

**DENEYSEL ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİNDE VOLTAJ
BAĞIMLI ANYON KANALI-1 VE HİPERFOSFORİLE TAU
İNHİBİSYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

ASUMAN ÇANAK

**DOKTORA TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ ERSİN BEYAZÇİÇEK**

DÜZCE, 2023

BEYAN

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

.

27 Nisan 2023

Asuman ÇANAK

TEŞEKKÜR

Tezimin yürütülmesinde, deneysel süreçte, yazım aşamasında ve sonuçlandırılmasına kadar her aşamasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen süreci titizlikle takip eden danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ersin BEYAZÇİÇEK hocama gönülden teşekkür ederim.

Bilim anlayışına ve hayata bakış açısına değerli katkıları bulunan ve Fizyoloji Anabilim Dalı'nın tüm imkânlarından faydalanmamı sağlayan pek kıymetli Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Şerif DEMİR hocama teşekkür ederim.

Desteklerinden dolayı Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Özge BEYAZÇİÇEK hocama teşekkür ederim.

Doktora eğitimim ve deney aşamalarında ki tüm süreçte göstermiş olduğu katkılardan ve paylaştığı deneyimlerinden dolayı Öğr. Gör. Vet. Hek. Ali GÖK hocama teşekkür ederim. Desteklerinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi Hamit YILMAZ hocama teşekkür ederim. Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ve tüm çalışanlarına ayrıca verdiği tüm teknik desteklerden dolayı Necmi AYDIN'a teşekkür ederim.

Odalarımızın paylaşımıyla hayatıma dahil olan keşfetmeyi seven manevi desteklerini esirgemeyen kıymetli Araş. Gör. Vildan AYGÜN ALICI'ya çok teşekkür ederim. Manevi destekleri ile her daim yanımda olan ve yollarımız iyi ki kesişmiş dediğim kıymetli dostlarım Şükran YILMAZ, Derya TAŞDEMİR KARAOĞLAN, Ayşe Mine SARIDAĞ ve Zümrüt AY AKDAŞ'a çok teşekkür ederim.

Tüm desteklerinden dolayı Fatma&Sait KARAGÜLLÜ çiftine, dualarıyla her daim desteklerini yanımda hissettiğim kıymetli anne&babam ve ÇANAK ailesinin her ferdine bana kattıkları her detay için sonsuz teşekkür ederim. Sabır ve anlayışla yanımda olanlara, paylaşabilenlere ve iyilikte ısrar edenlere teşekkür ederim.

Kıymetli KAHRAMANMARAŞ'a ve değerlerine çok teşekkür ederim.

Hayatımı her geçen gün daha da anlamlı kılan O (c.c)'na sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Düzce Üniversitesi BAP-2021.04.01.1219 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir.

27 Nisan 2023

Asuman ÇANAK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	xi
KISALTMALAR.....	xii
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvi
EXTENDED ABSTRACT.....	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1. AMAÇ VE KAPSAM	1
1.2. GENEL BİLGİLER.....	4
1.2.1. Alzheimer Hastalığı.....	4
1.2.2. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi.....	5
1.2.3. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi	6
1.2.4. Alzheimer Hastalığının Oluşumu ile İlgili Hipotezler.....	7
<i>1.2.4.1. Kolinerjik Hipotez.....</i>	<i>7</i>
<i>1.2.4.2. Aβ Kaskadı Hipotezi</i>	<i>8</i>
<i>1.2.4.3. Kolesterol Hipotezi</i>	<i>8</i>
<i>1.2.4.4. Tau Hipotezi.....</i>	<i>10</i>
<i>1.2.4.5. Oksidatif Stres Hipotezi</i>	<i>11</i>
<i>1.2.4.6. Hücre Siklusu Hipotezi</i>	<i>11</i>
<i>1.2.4.7. Vasküler Hipotez.....</i>	<i>12</i>
<i>1.2.4.8. İnflamasyon Hipotezi</i>	<i>14</i>
<i>1.2.4.9. Metal Dengesizliği Hipotezi.....</i>	<i>15</i>
<i>1.2.4.10. Mitokondriyal Kaskad Hipotezi</i>	<i>17</i>
1.2.5. Bellek	19

1.2.6. Deneysel Alzheimer Hastalığı Modeli.....	21
1.2.7. Alzheimer Hastalığı Modelinde Öğrenme ve Bellek ile ilgili Deneysel Testler	23
1.2.8. Alzheimer Hastalığı ile İlişkili Bileşikler	24
1.2.8.1. Amiloid beta peptid 1 – 42.....	24
1.2.8.2. Hiperfosforile tau proteini.....	25
1.2.8.3. Translocator protein.....	26
1.2.8.4. Tiobarbütirik asit reaktif ürünleri.....	26
1.2.8.5. Malondialdehid.....	27
1.2.8.6. IL-1 β ve IL-10.....	27
1.2.8.7. Voltaj Bağımlı Anyon Kanalları	28
1.2.8.8. DIDS.....	30
1.2.8.9. Davunetide.....	31
1.2.9. Mevcut Tedavi Yaklaşımları	32
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	34
2.1. ARAŞTIRMA YÖNTEMİ	34
2.2. ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI.....	34
2.3. DENEYSEL AH MODELİ OLUŞTURMA PROSEDÜRÜ	35
2.4. DAVRANIŞ TESTLERİ	36
2.4.1. Radyal Kollu Labirent	37
2.5. DENEY PROSEDÜRLERİ.....	38
2.6. ELİZA TEST YÖNTEMİ	41
2.6.1. Serum Parametrelerinin ELISA Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi ...	41
2.6.2. Doku Homejenatlarında Parametrelerinin ELISA Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi.....	45
2.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	47
3. BULGULAR	48

3.1. DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE DAV VE DIDS UYGULAMASININ SIÇAN AĞIRLIĞI ÜZERİNE ETKİSİ.....	48
3.2. SERUM BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI	49
3.2.1. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum TNF- α Seviyesi Üzerine Etkisi.....	49
3.2.2. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum IL-10 Seviyesi Üzerine Etkisi	50
3.2.3. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum TBARS Seviyesi Üzerine Etkisi.....	52
3.2.4. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum Casp-3 Seviyesi Üzerine Etkisi	53
3.2.5. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum A β 1-42 Seviyesi Üzerine Etkisi	54
3.2.6. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum MAPt Seviyesi Üzerine Etkisi.....	55
3.2.7. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum TSPO Seviyesi Üzerine Etkisi.....	56
3.2.8. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum VDAC1 Seviyesi Üzerine Etkisi.....	58
3.3. BEYİN DOKUSU BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI.....	59
3.3.1. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin TNF- α Seviyesi Üzerine Etkisi.....	59
3.3.2. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin IL-10 Seviyesi Üzerine Etkisi	61
3.3.3. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin TBARS Seviyesi Üzerine Etkisi.....	62
3.3.4. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin Casp-3 Seviyesi Üzerine Etkisi	63
3.3.5. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin A β 1-42 Seviyesi Üzerine Etkisi	65

3.3.6. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin MAPt Seviyesi Üzerine Etkisi.....	66
3.3.7. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin TSPO Seviyesi Üzerine Etkisi.....	67
3.3.8. Deneyisel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin VDAC1 Seviyesi Üzerine Etkisi.....	69
3.4. RADYAL KOL LABİRENT DAVRANIŞ TESTİ ANALİZ SONUÇLARI	70
3.4.1. RKL testinde doğru seçim sayıları	70
3.4.2. RKL testinde toplam seçim sayıları.....	72
3.4.3. RKL testinde doğru seçimlerin yüzdeleri	73
3.4.4. RKL testinde çalışan bellek hataları	75
3.4.5. RKL testinde referans bellek hataları.....	76
4. TARTIŞMA	79
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	98
KAYNAKLAR.....	99
ÖZGEÇMİŞ.....	117

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. AH ve kardiyovasküler sistem (KVS) arasındaki ilişki.....	13
Şekil 1.2. Alzheimer hastalığında inositol 1,4,5-trisfosfat/kalsiyum ($\text{InsP}_3/\text{Ca}^{+2}$) sinyal yolunun rolü	15
Şekil 1.3 Alzheimer hastalığında metal iyonlarının rolü	17
Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan cihaz ve aletler	35
Şekil 2.2. STZ uygulama koordinatlarının temsili gösterimi.....	36
Şekil 2.3. Standartların hazırlanmasının temsili gösterimi	43
Şekil 2.4. Platelardaki renk değişimlerinin temsili gösterimi.....	45
Şekil 3.1. Grupların ağırlık bakımından karşılaştırılması.....	48
Şekil 3.2. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TNF- α seviyesi üzerine Etkisi	50
Şekil 3.2. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum IL-10 seviyesi üzerine Etkisi	51
Şekil 3.3. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TBARS seviyesi üzerine Etkisi	52
Şekil 3.4. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum Casp-3 seviyesi üzerine Etkisi	53
Şekil 3.5. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum A β 1-42 seviyesi üzerine Etkisi	54
Şekil 3.6. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum MAPt seviyesi üzerine Etkisi	56
Şekil 3.7. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TSPO seviyesi üzerine Etkisi	57
Şekil 3.8. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum VDAC1seviyesi üzerine Etkisi	58
Şekil 3.9. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin TNF- α seviyesi üzerine Etkisi.	60
Şekil 3.10. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin IL-10 seviyesi üzerine Etkisi	61
Şekil 3.11. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin TBARS seviyesi üzerine Etkisi.	62
Şekil 3.12. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin Caps-3 seviyesi üzerine Etkisi	64
Şekil 3.13. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin A β 1-42 seviyesi üzerine Etkisi	65
Şekil 3.14. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin MAPt seviyesi üzerine Etkisi ..	66
Şekil 3.15. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin TSPO seviyesi üzerine Etkisi	68
Şekil 3.16. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin VDAC1seviyesi üzerine Etkisi	69

Şekil 3.17. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde pretraining günlerindeki doğru seçim sayısı üzerine Etkileri	71
Şekil 3.18. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde eğitim günlerindeki doğru seçim sayısı üzerine Etkileri	71
Şekil 3.19. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde ön eğitim günlerindeki doğru seçim sayısı üzerine Etkileri	72
Şekil 3.20. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde eğitim günlerindeki toplam seçim sayısı üzerine Etkileri.....	73
Şekil 3.21. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde ön eğitim günlerindeki doğru seçim sayısı üzerine Etkileri	74
Şekil 3.22. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde eğitim günlerindeki doğru seçim sayısı üzerine Etkileri	74
Şekil 3.23. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde ön eğitim günlerinde işleyen bellek hataları üzerine Etkileri	75
Şekil 3.24. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının eğitim günlerinde işleyen bellek hataları üzerine Etkileri	76
Şekil 3.25. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının ön eğitim günlerinde referans bellek hataları üzerine Etkileri.....	77
Şekil 3.26. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının eğitim günlerinde referans bellek hataları üzerine Etkileri.....	77

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Çalışma grupları, maddeler ve dozları.....	34
Çizelge 3.1. Grupların ağırlık bakımından karşılaştırılması.....	49
Çizelge 3.2. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TNF- α seviyesi üzerine Etkisi	50
Çizelge 3.2. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum IL-10 seviyesi üzerine Etkisi	51
Çizelge 3.3. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TBARS seviyesi üzerine Etkisi.....	53
Çizelge 3.4. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum Caps-3 seviyesi üzerine Etkisi	54
Çizelge 3.5. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum A β 1-42 seviyesi üzerine Etkisi	55
Çizelge 3.6. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum MAPt seviyesi üzerine Etkisi	56
Çizelge 3.7. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TSPO seviyesi üzerine Etkisi	57
Çizelge 3.8. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum VDAC1 seviyesi üzerine Etkisi	59
Çizelge 3.9. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TNF- α seviyesi üzerine Etkisi	60
Çizelge 3.10. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin IL-10 seviyesi üzerine Etkisi	62
Çizelge 3.11. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin TBARS seviyesi üzerine Etkisi.....	63
Çizelge 3.12. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin Casp-3 seviyesi üzerine Etkisi	64
Çizelge 3.13. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin A β 1-42 seviyesi üzerine Etkisi	66
Çizelge 3.14. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin MAPt seviyesi üzerine Etkisi	67
Çizelge 3.15. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin TSPO seviyesi üzerine Etkisi	68
Çizelge 3.16. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin VDAC1 seviyesi üzerine Etkisi	70

KISALTMALAR

AChE	Asetilkolinesteraz
ADAM9	A disintegrin and a metalloprotease 9
ADAM10	A disintegrin and a metalloprotease 10
ADAM17	A disintegrin and a metalloprotease 17
ADNP	Aktiviteye bağlı nöroprotektif protein
ADP	Adenozin di fosfat
AH	Alzheimer hastalığı
AİAK	Alzheimer ilaç araştırmaları kuruluşu
AİF	Apoptoz indükleyici faktör
Al	Aliminyum
ALS	Amyotrofik Lateral skleroz
AMPK	Adenozin monofosfatla aktive olan protein kinaz
ANT	Adenin nükleotit translokaz
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amiloid beta prekürsör proteini
AST	Aspartat transaminaz
ATP	Adenozin trifosfat
Aβ	Amiloid beta
Bax	Bcl-2 ile ilişkili X proteini
BCA	Bicinkoninik asit
Bxl-2	B hücreli lenfoma 2
Bcl-XL	B hücreli lenfoma ekstra büyük
BDR	Benzodiazepin reseptörü
BOS	Beyin omurilik sıvısı
BSA	Bovine serum albümin
Ca	Kalsiyum
CAT	Katalaz
CCL2	Kemokin ligandı 2 CCL2
CCL5	Kemokin ligandı 5 CCL5
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
Cu	Bakır
CXCL1	Kemokin C-X-C motif ligand-1
Cyc c	Sitokrom c
ÇB	Çalışma belleği
DAV	Davunetide
DH	Dentritik hücreler
DIABLO	Diablo homolog protein
DIDS	4,4'-diizotiyosiyano-2,2'-disülfonik asit
DM	Diyabetes Mellitus
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ELİSA	Enzim bağlı immünosorbent deney analizi
EPO	Eritropoetin

ER	Endoplazmik retikulum
ESF	Eşleştirilmiş sarmal filament
ETZ	Elektron taşıma zinciri
FDA	Amerikan gıda ve ilaç dairesi
Fe	Demir
GLUT2	Glukoz taşıyıcısı 2
GPX	Glutasyon peroksidaz
Gr	Gram
GSK3	Glikojen sentaz kinaz-3
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksik
HACAP	Hipofiz adenilat siklaz aktive edici polipeptit
HHcy	Hiperhomosisteinemi
HK	Heksokinaz
HMT	Hastalık modifiye edici terapötikler
HNE	4-hidroksinonenalin
IL-10	İnterlökin-10
IL-1 β	İnterlökin-1 beta
İCDH	izositrat dehidrogenaz
İcv	İntraserebroventriküler
İF	İmmünofloresan
İn	İntranazal
İm	İntramüsküler
İo	İntraoküler
İp	İntraperitonel
İPMS	İmmünopresipitasyon kütle spektrometrisi
İv	İntravenöz
KBB	Kan beyin bariyeri
Kg	Kilogram
KGDH	Ketoglutarat dehidrogenaz
KSB	Kısa süreli bellek
KVS	Kardiyovasküler sistem
MİP	Mikrotübül ilişkili protein
Mg	Miligram
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinaz
MDA	Malondialdehid
MDM	Mitokondri dış membran
MEK1	Mitojenle aktive olan protein kinaz kinazlar 1
MHA	Mitokondriyal hedefleme alanı
MRI	Manyetik rezonans görüntüleme
MS	Multipl skleroz
MSL	Morris su labirenti
MSS	Merkezi sinir sistemi
MSUT2	Tau patolojisinin memeli baskılayıcısı
MT	Mikrotübül
mtDNA	Mitokondriyal DNA
nAChR	Nikotinik asetilkolin reseptörleri
NADH/NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit
NFT	Nörofibriler filamentler
NK	Doğal öldürücü hücreler
NMDA	N-metil-D-aspartik asit

NOS	Nitrik oksit sentaz
Nrf2	Nükleer faktör (eritroid türevi-2)-benzeri 2
NT	Nesne tanıma
NY	Nesne yerleştirme
O ₂	Oksijen
PDH	Piruvat dehidrojenazlar
PG	Prostaglandinler
PI3K	Fosfatidilinositol-3-fosfat
PKA	Protein kinaz A
PKB	Protein kinaz B
PKC	Protein kinaz C
PS1	Presenilin 1
PS2	Presenilin 2
PSP	İlerleyici supranükleer felç
PST	Pasif sakınma testi
R8	Okta-arginin
RKL	Radyal kol labirenti
ROAT	Reaktif oksijen azot türleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
SCO	Skopolamin
SIRT1	Sirtuin 1
Smac	İkinci mitokondri türevi kaspaz aktivatörü
SOD	Süperoksit dismutaz
SOD1	Süperoksit dismutaz 1
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
STZ	Streptozotosin
TA	Tannik asit
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiobarbitürik asit reaktif ürünleri
TDMQ	Tetradentat monokinolin
TDP-43	Transaktif yanıt 43 kDa'lık DNA bağlayıcı protein
Tg	Transgenik
TNF α	Tümör nekroz faktör alfa
TPEN	N,N,N',N'-Tetrakis(2-piridilmetil)etilendiamin
TSPO	Translokator protein
TÜİK	Türkiye istatistik kurumu
UCP	Uncoupling protein
USB	Uzun süreli bellek
UYE - AD	Ulusal Yaşlanma Enstitüsü - Alzheimer Derneği
VBIT-4	VDAC oligomerization inhibitörü
VTA	Ventraltegmental alan
Zn	Çinko

ÖZET

DENEYSEL ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİNDE VOLTAJ BAĞIMLI ANYON KANALI-1 VE HİPERFOSFORİLE TAU İNHİBİSYONUNUN ARAŞTIRILMASI

Asuman ÇANAK

Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ersin BEYAZÇİÇEK

Nisan 2023, 116 sayfa

Alzheimer Hastalığı (AH), idiyopatik (sebebi bilinmeyen) bir etiyolojiye sahip beynin primer bir nörodejeneratif hastalık olarak tanımlanmaktadır. Bu çalışmada, VDAC1'in pro-apoptotik aktivitesini önlemenin, AH'da hücre ölümünü inhibe etmek için ideal bir yöntem olabileceği düşünülmüştür. Çalışmada, AH modelinde gatekeeper olarak bilinen voltaj bağımlı anyon kanalı proteininin inhibisyonunun ve davunetidin tedavisinin AH'nın primer patolojik belirteçleri üzerine ilişkisini ve hafıza - bellek eksikliklerini kurtarma yeteneklerini incelemek hedeflenmiştir. 2-3 aylık ve 230±30 gr ağırlığında 30 adet Wistar cinsi erkek sıçanlar tercih edildi. Her grupta 5 hayvan olacak şekilde rastgele KONTROL grubu, SHAM grubu, STZ grubu, STZ-DAV grubu, STZ-DIDS grubu ve STZ-DIDS-DAV grubu olmak üzere 6 gruba ayrıldı. AH modeli için intraserebroventriküler streptozotosin uygulandı. Deney süresince DIDS ve DAV uygulamaları intraperitoneal yolla yapıldı. Davranış testlerinde radyal kol labirent (RKL) testi kullanıldı. Deney süresince 21 günlük uygulamadan sonra anestezi altındaki sıçanlardan kan ve beyin örnekleri alındı. Daha sonra ELIZA yöntemi ile biyokimyasal analizler yapıldı. Serumlarda TNF- α , caspase-3 ve MAPt değerleri bakımından gruplar arasında fark gözlenmezken, serum IL-10, TBARS, A β 1-42, TSPO ve VDAC1 değerleri bakımından anlamlı fark saptandı. Gruplar arası beyin doku homejenatlarında IL-10 ve A β 1-42 değerleri arası anlamlılık gözlenmezken, TNF- α , TBARS, caspase-3, MAPt, TSPO ve VDAC1 değerleri arasında anlamlı fark gözlemlendi. RKL testi verileri ön eğitim günleri ve eğitim günleri arasında farklılıklar saptandı. Deneysel AH modeli oluşturulan sıçanlarda, bu uygulamaların biyokimyasal ve davranış verileri üzerine hafıza - bellek eksikliklerini kurtarma yönünde etkili olabileceği daha fazla yapılacak çok yönlü çalışmalarla desteklenmelidir.

Anahtar Sözcükler: Alzheimer hastalığı, Davunetid, VDAC1, Radyal kol labirenti, DIDS

ABSTRACT

INVESTIGATION OF VOLTAGE DEPENDENT ANION CHANNEL-1 AND HYPERPHOSPHORYLATED TAU INHIBITION IN AN EXPERIMENTAL ALZHEIMER'S DISEASE MODEL

Asuman ÇANAK

Düzce University

Graduate School, Department of Physiology

Doctoral Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ersin BEYAZÇİÇEK

April 2023, 116 pages

Alzheimer's Disease (AD) is defined as a primary neurodegenerative disease of the brain, which has an idiopathic etiology, causes characteristic neuropathological and neurochemical changes, has an insidious onset, lasts for years and progresses slowly. In this study, it was thought that inhibiting the pro-apoptotic activity of VDAC1 might be an ideal method to inhibit cell death in AD. The study, it was aimed to examine the relationship between the inhibition of voltage-dependent anion channel protein known as gatekeeper and davunetidine treatment on primary pathological markers of AD and their ability to recover memory-memory deficits in the AD model. A total of 30 male wistar rats weighing 230 ± 30 g and 2-3 months were allocated. 5 animals in each group were randomly divided into 6 groups as CONTROL group, SHAM group, STZ group, STZ-DAV group, STZ-DIDS group and STZ-DIDS-DAV group. Intracerebroventricular streptozotocin was administered for the AD model. During the experiment, DIDS and DAV applications were performed intraperitoneally. The radial arm maze (RAM) test was used in behavioral tests. After 21 days of administration, blood and brain samples were taken from rats under anesthesia. Then, biochemical analyzes were performed by ELISA method. While no difference was observed between the groups in terms of TNF- α , caspase-3 and MAPt values in serum, a significant difference was found in serum IL-10, TBARS, A β 1-42, TSPO and VDAC1 values. While no significant difference was observed between IL-10 and A β 1-42 values in brain tissue homogenates between groups, a significant difference was observed between TNF- α , TBARS, caspase-3, MAPt, TSPO and VDAC1 values. Differences were found between the RAM test data and the pre-training days and the training days. The fact that these applications can be effective in recovering memory-memory deficits on biochemical and behavioral data in rats with experimental AD model should be supported by further multi-faceted studies. Experimental AD model in rats, it should be supported by further multidimensional studies that these applications can be effective in recovering memory - memory deficits on biochemical and behavioral data.

Keywords: Alzheimer's disease, Davunetide, VDAC1, Radial arm maze, DIDS

EXTENDED ABSTRACT

INVESTIGATION OF VOLTAGE DEPENDENT ANION CHANNEL-1 AND HYPERPHOSPHORYLATED TAU INHIBITION IN AN EXPERIMENTAL ALZHEIMER'S DISEASE MODEL

Asuman ÇANAK

Düzce University

Graduate School, Department of Physiology

Doctoral Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ersin BEYAZÇİÇEK

April 2023, 116 pages

1. INTRODUCTION

Alzheimer's Disease (AD) is among the neurodegenerative diseases with an idiopathic etiology, characteristic neuropathological and neurochemical changes, with insidious onset and slow progression. The detailed pathogenesis of AD is not yet clear. Synapse loss, increase in the number of extracellular A β senile plaques, increases in the intracellular neurofibrillary tangle (NFT) composed of amyloid precursor protein (APP) and tau proteins are noteworthy in its pathological findings. In recent years, it has been known that the loss of function of the antioxidant defense system and the increase in the production of reactive oxygen-nitrogen systems (RONS) and increases in oxidative stress are associated with AD. When tau is phosphorylated, it becomes more sensitive to oxidative stress products and the protein undergoes structural changes and becomes neurofibrillary tangles. A β deposition drives both the accumulation of tau pathology and tau-mediated neurodegeneration in AD. Voltage-dependent anion channels (VDAC) are known as non-selective anion channels. VDAC1 is also located in the plasma membrane of epithelial cells, astrocytes, and neurons. It has been termed an "amyloid regulated" channel involved in apoptosis. One of the links between VDAC1 levels and AD has been reported to increase glycogen synthase kinase 3 (GSK3) activity in the disease, leading to abnormal APP processing, thus increasing tau hyperphosphorylation and A β production. This role of VDAC1 in cell life and death, its association with A β and tau

toxicity, its overexpression in neurodegenerative diseases, especially in pathologies such as AD, targeting apoptosis and dysregulated cell metabolisms make it a promising innovative target. Therefore, inhibiting the pro-apoptotic activity of VDAC1 seems to be an ideal method to inhibit cell death in AD. 4,4'-diisothiocyano-2,2'-disulfonic acid (DIDS) inhibits non-selective anion exchangers. It is thought that by inhibiting VDAC1, it can increase cell survival, decrease RONS levels, and reduce both cell death and mitochondrial fragmentation by reducing mitochondrial dysfunction. Davunetide (DAV, NAP) is a peptide derived from activity-dependent neuroprotective protein (ADNP). This peptide enhances short-term memory in patients with amnesic mild cognitive impairment. In animal models of AD, it preserved learning and memory as well as provided neuronal protection. DAV both prevents the accumulation of hyperphosphorylated tau in AD and indirectly exerts a neuroprotective effect by inhibiting the accumulation of A β . It was thought that DAV could improve memory and memory positively by decreasing both hyperphosphorylated tau and A β 1-42 levels in AD. Streptozotocin (STZ), It is preferred to create an experimental AD model because it stimulates hallmarks of AD such as apoptosis, synaptic loss, A β and tau hyperphosphorylation. In the current study, the AH model was induced by intracerebroventricular administration of STZ. It was aimed to investigate the relationship between the inhibition of voltage-dependent anion channels and the treatment of davunetidine with the markers of AD and hyperphosphorylated tau pathology, and to examine their ability to recover from memory deficits.

2. MATERIAL AND METHODS

For the study, 30 male Wistar rats weighing 230 ± 30 g and 2-3 months old were preferred. Each group was randomly divided into 6 groups as CONTROL group, SHAM group, STZ group, STZ-DAV group, STZ-DIDS group and STZ-DIDS-DAV group. All rats were weighed before and after the experiment. On the 0.th day of the experiment, icv STZ application was made to STZ, STZ-DIDS, STZ-DAV, STZ-DIDS-DAV groups. Only icv login is made to SHAM group. No surgical procedure was performed in the CONTROL group. During the experiment, intraperitoneal DIDS and DAV administration was only applied to the STZ-DIDS, STZ-DAV and STZ-DIDS-DAV groups at 9:00 A.M the morning. Intraperitoneal serum injection was applied to the CONTROL, SHAM and STZ groups at 09:00 A.M during the experiment. Solvent serum recommended for DIDS and DAV was preferred. The radial arm maze (RAM) test was used in behavioral tests.

On the day of pre-training, all groups were subjected to 3 repetitions of the RAM test. On training days, a one-time RAM test was applied. DIDS and DAV applications were continued throughout the behavioral experiments. All data were recorded manually on pre-training and training days. After 21 days of administration, blood and brain samples were taken from rats under anesthesia. Afterwards, biochemical analyzes were performed with the ELISA method.

3. RESULTS AND DISCUSSIONS

The experiment was successfully terminated with 30 rats that we started the experiment with. When compared in terms of mean weight changes before and after the experiment, significant weight gains were detected after the experiment ($p < 0.05$). It is thought that pharmacological applications may cause weight gain directly or indirectly. When the serum TNF- α , Casp-3, MAPt levels were compared, no statistically significant difference was found between the groups ($p > 0.05$). A statistically significant difference was found when serum IL-10, TBARS, A β 1-42, TSPO and VDAC1 levels were compared ($p < 0.05$). The effects of higher doses of DIDS and DAV applications may also be greater. The decrease in A β 1-42 values of DAV and DIDS application may have a positive effect on antioxidant activity and scavenging oxidative stress parameters that may cause amyloid production. In the present study, similarities were obtained between the groups that underwent DAV and the other groups in terms of serum MAPt levels. The most important reason why the MAPt level did not decrease in the groups treated with DAV may be the short 21-day treatment period. However, it was determined that serum TSPO levels were significantly lower in the STZ-DIDS and STZ-DIDS-DAV groups. The study, serum and brain VDAC1 levels differed significantly between groups. The serum VDAC1 level of the STZ-DIDS-DAV group was found to be lower than the CONTROL group, while the brain VDAC1 level of the STZ-DIDS group was found to be lower than the STZ and STZ-DAV groups. It may be due to the effects of DIDS administration on oxidative stress and lipid peroxidation by inhibiting VDAC1s. Co-administration of DIDS and DAV may be more effective. When the levels of TNF- α , TBARS, Casp-3, MAPt, TSPO and VDAC1 in the brain tissues were compared, a significant difference was observed ($p < 0.05$). Pharmacological uses seem to have effects on proinflammatory responses, lipid peroxidation markers, hyperphosphorylated tau, and neuroinflammation responses. When the brain IL-10 and A β 1-42 levels were compared, no significant difference was found between the groups ($p > 0.05$). Significant decrease in IL-10 levels and significant increase

in A β 1-42 levels were expected in STZ and SHAM groups. An increase in IL-10 levels and decrease in A β 1-42 levels were expected in the STZ-DIDS, STZ-DAV and STZ-DIDS-DAV groups. These results should present different approaches for DAV and DIDS. Behavioral test data were analyzed considering correct choice (CC) counts, percentage of correct choice numbers, total choice numbers (TCN), working memory errors (WME), and reference memory errors (RME). The effect of DAV and DIDS application on cognitive disorders was revealed in RKL test STZ-DIDS, STZ-DAV, STZ-DIDS-DAV groups.

4. CONCLUSION AND OUTLOOK

Experimental AD model stimulated by icv-STZ application was obtained. While no significant difference was observed between the groups in terms of TNF- α , caspase-3 and MAPt values in serum, a significant difference was found in serum IL-10, TBARS, A β 1-42, TSPO and VDAC1 values. In brain tissue homogenates, there was no significant difference between IL-10 and A β 1-42 values between the groups, but a significant difference was found between TNF- α , TBARS, caspase-3, MAPt, TSPO and VDAC1 values between the groups. DAV and DIDS application's RAM test data showed differences between pre-training days and training days. It is thought that it may be beneficial on memory and memory deficits encountered in AD. The effects of DIDS and DAV applications on biochemical and behavioral data in terms of recovering memory-memory deficiencies should be supported by more versatile studies. Our research may provide a rational scientific use of DAV and DIDS application in the direction of memory deficits and related dementia.

1. GİRİŞ

1.1. AMAÇ VE KAPSAM

Alzheimer Hastalığı (AH), idiyopatik (sebebi bilinmeyen) bir etiyolojiye sahip, karakteristik nöropatolojik ve nörokimyasal değişikliklere sebep olan, sinsi başlangıçlı, yıllar süren ve yavaş ilerleyişli, beynin primer bir nörodejeneratif hastalığı olarak tanımlanmaktadır.

Alzheimer Hastalığı (AH), ilerleyici nörodejeneratif hastalıklar arasındadır. AH'nın ayrıntılı patogenezi henüz net değildir. AH'a sebep olan durumlar oldukça karmaşıktır. Bunlar arasında; amiloid β ($A\beta$), tau, kolinerjik nöron hasarı ve oksidatif stres, inflamasyon hipotezleri başta yer almaktadır [1]. AH, demansın nedenlerinden biridir. AH'da gözlenen anormal protein birikimleri ($A\beta$ ve fosforile tau'nun birikmesi), sinir hücrelerinin dejenerasyonu ve organik beyin dokusundaki değişiklikler bunamaya katkısı olan etkenlerdendir. Eğer AH'a ait beyin değişikliklerinin neden olduğu veya neden olduğuna inanılan bunama tipi söz konusuysa bu bunama tipi AH'a bağlı demans anlamına gelen Alzheimer bunaması olarakta kullanılmaktadır [2].

Voltaaj bağımlı anyon kanalları (VDACs), non-selektif anyon kanalları olarak bilinen ve çeşitli izoformları bulunan integral membran proteinlerdir. Voltaaj bağımlı anyon kanalları-1 (VDAC1)'in izoformlarından biri olan VDAC1 epitel hücrelerde, astrositlerde ve nöronların plazma membranında bulunmaktadır [3]. VDACs proteinleri üzerine yapılan araştırmalar kanser, solunum, üreme sistemi hastalıkları, böbrek, dermatolojik hastalıklar, bazı miyopatiler, frontotemporal demans, nörodejeneratif bozukluklar gibi çok sayıda patolojiye tanısall ve terapötik yaklaşımların geliştirilmesi için çok ilgi çekici ve umut verici bir alan olmuştur [4]. Ayrıca, mitokondri dış membranında (MDM)'da lokalize olan porinler olarakta bilinmektedir. VDAC1, çeşitli mitokondriyal işlevleri kontrol eden mitokondriyal ağ geçidi (gatekeeper) olarak görev yapmaktadır [4], [5]. VDAC1'i mitokondri aracılı apoptozda anahtar bir protein olarak kabul edilmektedir. Çünkü VDAC1, mitokondri iç zarından sitozole pro-apoptotik proteinlerden sitokrom c (cyto c), apoptoz indükleyici faktör (AİF), ikinci mitokondri türevi kaspaz aktivatörü /

diablo homolog protein (Smac/DIABLO) salınmasında aracıdır, aynı zamanda B hücreli lenfoma 2 (Bcl-2), B hücreli lenfoma ekstra büyük (Bcl-xL) ve heksokinaz (HK) gibi apoptoz düzenleyicilerle etkileşimdedir [3]. VDAC1, AH'nın en önemli belirteçleri olan A β ve tau hiperfosforilasyonu, reaktif oksijen azot türleri (ROAT) başta olmak üzere birçok oksidatif stress parametrelerinin hücreye girişi ve apoptoz indüksiyonu için gerekli anyon kanallarıdır. VDAC1'in hücrenin yaşamı ve ölümündeki bu merkezi rolü, A β ve tau toksisitesi ile ilişkisi, nörodejeneratif hastalıklarda aşırı ekspresyonu ile özellikle AH gibi patolojilerde apoptozu ve düzensiz hücre metabolizmasını hedefleyen yeni araştırmalara umut verici ve yenilikçi bir hedef haline getirilmelidir.

VDAC1'in hücrelerde ve mitokondrilerde aşırı ekspresyonu ile apoptoz indükleyicilerinin artmasıyla hücreyi ölüme götürdüğünü savunan çalışmalar mevcuttur [6],[7]. Bu sebeple, VDAC1 oligomerizasyon seviyesinin ve apoptozun hedeflenmesinin, AH için yeni bir terapötik strateji olabileceği vurgulanmaktadır. Bu nedenle, VDAC1'in pro-apoptotik aktivitesini önlemenin, AH'da hücre ölümünü inhibe etmek için ideal bir yöntem olabileceği görülmektedir.

DIDS olarak bilinen, 4,4'-diizotiyosiyano-2,2'-disülfonik asit non-selektif anyon değiştiricileri üzerinde inhibitör etkisine sahiptir. VDAC1'in inhibisyonunu sağlayarak, hücre sağ kalımını artırmakta, ROAT seviyelerini azaltır ve mitokondriyal disfonksiyonu azaltarak hem hücre ölümünü hem de mitokondriyal parçalanmayı azaltmaktadır [3],[5],[8],[9]. VDAC1'in inhibisyonuyla, mitokondrilerden sitozol içerisine salınan cyto c ve AIF azalması ile hücre ölümleri azalmıştır. Bu inhibisyon ile DIDS'in mitokondriyal hasarı önleyebileceği ve oksidatif nörotoksisiteyi azaltabileceğini göstermiştir [9].

Davunetide (DAV), aktiviteye bağlı nöroprotektif proteinden (ADNP) türetilen bir peptittir. Bu peptidin, amnestik hafif bilişsel bozukluğu olan hastalarda kısa süreli hafızayı güçlendirdiği belirtilmiştir [10],[11],[12]. İn vitro çalışmalarda, oksidatif stres, glikoz eksikliği, amiloid beta (A β), N-metil-D-aspartat (NMDA) ve elektrik blokajı vs. ilişkili toksisiteye karşı nöronları koruduğu bildirilmiştir [13]. Çok düşük konsantrasyonlarda dahi nöroprotektif etkisi olduğu bilinen DAV'ın AH tedavisi için umut verici olduğu belirtilmektedir. DAV'ın deneysel AH modellerinde öğrenmeyi ve hafızayı korumanın yanı sıra nöroprotektif etkiye de sahip olduğu bildirilmiştir [14]. İn vitro çalışmalarda, tübülün birleşimini mikrotübüllere teşvik ederek ve fosforile olmayan tau'nun fosforile tau'ya oranını artırdığı raporlanırken, in vivo çalışmalarda DAV'ın

nörodejenerasyona karşı koruma sağlamasının yanı sıra hem referans belleği hem de kısa süreli bellek üzerine iyileştirici etkisi bildirilmiştir [14],[15]. DAV'ın, herhangi bir bilişsel bozukluğu olmayan hayvanlarda hafıza performansını artırabileceğide belirtilmiştir [8], [11].

Bu çalışmanın amacı, alzheimer hastalığı modelinde gatekeeper voltaj bağımlı anyon kanalı proteininin inhibisyonunun ve davunetidin tedavisinin AH'nın primer patolojik belirteçleri üzerine ilişkisini ve hafıza - bellek eksikliklerini kurtarma yeteneklerini incelemektir.



1.2. GENEL BİLGİLER

1.2.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer Hastalığı, demansın en yaygın sebepleri arasında yer alan ilerleyici [1] ve zamanla daha da kötüleşen [16] nörodejeneratif bir hastalıktır [1]. Dünya çapında yaklaşık 50 milyon kişide AH veya buna bağlı demans olduğu belirtilmiştir [17]. AH olan hasta sayılarının her 20 yılda iki katına çıkması beklenmekte ve 2030 yılında 74.7 milyona, 2050 yılında ise 131.5 milyona ulaşacağı öngörülmektedir [1], [18]. 2025 yılına kadar, 65 yaş ve üstü AH olan insan sayısının 7.1 milyona ulaşacağı tahmin edilmekte, bu rakamlar 2019 rakamlarına göre (5.6 milyon) %27 oranda artış göstereceği belirtilmiştir [17]. AH'nın kişisel bakımı ciddi maliyetli hastalıklar arasındadır [16]. Demansın en yaygın sebepleri arasında %60–70 oranında AH yer almaktadır [16], [19]. 2018'de Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) AH ve demans tedavisinin 277 milyar dolara ulaştığı bildirilmiştir [17]. Alzheimer İstatistikleri sayfasına 22.03.2023 tarihinde erişim sonucunda; Alzheimer Derneği (AD) bilgilerine göre, 2050 yılına kadar küresel demans yaygınlığı ve tedavisinde öngörülen artışın %68'i düşük ve orta gelirli ülkelerde gerçekleşeceği belirtilmiştir. 2050'de, bunamayla ilişkili maliyetlerin yaklaşık 1.1 trilyon dolar olabileceği belirtilmiştir [17]. AH'nın semptomları ortaya çıkmadan 20 yıl veya daha uzun süre önce başladığı düşünülmekte ve etkilenen kişi tarafından fark edilemeyen beyindeki değişiklikler mevcuttur [16]. AH tipik semptomları; hafızada eksiklikler, günlük nesneler için doğru kelimeleri bulmada zorluk veya ruh hali değişimleri ile başlar. Hastalık ilerledikçe, kişi rutinde yaptığı son olayları, isimleri ve yüzleri unutabilir ve söylenenleri anlamakta güçlük çekebilir. Yıllarca devam eden beyin değişikliklerinden sonra, bireyler hafıza kaybı ve dil problemleri gibi belirgin semptomlar yaşarlar. Bu semptomlar, beynin düşünme, öğrenme ve hafıza (bilişsel işlev) ile ilgili bölümlerindeki sinir hücrelerinin (nöronlar) hasar görmesi veya tahrip olması nedeniyle ortaya çıkar. Hastalık ilerledikçe beynin diğer bölgelerindeki nöronlarda bu durumdan etkilenmektedir. Sonunda, kişinin yürüme ve yutma gibi temel bedensel işlevleri yerine getirmesini sağlayan beynin bölümlerindeki sinir hücreleri etkilenir. Bireyler yatağa bağımlı hale gelir ve günün her saati bakıma ihtiyaç duyar hale gelmektedirler [16],[20],[21].

1.2.2. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ), AH'nı bunamanın en yaygın şekli olarak bildirmiştir. Vakaların %60-70'ine katkısı olduğu belirtilmiştir [19]. 2015 Dünya Alzheimer Raporu'nda, demansın (AH'nın son evresi olarakta bilinir) en yüksek insidans oranlarının %49 Asya'da, %25 Avrupa'da ve %18'lik dilimle Amerika ve %8'lik dilimle Afrika olduğu belirtilmiştir. 65 yaş üstü bireylerin yaklaşık %5'ini ve 80 yaşın üzerindekiilerin %20'sini etkilediği belirtilmiştir. Aynı raporda, Avrupa ve Amerika'da en yüksek demans insidansının 80-89 yaşları arasında, Asya'da 75-84 yaşları arasında ve Afrika'da 65-74 yaşları arasında olduğuna işaret etmektedir. Önceki tahminlerimizle karşılaştırıldığında Asya, Amerika ve Afrika'da ortaya çıkan yeni vakaların oranı artarken Avrupa'da azaldığı bildirilmiştir [22]. AH, yaklaşık 47 milyon kişinin bu hastalıktan etkilenmesi nedeniyle dünyadaki en yaygın nörodejeneratif hastalıktır ve bu sayının 2030 yılına kadar %62'ye çıkması beklenmektedir [18]. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)'nin verilerinde, AH'dan hayatını kaybeden yaşlıların sayılarında azalış olduğu kaydedilmiştir. AH hayatını kaybeden yaşlıların sayısının 2017 yılında 13.647 olmasına rağmen 2021 yılında bu sayının 12.239 olduğu bildirilmiştir. Cinsiyetler arası oransal değişimlerin ise erkeklerde yüzde oranda azalış gözlenirken kadınlarda yüzde değerlerinde artış olduğu belirtilmiştir [23].

2015 Dünya Alzheimer Raporu'na göre, tıbbi bakım, sosyal bakım ve gayri resmi bakım olmak üzere hastalığın toplam maliyetinin 2018 yılı için 1 trilyon dolar olacağı ve 2030'da 2 trilyona yükseleceği belirtilmiştir [22]. 2011'de ABD'de 65 yaş ve üzerinde, klinik teşhisi konulan AH ile yaşayan tahmini 4,5 milyon insan varlığından bahsedilmiştir. Yaşa özel insidans verilerine dikkat edildiğinde, 65 yaşından önce yılda %1'in altındayken, 85 yaşından sonra yılda %6'ya kadar önemli artış göstermektedir. AH'nın insidans oranlarının, 85 yaş üstü kadınlarda biraz daha yüksek olduğu belirtilmiştir [24]. Bu bilgilerden de anlaşılacağı üzere AH ile ilişkili veriler dünya çapında sürekli güncellenmekte ve değişiklik göstermektedir.

1.2.3. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi

Yüz yılı aşkın bir geçmişe sahip olan AH'nın patogenezi netliğe sahip değildir. Doğal iyileşmesini tetikleyen terapiden hala yoksundur. Makroskopik ve mikroskopik belirteçler bilinmektedir ve hastalığın karakterizasyonunda, patogenezini anlamada ve olası stratejilerin geliştirilmesinde yardımcı olmaktadır [18]. Makroskopik seviyede, yaşa bağlı olarak AH' da daha keskin görünen hipokampus ve serebral korteksin atrofisi vardır. Mikroskopik olarak, amiloid-beta'nın amorf yapıları olan amiloid plaklarının veya yaşlılık plaklarının oluşumunu ve nörofibriler yumakların oluşumunu ifade eden hiperfosforile tau proteini birikimini ve geniş alanlarda nöron kaybını gözlemlemek mümkündür [18].

Alzheimer hastalığının etiyojisi karmaşıktır ve tam olarak aydınlatılması gereken çok şey vardır. Genetik mutasyonların yanı sıra presenilin 1 (PS1), presenilin 2 (PS2), amiloid beta prekürsör (öncü) proteini (APP) ve trizomi 21 mutasyonları gibi bozukluklar AH ile ilişkilidir [25]. Bunlara ilave olarak; sinaptik, mitokondriyal, metabolik, inflamatuvar, nöronal, miyelin ve yaşla ilişkili diğer değişkenler AH'nın patogenezinde etkili rol oynamaktadır [25], [26]. AH'da tau proteini içeren nörofibriller yumakların oluşumu ve sonraki süreçlerin, A β üretimi ve A β klirensi arasındaki bozukluktan kaynaklandığı belirtilmiştir [27].

Anormal nörotik plakların ve nörofibriler yumakların birikmesiyle karakterize edilmektedir. Plaklar, hücre dışı amiloid beta peptit çekirdeğine sahip küresel mikroskopik lezyonlardır. Beta-amiloid peptit, bir APP olarak bilinen transmembran proteinlerden türetilir. β -amiloid peptit alfa (α), β beta ve γ gama-sekretaz adlı proteazların etkisiyle APP'den ayrılır. α veya β -sekretaz enzimi tarafından bölünen APP'lerin oluşturduğu küçük parçalar nöronlar için toksik değildir. β ve daha sonra γ -sekretaz enzimi tarafından sıralı bölünmeyle, 42 amino asit peptid (β - amiloid 42) oluşumuyla sonuçlanır. β - amiloid 42 seviyelerinde yükselme, nöronal toksisiteye neden olan amiloid birikimine (agregasyonuna) yol açar. β - amiloid 42, normal APP'yle kıyaslandığında, kümelenmiş fibriler amiloid protein oluşumdur. APP geni, ailesel AH ile bağlantılı bölgelerden biri olan 21. kromozom üzerinde yer almaktadır. Nörofibriler yumaklar, nöronlarda tau adı verilen bir protein tarafından oluşturulan fibriler intrasitoplazmik yapılardır. Tau proteininin birincil işlevi, aksonal mikrotübülleri stabilize etmektir. Mikrotübüller, nöronal aksonlar boyunca uzanır ve hücre içi taşıma

için gereklidir. Mikrotübül düzeneğinin sürdürülmesinde tau proteininin rolü büyüktür. AH'da, hücre dışı β -amiloid agregasyonuna bağlı olarak tau hiperfosforilasyonu vardır ve bu daha sonra tau agregatlarının oluşumuna neden olmaktadır. Tau agregatları, nörofibriler yumaklar olarak bilinen bükülmüş çift sarmal filamentler oluşturur. İlk olarak hipokampusta ortaya çıkarlar ve daha sonra tüm serebral kortekste görülmekte ve tau-agregatları nöronların içinde birikmektedir. Nörofibriler yumakların 6 aşamada topografik evrenlenmesine dayanan Braak evrelemesi Ulusal Yaşlanma ve Reagan Enstitüsü için AH'nın teşhisi için nöropatolojik kriterlerin ayrılmaz parçasıdır. Hiperfosforile tau iplikçikleri (tangles), AH ile plaklardan daha güçlü bir şekilde ilişkilidir. AH'nın bir diğer özelliği, amiloid anjiyopati tarafından hipokampal piramidal hücrelerin granülovakuolar dejenerasyonudur. Bilişsel düşüşün, plak sayısındaki bir artıştan ziyade, lamina III ve IV'teki piramidal nöronlardan presinaptik uçlarının yoğunluğundaki bir azalma ile daha fazla ilişkili olduğunu göstermektedir. AH'nın nörodejeneratif sürecine vasküler katkı tam olarak belirlenmemiştir. Subkortikal infarktlerde demans riski dört kat artar. Serebrovasküler hastalık ayrıca demansın derecesini ve ilerleme hızını abartır [24], [28], [29].

1.2.4. Alzheimer Hastalığının Oluşumu ile İlgili Hipotezler

Alzheimer hastalığının altında yatan sebepler araştırıldığında oldukça fazla hipotez yer almaktadır. AH ile ilgili en yaygın hipotezler arasında; kolinerjik ve oksidatif stres hipotezi, amiloid beta ($A\beta$) kaskad hipotezi, tau hipotezi [1] ve kolesterol hipotezi gibi birçok hipotez yer almaktadır [30]. Bu hipotezlerin en önemlileri aşağıda açıklamıştır.

1.2.4.1. Kolinerjik Hipotez

Kolinerjik hipoteze göre; hipokampus, frontal korteks, amigdala, nukleus bazalis ve mediyal septum gibi hafıza ve öğrenmeden sorumlu önemli yapılarda bulunan kolinerjik nöronların selektif olarak hasarlandığı birincil dejeneratif bir süreç olarak tanımlanmıştır. Bu selektif değişiklik, asetiltransferaz, asetilkolinesteraz (AChE) ve nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR) gibi kolinerjik yapıların down-regülasyonunu işaret etmektedir [30]. AH'da etkili rolü olan en temel nörotransmitterler arasında Ach, glutamat, norepinefrin, dopamin ve daha bir çok nöromodülatör yer almaktadır [31]. Kolinerjik hipotezi destekleyen bir diğer yaklaşım ise eksitotoksisite mekanizmasıdır. Beyindeki uyarıcı aminoasitler ile glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonu, kalsiyum tamponlamasındaki bozukluk, serbest radikal oluşumu ve mitokondriyal geçirgenliğin

bozulması, sekonder eksitotoksisiteyi de içeren bir dizi hasara yol açtığı raporlanmıştır [32].

1.2.4.2. A β Kaskadı Hipotezi

İkinci hipotez olan A β kaskadı hipotezine göre ise nörotoksiteden sorumlu ana faktörün A β peptid birikimi olduğu ve bunun nöronal hasar oluşturarak AH gelişimine neden olduğu vurgulanmıştır [31],[33]. AH'de PS1 ve PS2, PS2 ve veya APP genlerinde oluşan mutasyonlar sonucunda A β miktarı artmaktadır [33]. Özellikle APP genindeki mutasyonlar β - ya da γ -sekretazlar aracılığıyla A β oluşumunu arttırdığı ve sonuç olarak A β 'nın fibril oluşumuna sebep olduğu belirtilmiştir [14],[15],[16],[19],[26],[27].

1.2.4.3. Kolesterol Hipotezi

Kolesterol hipotezine göre ise, AH'nın kolesterol homeostazındaki değişikliklere de bağlı olduğunu savunulmuştur [34]. İnsanda merkezi sinir sistemi (MSS)'deki esterleşmemiş kolesterolün ortalama konsantrasyonu ~23 mg/g'dır. Bu değer diğer herhangi bir dokudaki miktardan daha yüksektir. MSS, vücut ağırlığının sadece %2,1'ini oluşturmasına rağmen, tüm vücut havuzunda bulunan sterolün %23'üne sahiptir [35]. İnsanlarda bulunan toplam kolesterol miktarının ise yaklaşık %25'i, çoğu miyelin içinde bulunan bu organda lokalizedir [36]. Beyin, kolesterol açısından en zengin organdır; vücut kütlelerinin yalnızca %2'si ile vücut kolesterolünün ~%20'sini içermektedir. Bu kolesterolün ~%70'i miyelin içindedir ve ~%30'u metabolik olarak aktiftir [37]. MSS, tüm vücut kütlelerinin yalnızca %2'sini oluşturur, ancak tüm bireyde bulunan esterleşmemiş kolesterolün neredeyse dörtte birini içerdiği belirtilmiştir [38].

Alzheimer hastalığı için yalnızca A β plakları ve tauopati risk faktörü değildir. AH ile ilişkili çeşitli genetik, çevresel ve diğer risk faktörleri de mevcuttur. Beyin kolesterol dismetabolizması, nörodejenerasyon da dahil olmak üzere AH'nin başlıca ayırt edici özelliklerini etkilediği kabul edilmiştir. Ne yazık ki, AH'dan sorumlu olan beyin kolesterol düzeylerinde bir artışın veya düşüşün olup olmadığı henüz netlik kazanmamıştır. Beyindeki kolesterol seviyesini yönetmenin AH için alternatif bir tedavi stratejisi olarak yardımcı olabileceğine inanılmıştır [39]. Kolesterol homeostazının korunmasını ve kolesterol translokasyonunun düzenlenmesini kolaylaştıran ATP bağlayıcı kaset taşıyıcılarının, lipid aracılı transmembran taşıma yoluyla AH

patogenezinde rol aldığı belirtilmiştir. Bu taşıyıcıların nöromodülatör ve nörokoruyucu etkilerinin varlığı belirtilmiştir [40].

Yaşlanan insan ve hayvanlarda, AH hastalarda, Tg-AH modellerinde, AH genetik formlarında kolesterol sentezinde ve/veya kolesterol trafiğinde (taşıma, alım ve hücre içi taşıma) ve/veya kolesterol katabolizmasında azalma dahil beyin kolesterol metabolizmasında anormal değişiklikler olduğu görülmüştür. Beyin kolesterol kaybının membran lipid raft düzensizliğine ve hücre içi bölmelerin azalmasına yol açarak AH patogenezini ile ilişkili patolojik bozukluklara yol açabileceği belirtilmiştir. Özetle, farklı apoE izoformları arasındaki yapısal farklılıklar, kolesterol trafiğinde gerçekleşen değişiklikleri açıklayabilir. Kolesterol taşıma ve alımında ki genetik kusurların AH gibi nörodejeneratif hastalıklarda yer alabilecek beyin kolesterol seviyesinin düşmesine yol açabileceği belirtilmiştir. KBB'nin kolesterol açısından zengin lipoproteinlerin girişini engellediğinden dolayı, yüksek kan kolesterolü ile AH arasındaki nedensel ilişkiler tartışmalıdır [41]. ApoE'nin normal ve yaralı MSS'de kolesterol taşınmasında, sinaptik döngüde ve dentritik yeniden yapılanmada kritik ve benzersiz rolü olduğu belirtilmiştir. Periferden kaynaklanan apolipoproteinlerin (apolipoprotein A1 (ApoA1) ve Apolipoprotein B (ApoB) gibi), şiddetli nörodejenerasyon alanlarında KBB'den sızarak yerel patolojik süreçte aktif bir rol oynama olasılığının göz ardı edilemeyeceği belirtilmiştir. Kolesterol, APP sekretaz işlevi üzerinde (apoE-düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)-reseptör yolunda) çok sayıda etki göstermektedir. Hücre içi kolesterol konsantrasyonlarındaki artışların, α -sekretaz aktivitesinin inhibisyonuna yol açarken β -ve γ -sekretaz aktivitelerini uyardığı belirtilmiştir [42]. 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A redüktazı (HMG-CoA redüktaz inhibitörleri veya statinler) inhibe eden kolesterol düşürücü ilaçların kullanımıyla AH prevalansında azalma olacağı gösterilmiştir. Hücre kültürü ve in vivo deneyler, statinlerle tedavinin A β üretimini azalttığını göstermektedir. KBB geçen statinlerin, nöronal kolesterol miktarını kritik bir seviyenin altına düşürebileceği belirtilmiştir. Azalan nöronal kolesterol seviyeleri, APP'yi kolesterol ve sfingolipid ile zenginleştirilmiş membran mikro alanlarından çıkararak A β oluşturan amiloidojenik yolu inhibe edebileceği belirtilmiştir. Kolesterol düşürücü stratejilerin AH'nın ilerlemesini etkileyebileceği belirtilmiştir [43]. AH patogenezinde kolesterolün rolünün daha kapsamlı bir şekilde tanınması için, beyin kolesterol miktarı, spesifik bölgesel değişiklikler ve ayrıca lipid salları veya hücre içi organeller gibi nöronlar içindeki kolesterol dağılımı dahil olmak üzere, AH sahip insan ve hayvanların

beyinlerinde kolesterol metabolizmasının rolünü daha fazla araştırılması gerektiği belirtilmiştir [41].

1.2.4.4. Tau Hipotezi

Dördüncü hipotez olan tau hipotazi incelendiğinde; yüksek çözünür özellikte mikrotübül ilişkili protein (microtubule-associated protein; MAP) olan tau proteininin aşırı veya anormal fosforilasyonunun, hiperfosforile tau ve nörofibriller yumaklara dönüşmesiyle AH'a sebep olduğu belirtilmiştir [31],[44].

Tau, mikrotübüllerin dengeleyicisi olması ve dinamiklerine dahil olmasının yanı sıra, miyelinasyon, aksonal taşıma, nörojenez, motor fonksiyon, öğrenme ve hafıza, nöronal uyarılabilirlik, glikoz metabolizması, demir homeostazı ve DNA koruması gibi birçok fizyolojik süreçte rol oynamaktadır [45]. Amiloid β ve tau arasında çift yönlü bir etkileşim olmasına ve bazı faktörlerin her iki molekülü bağımsız yollarla etkilediği belirtilmiştir [46]. Nöronlar gibi oldukça polarize ve uzun hücrelerde, hücre gövdesinde üretilen tau'nun, aksonal mikrotübülleri stabilize etme görevini yerine getirmek için akson içine ve aşağı doğru hareket etmesi gerekmektedir [47]. Tau proteinleri aksonal taşınmaya çeşitli mekanizmalarla müdahale etmektedir. Hiperfosforile tau'nun fonksiyon kaybıyla mikrotübüllerin kararsız hal alması, aksonal fosfotransferazların aktivasyonu aracılığıyla ve bir dizi moleküler mekanizmalarla aksonal taşımının inhibisyonuyla tau filamentlerinin toksik fonksiyon kazanması, artan tau proteinleri aracılığıyla mikrotübüller aksonun mekanik tıkanması ve de mikrotübüle bağlı tau ile kinesin ve dynein bağımlı aksonal taşımının doğrudan etkileşiminin önemli olduğu vurgulanmıştır [47],[48]. Yüksek stabiliteye sahip hiperfosforillenmiş tau proteini genellikle hipokampusta ve entorhinal kortekste toplanarak proteazlar tarafından parçalanmayan NFT'ler oluşmaktadır. Bu da aksonal taşıma ve sinaptik homeostazda bozukluklara neden olur ve sonuçta nörotoksisiteye ve nörodejenerasyona neden olmaktadır [49]. Amiloid β ($A\beta$) ve tau proteininin her ikisi de hafıza bozukluğu, hafif bilişsel bozukluk ve erken dönem AH'da etkili oldukları öne sürülmüştür. $A\beta$ 'nin hipokampusta sinaptik plastisiteyi bozması için tau proteininin gerekli olduğunu belirtilmiştir. $A\beta$ ve tau arasındaki etkileşimi önlemenin, hafif bilişsel bozukluk ve erken AH'da bilişsel bozukluğu tedavi etmek için umut olabileceği belirtilmiştir [50].

Alzheimer hastalığı patogeneğinde önemli ilerlemeler sağlanmış olmasına rağmen, AH'nin tedavisi için etkili ilaçlar hala eksikliğini korumaktadır. $A\beta$ 'nin anormal

birikiminin, tau proteininin hiperfosforilasyonunun ve nöroenflamasyonun birbiriyle etkileşime girerek sinaptik işlev bozukluğuna ve nöronal kayba yol açtığı bilinmektedir. Metal iyonlarının (Fe, Cu ve Zn) dishomeostazı, AH'nin patogenezi ile yakından ilişkilidir. Metal şelatlayıcılar, metal iyon homeostazını düzenleyerek, A β birikimini ve tau fosforilasyonunu yavaşlatarak ve nöroinflamasyonu ve oksidatif hasarı hafifleterek hafızayı ve bilişsel gerilemeyi bir dereceye kadar hafiflettiği belirtilmiştir [51].

Tau patolojisinin A β plak oluşumundan yaklaşık on yıl önce ortaya çıktığını spesifik projeksiyon gösteren nöronlarda gözlenen tau patolojisinin sporadik AH'nı başlatabileceği düşünülmüştür. Mikrotübüller üzerindeki anormal fosforile tau, A β üretimini tetikleyen APP içeren endozomları yakalayarak oluşan A β oligomerleri, tau'nun anormal fosforilasyonunu artırdıkça patolojik olayları hızlandırabilecek kısır döngüleri tetikleyebileceği belirtilmiştir [52]. AH'nin ilerlemesinde A β birikiminden ziyade tau patolojisinin etkili olduğu düşünülmüştür. Tau patolojisi sonrasında hücrede taşıma sistemi, hücre iskeleti sistemi, sinyalizasyon sistemi ve mitokondriyal bütünlüklerde bozulmalara yol açmaktadır. Mikroglial inflamasyonunda, A β 'dan bağımsız olarak tau bağımlı dejenerasyonda etkili olabileceği belirtilmiştir [53].

1.2.4.5. Oksidatif Stres Hipotezi

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretiminin hücrel antioksidan savunma sisteminden olan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPX), glutaredoksinler, tioredoksinler ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimleri aştığı bir durumdur [54].

1.2.4.6. Hücre Siklusu Hipotezi

Amiloid- β haricindeki APP parçalarının anormal nöronal hücre döngüsüne girişinde ve sonrasında apoptozda rolü olabileceği düşünülmektedir. APP'nin beyindeki normal işlevini anlamının önemini ve bu işlevin AH'de nasıl bozulabileceğini vurgulamaktadır. APP aracılı bir sinyal yolunun, AH'de görülen hücre döngüsü aktivasyonunda ve nörodejenerasyonda rol oynayabileceğini düşündürmektedir [55]. Özellikle, AH beyninin patolojik olarak etkilenen bölgelerindeki nöronlarda hücre döngüsü proteinlerinin anormal ifadesi ve DNA tetraploidi tarif edilmiştir. Hücre döngüsüne giren nöronların daha sonra apoptoz adı verilen programlanmış bir hücre formuna maruz kaldıkları da gösterilmiştir. Şimdiye kadar, AH'deki nöron ölümünün en azından kısmen hücre döngüsü girişi ardından apoptozis nedeniyle olabileceğine dair kanıtlar kayda değerdir.

Bunun açık terapötik etkileri vardır: Bu hücre döngüsü aracılı nörodejenerasyonun altında yatan moleküler yolları anlamak, yeni terapötik hedefleri ortaya çıkaracak ve AH'nın başlangıcını ve ilerlemesini yavaşlatmak ve hatta engellemek için yeni stratejilere yol açacaktır. APP'nin aracılık ettiği böyle bir yol tarif edilecektir. Tau'nun mitotik fosforilasyonu nörofibriller yumakların gelişimi ile ilişkili olarak konfarmosyonal değişikliklere sebep olmaktadır. Bu veriler, hücre döngüsü mekanizmasının yeniden etkinleştirilmesinin yalnızca DNA sentezine neden olmadığı, aynı zamanda AH beyinde tau hiperfosforilasyonuna da neden olabileceği fikrini desteklemektedir [55].

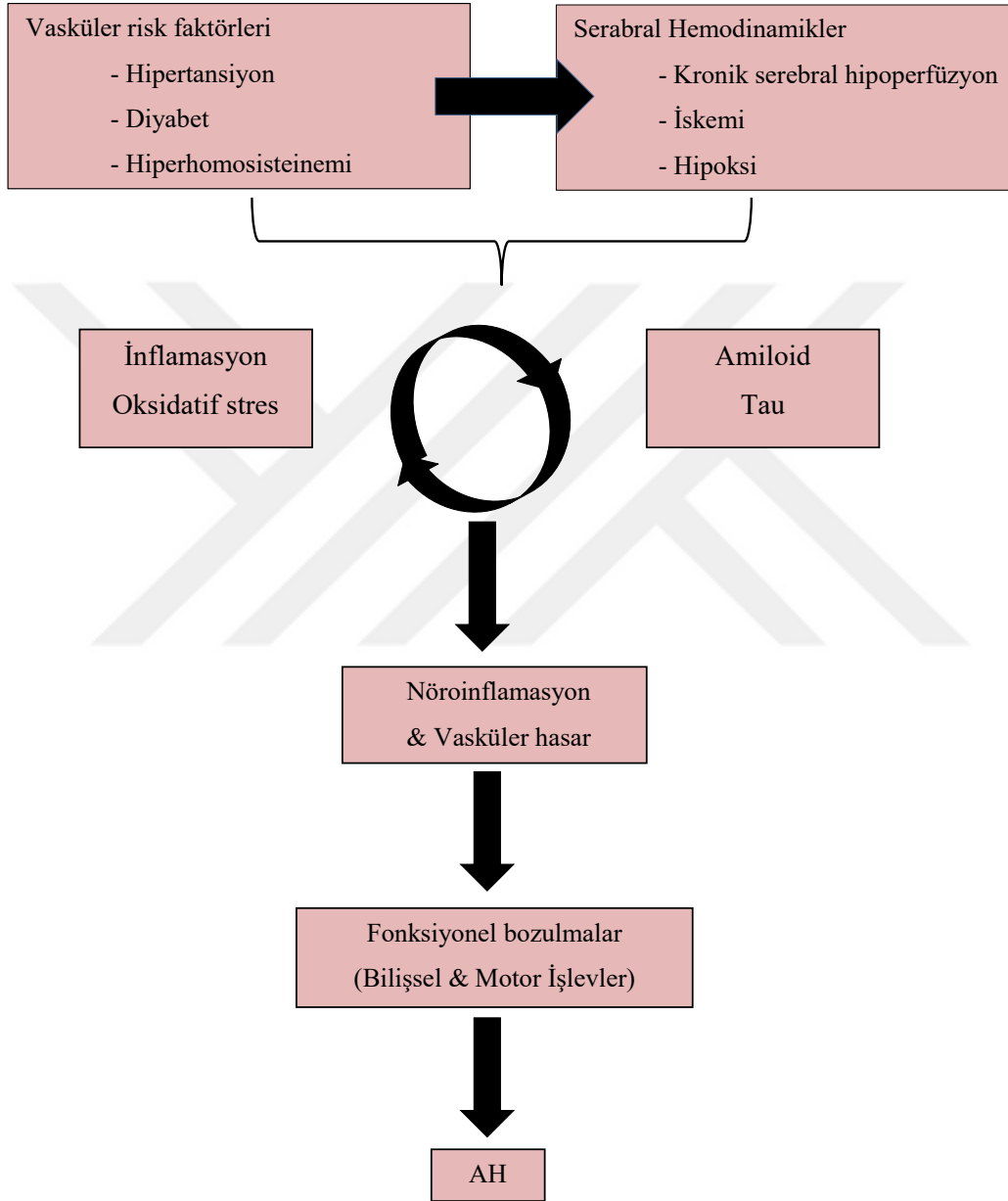
Alzheimer hastalığının patogeneğinde değişmiş hücre siklusunun önemli olduğu bilinmektedir. Yetişkin hipokampusundeki nöronların, çoğunlukla bölünmeyen G0 fazında hücreler olduğu bilinmektedir. G0 fazındaki hücrelerde terminal farklılaşma gerçekleşmiştir ve bu fazdaki hücreler yeniden (yeni bir) hücre siklusuna girmezler. Ancak bu durumun AH'ı olan bireylerde mitotik olarak aktif olmayan G0 fazındaki hücrelerin hatalı bir şekilde yeniden aktifleştğini ancak bu hücrelerin hücre siklusunu tamamlayamadıkları belirtilmiştir. Bu yüzden; G0 fazındaki farklılaşmış hücreler mitoz yapma yetenekleri azaldığı için yeni bir mitoz fazına girmezler/giremezler. Bu hücreler apoptoz yoluyla ölüme uğrarlar [25],[28],[29],[30],[31],[33],[56],[57],[58],[59],[60].

Hücre siklusunda görülen bu anormalliklerin doğrudan veya dolaylı olarak oksidatif stres ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Gelişen oksidatif stres inflamasyona, A β ve tau birikimine, mitotik disfonksiyona ve hücre ölümüne sebep olarak AH gelişiminde rol oynamaktadır [58],[59].

1.2.4.7. Vasküler Hipotez

Epidemiyolojik çalışmalar kardiyovasküler sistem (KVS) hastalıklarının AH'ın gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunarak vasküler hipoteze yol açtığını belirtilmiştir [60]. Hipertansiyon, diyabetes mellitus (DM) ve hiperhomosisteinemi (HHcy) gibi vasküler risk faktörleri AH'ın oluşma riskini artırabilir. Vasküler risk faktörlerinin AH üzerine sinerjik bir etki oluşturacağı düşünülmüştür [60]. Nedensel etkileri çoğunlukla bilinmeyen vasküler risk faktörlerinin, serebral kan akışındaki azalmalar sonucu oluşan kronik serebral hipoperfüzyonun AH başlangıcında kilit rol oynadığı düşünülmektedir [60]. Kronik serebral hipoperfüzyon indüksiyonunun AH ile ilişkili patolojinin güçlü bir şekilde alevlenmesine neden olduğu in vivo (hayvan) çalışmalarla desteklenmiştir. Farklı

kardiyovasküler hastalık risk faktörlerinin AH nasıl katkıda bulunduğuna dair kapsamlı çalışmalar gerekmektedir [60]. Deneysel olarak uzun vadeli kardiyovasküler risk faktörlerini indüklemek veya serebral hemodinamikleri bozmanın, AH'na sahip beyin bölgelerinde amiloid ve tau patolojisi, nöroinflamasyon ve nörodejenerasyon ve bilişsel gerilemeyi hızlandırdığı görülmüştür (Şekil 1.1) [60].



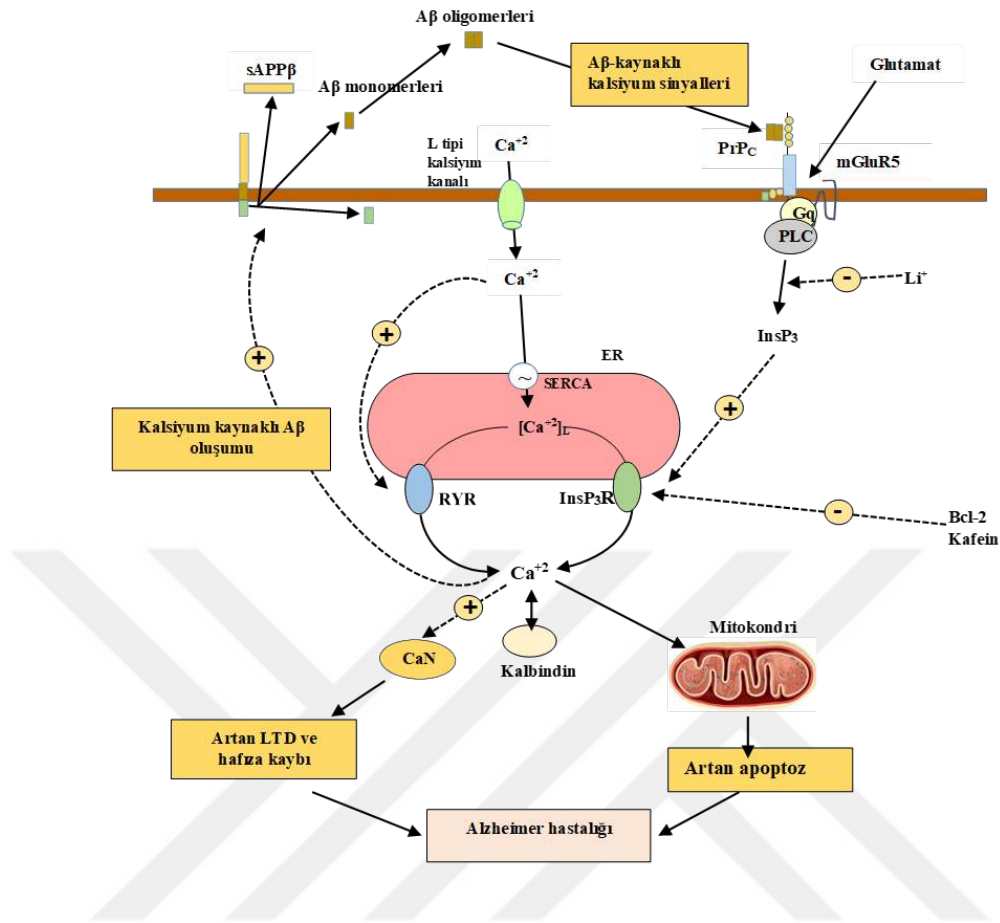
Şekil 1.1. AH ve kardiyovasküler sistem (KVS) arasındaki ilişki [60].

Genel anlamda, oksidatif stres ve mikrovasküler inflamasyonu teşvik eden vasküler faktörlerle birlikte, A β klirensinin bozulmasına ve nörovasküler fonksiyonun daha da bozulmasına yol açan kısır bir döngü varlığından bahsedilmektedir [60].

1.2.4.8. İnflamasyon Hipotezi

Konjenital immün fonksiyonlarla ilişkili AH risk genlerinin tanımlanması, AH'na sahip bireylerde inflamatuvar belirteçlerinin artış göstermesi nöroinflamasyonun AH patogenezinde önemini göstermektedir [61]. İnflamasyona sitokinler, kemokinler, ROT ve ikincil habercilerin yapımı aracılık etmektedir. Bu araçlar, MSS'de mikroglia ve astrositler, endotelyal hücreler ve periferel bağışıklık hücreleri tarafından üretilmektedir. Nöroinflamatuvar bu yanıtların immün, fizyolojik, biyokimyasal ve psikolojik olmak üzere çok yönlü sonuçları vardır. Ayrıca, nöroinflamasyonun derecesi, birincil uyarıcı veya hastalığın bağlamına, süresine ve seyrine bağlıdır [62]. Örneğin, inflamasyon, bağışıklık hücrelerinin toplanmasına, ödem, doku hasarına ve potansiyel olarak hücre ölümüne yol açabilir. Bununla birlikte, nöroinflamasyon terimi evrensel olarak eşdeğer değildir. Nöroinflamasyonun ortak noktası tartışmasız mikrogliyalardır [62].

Proinflamatuvar sitokinler arasında IL-1 β , IL-6 ve TNF α , kemokinler (kemokin ligandı 2 (CCL2), kemokin ligandı 5 (CCL5), kemokin C-X-C motif ligand-1 (CXCL1), ikincil haberciler (NO ve prostaglandinler (PG) ve (ROT aracılık etmektedir. Bu kimyasal araçların çoğu; mikroglia ve astrositleri içeren aktive edilmiş MSS hücreleri tarafından üretilmektedir [63]. Şekil 1.2.' incelendiğinde; amiloid öncü proteininin (APP) hidrolizi sonrasında, ilk olarak A β oligomerlerini oluşturan A β monomerleri serbest bırakılır. Ardından A β kaynaklı Ca⁺² sinyalleri prion proteinine (PrP^c) bağlanır ve bu daha sonra InsP3 oluşumunu indüklemek için mGluR5 reseptörlerini aktive eder; Ca⁺²'yi dahili depodan serbest bırakır. Ortaya çıkan Ca⁺² bu artış uzun süreli artışı AH'da hafıza kaybına sebep olan uzun süreli depresyonun (LTD) sebep olur. InsP3'ün aktivasyonu Li tarafından inhibe edilir ve Ca⁺² mobilize edici etkileri Bcl-2 ve kafein tarafından azaltılır. Bu üç ajanın AH'nın etkilerini ve başlangıcını azalttığı belirtilmiştir [64].



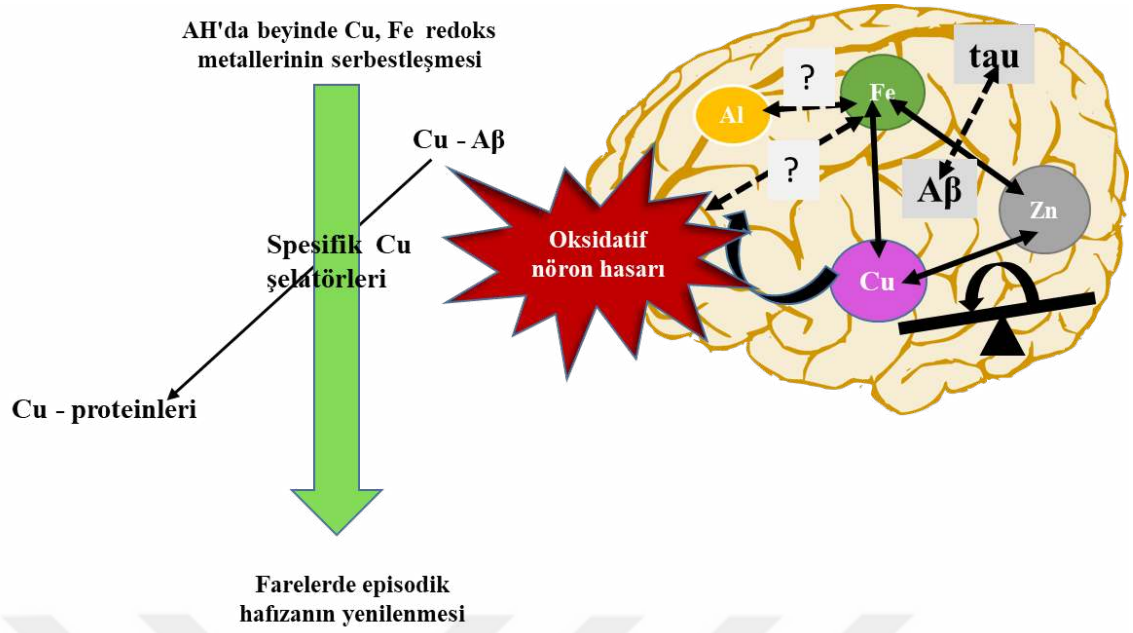
Şekil 1.2. Alzheimer hastalığında inositol 1,4,5-trisfosfat/kalsiyum (InsP₃/Ca⁺²) sinyal yolunun rolü [64].

1.2.4.9. Metal Dengesizliği Hipotezi

Alzheimer hastalığında bozulmuş olan metal homeostazısının tekrar eski dengesine kazandırmayı planlayan tedavi edici yaklaşımlar vardır. Bu metaller arasında ana redoks aktif geçiş metalleri olan demir (Fe) ve bakıra (Cu) daha fazla odaklanılmıştır. Ancak redoks aktif olmayan alüminyum (Al) ve çinko (Zn) gibi metal iyonlarının beyinde önemli rolleri vardır [65]. Sağlıklı koşullarda, demirin iki ana oksidasyon durumu olan Fe⁺³/Fe⁺²'nin birbirine dönüşümü, zararlı ROT oluşumuna neden olacak şekilde dioksijenin Fe⁺² tarafından katalitik indirgenmesini önlemek için sıkı bir şekilde kontrol edilir. Demir birikimi ayrıca ROT üretimine sebep olduğu için nöroinflamasyon ve nörodejenerasyonla sonuçlanan mikroglia aktivasyonuna yol açmaktadır. Beynin vasküler durumu ve demir geri dönüşüm metabolizmasının etkinliği AH vakalarını azaltmakla ilgili olabileceği ve deneysel çalışmalar gerektiği belirtilmiştir. Tasarlanması

planlanan şelatlayıcılar, Cu-amiloid komplekslerinden bakırı çıkarabilmeli ve daha sonra beyinde bakır tükenmesine (yoksunluğuna) neden olmadan bakırı bakır taşıyıcı proteinlere bırakabilmelidir. Bu tür ilaçlar, endojen indirgeyicilerin mevcudiyetinde Cu-amiloidler tarafından indüklenen ROT üretimini inhibe etmektedir. AH bireylerin beyinde bakır dengesizliğini düzenlemek için şelatörlerin ilaç adayları olabileceği belirtilmiştir [65].

Protein hedeflerinin yanı sıra, en bol bulunan biyolojik demir, bakır ve çinko gibi biyolojik metallerinin dağılımlarının (dengesinin) düzenlenmesi, AH tedavisi için hedef olabilir. Bu üç metalin dağılımı hem birbirine hem de amiloid-tau metabolizmasına da bağlıdır. Bakır ve çinko, APP'nin işlenmesini etkileyen farklı mekanizmalarla Aβ üretiminin düzenlemesine katkı sağlamaktadır. Tau fosforilasyonunun düzenlenmesi ve APP işlemesi, sinaptik NMDA reseptörlerinin çinko ile indüklenen aktivasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bu yüzden tek başına olmasada bakır homeostazının düzenlenmesi AH için hedefler arasında sayılabilir [65]. AH'li beyindeki metal seviyelerinin yanlış düzenlenmesinin zararlı sonuçlarına karşı koyabilen terapötik ajanlar olarak metal şelatörlerin tasarımı, uygun ilaç adaylarını seçmek ve klinikte başarı şansını artırmak için gerekli koordinasyon kimyası altyapısını hesaba katmalıdır [65]. Bakır özgüllüğü için uygun bir koordinasyon küresi sergileyen suda çözünür tetradentat monokinolin (TDMQ) molekülleri üzerinde farmakolojik çalışmalar halen devam etmektedir [65]. TDMQ şelatorları AH sahip bireylerin beyinlerindeki oksidatif stresin azaltılmasında ve bakır homeostazının düzenlenmesi için ilaç adayları olarak tasarlanmıştır [66].



Şekil 1.3. Alzheimer hastalığında metal iyonlarının rolü [64].

1.2.4.10. Mitokondriyal Kaskad Hipotezi

Alzheimer hastalığının özellikleri arasında mitokondriyal disfonksiyon ve değişmiş metabolizma da yer almaktadır [67]. Çeşitli koşullar altında elektron transferi tamamlanmadan önce sona erebilir. Membran potansiyeli hiperpolarize olduğundan, matrinden proton pompalamak için gereken enerji miktarı artar, bu da elektronların elektron taşıma zinciri (ETZ) yolculuğunu tamamlamasını engelleyebilir. ETZ'den salınan elektronlar, ROT ve reaktif nitrojen türleri (RNT)'ni oluşturmak için moleküler oksijen ve nitrojen ile reaksiyona girer. Tersine, iç zar boyunca depolarizasyon, mitokondri zar potansiyelini yeniden oluşturmaya çalışırken ETZ'den elektron geçişinde bir artışa neden olabilir. Depolarizasyon, ATP sentezinden bağımsız olarak iç zardan proton sızıntısı ve matrikse geri dönmesi nedeniyle veya fizyolojik olarak ayrılan proteinler (uncoupling proteinler -UCP'ler) tarafından oluşturulan kanallar yoluyla ortaya çıkabilir. Protonların bir iç zar sızıntısı yoluyla veya UCP'ler yoluyla matrise dönüşü, ATP üretiminden elektron taşınmasını "ayırır" ve elektron aktarımından yakalanan enerjiyi ısı üretimine yönlendirir. Yapısal ETZ bozulmaları ayrıca zincirin bütünlüğünü azaltabilir ve elektronları serbest bırakabilir. Bu senaryoda, ROT ve RNT üretimi, göreceli bir mitokondriyal membran potansiyeli depolarizasyonu bağlamında gerçekleşir.

Alzheimer hastası bireylerin beyinlerindeki mitokondrilerin, AH olmayan beyinlerindeki mitokondrilerden morfolojik olarak farklılıklara sahip olduğu doğrulanmıştır. AH beyin mitokondri sayısında net bir azalma gözlenmiş olsa da hastalıkta mitokondriyal kütlenin nasıl değiştiği çok açık değildir. Mitokondriyal döngünün arttığını, otofagozomlarda artan miktarda mitokondriyal materyal artışının olduğunu göstermektedir. Bu genel bilgiler, yeni mitokondrilerin değiştirilmesinde eşzamanlı bir azalma ile birlikte, gelişmiş mitokondriyal eliminasyonu destekliyor olabilir [58],[59],[60],[68],[69],[70],[71]. AH'da A β 'yı mitokondriyal etkileşimler için önemli bir potansiyel haline getirmektedir. Hücrelerin APP - A β üretimi ve eliminasyonunu (A β homeostasisin) dikkatli bir şekilde yönetmesinde mitokondrinin katkısı olabileceği dile getirilmiştir [59],[60],[61],[69],[70],[71],[72],[73],[74]. Mitokondriyal fonksiyonu protein homeostazına ve agregasyonuna, bu protein değişiklikleri mitokondriyi değiştirmek için geri dönse bile, mitokondrinin bu protein değişikliklerini bir dereceye kadar yönlendirmesine izin verecek şekilde bağlamak da önemlidir [73]. Literatürdeki veriler, mitokondriyal fonksiyon ve biyoenerjetiklerin protein homeostazını etkilediğini belirtmektedir. AH'da mitokondrinin APP, A β , tau, α -sinüklein ve transaktif yanıt 43 kDa'lık DNA bağlayıcı protein (TDP-43) homeostazı üzerine etkilerinin çok yönlü değerlendirmenin önemini vurgulamışlardır [73]. Birkaç sporadik nörodejeneratif hastalık, mitokondriyal fonksiyonla doğrudan veya dolaylı olarak ilişkili fenomenler sergiler. Bu hastalıklarda mitokondriyal fonksiyonun mitokondriyal DNA'dan (mtDNA) kaynaklanabileceğini düşündüren veriler gözden geçirilmiştir. Mitokondriyal fonksiyonu manipüle etmeye ve mitokondriyal disfonksiyonun negatif (aşağı) yöndeki sonuçlarını en aza indirmeye yönelik yaklaşımlar tartışılmaktadır [75]. Serbest radikalleri ve serbest radikal aracılı kimyasal etkileşimi azaltmak, uzun zamandır mitokondriyal tıp yaklaşımı olarak kabul edilmektedir. Egzersizin kas üzerindeki etkilerini ve diyet kısıtlamasının karaciğer üzerindeki etkilerini taklit ederek beyin mitokondriyal biyogenezini indüklemenin etkili yolları belirlenebilir. Ancak adenosin trifosfat (ATP) seviyelerini normalin altına düşürmenin iyi olduğu anlamına gelmez. Aksine, nöronları daha aerobik bir duruma zorlamak, adenosin monofosfatla aktive olan protein kinaz (AMPK) ve sirtuin-1 (SIRT1) aktivasyonu gibi geniş kapsamlı sonuçlara sahip olabilir. Hücre içindeki işlevsiz mitokondri kütlesinin artması olumsuz sonuçlara yol açan potansiyel bir dezavantaj olabilir. Tehlikeli ancak yine de kısmen işlevsel bir hücre içindeki işlevsiz mitokondri kütlesinin arttırılması, oksidatif stresi veya apoptotik sinyalleşmeyi tolere edilebilir seviyelerin üzerine çıkarabilir [75].

Mitokondriyal işlev bozukluğunun neden olduğu enerji eksikliği ve Aβ1–42 oligomerleri, hücre içi Ca^{2+} dengesizliğini ve AMPK aktivasyonunu tetikleyerek sinaptotoksositeye ve hafıza kaybına yol açmaktadır. AH insidansında yaşa bağlı orantılı bir artışla mitokondriyal disfonksiyonel birikimi ve bozulmuş mitofaji eşlik etmektedir. Mitofaji, sağlıklı bir mitokondriyal işlevlerin sürdürülmesi ve nöronal ölümün engellenmesi yoluyla nöronal fonksiyonda ve nöronal hayatta kalmada kritik bir rol oynar. AH hipokampusundaki hasarlı mitokondri birikimini göstermektedir [70].

AH dahil, yaş ile ilişkili nörodejenerasyonun özelliklerinden biri hasarlı mitokondrilerin birikmesidir. AH etiyojisinde ve ilerlemesinde kusurlu mitofaji, AMPK, p-tau ve Aβ arasındaki birbirine bağlı karmaşık rolleri ayırmak için daha ileri çalışmalar gereklidir [63],[65],[67],[68],[70],[71],[74],[76],[77],[78],[79]. Kusurlu mitokondriyi hedeflemenin AH tedavisi için önemli olabileceği belirtilmiştir [70].

Mitokondri ile ilişkili endoplazmik retikulum membranları hücre içi sinyalleşmenin önemli bileşenleridir ve hücre içi Ca^{+2} /lipid homeostazının, mitokondriyal dinamiklerin, otofaji/mitofajinin, apoptoz ve inflamasyonun düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır [76]. Bu geçirgenlik değişikliklerinin iletkeni, uygun bir şekilde adlandırılmış mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözenekidir; bu, henüz tam olarak tanımlanmamasına rağmen, hücresel fizyolojik fonksiyonlar sırasında iyonların, proteinlerin ve metabolik yan ürünlerin akışını farklı şekilde düzenlemek için farklı şekilde hareket eden birkaç integral proteinden oluşur, ancak ayrıca patofizyolojik hakaretler [80].

1.2.5. Bellek

Alzheimer hastalığından etkilenen kişilerin ilk ve en yaygın başvuru semptomu, uzun süreli belleğin göreceli olarak korunduğu epizodik kısa süreli bellek kaybıdır. Kısa süreli hafıza bozukluğunun belirtileri arasında; muhakeme ve problem çözme yeteneğinde bozulmalar, yürütücü işlevlerde azalmalar, motivasyon eksikliği ile düzensizliği ve sonrasında takiben çoklu görev ve soyut düşünme sorunları yer almaktadır. AH'nın erken fazlarında, yürütme işlevindeki bozulmalar hafiften önemliye değişir. Bunu dil bozukluğu ve görsel uzamsal becerilerde bozulma izlemektedir. AH orta ve geç evresinde ise; apati, sosyal geri çekilme, disinhibisyon, ajitasyon, psikoz ve gezinme gibi nöropsikiyatrik semptomlar dikkat çekmektedir. Ekstrapiramidal motor belirtilerde bozukluklar ve parkinson hastalığına özgü semptomlar hastalığın geç döneminde kendini göstermektedir.

Bunu takip eden ilkel refleksler, inkontinans ve tam bakım bağıllığı kendini göstermektedir [24],[42],[43],[79].

Bellek sınıflandırmaları farklılık göstermektedir. Bu sınıflandırmalardan biride kısa süreli bellek (çalışma belleği – Working memory, WM olarak da adlandırılmaktadır) ve uzun süreli bellek (referans bellek olarak da adlandırılmaktadır) olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu bellek türleri arasında ki temel fark, bilgi depolama süresiyle ilgilidir: bilgi, sözde geçici olarak WM'de depolanırken, uzun süreli bellekte kalıcı bir şekilde birleştirilmiş olarak depolandığı kabul edilir [81].

Hem kısa hem de uzun süreli hafızanın sağlıklı yaşlanma ile azalır [82]. Çok sayıda nörodejeneratif ve psikiyatrik bozukluk, çalışma belleği ve bilişsel esneklik gibi yürütücü işlevlerdeki eksikliklerle ilişkilidir [83]. Hipokampal CA1 alanındaki hücreler ile yapılan bir çalışmada; çalışan ve referans bellek arasındaki yeniden yürütme türündeki farklılıklar, bu bellek süreçlerini farklı sistem düzeyinde mekanizmalar aracılığıyla destekleyebilecekleri belirtilmiştir [84]. Hayvanların uzamsal referans bellek temsillerini güncellemesi ve aynı zamanda uzamsal çalışma belleğini kullanması gereken bir görev sırasında yer bildiren hücrelerin aktivitesinin nasıl yeniden düzenlendiğini inceleyen bir çalışmada, uzamsal referans veya çalışma belleği gerektiren iki görev varyantı sırasında nöronal kodlama ile karşılaştırılmıştır. Uzun süreli bellek güncellemesine bağlı olan yer belirten konum hücrelerinin birkaç ayırt edici ateşleme özelliği belirlenmiştir [84].

Çalışan bellek, “bilinçli düşüncenin eskiz defteri” olarak da adlandırılmıştır. Düşünceleri tuttuğumuz ve manipüle ettiğimiz platformdur ve hedefe yönelik davranışın organizasyonu için temeldir [85]. Çalışma belleği, akıl yürütme, kavrama ve öğrenme gibi karmaşık görevleri yerine getirirken bir şeyleri akılda tutmak için gerekli olduğu varsayılan sistem veya sistemleri ifade eder [86]. Çalışma belleği değerlendirme tercih edilen davranış deneylerinin literatüre kazandırılmasında Olton'un katkısı tartışılmazdır. Olton çalışmaları, farelerin her bir kolun yemlendiği çok kollu bir radyal labirentteki performansları esasına dayanıyordu. Uzamsal bilgi için işleyen belleğin bir ölçüsü olarak RKL testini kullanıyordu [87],[88]. Günde birkaç deneme ve ödülü en üst düzeye çıkarmak için o gün hangi kolun ziyaret edildiğini hatırlaması esasına dayanıyordu. Olton'un konsepti, hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda günümüzde de kullanılmaya devam etmektedir [86],[87].

Çalışma ve referans hafızası genellikle siyah tabanlı radyal kol su labirent (8 kollu su labirent) davranış testi kullanılarak değerlendirilir. Bu test ön eğitim, yiyecek yoksunluğu gerektirir ve koku ipucu karışıklıklarına neden olabilir. Sekiz kollu radyal su labirentide alternatif deneyler arasındadır. Deneklerin kaçış platformlarını bulmak için ekstra labirent ipuçları kullanması gerekmektedir ve böylece çalışma ve referans belleği eş zamanlı olarak değerlendirmeye imkan vermektedir. Deneklerin her test günü boyunca daha önce kaçmak için kullandıkları kollardan (çalışma hafızası) ve asla kaçış platformları içermeyen sabit kollardan (referans hafızası) kaçınmaları gerekir. Bir test oturumu sırasında halihazırda kaçış için kullanılmış kollara yeniden girişler (ve böylece kaçış platformu kaldırılmıştır) ve referans bellek kollarına yeniden girişler, çalışma belleği eksikliklerinin göstergesidir. Alternatif olarak, referans hafıza kollarına yapılan ilk girişler, referans hafıza eksikliklerinin göstergesidir. Bu test hem çalışma hem de referans hafızasında önemli eksiklikleri göstermek için kullanılabilir. Bu protokol, diğer birçok öğrenme bozukluğu modelini incelemek için kolayca değiştirilebilir [89].

1.2.6. Deneysel Alzheimer Hastalığı Modeli

Alzheimer hastalığı araştırmalarında en çok tercih edilen yöntem transgenik modeller olmasına karşın, translasyonel araştırmalar için daha faydalı olabilecek alternatif modeller aranmaktadır [90]. Alzheimer İlaç Araştırmaları Kuruluşu (AIAK), transgenik olmayan AH modellerinin yetersiz kullanıldığına dikkat çekmiştir. Son zamanlarda, diyabetojenik bir toksin olan streptozotosinin (STZ) intraserebroventriküler enjeksiyonunu (icv) kullanan model önemli ölçüde popülerlik kazanmaktadır [90]. Transgenik modeller ile icv STZ modeli arasındaki temel kavramsal fark, beyin glukoz hipometabolizmasının Alzheimer nöropatolojisine yol açan nedensellik zincirindeki yeri ile ilgilidir [90].

Streptozotosin, 20. yy'ın yaklaşık ortalarında *Streptomyces achromogenes* bakterisinden izole edilmiştir. Başlangıçta bir antibiyotik, daha sonra bir antikanser ajanı olarak geliştirilmiştir [90]. İntravenöz ve intraperitoneal doza bağlı kullanımları deneysel diyabet modeli oluşturmak için tercih edilmiştir [90]. Moleküler yapısında heksoz bulundurması sebebi ile STZ daha az lipofiliktir ve hücrel membranları geçmek için glukoz taşıyıcısı 2 (GLUT2)'yi kullanır. STZ, GLUT2 taşıyıcısı olmayan kan beyin bariyerini doğrudan geçemez ve beyni doğrudan etkilemez [90].

Deneyisel araştırmalar için hayvanlara ilaçlar veya seçici toksik maddeler beynin ventriküler sistemine uygulanmaktadır. Enjeksiyonlar çoğunlukla lateral ventriküllere yapılır [90],[91]. Beyin omurilik sıvısına (BOS) enjekte edilen ilaç kitlesel akış yoluyla hızla kana geçtiği ancak difüzyon sınırlamaları nedeniyle beyin dokusuna zayıf bir şekilde nüfuz ettiği belirtilirken, birçok araştırmacı icv uygulamanın, uygulanan maddenin kan beyin bariyerini (KBB) ve beyne dağılımını sınırlayan diğer mekanizmaları atladığı için yüksek konsantrasyonlarda merkezi bölmeye girmesine izin verdiğini varsaymaktadır [90].

Bir veya iki doz icv STZ enjeksiyonuna maruz bırakılan sıçanlarda beyin metabolik ve davranış bozukluklarının Alzheimer benzeri indeksinin geliştirilmesinde dinamik bir süreç olarak kabul edilmektedir. İcv STZ uygulamasının beyin işlevi ve davranışı üzerindeki etkileri birkaç hafta gibi nispeten kısa bir süre içinde takip edilebilir. Kortikal kan damarlarının duvarında Aβ birikintilerinin ortaya çıkması için icv STZ uygulamasının daha uzun takibi gerektiğini raporlamışlardır [90],[92]. İcv STZ enjeksiyonu ile tetiklenen AH modelinde; bilişsel ve nörokimyasal değişikliklerin, üç aşamadan oluşan zamana bağlı bir model izlediği belirtilmektedir. İlk 1 ay içinde akut yanıt gelişir, 1-3. ayda normal değerlere dönme eğilimi oluşur ve son olarak 6-9. ayda yavaş ve ilerleyici bir şiddetlenme ile dekompanasyon fazı oluşur. Lateral ventriküllere (tek veya çift taraflı) STZ enjeksiyonu ile başlatılan patolojinin bu geçici evrimi, transgenik fare AH modellerinde mevcut olmayan gerçek bir yaşamdaki duruma benziyor gibi görünmektedir [90], [93].

İntraserebroventriküler STZ'yi takip eden metabolik bozuklukların, enjeksiyon bölgesinden uzak yerler de dahil olmak üzere, beynin geniş alanlarını kapsadığına ve zamanla arttığına dair gözlemler uyumludur. Örneğin, yetişkin sıçanların lateral ventriküllerine günde iki kez STZ enjeksiyonu, frontoparietal kortekste 3 hafta sonra tespit edilen nöronal golgi aparatında önemli bir genişlemeye neden olduğu gözlenmiştir [90], [94].

Bilateral icv STZ enjeksiyonundan (3 mg/kg) beş hafta sonra [95] beyin ağırlığında bir azalma, bilişsel düşüş, hipokampal Aβ'de (1-42)  nemli bir artış tespit edilmiştir. Aynı zamanda hem hipokampal hem de kortikal hiperfosforile tau düzeylerinde artış, beyin dokusu oksidatif stres belirtileri [96] ve kaspaz aracılı apoptotik hücre ölümüne neden olabilen beyin mitokondriyal anormallikler rapor edilmiştir [97], [98]. Bunun yanı sıra

glial aktivasyonun, icv STZ'yi takiben TNF- α ve serbest radikal oluşumu, apoptoz ve sinaptik nörotoksiteden daha önce meydana geldiği bildirilmiştir. İcv STZ'den sonra sıçanlarda, 1 saat ile 15 gün arasında değişen farklı zaman dilimleriyle farklı tipte davranışsal ve nörodejeneratif tepkiler gözlemlenmiştir [90],[99].

Yüksek dozlar (1 mg/kg) septum ve korpus kallozumda inflamasyonla ilişkili ve lokal oksidatif stresin neden olabileceği şiddetli ve akut nörodejeneratif lezyonlara neden olurken, daha düşük doz daha düşük şiddetli ancak daha kronik ve yaygın etkilere yol açtığı belirtilmiştir [90].

Özetle, sıçanın lateral ventriküllerine tek veya çift taraflı STZ enjeksiyonunun, insan Alzheimer hastalığını andıran kronik metabolik, nöropatolojik ve davranışsal bozukluklar ürettiğine şüphe yoktur, ancak bu fenomen için kabul edilebilir mekanik açıklama eksiktir. İcv STZ enjeksiyonları tarafından uyarılan model hastalığın gelişiminde rol oynayan çok sayıda etkileşimli süreç arasındaki nedenselliğin anlaşılması, bunun insan sporadik Alzheimer hastalığı ile yakınsamasının ve transllasyonel araştırmalarında olası yararlılığının değerlendirilmesi için gereklidir [90].

1.2.7. Alzheimer Hastalığı Modelinde Öğrenme ve Bellek ile ilgili Deneysel Testler

İnsanlarda, belleğe genellikle sözlü veya yazılı dil yoluyla erişilirken, hayvanlarda bilişsel işlevlere birçok spesifik, deneysel bellek ve öğrenme modelinde farklı türde davranışlar yoluyla erişilmesi gerekir. Bunlar arasında, yeni nesne tanıma testi, yeni ve tanıdık nesnelerin keşif sürelerindeki farklılıklar ile değerlendirilebilir. Uygulaması bir araştırma alanıyla sınırlı değildir ve hafıza ve öğrenme, yeniliği tercih etme, tanıma sürecinde farklı beyin bölgelerinin etkisi ve hatta farklı ilaçlar ve etkilerinin çalışılması gibi çeşitli konuların çalışılabilmesini sağlamaktadır [100].

Hipokampal bağımlı uzaysal ve nesne belleğini değerlendirmek için en yaygın kullanılan testler arasında Morris su labirenti (MSL), radyal kol labirenti (RKL) ve nesne tanıma (NT) ve nesne yerleştirme (NY, nesne konumu olarak da bilinir) testleri yer almaktadır. MSL ve RKL davranış ve öğrenme testlerinde hayvanlar, sudan kaçmak veya bir yiyecek veya su ödülü bulmak için yuvarlak veya tekerlek şeklindeki bir labirenti geçmek için ekstra labirent ipuçlarını kullanırlar. Bu görevlerdeki bellek, tipik olarak birden fazla gün boyunca ölçülür, bu da denek içi ve denekler arası performansın zaman içinde

değerlendirilmesini sağlar. Hem MSL hem de RKL, performansı zorlamak için açık motivasyonel uyaranları içerirken, nesne tanıma ve nesne yerleştirme görevleri, hayvanın doğal yenilik eğilimine dayanır. Yani, fareler ve sıçanlar, yeni bir nesneyi veya yeni bir konumdaki tanıdık bir nesneyi, tanıdık bir konumdaki daha önce araştırılmış bir nesneden daha fazla araştırarak daha fazla zaman harcarlar. Ayrıca, nesne görevlerinin öğrenilme hızı, bellek oluşumunun evreleriyle (edinme, pekiştirme ve tutma dahil) ilişkilendirilmesine olanak tanır [101]. Labirentler, sıçan ve fare gibi kemirgen modellerinde deneysel bellek süreçlerini araştırmak için davranışsal sinirbilimde yaygın olarak kullanılmaktadır. Uzamsal çalışma belleği, spontan dönüşümlü T-labirent testi ile değerlendirilebilir. Test sırasında, denemeler arasında seçimleri başarılı bir şekilde değiştirmek için, bir hayvanın önceki denemede hangi kolun ziyaret edildiğini hatırlaması gerekir, bu da spontan T-labirent değişimini uzaysal çalışma belleği için optimal bir test haline getirir [102].

Aktif kaçınma testlerinin aksine, pasif kaçınma testlerinde (PST) genellikle açık bir koşullu uyaran kullanmaz. Bunun yerine, eğitim bağımlı koşullu uyaran yolu tercih edilir. Eğitim bağlamındaki veya dahili uyaranlardaki, örneğin test süresindeki değişiklikler, akılda tutma performansını etkileyecektir [103]. PST’de, hayvan, normalde parlak bir şekilde aydınlatılan pasif kaçınma sisteminin karanlık bir bölmesi gibi, caydırıcı olayla ilişkili veya bu durumun öngörücüsü olan test alanına maruz kalmaktan kaçınmak için bir motor tepkisini bastırmayı öğrenir. Davranışsal tepkilerin analiz edildiği bir çatışma durumu oluşturulur. Analizler kaçınma davranışının, öğrenmenin farklı süreçleri içerdiğini göstermektedir. Pasif kaçınmanın bilişsel yorumu, bu paradigmanın hipokampusu içeren yer öğrenimine dayandığını öne sürer [103].

1.2.8. Alzheimer Hastalığı ile İlişkili Bileşikler

1.2.8.1. Amiloid beta peptid 1 – 42

Amiloidler, nörodejeneratif hastalıklarda rol oynayan protein grubudur. A β monomerleri amiloid fibril oluşumunda yer alan en küçük birimdir. A β , fibriller kümeleri, AH’a sahip bireylerin beyinlerinde gözlenen senil plakların temel bileşeni A β (1-42)’dir [104], [105]. Hücre içi A β birikimi, hastalıkta erken bir olay gibi görünmektedir ve hastalık ilerledikçe hücre dışı birikintiler için bir kaynak olabilir. A β , hücreler içinde üretilebilir veya reseptör bağlanması ve müteakip içselleştirme yoluyla hücre dışı kaynaklardan alınabilir. Bunlar,

endozomlar, multivesiküler cisimler, lizozomlar, mitokondri, endoplazmik retikulum (ER), trans-golgi ağı ve sitozol içinde birikime yol açabilir.

Amiloidler β , α ve γ sekretazlar olarak adlandırılan enzim grupları veya enzim kompleksleri tarafından APP'nin sıralı bölünmesiyle elde edilen APP endoproteolizi ile üretilir. Bir parçalayıcı ve metaloproteaz alanı (ADAM) ailesine ait olan, α -sekretaz aktivitesine sahip üç enzim tanımlanmıştır. Bunlar tümör nekroz faktörü dönüştürücü enzim olarak da bilinen ADAM9, ADAM10 ve ADAM17 enzimleridir [106],[107]. Nöronlarda A β birikimi, bir dizi hücresel özellik üzerinde tahribata yol açar ve transgenik fare çalışmalarından elde edilen kanıtlar, bunun sinaptik aktiviteyi bozabileceğini, proteazom disfonksiyonuna yol açabileceğini, kalsiyum dishomeostazına neden olabileceğini ve hatta tau'nun hiperfosforilasyonunu kolaylaştırabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, A β 'nin hangi katılım durumunun intranöronal olarak baskın olduğu, hangi durumun sinaptik plastisiteye, öğrenme, hafıza ve diğer hücresel işlevler üzerinde en güçlü etkileri uyguladığı gibi birçok önemli soru ele alınmaya devam edilmektedir. Daha genç bireylerden alınan hücrelerin, hücre içi A β 'nin potansiyel olumsuz etkilerini, belki de daha verimli temizleme veya şaperon aracılı bir süreç yoluyla daha iyi nötralize edip edemeyeceğini belirlemek çok önemli olacaktır. Dahası, gelecekteki diğer deneylerin, özellikle hangi durumun patoloji ve bilişsel gerileme ile en iyi ilişkili olduğu konusunda, intranöronal türlerin biyofiziksel montaj durumlarını belirlemesi gerekecektir [107].

1.2.8.2. Hiperfosforile tau proteini

Nörofibriler filamentler (NFT), hiperfosforile tau proteininin anormal filamentler olarak bilinir. Hiperfosforillenmiş tau proteini, AH'a sahip bireylerin beyinlerindeki NFT'lerin ana bileşenidir. Hiperfosforile tau proteininin farklı morfolojik aşamaları (ön-düğüm fazı (fibriller yumak fazı), olgun NFT fazı, ekstraselüler yumaklar veya hayalet NFT fazı) bulunmaktadır. Bu aşamalardan ilk fazda, fosforile tau proteinlerinin eşleştirilmiş sarmal filament (ESF) oluşumu gerçekleşmeden beyinde (somatodentritik bölmede) biriktiği bir tür NFT çeşitleridir. İkinci faz, tau proteininin filament agregasyonu ile çekirdeğin somanın çevre kısmına yer değiştirmesi ile karakterize edilen olgun NFT'lerin oluşumuyla karakterizedir. Son faz olan üçüncü fazda ise, proteolize kısmi dirençli büyük miktarda tau proteinlerinden dolayı gerçekleşen nöronal kayıplarla sonuçlanan, hücre dışı yumaklar veya hayalet NFT aşamasıdır. NFT, hiperfosforile tau proteininin anormal

filamentleridir. ESF oluşturmak için, birbirinin etrafında bükülebilir ve nöralperikaryal sitoplazma, aksonlar ve dendritlerde birikerek hücre iskeleti mikrotübülleri ve tübülünle ilişkili proteinlerin kayıplarına sebep olmaktadır [108],[109],[110].

1.2.8.3. Translocator protein

Translokator protein (TSPO), dış mitokondriyal membran proteinidir. Birçok beyin patolojisinde aktif mikrogliya'da belirgin şekilde up regüle edilen, nöroenflamasyonun bir biyobelirteci arasında sayılmaktadır. Enerji metabolizmasından ROT'nin modülasyonu yoluyla enflamatuvar yanıtların yayılmasına kadar mitokondriyal süreçlerde TSPO'nun merkezi bir rolünün vurgulandığı çalışmalar mevcuttur [111]. Mikroglial aktivasyonun en yaygın şekilde incelenen biyobelirteçlerinden biridir. TSPO'nun hücrel biyoenerjetik içinde kilit bir rolü olabileceği belirtilmiştir.

TSPO, eskiden periferik tip benzodiazepin reseptörü (PBR) olarak bilinmekteydi. Nörolojik bozukluklarda potansiyel bir terapötik hedef olarak kabul edilir. Önceki kanıtlar, TSPO ligandlarının yaralanma sırasında hücreleri koruyabildiğini ve merkezi sinir sistemi (MSS) hücrelerinde apoptozu önleyebildiğini göstermektedir [112].

2017 yılında yapılan bir çalışmada, APP'ri aşırı eksprese eden nöroblastoma hücrelerini kullanan bir AH modelinde, yeni sentezlenen imidazokinazolinon TSPO ligandları, H₂O₂ stimülasyonuna yanıt olarak ROT üretimini azaltarak oksidatif hasarı azaltabildiği raporlanmıştır. Sentezlenen bu ligandların ilave olarak stres koşulları altında mitokondriyal solunumu stabilize edebileceği ve sonuçta amiloid beta oluşum seviyelerini azaltabileceği vurgulanmıştır [111], [112].

1.2.8.4. Tiobarbütirik asit reaktif ürünleri

Tiobarbütirik asit reaktif ürünleri (TBARS) testi, aşırı serbest radikallerin neden olduğu hücre zarı hasarını karakterize eden biyolojik sıvılarda lipid peroksidasyonunu ve antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için kullanılabilen oksidatif stresin laboratuvar belirteçleridir [113], [114]. İnsan serumunda, düşük yoğunluklu lipoproteinlerde ve hücre lizatları gibi biyolojik dokularda TBARS gösterilmiştir. Numune uygun koşullarda işlenmiş ve muhafaza edilmişse, oksidatif stres seviyelerinin iyi bir göstergesi olarak kabul görmüştür. TBARS, başta malondialdehit (MDA) olmak üzere lipid peroksidasyon

ürünlerinin tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek TBARS adı verilen MDA-TBA2 eklentilerinin oluşumuna yol açmaktadır [113].

1.2.8.5. Malondialdehid

Malondialdehit (MDA), oksidatif stres kaynaklı lipid peroksidasyonunun belirteçlerinden biridir [115]. Serbest radikaller ve oksidanlar, fizyolojik sinyal yollarında yer alırlar, ancak pro-oksidan ve antioksidan sistemler arasında öncekinin lehine olan bir dengesizlik büyük biyomoleküler hasara yol açar. MDA, lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi için yararlı bir biyobelirteçtir. Bu nedenle MDA, farklı fizyolojik ve patolojik durumlar altında insan plazmasındaki lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi için değerli bir biyobelirteçtir [116]. Oksidatif stresin artmasıyla karakterize olan yaşlanma bağlantılı bozukluklarda lipid peroksidasyonu sonucu oluşan 4-hidroksinonenalin (HNE) ve MDA'nın önemli patojenik rolleri vardır [117].

1.2.8.6. IL-1 β ve IL-10

İnterlökin-1 beta (IL-1 β), proinflamatuvar sitokindir. Multipl skleroz (MS), travmatik beyin hasarı ve diyabetik retinopati, nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli merkezi sinir sistemi hastalıklarda immün yanıtları sürdürmekte ve nöroenflamasyona aracılık ederek hastalık şiddetine katkıda bulunmakla ilişkilendirilmiştir. IL-1 β 'nin otoimmün hastalık, nörodejenerasyon ve metabolik hastalıklar mevcut olduğunda başlıca kan miyeloid hücreleri, patojenik lenfositler, merkezi sinir sisteminde ki yerleşik mikroglia ve astrositler tarafından üretilen indüklenebilir bir sitokindir [118]. Diyabetik retinopati, MS ve AH'da IL-1 β 'nin paradoksal rolünü vurgulanmakla birlikte AH sırasında nörotoksik fonksiyonlarının hangi aşamada etkili olduğu net değildir. IL-1 β aracılı eylemler yoluyla immünomodülatör tedaviler için potansiyel yolları sağlamlaştıracaktır. MS, AH ve diyabetik retinopati'deki nöroenflamasyon alanlarındaki son araştırmalar, vasküler hasarı ve hücrel infiltrasyonu hedefleyen IL-1 β bloke etme stratejilerinin nöronal hasarı iyileştirmede ve belki de tersine çevirmede başarı sağlayabileceği fikrini desteklemektedir [118].

İnterlökin-10 (IL-10), enfeksiyon ve enflamasyon sırasında aşırı inflamatuvar yanıtları azaltan, doğal bağışıklığın up-regülasyonu ve doku onarım mekanizmalarını aktive ederek doku homeostazını korumak için temel işlevleri yerine getiren bağışıklık

baskılayıcı sitokindir [119]. Sitokinler, hedef hücrelerin biyolojik fonksiyonlarını otokrin veya parakrin mekanizmalarla düzenlemek için lökositler tarafından üretilen tartışmasız en önemli haberci moleküllerdendir. İlave olarak enfeksiyon veya enflamasyonun neden olduğu yaralanmalarda doku iyileşme sürecinde etkileri vardır [119],[120]. IL-10, lökositlerden gelen doğal ve adaptif bağışıklık yanıtlarını inhibe eder ve enflamasyonun neden olduğu potansiyel doku hasarını sınırladığı belirtilmiştir. Bu yüzden IL-10 ailesi sitokinleri, çeşitli enfeksiyonlara ve birçok otoimmün hastalığın gelişimine karşı konak savunması için gereklidir [120]. IL-10, dendritik hücreler (DH), makrofajlar, T hücreleri, doğal öldürücü (NK) hücreler ve B hücreleri dahil olmak üzere hemen hemen tüm lökosit alt grupları tarafından üretilmektedir [119],[120], [121].

IL-10 ailesi sitokinleri, doku bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur ve anti-enflamatuvar, anti-apoptotik ve doku yenileyici özellikleriyle doku homeostazını destekler. Bu aileye ait sitokinler hem enflamasyonu destekleyen ve enflamasyonu baskılayan özellikler hem de doku koruma ve rejenerasyon yetenekleri dahil olmak üzere çok çeşitli işlevlere sahiptir. Bu sitokinler, yalnızca çeşitli patojenlere karşı konakçı savunması için gerekli değildir, aynı zamanda konağı bir enflamatuvar yanıttan sonra bir bağışıklık hareketsiz durumuna ve doku homeostazına geri döndürmek için de vazgeçilmezdir. Bununla birlikte, IL-10 ailesi sitokinlerinin, özellikle IL-10 ve IL-22'nin işlevini ve düzenlenmesinin yanı sıra pek çok soruda cevapsız kalmaktadır. IL-10 ailesi sitokinlerinin önemli işlevleri göz önüne alındığında, bu yolların manipüle edilmesi, her bir hastalığın içeriğine bağlı olması muhtemel olsa da, bulaşıcı, enflamatuvar hastalıklar ve kanserler dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar için tedavi edici fayda sağlayabilir [119].

1.2.8.7. Voltaj Bağımlı Anyon Kanalları

Voltaj bağımlı anyon kanalları (VDAC), non-selektif anyon kanalları olarak bilinmektedir. VDAC1, VDAC2 ve VDAC3 olmak üzere 3 farklı izoformu bulunan integral membran proteinlerdir. VDAC1 epitel hücreleri, astrositler ve nöronların plazma membranında bulunmaktadır [3]. Ayrıca, mitokondri dış membranında (MDM)'da lokalize olan porinler olarak da bilinmektedir. VDAC1, çeşitli mitokondriyal işlevleri kontrol eden mitokondriyal ağ geçidi (gatekeeper) olarak görev yapmaktadır [4], [5]. Bazı çalışmalarda VDAC1, apoptozda yer alan "amiloidle düzenlenmiş" bir kanal olarak adlandırılmaktadır [122]. Mitokondriyal aracılı hücre ölümlerinde VDAC1'in rolü olduğu gösterilmiştir [123]. VDAC1, plazma (pl) membranının mikro yapılarından olan

kaveola ve kaveola benzeri alanlarda da lokalizedir. pl-VDAC1 hipokampal nöronlarda ve kortekste eksprese edilmektedir [10]. VDAC1, mitokondriyal bölme ile sitozol arasındaki metabolik geçişlerin ana düzenleyicisidir. VDAC1'in mitokondriye bağımlı apoptozun düzenlenmesindeki rolü; cyto c'nin salınmasına ve kaspaz kaskadının aktivasyonuna yol açtığı gösterilmiştir [124]. VDAC1, mitokondri iç zarından sitozole pro-apoptotik proteinlerden Cyto c, AIF, Smac/DIABLO salınmasına aracılık etmektedir [3]. AH'dan etkilenen beyinlerdeki aşırı VDAC1 ekspresyonu nöronal hücre ölümü ile ilişkilendirilmiştir [3]. VDAC1'in inhibe edilmesiyle APP işleminin azaldığı, sonrasında bu durumun VDAC1 ekspresyon seviyesinin A β üretimini modüle edebileceği savunulmuştur [3]. AH'sı transgenik farelerden alınan hipokampal özütlerde fosforile edilmiş VDAC1 seviyelerinde ciddi bir artış gözlenmiştir. AH olan post-mortem beyinlerde ve A β transgenik farelerin beyinlerinde A β birikintileri bulunan distrofik nöritlerde VDAC1 gösterilmiştir [3]. Batten hastalığı modelinde farelerin talamusundaki VDAC1 seviyelerindeki artışın nörodejenerasyonla, Wernicke-Korsakoff sendromunun hayvan modelindeki uzamsal öğrenme bilişsel eksikliklerinin talamik VDAC1 protein seviyelerindeki değişikliklerle ilişkili olduğu savunulmuştur [3]. Östradiol, VDAC1 fosforilasyonunu inhibe ederek kanalı inaktive ederken, tamoksifen gibi anti-östrojenler kanalı defosforile ederek kanalı açmayı tetikleyerek A β , tau ve ROT-RAT vs. ile indüklenen hücre ölümüne yol açabileceği vurgulanmıştır [3]. VDAC1'in A β ile doğrudan etkileşimi, kortikal dokuların protein lizatlarında gösterilmiştir. VDAC1'in aşırı ekspresyonunun nöronal hücre ölümü ile ilişkilendirildiği bir diğer çalışmada; metformin ile indüklenen A β agregatlarının özellikle korteks bölgesindeki nöronlarda birikmesinin ve bu bölgede pl-VDAC1 oligomerleri ile organize edildiği bulunmuştur. A β oligomerlerinin in-vitro insan nöroblastoma hücrelerinde VDAC1'in up-regülasyonunu indüklediğine dair raporlar, A β ve VDAC1 ekspresyon seviyeleri arasında doğrudan bir bağlantı olduğunu göstermektedir [3]. VDAC1 seviyeleri ile AH arasındaki başka bir bağlantı ise hastalıkta glikojen sentaz kinaz-3 (GSK3) protein aktivitesinin yükseldiğidir. Anormal APP işleminin yol açtığı ve böylece tau hiperfosforilasyonunu ve A β üretimini artırdığı belirtilmiştir. GSK3, AH patogenesinde rolü çok önemli olan bir tau kinazdır. APP proteinlerinden oluşan tau proteinlerinin fosforilasyonunda önemlidir. AH için VDAC1-tau hiperfosforilasyonu arasında rollerinin aydınlatılması gerekmektedir [3]. Alzheimer hastalık modeli nöronlarında mitokondriyal disfonksiyon ve ferroptozda VDAC1'in etki mekanizmasının araştırıldığı çalışmada: AH'a sahip hastaların beyinlerinde A β birikiminin nöronlarda mitokondriyal disfonksiyona ve ferroptozda yol

açtığı belirtilmiştir ve bu mekanizma henüz net değildir. AH farelerinin beyin dokusunda ve Aβ1-42 ile tedavi edilmiş PC12 hücrelerinde VDAC1'in ifadesi artar. Aβ1-42 tarafından indüklenen tüm etkilerin VDAC1'in inhibisyonu ile tersine çevrildiği belirtilmiştir [125]. Aβ birikimi beyinde nöronal disfonksiyona ve ölüme neden olabilir. Hayvan modellerinin ve hastaların patolojik özellikleri için benimsenen çeşitli stratejiler ve müdahalelere rağmen, nöronal hasarı hafifletmek, mevcut AH tedavisi için büyük bir zorluk olmaya devam ediyor [125],[126]. VDACs proteinlerine yoğunlaşmanın, kanser, solunum veya üreme sistemi hastalıkları, böbrek veya dermatolojik hastalıklar, bazı miyopatiler, frontotemporal demans ve nörodejeneratif bozukluklar gibi çok sayıda bozukluk ve hastalığa tanısal ve terapötik yaklaşımların geliştirilmesi için umut verici olduğu belirtilmiştir [4].

1.2.8.8. DIDS

4,4'-diizotiyosiyano-2,2'-disülfonik asit (DIDS), non-selektif anyon değiştiricilerini inhibe etmektedir [8]. VDAC1'in inhibisyonunu sağlayarak, hücre sağ kalımını artırmakta, ROT-RNT seviyelerini azaltır ve mitokondriyal disfonksiyonu azaltarak hem hücre ölümünü hem de mitokondriyal parçalanmayı azaltmaktadır [3],[5],[9]. VDAC1'in inhibisyonuyla, mitokondrilerden sitozol içerisine salınan cyto c ve apoptoz uyarıcı faktörün (AIF) azalması ile hücre ölümleri azalmıştır. Bu inhibisyonun, mitokondriyal hasarı önleyebileceği ve oksidatif nörotoksititeyi azaltabileceğini gösterilmiştir [9]. Mitokondriyal hedefleme alanı (MTD - Mitochondrial targeting domain), okta-arginin (R8) ile kaynaşmış MTD'nin (yani,R8:MTD) mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerini (mPTP) açarak nekrotik hücre ölümünü indüklediğini ve böylece hücre içi Ca^{2+} akışını sağladığını belirtilmiştir [127]. DIDS'nin R8'in kolaylaştırdığı içselleştirmeyi mi yoksa MTD'nin neden olduğu hücre yıkımını mı etkileyip etkilemediği açık değildir. DIDS'nin hem hücre zarının dışına hem de mitokondri gibi hücre altı organellerine etki ettiğini ve yalnızca küçük bir miktarda DIDS'nin zarın dışını etkileyebileceğini göstermektedir. DIDS iyi bilinen ve güçlü bir anyon kanalı inhibitörüdür. İlginç bir şekilde, hücre penetrasyonunu inhibe etme yeteneği, diğer fonksiyonel gruplarından, yani izotiyosiyanat gruplarından kaynaklanıyor gibi görünmektedir. DIDS'nin ayrıca izotiyosiyanat grupları aracılığıyla bir alkilleyici ajan olarak işlev gördüğü bildirildiğinden, etki ettiği mekanizma membran proteininin ve/veya guanidino'nun alkilasyonunu içerebilir. R8:MTD üzerinde arginin grubu. DIDS'nin izotiyosiyanat

gruplarının önleyici etkisinin daha fazla araştırılması, CPP'lerin etki ettiği ayrıntılı mekanizmanın aydınlatılmasına yardımcı olacaktır [128], [129].

1.2.8.9. Davunetide

Davunetide (NAP, DAV), aktiviteye bağlı nöroprotektif proteinden (ADNP) türetilen 8 amino asitli (Asn-Ala- Pro-Val-Ser-Ile-Pro-Gln) bir peptittir [10]. Bu peptit, amnestik hafif bilişsel bozukluğu olan hastalarda kısa süreli hafızayı güçlendirmiştir [11],[12]. İn vivo çalışmalarda DAV ($\mu\text{g/kg}$) nöroprotektif etki sergilemiştir. Apolipoprotein E (ApoE) eksikliği olan farelerde, yaşamın ilk 2 haftasında günlük subkutan davunetide enjeksiyonları, gelişimsel reflekslerin kazanılması ve kısa süreli hafıza kaybının önlenmesini sağlamıştır [13]. İn vitro çalışmalarda, DAV'ın oksidatif stres, glikoz eksikliği, A β , NMDA ve elektrik blokajı vs.ilişkili toksisiteye karşı nöronları koruduğu bildirilmiştir [130],[131],[13]. DAV'ın aktiviteleri kısmen siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşumu, nitrik oksit üretiminin kontrolü, TNF- α miktarını azaltmak gibi hücrelerin ömrü ile ilişkili farklı sinyal yolları ile ilişkilidir [132],[133],[13]. AH'da hayvan modellerinde öğrenmeyi ve hafızayı korumakla birlikte nöranal koruma sağlamıştır. Çok düşük konsantrasyonlarda dahi nöroprotektif etkisi olduğu bilinen DAV'ın AH tedavisi için umut verici olduğu belirtilmiştir [14]. DAV'ın, mikrotübüler ağ ile doğrudan etkileşimi floresans hücre görüntüleme çalışmaları ile kanıtlanmıştır. İn vitro çalışmalarda ise, tübülün birleşimini mikrotübüllere teşvik ederek ve fosforile olmayan tau'nun fosforile tau'ya oranını arttırdığını gösterilmiştir. Hayvan çalışmalarında, NAP'ın nörodejenerasyona karşı korumasının yanı sıra hem referans belleği hem de kısa süreli belleği iyileştirmektedir. DAV'ın herhangi bir bilişsel bozukluktan muzdarip olmayan hayvanlarda hafıza performansını artırabileceği de belirtilmiştir [11]. AH modelinde, davranış testlerinden bir saat önce günlük intranazal (in) olarak uygulanan DAV tedavisinden sonra, kısa süreli uzaysal bellekte iyileşme olduğu gösterilmiştir [8]. Farklı bir deneyde, DAV ile tedavi edilen hayvanlarda, uygulamadan iki gün sonra su labirent testinde iyileşme olduğu ve uzun vadeli koruyucu etkilerini hemen gösterdiği belirtilmiştir [15]. Yani DAV, AH'da hem hiperfosforile tau birikimini engellemektedir hem de dolaylı olarak A β birikimini engelleyerek nöroprotektif etki göstermektedir.

Aktiviteye bağlı nöroprotektif protein 1102 aminoasitten oluşmuştur aynı zamanda en küçük aktif nöroprotektif fragman olarak da bilinmektedir. ADNP ifadesi beyin oluşumu ve bilişsel işlevler için esastır ve AH, parkinson hastalığı ve şizofreni gibi çeşitli

nörodejeneratif hastalıklarda düzensiz olduğu belirtilmiştir. ADNP haployetersizlik farelerde, üçgen benzeri yapıların oluşumunda, kusurlu aksonal taşıma, ve tau hiperfosforilasyonunda artmalar gibi taupati benzeri özelliklerle birleştiğinde yaşa bağlı kognitif (bilişsel) özelliklerde azalmalara neden olmaktadır [134]. DAV, bir mikrotübül stabilize edici peptit ilaç olarak da bilinmektedir. AH'ında gözlenen taupati ve sonrasında frontotemporal demansa katılmasıyla birlikte tauopatiyi azaltan ve nöroproteksiyon sağlayan yeni DAV türevlerinin klinik için önemli olabileceği belirtilmiştir [135].

1.2.9. Mevcut Tedavi Yaklaşımları

Galantamin, donepezil ve rivastigmin gibi kolinesteraz enzimi inhibitörleri ve memantin gibi NMDA antagonistleri hafızayı ve uyanıklığı geliştirir ancak AH'da ilerlemeyi durdurmaz. Çeşitli araştırmalar, diyet ve egzersiz gibi yaşam tarzı alışkanlıklarındaki değişikliğin, beyin sağlığını iyileştirebileceğini ve tıbbi müdahale olmaksızın AH'ı azaltabileceğini ve tüm AH hastaları için birinci basamak müdahale olarak kabul edildiğini göstermiştir. Son zamanlarda yapılan araştırmalar, AH'ın A β ve p-tau gibi patolojik özelliklerini hedeflemeye odaklanmışlardır. Hastalığı modifiye edici tedavi gibi gelecekteki tedaviler, A β yolunu hedefleyerek AH'nın ilerlemesini değiştirebilir ve AN-1792, solanezumab, bapineuzumab, semagacestat, avagacestat ve tarenflurbil gibi birçok ilaç klinik deneylere girmiştir, ancak etkinlik göstermede başarısız olmuştur. Son klinik aşamada olan aducanumab, gantenerumab, crenezumab, tideglusib, lityum ve diğerleri gibi A β ve tau patolojilerini hedef alan şaperonlar ve doğal bileşikler gibi hastalık modifiye edici terapötikler (HMT) halen araştırılmaktadır. Ayrıca, geleneksel Çin tıbbında kullanılan doğal ekstraktlar, çeşitli mekanizma yolları üzerinde hareket ederek AH tedavisinde büyük potansiyel göstermiştir. Sonuç olarak, AH tedavisinin başarısı, erken uygulanmasına ve biyobelirteç teşhisi kullanılarak hastalığın ilerlemesinin hasta tarafından izlenmesine bağlıdır. Tau patolojisini ve kombinasyon tedavisini hedefleyen gelecekteki tedaviler, AH patolojisinin ilerlemesini yavaşlatma potansiyeline sahip olabilir. AH'li hastaları ve hastalığı geliştirme riski taşıyanları tedavi etmek için güçlü, seçici ve etkili bir ilacın tasarlanması acilen gereklidir [136].

Alzheimer hastalığının tedavisi için ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından en son Leqembi (lecanemab-irmb) onayladı. Hafif kognitif bozukluk veya hastalığın hafif demans evresi olan ve A β patolojisinin varlığı doğrulanan hastalarda tedavi başlatıldı. Doza ve zamana bağlı olarak tedavili gruplarda A β plaklarında anlamlı azalmalar olduğu belirtildi.

Leqembi'nin AH'nın bir belirteci olan A β plaklarda azalma sağladığı belirtilmiştir. Leqembi'nin hafif kognitif bozukluk veya hastalığın hafif demans evresi olan hastalarda başlatılması gerektiği belirtilmiştir [137]. 18 aylık lecanemab uygulamasının erken AH'da amiloid belirteçlerini azalttığı belirtilmiştir. Erken AH'da lecanemab'ın etkinliğini ve güvenliğini belirlemek için fazla çalışmaya ihtiyaç vardır [138].



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. ARAŞTIRMA YÖNTEMİ

2.1.1. Hayvanlar

Çalışmada kullanılacak olan hayvanların temini Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden sağlandı. Laboratuvar ortamı 23 °C oda ısısında, 60± 5% nem ve 12:12 aydınlık-karanlık döngüsünde optimal değerlerde tutulan, besin ve su alımları serbest olan, 2-3 aylık ve 230±30 gr ağırlığında 30 adet Wistar cinsi erkek sıçanlar tercih edildi. Bu tez çalışması, Düzce Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı tarafından 12.03.2021 tarihinde gerçekleştirilen toplantıda alınan Karar No: 2021/03/02 olan etik onay doğrultusunda gerçekleştirildi.

2.2. ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

Deneye her grupta 5 adet sıçan olacak şekilde 30 adet sıçan rastgele 6 gruba bölündü. Ardından deneysel süreç ve uygulamalar doğrultusunda, isimlendirilmeler (etiketlenmesi), uygulanan madde, uygulama dozu, uygulama şekli ve uygulama süresi dikkate alınarak çalışma grupları dizayn edildi (Çizelge 2.1).

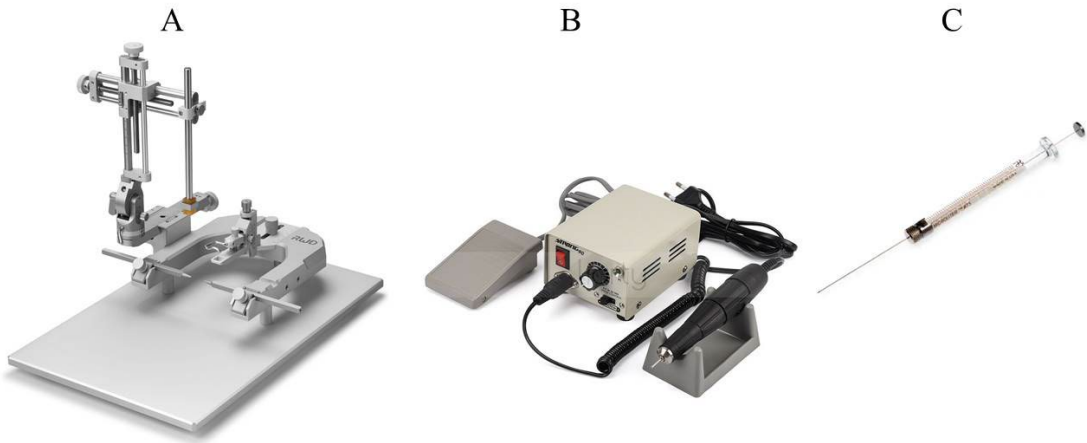
Çizelge 2.1. Çalışma grupları, maddeler ve dozları

Grup No	Grup Adı	Uygulanan Madde	Uygulama Dozu	Uygulama Şekli	Uygulama süresi (gün)	N
1	Kontrol (K)	Salin	1 ml/kg	İP	14	5
2	Sham (S)	-	1 ml/kg	İP	14	5
3	STZ (STZ)	STZ	3 mg/kg	İCV	1	5
4	STZ+DIDS	STZ+DIDS	3 mg/kg 5 mg/kg	İCV+İP	1+14	5
5	STZ+ DAV	STZ+DAV	3 mg/kg + 50 mg/kg	İCV+İP	1+14	5
6	STZ+DIDS+ DAV	STZ+DIDS+DAV	3 mg/kg + 5 mg/kg + 50 mg/kg	İCV+İP+İP	1+14	5

2.3. DENEYSEL AH MODELİ OLUŞTURMA PROSEDÜRÜ

Deneyisel model için kullanılacak olan STZ Düzce Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı tarafından sağlandı.

Girişimsel işlem yapılacak sıçanlar, 90 mg/kg ketamin hidroklorür (Keta-Control, Mefar İlaç Sanayi A.Ş., İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Vetaxyl, VET-AGRO Sp. z o.o., ul. Lublin, Polonia) ile intramüsküler (im) olarak anesteziye alındı. Anestezi işlemi sonrasında sıçanların kafası yatayla paralel olacak şekilde stereotaksik çerçeveye (RWD Life Science Co.,LTD, Guangdong, China) sabitlendi (Şekil 2.1A) [139]. Cihaza yerleştirilen sıçanların kafa derileri tıraş edildi ve batikon solüsyonu ile temizlendi. Ardından orta hatta sagittal, düz, yaklaşık 1.5 cm kadar bir kesi yapıldı. Enjeksiyonun yapılacağı koordinatlar dikkate alınarak kafatası kemiği üzerinde bilateral işaretleme yapılarak kemik mikro delici dril yardımı ile delikler açıldı [140]. Deliklerin açılmasında, kemik mikrodeleri sisteme takılan, uçlarında 0,3 mm çapında haraplayıcı bir topuzu bulunan dril (Strong90, Saeshin America, INC, Irvine, CA) kullanıldı (Şekil 2.1B)



Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan cihaz ve aletler

(A:Stereotaksik çerçeve, B; Drill, C: Hamilton mikroyektörü)

Çalışmamızda literatürde belirtildiği şekli ile STZ uygulaması yapıldı [139],[140],[141], [142],[143],[144],[145].

Özetle; salin çözeltisi içerisinde çözdürülmüş STZ bilateral enjeksiyonu için; Paxinos ve Watson atlasını referans alarak bregmadan 0,8 mm posteriora, sagittal süturdan 1,5 mm laterale ve beyin yüzeyinden 4.0 mm derinliğe olacak şekilde koordinatlar belirlendi.

Hamilton mikroyenjktörü (Hamilton™ 700 Microliter™ Syringes, Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, İsviçre) ile icv olarak uygulandı (Şekil 2.1C). STZ uygulaması öncesi metilen mavisi ile koordinatların doğruluğu test edildi. Hedef koordinatlara bilateral (her iki hemisfere (sağ/sol) olarak Hamilton mikroyenjktö (10 µl, 26G, Hamilton. ABD) aracılığıyla 0. günde tek doz olacak şekilde STZ (3mg/kg) enjeksiyonu yapıldı. Hamilton mikroyenjktörü ile hedefe ulaşıldıktan sonra 3 dk boyunca yavaşça enjeksiyon işlemi gerçekleştirildi. Mikroyenjktör geri çekilmeden önce uygulanan maddenin tamamen difüzyonu 3-5 dakika yerinde bırakıldı ve ardından yavaşça çıkarıldı. Daha sonra kesi bölgesi sterilize edildi. Kafatası üzerinde açılan delikler tıbbi macun-tıbbi çimento (steril diş çimentosu ve akrilik reçine) ile kapatılarak doğal görünüm kazandırıldı. Kesi bölgesi sütürlarla kapatılarak enfeksiyonu önlemek için batikon ile sterilize edildi. Uygulaması boyunca hayvanların göz kuruluğunu önlemek için iğnesi çıkarılmış enjektör ile her 30 dk bir serum fizyolojik damlatıldı. Hayvanlar kafeslerinde doğal şekilde uyandırılmaya bırakıldı. Sham grubu için aynı prosedür uygulandı ancak sadece salin enjekte edildi.



Şekil 2.2. STZ uygulama koordinatlarının temsili gösterimi

2.4. DAVRANIŞ TESTLERİ

Öğrenme ve hafıza oluşumunun tek kanıtı kazanılmış bilginin hatırlanıyor olmasıdır. Çalışmada aşağıdaki davranış testleri tercih edildi. Teste tabi tutulacak tüm sıçanlar testlerden en az bir saat önce testin yapılacağı odaya getirilip ortama adaptasyonu sağlandı. Tüm deney grupları davranış testleri süresince ad libitum olarak beslendi. Davranış testleri 08.00 - 13.00 saatleri arasında gerçekleştirildi.

2.4.1. Radyal Kollu Labirent

- 1- Bu test için kullanılan RKL eşit aralıklı şeffaf pleksiglas sekiz koldan oluşmaktadır. Bu kolların her biri uzunlukları 50 cm uzunluğunda, 10 cm genişliğindedirler ve 50 cm yüksekliğinde yan duvar ile çevrilidirler. Sekiz kolun birleştiği merkez ise 24 cm çapında sekizgendir.
- 2- 8 kolun ucuna ¼ oranında beyaz kesme şeker yemek kabı (çap 3mm, derinlik 1 cm) içerisine eklendi.
- 3- Her kola sırayla 1- 8 arası numara verilmiştir.
- 4- 8 koldan yalnızca 1., 2., 4., 5. ve 7. kollara ¼ beyaz şeker eklendi. Diğer 3., 6 .ve 8. kollaradaki yemek kablarına yem eklenmedi.
- 5- Deneyin yapıldığı oda sessiz ve aydınlık bir oda olup düzeneğin 4 duvarında farklı renk ve şekilde olan görsel ipuçları yerleştirildi.
- 6- Tüm testler boyunca bu çevre düzeni ve aydınlatma hiç değiştirilmedi.
- 7- Her hayvan testi bitirdiğinde tüm kollar ve besin kapları alkol ile temizlenmiştir.
- 8- 3 günlük bir ön alıştırma bölümü (pretraining) yapıldıktan sonra 7 gün boyunca günde 5'er dk olmak üzere 1 kez öğrenme bölümü (training) uygulandı.
- 9- Ardından 1 gün training bölümüne ara verildi ve sonra 1 gün öğrenme bölümü (training) 5 dk (1 kez) test uygulandı.
- 10- Sonrasında tüm grupların ağırlıkları ölçülerek doku örnekleri alındı ve sakrifikasyon aşamasına geçildi.

Her bir eğitim 5 dk süre boyunca 3 farklı tekrarlarla gerçekleşti. Hayvan her 8 kolu 5 dk dolmadan ziyaret ettiğinde 5 dk beklenmeden test sonlandırıldı. 5 dk içerisinde hayvan labirentte tüm kollara girmesine, besini tüketmesine izin verildi. Kollara girmiyorsa 5 dk'lık süreyi düzenek içerisinde geçirmesine izin verildi. RKL testi ile doğru seçim (DS) sayıları, yanlış seçim sayıları, toplam seçim sayıları tüm gruplarda düzenli olarak kaydedildi. Postoperatif değerlendirme bölümü; sıçanların her kola girişleri bir seçim olarak değerlendirildi. Yem olan her kola (1., 2., 4., 5. ve 7. kollara ilk girişleri doğru seçim (DS), yemsiz kollara girişleri (3., 6. ve 8. kol) yemli kollara 2. girişleri ve tekrarlı girişleri ikinci ve daha sonraki tekrar girişleri yanlış seçim (YS) olarak değerlendirildi. 5 dk boyunca sıçanın dört uzvunun tümünün girdiği her kol bir seçim olarak değerlendirildi. Önceden ziyaret edilen yemek içeren kola yeniden giriş, kısa süreli bellek (KSB) hatası olarak (çalışan bellek hataları (ÇBH)) değerlendirildi. Referans bellek hataları (RBH), yemsiz bir kola girme (uzun süreli bellek hataları (USB)) olarak kabul

edildi. Çalışan bellek hatalarının sayısı yem içeren ancak daha önce girilen bir kola giriş olarak kabul edilirdi. Referans bellek hataları hiç yemlenmemiş bir kola giriş olarak kabul edildi. Yiyecek ödülünü içeren kola girmek için gecikme süresi bir kronometre kullanılarak kaydedildi. Davranış deneyi sonrası tüm gruplar için doğru yanıt yüzdeleri aşağıdaki formüller hesaplandı.

$$\text{doğru yanıtın yüzdesi} = \frac{\text{doğru yanıtın sayısı}}{\text{deneme sayısı}} \times 100$$

Davranış testlerine başlamadan önce her gruptaki 5 sıçan aynı anda RKL merkezine yerleştirildi ve 15 dk olmak üzere 3 kez düzeneği keşfetmeleri sağlandı. Ölçümler; çalışma belleği hatalarının sayısını sayarak (yem içeren ancak daha önce girilen bir kola girme) ve yemsiz bir kola hayvan girişlerini sayarak referans bellek hataları sayılarak değerlendirildi.

Referans hafızası, tekrarlanan denemelerde sabit kalan bilgiler için uzun süreli bir hafıza olarak görülürken (yemlenmiş kolların pozisyonları için hafıza), çalışma hafızası ise hatırlanması gereken bilgilerin her deneme de değiştiği kısa süreli bir hafıza olarak kabul edildi [146],[147],[148].

2.5. DENEY PROSEDÜRLERİ

Deneyin -1. gününde her grupta 5 adet sıçan olacak şekilde sıçanların deney öncesi ağırlıkları tartılarak rastgele 6 gruba bölündü. Laboratuvar ön hazırlıklar, stereotaksik cihaz kontrolleri ve sterilizasyonu, cerrahi işlem esnasında gerekli olabilecek tüm malzeme, araç gereç kontrolü ve hazırlığı, tüm etiketlemeler sağlandı. İcv-STZ enjeksiyonu yapılacak koordinatların doğrulanması atlas aracılığıyla ve deney öncesi uygulama ile 3 kez kontrolleri yapıldı. Deneyin 20. ve 21.gününde biyokimyasal analizler için hazırlıklar yapıldı. Davranış testinden alınan veri hesaplamaları ve analize hazır datalara dönüştürüldü.

Kontrol Grubu: Bu gruba deneyin 0.günde herhangi bir girişim yapılmadı. Deneyin 2. günü gruptaki tüm hayvanların RKL düzeneğinin keşfi için 10 dk süre tanındı. Deneyin 3. ve 17. günleri dahil toplam 14 gün boyunca her gün ip salın uygulaması yapıldı. 3. – 17. günlerde davranış testleri uygulaması yapıldı. Davranış testleri süresince ip yol ile

salin uygulamasına devam edildi. 18. günde her hayvanın deney sonrası ağırlık ölçümleri yapıldı. Sonrasında ağırlıkları (kg) dikkate alınarak uygun dozlarda ketamin/ksilazin karışımı yapılarak anestezi altına alındı. Sonrasında kardiyak puncture yöntemi ile kanlar alındı ve servikal dislokasyonla ötenazi işlemi uygulandı. Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra beyinleri çıkarıldı ve bir kısmı histopatolojik değerlendirme için kasetler içerisine alınarak formol içerisine alındı. Diğer bir kısmı da immünohistokimya ve biyokimyasal analizler için -80°C de saklandı.

Sham Grubu: deneyin 0. gününde icv olarak sagittal süturdan yukarıda verilen koordinatlar dikkat edilerek drill yardımı ile bilateral girişimler yapıldı. Deneyin 2. günü gruptaki tüm hayvanların RKL düzeneğinin keşfi için 10 dk süre tanındı. Deneyin 3. ve 17. günleri dahil toplam 14 gün boyunca her gün çözücü uygulaması yapıldı. 3. – 17. günlerde davranış testleri uygulaması yapıldı. Davranış testleri süresince ip yol ile salin uygulamasına devam edildi. 18. günde her hayvanın deney sonrası ağırlık ölçümleri yapıldı. Sonrasında ağırlıkları (kg) dikkate alınarak uygun dozlarda ketamin/ksilazin karışımı yapılarak anestezi altına alındı. Sonrasında kardiyak puncture yöntemi ile kanlar alındı ve servikal dislokasyonla ötenazi işlemi uygulandı. Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra beyinleri çıkarıldı ve bir kısmı histopatolojik değerlendirme için kasetler içerisine alınarak formol içerisine alındı. Diğer bir kısmı da immünohistokimya ve biyokimyasal analizler için -80°C de saklandı.

STZ Grubu: (Standart deneysel AH modeli) bu gruba deneysel AH modeli oluşturmak için deneyin 0.gününde icv olarak sagittal süturdan yukarıda verilen koordinatlar dikkat edilerek drill yardımı ile bilateral girişim sağlanarak lateral ventrikül içerisine 10 dk boyunca yavaş infüzyon ile STZ enjeksiyonu yapıldı. Deneyin 2. günü gruptaki tüm hayvanların RKL düzeneğinin keşfi için 10 dk süre tanındı. Deneyin 3. ve 17. günleri dahil toplam 14 gün boyunca her gün çözücü uygulaması yapıldı. 3. – 17. günlerde davranış testleri uygulaması yapıldı. Davranış testleri süresince ip yol ile salin uygulamasına devam edildi. 18. günde her hayvanın deney sonrası ağırlık ölçümleri yapıldı. Sonrasında ağırlıkları (kg) dikkate alınarak uygun dozlarda ketamin/ksilazin karışımı yapılarak anestezi altına alındı. Sonrasında kardiyak puncture yöntemi ile kanlar alındı ve servikal dislokasyonla ötenazi işlemi uygulandı. Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra beyinleri çıkarıldı ve bir kısmı histopatolojik değerlendirme için kasetler içerisine

alınarak formol içerisinde alındı. Diğer bir kısmı da immünohistokimya ve biyokimyasal analizler için -80°C de saklandı.

STZ+DIDS Grubu: standart deneysel AH modeli uygulaması yapıldı. Deneyin 2. günü gruptaki tüm hayvanların RKL düzeneğinin keşfi için 10 dk süre tanındı. Deneyin 3.gününden 17.gün sonuna kadar günlük ip yol ile 5 mg/kg olacak şekilde hayvanın ağırlığınca hesaplanan DIDS %0.9 NaCl'de çözülürülerek günlük ip yolla tek doz olarak uygulandı. 3. – 17. günlerde davranış testleri uygulaması yapıldı. Davranış testleri süresince ip yol ile DIDS uygulamasına devam edildi. 18. günde her hayvanın deney sonrası ağırlık ölçümleri yapıldı. Sonrasında ağırlıkları (kg) dikkate alınarak uygun dozlarda ketamin/ksilazin karışımı yapılarak anestezi altına alındı. Sonrasında kardiyak puncture yöntemi ile kanlar alındı ve servikal dislokasyonla ötenazi işlemi uygulandı. Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra beyinleri çıkarıldı ve bir kısmı histopatolojik değerlendirme için kasetler içerisinde alınarak formol içerisinde alındı. Diğer bir kısmı da immünohistokimya ve biyokimyasal analizler için -80°C de saklandı.

STZ+DAV Grubu: standart deneysel AH modeli uygulaması yapıldı. Deneyin 2. günü gruptaki tüm hayvanların RKL düzeneğinin keşfi için 10 dk süre tanındı. Deneyin 3.gününden 17.gün sonuna kadar günlük ip yol ile 50 mg/kg olacak şekilde hayvanın ağırlığınca hesaplanan DAV %0.9 NaCl'de çözülürldü ve günlük ip yolla tek doz olarak uygulandı. 3. – 17. günlerde davranış testleri uygulaması yapıldı. Davranış testleri süresince ip yol ile DAV uygulamasına devam edildi. 18. günde her hayvanın deney sonrası ağırlık ölçümleri yapıldı. Sonrasında ağırlıkları (kg) dikkate alınarak uygun dozlarda ketamin/ksilazin karışımı yapılarak anestezi altına alındı. Sonrasında kardiyak puncture yöntemi ile kanlar alındı ve servikal dislokasyonla ötenazi işlemi uygulandı. Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra beyinleri çıkarıldı ve bir kısmı histopatolojik değerlendirme için kasetler içerisinde alınarak formol içerisinde alındı. Diğer bir kısmı da immünohistokimya ve biyokimyasal analizler için -80°C de saklandı.

STZ+DIDS+DAV Grubu: standart deneysel AH modeli uygulaması yapıldı. Deneyin 2. günü gruptaki tüm hayvanların RKL düzeneğinin keşfi için 10 dk süre tanındı. Deneyin 3.gününden 17.gün sonuna kadar günlük ip yol ile %0.9'luk NaCl'de çözülürldü 5 mg/kg DIDS ve 50 mg/kg DAV uygulandı. 15. – 20.günler arasında davranış testleri deneylerine tabi tutuldu. Davranış testleri süresince ip yol ile DIDS + DAV uygulamasına devam

edildi. 18. günde her hayvanın deney sonrası ağırlık ölçümleri yapıldı. Sonrasında ağırlıkları (kg) dikkate alınarak uygun dozlarda ketamin/ksilazin karışımı yapılarak anestezi altına alındı. Sonrasında kardiyak puncture yöntemi ile kanlar alındı ve servikal dislokasyonla ötenazi işlemi uygulandı. Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra beyinleri çıkarıldı ve bir kısmı histopatolojik değerlendirme için kasetler içerisine alınarak formol içerisine alındı. Diğer bir kısmı da immünohistokimya ve biyokimyasal analizler için -80°C de saklandı.

2.6. ELİZA TEST YÖNTEMİ

Serum örneklerinde ve doku homojenatlarında VDAC-1, MAPt, TSPO, TBARS, TNF- α , CASP-3, A β 1-42, ve IL-10 parametrelerinin çalışılması amacıyla kanlar sarı kapaklı, jelli düz tüplere alınarak 4°C’de 10000 rpm/10 dakika santrifüj (marka model) edildi. Serum kısmı eppendorflara ayrılarak analiz yapılincaya kadar -80°C’de saklandı. Doku homojenatlarında çalışılacaksa hayvanlardan elde edilen doku örnekleri ikiye ayrılarak doku kaseti içerisine yerleştirildi ve formol eklenmiş tek örneklik kaplara alındı. Diğer kısmı ise eppendorflara ayrılarak analiz edilinceye kadar -80°C’de muhafaza edildi. Bu parametrelerin miktarları ticari olarak temin edilen ELIZA kitleri kullanılarak önerilen protokoller uygulanarak belirlendi.

2.6.1. Serum Parametrelerinin ELISA Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi

Toplanan serum örneklerinden VDAC-1, MAPt, TSPO, TBARS, TNF- α , CASP3, A β 1-42 ve IL-10 düzeylerini belirlemek için ticari kitler kullanıldı. Bunun için VDAC-1 (Cat. ELK7787), rat MAPt (Cat: *ELK6015*), rat TSPO (Cat: *ELK8904*), rat TBARS (Cat: *ELK8905*), rat TNF- α (Cat: *ELK1396*), rat CASP-3 (Cat: *ELK1528*) ve rat A β 1-42 (Cat: *ELK4897*) ELK marka elisa kitleri (ELK biotechnology CO., LTD, Hubei, ÇİN) kullanılırken ve IL-10 (SRB-T-83478) elisa kiti (Shanghai Sunred Biological Technology, China) tedarik edildi. Tüm parametreler kit prosedürüne uygun olarak eliza okuyucu cihazı (Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA) ile ölçüldü.

Kit bileşenleri:

- Ön kaplamalı mikroparka
- Standartlar (Liyofilize)

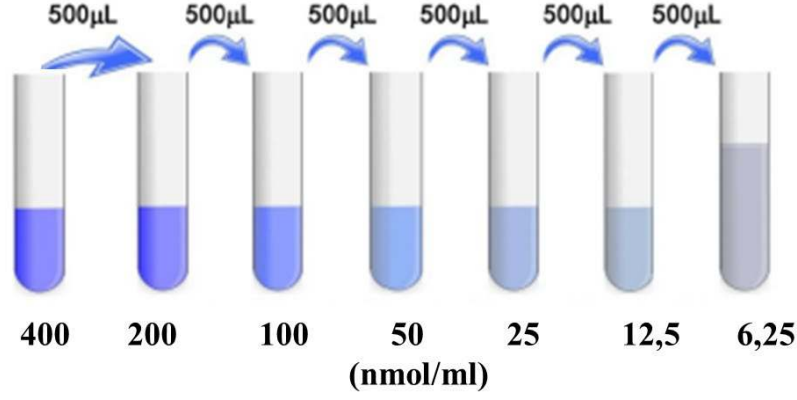
- Biotinlenmiş Konjugat (antikor) (100x)
- Biotinlenmiş konjugant (antikor) seyreltici
- Streptavidin-HRP (100x)
- HRP seyreltici
- Yıkama tamponu (25x)
- TMB yüzey çözücüsü
- Reaktif durdurucu
- Plate kaplama bantları

Reaktif Hazırlama:

1. Kullanmadan önce tüm kit bileşenlerini ve numuneler oda sıcaklığına (18-25°C) getirildi.
2. Yıkama tamponunu (25x) distile su veya distile suyla 1x yıkama tamponunda seyreltili.
3. Standart hazırlama

Standart çalışma solüsyonu standardı (1000×g)'de 1 dakika santrifüj edildi. Standardı 1,0 ml standart seyreltici tampon ile sulandırıldı, oda sıcaklığında yaklaşık 10 dakika bekletilerek köpürmemesi için hafifçe vortekslendi.

Standardın stok solüsyondaki konsantrasyon durumuna göre standart solüsyonlar seyreltili. Örneğin standart solüsyonu 400 nmol/ml olan bir standart için seyreltme işlemi şu şekilde yapıldı. 7 tane eppendorf tüp hazırlandı ve üzerlerine S1'den S7'ye kadar rakamlar yazıldı. S1 içerisine hazırlanan yukarıda anlatılan standart ekledi. Diğer eppendorfların her birine ise standart seyreltici solüsyondan 500 µl eklendi. Daha sonra mikropipetler S1'den 500 µl çekilerek S2 eppendorfunu eklendi ve iyice pipetaj ve vorteksleme işleminden sonra S2 eppendorfundan 500 µl alınıp S3 eppendorfunu eklendi ve bir önceki işlemler tekrarlandı. Bu işlem S7'ye kadar tüm eppendorlar için yapıldı. Bu işlemler sonucunda eppendorlardaki konsantrasyonlar 400 nmol/ml, . 200 nmol/ml, 100 nmol/ml, 50 nmol/ml, 25 nmol/ml, 12.5 nmol/ml, 6.25 nmol/ml olacak şekilde seyreltilmiş oldu. 0 nmol/ml olansa kör'dür. Standardı yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona dilüe ederken, her dilüsyon için pipet uçları değiştirildi.



Şekil 2.3. Standartların hazırlanmasının temsili gösterimi

4. Biotinlenmiş antikor ve streptavidin-HRP stok solüsyonu iyice vortekslendi. Sonrasında biyotinlenmiş antikor seyreltici ve HRP seyreltici ile 100 kat seyreltildi. Örneğin, 990 µL HRP seyrelticiye 10 µL Streptavidin-HRP eklendi.
5. Gerekli miktarda TMB substrat solüsyonu steril uçlarla çekilerek kullanıldı.

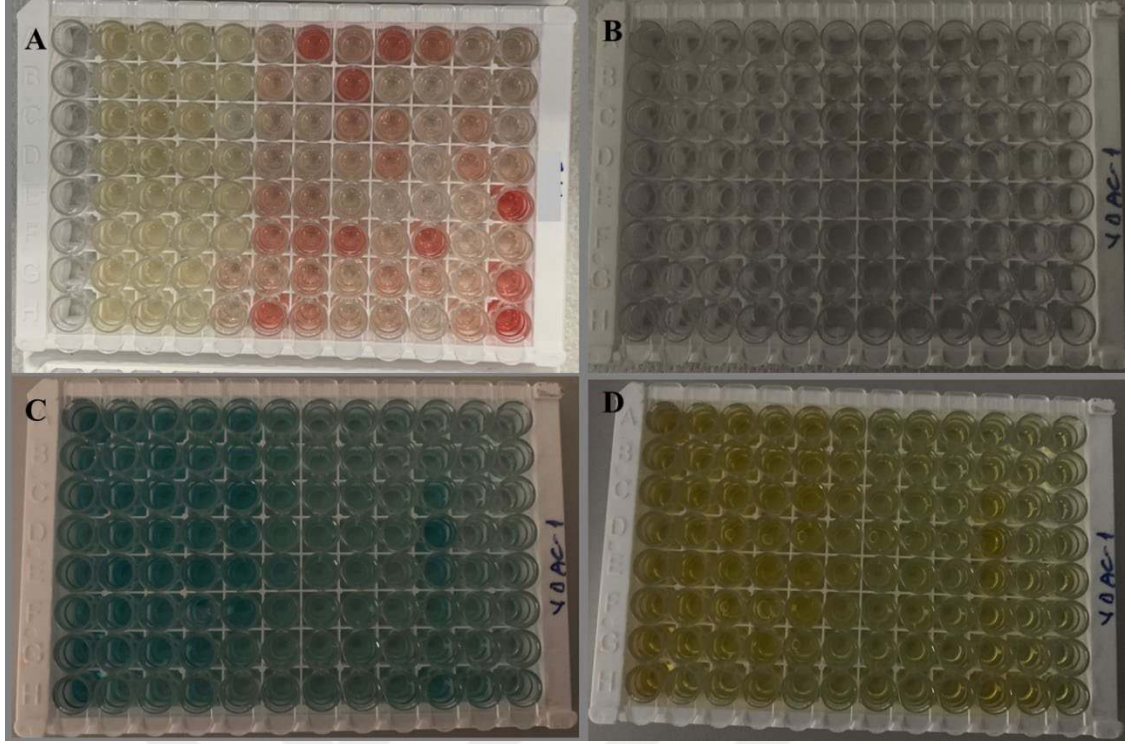
Numune Hazırlama

1. Kullanmadan önce tüm malzemeleri ve hazırlanan reaktifleri oda sıcaklığına getirildi. Flakonlarda köpük oluşturmamaya dikkat ederek tüm reaktifleri iyice vortekslendi.
2. Tüm testte kullanılan örnekler olası miktarı hesaplandı.
3. Deneyden önce konsantrasyonlar hazırlandı. Değerler standart eğrinin aralığında olması için en uygun örnek dilüsyonlarını belirlendi.

Uygulama prosedürü

1. Seyreltilmiş standart, kör ve örnek kuyucukları belirlendi. Standart için 7 kuyu ve kör için 1 boş kuyu hazırlandı. Her kuyucuğa 100 µL standart çalışma solüsyonu veya örnek eklendi (Şekil 3.4A). Plate, plate kapama bandı ile kapatılarak 37°C'de 80 dakika inkübasyona bırakıldı.
2. İnkübasyondan sonra kuyucukların sıvısını boşaltılır ve her kuyucuğa 200 µl yıkama solüsyonu (1x) eklendi ve 1 dakika beklendi. Bir dakika sonra sıvı boşaltıldı, plate iyice kuruması için kurutma kağıdı üzerine konuldu ve tüm kuyulardan kalan sıvı çıkarıldı. Bu işlem 3 kez tekrarlandı Son yıkama işleminden sonra plate temiz kurutma ağıtlarıyla iyice kurutuldu (Şekil 3.4B).

3. Yıkama işleminden sonra her kuyucuğa 100 µL biyotinlenmiş antikor (1x) eklendi. İyice karıştırıldı ve plate kapama bandı ile kapatılarak 37°C'de 50 dakika inkübasyona bırakıldı.
4. İnkübasyondan sonra 2. adımdaki yıkama prosedürü tekrarlandı (3 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi).
5. Yıkama işleminden sonra her bir kuyucuğa 100 µL streptavidin-HRP çalışma solüsyonu (1×) eklendi, ardından kuyucuklar plate kapama bandı ile kapatıldı ve 37°C'de 50 dk inkübasyona bırakıldı.
6. İnkübasyon işleminden sonra 2. adımdaki yıkama prosedürü tekrarlandı (5 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi)
7. Yıkama ve kurutma işleminden sonra her kuyucuğa 90 µL TMB substrat solüsyonu eklendi ve yeni bir plate kapama bandı ile kapatıldı. Bu işlem karanlık ortamda gerçekleştirildi. Daha sonra plate inkübasyonda 37°C'de 20 dakika inkübe edildi (30 dakikayı geçmeyecek şekilde). 20 dakika sonra TMB eklenen kuyucuklar maviye dönüştüğü gözlemlendi (Şekil 2.4C). Optik yoğunluk (OD) ölçümünden önce microplate reader'ı yaklaşık 15 dakika önceden ısıtıldı.
8. İnkübasyon işleminden sonra her kuyucuğa 50 µL stop (durdurma) reaktifi eklendi. Bu işlemden sonra kuyucuklar mavi renkten sarı renge dönüştüğü gözlemlendi (Şekil 2.4D).
9. Plakanın altındaki su damlasını ve parmak izleri silindi ve sıvının yüzeyinde kabarcık olmamasına dikkat edildi. Ardından mikroluka okuyucuda 450 nm dalga boyunda okutuldu.



Şekil 2.4. Platelerdeki renk değişimlerinin temsili gösterimi

2.6.2. Doku Homejenatlarında Parametrelerinin ELISA Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi

2.7.2.1. Doku Lizatı Hazırlama

Kullanılan solüsyonlar;

Lizis Buffer:

- 10 ml 0,1M Tris (pH 7.4), (Bio-Rad, #161-0719)
- 90 ml distile su, 1ml 100X Na-orthovanadate (Sigma, #S6508)
- 1 gr SDS (Sigma, #L4390)

Proteaz İnhibitör Kokteyli (PIK, 1X):

- 40 µl PİK 25X (2 ml dH₂O + 1 tablet PİK (Roche, #11697498001))
- 600 µl dH₂O

PBS:

- 100 ml dH₂O

- Phosphate Buffer Saline (PBS) Tablet (Invitrogen, #003002)
- Sonikatör: Bandelin UW2070 (Bandelin electronic GmbH & Co. KG)
- Soğutmalı Santrifüj: NÜVE 800R (+4°C)
- Mikroplaka Spektrofotometresi Biotek Epoch

Beyin dokusu bistüri yardımıyla sıvı forma gelene kadar parçalandıktan sonra tartıldı. Tartılan dokular 1,5ml'lik eppendorf tüplere aktarıldı ve buz üzerine alındı. Her 0,2 gram doku başına 600 µl Lizis buffer (PIK ekli) eklendi. Eppendorflardaki dokular buz üzerinde 60 dakika süresince her 10 dakikada bir vortekslendi. Bir saat sonra eppendorflardaki dokular 10 sn %70 power güç ile 9 siklus sonikatörden geçirildi. Sonraki aşamada +4°C'de 10 dk 15000 rpm santrifüj yapılarak süpernatantlar yeni eppendorflara alındı. Protein ölçümü yapılana kadar hücre lizatları -20 °C'de saklandı.

Protein Miktarının Belirlenmesi

- Kullanılan solüsyonlar ve cihazlar;
- Bovine Serum Albümin (BSA)(Sigma, #A9647)
- Bicinchoninic Acid Kit (BCA):
- Bicinchoninic Acid Solution (Sigma, #B9643-1L)
- Copper (II) sulfate solution (Sigma, #C2284-25mL)

Lizis Buffer:

- 10 ml 0,1M Tris (pH 7.4), (Bio-Rad, #161-0719)
- 90 ml distile su, 1ml 100X Na-orthovanadate (Sigma, #S6508)
- 1gr SDS (Sigma, #L4390)
- Spektrofotometre: µQuant BioTek Spectrophotometer

Beyin lizatlarının içerdiği protein miktarının belirlenmesi için BCA yöntemi kullanıldı. BCA yönteminde protein içeriği 1 mg/ml olan BSA kullanıldı. BSA'nın S0 (1000 µg/ml), S1 (500 µg/ml protein), S2 (250 µg/ml), S3 (125 µg/ml), S4 (62,5 µg/ml), S5 (31,3 µg/ml), S6 (15,6 µg/ml), S7 (7,8 µg/ml) olacak şekilde dilüsyonları yapılarak standart protein aralığı hazırlandı. Lizatlar, 1:50 oranında lizis buffer ile dilüe edildi ve vortekslendi. Kör olarak lizis buffer kullanıldı. BCA kit içeriğindeki Bicinchoninic Acid Solution ve Copper (II) Sulfate Solution'nun karışımı 98:2 oranında sağlanarak çalışma solüsyonu hazırlandı. Ardından 96 kuyucuklu plate standartlar, blank ve örnekler

kuyucuğa 25 µl olacak şekilde yüklendi. Üzerlerine her kuyucuğa 200 µl olacak şekilde çalışma solüsyonu eklendi. Her kuyucukda toplam hacim 225 µl oldu. Daha sonra 60°C'lik inkübatörde 15 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası spektrofotometrede 562 nm dalga boyunda okunması sağlandı. Standartlar ile karşılaştırılarak her bir numunenin protein miktarı tespit edildi. Tüm numunelerin protein miktarlarının eşit olması sağlanarak ELİSA analizlerinde kullanıma hazır hale getirildi.

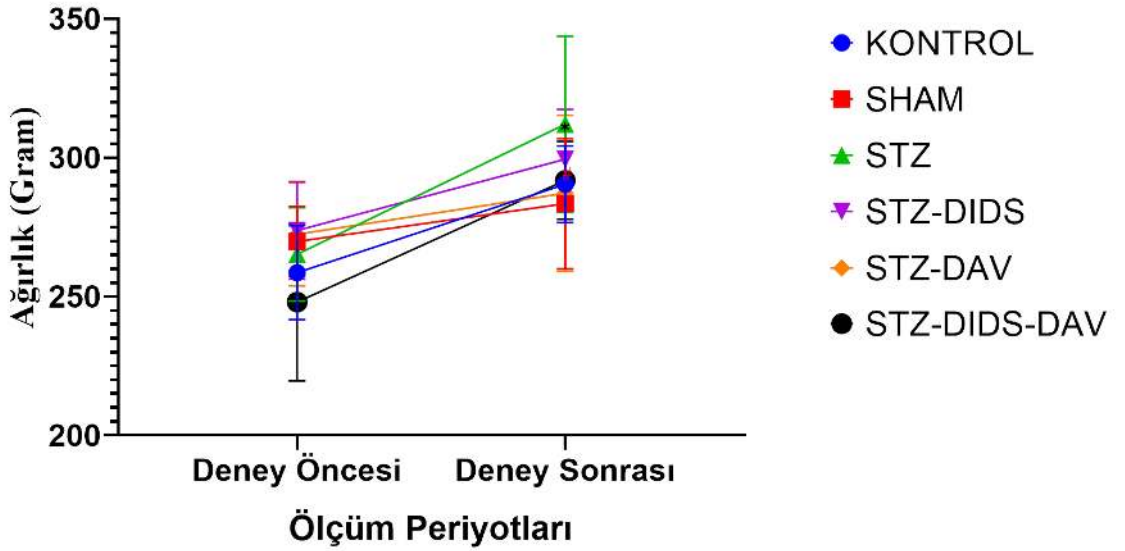
2.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

İstatistiksel değerlendirme SPSS 24.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler aritmetik ortalama±standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum), kategorik yapıdaki veriler için sayı ve yüzde olarak verildi. Sayısal değişkenler bakımından grupların karşılaştırılmasında parametrik test varsayımları sağlandığında Anova analizi, parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE DAV VE DIDS UYGULAMASININ SIÇAN AĞIRLIĞI ÜZERİNE ETKİSİ

Çalışmaya dâhil olan tüm hayvanların ağırlıkları deneyler başlamadan önce ölçüldü ve sonrasında gruplar rastgele oluşturuldu. Gruplar arası ağırlıklar 0. gün (deney öncesi) ve 21. günü (deney sonrası) kaydedildi. Gruplar kendi içinde deney öncesi ve deney sonrası ortalama ağırlık değişimleri bakımından karşılaştırıldıklarında gruplar içinde anlamlı fark saptandı ($p=0,0001$) (Şekil 3.1 ve Çizelge 3.1).



Şekil 3.1. Grupların ağırlık bakımından karşılaştırılması

(*STZ grubu deney öncesine göre anlamlı, #STZ-DIDS-DAV grubu deney öncesine göre anlamlı)

Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde STZ ve STZ-DIDS-DAV grubunun deney sonrası ortalama ağırlıkları deney öncesi ortalama ağırlıklarına göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu (p değerleri sırasıyla; $p=0,0053$ ve $p=0,0104$). Diğer grupların kendi içinde karşılaştırıldıklarında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Şekil 3.1 ve Çizelge 3.1).

Grupların deney öncesi ve deney sonrası ortalama ağırlıkları bakımından karşılaştırıldıklarında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,3430$).

Çizelge 3.1. Grupların ağırlık bakımından karşılaştırılması

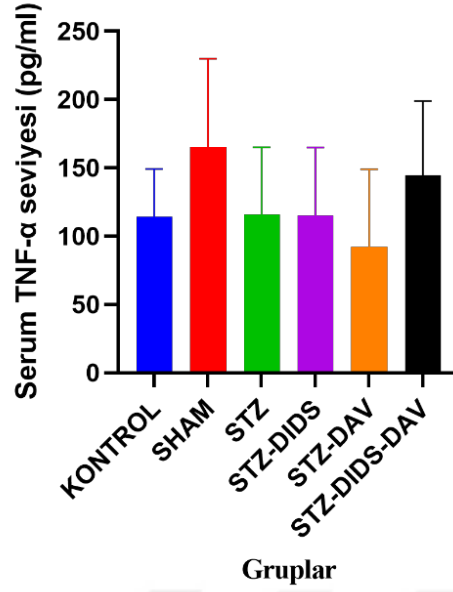
Grup	Zaman	Ortalama (g)	SD	Minimum (g)	Maksimum (g)	P
KONTROL	DÖ	258,6	16,9	238	279	0,1137
	DS	290,4	13,8	280	310	
SHAM	DÖ	269,8	12,6	257	289	0,8903
	DS	283,4	23,4	252	304	
STZ	DÖ	265,2	16,8	243	287	0,0053
	DS	312	31,7	264	336*	
STZ-DIDS	DÖ	273,8	17,5	247	291	0,3031
	DS	299,4	18,0	281	325	
STZ-DAV	DÖ	272,4	18,6	244	290	0,8460
	DS	287,2	28,0	248	317	
STZ-DIDS-DAV	DÖ	248	28,3	209	273	0,0104
	DS	291,8	14,0	272	305 [#]	

(*STZ grubu deney öncesine göre anlamlı, [#]STZ-DIDS-DAV grubu deney öncesine göre anlamlı)

3.2. SERUM BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI

3.2.1. Deneyel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum TNF- α Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama TNF- α seviyeleri bakımından karşılaştırıldıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,328$) (Şekil 3.2 ve Çizelge 3.2).



Şekil 3.2. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TNF- α seviyesi üzerine Etkisi

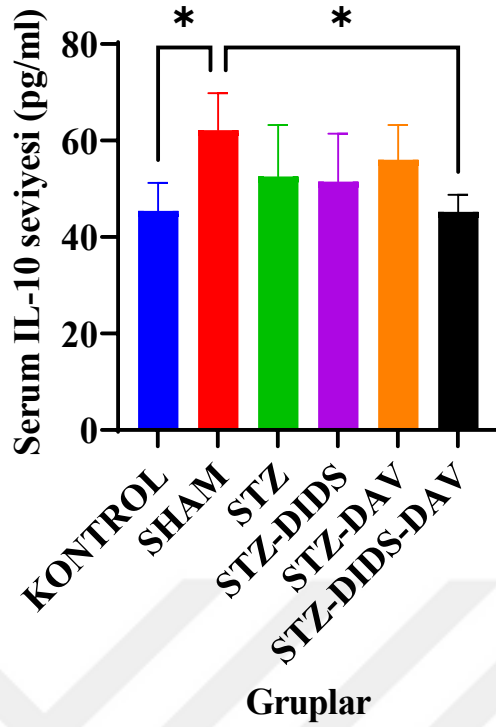
Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde SHAM ve STZ-DIDS-DAV gruplarının ortalama TNF- α seviyeleri KONTROL grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (p değerleri sırasıyla; $p > 0,999$ ve $p > 0,0999$).

Çizelge 3.2. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TNF- α seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (pg/ml)	SD	Minimum (pg/ml)	Maksimum (pg/ml)	P
TNF- α	KONTROL	72,71	35,14	72,71	154,8	0,328
	SHAM	93,93	64,81	93,93	238,1	
	STZ	52,88	49,17	52,88	174	
	STZ-DIDS	67,95	49,76	67,95	199,3	
	STZ-DAV	42,36	56,87	42,36	190,1	
	STZ-DIDS-DAV	52,09	54,08	52,09	187,2	

3.2.2. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum IL-10 Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama IL-10 seviyeleri bakımından karşılaştırıldıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p = 0,0184$) (Şekil 3.2 ve Çizelge 3.2).



Şekil 3.2. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum IL-10 seviyesi üzerine Etkisi (* $p < 0,05$)

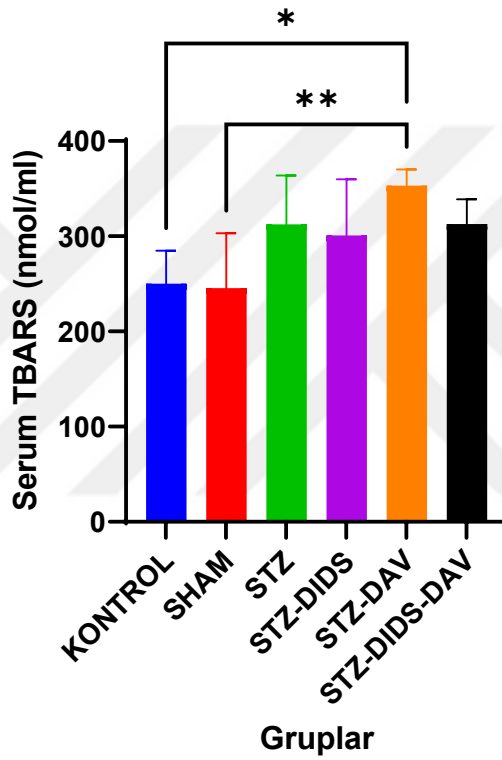
Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde, SHAM grubunun ortalama IL-10 seviyesi KONTROL ve STZ+DIDS+DAV gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu (p değerleri sırasıyla; $p = 0,0267$ ve $p = 0,0242$) (Şekil 3.2 ve Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum IL-10 seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (pg/ml)	SD	Minimum (pg/ml)	Maksimum (pg/ml)	P
IL-10	KONTROL	45,46	5,75	39,76	53,69	0,0184
	SHAM	62,19	7,63	54,20	73,03	
	STZ	52,55	10,67	41,89	65,17	
	STZ-DIDS	51,51	9,92	37,70	61,18	
	STZ-DAV	56,00	7,26	49,22	68,12	
	STZ-DIDS-DAV	45,24	3,51	41,03	48,26	

3.2.3. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum TBARS Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama TBARS seviyeleri bakımından karşılaştırıldıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p=0.0055$). Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde, STZ-DAV grubunun ortalama TBARS seviyesi KONTROL ve SHAM gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu (p değerleri sırasıyla; $p=0,0012$ ve $p=0,0086$). (Şekil 3.3 ve Çizelge 3.3)



Şekil 3.3. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TBARS seviyesi üzerine Etkisi

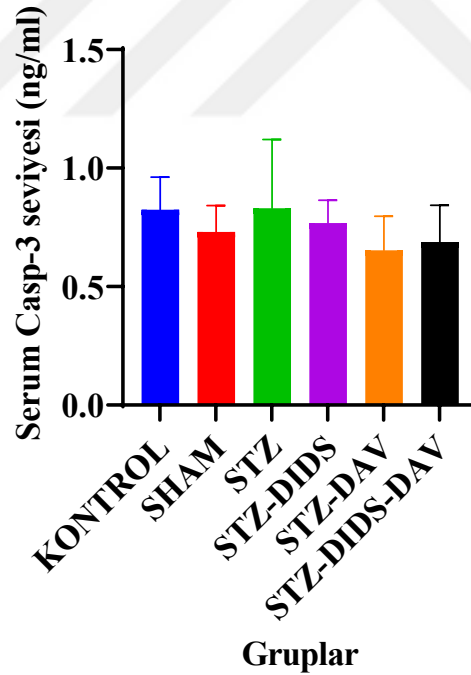
STZ, STZ+DIDS ve STZ+DIDS+DAV gruplarının ortalama TBARS seviyeleri KONT ve SHAM gruplarına göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Çizelge 3.3. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TBARS seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (nmol/ml)	SD	Minimum (nmol/ml)	Maksimum (nmol/ml)	P
TBARS	KONTROL	250,00	34,94	204,00	290,00	0,006
	SHAM	245,60	57,63	173,30	315,20	
	STZ	312,42	51,31	260,40	367,20	
	STZ-DIDS	353,02	17,20	329,10	374,00	
	STZ-DAV	300,88	58,79	225,60	368,50	
	STZ-DIDS-DAV	312,98	25,68	279,80	343,70	

3.2.4. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum Casp-3 Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar arası Casp-3 seviyeleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,485$) (Şekil 3.4 ve Çizelge 3.4).



Şekil 3.4. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum Casp-3 seviyesi üzerine Etkisi

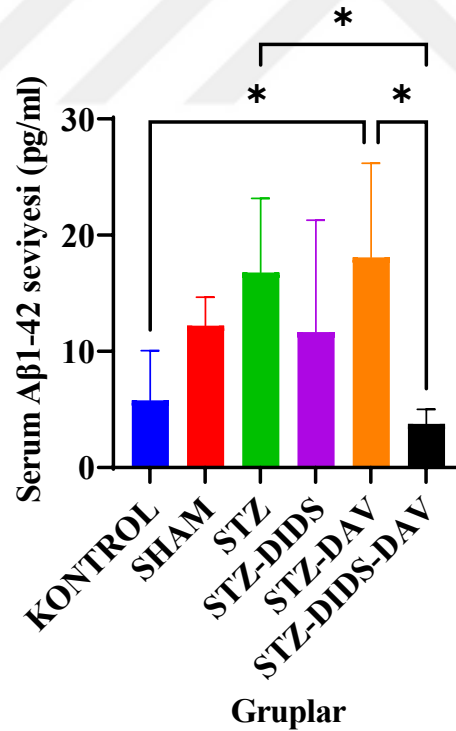
STZ+DAV ve STZ-DIDS-DAV gruplarının ortalama Casp-3 düzeyleri diğer gruplara göre daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,05$).

Çizelge 3.4. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum Caps-3 seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (ng/ml)	SD	Minimum (ng/ml)	Maksimum (ng/ml)	P
Casp-3	KONTROL	0,82	0,13	0,69	0,97	0,485
	SHAM	0,73	0,11	0,53	0,81	
	STZ	0,83	0,29	0,64	1,34	
	STZ-DIDS	0,65	0,14	0,49	0,84	
	STZ-DAV	0,76	0,60	0,60	0,84	
	STZ-DIDS-DAV	0,68	0,51	0,51	0,88	

3.2.5. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum A β 1-42 Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama A β 1-42 seviyeleri bakımından karşılaştırıldıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (p=0.0056) (Şekil 3.5 ve Çizelge 3.5).



Şekil 3.5. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum A β 1-42 seviyesi üzerine Etkisi (*p<0,05)

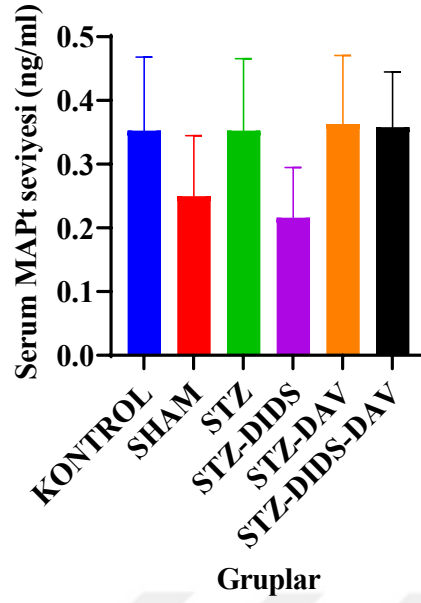
Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde, KONTROL grubunun ortalama A β 1-42 seviyesi STZ-DAV grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük bulundu ($p=0,0412$). STZ-DIDS-DAV grubunun ortalama A β 1-42 seviyesi hem STZ hem de STZ-DAV grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük bulundu (p değerleri sırasıyla; $p=0,0274$ ve $p=0,0125$). Diğer grupların ortalama A β 1-42 seviyesi STZ ve STZ-DAV grubuna göre daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Çizelge 3.5. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum A β 1-42 seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (pg/ml)	SD	Minimum (pg/ml)	Maksimum (pg/ml)	P
A β 1-42	KONTROL	5,789	4,275	1,065	11,96	0,0056
	SHAM	12,21	2,454	9,209	14,49	
	STZ	16,78	6,398	12,83	27,87	
	STZ-DIDS	11,67	9,618	2,425	27,01	
	STZ-DAV	18,1	8,086	11,13	30,01	
	STZ-DIDS-DAV	3,756	1,247	2,16	4,724	

3.2.6. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum MAPt Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama MAPt seviyeleri bakımından karşılaştırıldıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmedi ($p=0.1019$). (Şekil 3.6 ve Çizelge 3.6)



Şekil 3.6. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum MAPt seviyesi üzerine Etkisi

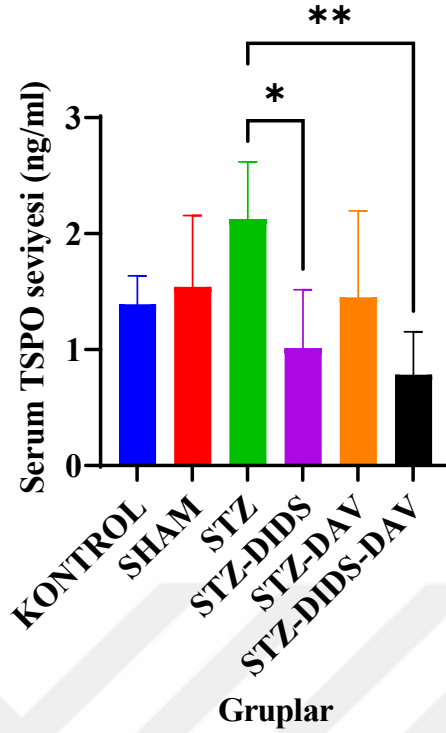
Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde, STZ-DIDS grubunun ortalama MAPt seviyesi diğer gruplara göre daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Çizelge 3.6. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum MAPt seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (ng/ml)	SD	Minimum (ng/ml)	Maksimum (ng/ml)	P
MAPt	KONTROL	0,35	0,11	0,25	0,52	0,1019
	SHAM	0,24	0,09	0,11	0,38	
	STZ	0,35	0,11	0,16	0,45	
	STZ-DIDS	0,36	0,10	0,24	0,51	
	STZ-DAV	0,21	0,7	0,14	0,30	
	STZ-DIDS-DAV	0,35	0,08	0,25	0,46	

3.2.7. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum TSPO Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama TSPO seviyeleri bakımından karşılaştırıldıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p=0.0091$) (Şekil 3.7 ve Çizelge 3.7).



Şekil 3.7. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TSPO seviyesi üzerine Etkisi (* $p<0,05$ ve ** $p<0,001$)

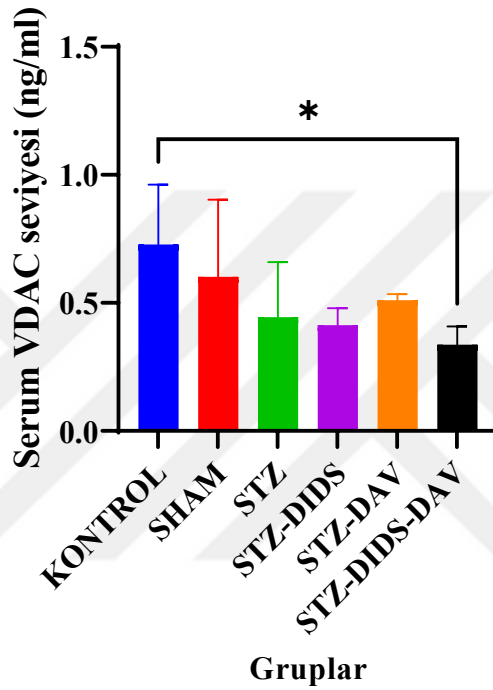
Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde, STZ-DIDS grubunun ortalama TSPO seviyesi STZ grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük bulundu ($p=0,0268$). Benzer şekilde STZ-DIDS-DAV grubunun ortalama TSPO seviyesi STZ grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük bulundu ($p=0,0051$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Çizelge 3.7. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TSPO seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (ng/ml)	SD	Minimum (ng/ml)	Maksimum (ng/ml)	P
TSPO	KONTROL	1,392	0,2442	1,078	1,725	0,0091
	SHAM	1,541	0,6147	1,033	2,55	
	STZ	2,125	0,4939	1,822	2,996	
	STZ-DIDS	1,015	0,5007	0,484	1,783	
	STZ-DAV	1,451	0,7451	0,7779	2,651	
	STZ-DIDS-DAV	0,783	0,3717	0,3419	1,343	

3.2.8. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Serum VDAC1 Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama VDAC1 düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,0319$). Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde STZ-DIDS-DAV grubunun ortalama VDAC1 düzeyinin KONTROL grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu belirlendi ($p=0,0267$) (Şekil 3.8 ve Çizelge 3.8)



Şekil 3.8. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum VDAC1 seviyesi üzerine Etkisi (* $p=0,0319$).

STZ-DIDS ve STZ-DAV gruplarının KONTROL grubuna göre daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

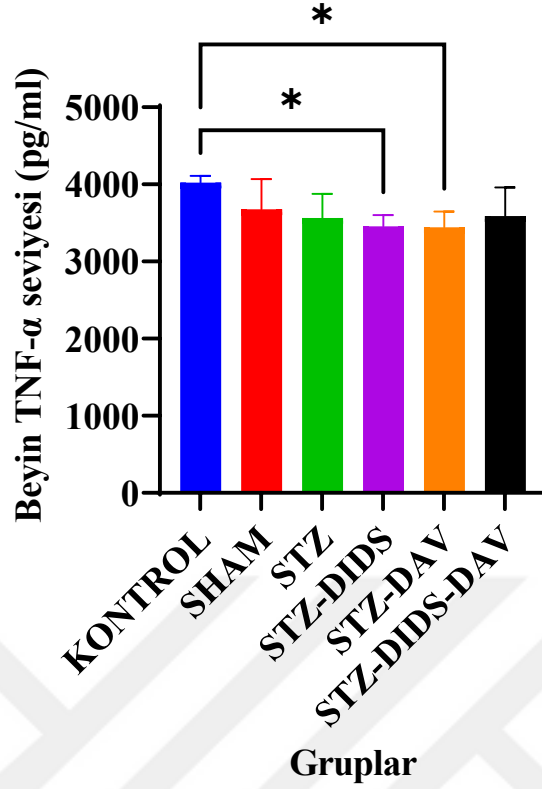
Çizelge 3.8. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum VDAC1 seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (ng/ml)	SD	Minimum (ng/ml)	Maksimum (ng/ml)	P
VDAC1	KONTROL	0,72	0,23	0,35	0,96	0,0319
	SHAM	0,60	0,30	0,33	1,10	
	STZ	0,44	0,21	0,24	0,81	
	STZ-DIDS	0,51	0,24	0,47	0,53	
	STZ-DAV	0,41	0,65	0,32	0,48	
	STZ-DIDS-DAV	0,33	0,07	0,23	0,41	

3.3. BEYİN DOKUSU BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI

3.3.1. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin TNF- α Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar arası beyin TNF- α seviyeleri karşılaştırıldığında anlamlı fark gözlemlendi ($p=0,006$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda anlamlı farkın, KONTROL ile STZ-DIDS grupları arasında ($p=0,032$) ve KONTROL ile STZ-DAV ($p=0,037$) arasındadır (Şekil 3.9 ve Çizelge 3.9).



Şekil 3.9. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin TNF- α seviyesi üzerine Etkisi (*p<0,05).

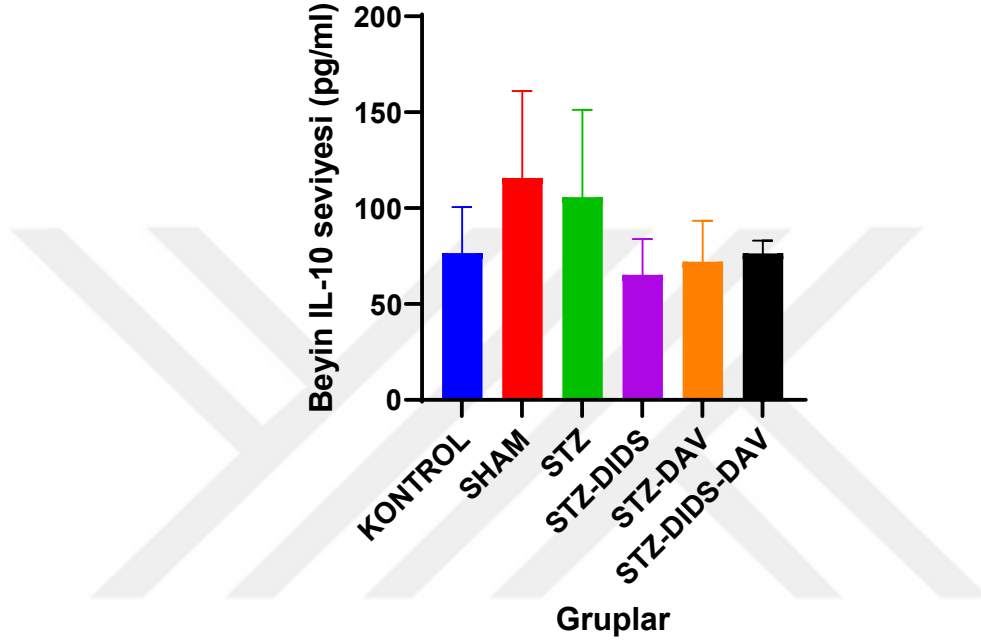
Ortalama beyin TNF- α seviyeleri karşılaştırıldığında en düşük değerin STZ-DIDS grubuna aitken, en yüksek değerin KONTROL grubuna ait olduğu görülmektedir (Şekil 3.9 ve Çizelge 3.9)

Çizelge 3.9. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının serum TNF- α seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (pg/ml)	SD	Minimum (pg/ml)	Maksimum (ng/ml)	P
TNF- α	KONTROL	4021,60	87,09	3895,00	4100,00	0,006
	SHAM	3678,80	380,24	3095,00	4065,00	
	STZ	3562,80	315,36	3136,00	3917,00	
	STZ-DIDS	3444,20	205,36	3222,00	3766,00	
	STZ-DAV	3455,40	145,99	3205,00	3574,00	
	STZ-DIDS-DAV	3589,00	371,48	3028,00	3929,00	

3.3.2. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin IL-10 Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama beyin IL-10 seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,0821$). (Şekil 3.10. ve Çizelge 3.10).



Şekil 3.10. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin IL-10 seviyesi üzerine Etkisi

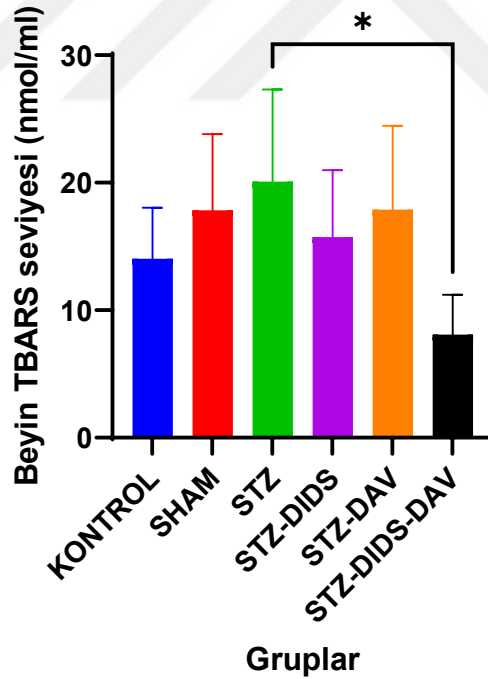
STZ ve SHAM gruplarının ortalama IL-10 düzeyleri diğer gruplara göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Çizelge 3.10. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin IL-10 seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (pg/ml)	SD	Minimum (pg/ml)	Maksimum (pg/ml)	P
IL-10	KONTROL	76,55	24,04	38,6	98,44	0,0821
	SHAM	115,8	45,22	61,78	178,3	
	STZ	105,7	45,55	62,49	172,7	
	STZ-DIDS	65,21	18,77	38,7	90	
	STZ-DAV	72,02	21,38	42,3	97,47	
	STZ-DIDS-DAV	76,39	6,761	66,86	85,6	

3.3.3. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin TBARS Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama beyin TBARS seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,0345$). (Şekil 3.11. ve Çizelge 3.11).



Şekil 3.11. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin TBARS seviyesi üzerine Etkisi (* $p=0,0241$).

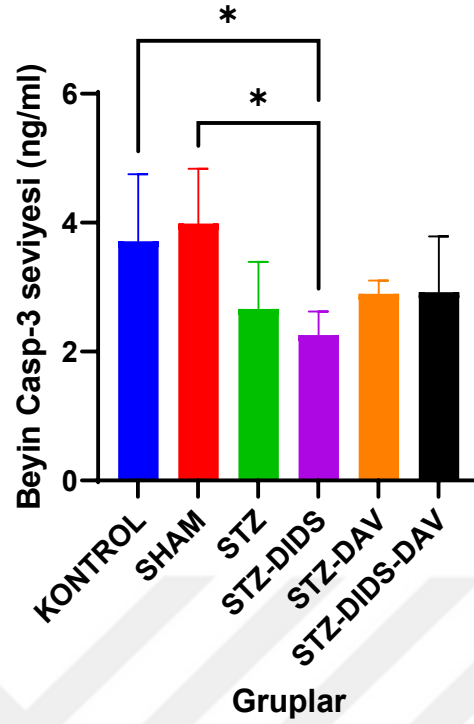
Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde STZ-DIDS-DAV grubunun ortalama TBARS seviyesi STZ grubuna göre istatistiksel olarak daha düşüktü ($p=0,0241$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Çizelge 3.11. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin TBARS seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (nmol/ml)	SD	Minimum (nmol/ml)	Maksimum (nmol/ml)	P
TBARS	KONTROL	14,03	4,00	9,40	18,93	0,0345
	SHAM	17,83	5,97	10,76	26,20	
	STZ	20,09	7,21	12,22	31,76	
	STZ-DIDS	15,74	5,25	9,23	22,32	
	STZ-DAV	17,90	6,58	9,81	26,32	
	STZ-DIDS-DAV	8,10	3,12	5,71	13,49	

3.3.4. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin Casp-3 Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama beyin Casp-3 seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,0096$). (Şekil 3.12 ve Çizelge 3.12).



Şekil 3.12. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin Caps-3 seviyesi üzerine Etkisi (* $p<0,05$)

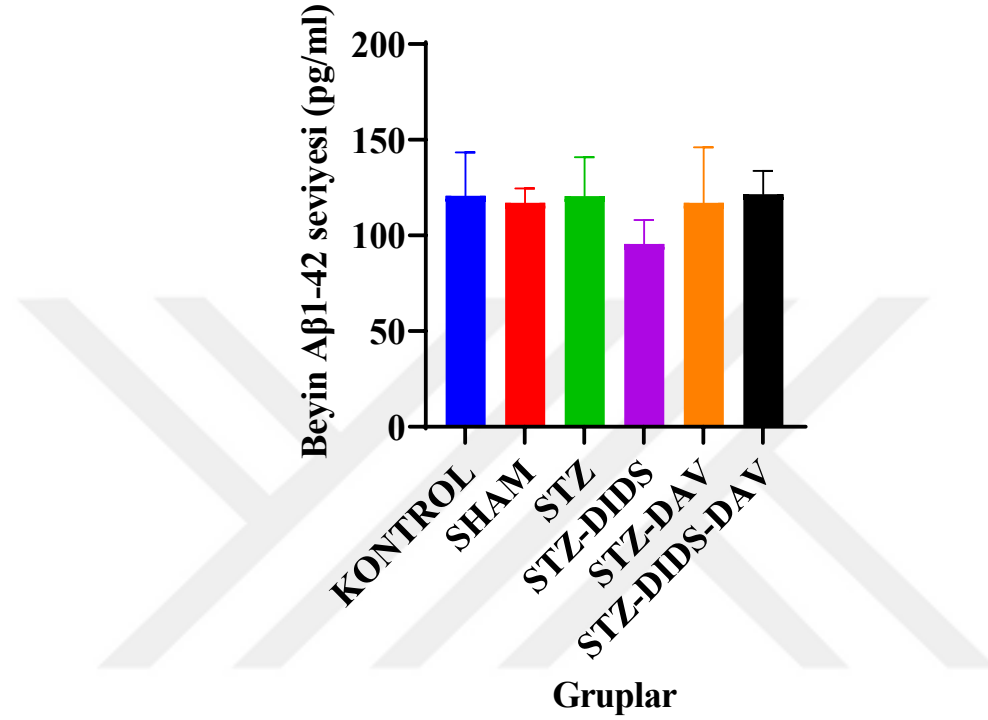
Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde STZ-DIDS grubunun ortalama Casp-3 seviyesi hem KONTROL hem de SHAM gruplarına göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla; $p=0,0465$ ve $p=0,0122$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Çizelge 3.12. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin Casp-3 seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (ng/ml)	SD	Minimum (ng/ml)	Maksimum (ng/ml)	P
Casp -3	KONTROL	3,712	1,038	2,57	5,157	0,017
	SHAM	3,987	0,8483	3,045	4,878	
	STZ	2,664	0,7304	2,102	3,93	
	STZ-DIDS	2,257	0,3635	1,729	2,672	
	STZ-DAV	2,899	0,2047	2,76	3,253	
	STZ-DIDS-DAV	2,924	0,8645	2,006	4,068	

3.3.5. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin A β 1-42 Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama beyin A β 1-42 seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,2650$). (Şekil 3.13 ve Çizelge 3.13).



Şekil 3.13. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin A β 1-42 seviyesi üzerine Etkisi

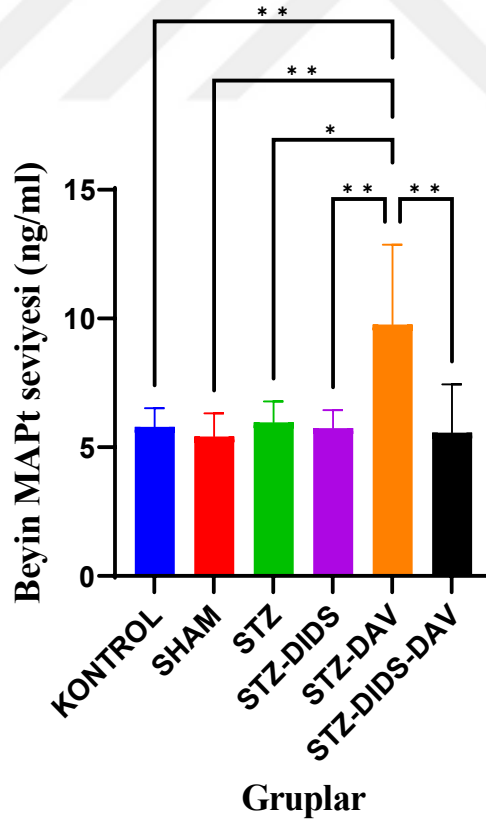
Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde STZ-DIDS grubunun ortalama A β 1-42 seviyesi diğer gruplara göre daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Çizelge 3.13. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin A β 1-42 seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (pg/ml)	SD	Minimum (pg/ml)	Maksimum (pg/ml)	P
A β 1-42	KONTROL	120,80	22,68	90,52	144,20	0,2650
	SHAM	117,00	7,51	103,90	123,00	
	STZ	120,60	20,30	100,50	150,30	
	STZ-DIDS	95,56	12,47	80,82	112,80	
	STZ-DAV	117,00	29,08	100,00	168,70	
	STZ-DIDS-DAV	121,50	12,15	103,90	137,00	

3.3.6. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin MAPt Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama beyin MAPt seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,0019$). (Şekil 3.14 ve Çizelge 3.14).



Şekil 3.14. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin MAPt seviyesi üzerine Etkisi (* $p<0,05$ ve ** $p<0,01$)

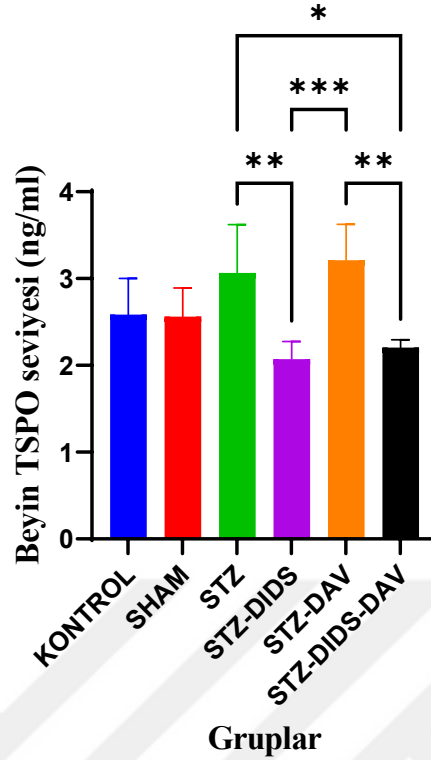
Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde STZ-DAV grubunun ortalama MAPt seviyesi KONTROL, SHAM, STZ, STZ-DIDS ve STZ-DIDS-DAV gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla; p=0,0080, p=0,0033, p=0,0118, p=0,0071 ve p=0,0047). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Çizelge 3.14. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin MAPt seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (ng/ml)	SD	Minimum (ng/ml)	Maksimum (ng/ml)	P
MAPt	KONTROL	5,797	0,7155	4,735	6,741	0,0019
	SHAM	5,419	0,9046	4,465	6,443	
	STZ	5,966	0,8136	5,188	7,246	
	STZ-DIDS	5,749	0,6892	5,141	6,81	
	STZ-DAV	9,763	3,101	7,097	13,84	
	STZ-DIDS-DAV	5,574	1,865	3,524	8,575	

3.3.7. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin TSPO Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama beyin TSPO seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p=0,0002). (Şekil 3.15 ve Çizelge 3.15).



Şekil 3.15. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin TSPO seviyesi üzerine Etkisi (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

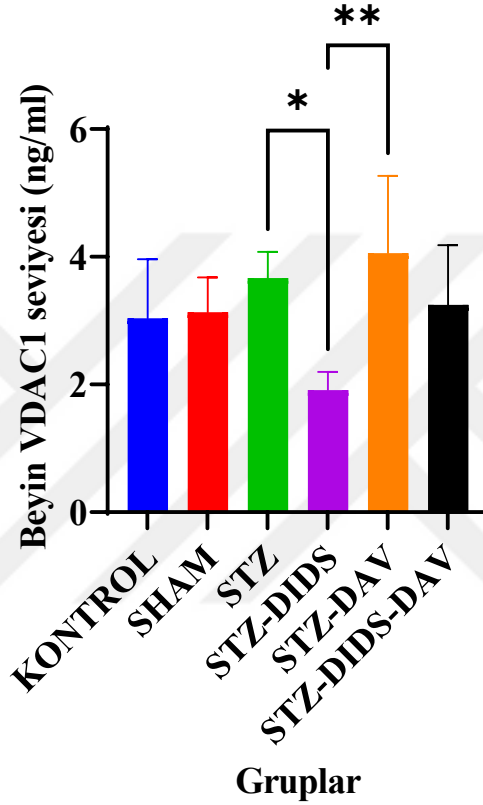
Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde STZ-DIDS grubunun ortalama TSPO seviyesi hem STZ hem de STZ-DAV gruplarına göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu belirlendi (p değerleri sırasıyla; $p = 0,0033$ ve $p = 0,0007$). Benzer şekilde STZ-DIDS-DAV grubunun ortalama TSPO seviyesi hem STZ hem de STZ-DAV gruplarına göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla; $p = 0,0130$ ve $p = 0,0028$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Çizelge 3.15. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin TSPO seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (ng/ml)	SD	Minimum (ng/ml)	Maksimum (ng/ml)	P
TSPO	KONTROL	2,586	0,4168	2,013	2,898	0,0002
	SHAM	2,561	0,3317	2,16	2,936	
	STZ	3,064	0,5581	2,57	3,844	
	STZ-DIDS	2,071	0,2033	1,791	2,304	
	STZ-DAV	3,212	0,4133	2,742	3,628	
	STZ-DIDS-DAV	2,204	0,09049	2,118	2,354	

3.3.8. Deneysel Alzheimer Modelinde DAV ve DIDS Uygulamasının Beyin VDAC1 Seviyesi Üzerine Etkisi

Gruplar ortalama beyin VDAC1 seviyesi bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,0068$). (Şekil 3.16 ve Çizelge 3.16).



Şekil 3.16. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin VDAC1 seviyesi üzerine Etkisi (* $p<0,05$ ve ** $p<0,01$).

Gruplar daha ayrıntılı incelendiğinde STZ-DIDS grubunun ortalama VDAC1 seviyesi hem STZ hem de STZ-DAV gruplarına göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu belirlendi (p değerleri sırasıyla; $p=0,0197$ ve $p=0,0031$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

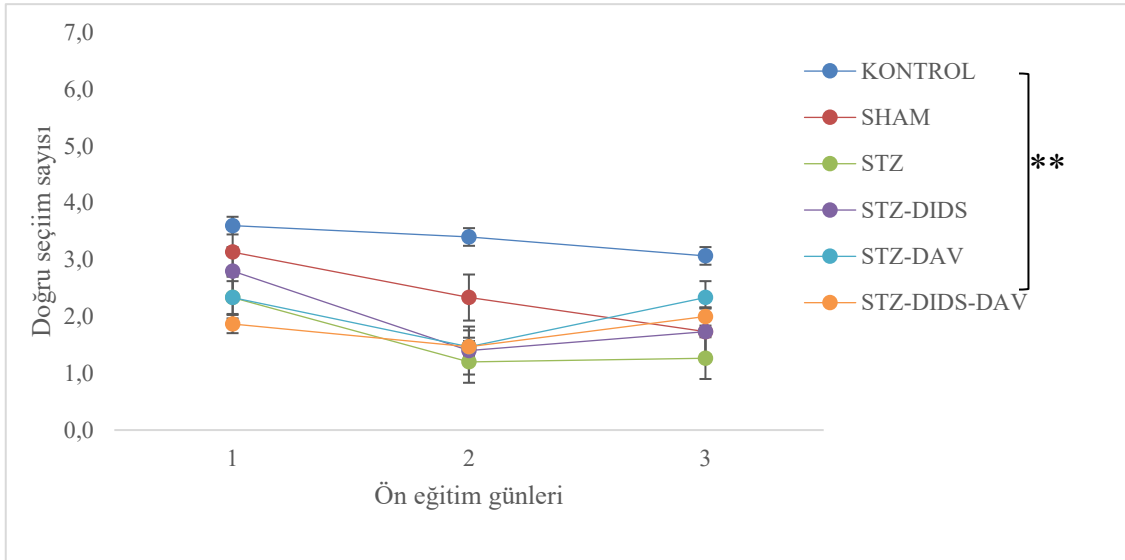
Çizelge 3.16. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının beyin VDAC1 seviyesi üzerine Etkisi

Parametre	Gruplar	Ortalama (ng/ml)	SD	Minimum (ng/ml)	Maksimum (ng/ml)	P
VDAC1	KONTROL	3,039	0,9237	2,068	4,087	0,0068
	SHAM	3,134	0,5453	2,782	4,1	
	STZ	3,668	0,4119	3,257	4,256	
	STZ-DIDS	1,913	0,2863	1,554	2,24	
	STZ-DAV	4,056	1,213	3,281	6,187	
	STZ-DIDS-DAV	3,248	0,9354	2,19	4,603	

3.4. RADYAL KOL LABİRENT DAVRANIŞ TESTİ ANALİZ SONUÇLARI

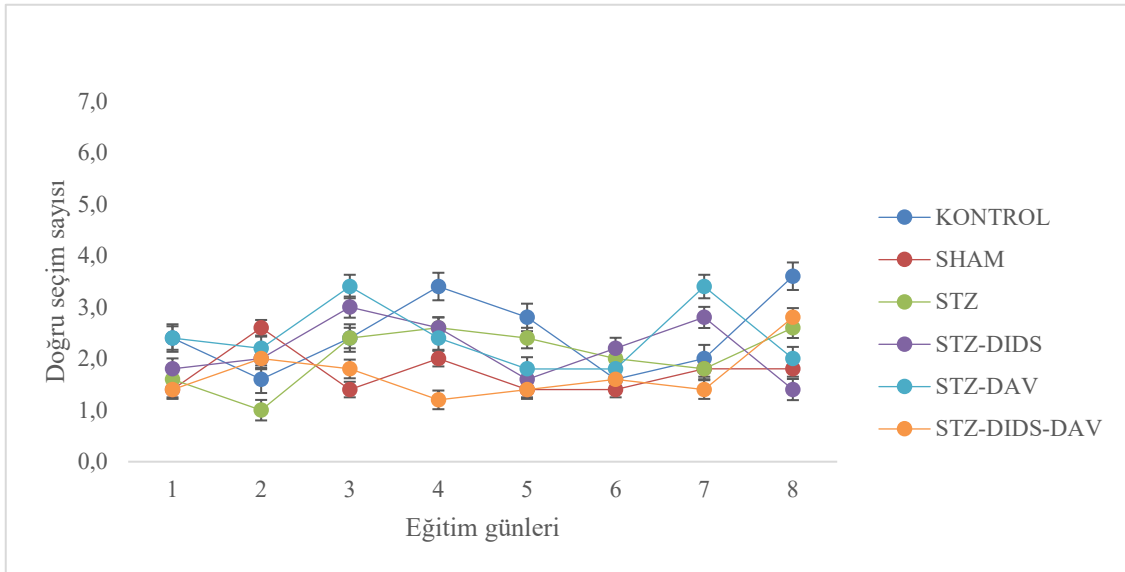
3.4.1. RKL testinde doğru seçim sayıları

Ön eğitim günlerinde doğru seçim (DS) sayıları analiz edildiğinde gruplar arası 1.gün elde edilen testlerden sırasıyla 1 ve 2. test doğru seçim sayıları anlamlıydı ($p=0,018$ ve $p=0,036$) pretraining 1.gün 3.testler arası anlamlı değildi ($p=0,253$). Pretrainin 1. gün gerçekleşen 3 test sonuçları gruplar arası anlamlıydı ($p=0,004$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda 1. gün 1. test STZ-DIDS-DAV grubunda KONTROL grubuna kıyasla anlamlı azalış gözlemlendi ($p=0,049$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda 1. gün 2. test arasında anlamlılık yoktu ($p>0,05$). Toplam DS sayıları ikili karşılaştırıldığında ise KONTROL ve STZ-DIDS-DAV grubu arasında anlamlı azalış vardı ($p=0,006$). (Şekil 3.17).



Şekil 3.17. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde ön eğitim günlerindeki doğru seçim sayısı üzerine Etkileri

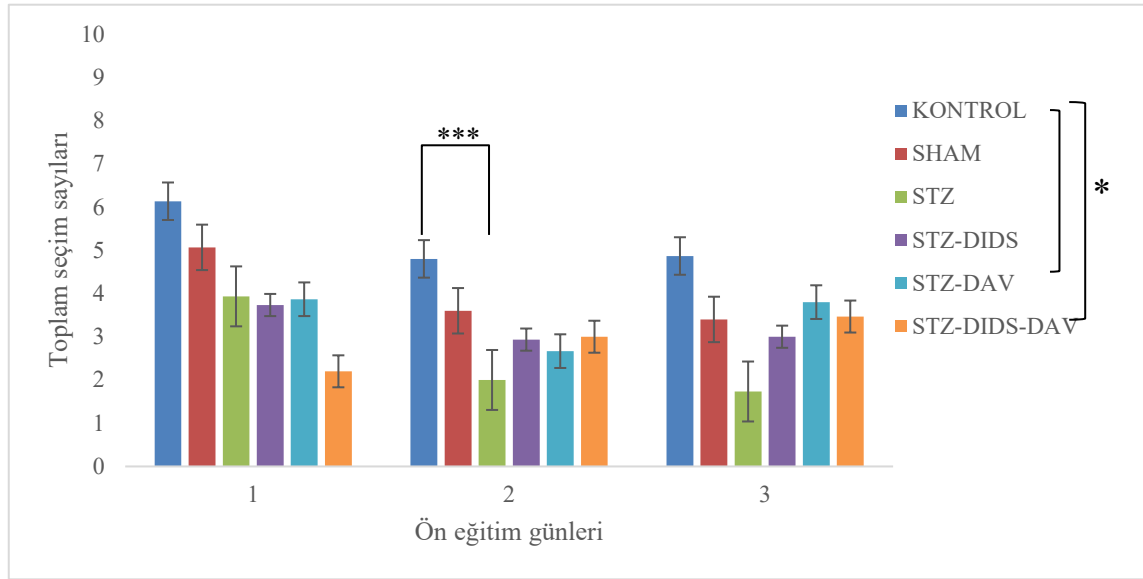
Gruplar arası eğitim günleri verilen DS sayıları dikkate alındığında ön eğitim sonrası verilen 1 günlük aradan sonra ki ilk teste verilen DS sayıları arasında 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., ve 8. günlerde ki ilk eğitimde elde edilen DS sayıları arasında gruplar arası anlamlı fark gözlenmedi ($p=0,072$) (Şekil 3.18). Ortalama veriler dikkate alındığında tüm eğitim günlerinde en yüksek DS sayısı KONTROL grubuna aitti. Eğitimin son günlerine doğru STZ-DIDS-DAV grubunda ki DS sayılarında artış gözlense de istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 3.18).



Şekil 3.18. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde eğitim günlerindeki doğru seçim sayısı üzerine Etkileri

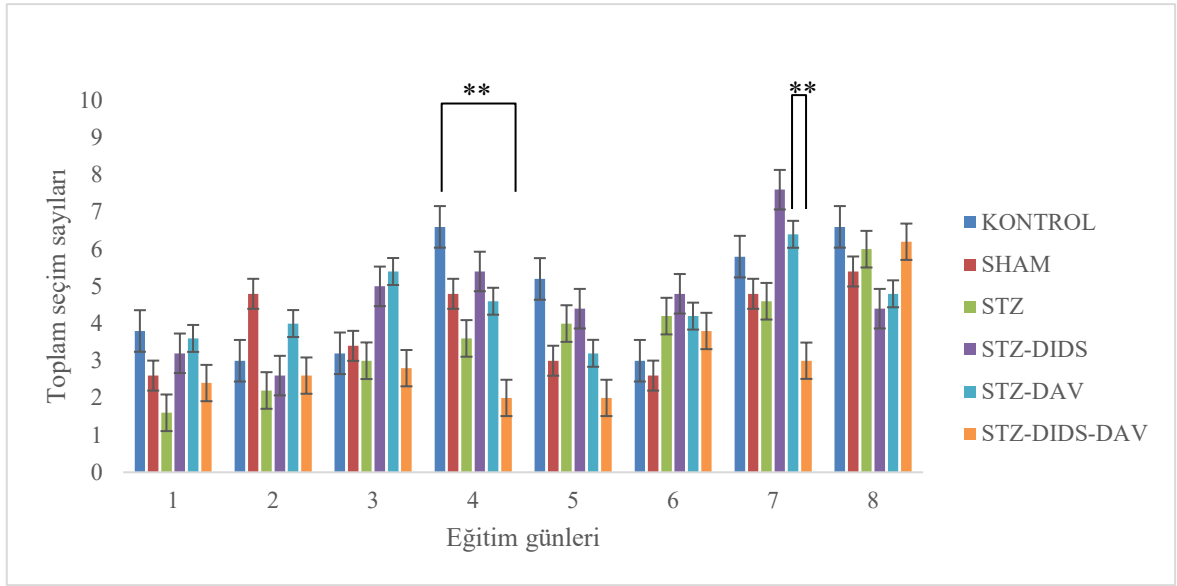
3.4.2. RKL testinde toplam seçim sayıları

Ön eğitim 1. günde ki tüm testlerde verilen toplam seçim sayıları tüm gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı fark gözlemedi ($p=0,002$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ise sırasıyla KONTROL ve SHAM grubunun toplam seçim sayılarında STZ-DIDS-DAV grubuna kıyasla anlamlı artış gözlemedi ($p=0,000$ ve $p=0,042$). Ön eğitim 2. günde gruplar arası toplam seçim sayıları karşılaştırıldığında anlamlı fark gözlemedi ($p=0,012$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ise KONTROL grubu ile STZ grubu arasında anlamlı artış gözlemedi ($p=0,007$) (Şekil 3.19).



Şekil 3.19. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde ön eğitim günlerindeki doğru seçim sayısı üzerine Etkileri

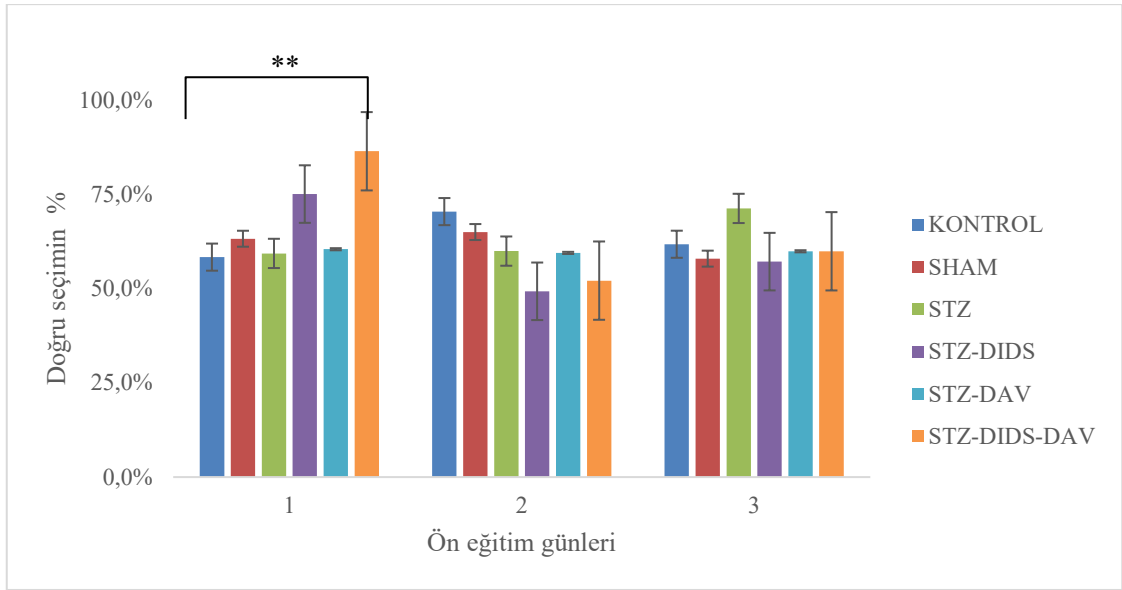
Eğitim günlerindeki toplam seçimler karşılaştırıldığında eğitimin 4.günüde gruplar arası anlamlılık gözlemedi ($p=0,038$). İkili karşılaştırmalarda KONTROL grubu ile STZ-DIDS-DAV grubu arasında anlamlı azalış gözlemedi ($p=0,024$). Eğitimin 7.günüde gruplar arası toplam seçimler karşılaştırıldığında anlamlılık gözlemedi ($p=0,042$). Gruplar arası ikili karşılaştırma yapıldığında toplam seçim sayıları STZ-DIDS-DAV grubunun STZ-DAV grubuna kıyasla anlamlı azalış gösterdi ($p=0,024$) (Şekil 3.20).



Şekil 3.20. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde eğitim günlerindeki toplam seçim sayısı üzerine Etkileri

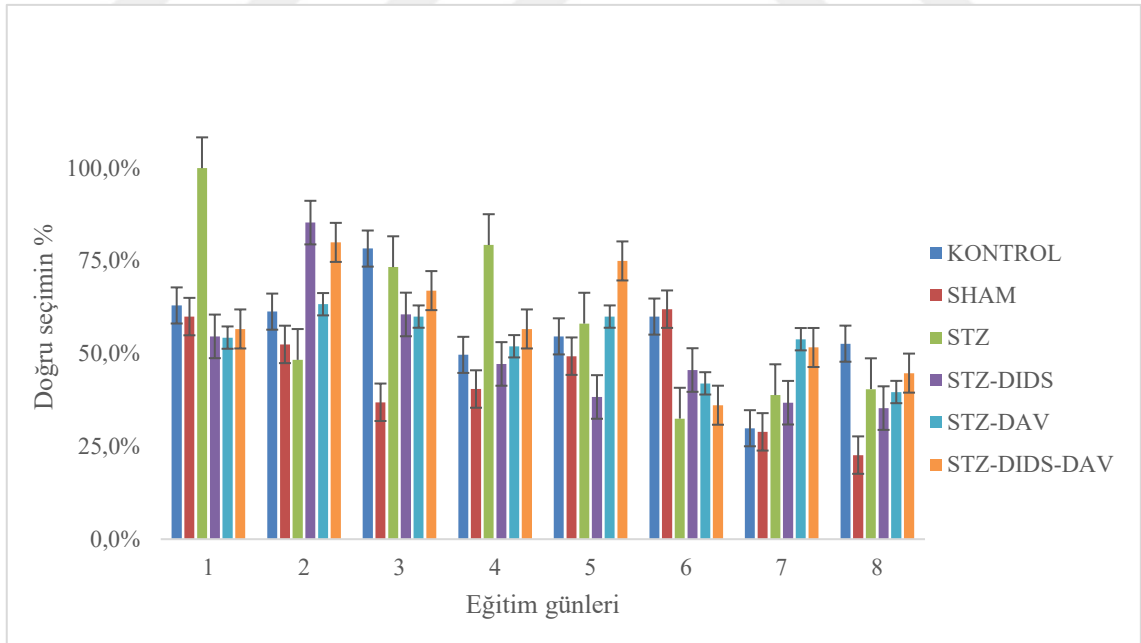
3.4.3. RKL testinde doğru seçimlerin yüzdeleri

Ön eğitim döneminde gruplar arası % seçim sayıları 1. gün tüm testler toplamı gruplar arası kıyaslandığında anlamlı fark gözlemlendi ($p=0,008$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda 1. gün toplam testler arasında KONTROL grubu ile STZ-DIDS-DAV grupları arasında anlamlı artış gözlemlendi ($p=0,023$) (Şekil 3.21). STZ-DIDS-DAV grubunun 1.gün DS diğer günlere göre oldukça fazla iken anlamlılık gözlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 3.21. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde ön eğitim günlerindeki doğru seçim sayısı üzerine Etkileri

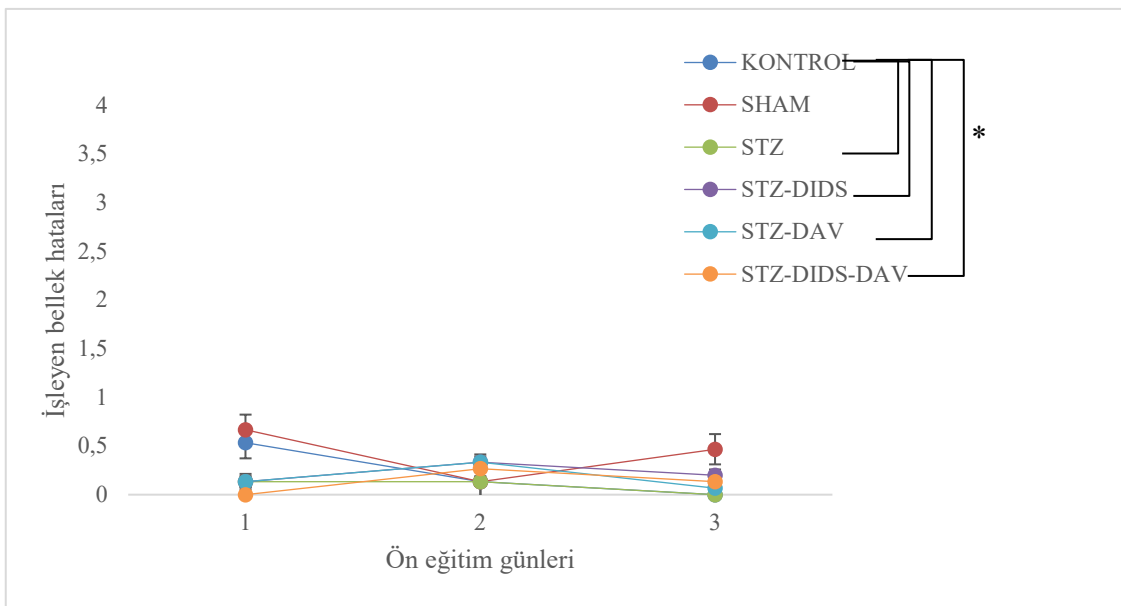
Ön eğitim döneminde gruplar arası doğru seçim sayılarının yüzdeleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$) (Şekil 3.22). Seçim yüzdeliklerinde anlamlılık olmasada KONTROL grubu DS sayılarının yüzdesi fazlaydı.



Şekil 3.22. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde eğitim günlerindeki doğru seçim sayısı üzerine Etkileri

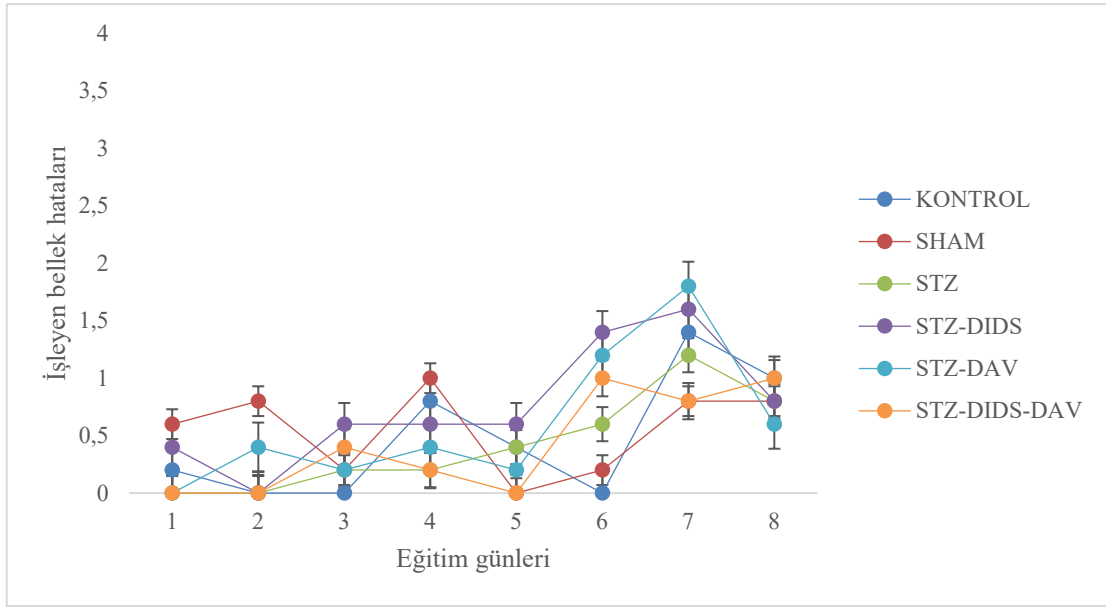
3.4.4. RKL testinde çalışan bellek hataları

Ön eğitim döneminde gruplar arası 1.gün toplam çalışan bellek hataları kıyaslandığında anlamlı fark gözlemlendi ($p=0,033$). Gruplar arası 1.gün 1.test ve 3.test çalışan bellek hatalarında anlamlı fark gözlemlenmedi ($p>0,05$). 1.gün 2.test çalışan bellek hataları gruplar arası anlamlıydı ($p=0,006$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ön eğitimin 2. gününde KONTROL grubunun, STZ, STZ-DIDS, STZ-DAV ve STZ-DIDS-DAV gruplarına kıyasla işleyen bellek hatalarında anlamlı artış gözlemlendi ($p=0,041$) (Şekil 3.23).



Şekil 3.23. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının RKL testinde ön eğitim günlerinde işleyen bellek hataları üzerine Etkileri

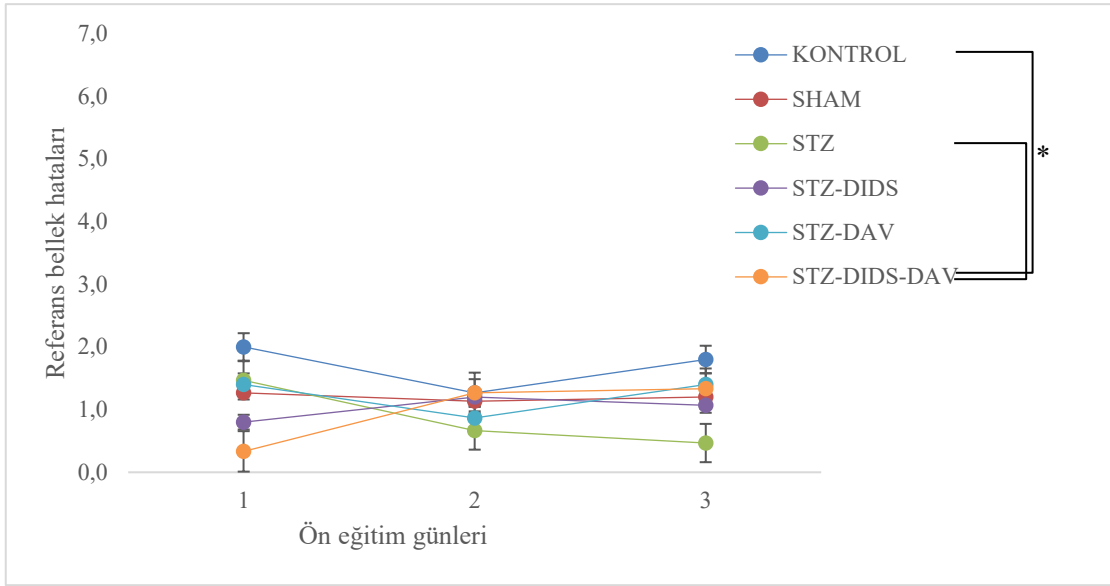
Eğitim günlerinde gruplar arası çalışan bellek hataları kıyaslandığında yalnızca sırasıyla 2. ve 6.günlerde işleyen bellek hatalarında anlamlı fark gözlemlendi ($p=0,029$ ve $p=0,037$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda herhangi bir anlam gözlemlenmedi ($p>0,05$). (Şekil 3.24).



Şekil 3.24. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının eğitim günlerinde işleyen bellek hataları üzerine Etkileri

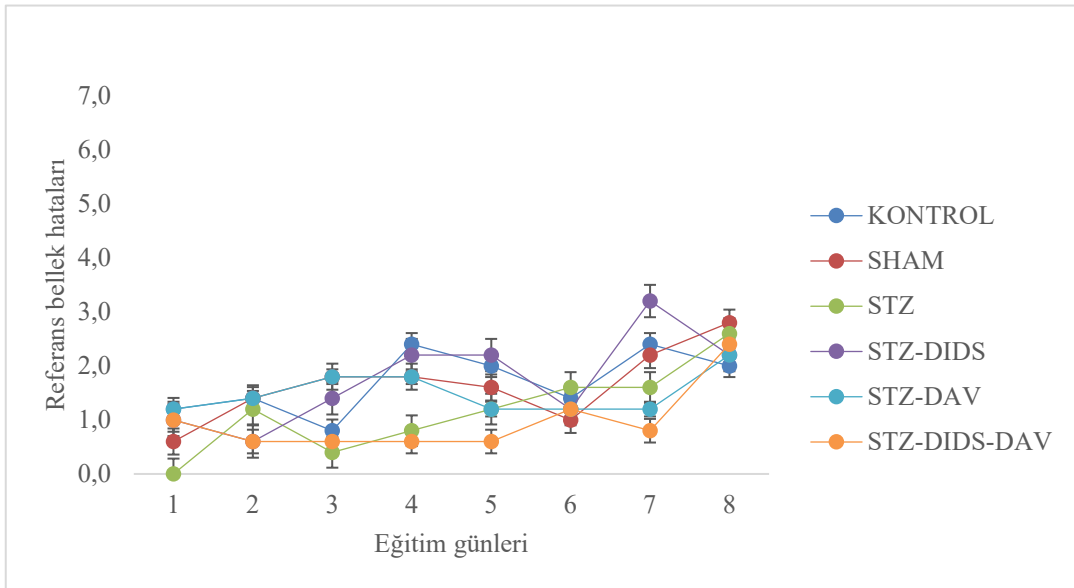
3.4.5. RKL testinde referans bellek hataları

Ön eğitim döneminde gruplar arası referans bellek hataları kıyaslandığında yalnızca 1.gün 2. ve 3.testlerde rbh arasında sırasıyla anlamlı fark gözlemlendi ($p=0,002$ ve $p=0,022$). Gruplar arası 2. gün ve 3.gün RBH sayıları ve toplam RBH sayıları arasında karşılaştırıldığında anlamlı fark gözlenmedi ($p<0,05$). Gruplar arası 1.gün toplam RBH sayıları karşılaştırıldığında anlamlı fark vardı ($p=0,004$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ön eğitimin 1.gün 2. testinde sırasıyla STZ-DIDS-DAV grubunun KONTROL ve STZ gruplarına göre RBH’da anlamlı azalış vardı ($p=0,011$ ve $p=0,045$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ön eğitimin 1.gün 3.testinde KONTROL grubunun STZ-DIDS-DAV grubuna kıyasla RBH’larında anlamlı artış gözlemlendi ($p=0,05$). (Şekil 3.25).



Şekil 3.25. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının ön eğitim günlerinde referans bellek hataları üzerine Etkileri

Eğitim günlerinde gruplar arası referans bellek hataları kıyaslandığında anlamlı fark gözlemlendi ($p=0,040$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda herhangi bir anlamlılık söz konusu değildi ($p>0,05$). Ortalama değerler incelendiğinde STZ-DIDS-DAV ve STZ-DAV gruplarının rbh sayılarının diğer gruplara oranla anlamlı olmasada azalış gösterdiği görülmektedir (Şekil 3.26).



Şekil 3.26. Deneysel Alzheimer modelinde DAV ve DIDS uygulamasının eğitim günlerinde referans bellek hataları üzerine Etkileri

RKL testi STZ-DIDS, STZ-DAV, STZ-DIDS-DAV gruplarında DAV ve DIDS uygulamasının bilişsel bozukluklar üzerindeki etkisini ortaya koydu. DIDS uygulamasının işleyen bellek ve referans bellek hataları üzerine azaltıcı etkisi olabileceği gözlemlendi. DAV'ın çalışma belleği hataları üzerinde DIDS tedavisine göre önemli etkileri vardır ($p < 0.0001$). Öte yandan, STZ grubu ve SHAM grubu, tedavili gruplara kıyasla yüksek sayıda referans bellek hatası gerçekleştirdi ($p < 0,001$), DAV grubunda referans bellek hataları üzerinde artan etkiler gözlemlendi ($p < 0.0001$). Bulgular, icv-STZ uygulaması ile AH oluşturulan modelde, DAV ve DIDS uygulamasının sıçanlarda hafıza performansını arttırdığını ortaya koymaktadır. Araştırmamız, DAV ve DIDS uygulamasının hafıza eksiklikleri ve buna bağlı bunama yönünde rasyonel bir bilimsel kullanım sağlayabilir.

4. TARTIŞMA

Alzheimer hastalığı, en yaygın bunama türü olarak kabul edilmiş ve A β peptitler, nöritik plaklar ve nörofibriler yumaklar ile karakterize yavaş ilerleyişe sahip nörodejeneratif bir hastalıktır. AH bir dünya sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Ulusal Yaşlanma Enstitüsü - Alzheimer Derneği, 1984 (UYE - AD) kriterlerini daha yüksek özgüllük, duyarlılık ve AH geliştirme riski taşıyan hastaların erken teşhisi için güncellemelerde bulunmuştur. AH'nın daha doğru teşhisi için kritik önerilerde bulunsa da, hastalığın prognozunda herhangi bir değişiklik olmaksızın AH'nın tedavisi semptomatik kalmaktadır [136]. Mevcut çalışmalar dikkate alındığında, AH'nın semptomlarının tedavisinde etkili olduğu fakat hastalığı önlemede ve iyileştirmede kesin çözüm sağlayan bulgulara rastlanmamıştır.

Alzheimer hastalığı kilo kaybına neden olduğundan, eritropoetin (EPO) tedavisi olan intra-hipokampal A β uygulaması sonrası, EPO tedavili gruplarda vücut ağırlığında artışa sebep olduğu bildirilmiştir [149]. Kilo kaybı ve davranış bozuklukları, AH'nın seyri boyunca sık görülmektedir. Orta seviyeli AH ve "önemli anormal motor davranışı" olan yaşlı yetişkinlerin kilo aldığı belirtilmiştir [150]. Çalışmamızda deney öncesi ve sonrası ağırlıklar arasında anlamlı artış gözlenmiştir. Bu durum farmakolojik uygulamaların kilo artışına sebep olabileceğini düşündürmektedir.

Alzheimer hastalığında, beynin histopatolojik ve biyokimyasal bulguları incelendiğinde esas belirteçleri arasında A β 1-42 ve hiperfosforile tau (MAPt) proteinleri yer almaktadır. Amiloid polipeptitleri, A β ve α -sinüklein agregasyonu ile karakterize edilen en yaygın iki nörodejeneratif hastalık PH ve AH'dır. A β 1-42 peptitlerinin üretimi ve birikmesinin AH patogeneğinde merkezi rolü aşikardır [151], [152]. Hücre dışı Zn⁺² dinamiklerinin hem bilişsel aktivite için hem de bilişsel gerilemede etkileri olduğu belirtilmiştir. Ekstraselüler Zn²⁺ dinamikleri, glutamaterjik sinaps uyarımı ve AH'a neden olan A β 1-42 varlığı ile modifiye edilmektedir [153]. AH'nda amiloid plakları saptamak AH tanısına yardımcı olabileceği ve sağlam bir ölçüt olduğu bildirilmiştir. Yaşamlarının ileriki süreçlerinde AH kaynaklı bunama riski taşıyanları belirlemek için faydalı olabileceği belirtilmiştir. İlave olarak AH araştırmalarına ve klinik deneylere kayıtlı popülasyon çeşitliliğini iyileştirmek

için de kullanılabilir [154]. Beyin amiloidozunun bir biyobelirteci olarak immüno-presipitasyon kütle spektrometrisi (İPKS) ile plazma A β 42/A β 40 testinin doğruluğunun ve güvenilirliğinin belirlenmesi için birden çok kohort çalışma ile doğrulanmasının gerektiği belirtilmiştir. Araştırma da; plazma A β 42/A β 40'ın hem bilişsel olarak bozulmamış hem de bilişsel olarak bozulmuş bireylerde beyin amiloidozunun güvenilir bir ölçü olup olmadığı hala belirsizliğini koruduğu sonucuna varılmıştır [154]. DAV ve ADNF-9'un A β peptitlerin, mikrotübüller ile etkileşime girerek A β 25-35 toksisitesine karşı koruma gösterdiği ve DAV'ın A β (25-35 ve 1-40) agregasyonunun inhibisyonunda rolünün olabileceği belirtilmiştir. Yeni doğmuş sıçanlardan türetilen serebral kortikal nöron kültürlerine 10-15 mol/l konsantrasyonlarda uygulanan DAV maksimum koruma sağlamıştır. Biyoyararlanım çalışmaları, DAV'ın burun veya sistemik uygulamadan sonra hücrelere nüfuz ettiğini ve KBB geçtiğini göstermiştir. DAV'ın Faz II klinik çalışmaları Allon Therapeutics Inc. tarafından devam etmektedir. Böylelikle, DAV'ın A β 1-42 toksisitesine karşı koruyucu etkisi belirtilmiştir. Tau hiperfosforilasyonu AH dahil birçok nörodejeneratif hastalıkla ilişkilendirildiğinden, DAV uygulamasının nöroprotektif/nörotropik bir ilaç adayı olabileceği belirtilmiştir [155]. DAV'ın mikrotübüler ağ ile doğrudan etkileşimi floresans hücre görüntüleme çalışmaları ile kanıtlanmıştır. Hayvan çalışmalarında, DAV'ın nörodejenerasyona karşı korumanın yanı sıra referans belleği ve de kısa süreli belleği iyileştirmede etkisi gösterilmiştir. DAV'ın herhangi bir bilişsel bozukluktan muzdarip olmayan hayvanlarda dahi hafıza performansını artırabileceği de belirtilmiştir [11]. AH modelinde, davranış testlerinden bir saat önce günlük in olarak uygulanan DAV tedavisinin ardından, kısa süreli uzamsal bellekte iyileşme olduğu gösterilmiştir [8]. Farklı bir deneyde, DAV ile tedavi edilen hayvanlarda, uygulamadan iki gün sonra su labirent testinde iyileşme olduğu ve uzun vadeli koruyucu etkilerini hemen gösterdiği belirtilmiştir [15]. Yani DAV, AH hem hiperfosforile tau birikimini engellemektedir hemde A β birikimini engelleyerek ve A β 1-42 nörotaksisitesini azaltarak AH'da nöroprotektif etki göstermektedir diye çıkarımda bulunabiliriz.

A β 1-42'nin bilateral intrahipokampal enjeksiyonu ile DAV'ın uzamsal bellek, sinaptik plastisite ve hipokampal protein kinaz B (AKT veya PKB) seviyesindeki A β 1-42 kaynaklı bozukluklar üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada, 3 haftalık DAV uygulamasının ardından, A β 1-42 ile indüklenen öğrenme eksikliklerini ve bellek kaybını doza bağlı şekile tersine çevirdiği ve de sıçan hipokampusünde fosforile edilmiş Akt

seviyesinde iyileşmeler olduğu dikkat çekmiştir. Fosfatidilinositol-3-fosfat (PI3K)/AKT yolu, hücre sağkalımı, proliferasyon, sinaptik plastisite ve bilişsel performansın düzenlenmesinde önemli yollardan biridir. DAV'ın uzamsal bellek ve sinaptik plastisite nöroproteksiyonunun PI3K/AKT sinyal yolunun düzenlenmesi ile ilişkisini açıklığa kavuşturmak için, hipokampusta toplam AKT ve fosforile (Ser473) AKT (P-AKT) seviyelerini incelenmiştir. Western blot analizleri sonuçlarında, DAV tedavisinin, sadece A β 1-42 grubunda, toplam AKT seviyesinde değil, hipokampal p-AKT (Ser473) seviyesinde önemli bir azalma dikkat çekmiştir. DAV'ın AH gibi hastalıklarda, PI3K/AKT yolunu güçlendirerek, uzaysal bellek ve sinaptik plastisitede A β 1-42 kaynaklı bozulmaları hafifletmede önemli rolleri olabileceği belirtilmiştir [156]. AH gibi nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi, öğrenme ve hafıza eksikliklerinin tedavisi için etkili bir nöroprotektif aday olabileceğini düşündürmektedir.

Aynı zamanda DAV, bir mikrotübül stabilize edici peptit ilaç olarakta bilinmektedir. AH'ında gözlenen taupati ve sonrasında frontotemporal demansa katılmasıyla birlikte, tauopatiyi azaltan ve nöroproteksiyon sağlayan yeni DAV türevlerinin klinik için önemli olabileceği vurgulanmıştır [135]. Çalışmamızda serum A β 1-42 değerleri gruplar arası istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,0056$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda serum A β 1-42 değerleri KONTROL grubunda STZ-DAV grubuna kıyasla anlamlı azalış gösterdi ($p=0,042$). STZ-DIDS-DAV grubunun serum A β 1-42 değerleri STZ ve STZ-DAV grubuna kıyasla anlamlı düşüktü ($p<0,05$). Beklendiği gibi serum A β 1-42 değerleri STZ grubunda en yüksek değerdeydi. En düşük değerler ise KONTROL ve STZ-DIDS-DAV grubuna aitti. Özellikle STZ-DIDS-DAV grubunda serum A β 1-42 değerlerinin çok düşük miktarlarda olması bizlere; DAV ve DIDS uygulamalarının birlikte etkisinin daha kuvvetli olabileceğini düşündürmektedir. Daha yüksek dozlarda DIDS ve DAV uygulamalarının etkisi de daha büyük olabilir. DAV ve DIDS uygulamasının A β 1-42 değerlerinde azalış göstermesi amiloid yapımına sebep olabilecek oksidatif stres parametrelerini süpürmesi ve antioksidan aktivite üzerine pozitif yönde etki sağlıyor olabilir.

Tau proteini, AH'da A β 1-42 aracılığı nörodejenerasyona aracılık eden kaskadta merkezi role sahiptir. Morfolojik değişiklikler, oligomerik veya yanlış katlanmış tau proteini toksik aktivite kazanabilir ve nöron ölümüne sebep olabilir. Tau, mikrotübül dinamiklerinde de önemlidir. Bu yüzden, tau hedefli stratejilerin, A β etkisini down regule

ederek nörodejeneratif değişiklikleri iyileştirmek için yararlı olabileceği öne sürülmektedir. Tau proteinlerinden bağımsız olarak bağımsız A β mikrotübül dinamiklerindeki değişiklikleri indükleyebileceği de belirtilmektedir. Bu yüzden, mikrotübül dinamiklerinin modüle edilmesi, çeşitli nörodejeneratif bozukluklarda nöronal stabilizasyon sağlayabilir. Tau hedefleme yaklaşımları arasında, tau ekspresyonunu azaltan, fizyolojik tau konformasyonunu stabilize eden beyin ve hücrelere nüfuz eden küçük moleküller, toksik tau fragmanlarının oluşumunu önleyerek veya oligomerik taunun nörodejeneratif yönlerini azaltma esaslı tedavi stratejileri geliştirebilir [157]. Taupatiyi hedefleyen bir araştırmada, DIDS'ın tau patolojisinin memeli baskılayıcısı (MSUT2)'nın neden olduğu tau patolojisinin mekanizması üzerine yapılacak çalışmalar için faydalı olabileceği belirtilmiştir. İlave olarak, poli (A)–MSUT2 etkileşimini küçük moleküllerle hedeflemenin toksik tau yükünü azaltacağını ve tauopatiler için geçerli bir terapötik yaklaşım olabileceği eklenmiştir [158]. İn vitro bir çalışmada, VDAC inhibitörü DIDS'nin eklenmesiyle önemli ölçüde azalan mitokondriyal süperoksit anyonlarında ve tiyol grublarında değişikliğe sebep olduğu görülmüştür. Alzheimer nöronlarında ANT-1 üzerindeki patolojik A β -NH₂tau etkileşiminin, ANT-1'in tiyol redoks durumunu ve A β 1-42 kaynaklı ROT artışını içerdiği bir moleküler mekanizma olabileceği öne sürülmüştür. Bunun ardından, mitokondriyal işlevi stabilize ederek, eski haline getirerek veya enerji metabolizmasına müdahale sonucu mitokondriyal seviyede hücreleri korumak için çeşitli stratejiler kullanma yeniliğini ortaya çıkarmıştır. A β 1-42, tau parçacıkları ve mitokondri arasında üçlü moleküler bir etkileşim mekanizması önerilmiştir. Mekanizma, A β 1-42 kaynaklı ROS'tan etkilenen ANT-1 tiyol redoks durumuna dayanmaktadır. Tau toksisitesinde modülatörü olarak etki gösteren ROT artışının mekanizmaları aydınlatılırsa, AH'ın tedavisinde umut verici olabileceği belirtilmiştir [159]. Mikrotübül fonksiyonunu modüle eden ve nöronal tübülünü tercih eden bir ajan olarak DAV'ın, AH ile ilgili tau patolojisi olan transgenik fare modelinde patojenik süreci inhibe edip edemeyeceğini ve bilişsel eksiklikleri önleyip önleyemeyeceğinin araştırıldığı çalışmada: tauopatinin erken ila orta dereceli aşamasında 3 aylık DAV tedavisi sonrasında çözünür hiperfosforile tau ve çözünmez tau seviyelerinde azalmalar görülmüştür. 6 aylık DAV tedavi süreci sonrasında ise bilişsel işlevlerde iyileşmeler gözlenmiştir. DAV'a 6 aylık maruziyetin hiçbir yan etki göstermediği belirtilmiştir. Sonuçta, DAV gibi nöronal mikrotübül etkileşimli ajanların tauopatilerin tedavisi veya önlenmesi için yararlı olabileceği belirtilmiştir [160]. Mevcut çalışmada DAV uygulaması yapılan gruplar ile diğer gruplar arasında serum MAPt

düzeyleri bakımından benzerlikler elde edilmiştir. DAV uygulaması yapılan gruplarda MAPt seviyesinin düşmemesinin en önemli nedeni 21 günlük kısa tedavi süresi olabilir. Fakat serum TSPO düzeyleri bakımından STZ-DIDS ve STZ-DIDS-DAV gruplarında önemli düzeyde daha düşük seviyelerde olduğu belirlenmiştir.

Primer retinal hücre kültürlerinde in vitro oksidatif stres ve mekanik yaralanma modelleri kullanılarak, VDAC1 oliomerizasyonunun DIDS tarafından inhibisyonunun, mikrogial hücre aktivasyonunu etkileyerek hücre sağ kalımını artırabileceği belirtilmiştir. DIDS'ın intraolüler (İÖ) göz içi uygulaması, in vitro gözlemleri doğrulayan apoptozu azalttığı ve mikrogial polarizasyonu önlediği raporlanmıştır. VDAC1 seviyelerindeki hassas değişimlerin dahi nöronal sağkalım ve retina morfolojisi üzerine önemli değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir. VDAC1'in, ölüm ve sağ kalımda hücre sel sinyalleri bütünleştirerek nöronal bozuklukları hedeflemeye hedef olabileceği sonucuna varılmıştır [161]. Kalsiyum düzensizliği, ROT, enflamasyon ve glutamaterjik toksisite ve daha birçok etken ikincil hücre ölümünün tetikleyicileri arasındadır. VDAC1'in oksidatif stres ile ilişkili bir süreç olan mekanik yaralanmadan sonra sağlıklı ve dejenere olan retinadaki rolünün değerlendirildiği bir çalışmada, VDAC1 ve superoksit dismutaz 1 (SOD1) seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon gözlemlenmiştir. Farklı hacimlerde (25 μ M ve 50 μ M) DIDS uygulaması ve oksidatif stress için 100 μ M hidrojen peroksit (H_2O_2)'ye maruz bırakıldığında hücre canlılığını kurtarmadığı görülmüştür. İn vivo travma yaralanmasında VDAC1 seviyeleri lezyondan 2 saat sonra 58 ± 13 , 6 saat sonra 40 ± 5 olarak gözlemlenmiştir. Lezyondan 1., 3. ve 7. günlerde VDAC1 seviyelerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. İmmüno Floresan (İF) analizler sonucu VDAC1 seviyelerinin lezyondan 1., 3. ve 7. gün sonra değişmemiştir. Ayrıca, VDAC1'in farmakolojik inhibisyonunun, hücre ölümünü ve mikrogial aktivasyonu hafifleterek nöroinflamatuvar yanıtı bozduğu belirtilmiştir. DIDS tedavisinin enflamasyonu azaltıp azaltmadığı araştırıldığında, lezyondan 2 saat sonra nitrik oksit sentaz (iNOS)- pozitif hücreler gözlenmiştir. Yani özetle: VDAC1 seviyelerinin down regülasyonu, SOD1'i düzenleyen bağımsız bir kaspaz sürecini etkileyerek retinadaki dejenerasyonu tetikleyebileceği, retinal mekanik travma, VDAC1 ve SOD1'i birikimiyle, oksidatif stresini artırmasıyla ikincil hücre ölümünü uyurabileceği, VDAC1 inhibisyonunun, in vitro oksidatif stres modelinde hücre ölümünü azaltabileceği, VDAC1'in farmakolojik inhibisyonu, mikrogial hücrelerin ve astrositlerin (mikrogial) polarizasyonunu etkileyerek in vitro mekanik travmada ikincil hücre kaybını azaltabileceği, retinanın

mekanik travmalı grubunda, plazma zarına ve ER'ye doğru yer değiştiren VDAC1'i düzenleyebileceği, in vivo VDAC1 inhibisyonunun, mikrogial hücre aktivasyonunu azaltabileceği ve inflamatuvar yanıtı yeniden düzenleyerek nörokorumayı destekleyebileceği sonuçlarına ulaşmışlardır [161]. Sonuç olarak, VDAC1'in hücre sağkalımını belirlemek için sinyallerin entegrasyonunda etkili olduğu belirtilmiştir. VDAC1 ablasyonunun nöronlar için ciddi sonuçlara sebep olacağı ve de VDAC1 translokasyonunun hücre ölümüne neden olabileceği vurgulanmıştır. VDAC1'in travmatik ve kronik nörodejeneratif bozukluklar için güçlü bir terapötik hedef olduğunu göstermektedir [161]. Çalışmamızda gruplar arası serum ve beyin VDAC1 seviyesi anlamlı farklılık göstermiştir. STZ-DIDS-DAV grubunun serum VDAC1 düzeyi KONTROL grubundan daha düşük olduğu tespit edilirken, STZ-DIDS grubunun beyin VDAC1 düzeyi ise STZ ve STZ-DAV gruplarına göre daha düşük olduğu saptanmıştır. İn vitro çalışmalardan birinde, DIDS'nin oksidatif stres indüksiyonu ve in vitro mekanik travma dejenerasyon modelinde astrositlerin, DIDS varlığında daha dallanmış morfoloji gösterdiği gözlenmiştir. Mekanik travma sonrasında bu dallanma artışının, VDAC1'in glial skar oluşumunda rol oynayabileceğini düşündürmüştür [161]. İn vivo DIDS tedavisinin ise, anti- ve pro-inflamatuvar molekülleri azaltarak, bağışıklık yanıtını yeniden düzenleyebileceği ve de VDAC1'in immün düzenleyici sistem dengesine katılabileceği raporlanmıştır. VBIT-12 gibi VDAC1 ile etkileşime giren moleküllerin kullanılması, VDAC1'in inflamatuvar yanıtta yeri olabileceğini göstermişlerdir [162]. VDAC1'in Aβ1-42 ile indüklenen nöronal mitokondriyal disfonksiyona ve ferroptozu katıldığını gösterilmiş ve bu süreçlere AMPK/mTOR ve Wnt/β-katenin'in dahil olduğu belirtilmiştir. Mitokondriyal disfonksiyonu ve ferroptozu inhibe etmek için VDAC1'i hedeflemek, gelecekte AH için umut verici olabilir [125]. VDAC1'in AH patolojisine dahil edilmesini ve VDAC1 ile etkileşime giren yeni geliştirilmiş VDAC1 inhibitörü N (4-chlorophenyl)-4-hydroxy-3-(4-(4-(trifluoromethoxy)phenyl)piperazin-1-yl) butanamide (VBIT-4) ile çalışılmıştır. İn vitro çalışmalarında, mitokondriyal işlev bozukluğunu ve nöronal kaybı önlemedeki ve AH fare modelinde bilişsel aktiviteyi geri kazanmadaki etkileri araştırılmıştır. Nöronal kültürlerde, Aβ kaynaklı VDAC1 ve p53 aşırı ekspresyonu ve apoptotik hücre ölümü, VBIT-4 tarafından önlenmiştir. VBIT-4'ün, nöronal hücre ölümü, nöroinflamasyon ve nöro-metabolik işlev bozuklukları dahil olmak üzere ilişkili patofizyolojik değişiklikleri önleyebileceği belirtilmiştir. VBIT-4, fosforile tau üzerine önemli bir değişikliğe sebep olmazken, Aβ-plak yükünde hafif bir azalma gözlenmesi AH'nın patolojisine karşı koruma sağladığı belirtilmiştir. Gatekeeper VDAC1

ile mitokondriyal disfonksiyonun AH terapötik müdahalesi için VBIT-4'ün AH tedavisi için umut verici bir ilaç adayı olabileceği belirtilmiştir [163]. VDAC1 oligomerleri ayrıca mitokondriyal DNA (mtDNA)'nın salınmasına da izin vermektedir [163], [164], [165]. MDM'da lokalize olan porinler olarakta bilinmektedir. VDAC1, çeşitli mitokondriyal işlevleri kontrol eden gatekeeper olarak görev yapmaktadır [4],[5]. Bazı çalışmalarda VDAC1, apoptozda yer alan "amiloidle düzenlenmiş" bir kanal olarak da adlandırılmaktadır [122]. Mitokondriyal aracılı hücre ölümlerinde VDAC1'in rolü olduğu ve de pl-VDAC1'in hipokampal nöronlarda ve kortekste eksprese edildiği belirtilmiştir. VDAC1, mitokondriyal bölme ile sitozol arasındaki metabolik geçişlerde oldukça etkilidir [10], [123],[124]. Bu durumda DIDS uygulaması sonucu VDAC1 aktivitesinde azalmalar veya kısıtlamalar olması sebebi ile STZ-DIDS-DAV grubunda STZ ve STZ-DAV grubuna oranla serum A β 1-42 düzeylerinde ki azalma açıklanabilir.

VDAC1; Ca⁺², ROAT'ne, fosforile tau, A β , γ -sekretaz, kolesterol nükleotidleri (ATP / ADP ve NADH / NAD) ve piruvat, malat, süksinat metabolitleri dahil olmak üzere 5 kDa'lık moleküler kütleye kadar çözünen maddeleri ve Mg⁺², Zn⁺² ve diğer iyonları da taşıyan pek çok toksik maddenin hücre içine ve dolayısı ile mitokondri içerisine akışına eden bir Ca⁺² kanalı olarakta belirtilmiştir [10],[166]. Matriste Ca⁺², PDH, ICDH ve KGDH aktivasyonu yoluyla enerji üretimini düzenleyerek sitrik asit döngüsünün artan aktivitesine yol açarak mitokondriyal aracılı apoptozda etkilidir [10]. VDAC1'in, hem HK, tübülün, GSK3, ANT ve kreatin kinazlar [3] hem de Bcl-2 ailesinin apoptoz düzenleyicileri olarak bilinen Bcl-2 ile ilişkili X proteini (Bax), B hücreli lenfoma -2 (Bcl-2), B hücreli lenfoma ekstra büyük (Bcl-XL) ve heksokinaz (HK) ile etkileşimi bilinmektedir [167]. AH'dan etkilenen beyinlerdeki aşırı VDAC1 ekspresyonu nöronal hücre ölümü ile ilişkilendirilmiştir. VDAC1'in inhibe edilmesiyle APP işleminin azaldığı sonrasında bu durumun VDAC1 ekspresyon seviyesinin A β üretimini düzenleyebileceği savunulmuştur [3]. VDAC1 inhibisyonunun DIDS'la sağlandığı çalışmamızda STZ-DIDS grubunda ki artış veya azalışlar diğer gruplara göre serum seviyeleri benzer olarak tespit edilmiştir. Fakat DIDS ve DAV uygulamasının birlikte yapıldığı grupta A β 1-42 seviyelerinde anlamlı azalış dikkat çekmiştir. Beyin homojenatlarında tüm gruplar arası VDAC1 seviyeleri arasında anlamlı fark gözlenmiştir. Gruplar arasında ise yalnızca STZ-DIDS grubunun VDAC1 seviyelerinin STZ ve STZ-DAV grubuna göre anlamlı azalış gösterdiği saptanmıştır. Bizde ki A β 1-42 seviyelerinde

ki anlamlı bu azalışında APP işlenmesinde ki azalma veya APP oluşturmadaki ikincil bir yolağa etki ile olabilir.

Alzheimer hastalığında VDAC1 seviyelerinde yaşa bağlı bir artış gözlemlendiği ve AH'a sahip bireylerin beyinlerinde VDAC1 ve p-tau arasında mitokondrinin yapısal ve işlevsel bütünlüğünde anormalliklere yol açan anormal bir etkileşim varlığı ileri sürülmüştür. Transgenik tau fare modeli ile oluşturulmuş AH modelinde, azaltılış VDAC1'in AH ve çeşitli taupatiler için tedavilerin geliştirilmesinde önemli olabileceği vurgulanmıştır. Çift mutant farelerde dendritik dikenlerin sayısında büyük ölçüde artış, mitokondri sayısında önemli ölçüde azalış ve mitokondri uzunluğunda önemli ölçüde artış belirtilmiştir [168]. Transgenik tau (P301L) farelerinde p-tau tarafından indüklenen mitokondriyal ve sinaptik toksisitelere karşı azaltılmış VDAC1'in koruyucu etkilerine dair bilgiler mevcuttur. AH'da VDAC1 fosforilasyonunun nedensel faktörleri tam olarak anlaşılamamıştır [169]. VDAC1'in AH üzerindeki etkisini yalnızca hücrese düzeyde (in vitro) araştırmanın ve in vivo (hayvanlarda) düzeyde doğrulanmaması çalışmanın eksiklikleri olarak kabul edilmiştir. AH'ın nöropatolojik belirteçleri olarak kabul edilen A β ve tau protein birikimidir. Sadece A β birikimi altındaki VDAC1 mekanizmasını araştırırken, tau birikimi mekanizmasında VDAC1 değişiklikleri ve mekanizmasının eksik kaldığı belirtilmiştir [125].

Alzheimer hastalığı ana risk olan yaşlanma ile pozitif olarak ilişkili olan sirtuin 1 (SIRT 1)'in, DAV ile nörodejenerasyonun anlaşılmasında yeni bir kompleks olarak değerlendirilmesi önerilmiştir. Mikrotübülleri ve histon metilasyonunu düzenleyen yeni ortaklar olarak çalışılmıştır [170]. NAP/ADNP'in PI3K/AKT ve MAPK/MEK1 yolları aracılığıyla nöroprotektif etkiler gösterektedir. ADNP'den türetilen DAV, nöroprotektif ilaç adayları arasındadır [171]. Şizofreni hastalığının patolojisinde, ADNP ile ilişkili en önemli hücrese süreçlerden biri anahtar bir oyuncu olarak keşfedilen otofaji yoludur. Bu bağlamda mikrotübül ve otofaji sistemleri arasında, ADNP mikrotübül ucu bağlayıcı protein motifinin, yani nöroprotektif DAV'ın, mikrotübülleri korurken ve ADNP'nin her iki sistemle ilişkisini artırarak otofajiyi geliştirebileceği belirtilmiştir. Bu nedenle, otofaji ve ADNP'nin ilişkilendirilmesi, otizmden AH'ye kadar birçok beyin hastalıklarına müdahale için hedef olarak gösterilmiştir. Bu çalışmada ki bulgulara göre, otofajinin şizofreni tedavisi için yeni bir hedef olabileceğidir. Yine aynı çalışmada AH demans hastalarının serumunda azalan tek proteinin ADNP olduğunu dikkat çekmiştir. Bilişsel

olarak normal yaşlılarda hastalık öncesi zekanın azalmasıyla bağlantılı olarak serum ADNP'deki azalma gözlenmesinin, hafif bilişsel bozukluğu olan hastaların plazma ADNP'deki artış gözlenmiştir. Bu iki durum arasında çelişki varmış gibi görülebilir ancak bu durumu, ADNP'nin pıhtılaşmış kan ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. (Çünkü kan pıhtılaşma faktörleri ADNP tarafından güçlü bir şekilde düzenlenmektedir) [172],[173]. İntranazal (in) veya intravenöz (iv) uygulama sonrasında DAV'ın, beyin omurilik sıvısında (BOS) hızla ortaya çıktığı belirtilmiştir. İntranazal DAV'ın MSS'ne ulaştığı mekanizmanın burundan beyne doğrudan taşınma ile değil de sistemik dolaşım yoluyla olduğunu belirtmişlerdir. Oksidatif stres, A β toksisitesi ve eksitotoksisite dahil birçok durumda in vitro uygulanan DAV'ın nöroproteksiyon sağladığı belirtilmiştir [174]. Şiddetli nörodejenerasyona sahip fare modelinde, DAV'ın hem mikrotübül (MT) ilişkili aksonal taşıma üzerindeki etkileri hem de in vivo amyotrofik lateral skleroz (ALS) modelinde koruyucu aktivitesi, kusurlu aksonal taşımanın modellenmesi ve tau patolojisi ile ilişkileri araştırılmıştır. Bunlara ilave olarak canlı hayvanlarda manyetik rezonans görüntüleme (MRI) yöntemiyle hastalık seyri boyunca, DAV'ın beyin yapısısal koruması ile uzun ömür arasındaki bağlantı araştırılmıştır. Farelerin kısa ve uzun ömürlü alt gruplarının lateral ventriküllerinin hacimsel analizi sonrası, kısa ömürlü grupta önemli bir genişleme gözlenmişken, DAV ile tedavi edilen grupta belirgin bir azalma gözlenmiştir. Uzun ömürlü hayatta kalan ve DAV ile tedavi edilen grubun salinle tedavi edilen gruba kıyasla ventraltegmental (VTA) alanının korunduğu belirtilmiştir. Sonrasında VTA bütünlüğünün korunmasında DAV'ın etkili olduğu belirtilmiştir. Yüksek dozda DAV tedavisi uygulanan farelerin yaşam süreleri saline uygulanan farelere kıyasla önemli artışlar göstermiştir. DAV ile tedavi edilen dişi farelerin yaşam süreleri erkek farelere oranla önemli artış göstermektedir. DAV'ın sadece beyni değil, omurilik ve motor nöronlarıda kısmen koruduğu belirtilmiştir. DAV'ın, SOD1 birikimine ve astroglioza karşı önemli ölçüde koruma sağladığı önemle vurgulanmıştır [175].

STZ ile indüklenmiş diyabetli sıçan modelinde, DAV'ın diyabetle ilişkili beyin patolojilerini önleme yeteneğinin araştırıldığı çalışmada, diyabetli sıçan grubunun prefrontal korteksinde DAV tedavisi ile önlenen atrofi gösterilmiştir. DAV tedavisinin, STZ kaynaklı sinaptik belirteç sinaptofizin ve astrositik apoptozun büyük miktarda kaybına karşı koruduğunu belirtilmiştir [176]. Mevcut çalışmada, DAV'ın belirli beyin bölgeleri üzerindeki koruyucu etkisi, bilişsel işlev bozukluğunun iyileştirilmesiyle birleştiğinde, beyin yapısı ve işlevi arasında doğrudan bir bağlantı sağlamıştır. Sıçan

beyinleri histopatolojik yöntemle incelendiğinde; serebral korteks ve hipokampustaki sinaps seviyesinde nöroproteksiyon dikkat çekmiştir. İn vivo sinaptik kaybı ima eden ve DAV tedavisi ile korunan sinaptofizin ekspresyonu- azalmıştır. Elde edilen sonuçların, kan şekeri seviyelerinden bağımsız olarak beyindeki davranışsal, morfolojik ve moleküler değişiklikleri iyileştirmede DAV'ın faydalarının olduğunu savunmaktadır. Özetle, DAV'ın intranazal iletiminin, STZ aracılı modellenen diyabet patolojisinde beyin hastalığını önleme ve yavaşlatma için terapötik bir yaklaşım olabileceği gösterildi. Diyabet ve Alzheimer hastalığı beyin patolojilerinin benzerliği kabul edilmiştir. Diyabetik bunama ile ilişkili hastalarda DAV ile klinik çalışmalara yoğunlaşması önerilmiştir. DAV ile sinaptik plastisite arasında önemli bir ilişki olduğunu gösterilmiştir. Sinaptik plastisite, bilişin önemli temellerinden biridir. DAV'ın diyabet ve diğer nörodejeneratif hastalıklar gibi bilişsel işlev bozukluğu olan hastalarda terapötik fırsatlar sağlayabileceği raporlanmıştır [176]. AH ile ilgili bozuklukların tedavisi için geliştirilmekte olan intranazal olarak uygulanan DAV, nörit büyümesini teşvik etmek için mikrotübüllerle etkileşime girerek AH ve ilerleyici supranükleer felç (İSP)'nin hayvan modellerinde etkili olduğu görülmüştür. Şizofrenide biliş üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışma sonucunda, DAV'ın iyi tolere edildiği ve denek grubunun genişletilerek araştırılmasıyla şizofrenide klinik gelişim için önemli olacağı vurgulanmıştır [177]. İntranazal hipofiz adenilat siklaz aktive edici polipeptit (In-HACAP) uygulamasının, fare modelinde A β ile ilişkili eksikliklerin iyileşmesine katkı sağlamıştır [178]. İleri evre AH fare modelinde (transgenik fare modeli APP23) kısa süreli ip 0.3 μ g DAV/g tedavisinin uzamsal hafıza üzerine etkisinin olmadığı belirtilmiştir. DAV'ın tedavi edici etkisinin ortaya çıkması için AH'nın tam gelişmiş patolojisinden önce, erken bir aşamada tedaviye başlamanın gerekli olduğu ya da transgenik ileri evre AH farelerde, bilişsel gelişme görmek için uzun süreli tedavinin gerekli olduğu belirtilmiştir [179]. A β 'nin genel sıçan hipokampal nöronları ve çalışma belleği, hipokampüsünde oksidatif stres ve nöroinflamasyon üzerinde rahatsız edici etkilere neden olduğu belgelenmiştir. Metanolik ekstraktın her iki dozda uygulanması, Y-labirent testinde artan spontan davranış ile gösterildiği gibi A β 1-42'nin neden olduğu bilişsel değişikliği ve RKL testi gerçekleştirerek çalışma ve referans bellek hatalarını azaltmayı önledi. Davranışsal görevlerdeki bu farmakolojik tepkiler, metanolik ekstraktın bilişsel güçlendirici bir ajan olarak hareket edebileceğini düşündürür [148]. Çalışmada RKL testi verileri analiz edildiğinde; gruplar arası DS sayıları karşılaştırıldığında ön eğitim günlerinde yalnızca ilk gün toplam DS sayıları arasında anlamlılık saptanmıştır.

Gün içindeki testler kendi içerisinde karşılaştırıldığında yalnızca 1 gün 1. ve 2. günlerdeki DS sayıları arasında anlamlılık saptanmıştır. İkili karşılaştırmalarda yalnızca STZ-DIDS-DAV grubunun DS sayılarının KONTROL grubuna kıyasla anlamlı azalış göstermiştir. 1.gün 2.test karşılaştırmalarında gruplar arası anlamlılık belirlenmemiştir). Toplam DS sayıları gruplar arası KONTROL grubunda ve STZ-DIDS-DAV grubuna anlamlı azalış saptanmıştır. Gruplar arası RKL testi eğitim günleri ile elde edilen DS sayıları karşılaştırıldığında anlamlı fark belirlenmemiştir. Gruplar arası DS sayılarında ise anlamlılık olmasada STZ-DIDS-DAV grubunda sayısal artış dikkat çekmiştir. DIDS ve DAV uygulamasının özellikle ön eğitim günlerinde etkili olduğu görülmüştür. Gruplar arası RKL testi ön eğitim günleri elde edilen %DS'leri karşılaştırıldığında; gruplar arası yalnızca 1.gün tüm testler anlamlıyken, ikili karşılaştırmalarda KONTROL grubunun STZ-DIDS-DAV grubuna kıyasla %DS'leri arasında anlamlı azalış saptanmıştır. RKL testi eğitim günleri elde edilen %DS karşılaştırıldığında gruplar arası herhangi bir anlamlılık gözlemlenmemiştir.

Ön eğitim günleri elde edilen TS sayıları karşılaştırıldığında; 1.gün tüm testlerden elde edilen TSS arasında anlamlı fark belirlenmiştir. İkili karşılaştırmalarda KONTROL grubunun STZ-DIDS-DAV grubuna kıyasla TSS anlamlı artış saptanmıştır. SHAM ve KONTROL grubunun TSS'nin STZ-DIDS-DAV grubuna kıyasla anlamlı artış gözlenmiştir. Gruplar arası 2. günde ikili karşılaştırmalarda KONTROL grubunun SHAM grubuna kıyasla TSS arasında anlamlı artış bulunmuştur. Gruplar arası RKL testi eğitim günleri elde edilen TS sayıları karşılaştırıldığında; gruplar arası ikili karşılaştırmalarda KONTROL grubunun STZ-DIDS-DAV grubuna kıyasla TSS anlamlı azalış saptanmıştır. 7.günde gruplar arası ikili karşılaştırmalarda STZ-DIDS-DAV grubunun TSS'nin STZ-DAV grubuna kıyasla anlamlı azalış göstermiştir.

Davunetidin, muhtemelen PI3K/AKT yolunu güçlendirerek, MSL testinde uzamsal bellek ve sinaptik plastisitede A β 1-42 kaynaklı bozulmaları hafifletmede önemli rol oynadığı gösterilmiştir. DAV'ın sıçanlarda A β -42'nin neden olduğu uzamsal öğrenme ve hafıza bozukluğuna karşı koruma sağlamıştır. A β ile uyarılan hippocampal LTP baskılanmasını tersine çevirmiştir. Bu bulgular DAV'ın AH gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde etkili rolü olabileceğini göstermektedir [156]. DAV peptidinin hipobarik hipoksinin neden olduğu oksidatif stresi iyileştiren terapötik potansiyeli olduğu belirtilmiştir. DAV takviyesinin radyal kol labirenti ile değerlendirilen hafıza

fonksiyonunu iyileştirdiği belirtilmiştir. DAV, nükleer faktör (eritroid türevi-2)-benzeri 2 (Nrf2) aracılı oksidatif stres tepki yolunu aktive etmektedir. DAV'ın varlığı hipoksi kaynaklı hafıza kaybını bozmaktadır [180]. İnsan klinik deneylerinde, DAV'ın, AH'nın öncüsü olan amnestik hafif bilişsel bozukluktan muztarip hastalarda hafıza skorlarını arttırdığı gösterilmiştir. Yine bu çalışmada, DAV'ın kortikal plakta PI-3K/Akt yolunun veya beyaz cevherde hem PI-3K/Akt hem de MAPK/MEK1 kinazlarının aktivasyonu yoluyla apoptotik nöronların sayısını azalttığını belirtilmiştir [181]. Metformin tedavisi hipokampal bölgede MDA, ROT, TNF α , ve DNA parçalanma yoğunluğu, kaspaz 3 aktivitesi, AChE aktivitesini azaltmasına rağmen SOD aktivitesini ve bir anti-inflamatuar faktör olarak IL-10 seviyesini arttırmıştır. Erkek sıçanlarda metformin uygulamasının nöroprotektif ve anti-demans özelliği göstermiştir. Bu yüzden DM yanı sıra AH gibi nörodejeneratif bozuklukları olan hastalarda bilişsel gerileme ve buna bağlı komplikasyonların azaltılmasında potansiyel fayda sağlayabileceği belirtilmiştir. A β uygulanmış grubun sham grubuna kıyasla çalışan bellek hataları ve referans bellek hatalarında anlamlı artışlar görülmüştür. Çalışma ve referans bellek hatalarındaki bu tür önemli artışlar, 50 ve 200 mg/kg dozlarında metformin ile tedavi edilen A β gruplarında daha düşük derecede elde edilmiştir. Buna karşılık, A β grubunun 200 mg/kg'lık daha yüksek dozda metformin tedavisi, A β grubuna göre çalışma ve referans bellek hatalarını önemli ölçüde azaltmıştır. A β grubunda sham grubuna kıyasla önemli ölçüde daha yüksek düzeyde ROT, MDA gözlenmiş ve düşük katalaz ve SOD aktivitesi gözlenmiştir. 200 mg/kg'da metformin uygulamasında A β grubu, ROT, MDA miktarlarında önemli azalma varken SOD miktarlarında artış gözlenmiştir. 50 mg/kg'lık dozda metformin, oksidatif stres faktörlerini azaltma ve/veya iyileştirme yeteneğine sahip olmamıştır. Ayrıca, 200 mg/kg metformin ile tedavi edilen grup ile sham grubu kıyaslandığında, oksidatif stres faktörlerinde önemli ve belirgin değişiklikler gözlenmemiştir. Elde edilen veriler, A β grubunun, sham grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olmayan IL-10 azalmasıyla birlikte, önemli ölçüde daha yüksek bir TNF α düzeyine sahip olduğu görülmüştür. Tersine, daha yüksek metformin dozuyla, yani 200 mg/kg ile tedavi edilen A β grubu, A β grubuna göre TNF α 'da önemli bir azalmaya ve IL-10'da anlamlı ve uygun bir artışa sebep olmuştur. Ek olarak, sham grubunun metformin tedavisi, bu faktörlerde önemli ve belirgin değişikliklerle ilişkili değildi. İnflamatuar faktör TNF α anlamlı azalış, antiinflamatuar faktör IL-10 anlamlı artış gözlenmiştir. A β hasarının yanında hipokampal apoptozun zayıflamasında metforminin etkisini göstermek için, apoptotik faktörler kaspaz 3 ve DNA fragmentasyonunda A β hasarlı grupta sham grubuna kıyasla

yüksek aktivite göstermiştir. Daha yüksek metformin dozunun (200 mg/kg) uygulanması, A β grubuyla karşılaştırıldığında kaspaz 3'te ve DNA fragmentasyonunda anlamlı azalma ile ilişkilendirildi. 200 mg/kg'lık bir dozda metformin tedavisini takiben sham grubunda önemli bir değişiklik kaydedilmemiştir. 200 mg/kg'lık daha yüksek dozda oral metformin, A β 1-40'ın hipokampal mikroenjeksiyonunu takiben bilişsel gerilemeyi hafifletmiştir. Bu bulguyla uyumlu olarak, metforminin sıçanlarda metotreksatın neden olduğu hafıza bozukluğunu önleyebileceği gösterilmiştir. Bu araştırma incelemesinde, A β 1-40 ile yaralanan grubun hipokampusünde kaspaz 3 aktivitesi ve DNA fragmentasyon yoğunluğundan oluşan apoptotik faktörlerde belirgin bir artış gözlenmiştir [182]. Transgenik (APP23) AH fare modelinde, kısa süreli DAV tedavisinin hafızayı artırıcı etkisinin araştırıldığı çalışmada, DAV ile tedavili transgenik grupta, sham ve yabancı gruba kıyasla uzamsal bellekte hiçbir gelişme gözlenmemiştir. Transgenik grup yabancı gruba kıyasla MSL testinde düşük performans göstermiştir [179]. Mevcut çalışmada, RKL testi ön eğitim günleri elde edilen ÇBH karşılaştırıldığında; gruplar arası ikili karşılaştırmalarda 1. gün 1.test ve 3.testten elde edilen ÇBH arasında anlamlı fark belirlenmezken, yalnızca 1.gün 2.test ÇBH arasında anlamlı fark saptanmıştır. Gruplara arası ikili karşılaştırmalarda KONTROL grubunda STZ, STZ-DIDS, STZ-DAV ve STZ-DIDS-DAV grubuna kıyasla anlamlı artış saptanmıştır. RKL testi eğitim günleri elde edilen ÇBH karşılaştırıldığında yalnızca 2.ve 6. günlerde anlamlılık gözlenirken, ikili karşılaştırmalarda herhangi bir anlam gözlenmemiştir

Gruplar arası RKL testi ön eğitim günleri elde edilen RBH karşılaştırıldığında; gruplar arası yalnızca 1.gün anlamlılık tespit edilmiştir. İkili karşılaştırmalarda 1. gün 2.test ve 3.testten elde edilen RBH arasında anlamlı fark saptanmıştır. Gruplara arası ikili karşılaştırmalarda 2.testte STZ-DIDS-DAV grubunun RBH sayılarının KONTROL ve STZ gruplarına kıyasla anlamı azalış gözlenirken, 3.testi gruplar arası ikili karşılaştırıldığında ise STZ-DIDS-DAV grubunun KONTROL grubuna kıyasla RBH'da anlamlı azalış belirlenmiştir. RKL eğitim günlerinde elde edilen RBH değerleri gruplar arası ikili karşılaştırmalarda herhangi bir anlamlılık tespit edilmemiştir. Ortalama değerler incelendiğinde STZ-DIDS-DAV ve STZ-DAV gruplarının RBH sayılarının diğer gruplara oranla anlamlı olmasada azalış gösterdiği görülmüştür. Çalışmamızda ÇBH ve RBH arasında nadirde olsa gruplar arası ve sonrasında ikili karşılaştırmalarda anlamlı artış ve azalışlar gözlemlenmiştir.

Mikrotübül fonksiyonunu modüle eden ve nöronal tübülini tercih eden bir ajan olarak DAV'ın, AH ile ilgili tau patolojisi olan transgenik fare modelinde patojenik süreci inhibe edip edemeyeceğini ve bilişsel eksiklikleri önleyip önleyemeyeceğinin araştırıldığı çalışmada: tauopatinin erken ila orta dereceli aşamasında 3 aylık DAV tedavisi sonrasında çözünür hiperfosforile tau ve çözünmez tau seviyelerinde azalmalar görülmüştür. 6 aylık DAV tedavi süreci sonrasında ise bilişsel işlevlerde iyileşmeler gözlenmiştir. DAV'a 6 aylık maruziyetin hiçbir yan etki göstermediği belirtilmiştir. Sonuçta, DAV gibi nöronal mikrotübül etkileşimli ajanların tauopatilerin tedavisi veya önlenmesi için yararlı olabileceği belirtilmiştir [160].

Normal orta yaşlı farelerde kısa süreli DAV tedavisinin hafızayı artırıcı etkisi araştırılmıştır. MSL'de testten önce bir haftalık DAV inhalasyonunun, bellekte önemli gelişmelere neden olmuştur. Sonuçlar, kısa süreli belleği değerlendiren MSL testinde yalnızca DAV ile tedavi edilen orta yaşlı fare grubu, plasebo grubu ve tedavi edilmeyen grupların test süresinin sonunda önemli gelişmeler gösterdiğini gösterdi. Bu sonuçlar, çevresel ve genetik toksik faktörlerin birikmesiyle ilişkili normal yaşlanmada DAV etkinlik göstermektedir [183]. Benzer şekilde, DAV ile 2 haftalık intranazal tedavi, bir kolinotoksin ile tedaviden sonra kısa süreli hafıza kaybına karşı korunmak için yeterli olduğu görülmüştür [14]. 12 aylık farelere 10 gün boyunca ağızdan DAV uygulaması yapılmış ve öğrenme ve hafızada önemli bir gelişme gösterdiği belirtilmiştir. Bununla birlikte, DAV'ın, aktiviteye bağlı nörotrofik faktörden türetilen ve DAV ile sinerjistik bir etkiye sahip olduğu gösterilen bir peptit olan SALLRSIPA (ADNF-9 olarak da bilinir) ile birleştirdiler. Kısa süreli tedaviden sonra hafızayı güçlendiren etkiler daha önce gösterilmiş olsa da, bunu deneyimizde doğrulayamadık. DAV, nörodejeneratif hastalıkların hastalığı modifiye edici tedavisi için umut verici bir peptittir, ancak tedavi muhtemelen tam gelişmiş patolojiden önce erken bir aşamada başlamalıdır. İleri bir patoloji aşamasındaki Tg-AH (APP23) fareleri tedavi edildiğinde, herhangi bir bilişsel gelişme görmek için muhtemelen uzun süreli tedavi gerekir [179]. Ayrıca, tubulin (MT'ler) ile DAV etkileşiminin, DAV aktivitesi için Tau-MT etkileşiminin gerekliliğini doğrulayarak, MT'ler üzerindeki tau bağlama bölgelerinin engellenmesiyle inhibe edilebileceği gösterilmiştir. DAV'ın Tau3R ile tercihli etkileşimi, karma ve Tau4R patolojilerindeki klinik etkinliği açıklayabilir ve Tau3R nörogelişimsel bozukluklarında etkililik önerebilir. DAV'ın tercihen sıçan beyinlerinden Tau3R proteini ile etkileşime girdiğini ve Tau4R'ye kıyasla çinko toksik koşul altında insan Tau3R'nin MT'lere

alımında artışa neden olduğunu gösterilmiştir. Ayrıca, tubulin ile DAV etkileşiminin, DAV aktivitesi için Tau-MT etkileşiminin gerekliliğini doğrulayarak, MT'ler üzerindeki tau bağlama bölgelerinin paklitaksel tarafından engellenmesiyle inhibe edildiğini gösterilmiştir. Paklitaksel ile bozulan tau-tubulin etkileşiminin, DAV'ın tubulin/mikrotübüller ile birleşmesini önlediğini ve DAV'ın koruyucu aktiviteyi inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu durum yalnızca tau'nun ifadesinin değil, aynı zamanda yeterli DAV'ın yeterli eylemi için tau-tubulin doğrudan ilişkisinin gerekliliğini de ortaya koymuştur [12].

Phoenix dactylifera ekstrakt tedavisinden sonra serum kreatinin, üre ve bilirubin parametrelerinde artışlar görülmüştür. Ekstraktla tedavi edilen gruptaki peroksidazlar (POD), GSH, CAT, SOD ve TBARS gibi antioksidan enzimlerin seviyeleri kontrol grubuna kıyasla yakın olan gelişmiş sonuçlar gösterdi. Genel olarak sonuçlar, *P. dactylifera* tohum ekstraktları ile tedavi edilen sıçanların hafıza ve davranışını iyileştirmede oldukça etkili olduğunu kanıtladı. Antioksidanlar ve enzimler de artışlar görülmesi sebebi ile AH tedavisi için aday olabileceği belirtilmiştir [184]. *Murraya koenigii* yapraklarının diyabetik farelerde alloxan kaynaklı bilişsel bozulma üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada, ardışık günlerde uygulamanın AChE aktivitesini belirgin şekilde azalttığı belirtilmiştir. Beyin dokusu homojenatlarında TBARS seviyesinde azalma ve CAT, GSH ve glutatyon redüktaz (GR) seviyelerinde artışlar sağlamıştır. *Murraya koenigii*, bunama hastaları için umut verici bir gıda takviyesi olabilir. *Murraya koenigii* (L.) bahar yaprağı özlerinin alloxan ile indüklenen diyabetik hayvanlarda bilişsel gerilemeyi, kolinerjik işlev bozukluğunu ve oksidatif hasarın azalmasını önleyebileceği sonucuna varılmıştır. Sonuçta, nörolojik dejeneratif bozukluklardan özellikle AH tedavisinde *Murraya koenigii* ekstraktlarının geleneksel kullanımının nörolojik gerekçelendirmeye uygun olduğu belirtilmiştir [185]. Başka bir çalışmada, icv STZ enjeksiyonu sonrasında 21 gün boyunca günlük tannik asit (TA) tedavisi uygulandığında Alzheimer tipi sporadik demans tipi modelde gözlenen hafıza eksikliklerini ve nörokimyasal değişiklikleri önleme yeteneğini araştırılmıştır. Sıçanlar, 21 gün boyunca günlük TA (30 mg/kg) ile tedavi edildi ve ardından icv STZ enjeksiyonu yapılmıştır. STZ'nin öğrenme ve hafıza bozukluklarına neden olduğu belirtilmiştir. TA ile tedavinin bu etkileri önleyebildiği vurgulanmıştır. STZ, serebral korteks ve hipokampüste AChE aktivitesinde artışa, Na⁺, K⁺-ATPaz aktivitesinde azalmaya ve TBARS, nitritler ve ROT seviyelerinin artmasına ve antioksidan enzim aktivitesinin azalmasını sağlayarak

oksidatif strese sebep olmuştur. TA ile uygulaması bu nörokimyasal değişikliklerin çoğunu önlemiştir. Nihayetinde, TA hafıza eksikliklerini, beyin enzim aktivitelerindeki değişiklikleri ve STZ'nin neden olduğu oksidatif hasarı önlemiştir. Bu nedenle TA, sporadik AH'nın önlenmesinde ilginç bir strateji olabilir. TA ile tedavinin, Y-labirent testindeki test fazında STZ tarafından indüklenen uzamsal bellek bozukluğunu önlediği gösterilmiştir. STZ grubundaki hayvanlar, kontrol grubuna kıyasla yeni kolda daha az zaman harcamışlardır. Nesne tanıma testinin eğitim aşaması, test grupları arasında bir etkileşim göstermemiş, bu da önemli bir fark olmadığını düşündürmüştür. Test aşamasında STZ grubunda TA ile tedavinin, kontrol grubuna kıyasla yeni bir nesnenin keşfedilmesi için harcanan toplam süreyi azalttığı ve TA tedavisinin bellek bütünlüğünü koruduğu belirtilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla STZ grubunda TBARS'ta önemli bir artış göstermesine rağmen TA tedavisinin korteks ve hipokampüste bu artışı engellediği belirtilmiştir. Nitrit ve ROT seviyeleri ile ilgili olarak STZ grubunda artışlar göstermiştir. TA tedavisinin icv-STZ grubunda nitrit ve ROS üretimini önlediği düşünülmektedir. Serebral kortekste ve hipokampüste toplam tiyol seviyelerinde önemli bir değişim görülmemiştir [186]. icv-STZ sıçanlarında TBARS, nitrit ve ROT seviyelerinde önemli bir artış gösterdi, bu da serebral korteks ve hipokampusta oksidatif stresin neden olduğu nöronal hasara işaret ediyor. Beyin dokusu, özellikle serbest radikal saldırılarına karşı savunmasız olan birçok doymamış yağ asidi içerir. Bu nedenle, STZ tarafından indüklenen TBARS'daki artış, icv-STZ'ye bağlı olarak nitrit ve ROS seviyelerindeki artışa bağlanabilir. Bu çalışmada, TA ile kronik tedavi, hem serebral kortekste hem de hipokampusta STZ'nin neden olduğu antioksidan enzim aktivitelerindeki azalmayı önlemiştir. Ayrıca TA, serebral yapılarda TBARS artışını ve ayrıca hipokampusta ROT ve nitrit düzeylerinin artışını engellemiştir. Açık alan testinde, kontrol grubuna kıyasla ne TA ne de STZ geçiş sayısını değiştirmemiştir. Bu yüzden TA ve STZ'nin herhangi bir motor değişikliğe neden olmadığını düşündürmektedir [186].

Skopolamin (SCO) tedavisi hafızayı ve bilişi bozmuş, oksidatif stresi artırmış, nörotransmitterleri azaltmış ve beyinde ciddi nörodejeneratif değişikliklere neden olmuştur. SCO enjeksiyonundan 90 dk sonra farklı dozlarda *nigella sativa* 400 mg/kg; biberiye 200 mg/kg; adaçayı 600 mg/kg ve ginseng 200 mg/kg özütleri kullanılmıştır. Deney sonrasında, dört bitki özünün tamamının uygulanmasıyla ölçülebilir bir şekilde hafiflettiği belirtilmiştir. SCO grubunun CAT seviyeleri kontrol grubuna oranla önemli ölçüde azalmıştır. 4 bitki özütünün uygulandığı gruplarda CAT seviyelerinde önemli

artışlar gözlenmiştir. SCO'nun kontrole göre TBARS düzeyini önemli ölçüde artırırken 4 bitki özütü ile tedavili grublarında, SCO grubuna kıyasla TBARS seviyesinde anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. SCO, kontrole göre AChE'nin beyin seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır. SCO grubun kontrol grubuna kıyasla çalışan bellekleri önemli derecede gerilemiştir. 4 bitki özütü tedavili gruplarda ise, SCO'nun neden olduğu hafıza bozukluğunu iyileştirdiği belirtilmiştir [187]. Mevcut çalışmada gruplar arası serum TNF- α seviyeleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Fakat STZ-DIDS ve STZ-DAV gruplarının beyin TNF- α seviyesi KONTROL grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır SHAM grubun serum IL-10 seviyesi hem KONTROL grubuna hem de STZ-DIDS-DAV gruplarına göre daha yüksek bulunurken, beyin IL-10 bakımından gruplar arasında fark saptanmamıştır. Benzer şekilde STZ-DAV grubunun serum TBARS seviyesi KONTROL ve SHAM grubuna göre daha yüksek olduğu saptanırken, STZ-DIDS-DAV grubunun beyin TBARS seviyesinin STZ grubundan daha düşük olduğu görülmüştür. Gruplar arasında serum CASP-3 seviyesi bakımından fark bulunmazken, STZ-DIDS grubunun beyin CASP-3 seviyesi KONTROL ve SHAM grubuna göre daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Alzheimer hastalığı, insanlarda ve hayvan modellerinde TSPO'daki değişiklikler açısından en çok çalışılan patolojidir. AH'nın moleküler aktörleri (amiloid ve tau) olduğu belirtilmiştir [188]. Transgenik (Tg) AH sıçanların hipokampusündeki TSPO seviyeleri yabani tip sıçanlara oranla anlamlı artış göstermiştir. Tg-AH sıçanların yaşları arttıkça 12 aylık olana kıyasla 24 aylık olan grupta bu oran şiddetlenmiştir. 12 aylık Tg-AH sıçanlar ve yabani tip sıçanların karaciğer, dalak, distal kolon, duodenum ve göz dahil perifer organları arasında ki TSPO seviyeleri karşılaştırıldığında yalnızca 24 aylık olan grubun gözlerinde ki TSPO miktarlarında artış gözlenmiştir. 24 aylık sıçanlarda 12 aylık Tg-AH sıçanlara göre duodenumda TSPO'da artış gözlenmiştir. Tg- AH sıçanlarında farklı beyin bölgelerindeki TSPO ekspresyonu kıyaslandığında, 12 aylık grubun yabani tip ve 21 aylık gruplara kıyasla yalnızca hipokampusünde önemli artış gözlenmiştir. 24 aylık Tg-AH grubunun TSPO seviyeleri, 12 aylık Tg-AH grubu, 12 aylık yabani grup, 24 aylık yabani gruba kıyasla hipokampus, beyincik, frontal korteks, striatum ve beyin kalıntılarında anlamlı artış gözlemlendi. Hipokampüstaki astrosit, mikrogliya ve endotel hücre grupları arasında karşılaştırma yapıldığında TSPO değerlerinin astrosit ve mikrogliya hücre gruplarında anlamlı artış sağladığı gözlemlendi. TSPO artışı sadece 24 aylık sıçanların striatum, frontal korteks, beyincik, beyin kalıntısı ve gözlerinde görüldü. 12 aylık

sıçanlarda ki amiloid birikinti seviyeleri, diğer beyin bölgeleriyle karşılaştırıldığında hipokampusta en yüksek gözlenmiştir. Hipokampüste, TSPO seviyelerinin yaşla birlikte düzenlendiğini ve bu artışların hücresel kökeninin geliştiği gösterilmiştir. 12 aylık sıçanlarda TSPO artışından astrositlerin sorumlu olduğu belirtilirken, 24 aylık sıçanlardaki TSPO seviyelerinden mikrogliaların sorumlu olduğu ifade edilmiştir. Tg – AH olan gruplarda ki TSPO artışındaki bu artış glial hücre sayısındaki artış olmadan, hücre başına TSPO alanlarının artışıyla ilişkilendirilmiştir. İnsan AH deneklerinin temporal korteksinde, doku seviyesinde gözlenen TSPO artışlarının, sıçanda olduğu gibi astrositler ve mikrogliadan kaynaklandığını fakat insan AH’da bu TSPO upregülasyonunun mikrogliyal hücre sayısındaki bir genişleme ile ilişkili olduğu belirtilmiştir [189]. Alzheimer hastalığının sıçan modelinde dopamin sistemi ve serotonin ile bağlantısındaki değişikliklerin araştırıldığı çalışmada, A β birikintilerinin varlığının ve TSPO’nun upregülasyonunun tek başına AH teşhisini temsil edemeyeceği belirtilmiştir. Bilişsel bozukluktaki nörotransmitter sistem tutulumu, bu monoaminerjik yollardaki işlev bozukluklarının, AH’da bellek bozukluğunun patofizyolojisine katılabileceği belirtilmiştir. 6 aylık yaşa sahip grupta TSPO aşırı ekspresyonu ilgili dopaminerjik sistem bölgeleri olan substantia nigra, pars compacta ve reticulata, ventral tegmental alan (VTA) dahil, hipokampus ve işitsel korteks, entorhinal korteks ve görsel korteks bölgelerinde artış göstermiştir [190]. Serotonin reseptör blokajına yanıt olarak 6 aylık Tg- AH sıçanlarda dopamin salınımının önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir. Bu fonksiyonel değişiklikler, sadece serotonin blokaj yoğunluğunun azalmasını değil, aynı zamanda dopaminerjik sistem alanlarında TSPO-iltihabı ve amiloid plakların birikmesini de yatkın hale getirmektedir [190]. Çalışmamızda serum ve beyin homojenatlarında ki TSPO seviyelerinde anlamlı fark görülmüştür. STZ-DIDS-DAV grubunun serum TSPO seviyesi hem STZ-DIDS grubuna STZ grubuna azalış gösterirken, STZ-DIDS grubunun beyin TSPO seviyesi ise STZ ve STZ-DAV gruplarına azalış göstermiştir. Buna ek olarak STZ-DIDS-DAV grubunun beyin TSPO değerleri sırasıyla STZ ve STZ-DAV gruplarına göre azalış göstermiştir.

Korteks ve hipokampüste AH sıçanların ROT yabani tip sıçanlara kıyasla anlamlı yüksek değerdeydi. Artan ROT seviyelerinin egzersiz eğitimi ile korteks ve hipokampüste önemli seviyede hafiflediği görüldü. 4-HNE ve lipid peroksidasyonunun AH grubunda artış gösterirken egzersiz gruplarında azaldığı bildirilmiştir. 12 aylık Tg-AH sıçanlarının, koşu bandı egzersizi sonrası mikroglia aktivasyonunu ve proinflatuar sitokinlerin salınımını

önemli ölçüde artırdığı belirtilmiştir. Proinflamatuvar sitokin seviyelerinin uzun süreli egzersiz eğitimiyle belirgin şekilde baskılandığını, ve antiinflamatuvar sitokinlerin yükseldiği belirtilmiştir. Koşu bandı egzersizi, Tg-AH sıçanların korteks ve hipokampusunda mikrogliyozu azaltır ve proinflamatuvar sitokin üretimini baskılamaktadır. Enflamatuvar sitokinlerin salınması üzerindeki etkisini incelemek için majör proinflamatuvar transkripsiyon faktörü NF- κ B, TNF- α ve IL-1 β seviyeleri karşılaştırıldı. Korteks ve hipokampus dokularındaki enflamatuvar sitokinlerin seviyeleri, Tg-AH sıçanların korteks ve hipokampusunda yabani sıçanlara kıyasla NF- κ B, TNF- α , IL-1 β önemli ölçüde artmıştır. Egzersiz eğitimi grubunda ise korteks ve hipokampus majör proinflamatuvar transkripsiyon faktörünü ve proinflamatuvar sitokin salınımı anlamlı azalmıştır. AH grubunda yabani gruba kıyasla IL-4, IL-10 ve IL-13 anti-enflamatuvar sitokin seviyelerinin baskılandığı görülmüştür [191]. Çalışmamızda beyin IL-10 seviyeleri arasında anlamlı fark gözlenmezken serum IL-10 seviyesinde ise KONTROL grubunun STZ-DIDS-DAV grubuna oranla anlamlı artış göstermiştir.

Voltaaj bağımlı anyon kanalları -1, AH'nın en önemli belirteçleri olan A β ve tau hiperfosforilasyonu, RONT başta olmak üzere birçok oksidatif stress parametrelerinin hücreye girişi ve apoptoz indüksiyonu için gerekli anyon kanallarıdır. VDAC1'in hücrenin yaşamı ve ölümündeki bu merkezi rolü, A β ve tau toksisitesi ile ilişkisi, nörodejeneratif hastalıklarda aşırı ekspresyonu özellikle AH gibi patolojilerde apoptozu ve düzensiz hücre metabolizmalarını hedefleyerek umut verici yenilikçi bir hedef haline getirilmelidir. Özetle, VDAC1'in hücrelerde ve mitokondrilerde aşırı ekspresyonunun, apoptoz indükleyicilerinin artmasıyla hücreyi ölüme götürdüğü birçok çalışma ile desteklenmektedir. Bu sebeple, VDAC1 oligomerizasyon seviyesinin ve apoptozun hedeflenmesinin, AH için yeni bir terapötik strateji olabileceği vurgulanmaktadır. Bu nedenle, VDAC1'in pro-apoptotik aktivitesini önlemenin, AH'da hücre ölümünü inhibe etmek için ideal bir yöntem olabileceği görülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

İntraserebroventriküler STZ uygulamasıyla sıçan beynin oksidatif stres temelli deneysel AH modeli başarılı şekilde oluşturulmuştur. Deneysel AH modelinde meydana gelen hücresel hasarlara karşı DAV ve DIDS uygulamasının toksik etkiye karşı tutumu ve koruyucu etkisi serum ve beyin dokularında biyokimyasal analizlerle sunulmuştur. DAV ve DIDS uygulamasının öğrenme ve bellek üzerine etkilerini değerlendirmek için RKL testinden yararlanılmıştır. DAV ve DIDS uygulamalarının serum TNF- α seviyeleri üzerine artış ve azalış sağlamadığı saptandı. Beyinde ki TNF- α seviyelerinde KONTROL grubunun STZ-DIDS ve STZ-DAV grubuna kıyasla önemli artış göstermiştir. STZ-DIDS-DAV uygulamasında farkın gözlenmemesi bu farmakolojik uygulamaların TNF- α üzerine ayrı ayrı daha etkili olabilir. DAV ve DIDS STZ ile AH modelinde bir göstergesi olan serum A β 1-42 ve TSPO, VDAC1 seviyelerinin düzenlenmesinde etkilidir. DAV ve DIDS uygulaması yapılan grubun ortalama serum TBARS seviyeleri beklenenin aksine KONTROL ve SHAM grubuna kıyasla artış göstermiştir. Beyin TBARS seviyeleri değerlendirildiğinde STZ-DIDS-DAV grubunda STZ grubuna kıyasla daha düşüktü. DAV ve DIDS'ın VDAC1 üzerine etki mekanizması ve apoptosisle ilişkisinin etki mekanizmasını belirlemek için mitofaji hedefli moleküler çalışmalar ile desteklenmelidir.

Alzheimer hastalığı ve nöronal VDAC1'in hedeflendiği ve ikincil habercilerin dahil çalışmalara ihtiyaç vardır. Deneysel AH modelinde DAV ve DIDS uygulamasının TNF- α düzeyini azaltabileceği tespit edilmiştir. DAV tek başına inflamasyonu azaltmaktadır. Fakat DAV ve DIDS birlikte uygulandığında daha etkili inflamasyonu azaltabilecekleri görülmüştür.

RKL testine göre, DAV ve DIDS uygulamasının hafıza üzerindeki etkilerinin uzun süreli ve daha yüksek dozlarda gözlenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. RKL testinde daha çok anlamlı verilerin ön eğitim fazında elde edildiği görülmüştür. Eğitim fazında anlamlı artışların gözlenmemiştir.

KAYNAKLAR

- [1] X. Du, X. Wang, and M. Geng, “Alzheimer’s disease hypothesis and related therapies”, *Translational Neurodegeneration*, c. 7, sayı 1, 2018.
- [2] “2022 Alzheimer’s disease facts and figures”, *Alzheimer’s Dement.*, c. 18, sayı 4, ss. 700–789, 2022.
- [3] V. Shoshan-Barmatz, E. Nahon-Crystal, A. Shteinfer-Kuzmine, and R. Gupta, “VDAC1, mitochondrial dysfunction, and Alzheimer’s disease”, *Pharmacological Research*, c. 131, ss. 87–101, 2018.
- [4] S. Reina and V. Checchetto, “Voltage-Dependent Anion Selective Channel 3: Unraveling Structural and Functional Features of the Least Known Porin Isoform”, *Front. Physiol.*, c. 12, ss. 2178, 2022.
- [5] V. Shoshan-Barmatz, S. Pittala, and D. Mizrachi, “VDAC1 and the TSPO: Expression, interactions, and associated functions in health and disease states”, *Int. J. Mol. Sci.*, c. 20, sayı 13, 2019.
- [6] V. Shoshan-Barmatz, A. Shteinfer-Kuzmine, and A. Verma, “VDAC1 at the Intersection of Cell Metabolism, Apoptosis, and Diseases”, c. 10, ss. 1485, 2020.
- [7] V. Shoshan-Barmatz, E. N. Maldonado, and Y. Krelin, “VDAC1 at the crossroads of cell metabolism, apoptosis and cell stress”, *Cell Stress*, c. 1, sayı 1, ss. 11, 2017.
- [8] P. Barragán-Iglesias *et al.*, “Inhibition of peripheral anion exchanger 3 decreases formalin-induced pain”, *Eur. J. Pharmacol.*, c. 738, ss. 91–100, 2014.
- [9] P. Nagakannan, M. I. Islam, S. Karimi-Abdolrezaee, and E. Eftekharpour, “Inhibition of VDAC1 Protects Against Glutamate-Induced Oxytosis and Mitochondrial Fragmentation in Hippocampal HT22 Cells”, *Cell. Mol. Neurobiol.*, c. 39, sayı 1, ss. 73–85, 2019.
- [10] V. Shoshan-Barmatz, S. Pittala, and D. Mizrachi, “VDAC1 and the TSPO: Expression, interactions, and associated functions in health and disease states”, *Int. J. Mol. Sci.*, c. 20, sayı 13, 2019.
- [11] I. Gozes and I. Divinski, “The femtomolar-acting NAP interacts with microtubules: Novel aspects of astrocyte protection”, *J. Alzheimer’s Dis.*, c. 6,

2004.

- [12] Y. Ivashko-Pachima, M. Maor-Nof, and I. Gozes, “NAP (davunetide) preferential interaction with dynamic 3-repeat Tau explains differential protection in selected tauopathies”, *PLoS One*, c. 14, sayı 3, ss. 1–20, 2019.
- [13] R. R. Leker *et al.*, “NAP, a femtomolar-acting peptide, protects the brain against ischemic injury by reducing apoptotic death”, *Stroke*, c. 33, sayı 4, ss. 1085–1092, 2002.
- [14] I. Gozes *et al.*, “NAP: Research and development of a peptide derived from activity-dependent neuroprotective protein (ADNP)”, *CNS Drug Rev.*, cs. 11, sayı 4, ss. 353–368, 2005.
- [15] I. Gozes, E. Giladi, A. Pinhasov, A. Bardea, and D. E. Brenneman, “Activity-Dependent Neurotrophic Factor: Intranasal Administration of Femtomolar-Acting Peptides Improve Performance in a Water Maze”, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, c. 293, sayı 3, 2000.
- [16] “2020 Alzheimer’s disease facts and figures”, *Alzheimer’s Dement.*, c. 16, sayı 3, ss. 391–460, 2020.
- [17] “Alzheimer’s Statistics | Alzheimers.net.” <https://www.alzheimers.net/alzheimers-statistics> (erişim 22 Mart 2023).
- [18] L. C. dos Santos Picanco *et al.*, “Alzheimer’s Disease: A Review from the Pathophysiology to Diagnosis, New Perspectives for Pharmacological Treatment”, *Curr. Med. Chem.*, c. 25, sayı 26, ss. 3141–3159, 2016.
- [19] “Dementia”, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia> (erişim 20 Nisan 2021).
- [20] World Alzheimer Report, “World Alzheimer Report 2018 | Alzheimer’s Disease International”, *World Alzheimer Report*, 2018. <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2020/> (erişim 13 Nisan 2021).
- [21] R. Fleming, J. Zeisel, and K. Bennett, “World Alzheimer Report 2020. Design, Dignity, Dementia: Dementia-related design and the built environment. Volume 1”, *Alzheimer’s Dis. Int.*, c. I, s. 96, 2020 (erişim 13 Nisan 2021). Erişim: <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2020/>

- [22] M. Prince, “World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia | Alzheimer’s Disease International”, *World Alzheimer’s Rep.*, 2015.
- [23] “TÜİK Kurumsal.” <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Istatistiklerle-Yaslilar-2022-49667> (erişim 21 Nisan 2023).
- [24] A. Kumar, J. Sidhu, A. Goyal, J. W. Tsao, and J. Svercauski, *Alzheimer Disease (Nursing)*. 2021. Erişim: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK568805/>
- [25] P. S. Aisen *et al.*, “On the path to 2025: Understanding the Alzheimer’s disease continuum”, *Alzheimer’s Research and Therapy*, c. 9, sayı 1, 2017.
- [26] B. De Strooper and E. Karran, “The Cellular Phase of Alzheimer’s Disease”, *Cell*, c. 164, sayı 4, ss. 603–615, 2016.
- [27] J. Hardy and D. J. Selkoe, “The amyloid hypothesis of Alzheimer’s disease: progress and problems on the road to therapeutics”, *Science*, c. 297, sayı 5580, ss. 353–356, 2002.
- [28] M. Verma, Z. Wills, and C. T. Chu, “Excitatory Dendritic Mitochondrial Calcium Toxicity: Implications for Parkinson’s and Other Neurodegenerative Diseases”, *Front. Neurosci.*, c. 12, 2018.
- [29] L. Wallace, O. Theou, K. Rockwood, and M. K. Andrew, “Relationship between frailty and Alzheimer’s disease biomarkers: A scoping review”, *Alzheimer’s Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.*, c. 10, sayı 1, ss. 394–401, 2018.
- [30] H. Hampel *et al.*, “The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer’s disease”, *Brain*, c. 141, sayı 7, ss. 1917–1933, 2018.
- [31] E. Mohandas, V. Rajmohan, and B. Raghunath, “Neurobiology of Alzheimer’s disease”, *Indian J. Psychiatry*, c. 51, sayı 1, ss. 55–61, 2009.
- [32] X. X. Dong, Y. Wang, and Z. H. Qin, “Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases”, *Acta Pharmacol. Sin.* 2009 304, c. 30, sayı 4, ss. 379–387, 2009.
- [33] J. Liu and L. Li, “Targeting Autophagy for the Treatment of Alzheimer’s Disease: Challenges and Opportunities”, *Front. Mol. Neurosci.*, c. 12, 2019.

- [34] W. G. Wood, L. Li, W. E. Müller, and G. P. Eckert, “Cholesterol as a causative factor in Alzheimer’s disease: A debatable hypothesis”, *J. Neurochem.*, c. 129, sayı 4, ss. 559–572, 2014.
- [35] J. M. Dietschy and S. D. Turley, “Thematic review series: Brain Lipids. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal”, *J. Lipid Res.*, c. 45, sayı 8, ss. 1375–1397, 2004.
- [36] I. Björkhem, S. Meaney, and A. M. Fogelman, “Brain Cholesterol: Long Secret Life behind a Barrier”, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, c. 24, sayı 5, ss. 806–815, 2004.
- [37] R. W. Mahley, “Central nervous system lipoproteins: ApoE and regulation of cholesterol metabolism”, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, c. 36, sayı 7, 2016.
- [38] J. M. Dietschy and S. D. Turley, “Cholesterol metabolism in the brain”, *Current Opinion in Lipidology*, c. 12, sayı 2, ss. 105–112, 2001.
- [39] N. P. Samant and G. L. Gupta, “Novel therapeutic strategies for Alzheimer’s disease targeting brain cholesterol homeostasis”, *Eur. J. Neurosci.*, c. 53, sayı 2, ss. 673–686, 2021.
- [40] T. Behl, I. Kaur, A. Sehgal, A. Kumar, M. S. Uddin, and S. Bungau, “The Interplay of ABC Transporters in A β Translocation and Cholesterol Metabolism: Implicating Their Roles in Alzheimer’s Disease”, *Mol. Neurobiol.*, c. 58, sayı 4, ss. 1564–1582, 2020.
- [41] X. Bai *et al.*, “The role of DHCR24 in the pathogenesis of AD: re-cognition of the relationship between cholesterol and AD pathogenesis”, *Acta Neuropathol. Commun.*, c. 10, sayı 1, s. 35, 2022.
- [42] J. Poirier, “Apolipoprotein E and cholesterol metabolism in the pathogenesis and treatment of Alzheimer’s disease”, *Trends Mol. Med.*, c. 9, sayı 3, ss. 94–101, 2003.
- [43] M. Simons, P. Keller, J. Dichgans, and J. B. Schulz, “Cholesterol and Alzheimer’s disease”, *Neurology*, c. 57, sayı 6, ss. 1089–1093, 2001.
- [44] K. Iqbal, F. Liu, C. X. Gong, A. C. del Alonso, and I. Grundke-Iqbal, “Mechanisms of tau-induced neurodegeneration”, *Acta Neuropathologica*, c. 118, sayı 1, ss. 53–

69, 2009.

- [45] S. A. Kent, T. L. Spires-Jones, and C. S. Durrant, “The physiological roles of tau and A β : implications for Alzheimer’s disease pathology and therapeutics”, *Acta Neuropathol.*, c. 140, sayı 4, ss. 417–447, 2020.
- [46] A. Roda, G. Serra-Mir, L. Montoliu-Gaya, L. Tiessler, and S. Villegas, “Amyloid-beta peptide and tau protein crosstalk in Alzheimer’s disease”, *Neural Regen. Res.*, c. 17, sayı 8, ss. 1666–1674, 2022.
- [47] T. Scholz and E. Mandelkow, “Transport and diffusion of Tau protein in neurons”, *Cell. Mol. Life Sci.*, c. 71, ss. 3139–3150, 2014.
- [48] E. Thies and E.-M. Mandelkow, “Missorting of Tau in Neurons Causes Degeneration of Synapses That Can Be Rescued by the Kinase MARK2/Par-1”, *J Neurosci.*, c.27, sayı 11, pp. 2896-907, 2007.
- [49] N. J. Janocko *et al.*, “Neuropathologically defined subtypes of Alzheimer’s disease differ significantly from neurofibrillary tangle-predominant dementia”, *Acta Neuropathol.*, c. 124, sayı 5, ss. 681-92, 2012.
- [50] O. A. Shipton *et al.*, “Tau Protein Is Required for Amyloid β -Induced Impairment of Hippocampal Long-Term Potentiation”, *J. Neurosci.*, c. 31, sayı 5, ss. 1688–1692, 2011.
- [51] L. L. Chen, Y. G. Fan, L. X. Zhao, Q. Zhang, and Z. Y. Wang, “The metal ion hypothesis of Alzheimer’s disease and the anti-neuroinflammatory effect of metal chelators”, *Bioorg. Chem.*, c. 131, ss. 106301, 2023.
- [52] A. F. T. Arnsten, D. Datta, K. Del Tredici, and H. Braak, “Hypothesis: Tau pathology is an initiating factor in sporadic Alzheimer’s disease”, *Alzheimer’s Dement.*, c. 17, sayı 1, ss. 115, 2021.
- [53] F. Kametani and M. Hasegawa, “Reconsideration of amyloid hypothesis and tau hypothesis in Alzheimer’s disease”, *Front. Neurosci.*, c. 12, 2018.
- [54] P. Mecocci *et al.*, “A Long Journey into Aging, Brain Aging, and Alzheimer’s Disease Following the Oxidative Stress Tracks”, *J. Alzheimer’s Dis.*, c. 62, sayı 3, ss. 1319, 2018.
- [55] R. L. Neve and D. L. McPhie, “Dysfunction of amyloid precursor protein signaling

in neurons leads to DNA synthesis and apoptosis”, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, c. 1772, sayı 4. ss. 430–437, 2007.

- [56] C. Guardia-Laguarta *et al.*, “Mild cholesterol depletion reduces amyloid- β production by impairing APP trafficking to the cell surface”, *J. Neurochem.*, c. 110, sayı 1, ss. 220–230, 2009.
- [57] D. J. Bonda *et al.*, “Oxidative stress in Alzheimer disease: A possibility for prevention”, *Neuropharmacology*, c. 59, sayı 4–5, ss. 290–294, 2010.
- [58] V. Cubinkova, “Alternative hypotheses related to Alzheimer’s disease”, *Sci. Cit. Index Expand. J. Cit. Reports/Science Ed. Bratisl Med J*, c. 119, sayı 4, 2018.
- [59] X. Zhu, H. gon Lee, G. Perry, and M. A. Smith, “Alzheimer disease, the two-hit hypothesis: An update”, *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.*, c. 1772, sayı 4, ss. 494–502, 2007.
- [60] S. Scheffer, D. M. A. Hermkens, L. Van Der Weerd, H. E. De Vries, and M. J. A. P. Daemen, “Vascular Hypothesis of Alzheimer Disease: Topical Review of Mouse Models”, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, c. 41, ss. 1265–1283, 2021.
- [61] F. Leng and P. Edison, “Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here?”, *Nat. Rev. Neurol.*, c. 17, sayı 3, ss. 157–172, 2020.
- [62] D. J. DiSabato, N. Quan, and J. P. Godbout, “Neuroinflammation: The Devil is in the Details”, *J. Neurochem.*, c. 139, sayı suppl 2, ss. 136, 2016.
- [63] D. M. Norden, P. J. Trojanowski, E. Villanueva, E. Navarro, and J. P. Godbout, “Sequential Activation of Microglia and Astrocyte Cytokine Expression Precedes Increased Iba-1 or GFAP Immunoreactivity following Systemic Immune Challenge HHS Public Access”, *Glia*, c. 64, sayı 2, ss. 300–316, 2016.
- [64] M. J. Berridge, “The Inositol Trisphosphate/Calcium Signaling Pathway in Health and Disease”, *Physiol. Rev.*, c. 96, sayı 4, ss. 1261–1296, 2016.
- [65] Y. Liu, M. Nguyen, A. Robert, and B. Meunier, “Metal Ions in Alzheimer’s Disease: A Key Role or Not?”, *Acc. Chem. Res.*, c. 52, sayı 7, ss. 2026–2035, 2019.
- [66] Y. Li, M. Nguyen, L. Vendier, A. Robert, Y. Liu, and B. Meunier, “X-Ray diffraction structure of Cu(II) and Zn(II) complexes of 8-aminoquinoline

derivatives (TDMQ), related to the activity of these chelators as potential drugs against Alzheimer's disease", *J. Mol. Struct.*, c. 1251, ss. 132078, 2022.

- [67] R. H. Swerdlow, J. M. Burns, and S. M. Khan, "The Alzheimer's Disease Mitochondrial Cascade Hypothesis NIH Public Access", *J Alzheimers Dis*, c. 20, sayı 2, ss. 265–279, 2010.
- [68] S. J. Baloyannis, "Mitochondrial alterations in Alzheimer's disease", *J. Alzheimers. Dis.*, c. 9, sayı 2, ss. 119–126, 2006.
- [69] R. H. Swerdlow, "Role and Treatment of Mitochondrial DNA-Related Mitochondrial Dysfunction in Sporadic Neurodegenerative Diseases", *Curr. Pharm. Des.*, c. 17, sayı 31, ss. 3356, 2011.
- [70] E. F. Fang *et al.*, "Mitophagy inhibits amyloid- β and tau pathology and reverses cognitive deficits in models of Alzheimer's disease", *Nature Neuroscience*, c. 22, sayı 3, ss. 401–412, 2019.
- [71] J. S. Kerr *et al.*, "Mitophagy and Alzheimer's Disease: Cellular and Molecular Mechanisms", *Trends Neurosci.*, c. 40, sayı 3, ss. 151–166, 2017.
- [72] R. H. Swerdlow, "The mitochondrial hypothesis: Dysfunction, bioenergetic defects, and the metabolic link to Alzheimer's disease", *Int. Rev. Neurobiol.*, c. 154, ss. 207–233, 2020.
- [73] I. Weidling and R. H. Swerdlow, "Mitochondrial Dysfunction and Stress Responses in Alzheimer's Disease", *Biology (Basel)*, c. 8, sayı 2, 2019.
- [74] K. A. Vossel *et al.*, "Tau reduction prevents Abeta-induced defects in axonal transport", *Science*, c. 330, sayı 6001, 2010.
- [75] R. H. Swerdlow, "Role and Treatment of Mitochondrial DNA-Related Mitochondrial Dysfunction in Sporadic Neurodegenerative Diseases", *Current Pharmaceutical Design*, c.17, 2011.
- [76] Y. Lv, L. Cheng, and F. Peng, "Compositions and Functions of Mitochondria-Associated Endoplasmic Reticulum Membranes and Their Contribution to Cardioprotection by Exercise Preconditioning", *Front. Physiol.*, c. 0, ss.1069, 2022.
- [77] Y. Tang, M. W. Lutz, and Y. Xing, "A systems-based model of Alzheimer's

- disease”, *Alzheimers. Dement.*, c. 15, sayı 1, ss. 168–171, 2019.
- [78] R. B. Maccioni, G. Farías, I. Morales, and L. Navarrete, “The Revitalized Tau Hypothesis on Alzheimer’s Disease”, *Arch. Med. Res.*, c. 41, sayı 3, ss. 226–231, 2010.
 - [79] S. Zilberzwige-Tal and E. Gazit, “Go with the Flow-Microfluidics Approaches for Amyloid Research”, *Chem. Asian J.*, c. 13, sayı 22, ss. 3437–3447, 2018.
 - [80] R. J. Winkler and V. K. Gribkoff, “Targeting putative components of the mitochondrial permeability transition pore for novel therapeutics”, *Biochem. Pharmacol.*, c. 177, 2020.
 - [81] M. Missaire *et al.*, “Long-term effects of interference on short-term memory performance in the rat”, *Plos One.*, c. 12, 2017.
 - [82] G. Čepukaitytė, J. L. Thom, M. Kallmayer, A. C. Nobre, and N. Zokaei, “The Relationship between Short- and Long-Term Memory Is Preserved across the Age Range”, *Brain Sci.*, c. 13, sayı 1, ss. 106, 2023.
 - [83] M. Cleal *et al.*, “The Free-movement pattern Y-maze: A cross-species measure of working memory and executive function”, *Behav. Res. Methods*, c. 53, sayı 2, ss. 536–557, 2021.
 - [84] H. Xu, P. Baracska, J. O’Neill, and J. Csicsvari, “Assembly Responses of Hippocampal CA1 Place Cells Predict Learned Behavior in Goal-Directed Spatial Tasks on the Radial Eight-Arm Maze”, *Neuron*, c. 101, sayı 1, ss. 119–132.e4, 2019.
 - [85] E. K. Miller, M. Lundqvist, and A. M. Bastos, “Working Memory 2.0”, *Neuron*, c. 100, sayı 2, ss. 463–475, 2018.
 - [86] A. Baddeley, “Working memory”, *Curr. Biol.*, c. 20, sayı 4, ss. R136–R140, 2010.
 - [87] D. S. Olton, “Mazes, maps, and memory”, *Am. Psychol.*, c. 34, sayı 7, ss. 583–596, 1979.
 - [88] N. M. White, “Multiple Memory Systems”, *Encycl. Neurosci.*, ss. 1107–1117, 2009.

- [89] S. C. Penley, C. M. Gaudet, and S. W. Threlkeld, "Use of an eight-arm radial water maze to assess working and reference memory following neonatal brain injury", *J. Vis. Exp.*, sayı 82, ss. 50940, 2013.
- [90] P. Grieb, "Intracerebroventricular Streptozotocin Injections as a Model of Alzheimer's Disease: in Search of a Relevant Mechanism", *Mol. Neurobiol.*, c. 53, sayı 3, ss. 1741–1752, 2016.
- [91] W. M. Pardridge, "Drug transport in brain via the cerebrospinal fluid", *Fluids Barriers CNS*, c. 8, sayı 1, 2011.
- [92] M. Salkovic-Petrisic, J. Osmanovic-Barilar, M. K. Brückner, S. Hoyer, T. Arendt, and P. Riederer, "Cerebral amyloid angiopathy in streptozotocin rat model of sporadic Alzheimer's disease: a long-term follow up study", *J. Neural Transm.*, c. 118, sayı 5, ss. 765–772, 2011.
- [93] M. Salkovic-Petrisic, A. Knezovic, S. Hoyer, and P. Riederer, "What have we learned from the streptozotocin-induced animal model of sporadic Alzheimer's disease, about the therapeutic strategies in Alzheimer's research", *J. Neural Transm.*, c. 120, sayı 1, ss. 233–252, 2013.
- [94] M. W. Paweł Grieb, Tomasz Kryczka, Michał Fiedorowicz, Małgorzata Frontczak-Baniewicz, "Expansion of the Golgi apparatus in rat cerebral cortex following intracerebroventricular injections of streptozotocin", *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 2004. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15586665/> (erişim Jun. 23, 2022).
- [95] S. C. Correia *et al.*, "Mitochondrial abnormalities in a streptozotocin-induced rat model of sporadic Alzheimer's disease", *Curr. Alzheimer Res.*, c. 10, sayı 4, ss. 406–419, 2013.
- [96] V. Tiwari, A. Kuhad, M. Bishnoi, and K. Chopra, "Chronic treatment with tocotrienol, an isoform of vitamin E, prevents intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive impairment and oxidative–nitrosative stress in rats", *Pharmacol. Biochem. Behav.*, c. 93, sayı 2, ss. 183–189, 2009.
- [97] G. Saxena, I. K. Patro, and C. Nath, "ICV STZ induced impairment in memory and neuronal mitochondrial function: A protective role of nicotinic receptor", *Behav. Brain Res.*, c. 224, sayı 1, ss. 50–57, 2011.
- [98] Y. Chen *et al.*, "A non-transgenic mouse model (icv-STZ mouse) of Alzheimer's disease: similarities to and differences from the transgenic model (3xTg-AD mouse)", *Mol. Neurobiol.*, c. 47, sayı 2, ss. 711–725, 2013.

- [99] T. de O. Santos, C. H. Y. Mazucanti, G. F. Xavier, and A. da Silva Torrão, “Early and late neurodegeneration and memory disruption after intracerebroventricular streptozotocin”, *Physiol. Behav.*, c. 107, sayı 3, ss. 401–413, 2012.
- [100] M. Antunes and G. Biala, “The novel object recognition memory: Neurobiology, test procedure, and its modifications”, *Cogn. Process.*, c. 13, sayı 2, ss. 93–110, 2012.
- [101] L. R. Taxier, K. S. Gross, and K. M. Frick, “Oestradiol as a neuromodulator of learning and memory”, *Nat. Rev. Neurosci.*, c. 21, ss. 535–550, 2020.
- [102] R. d’Isa, G. Comi, and L. Leocani, “Apparatus design and behavioural testing protocol for the evaluation of spatial working memory in mice through the spontaneous alternation T-maze”, *Sci. Reports*, c.11, sayı 1, ss. 1–13, 2021.
- [103] S. O. Ogren and O. Stiedl, e-book Encyclopedia of Psychopharmacology “Passive avoidance Hippocampal role in fear learning View project Integrative behavior and physiology View project”, 2015 (erişim mart 2021).
- [104] B. Barz, A. K. Buell, and S. Nath, “Compact fibril-like structure of amyloid β -peptide (1–42) monomers”, *Chem. Commun.*, c. 57, sayı 7, ss. 947–950, 2021.
- [105] L. Gremer *et al.*, “Fibril structure of amyloid- β (1-42) by cryo-electron microscopy”, *Science*, c. 358, sayı 6359, s. 116, 2017.
- [106] T. M. J. Allinson, E. T. Parkin, A. J. Turner, and N. M. Hooper, “ADAMs family members as amyloid precursor protein alpha-secretases”, *J. Neurosci. Res.*, c. 74, sayı 3, ss. 342–352, 2003.
- [107] F. M. LaFerla, K. N. Green, and S. Oddo, “Intracellular amyloid- β in Alzheimer’s disease”, *Nat. Rev. Neurosci.*, c. 8, sayı. 7, ss. 499–509, 2007.
- [108] Z. Breijyeh, R. Karaman, “Comprehensive Review on Alzheimer’s Disease: Causes and Treatment”, *Molecules*, c.8, sayı 25, 2020.
- [109] J. P. Brion, “Neurofibrillary Tangles and Alzheimer’s Disease”, *Eur. Neurol.*, c. 40, sayı 3, ss. 130–140, 1998.
- [110] A. Metaxas and S. J. Kempf, “Neurofibrillary tangles in Alzheimer’s disease:

Elucidation of the molecular mechanism by immunohistochemistry and tau protein phospho-proteomics”, *Neural Regen. Res.*, c. 11, sayı 10, ss. 1579–1581, 2016.

- [111] C. Betlazar, R. J. Middleton, R. Banati, and G. J. Liu, “The Translocator Protein (TSPO) in Mitochondrial Bioenergetics and Immune Processes”, *Cells*, c. 9, sayı 2, 2020.
- [112] E. Baez, G. P. Guio-Vega, V. Echeverria, D. A. Sandoval-Rueda, and G. E. Barreto, “4’-Chlorodiazepam Protects Mitochondria in T98G Astrocyte Cell Line from Glucose Deprivation”, *Neurotox. Res.*, c. 32, sayı 2, ss. 163–171, 2017.
- [113] J. Aguilar Diaz De Leon and C. R. Borges, “Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay”, *J. Vis. Exp.*, c. 2020, sayı 159, 2020.
- [114] M. A. Ghani, C. Barril, D. R. Bedgood, and P. D. Prenzler, “Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay”, *Food Chem.*, c. 230, ss. 195–207, 2017.
- [115] M. W. Park *et al.*, “NOX4 promotes ferroptosis of astrocytes by oxidative stress-induced lipid peroxidation via the impairment of mitochondrial metabolism in Alzheimer’s diseases”, *Redox Biol.*, c. 41, 2021.
- [116] C. Mas-Bargues, C. Escrivá, M. Dromant, C. Borrás, and J. Viña, “Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease”, *Arch. Biochem. Biophys.*, c. 709, ss. 108941, 2021.
- [117] G. Barrera *et al.*, “Lipid Peroxidation-Derived Aldehydes, 4-Hydroxynonenal and Malondialdehyde in Aging-Related Disorders”, *Antioxidants 2018, Vol. 7, Page 102*, c. 7, sayı 8, ss. 102, 2018.
- [118] A. S. Mendiola and A. E. Cardona, “The IL-1 β phenomena in neuroinflammatory diseases”, *J. Neural Transm.*, c. 125, sayı 5, ss. 781, 2018.
- [119] W. Ouyang and A. O’Garra, “IL-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: from Basic Science to Clinical Translation”, *Immunity*, c. 50, sayı 4, ss. 871–891, 2019.
- [120] W. Ouyang, S. Rutz, N. K. Crellin, P. A. Valdez, and S. G. Hymowitz, “Regulation and Functions of the IL-10 Family of Cytokines in Inflammation and Disease”, *Annu. Rev. Immunol.*, c. 29, ss. 71–109, 2011.

- [121] M. Saraiva *et al.*, “Identification of a Macrophage-Specific Chromatin Signature in the IL-10 Locus”, *J. Immunol.*, c. 175, sayı 2, ss. 1041–1046, 2005.
- [122] A. Smilansky, L. Dangoor, I. Nakdimon, D. Ben-Hail, D. Mizrachi, and V. Shoshan-Barmatz, “The voltage-dependent anion channel 1 mediates amyloid β toxicity and represents a potential target for Alzheimer disease therapy”, *J. Biol. Chem.*, c. 290, sayı 52, ss. 30670–30683, 2015.
- [123] C. P. Baines, R. A. Kaiser, T. Sheiko, W. J. Craigen, and J. D. Molkentin, “Voltage-dependent anion channels are dispensable for mitochondrial-dependent cell death”, *Nat. Cell Biol.*, c. 9, sayı 5, ss. 550–555, 2007.
- [124] P. Nagakannan, M. I. Islam, S. Karimi-Abdolrezaee, and E. Eftekharpour, “Inhibition of VDAC1 Protects Against Glutamate-Induced Oxytosis and Mitochondrial Fragmentation in Hippocampal HT22 Cells”, *Cell. Mol. Neurobiol.*, c. 39, sayı 1, ss. 73–85, 2019.
- [125] X. Zhou *et al.*, “Inhibition of VDAC1 Rescues A β 1-42-Induced Mitochondrial Dysfunction and Ferroptosis via Activation of AMPK and Wnt/ β -Catenin Pathways”, *Mediators Inflamm.*, c. 2023, ss. 1–13, 2023.
- [126] F. Li *et al.*, “The effect of BACE1-AS on β -amyloid generation by regulating BACE1 mRNA expression”, *BMC Mol. Biol.*, c. 20, sayı 1, ss. 1–10, 2019.
- [127] Y. W. Seo *et al.*, “The cell death-inducing activity of the peptide containing noxa mitochondrial-targeting domain is associated with calcium release”, *Cancer Res.*, c. 69, sayı 21, ss. 8356–8365, 2009.
- [128] J. Park, J. H. Han, S. H. Myung, and T. H. Kim, “Isothiocyanate groups of 4,4'-diisothiocyanatostilbene-2,2'-disulfonate (DIDS) inhibit cell penetration of octa-arginine (R8)-fused peptides”, *J. Pept. Sci.*, c. 26, sayı 3, 2020.
- [129] L. Du, A. Zahra, M. Jia, Q. Wang, and J. Wu, “Understanding the Functional Expression of Na⁺-Coupled SLC4 Transporters in the Renal and Nervous Systems: A Review”, *Brain Sci.*, c. 11, sayı 10, ss. 1276, 2021.
- [130] I. Zemlyak, S. Furman, D. E. Brenneman, and I. Gozes, “A Novel peptide prevents death in enriched neuronal cultures”, *Regul. Pept.*, c. 96, sayı 1–2, ss. 39–43, 2000.
- [131] M. Bassan *et al.*, “Complete Sequence of a Novel Protein Containing a

- Femtomolar-Activity-Dependent Neuroprotective Peptide”, *J. Neurochem.*, c. 72, sayı 3, ss. 1283–1293, 1999.
- [132] L. Beni-Adani *et al.*, “A Peptide Derived from Activity-Dependent Neuroprotective Protein (ADNP) Ameliorates Injury Response in Closed Head Injury in Mice”, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, c. 296, sayı 1, 2001.
- [133] O. Ashur-Fabian *et al.*, “Vasoactive intestinal peptide and related molecules induce nitrite accumulation in the extracellular milieu of rat cerebral cortical cultures”, *Neurosci. Lett.*, c. 307, sayı 3, ss. 167–170, 2001.
- [134] Y. Ivashko-Pachima and I. Gozes, “Activity-dependent neuroprotective protein (ADNP)-end-binding protein (EB) interactions regulate microtubule dynamics toward protection against tauopathy”, *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, c. 177, ss. 65–90, 2021.
- [135] I. Gozes *et al.*, “Novel tubulin and tau neuroprotective fragments sharing structural similarities with the drug candidate NAP (Davuentide)”, *J. Alzheimer’s Dis.*, c. 40, sayı S1, 2014.
- [136] Z. Breijyeh and R. Karaman, “Comprehensive Review on Alzheimer’s Disease: Causes and Treatment”, *Mol.*, c. 25, sayı 24, s. 5789, 2020.
- [137] “FDA Grants Accelerated Approval for Alzheimer’s Disease Treatment | FDA.” <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-grants-accelerated-approval-alzheimers-disease-treatment> (erişim 23 Mart 2023).
- [138] C. H. van Dyck *et al.*, “Lecanemab in Early Alzheimer’s Disease.” <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36449413/> (erişim 23 Mart 2023).
- [139] M. F. B. Gerzson *et al.*, “Tannic Acid Ameliorates STZ-Induced Alzheimer’s Disease-Like Impairment of Memory, Neuroinflammation, Neuronal Death and Modulates Akt Expression”, *Neurotox. Res.*, c. 37, sayı 4, ss. 1009–1017, 2020.
- [140] M. Göl, “TRPM2 katyon kanalı antagonisti olan N-(P-amilsinnamoil) antranilik asit’in, sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan hafıza bozukluğu modeli üzerine etkisinin araştırılması - Tez Arşivi.” (erişim 26 Mayıs 2021).
- [141] Y. Lu *et al.*, “Treadmill Exercise Exerts Neuroprotection and Regulates Microglial Polarization and Oxidative Stress in a Streptozotocin-Induced Rat Model of Sporadic Alzheimer’s Disease HHS Public Access”, *J Alzheimers Dis*, c. 56, sayı 4, ss. 1469–1484, 2017.

- [142] D. H. Choi *et al.*, “The effect of treadmill exercise on inflammatory responses in rat model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer’s type”, *J. Exerc. Nutr. Biochem.*, c. 18, sayı 2, ss. 225–233, 2014.
- [143] X.-B. Huang, Y.-J. Chen, W.-Q. Chen, N.-Q. Wang, X.-L. Wu, and Y. Liu, “Neuroprotective effects of tenuigenin on neurobehavior, oxidative stress, and tau hyperphosphorylation induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats”, *Brain Circ.*, c.4, sayı 1, ss. 24-32, 2018.
- [144] C. Jiang *et al.*, “Apelin-13 Suppresses Neuroinflammation Against Cognitive Deficit in a Streptozotocin-Induced Rat Model of Alzheimer’s Disease Through Activation of BDNF-TrkB Signaling Pathway”, *Front Pharmacol.*, c. 10, 2019.
- [145] F. Özsoy, “Streptozotosin ile Oluşturulan Nontransgenik Deneysel Alzheimer Modelinde Karayemiş Etkilerinin İncelenmesi”, İstanbul Üniversitesi -Cerrahpaşa, Yüksek Lisans Tezi, 2022.
- [146] C. Karthick, S. Nithiyanandan, M. M. Essa, G. J. Guillemin, S. K. Jayachandran, and M. Anusuyadevi, “Time-dependent effect of oligomeric amyloid- β (1–42)-induced hippocampal neurodegeneration in rat model of Alzheimer’s disease”, *Neurol. Res.*, c. 41, sayı 2, ss. 139–150, 2019.
- [147] P. A. Postu *et al.*, “Pinus halepensis essential oil attenuates the toxic Alzheimer’s amyloid beta (1-42)-induced memory impairment and oxidative stress in the rat hippocampus”, *Biomed. Pharmacother.*, c. 112, ss. 108673, 2019.
- [148] P. A. Postu *et al.*, “Lactuca capensis reverses memory deficits in A β 1-42-induced an animal model of Alzheimer’s disease”, *J. Cell. Mol. Med.*, c. 22, sayı 1, ss. 111, 2018.
- [149] T. Dara *et al.*, “Improvement of memory deficits in the rat model of Alzheimer’s disease by erythropoietin-loaded solid lipid nanoparticles”, *Neurobiol. Learn. Mem.*, c. 166, 2019.
- [150] M. Secher *et al.*, “Weight changes in Alzheimer’s disease patients with increased aberrant motor behavior”, *Int. J. Geriatr. Psychiatry*, c. 28, sayı 10, ss. 998–1004, 2013.
- [151] Z. Wang, Y. Chen, X. Li, P. Sultana, M. Yin, and Z. Wang, “Amyloid- β 1-42 dynamically regulates the migration of neural stem/progenitor cells via MAPK-ERK pathway”, *Chem. Biol. Interact.*, c. 298, ss. 96–103, 2019.

- [152] E. Chau and J. R. Kim, “ α -synuclein-assisted oligomerization of β -amyloid (1-42)”, *Arch. Biochem. Biophys.*, c. 717, 2022.
- [153] Y. Sato, M. Takiguchi, H. Tamano, and A. Takeda, “Extracellular Zn^{2+} -Dependent Amyloid- β 1–42 Neurotoxicity in Alzheimer’s Disease Pathogenesis”, *Biol. Trace Elem. Res.*, c. 199, sayı 1, ss. 53–61, 2021.
- [154] Y. Li *et al.*, “Validation of Plasma Amyloid- β 42/40 for Detecting Alzheimer Disease Amyloid Plaques”, *Neurology*, c. 98, sayı 7, ss. E688–E699, 2022.
- [155] I. Gozes, I. Divinski, and I. Piltzer, “NAP and D-SAL: neuroprotection against the β amyloid peptide (1–42)”, *BMC Neuroscience*, c. 9, sayı S3, 2008.
- [156] J. Zhang *et al.*, “Davunetide improves spatial learning and memory in Alzheimer’s disease-associated rats”, *Physiol. Behav.*, c. 174, ss. 67–73, 2017.
- [157] L. Bakota and R. Brandt, “Tau Biology and Tau-Directed Therapies for Alzheimer’s Disease”, *Drugs*, c. 76, sayı 3, ss. 301–313, 2016.
- [158] J. D. Baker, R. L. Uhrich, T. J. Strovas, A. D. Saxton, and B. C. Kraemer, “AlphaScreen Identifies MSUT2 Inhibitors for Tauopathy-Targeting Therapeutic Discovery”, *SLAS Discov.*, c. 26, sayı 3, ss. 400–409, 2021.
- [159] A. Bobba, G. Amadoro, V. A. Petragallo, P. Calissano, and A. Atlante, “Dissecting the molecular mechanism by which NH2htau and A β 1-42 peptides impair mitochondrial ANT-1 in Alzheimer disease”, *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.*, c. s1827, sayı 7, ss. 848–860, 2013.
- [160] Y. Matsuoka *et al.*, “A Neuronal Microtubule-Interacting Agent, NAPVSIPQ, Reduces Tau Pathology and Enhances Cognitive Function in a Mouse Model of Alzheimer’s Disease”, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, c. 325, sayı 1, ss. 146–153, 2008.
- [161] E. de Sousa *et al.*, “VDAC1 regulates neuronal cell loss after retinal trauma injury by a mitochondria-independent pathway”, *Cell Death Dis.*, c. 13, sayı 4, 2022.
- [162] A. Verma *et al.*, “The role of the mitochondrial protein VDAC1 in inflammatory bowel disease: a potential therapeutic target”, *Mol. Ther.*, c. 30, sayı 2, ss. 726–744, 2022.

- [163] A. Verma *et al.*, “Targeting the overexpressed mitochondrial protein VDAC1 in a mouse model of Alzheimer’s disease protects against mitochondrial dysfunction and mitigates brain pathology”, *Transl. Neurodegener.*, c.11, sayı 1, ss. 1–30, 2022.
- [164] J. Kim *et al.*, “VDAC oligomers form mitochondrial pores that release small mtDNA fragments and promote lupus-like disease”, *Science*, c. 366, sayı 6472, ss. 1531, 2019.
- [165] H. Xian *et al.*, “Oxidized DNA fragments exit mitochondria via mPTP- and VDAC-dependent channels to activate NLRP3 inflammasome and interferon signaling”, *Immunity*, c. 55, sayı 8, ss. 1370-1385.e8, 2022.
- [166] V. Shoshan-Barmatz, E. Nahon-Crystal, A. Shteinifer-Kuzmine, and R. Gupta, “VDAC1, mitochondrial dysfunction, and Alzheimer’s disease”, *Pharmacol. Res.*, c. 131, ss. 87–101, 2018.
- [167] L. E. Hebert, J. Weuve, P. A. Scherr, and D. A. Evans, “Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 census”, *Neurology*, c. 80, sayı 19, ss. 1778–1783, 2013.
- [168] M. Vijayan, R. V. Alvir, R. V. Alvir, L. E. Bunquin, J. A. Pradeepkiran, and P. H. Reddy, “A partial reduction of VDAC1 enhances mitophagy, autophagy, synaptic activities in a transgenic Tau mouse model”, *Aging Cell*, c. 21, sayı 8, 2022.
- [169] M. Vijayan and P. H. Reddy, “Reduced VDAC1, Maintained Mitochondrial Dynamics and Enhanced Mitochondrial Biogenesis in a Transgenic Tau Mouse Model of Alzheimer’s Disease”, *Int. J. Mol. Sci.*, c. 23, sayı 15, 2022.
- [170] A. Hadar *et al.*, “Introducing ADNP and SIRT1 as new partners regulating microtubules and histone methylation”, *Mol. Psychiatry*, c. 26, sayı 11, ss. 6550–6561, 2021.
- [171] S. Sragovich *et al.*, “The autism/neuroprotection-linked ADNP/NAP regulate the excitatory glutamatergic synapse”, *Transl. Psychiatry*, c. 9, sayı 1, 2019.
- [172] S. Mandel, G. Rechavi, and I. Gozes, “Activity-dependent neuroprotective protein (ADNP) differentially interacts with chromatin to regulate genes essential for embryogenesis”, *Dev. Biol.*, c. 303, sayı 2, 2007.
- [173] S. Sragovich, A. Merenlender-Wagner, and I. Gozes, “ADNP Plays a Key Role in Autophagy: From Autism to Schizophrenia and Alzheimer’s Disease”, *BioEssays*, c. 39, sayı 11, 2017.

- [174] B. Morimoto, I. LAnnOY, A. Fox, ... I. G.-C., and undefined 2009, “pharmacokinetics and distribution to brain after intravenous or intranasal administration to rat”, *researchgate.net*, (erişim: 01 Mart 2023). https://www.researchgate.net/profile/BruceMorimoto/publication/268149023_Davunetide_Pharmacokinetics_and_distribution_to_brain_after_intravenous_or_intranasal_administration_to_rat/links/54623bf0cf2cb7e9da64925/Davunetide-Pharmacokinetics-and-distribution-to-brain-after-intravenous-or-intranasal-administration-to-rat.pdf.
- [175] Y. Jouroukhin, R. Ostritsky, Y. Assaf, G. Pelled, E. Giladi, and I. Gozes, “NAP (davunetide) modifies disease progression in a mouse model of severe neurodegeneration: Protection against impairments in axonal transport”, *Neurobiol. Dis.*, c. 56, ss. 79–94, 2013.
- [176] A. Idan-Feldman *et al.*, “Davunetide (NAP) as a preventative treatment for central nervous system complications in a diabetes rat model”, *Neurobiol. Dis.*, c. 44, sayı 3, ss. 327–339, 2011.
- [177] D. C. Javitt *et al.*, “Effect of the neuroprotective peptide davunetide (AL-108) on cognition and functional capacity in schizophrenia”, *Schizophr. Res.*, c. 136, sayı 1–3, 2012.
- [178] M. Bose, G. Farias Quipildor, M. E. Ehrlich, and S. R. Salton, “Intranasal Peptide Therapeutics: A Promising Avenue for Overcoming the Challenges of Traditional CNS Drug Development”, *Cells*, c. 11, sayı 22, ss. 3629, 2022.
- [179] A. Van Dijck, D. Van Dam, and P. P. De Deyn, “NAP has no effect on spatial memory after short-term treatment in advanced stage Alzheimer’s disease mouse model”, *Peptides*, c. 30, sayı 12, 2009.
- [180] N. K. Sharma, N. K. Sethy, R. N. Meena, G. Ilavazhagan, M. Das, and K. Bhargava, “Activity-dependent neuroprotective protein (ADNP)-derived peptide (NAP) ameliorates hypobaric hypoxia induced oxidative stress in rat brain”, *Peptides*, c. 32, sayı 6, ss. 1217–1224, 2011.
- [181] I. Gozes, “NAP (Davunetide) Provides Functional and Structural Neuroprotection”, *Curr. Pharm. Des.*, c. 17, sayı 10, ss. 1040–1044, 2011.
- [182] M. Khaleghi-Mehr, A.-A. Delshad, S. Shafie-Damavandi, and M. Roghani, “Metformin mitigates amyloid β 1-40-induced cognitive decline via attenuation of oxidative/nitrosative stress and neuroinflammation”, *Metab. Brain Dis.*, c. 38, sayı 4, ss. 1–16, 2023.

- [183] I. Gozes, R. Alcalay, E. Giladi, A. Pinhasov, S. Furman, and D. E. Brenneman, "NAP accelerates the performance of normal rats in the water maze", *J. Mol. Neurosci.*, c. 19, sayı 1–2, ss. 167–170, 2002.
- [184] H. Ismail *et al.*, "Effects of Phoenix dactylifera against Streptozotocin-Aluminium Chloride Induced Alzheimer's Rats and Their In Silico Study", *Biomed Res. Int.*, c. 2023, 2023.
- [185] L. Bhupatiraju *et al.*, "Influence of Murraya koenigii extract on diabetes induced rat brain aging", *J. Med. Life*, c. 16, sayı 2, ss. 307, 2023.
- [186] M. F. B. Gerzson *et al.*, "Effects of tannic acid in streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's Disease: insights into memory, redox status, Na⁺, K⁺-ATPase and acetylcholinesterase activity", *Arch. Physiol. Biochem.*, c. 0, sayı 0, ss. 1–8, 2019.
- [187] A. K. Abdelghany, E. S. El-Nahass, M. A. Ibrahim, A. M. El-Kashlan, H. H. Emeash, and F. Khalil, "Neuroprotective role of medicinal plant extracts evaluated in a scopolamine-induced rat model of Alzheimer's disease", *Biomarkers*, c. 27, sayı 8, ss. 773–783, 2022.
- [188] B. B. Tournier, S. Tsartsalis, K. Ceyzériat, V. Garibotto, and P. Millet, "In Vivo TSPO Signal and Neuroinflammation in Alzheimer's Disease", *Cells*, c. 9, sayı 9, ss. 1941, 2020.
- [189] B. B. Tournier *et al.*, "Astrocytic TSPO Upregulation Appears before Microglial TSPO in Alzheimer's Disease", *J. Alzheimer's Dis.*, c. 77, sayı 3, 2020.
- [190] K. Ceyzériat *et al.*, "Alterations in dopamine system and in its connectivity with serotonin in a rat model of Alzheimer's disease", *Brain Commun.*, c. 3, sayı 2, 2021.
- [191] C. Wu *et al.*, "Effects of Exercise Training on Anxious-Depressive-like Behavior in Alzheimer Rat", *Med. Sci. Sports Exerc.*, c. 52, sayı 7, 2020.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı :Asuman ÇANAK

Yabancı Dili :İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Doktora	Fizyoloji Anabilim Dalı	Düzce Üniversitesi (Yatay Geçiş Yurtiçi Kurumlar arası)	2019 - devam
Doktora	Fizyoloji Anabilim Dalı	Gaziantep Üniversitesi	2017-2019
Y. Lisans	Fizyoloji Anabilim Dalı	Gaziantep Üniversitesi	2016
Lisans	Biyoloji Bölümü	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi	2013

YAYINLAR

SCI, SSCI ve AHCI İndekslerine Giren Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- Bozkurt A.S., Kaplan D.S., Çeribaşı A.O., Örkmez M., Çanak A., Tarakçıoğlu M. An Investigation of The Effect of Extracel ular Vesicles Isolated fromMouse Embryonic Fibroblasts on Wound Healing in an Experimental Diabetic Mouse Model. Anais Da Academia Brasileira De Ciencias, cilt.94, sa.1, ss.38-50,2022.
- Kaplan D.S.,Canak A., Isik E.,Orkmez M.,Kumru B. Relationship of fibroblast growth factor 21, sirtuin 1, visfatin, and regulators in children with short stature. Growth Factors, cilt.36, ss.172-177,2018.
- Comlekcioglu N.,Tutus A.,Cicekler M.,Canak A.,Zengin G. Investigation of Isatis

Tinctoria and Isatis Buschiana Stalks as Raw Materials for Pulp and Paper Production. Drvna Industrija, cilt.67, sa.3, ss.249-255,2016.

Kitap & Kitap Bölümleri

- Çanak A. Fibroblasts and their Biophysiological Effects. Advances in Medicine and Biology, Editör Leon V. Berhardt, NOVA Science Publishers Inc., New York, ss.75-103, 2022.

