. Ageing Neuropathology Study, G. Astrocyte phenotype in relation to Alzheimer-type pathology in the ageing brain. *Neurobiology of Aging.* 2010; 31: 578-590.
- Singer, W., Gray, C. M. Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Annual Review of Neuroscience.* 1995; 18: 555-586.
- Sipos, E., Kurunczi, A., Kasza, A., Horvath, J., Felszeghy, K., Laroche, S., Penke, Z. Beta-amyloid pathology in the entorhinal cortex of rats induces memory deficits: implications for Alzheimer's disease. *Neuroscience.* 2007; 147: 28-36.
- Sirota, A., Montgomery, S., Fujisawa, S., Isomura, Y., Zugaro, M., Buzsaki, G. Entrainment of Neocortical Neurons and Gamma Oscillations by the Hippocampal Theta Rhythm. *Neuron.* 2008; 60: 683-697.
- Snyder, E. M., Nong, Y., Almeida, C. G., Paul, S., Moran, T., Choi, E. Y., Greengard, P. Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. *Nature Neuroscience.* 2005; 8: 1051-1058.
- Sofroniew, M. V. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends Neurosci.* 2009; 32: 638-647.

- Sofroniew, M. V., Vinters, H. V. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathologica*. 2010; 119: 7-35.
- Soldano, A., Hassan, B. A. Beyond pathology: APP, brain development and Alzheimer's disease. *Curr Opin Neurobiol*. 2014; 27: 61-67.
- Somjen, G. G. Nervenkitz: notes on the history of the concept of neuroglia. *Glia*. 1988; 1: 2-9.
- Sperling, R. A., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Bennett, D. A., Craft, S., Fagan, A. M., Phelps, C. H. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers & Dementia*. 2011; 7: 280-292.
- Stam, C. J. Use of magnetoencephalography (MEG) to study functional brain networks in neurodegenerative disorders. *Journal of the Neurological Sciences*. 2010; 289: 128-134.
- Stam, C. J., van der Made, Y., Pijnenburg, Y. A., Scheltens, P. EEG synchronization in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand*. 2003; 108: 90-96.
- Steigerwald, F., Schulz, T. W., Schenker, L. T., Kennedy, M. B., Seeburg, P. H., Kohr, G. C-Terminal truncation of NR2A subunits impairs synaptic but not extrasynaptic localization of NMDA receptors. *Journal of Neuroscience*. 2000; 20: 4573-4581.
- Strong, K. L., Jing, Y., Prosser, A. R., Traynelis, S. F., Liotta, D. C. NMDA receptor modulators: an updated patent review (2013-2014). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2014; 24: 1349-1366.
- Takami, M., Nagashima, Y., Sano, Y., Ishihara, S., Morishima-Kawashima, M., Funamoto, S., Ihara, Y. gamma-Secretase: successive tripeptide and tetrapeptide release from the transmembrane domain of beta-carboxyl terminal fragment. *Journal of Neuroscience*. 2009; 29: 13042-13052.

- Tallon-Baudry, C., Bertrand, O., Fischer, C. Oscillatory synchrony between human extrastriate areas during visual short-term memory maintenance. *Journal of Neuroscience*. 2001; 21: RC177.
- Tampellini, D., Capetillo-Zarate, E., Dumont, M., Huang, Z. Y., Yu, F. M., Lin, M. T., Gouras, G. K. Effects of Synaptic Modulation on beta-Amyloid, Synaptophysin, and Memory Performance in Alzheimer's Disease Transgenic Mice. *Journal of Neuroscience*. 2010; 30: 14299-14304.
- Terashima, A., Cotton, L., Dev, K. K., Meyer, G., Zaman, S., Duprat, F., Isaac, J. T. R. Regulation of synaptic strength and AMPA receptor subunit composition by PICK1. *Journal of Neuroscience*. 2004; 24: 5381-5390.
- Terry, R. D. Neuropathological changes in Alzheimer disease. *Prog Brain Res*. 1994; 101: 383-390.
- Terry, R. D., Masliah, E., Salmon, D. P., Butters, N., DeTeresa, R., Hill, R., Katzman, R. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol*. 1991; 30: 572-580.
- Thatcher, R. W., Krause, P. J., Hrybyk, M. Cortico-cortical associations and EEG coherence: a two-compartmental model. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1986; 64: 123-143.
- Thompson, R. J., Zhou, N., MacVicar, B. A. Ischemia opens neuronal gap junction hemichannels. *Science*. 2006; 312: 924-927.
- Tomiyama, T., Matsuyama, S., Iso, H., Umeda, T., Takuma, H., Ohnishi, K., Mori, H. A Mouse Model of Amyloid beta Oligomers: Their Contribution to Synaptic Alteration, Abnormal Tau Phosphorylation, Glial Activation, and Neuronal Loss In Vivo. *Journal of Neuroscience*. 2010; 30: 4845-4856.
- Tort, A. B., Kramer, M. A., Thorn, C., Gibson, D. J., Kubota, Y., Graybiel, A. M., Kopell, N. J. Dynamic cross-frequency couplings of local field potential oscillations in rat striatum and hippocampus during performance of a T-maze task. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105: 20517-20522.

- Tu, S., Okamoto, S., Lipton, S. A., Xu, H. Oligomeric Abeta-induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*. 2014; 9: 48.
- Turner, P. R., O'Connor, K., Tate, W. P., Abraham, W. C. Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory. *Progress in Neurobiology*. 2003; 70: 1-32.
- Ullian, E. M., Sapperstein, S. K., Christopherson, K. S., Barres, B. A. Control of synapse number by glia. *Science*. 2001; 291: 657-661.
- Valenzuela, M. J., Sachdev, P. Brain reserve and cognitive decline: a non-parametric systematic review. *Psychol Med*. 2006; 36: 1065-1073.
- van Deursen, J. A., Vuurman, E. F., Verhey, F. R., van Kranen-Mastenbroek, V. H., Riedel, W. J. Increased EEG gamma band activity in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *J Neural Transm (Vienna)*. 2008; 115: 1301-1311.
- Vanzani, M. C., Iacono, R. F., Caccuri, R. L., Berria, M. I. Immunochemical and morphometric features of astrocyte reactivity vs. plaque location in Alzheimer's disease. *Medicina (B Aires)*. 2005; 65: 213-218.
- Vehmas, A. K., Kawas, C. H., Stewart, W. F., Troncoso, J. C. Immune reactive cells in senile plaques and cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 2003; 24: 321-331.
- Verdiev, B. I., Poltavtseva, R. A., Podgornyi, O. V., Marei, M. V., Zinovyeva, R. D., Sukhikh, G. T., Aleksandrova, M. A. Molecular Genetic and Immunophenotypical Analysis of Pax6 Transcription Factor and Neural Differentiation Markers in Human Fetal Neocortex and Retina In Vivo and In Vitro. *Bull Exp Biol Med*. 2009; 148: 697-704.
- Verkhatsky, A., Olabarria, M., Noristani, H. N., Yeh, C. Y., Rodriguez, J. J. Astrocytes in Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics*. 2010; 7: 399-412.

- Verkhatsky, A., Sofroniew, M. V., Messing, A., deLanerolle, N. C., Rempe, D., Rodriguez, J. J., Nedergaard, M. Neurological diseases as primary gliopathies: a reassessment of neurocentrism. *Asn Neuro*. 2012; 4.
- Villemagne, V. L., Burnham, S., Bourgeat, P., Brown, B., Ellis, K. A., Salvado, O., Masters, C. L. Amyloid beta deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *Lancet Neurol*. 2013; 12: 357-367.
- Volosin, M., Cancela, L., Molina, V. Influence of adrenocorticotrophic hormone on the behaviour in the swim test of rats treated chronically with desipramine. *J Pharm Pharmacol*. 1988; 40: 74-76.
- Voronin, L., Byzov, A., Kleschevnikov, A., Kozhemyakin, M., Kuhnt, U., Volgushev, M. Neurophysiological analysis of long-term potentiation in mammalian brain. *Behavioural Brain Research*. 1995; 66: 45-52.
- Walikonis, R. S., Jensen, O. N., Mann, M., Provance, D. W., Mercer, J. A., Kennedy, M. B. Identification of proteins in the postsynaptic density fraction by mass spectrometry. *Journal of Neuroscience*. 2000; 20: 4069-4080.
- Wang, D., Zhang, X., Wang, M., Zhou, D., Pan, H., Shu, Q., Sun, B. Early Activation of Astrocytes does not Affect Amyloid Plaque Load in an Animal Model of Alzheimer's Disease. *Neuroscience Bulletin*. 2018.
- Wang, D. D., Bordey, A. The astrocyte odyssey. *Progress in Neurobiology*. 2008; 86: 342-367.
- Wesson, D. W., Nixon, R. A., Levy, E., Wilson, D. A. Mechanisms of neural and behavioral dysfunction in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol*. 2011; 43: 163-179.
- Wolf, H., Jelic, V., Gertz, H. J., Nordberg, A., Julin, P., Wahlund, L. O. A critical discussion of the role of neuroimaging in mild cognitive impairment. *Acta Neurol Scand*. 2003; 107: 52-76.

- Wollmuth, L. P., Kuner, T., Sakmann, B. Adjacent asparagines in the NR2-subunit of the NMDA receptor channel control the voltage-dependent block by extracellular Mg^{2+} . *Journal of Physiology-London*. 1998; 506: 13-32.
- Wollmuth, L. P., Sobolevsky, A. I. Structure and gating of the glutamate receptor ion channel. *Trends Neurosci*. 2004; 27: 321-328.
- Yamamoto-Sasaki, M., Ozawa, H., Saito, T., Rosler, M., Riederer, P. Impaired phosphorylation of cyclic AMP response element binding protein in the hippocampus of dementia of the Alzheimer type. *Brain Res*. 1999; 824: 300-303.
- Yang, He., Mengdi, Wei., Yan, Wu., Huaping, Qin., Weinan, Li., Xiaolin, Ma., Jingjing, Cheng., Jinshuai, Ren., Ye, Shen., Zhong, Chen., Binggui, Sun., Fu-De, Huang, Yi Shen., Yu-Dong, Zhou. Amyloid β oligomers suppress excitatory transmitter release via presynaptic depletion of phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate. *Nature Communications*. 2019;10:1193.
- Zhang, R., Xue, G. Z., Wang, S. D., Zhang, L. H., Shi, C. J., Xie, X. Novel Object Recognition as a Facile Behavior Test for Evaluating Drug Effects in A beta PP/PS1 Alzheimer's Disease Mouse Model. *Journal of Alzheimers Disease*. 2012; 31: 801-812.
- Zheng, L., Cedazo-Minguez, A., Hallbeck, M., Jerhammar, F., Marcusson, J., Terman, A. Intracellular distribution of amyloid beta peptide and its relationship to the lysosomal system. *Transl Neurodegener*. 2012; 1: 19.
- Zhou, B., Liu, Y., Zhang, Z., An, N., Yao, H., Wang, P., Jiang, T. Impaired functional connectivity of the thalamus in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a resting-state fMRI study. *Current Alzheimer Research*. 2013; 10: 754-766.
- Zhu, S. J., Paoletti, P. Allosteric modulators of NMDA receptors: multiple sites and mechanisms. *Current Opinion in Pharmacology*. 2015; 20: 14-23.

Zucker, R. S. Calcium- and activity-dependent synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol.* 1999; 9: 305-313.

Zukin, R. S., Bennett, M. V. L. Alternatively Spliced Isoforms of the Nmdari Receptor Subunit (Vol 18, Pg 306, 1995). *Trends Neurosci.* 1995; 18: 441-441.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Enis	Uyruğu	T.C.
Soyadı	HİDİŞOĞLU	Tel no	+90506 881 1030
Doğum tarihi	06.07.1990	e-posta	enishidisoglu@gmail.com

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Saime Salih Konca Lisesi/Antalya	2007
Lisans	Necmettin Erbakan Üniversitesi-Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi-Fizik Öğretmenliği	2012
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Biyofizik	2015
Doktora	Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Biyofizik	2020

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Araştırma Görevlisi	Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı	2013-2013
Araştırma Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı	2013-2020

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce Sağlık Bilimleri	2020-YÖKDİL/1	82.5

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Early alterations of hippocampal GABAergic synaptic properties induced by Abeta42 oligomers. Yürütücü	European Molecular Biology Organization (EMBO), EMBO-7835	2019-2019
Alzheimer Hastalığının Erken Evrelerinde Gözlenen Sinaptik Bozuklukların Beyin Osilasyonları ile Deteksiyonu. Yürütücü	TÜBİTAK, SBAG 118S225	2018-2020
Alzheimer Hastalığında Önemli Bir Role Sahip Olan Amiloid Beta'nın Bilişsel Fonksiyonlar Üzerine Etkileri: Biyobelirteç Olarak Beyin Osilasyonları. Yürütücü	TÜBİTAK, SBAG 315S054	2017-2017
3G Cep Telefonlarından Yayılan Elektromanyetik Radyasyonun Görsel Uyarılma Potansiyellerine Etkileri. Araştırmacı	Akdeniz Üniversitesi, BAP Araştırma Projesi, 2014.02.0122.001	2013-2015
3G Cep Telefonlarından Yayılan Elektromanyetik Radyasyonun Testis İnterstitial ve Seminifer Tübül Hücrelerinde Endoplazmik Retikulum Stres Yolağı Üzerine Etkisi. Araştırmacı	Akdeniz Üniversitesi, BAP Araştırma Projesi, TSA-2015-790	2015-2016
Prilokain Toksikitesitesinde Timokinonun Koruyucu Etkinliği. Araştırmacı.	Akdeniz Üniversitesi, BAP Doktora Projesi, TTU-2017-2551	2018-2019

Yüksek Frekanslı Elektromanyetik Radyasyon Uygulaması ve Transkranial Alternatif Akım Stimülasyonunun Beyin Osilasyonları Üzerindeki Modüle Edici Etkisi. Araştırmacı	Akdeniz Üniversitesi, BAP Araştırma Projesi, TSA-2017-2007	2017-2020
Amiloid Beta Peptid İndüklü Sinaptik Bozuklukların Bilişsel Fonksiyonlar Üzerine Etkisi ve Beyin Osilasyonları ile Değerlendirilmesi. Araştırmacı	Akdeniz Üniversitesi, BAP Doktora, TDK-2018-3170	2018-2020
Düşük Frekanslı Elektrik Alanların Stres Yanıtına Etkisi ve Mekanizmasının Elektrofizyolojik Olarak İncelenmesi. Araştırmacı	Akdeniz Üniversitesi, BAP Araştırma Projesi, TSA-2018-3651	2018-Devam Ediyor

Burslar-Ödüller:

- 1- 2228-B Yüksek Lisans Öğrencileri için Doktora Burs Programı **Başarı Ödülü**, TÜBİTAK, BİDEB, Mart 2013-2020.
- 2- **Hidişoğlu E.**, Kantar D., Özdemir S., Yargıçoğlu P., "Amiloid Beta Peptid İndüklü Sinaptik Bozuklukların Bilişsel Fonksiyonlar Üzerine Etkisi ve Beyin Osilasyonları ile Değerlendirilmesi-**Poster 2.lık Ödülü**, Türk Biyofizik Derneği, Ekim 2019
- 3- European Molecular Biology Organization (EMBO) Short-term Fellowship (EMBO-7835). **Yurtdışı Araştırma Bursu**, 2019.

Yayınlar ve Bildiriler:

SCI, SSCI, AHCI Indexlerine Giren Dergilerde Yayınlanan Makaleler

- 1- Marcantoni, A., Calorio, C., **Hidişoğlu, E.**, Chiantia, G., Carbone E., “Cav1.2 channelopathies causing autism: new hallmarks on Timothy syndrome”, PFLUGERS ARCHIV-EUROPEAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY, Vol.472-7, pp.775-789, 2020.

- 2- **Hidisoglu E.** and Yargicoglu P., “Auditory evoked potentials might have the potential to serve as early indicators related to amyloid beta peptide toxicity”, ADVANCES IN MEDICAL SCIENCES, Vol.65(1), pp. 223-232, 2020.

- 3- **Hidisoglu E.**, Kantar D., Ozen S., Yargicoglu P., “Short-term 2.1 GHz radiofrequency radiation treatment induces significant changes on the auditory evoked potentials in adult rats.” INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION BIOLOGY, Vol.94-9, pp.858-871, 2018.

- 4- Kantar D., **Hidisoglu E.**, Ocak G.A., Er H., Acun A.D., Yargicoglu P., "Protective role of rosmarinic acid on amyloid beta 42-induced ecoic memory decline: Implication of oxidative stress and cholinergic impairment", NEUROCHEMISTRY INTERNATIONAL, Vol.118, pp.1-13, 2018.

- 5- **Hidisoglu E.**, Kantar D., Er H., Acun A., Yargicoglu P., "Alterations in spontaneous delta- and gamma-activity might provide clues to detect changes induced by amyloid- β administration.", EUROPEAN JOURNAL OF NEUROSCIENCE, Vol.47, Issue:8, pp. 1013-1023, 2018

- 6- Kantar D., **Hidisoglu E.**, Er H., Acun A., Yargicoglu P., “Decrease of Auditory Evoked Delta, Alpha and Beta Oscillatory Responses in d-galactose Induced Aging Model: Effects of Rosmarinic Acid.”, INTERNATIONAL JOURNAL OF GERONTOLOGY, Vol.xxx, pp. 1-6, 2018

- 7- Kantar D., **Hidisoglu E.**, Er H., Acun A., Olgar Y., Yargicoglu P., "Changes of auditory event-related potentials in ovariectomized rats injected with D-galactose: Protective role of rosmarinic acid.", NEUROTOXICOLOGY, Vol.-, 2017

- 8- Akpınar D., Kantar D., **Hidisoglu E.**, Aslan M., Ozen S., Agar A., et al., "Effects of pre- and postnatal exposure to extremely low-frequency electric fields on mismatch negativity component of the auditory event-related potentials: Relation to oxidative stress.", ELECTROMAGNETIC BIOLOGY AND MEDICINE, Vol. 35, Issue: 3, pp.245-259, 2016

- 9- **Hidisoglu E.**, Kantar D., Er H., Akpınar D., Uysal F., Akkoyunlu G., et al., "2100-MHz electromagnetic fields have different effects on visual evoked potentials and

oxidant/antioxidant status depending on exposure duration", BRAIN RESEARCH, Vol.1365, pp.1-11, 2016

- 10- Kantar D., Akpınar D., **Hidisoglu E.**, Ozen S., Agar A., Yargicoglu P., "The developmental effects of extremely low frequency electric fields on visual and somatosensory evoked potentials in adult rats.", ELECTROMAGNETIC BIOLOGY AND MEDICINE, Vol.35, pp.65-74, 2016
- 11- Olgar Y., **Hidisoglu E.**, Celen M.C., Yamasan B.E., Yargicoglu P., Ozdemir S., "2.1 GHz electromagnetic field does not change contractility and intracellular Ca²⁺ transients but decreases beta-adrenergic responsiveness through nitric oxide signaling in rat ventricular myocytes", INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION BIOLOGY, Vol.91, pp.851-857,2015

Hakemli Kongre/Sempozyum Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

- 1- C. Calorio, **E. Hidisoglu**, D. Gavello, G. Chiantia, C. Salio, M. Sassoe-Pognetto, P. Defilippi, F. Balzac, E. Turco, G. C. L. Bett, R. L. Rasmusson, A. Marcantoni, E. Carbone, "Altered L-type channel gating, neuronal firing and excitatory/inhibitory synaptic responses in hippocampal neurons of the autistic Timothy syndrome type-2 mouse", XX. Telethon Scientific Convention, Riva Del Garda, Italy, 28-30-10.2019, ss.1-1, **Poster Presentation.**
- 2- M. Aslan, B. Akgul, I.O. Aycan, **E. Hidisoglu**, E. Afsar, S. Yildirim, G. Tanriover, " Prilocaine induced epileptiform activity and cardiac toxicity is alleviated by thymoquinone treatment", 44th FEBS Congress, Krakow, Poland, 6th to 11th July 2019, FEBS Open Bio 9(Suppl. 1):110-110, doi:10.1002/2211-5463.12675, **Poster Presentation.**
- 3- **Hidisoglu E.**, Franchino C., Carbone E., Marcantoni A., "Aβ42 Oligomerleri ile İndüklenen Hipokampal GABAerjik Sinaptik Özelliklerde Gözlenen Erken Değişiklikler", 31. Ulusal Biyofizik Kongresi, Adana, Türkiye, 9-12 Ekim 2019, ss.1-1, **Poster Sunum.**

- 4- **Hidisoglu E.**, Kantar Gök D., Özdemir S., Yargıçoğlu Akkiraz P., "Amiloid Beta Peptid İndüklü Sinaptik Bozuklukların Bilişsel Fonksiyonlar Üzerine Etkisi ve Beyin Osilasyonları ile Değerlendirilmesi", 31. Ulusal Biyofizik Kongresi, Adana, Türkiye, 9-12 Ekim 2019, ss.1-1, **Poster Sunum.**
- 5- Sendegül Yıldırım, Gamze Tanrıöver, Barış Akgül, İlker Öngüç Aycan, **Enis Hidisoglu**, Ebru Afşar, Mutay Aslan, "Prilocaine induced epileptiform activity and cardiac toxicity is alleviated by thymoquinone treatment" 17th Turkish Neuroscience Congress, Trabzon, Türkiye, 4-7 April 2019, **Oral Presentation.**
- 6- **Hidisoglu E.**, Kantar Gok D., Acun A.D., Er H., Yargicoglu P., "Dose dependent effects of amyloid beta 1-42 on auditory evoked potentials.", 3rd Annual International Conference on Public Health, 19-22 June 2017, Athens, Greece, ss.32-33, **Oral Presentation.**
- 7- **Hidisoglu E.**, Kantar Gok D., Yargicoglu P., "Alzheimer Hastalığında Önemli Bir Role Sahip olan Amiloid Beta'nın Beyin Osilasyonları Üzerine Etkisi" Uluslararası Katılımlı 28-29.Ulusal Biyofizik Kongresi, 6-9 Eylül 2017, İstanbul, Türkiye, ss.28-29, **Sözlü Sunum.**
- 8- Yargicoglu P., Kantar D., **Hidisoglu E.**, Er H., Acun A.D., "Protective role of rosmarinic acid in ovariectomized rats injected with d galactose" 14th Asia-Pacific Federation for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine Congress, 26-29 November 2016, Taipei, Tayvan, ss.180-180, **Poster Presentation.**
- 9- Er H., Kantar Gok D., **Hidisoglu E.**, Yargicoglu P., "Deneyisel Alzheimer Modelinde Beyinde Ortaya Çıkan Biyokimyasal ve Histolojik Değişiklikler." 27. Ulusal Biyofizik Kongresi, 29 Eylül-3 Ekim 2015, Malatya, Türkiye, ss. 218-218, **Poster Sunum.**
- 10- Kantar Gok D., Er H., **Hidisoglu E.**, Yargicoglu P., "Ovariectomi Yapılan ve D-Galaktoz Uygulanan Sıçanlarda Uyumsuzluk Negativitesi ve Lipit Peroksidasyon Değişiklikleri" 27. Ulusal Biyofizik Kongresi, 29 Eylül-3 Ekim 2015, Malatya, Türkiye, ss. 216-216, **Poster Sunum.**

- 11- Okan A., Kırımlıoğlu Konuk E., **Hidisoglu E.**, Yargicoglu Akkiraz P., Demir N., “3G Cep Telefonlarından Yayılan Elektromanyetik radyasyonun Testis Seminifer Tübül Hücrelerinde Endoplazmik Retikulum Stres Yolağı Üzerine Etkisi” 22nd Electron Microscopy Congress (EMK2015), Istanbul, Turkey, 2-4 Eylül 2015, ss.82-82, **Poster Presentation.**
- 12- **Hidisoglu E.**, Olgar Y., Celen M.C., Yamasan B.E., Yargicoglu P., Ozdemir S., "2.1 GHz Elektromanyetik Radyasyonun Sıçan Kardiyak Fonksiyonları Üzerine Etkisi ", 3. Elektromanyetik Alanlar ve Etkileri Sempozyumu, Mersin, Türkiye, 13-15 Kasım 2015, **Poster Sunum.**
- 13- Yargicoglu P., **Hidisoglu E.**, Kantar Gok D., Akpınar D., Ozen S., “Kronik 2100 MHz Elektromanyetik Radyasyonun Görsel Uyarılma Potansiyelleri Üzerine Etkisi.” 3. Elektromanyetik Alanlar ve Etkileri Sempozyumu, Mersin, Türkiye, 13-15 Kasım 2015, **Poster Sunum.**
- 14- Yamasan B.E., Olgar Y., **Hidisoglu E.**, Ozdemir S., Celen M.C., Yargicoglu P., "Effects of the long-term exposure to 2.1 GHz electromagnetic fields on contractility and intracellular Ca²⁺ homeostasis in rat ventricular myocytes", 33rd Annual Meeting of the European Section of the ISHR, Bordeaux, Frabce, 1-4 July 2015, vol.86, pp.49-49, **Poster Presentation.**
- 15- **Hidisoglu E.**, Yargicoglu P., Kantar Gok D., Akpınar D., Ozen S, “Çok Düşük Frekanslı Elektrik Alanın Somatosensöriyel Uyarılma Potansiyelleri Üzerine Etkisi” 25. Ulusal Biyofizik Kongresi, 23-27 Eylül 2015, Trabzon, Türkiye, ss. 216-216, **Poster Sunum.**