

İLKER ÖNGÜÇ AYCAN	DİCLE ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.	DOKTORA TEZİ	DIYARBAKIR-2021
-------------------	------------------------------------	--------------	-----------------



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DEMANS MODELİNDE FASUDİL İLE
MEMANTİN'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

İlker Öngüç AYCAN
DOKTORA TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. İlker KELLE

DİYARBAKIR- 2021

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Doç. Dr. İlker KELLE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sevgili aileme manevi hiçbir yardımı esirgmeden yanımda oldukları için tüm kalbimle teşekkür ederim.

Bu tez Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından TIP-16023 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	I
TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	III
KISALTMA VE SİMGELER.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IX
TABLolar LİSTESİ.....	X
1. ÖZET.....	1
1.1. Türkçe Özet	1
1.2. İngilizce Özet	3
2. GİRİŞ VE AMAÇ	4
3. GENEL BİLGİLER.....	7
3.1. Demans	7
3.1.1. Epidemoloji.....	7
3.1.2. Klinik	9
3.1.3. Sınıflama.....	11
3.1.4. Etiyoloji	13
3.1.5. Risk Faktörleri	13
3.1.6. Tanı	14
3.1.7. Ayırıcı Tanı.....	14
3.2. Demans Subtipleri	15
3.2.1. Alzheimer Hastalığı (AH).....	15
3.2.1.1. Etyopatanez	15
3.2.1.2. AH Nöropatolojisi.....	16
3.2.1.3. Klinik Bulgular	17
3.2.1.4. Tanı	18
3.2.2. Vasküler Demans.....	18
3.2.3. Lewy Cisimcikli Demans	19
3.2.4. Frontotemporal Demans	20
3.2.5. Parkinson Hastalığı ve Demans	20
3.2.6. Huntington Hastalığı.....	21

3.2.7. Progressif Subranükleer Palsi	21
3.3.Hipokampus.....	21
3.3.1. Hipokampal Anatomi	22
3.3.2. Hipokampal Nörofizyoloji.....	26
3.3.3. Hipokampal Fonksiyonlar	28
3.4. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)	29
3.4.1. BDNF ve Hastalıklarla İlişkisi.....	31
3.4.2. BDNF Reseptörleri	32
3.4.3. BDNF ve Hipokampal Sinaptik Plastisite	33
3.5. Rho/Rho-Kinaz (ROCK) Protein Ailesi.....	35
3.5.1. Rho Proteinleri.....	36
3.5.2. Rho-Kinaz (ROCK)'ın Doku Alanları ve Hücre İçindeki Dağılımı.....	38
3.5.3. Rho Proteinleri ve ROCK Aktivitesinin Düzenlenmesi	38
3.6. Hipokampal Nörogenez ve Aksonal Rejenerasyonda Rho/ROCK Aktivitesi	39
3.7.Oksidatif Stres	40
3.8.Glutamat	40
3.8.1.Glutamat Reseptörleri.....	40
3.9. N-Metil-D-Aspartat (NMDA) Reseptörleri.....	41
3.9.1.NMDA Reseptör Kanalları	42
3.9.2.NMDA Reseptör Tipleri	43
3.10. Fasudil	44
3.11. Memantin.....	45
4. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	47
4.1. Çalışma Planı.....	47
4.2. Deney Hayvanı Materyali	47
4.3. Deney Hayvanlarında Demans Modelinin Oluşturulması.....	48
4.4. Deney Hayvanlarına Fausdil Uygulaması	48
4.5. Deney Hayvanlarına Memantin Uygulaması	48
4.6. Deneyin Sonlandırılması	48
4.6.1. Modified Elevated Plus Maze (Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirenti) Testi	49
4.6.2. Pasif Sakınma (Passive Avoidance) Testi	49

4.6.3. Open Field (Açık Alan) Testi	51
4.6.4. Novel Object Recognition (Yeni Nesne Tanıma) Testi	52
4.6.5. Hot Plate Testi	53
4.7. Biyokimyasal Analizler	54
4.8. İstatistiksel Analiz	54
5. BULGULAR	55
5.1. Deney Gruplarının Ağırlık Değişimine Ait Bulgular	55
5.2. Davranış Deneylerine Ait Bulgular	55
5.2.1. Modified Elevated Plus Maze (Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirenti) Testi Ölçümleri	55
5.2.2. Hot Plate (Sıcak Tabaka, HP) Testi Ölçümleri	56
5.2.3. Novel Object Recognition (Yeni Nesne Tanıma) Testi	57
5.2.4. Open Field (Açık Alan) Testi	58
5.2.5. Pasif Sakınma Testi	60
5.3. Biyokimyasal Bulgular	61
5.3.1. ABETA Düzeyleri	61
5.3.2. BDNF Düzeyleri	62
5.3.3. Kaspaz-3 Düzeyleri	62
5.3.4. CREB1 Düzeyleri	63
5.3.5. pMAPT/pTAU Düzeyleri	64
TARTIŞMA	65
SONUÇ	73
KAYNAKLAR	76
ÖZGEÇMİŞ	92
EKLER	93
Ek 1 Etik Kurul İzin Belgesi	93
Ek 2 Tez İntihal Formu	94
ORJİNALLİK RAPORU	95

KISALTMA VE SİMGELER

A β	: Amiloid Beta
ADRDA	: Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
AH	: Alzheimer Hastalığı
APA	: American Psychological Association
APO E ϵ 4	: Apolipoprotein E ϵ 4
APP	: Amiloid Öncü Protein
BDNF	: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CA	: Cornu Ammonis
Ca	: Kalsiyum
cAMP	: Cyclic Adenosine Monophosphate Siklik Adenosin Monofosfat
Cas3	: Caspase3
CO	: Karbon Monoksit
CREB 1	: cAMP Response Element Protein 1 : cAMP Yanıt Elemanı Bağlayıcı Protein 1
CREB	: cAMP Response Element Binding
DG	: Dentat Girus
DSM	: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı veya Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EC	: Entorhinal Korteks
EPSP	: Eksitator Post-Sinaptik Potansiyeli
GABA	: γ -aminobutirik asit
GTPaz	: Guanozin Trifosfataz
HFS	: High Frequency Stimulation Yüksek Frekanslı Uyarım
HP	: Hot Plate Sıcak Tabaka

kDa	: kiloDalton
KO	: Knockout
LC	: Locus Coeruleus
LCD	: Lewy Cisimcikli Demans
LTD	: Uzun Dönem Baskılama
LTP	: Long-Term Potentiation Uzun Dönem Güçlendirme
MA	: Moleküler Ağırlık
MAP	: Mikrotübülle Bağlantılı Proteinler
MHC-I	: Major Histo-Uyumluluk Kompleksi I
MR	: Manyetik Rezonans
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
mV	: miliVolt
mRNA	: messengerRNA (mesajcıRNA)
NFκB	: Nükleer Faktör-Kappa B
NINCDS	: National Institute of Neurological and Communicative Disorders Ulusal Nörolojik Ve İletişimsel Bozukluklar Enstitüsü
NGF	: Sinir Büyüme Faktörü Nerve Growth Factor
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
NMDAR	: N-Metil-D-Aspartat Reseptörü
NOR	: Novel Object Recognition Yeni Nesne Tanıma
NSAİİ	: Nonsteroid Antiinflatuar İlaçlar
OF	: Open Field Açık Alan
p75NRT	: p75 Nörotrofin Reseptörü
PET	: Pozitron Emisyon Tomografi
pMAPT/pTAU	: Phosphorylated Microtubule-Associated Protein Tau Fosforile Mikrotübül İle İlişkili Protein Tau
PPA	: Primer Progressif Afazi
PSP	: Progressif Supranükleer Palsi

PTEN	: Phosphatase and Tensin Homolog Fosfataz ve Tensin Homologu
RBB	: Rho Proteinlerinin Bağlanma Bölgesi
REM	: Rapid Eye Movement
RhoGEF	: Rho Guanin Nükleotit Değiş-Tokuş Faktörü
RI	: Ratio Indeks Oran İndeksi
ROCK	: Rho-Kinaz
Sko+Fas+Mem	: Skopolamin + Fasudil + Memantin
Sko+Fas	: Skopolamin + Fasudil
Sko+Mem	: Skopolamin + Memantin
SN	: Substansia Nigra
TDM	: Time Division Multiplexing Zaman Bölmeli Çoğullama
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
Trk	: Tropomyosin-Related Kinase Tropomiyozin İlişkili Kinaz
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
Zn	: Çinko

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Apoptozda ROCK (Rho kinaz) I ve II'nin farklı şekillerdeki aktivasyonu ve buna bağlı apoptotic membrane tomurcuklanmasının oluşumu.....	36
Şekil 2.	ROCK'un Moleküler Yapısı	37
Şekil 3.	Fausdilin Kimyasal Yapısı	45
Şekil 4.	Memantin Kimyasal Yapısı	46
Şekil 5.	Modified Elevated Plus Maze (Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirenti) Testi.....	49
Şekil 6.	Pasif Sakınma (Passive Avoidance) Testi.....	51
Şekil 7.	Open Field (Açık Alan) Testi.....	52
Şekil 8.	Novel Object Recognition (Yeni Nesne Tanıma) Testi	53

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.	Demansların etyolojik sınıflaması.....	12
Tablo 2.	Deneklerdeki ağırlık değişimi	55
Tablo 3.	Modified Elevated Plus Maze (Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirenti) testi sonuçları	56
Tablo 4.	Deney gruplarının sıcak tabaka (hot plate) testi ölçümlerinin gruplara göre değişimine ait bulgular	57
Tablo 5.	Deney gruplarının NOR testi RI ortalamalarına göre yapılan ölçümlerin gruplara göre değişimine ait bulgular	57
Tablo 6.	Deney gruplarının Open Field (of, açık alan) testi tdm ölçümlerinin gruplara göre değişimine ait bulgular	58
Tablo 7.	Deney gruplarının OF testi centertime ölçümlerinin gruplara göre değişimine ait bulgular	59
Tablo 8.	Deney gruplarının OF testi centerfr ölçümlerinin gruplara göre değişimine ait bulgular	60
Tablo 9.	Pasif sakınma testi sonuçları	60
Tablo 10.	ABETA düzeyleri.....	61
Tablo 11.	BDNF düzeyleri	62
Tablo 12.	Cas3 düzeyleri	63
Tablo 13.	CREB1 düzeyleri	63
Tablo 14.	pMAPT/pTAU düzeyleri	64

Deneysel Demans Modelinde Fasudil İle Memantin'in Etkilerinin Araştırılması

Öğrencinin Adı ve Soyadı: İlker Öngüç AYCAN

Danışmanı: Doç. Dr. İlker Kelle

Anabilim Dalı: Tıbbi Farmakoloji

1.1. ÖZET

Amaç: Bu araştırmada, Rho/Rho Kinaz yolağı ve Glutamat NMDA reseptörleri gibi iki farklı hedefi bloke ederek Alzheimer hastalığı patojenezi üzerine tek başlarına kullanıldıklarında olumlu etkiler gösteren sırasıyla fasudil ile memantin skopolamin ile deneysel demans oluşturulmuş deneklerde bir arada kullanılmaları halinde cebirsel toplamın üzerinde olası bir koruyuculuğun elde edilip edilemeyeceğinin değerlendirilmesi yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmada 3-4 haftalık 56 adet erkek BALB/c fare her grupta 8 fare olmak üzere rastgele 7 gruba ayrılmıştır. Tüm gruplara 14 gün süreyle olmak üzere; $G_{kontrol}$: 1 ml 0.9% salin/g i.p., G_{skop} : 3 mg/kg/g skopolamin i.p., G_{fas} : 10 mg/kg/g Fasudil i.p., G_{mem} : 3 mg/kg/g Memantin i.p., $G_{skop+fas}$: 3 mg/kg/g skopolamin i.p. ve 10 mg/kg Fasudil i.p., $G_{skop+mem}$: 3 mg/kg skopolamin i.p. ve + 3 mg/kg/g Memantin i.p. ve $G_{skop+fas+mem}$: 3 mg/kg/g skopolamin i.p. ve + 10 mg/kg/g Fasudil i.p. + 3 mg/kg/g Memantin i.p. uygulanmıştır.

İlaç uygulamalarını takiben, bilişsel fonksiyon tayini için davranış deneyleri gerçekleştirilmiştir. Deneklerin beyin dokularında ELİSA yöntemiyle ABETA, BDNF, Cas3, CREB 1 ve pMAPT/pTAU düzeyleri ölçülmüştür.

Bulgular: Skopolamin ile Alzheimer benzeri demans oluşturulmuş deneklerde ABETA, CREB1 ve pMAPT/pTAU düzeyleri arasında gruplara göre anlamlı düzeyde farklılık saptanmıştır. Bu bulgu, Fasudil ve Memantin sinaptik plastisite üzerinde olumlu değişikliklere neden olduğunu göstermektedir. Bu durumun olasılıkla Rho proteinlerinin ve efektörü olan ROCK sinyal yolağının sinaptik fonksiyonlar üzerindeki etkisine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Sonuç: Hipokampal ğrenme ve bellek üzerinde hücresel yanıtlarda değişikliğe neden olan ROCK sinyal yolağı nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde terapötik bir hedef olarak dşnlmektedir.

Anahtar Sözcükler: Demans, BDNF, Fasudil, Memantin, NMDA



Investigation Of The Effects Of Fasudil And Memantine In Experimental Dementia Model

Student's Surname and Name: AYCAN İlker Öngüç

Adviser of Thesis: Assoc. Prof. Dr. İlker Kelle

Department: Medical Pharmacology

1.2. ABSTRACT

Objective: In this study, fasudil and memantine, which provide benefits in Alzheimer's disease by blocking the Rho / Rho Kinase pathway and Glutamate NMDA receptors when used alone, were used together against scopolamine-induced experimental dementia and their possible synergistic interactions were investigated.

Materials and Methods: 56 male BALB / c mice, 3-4 weeks old, were randomly divided into 7 groups, 8 in each group. G_{control}: 1 ml 0.9% saline ip, G_{skop}: 3 mg / kg Scopolamine ip, G_{fas}: 10 mg / kg Fasudil ip, G_{mem}: 3 mg / kg Memantine ip, G_{skop + fas}: 3 mg, once a day for 14 days Scopolamine ip / kg and Fasudil ip 10 mg / kg, G_{skop + mem}: 3 mg / kg scopolamine i.p. and + 3 mg / kg Memantine ip and G_{skop + fas + mem}: 3 mg / kg Scopolamine i.p. and + 10 mg / kg Fasudil i.p. + 3 mg / kg Memantin i.p. applied.

Behavioral experiments were carried out to determine cognitive function. Levels of markers such as ABETA and BDNF were measured in the brain tissues of the subjects.

Results: Levels of biochemical markers in scopolamine group were found to be different compared to other groups. This finding suggests that Fasudil and Memantine cause positive changes on synaptic plasticity.

Conclusion: The ROCK signaling pathway, which causes changes in cellular responses on hippocampal learning and memory, is considered a therapeutic target in the pathogenesis of neurodegenerative diseases.

Key Words: Dementia, BDNF, Fasudil, Memantine, NMDA

2. GİRİŞ VE AMAÇ

Demans merkezi sinir sisteminde zihinsel işlevlere ait nöral altyapıların primer veya sekonder olarak hasarlanması sonucu birçok kognitif alanda bozulmayla giden, günlük yaşam aktivitesi ve işlevsellikte kısıtlamaların görüldüğü sıklıkla ilerleyici bir tablodur (1). Yaş ilerledikçe demans sıklığı artmaktadır. 65 yaşında demans prevalansı ortalama %5 iken her 5 yılda bir ikiye katlanarak 85 yaşın üzerinde %40-50 civarına ulaşmaktadır (2).

Demans, dünya genelinde giderek yaygınlaşması dolayısıyla hem bireysel hem de toplumsal bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Alzheimer hastalığı primer demans sendromları içinde dejeneratif demanslar altgrubunda bulunup primer dejeneratif demansların büyük çoğunluğunu oluşturur (1). Yaşlı nüfusunun artmasıyla dünya genelinde artan bir morbidite ve mortalite nedenidir. Bütün demansların yaklaşık %50-70'inden sorumludur. Metabolik düzensizlikler, oksidatif stres ve kronik nöroinflamasyon gibi patolojik süreçlere bağlı gelişen Alzheimer hastalığı; nöronal hücre ölümü, hücre dışı β -amiloid, hücre içinde tau proteinini de içeren nörofibriller yumakların birikimi zemininde santral kolinerjik aktivitede bozulma ile karakterizedir (3).

AH'nın tedavisinde günümüze değin, nöronal kaybı önlemek amacıyla sekretaz inhibitörleri veya modülatörleri, nörofibriller yumak oluşumunu engelleyen NC-531 gibi ajanlar, statin bileşikler, kaspaz inhibitörleri, kolinomimetikler, NMDA reseptör antagonistleri ve çeşitli farmakolojik ajanların yanında farklı aşılama stratejileri kullanılmıştır (4,5).

Klinik gidişatı durduramamakla birlikte tüm sayılan yaklaşımlar arasında Donezepil ve Rivastigmin gibi santral etkili kolinomimetikler ile kolinerjik aktivitenin güçlendirilmesi bir adım öne çıkmakta ve günümüzde demans tedavisinin temelini oluşturmaktadır (6). Zira, birçok araştırmacı özellikle kısa dönem bellekteki bozulmayla ilişkili olarak kolinerjik işlevdeki bozulmayı ortaya koymuştur. Örneğin, muskarinik reseptörlerin skopolamin gibi bir ilaçla bloke edilmesi, Alzheimer hastalığındaki bellek bozukluğuna benzer şekilde, normal sağlıklı bireylerde de

bellek bozukluğu ortaya çıkarabilmektedir ve bu yöntem sık kullanılan deneysel demans modellerinden biri olmuştur (3).

Prognoz açısından AH'nın seyrinde beklenen başarının elde edilemeyeşi hastalığın fizyopatolojisinde farklı olası mekanizmaların rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Yaklaşık 30 yıldır süregelen çalışmalar, kolinerjik aktivitedeki zaafiyetin yanı sıra N-metil D-aspartat reseptörlerinin glutamat ile aşırı uyarılmasına bağlı eksitotoksisteden ileri gelen nöronal hasarın da AH patojenezinde rol oynadığını göstermiştir(6). Glutamat NMDA antagonisti memantin ise bilhassa orta ve ağır şiddetteki Alzheimer hastalığı olgularının tedavisinde fayda sağlayabileceği ifade edilmektedir (7,8).

NMDA reseptörleri gibi bir diğer olası mekanizma da hücre içi sinyal yolları arasında yer alan Rho/Rho kinaz yolağıdır. Farklı pek çok fizyolojik hücresel etkiye aracılık etmesinin yanı sıra gerek glutamat aracılı gerekse travmatik beyin hasarı sonrası Rho-kinazın kortikal ve hipokampal aktivitesinin yükselmesi bu yolağın inhibitörlerinin AH tedavisinde de fayda sağlayabileceğini düşündürmektedir. Nitekim, Rho-kinaz inhibitörü Fasudil'in retinal glutamat aracılı eksitotoksistede ve nöroinflamasyon kaynaklı epilepside başarılı olduğu gösterilmiştir(7,9).

Bu araştırmanın amacı, Rho/Rho Kinaz yolağı ve Glutamat NMDA reseptörleri gibi iki farklı hedefi bloke ederek Alzheimer hastalığı patojenezi üzerine olumlu etkiler gösteren sırasıyla fasudil ile memantin tek başlarına kullanıldıklarında tedavi edici etkileri skopolamin ile Alzheimer benzeri demans oluşturulmuş deneklerde karşılaştırmalı olarak incelenmesidir. Bu amaç kapsamında, fasudil ile memantin bir arada kullanılmaları halinde klinik faydalanım ve patolojinin sınırlandırılması açısından cebirsel toplamın üzerinde bir koruyuculuğun elde edilip edilemeyeğinin değerlendirilmesi yapılmıştır. Ayrıca, gözlemsel davranış deneylerinin gerçekleştirilmesini takiben deney hayvanlarından alınan; tutulumun ekseriyetle izlendiği hipokampal ve kortikal beyin dokusu örneklerinde, ELİSA yöntemi ile β -amiloid, fosforile tau, Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) düzeyleri ve kaspaz 3 aktivitesinin ölçümü yapılmıştır.

Araştırmadan elde edilen sonuçların ilgili literatürdeki mukayeseli ve kümülatif koruyuculuk anlamında mevcut veri eksikliğini doldurması ve deneysel demans modeli ile ilgili yapılacak araştırmalarda temel teşkil etmesi açısından önemli olduğu düşünölmektedir.



3. GENEL BİLGİLER

3.1.Demans

Demans, akıldan yoksunluk anlamına gelen latince orjinli bir kelimedir. Kelimeyi ilk kez kullananın Romalı hekim Celsus olduğu düşünülmektedir. Kavram XX. yy başlarına kadar akıl hastalıklarını karşılamak için kullanılmıştır (10). Alman psikiyatrist ve nöropatolog Alois Alzheimer'ın bir olgusu ve bu olguyla ilgili derinlemesine sorgulaması kavramın karşıladığı anlam evrenini büyük ölçüde değiştirmiştir. Alois Alzheimer Frankfurt'ta çalışırken sanrıları ve kısa süreli hafıza defekti olan 51 yaşındaki Auguste Deter ile karşılaştı. Nisan 1906'da Deter ölünce Alzheimer hastanın dosyasını ve otopsi için beynini Munich'e, halen çalıştığı Kraepelin'in laboratuvarına getirtti. Burada gümüş boyası tekniğiyle hastanın beyinde "amyloid" plakları ve "neurofibrillary" yumakları gözlemledi (11).

Kasım 1906'da ilk kez hastalığın patolojisini ve klinik semptomlarını kongrede sunulmuştur. Alman nörolog Arnold Pick'in 1908 otopsi gözlemlerinde de benzer nörodejeneratif bulgular raporlaması, demansın organik kökenli bir beyin sendromu olduğunu desteklenmiştir. Demans bir semptomlar ve bulgular kümesi bir sendromdur. Dikkat, bellek, hesaplama gibi bilişsel işlevlerde, kazanılmış entelektüel becerilerde ilerleyici bir çözülme demektir. Demansda en önemli klinik belirtiler kognitif alanda görülür. İlk semptomlar sıklıkla bellekle ilgilidir (12, 13).

3.1.1. Epidemoloji

Toplumlarda yaş ortalamasının ve yaşam beklentisinin artmasıyla demans sıklığı artmaktadır. 2015 te yayınlanan Dünya Alzheimer Raporuna göre dünya genelinde 46,8 milyon insan demans tanısına sahiptir. Bu sayının 2030 yılında 74 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (14). İleri yaş, aile öyküsü, düşük eğitim düzeyi, apolipoprotein Eε4 (ApoEε4) allelinin varlığı, presenilin gen mutasyonu, down sendromu demans için risk faktörü olarak düşünülmüştür (15-17).

Demansı oluşturan hastalıkların dağılımına bakıldığında büyük çoğunluğun Alzheimer hastalığı (AH) tarafında teşkil edildiği görülür. Demansın yaygın tipleri

ve sıklığa göre dağılımı; %50-70 arası Alzheimer, %15-25 arası Vasküler demans, %5-10 arası Lewy Cisimcikli Demans, %5'i Frontotemporal Demans ve %5-10 arası Alkol Ve İlaç Kullanımına Bağlı Gelişen Demans olduğu belirtilmiştir (17).

Demans Prevalansı: Prevalans ya da prevalans hızı sık kullanılan epidemiyolojik kavramlardandır. Belirli bir süre içinde belirlenmiş bir populasyonda saptanan eski ve yeni tüm hastaların belirlenen popülasyona bölünmesiyle hesaplanır. Demansla ilgili popülasyon bazlı çalışmaların geçmişi 1980' lere dek uzanır (18). Demansa ilişkin farkındalığın artmasıyla beraber demansla ilgili çalışmaların sayısı da artmaktadır. Farklı coğrafyalarda demans prevalansı ile ilgili çalışmalarda farklı oranlar göze çarpmaktadır. Bunda kabul edilen yaş noktası, kullanılan tanı kriterleri gibi metodolojik farklılıkların da muhtemel payı vardır. Farklı epidemiyolojik çalışmalarda 65 yaş ve üstü popülasyonda demans sıklığı %5-15 arasında saptanmıştır. Yaşla beraber bu oran artmaktadır (19).

Demans ve Yaş: Demansla ilgili yapılan çalışmaların işaret ettiği ortak nokta hastalığın yaşla olan doğrudan bağlantısıdır. Sıklığı 65 yaşından sonra belirgin şekilde artmaktadır. 65 yaşın altında nadir görülen hastalık 45 yaştan önce neredeyse hiç görülmez. Çalışmalar yaşla prevalans arasındaki doğrusal ilişkiyi tutarlı bir şekilde desteklemektedir. 65 yaş üzerinde, ortalama her 5 yılda bir prevalansın ikiye katlandığı saptanmıştır (20).

Demans ve Cinsiyet: Demansta yaşın kanıtlanmış doğrudan etkisi, eğitimin muhtemel etkilerine rağmen cinsiyetin etkisine dair kanıtlar tutarlı bulunmamıştır. Bazı çalışmalarda, AH prevalansının kadınlarda daha sık olduğu bulunurken, vasküler demans prevalansı erkeklerde daha yüksek bulunmuştur. Kesin bir fikir birliği oluşmasa da çalışmaların çoğunda demans prevalansı kadınlarda daha yüksek olarak saptanmıştır (21-25).

Demans ve Eğitim: İleri yaşlarda düşük eğitim seviyesinin demans prevalansını etkilediği bilinmektedir. Özellikle Alzheimer prevalansı eğitim seviyesiyle ters orantılıdır. Eğitim ve öğrenme süreçleri sinaptik aktiviteyi ve kortikal yapılanmayı arttırmaktadır. Koruyucu etkinliğin dinamiğinde esas oyuncunun bu aktivite olduğu kabul edilir. 2015 yılında Çin'de yapılan bir metaanaliz çalışmasında demansla eğitim

seviyeleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Yapılan kantitatif analizlerde eğitim seviyesindeki her 1 yıllık artışın demans gelişme riskini %7 azalttığı saptanmıştır (26-29).

Demans ve Mortalite: Demans, beklenen yaşam ömrünü kısaltan kronik gidişli bir tablodur. Alzheimer' da beklenen yaşam ömrü 8-12 yıl kadardır. Frontotemporal demansta bu süre 3-17 yıl kadardır. Dünya genelinde beklenen yaşam ömründeki artış trendi de göz önüne alındığında, demansın mortal yönü daha net görülür (30,31).

3.1.2. Klinik

Demansın evreleri erken evre, orta evre ve ileri evre olmak üzere üçe ayrılmaktadır:

Erken Evre: Semptomlar silik olup çoğunlukla gözden kaçabilir. Hastanın daha etkin destek, bakım ve tedavi alabilmesi açısından bu evrenin hayati olması sebebiyle Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 2011 raporunda erken tanının önemini vurgulayarak öncelikli hedef listesine almıştır. Nöronal devrelerin çoğunlukla zarar görmemiş olup sağlam kaldığı bu evrede farmakolojik ajanların daha etkili olabileceği görüşü hakimdir (32). Erken tanı sayesinde, kognitif fonksiyonların geliştirilebilmesi, hasta ve yakınlarının kendilerini hastalığın gidişatına hazırlaması, tedavi motivasyonunun artması ve yaşam kalitesinin korunabilmesi mümkündür. Erken evrede isimleri ezberlemede güçlük ve olayları anımsayamama gibi epizodik bellek kusurları görülebilir. Hasta aynı soruyu tekrar sorabilir, eşyasını unutma, kaybetme gibi sorunlarla karşılaşabilir. Yeni bilgileri öğrenmede sorun yaşar ancak bu evrede davranışsal problemler ve sosyal yaşantıda belirgin bir etkilenme yoktur. Bazı hastalarda demansla ilgili davranışsal ve psikolojik semptomlar görülebilir. Anksiyete, depresif mood, irritabilite tabloya hakim olabilir. Bu evrede hasta yardımsız da yaşantısını sürdürebilir (33).

Orta Evre: Bu evrede, hastalığın belirtileri daha net ve kısıtlayıcı hale gelir. Bellek kusurları belirginleşmiş olup yakın bellek özellikle bozulur, uzak bellek nispeten korunmuştur. Yargılama bozulup, soyut düşünce kısıtlanmıştır. Psikodavranışsal

belirtiler ağırlaşır sosyal ilişkileri ve işlevselliği bozabilir. Kişisel bakım konusunda yardım ihtiyacı ortaya çıkabilir (32).

İleri Evre: Zaman, yer ve kişi oryantasyonunda ciddi bozulmalar görülür. Hastanın günlük yaşam aktivitesi ciddi ölçüde kısıtlanır. Beslenme, giyinme ve hijyen konularında dışarı bağımlı hale gelir. Paranoid düşünceler, ilizyonlar tabloya eklenebilir. Malnutrisyon, dekubit ülseri ve silik nörolojik bulgular olabilir. İleri evre AH hastalarının en sık ölüm nedenleri, yatak yarası enfeksiyonları, akciğer embolisi/enfeksiyonu, beslenme bozukluklarıdır (34).

Demans; zengin klinik örüntüsünü ön planda, bilişsen, nörodavranışsal ve duygulanımsal alanlarda gösterir. Bu klinik değişimler aşağıda ayrıntılı olarak ele alınmıştır (30,31):

Bilişsel Değişimler: Bu alandaki bozulmalar tablonun ana iskeletini oluşturur. Bilinç açıktır, ancak ortak fizyopatolojik zemin dolayısıyla demansta deliryum tablosu sık gelişir. Çok ileri olmayan demansta yönelim korunmuştur. Ancak bellek kusuru ileri boyuttaysa hasta yakınlarını tanıyamayabilir. Başlarda dışarda, ileri evrelerde ev içinde bile kaybolabilir. Hastanın dikkati dağınıktır, belli bir konu üzerinde uzun süre odaklanamaz. Dikkatin sürdürülebilmesi ve iki işi aynı anda yapabilme yetisi bozulmuştur. Demansta en önde gelen bozukluk, bellek kusurudur. Yeni bilgileri öğrenmenin yanı sıra öğrenilmiş bilgilerin çağrılmasında da sorun oluşur. Başlarda yakın bellek etkilenirken ileri dönemlerde uzak hafıza da bozulur. Hasta dakikalar içinde sorduğu şeyleri tekrar sorup, tekerrüren aynı şeyleri anlatabilir. Soyut düşünebilme, planlama, sıraya koyma gibi frontal lob işlemleri bozulur. Soyut düşünceleri, benzetme ve şakaları anlamakta güçlük çeker. Muhakeme ve nedensellik kurma yetisi etkilenir. İleri dönemde ilizyon ve görsel halusinasyon gibi algı bozuklukları görülebilir (32,34).

Nörodavranışsal Değişimler: Hastanın çoğunlukla çevreyle alakadarlığı azalmıştır. Özbakım eskisi kadar iyi olmadığından giysileri yeterince temiz ve titiz olmayabilir. Dilin bilişle olan yoğun interaksyonu nedeniyle konuşmayla ilgili bozukluklar demansta sıklıkla ortaya çıkar. Bu afazi şeklinde olabileceği gibi vasküler yapıların etkilenmesiyle dizartri şeklinde de ortaya çıkabilir. Demansta impuls yönetimi de

sıklıkla bozulmuştur. Hasta normalde yapmayacağı şakaları yapıp, sergilemeyeceği davranış örüntülerini sergileyebilir. Bazı hastalarda premorbid kişilik özellikleri abartılı şekilde ortaya çıkabilir. Sözelimi normalde de titizliği olan bir hasta demansla birlikte aşırı titiz, kompulsif tarzda cimri ve düzen değişimine karşı aşırı hassas olabilir. Demansta uyku sıklıkla bozulmuştur, uyku ritminin bozulması bilişsel semptomatolojiyi etkilediğinden bu kısır döngünün kırılması ayrıca önemlidir. Bazen bunamayı ortaya çıkaran hastalığa özgü bulgular tabloya eklenebilir. Agnozi, apraksi gibi nörolojik defisitler gözlenebilir (33,34).

Duygulanımsal Değişimler: Demansı olan hastalarda bunalı, çökkünlük, apati ve ilgisizlik, coşku ve taşkınlık, uygunsuz afektif deşarj gibi değişimler görülebilir. Hastalar bellek ve yönelim bozukluğundan dolayı olayları yanlış değerlendirip farklı tepkiler verebilirler, olay ve kişileri kolayca unuttukları için kaygıya kapılabilirler. Hasta belleğini, çevreyle uyumunu düzeltmek için gayret gösterip de başaramayınca kaygısı artar. Bazı hastalarda bu kaygıya, yalnızlık, sakat ve desteksiz kalma, ölüm kaygısı eklenebilir. Bazı hastalarda bunamaya çökkünlük tablosu eşlik edebilir. Keyifsizlik, isteksizlik, psikomotor retardasyon, karamsarlık, suicidal düşünceler tabloya hakim olacak düzeyde baskın olabilir. Özellikle vasküler doğası olan demansiyel tablolarda patolojik gülme ve ağlama atakları görülebilir. Tebessümle geçiştirilebilecek bir duygusal uyarana verilen tepki durdurulamayan bir kahkaha olabilir (33,34).

3.1.3. Sınıflama

Demans için farklı sınıflama kategorileri kullanılabilir. Zeminde yatan etyolojik faktöre göre sınıflama yapılabileceği gibi, etkilenen bölgeye göre de ayırım yapılabilir. Etkilenen beyin bölgelerine göre demanslar, kortikal ve subkortikal şeklinde sınıflandırılır. Alzheimer'da kortikal yapılar ön planda etkilenirken; Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, PSP (progressif supranükleer palsi), demiyelinizan ve enfeksiyöz demans tablolarında subkortikal alanlar daha çok etkilenir (35).

Tablo 1. Demansların etyolojik sınıflaması (35)

Demans Tipleri	Etyolojik Sınıflama
Dejeneratif Demanslar	• Alzheimer Hastalığı • Frontotemporal Atrofi • Lewy Cisimcikli Demans • Huntington Hastalığı • Progressif Supranükleer Paralizi • Diğer Sebepler
Vasküler Demans	• Multiple Infarkt • Stratejik Tek Damar Infarktı • Kardiyak Bozukluklar • Hemoraji • Hipoperfüzyon • Binswanger Hastalığı • Enfeksiyöz (Bakteriyel, Viral, Fungal, MSS Whipple Hastalığı, Crutzfeld-Jacop Hastalığı)
Miks Vasküler Dejeneratif	• Enflamatuar (Demyelinizan Hastalıklar, SLE, Sarkoidoz, Sjogren) • Neoplastik (Primer Tümörler, Metastatik Lezyonlar)
Travmatik Demanslar	• Alkol
Toksik Demanslar	• Ağır Metaller • Histotoksik Anoksi Yapan Ajanlar • İlaçlar • B12 ve Folat Eksikliği
Metabolik Demanslar	• Cushing Sendromu • Hipopituitarizm • Paratiroid Hastalıkları

	• Porfiryalar • Hepatik Ensefalopati • Üremik Ensefalopati • Tiroid Hastalıkları • Addison Hastalığı
Psikiyatrik Kognitif Bozukluklar	• Psödodemans
Hidrosefali	• Obstruktif • Normal basınçlı

3.1.4. Etiyoloji

Demansın zengin etyolojik zemini kabaca dejeneratif ve non dejeneratif olmak üzere ikiye ayrılır. Dejeneratif demanslar, beyindeki dejeneratif süreçlerle ilişkili bulunan tablolardır. Alzheimer hastalığında nöritik plak ve nörofibriller yumaklar, Lewy cisimcikli demans ve Parkinson demansında beyinde Lewy cisimcikleri bulunur (36).

Dejeneratif demanslarda genetik zemin daha belirkin, non dejeneratif süreçlerde kalıtımın rolü daha zayıftır. Bilişsel alanla ilişkili olan nörotransmitter ve nöropeptitlerin düzey ve fonksiyonunu etkileyen herşey demans ve benzeri kognitif disfonksiyon tablolarına neden olabilir. Vitamin eksikliğiyle sonuçlanan malnutrisyon tabloları, kronik alkol kullanımı, alüminyum ve cıva gibi ağır metal birikimi, CO zehirlenmesi gibi durumların hepsi demansa yol açabilir. Demansla sıkı ilişki içinde olan durumlardan biri de hipoksidir. Demans ve inmenin ortak önlenilebilir risk faktörlerini paylaşması son zamanlarda dikkatleri bu alana çekmiştir (47). Bunun dışında tiroid ve paratiroidle ilgili fonksiyon bozukluğu, aril sülfataz ve seruloplazmin gibi metabolik işlevleri olan maddelerdeki defisit de demans etyolojisinde yer alır (38-40).

3.1.5. Risk Faktörleri

İleri yaş en iyi belirlenmiş risk faktörüdür. Genetik yön özellikle dejeneratif demanslarda belirgindir. Düşük sosyoekonomik düzey, düşük eğitim düzeyi, kronik depresyonun yanısıra serebral perfüzyonu etkileyen sigara, diyabet, hipertansiyon da

risk faktörü olarak belirtilmiştir. 1, 14, 21 kromozomlardaki değişimler ve apolipoprotein allelinin varlığı da risk faktörleri arasındadır (41-44).

3.1.6. Tanı

Demans için belirlenmiş tek bir tanı yöntemi yoktur. Kesin tanı için altın standart biyopsi olsa da klinikte uygulanmaz. Tanı için klinisyenin, klinik semptomları nörokognitif testlerle değerlendirmesi, biyokimyasal belirteçler ve nörogörüntüleme yöntemleriyle de desteklemesi gerekir. DSM-IV te demans tanısı konması için, bellek bozukluğunun muhakkak olması buna ek olarak agnozi, afazi, apraksi veya frontal lob işlemlerinden birinde bozukluk olması şartı vardı. DSM-V'te ise öncelikli olarak demans tanımı kaldırılıp nörokognitif bozukluk tanımlaması getirildi. Bu değişiklik, belleğin korunup semantik ve davranışsal alanların daha çok etkilendiği tabloları atlamama kaygısıyla yapıldı. DSM-V'e göre nörobilişsel bozukluk tanısı koyabilmek için belirlenen 6 bilişsel alanda (karmaşık dikkat, yürütücü işlevler, öğrenme ve bellek, dil, algısal motor işlevler, sosyal biliş) değişimler değerlendirilir. Her bir alan için hafif ve ağır bozulmanın ölçütleri tanımlanmıştır (42). Ağır nörobilişsel bozukluk tanısı koyabilmek için hastanın en az bir bilişsel alanda kendinin, yakınının ya da hekimin dikkatini çekecek düzeyde sorun yaşaması ve bu sorunun nörokognitif testlerle ve klinik değerlendirmelerle desteklenmesi gerekir. Eğer sorun kişinin, bağımsız yaşamasını etkileyecek düzeyde değilse hafif nörokognitif bozukluk tanımı kullanılır. Hastanın kliniği demansı düşündürüyorsa etyolojik zemini için; B12 vitamin düzeyi, tam kan sayımı, tiroid fonksiyon testleri, serum elektrolitleri, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri değerlendirilebilir. Şüpheli durumlarda HIV ve sifilizle ilgili testler uygulanabilir. Homosistein de hem stroke hemde demans için değiştirilebilir risk faktörü kabul edildiğinden düzeyine bakılabilir. BT (Bilgisayarlı tomografi), MR (Manyetik rezonans) gibi görüntüleme yöntemleri de etyolojiyi tanımlamak açısından faydalıdır (45,46).

3.1.7. Ayırıcı Tanı

Demans ve Depresyon ileri yaşlarda sık görülen tablolardır. Demansın erken döneminde çökkünlük semptomları olması, depresyonda kognitif şikayetlerin eşlik etmesi bu iki tablonun sıklıkla birbirine karışmasına neden olur. Depresif bozukluğu

olan hastalar sıklıkla unutkanlıktan, odaklanamamadan şikayet ederler. Depresyonun düzelmesiyle bu bilişsel semptomlar büyük ölçüde azalır. Depresyondaki hastalarda belli aralıklarla yapılan mental testlerde demanstakinden farklı olarak bir ilerleme gözlenmez. Depresyonda gözlenen bilişsel semptomlar geçiçi olarak kabul edilmiş olup ‘psödodemans’ şeklinde adlandırılır (47). Demans /psödodemansın ayırımında, Deliryumda da belirgin bilişsel belirtiler görülür. Deliryumun hızlı ve akut başlangıç göstermesi, bilinçteki keskin dalgalı seyir, uyku-uyanıklık siklusunun ciddi olarak etkilenmesi, ağır algı ve yönelim bozukluğu olması tanıdaki temel taşlardır. Demans seyri sırasında deliryum gelişebilir. Ortak etyopatogenik zemin dolayısıyla deliryum gelişen hastaların demans açısından takip edilmesinin faydalı olacağı görüşü yaygındır. Bilişsel yıkımın yoğun olduğu kronik şizofreni de bazen demansla karışabilir. Anemnez detaylandırılarak ayırımı yapılabilir (48,49).

3.2. Demans Subtipleri

Demans subtipleri aşağıda ayrıntılı olarak ele alınmıştır (50,51):

3.2.1. Alzheimer Hastalığı (AH)

Alzheimer hastalığı primer demans sendromları içinde dejeneratif demanslar alt grubunda bulunup primer dejeneratif demansların büyük çoğunluğunu oluşturur. Geçen yüzyılın başlarında Alois Alzheimer 51 yaşındaki hastasını takibe aldı. Hastanın ölümüne kadar olan sürede hastada bellek bozuklukları, dezoryantasyon ve aralıklı varsanılar geliştiğini saptadı. Hastanın ölümünden sonra yaptığı postmortem incelemelerde de ‘nörofibriler tangle’ denen yoğun fibriler yığınlar saptadı. Yüzyılı aşkın süredir hastalık ilk saptayıp tanımlayan kişinin anısına Alzheimer olarak tanımlanmaktadır. Yaşlı nüfusunun artmasıyla dünya genelinde artan bir morbidite ve mortalite nedenidir. Bütün demansların yaklaşık %50-70’inden sorumludur (50).

3.2.1.1. Etyopatanez

Diğer demanslarda olduğu gibi Alzheimer hastalığında da en önemli risk faktörü ileri yaştır. Genetik geçişle ilgili birtakım araştırmalar yapıp kişiyi Alzheimer açısından yatkın hale getiren bazı genetik defektler saptanmıştır. AH başlangıç yaşına göre erken ve geç başlangıçlı şeklinde sınıflandırılabilir. Genetik, erken başlangıçlı AH da

önemli bir risk faktörüken, geç başlangıçlı alttürde daha daha zayıf bir risk faktörüdür. Vakaların sadece %5-10'luk dilimini oluşturan ailesel AH da bazı genlerde mutasyonlar saptanmıştır. Bunlar 14. Kromozomdaki presenilin1 geni, 1. Kromozomda presenilin 2 geni ve 21 deki amiloid prekürsör genidir. Daha sık görülen geç başlangıçlı AH formunda en net tanımlanmış genetik risk faktörü 19. Kromozomda bulunan Apo E genidir. Bu gen toplumda üç majör allel halinde bulunmaktadır (51). Bunlar €2, €3 ve €4 allelleridir. Alzheimer gelişimini kolaylaştıran €4 allelinin AH olan bireylerde görülme sıklığı %65-75 civarındadır. Çevresel risk faktörü olarak da; alüminyum benzeri ağır metal maruziyeti, kafa travması, sigara, yavaş virüs infeksiyonları suçlanmıştır. Kadın olma ve düşük eğitim seviyesi de riski artırır. Birbiri arasındaki kanıt düzeyi farklı olsa da koruyucu risk faktörleri arasında; yüksek eğitim düzeyi, akdeniz tarzı beslenme, NSAİİ (nonsteroid antiinflatuar ilaçlar) kullanımı, antioksidan etkinliği olan vitaminlerin kullanımı, düşük kolesterol düzeyi, APO E €2 allellinin varlığı ve aerobik egzersiz sayılmaktadır. Hastalığın patogeneğinde oksidatif stres ve glial dejenerasyon sorumlu tutulmaktadır. Apo E € 4 allelinin varlığı kortikal ve hipokampal senil plak oluşumunu kolaylaştırır. Bu allelin varlığı fosfolipid transport defektine, plastisitenin kaybına ve nöronal integrasyonun kaybına sebebiyet vererek AH' a zemin hazırlar (52,53).

3.2.1.2. AH Nöropatolojisi

Alzheimer hastalığı, epizodik bellek için önemli olan peririnal korteks, temporohipokampal alan ve bazal ön beyinde başlar. Tablo ağırlaşır frontal loblarda değişiklikler oluşmasıyla yürütücü işlevler de etkilenir. Kortikal atrofiyle beşer beşer giruslarda düzleşme ve sulkuslarda genişleme gözlenir. Temporoparietal korteks ve frontal korteks sıklıkla etkilenir. Motor korteks ve görme alanının bulunduğu oksipital korteks en sık korunan alanlardır. Mikroskopik incelemede ise en sık görülen yapı nöritik plaktır (amiloid ya da eski kullanımıyla senil plak). Bunun dışında nörofibriller yumak ve granülovaküel dejenerasyon varlığı da önemlidir (54,55).

Nöritik plaklar B-amiloid proteinin aşırı birikimine, nörofibriller yumaklar ise hiperfosforile tau proteinin çökmesine bağlı gelişir. Bu yapılar kendi mikroortamlarında inflamatuvar süreçleri tetikleyebilirler. Yine Alzheimer

hastalığının erken dönmelerinde dejenersyon, kolinerjik dizgenin baskın olduğu, Meynert'in bazal çekirdeğinde başlamaktadır böylece kolinerjik aktivite etkilenmektedir. Alzheimer' ın temelinde kolinerjik sistemdeki aksaklık bulunduğu görüşü kolinerjik varsayım olarak isimlendirilmektedir. Bu varsayıma dayanarak Alzheimer tedavisinde kolinerjik etkinliği arttıran ajanlar geliştirilmiştir. Amiloid birikimi varsayımına göre AH'da sorun klinik semptomların başlamasından yıllar önce amiloid birikimi zaten başlamıştır (56). Tau proteininin hiperfosforile olup birikmesi, nörodejenerasyon, kolinerjik defisit ve en nihayetinde klinik belirtiler bu birikime bağlanmıştır. Alzheimer hastalığı patofizyolojisini açıklamaya yönelik ortaya atılan diğer bir varsayım da glutamat eksitotoksitesidir. AH'da noritik plak ve nörofibriller yumakların birikimine bağlı olarak glutamaterjik deşarj artar. Glutamat fazlalığı serbest radikallerin oluşumuna zemin hazırlıyarak nörodejenerasyona sebep olur (57).

3.2.1.3. Klinik Bulgular

Alzheimer hastalığı tipik olarak sinsi başlangıç ve kronik seyir gösterir. Bellek ve bütün bilişsel işlevlerde ilerleyici bozulma ve yıkım oluşur. Kayıt belleğindeki bozulma diğer demans türlerine göre daha yoğundur. Yakın bellek daha önce bozulurken uzak bellek daha sonra etkilenir. Alzheimer'da ilk etkilenen bellek türü epizodik bellektir. Frontal lobun etkilenmeye başlamasıyla yürütücü işlevlerde bozulma ortaya çıkabilir. Semantik ve leksikal bellek kusurlarının tabloya eklenmesiyle dil işlevlerinde bozulmalar belirginleşir. Dil işlevlerinde bozukluk başlangıçta; adlandırma ve kelime bulmakta zorluk, sirkomlokusyon şeklinde ortaya çıkar. Bozukluk ilerledikçe agramatizm, parafazik hatalar, konuşma içeriğinde fakirleşme tabloya eklenir. Sıralama, hesaplama, soyutlayabilme yetenekleri ve muhakeme sıklıkla etkilenir. Vizyospasyal becerilerdeki kayıp konstrüksiyonel apraksiye neden olur. Geç evre AH'da zaman, yer ve kişi oryantasyonu bozulabilir. Halüsinasyon, ilüzyon gibi algı bozukluğu ve sanrısız içerikli düşünceler ortaya çıkabilir. Hasta ileri evrelerde yakınlarını bile tanıyamaz hale gelebilir. Hastalık ilerledikçe idrar, gayta inkontinansı, yutma güçlüğü, motor defisit, kontraktür gelişebilir (58,59).

3.2.1.4. Tanı

Tanı ayrıntılı anamnez, nöropsikiyatrik testler, kantitatif klinik incelemeler ve nörogörüntüleme çalışmalarını bütünleştirerek konulur. AH tanısı için kullanıma sunulan çok sayıda test vardır. Uygulama kolaylığı nedeniyle MMST en sık kullanılan testtir. NINCDS (National Institute of Neurological and Communicative Disorders) ve ADRDA (Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) tarafından 1984 yılında Alzheimer hastalığı tanısında kullanılmak üzere bir rapor yayımladı. Raporda tanımlanan kriterler kullanılarak muhtemel, olası ve kesin Alzheimer tanısı konulabilmekte tanı doğruluğu otopsi raporlarıyla desteklenmekteydi. Zaman içinde gelişen ihtiyaç nedeniyle 2011 yılında kriterlerde revizyon yapıldı (60,61).

Bu kriterlerin yanısıra Alzheimer hastalığı tanısında APA tarafından yayımlanan DSM-V'de kullanılır. Ayırıcı tanıda MRG gibi nörogörüntüleme çalışmaları da faydalı olabilir. MRG'de hipokampal volüm değişikliği sık bulgu olup bilişsel kayıp ile koreledir. Magnetik rezonans spektroskopisi de AH tanısında ve diğer demanslarla ayırıcı tanısında yardımcı olabilecek bir görüntüleme yöntemidir. Fonksiyonel MR ve PET (Pozitron Emisyon Tomografi) de özellikle parietal lobda metabolik defektler saptanır (62,63).

3.2.2. Vasküler Demans

Vasküler Demanslar tek bir hastalık olmayıp klinikopatolojik olarak farklı tabloların tümünü karşılayan bir kavramdır. Beyinle ilgili vasküler hastalığa bağlı olarak gelişen demansiyel tablolara verilen isimdir. AH'dan sonra en sık görülen demanstır. AH'dan farklı olarak erkeklerde daha sık görülür (64).

Beynin özellikli bölgelerindeki tek infarkta bağlı olarak ortaya çıkabileceği gibi multiple infarkta bağlı olarak da gelişebilir. Vasküler demansın tipik örneği multiple enfarktlı bunamadır. Çoklukla kortikal alanları etkiler, subkortikal alanlar da tabloya eklenebilir. Enfarktların bölgesel dağılımı ve hacmi bilişsel disfonksiyonu şiddetini belirler. Diğer demansiyel alttürlerden farklı olarak konuşmanın tonu ve ritmi daha çok etkilenir. Bellek bozuklukları çok tipik bir patern göstermemekle beraber

birtakım özellikleri AH'dan ayrılır. Sözel öğrenme ve geri çağırma daha iyi olup unutkanlık daha azdır. Beynin özellikli bölgelerinde gelişen tekli infarktlarda etkilenen bölgeye bağlı klinik semptomatoloji ortaya çıkar. Genç insanlarda akut başlangıçlı demansiyel tablolara sebebiyet verebilir. Genellikle hipertansiyonu olan ve vasküler hastalık açısından riskli kabul edilen grupta gelişme ihtimali artmıştır. Değişik işlevlerde değişik derecelerde bozukluk olur. Bu duruma yamalı dejenerasyon denir. Tablonun seyri diyabet, hipertansiyon gibi komorbid durumların derecesine; sigara, alkol, beslenme gibi çevresel risk faktörlerinin regülasyonuna bağlıdır. Fronto-subkortikal döngüdeki hasar yaygındır ve yürütücü işlevler vasküler demans olanlarda en çok etkilenen alanların başında gelir (65).

3.2.3. Lewy Cisimcikli Demans

Demans, parkinsonizm ve vizüel halüsinasyonlarla karakterize sinsi başlangıç ve ilerleyici seyir gösteren dejeneratif bir tablodur. Kognitif semptomlar parkinsonyal belirtilerden önce başlar. Dejeneratif demanslar arasında sıklık açısından ikinci sıradadır. Fenomenolojisi Parkinsonla Alzheimer Hastalığı skalasında bulunan bir geçiş hastalığı olduğu izlenimi vermektedir. Postmortem çalışmalarda demansı bulunan bireylerin %15-25'inde diffuz kortikal Lewy cisimcikleri olduğu saptanmıştır. Lewy cisimciği, anormal protein birikimine bağlı ortaya çıkan oval yapıda hücre içi inklüzyonlardır (66).

Lewy cisimcikli hastalıkta nöropatolojik olarak üç örüntü saptanmıştır: nigrostriatal tutulum, sempatik sinir sistemi tutulumu ve kortikal tutulum. Olası ve mümkün LCD tanısı için tanı kriterleri 1996 yılında LCD Konsorsiyumu tarafından belirlenmiş 2005 yılında modifiye edilmiştir. Revizyon raporuna göre REM (rapidly eye movement) dönemi uyku bozuklukları, nöroleptiklere aşırı duyarlılık ve fonksiyonel nörogörüntülemelerde striatal dopaminerjik aktivitede azalma LCD'yi düşündüren görüngüler olarak vurgulanmıştır. LCD'nin önemli bir diğer özelliği bilişsel dalgalanmanın yoğun olmasıdır. Parkinson hastalığına göre levodopa yanıtı daha zayıftır (66-68).

3.2.4. Frontotemporal Demans

Frontotemporal demanslar farklı dejeneratif hastalıkları bünyesinde barındıran bir tanımlamadır. Bu grup içerisinde Pick Hastalığı, Primer progressif afazi, semantik demans bulunur (69-70).

Pick Hastalığı: Pick hastalığı tipik olarak kadınlarda erkeklerden daha fazla görülen sıklıkla 50'li yaşlarda ortaya çıkan nadir bir tablodur. Frontal etkilenim nedeniyle bu hastalarda sıklıkla kişilik ve davranış değişiklikleri görülür. Yargılamada bozulma, Hiperoralite, cinsel davranış kalıplarının değişmesi tabloyu belirler. Yineleyici davranışlar sıklıkla eşlik eder

Primer Progressif Afazi (PPA): Diğer bilişsel ve davranışsal sorunlar olmaksızın ilerleyici afazinin olduğu durumdur. Akıcı olan ve akıcı olmayan PPA şeklinde ayrımlar yapılmışsa da terminolojik kategorizasyon net değildir.

Semantik Demans: Kişilerin semantik bilgiyi progressif bir şekilde kaybettikleri nadir görülen bir demans çeşididir. Hastalar kelimelerin anlamını, nesneleri, yüzleri ve tatları kavramsallaştırmada güçlük yaşarlar. Ancak bilişin semantik olmayan komponentleri korunmuştur. Sorun algılamada değil algıyı kavramsallaştırmadır. Sıklıkla 50-65 yaşları arasında başlar, hastalık süresi 3 ila 15 yıl arasındadır.

3.2.5. Parkinson Hastalığı ve Demans

Parkinsonizm; rijidite, tremor ve bradikiniziyle karakterize bir sendromdur. Pek çok hastalıkla ilişkili olsa da en yaygını Parkinson hastalığıdır. Parkinson hastalığının karakteristik nöropatolojisi substantia nigra pars compactada dopaminerjik nöronların azalması ve yine substantia nigra da nöronal inklüzyonların (Lewy cisimcikleri) bulunmasıdır. Bilişsel kusurlar hastalığın erken döneminde bile görülebilir. Hastalığın ilerlemesiyle pek çok hastada demans gelişir. En yaygın defisitler yürütücü işlevler, bellek ve görsel algılama alanında görülür. AH ile karşılaştırıldığında lisanla ilgili işlevler kısmen daha iyi korunmuştur (71,72).

3.2.6. Huntington Hastalığı

Huntington hastalığı genellikle orta yaşlarda başlayan kore ve demansiyel semptomlarla seyreden dejeneratif bir hastalıktır. Otozomal dominant genetik geçiş paternine sahip olan hastalıktan sorumlu alan huntintin genidir. Hastalık kadın ve erkekleri eşit oranda etkiler. Nucleus caudatus ve putamendeki atrofi Huntington hastalığında en çapıcı noropatolojik bulgudur. Hastaların %80'inde frontal lobda dejenerasyon vardır. Yürütücü işlevler ve dikkat Huntington hastalığının etkilerine en duyarlı olan alanlardır (73,74).

3.2.7. Progressif Subranükleer Palsi

Ekstrapiramidal semptomlar, aşağı bakışın etkilendiği oftalmoplejik bulgular ve bilişsel alanda bozulmalarla seyreden dejeneratif bir tablodur. Subkortikal demans özelliğindedir. AH ile kıyaslandığında bellekle ilgili problemler daha hafif düzeydedir. Periventriküler bölgelerdeki kortikal atrofiye bağlı gelişen ventriküler genişleme ve akuaduktus silvii'de genişleme sık gözlenen bulgulardır (72).

3.3.Hipokampüs

Nöral Rosetta Taşı olarak görülen hipokampüs, klinik ve deneysel pek çok çalışmaya konu olmuş, işlevleri itibariyle günümüzde de çokça araştırılmaya devam eden önemli bir beyin bölgesidir (75). Serebral kortekste bilateral olarak neokorteksin altında, temporal lobun bazal medial yüzeyinde bulunur ve lateral ventrikülün dorsal hornu boyunca uzanan hipokampüs, bir gri cevher yapısıdır. Güdüselle davranışları düzenleyen, öğrenme, hafıza ve emosyonel davranışlarımızda önemli bir rolü olan limbik sistemin bir parçası olan bu yapı, filogenetik olarak en eski beyin kısımlarından biridir (76).

Modern sinirbilim olarak ifade edilen pek çok disiplinden bilim insanının hipokampüs ile ilgilenmesi için birçok sebep bulunmaktadır ve bu nedenle, hipokampüs ve onunla ilişkili yapılar geçmişten günümüze çeşitli bilim dallarının çalışma alanına girmektedir. Basit bir ayrımla, hipokampüsle ilgili çalışan psikologlar hafıza üzerinde dururken, nörofizyologlar nöral ve sinaptik plastisiteyi araştırmak için, bilişsel nörobilimciler ise nöral ağ modeli inşa etmek için onu

kullanabilirler. Klinisyenler epilepsi veya Alzheimer hastalığı gibi nörolojik koşulların temellerini araştırmak ve tedavi yöntemi bulmak için hipokampal formasyonun patolojik bulgularını incelerler. Kısacası, hipokampus her bir uzmanlık alanı için bir şey ifade eder ve geçmişten günümüze pek çok bilim dalının ortak ilgisini çekebilen, cezbedici bir yapı olmuştur (77).

3.3.1. Hipokampal Anatomi

İnsanlardan disekte edilen hipokampal yapı, şekli itibariyle koç boynuzlu bir Antik Mısır tanrısı olan Ammon'un boynuzlarına benzetildiği için, geçmişte "Cornu Ammonis" olarak adlandırılmıştır. Antik İskenderiye Tıp Okulu'nun alimleri hipokampusün koç boynuzu şeklindeki kuyruğunu gördüklerinde, bu kıvrımlı yapısından çok etkilenerek ona bu adı vermişlerdir. Bu terminoloji hipokampal alt bölgeler için hala akronim olarak varlığını sürdürmektedir. Bolonyalı anatomist Giulio Cesare Aranzi 1564 yılı civarında ilk kez "Hipokampus" (hippos = at; kampos = deniz) ismini, denizatına benzerliği nedeniyle kullanmıştır. Günümüzde de bu kullanım aynı şekilde devam etmektedir (77). Hipokampus ve karşılıklı etkileşim içerisinde olduğu anatomik yapılara hep birlikte "hipokampal formasyon" (formatio hippocampi) adı verilmektedir (78). Hipokampal formasyonun hücre ve lif yolları, yerleşim düzeni tüm memelilerde oldukça benzerlik göstermektedir (77).

Öğrenme ve hafızada anahtar role sahip olan formatio hippocampi; hipokampus, dentat girus, subikulum, presubiculum, parasubiculum ve entorhinal korteks yapılarını kapsayan kortikal bir bölgedir (79). Bu yapı, alt mediale doğru subikulum ve girus parahipokampalis ile devam eder. Hipokampusün bir laminası içeriye doğru kıvrılarak, cornu ammonis olarak da adlandırılan "hipokampus proper"ı oluştururken, diğer laminası ise "dentat girus"u oluşturur ve bu iki bölge hipokampal sulcus ile birbirinden ayrılır. Cornu ammonisin uca doğru genişleyen ön kısmı pes hippocampi olarak adlandırılır. Hipokampusün ventrüküle bakan yüzü ependim hücre tabakası ile kaplıdır ve bu tabaka ile hipokampus arasında, hipokampusden çıkan efferent lifler tarafından oluşturulmuş alveus tabakası bulunur. Alveus lifleri, hipokampus ve dentat girus arasında uzanarak fimbria hippocampi'yi oluşturur (80). Fimbria hippocampi'nin ön ucu uncus olarak adlandırılırken, arka ucu ise alveus ile birlikte Crus fornicis'i meydana getirir. Alveustan gelip fimbriaya dâhil olan lifler

forniksin başlangıcını oluşturur. Duyu lifleri hipokampusü forniksteeki miyelinli lifler vasıtasıyla terkederler (78).

Hipokampus histolojik olarak 6 tabakadan oluşmaktadır. Bunlar; alveus, stratum oriens, stratum pyramidale, stratum radiatum, stratum lacunosum ve stratum moleculare tabakalarıdır. Alveus, en dıştan saran tabaka olup, hipokampal ve subikular aksonlar tarafından ana efferent yolu oluşturur. Hipokampus içerisindeki temel hücre tabakası olan piramidal nöronların farklı görünimleri ve farklı bağlantılarından yola çıkarak, 1934 yılında Lorente de Nó tarafından anatomik olarak 4 alt bölgeye ayrılmıştır: CA1, CA2, CA3 ve CA4 (81). 1956 yılında Blackstad, bu alt bölgeleri daha kesin bir biçimde tanımlamıştır. Hipokampusün CA1 bölgesi bu alanların en büyük kısmıdır ve subikuluma yakın konumlanmıştır. Sıçanlarda CA1 piramidal nöronlar insanlara göre daha yoğun paketlenmiştir (82). CA1'in küçük ve dağınık triangular piramidal nöronları, entorhinal korteks ve CA3 piramidal nöronlarından Schaffer Kollateralleri aracılığıyla bilgiler alır ve bu bilgileri işler. CA1 bölgesinin, kortikal bilgileri CA3 ve EC'den gelen bilgilerle kıyaslayan bir hata dedektörü gibi çalıştığı düşünülür. CA1 bölgesini terk eden lifler ise subikulum, entorhinal korteks ve prefrontal kortekse kadar uzanır (76). Bu bölgedeki nöronlarında lezyon olan hastaların derin hafıza kayıpları yaşaması, bölgenin sağlıklı bir öğrenme ve hafıza için gerekli olduğunu göstermektedir (83). CA2, insanlarda CA1 ve CA3 arasındaki bölgedir ve büyük, oval, yoğun paketlenmiş piramidal nöronlar içerir. Sıçanlarda, CA2 daha küçük ve daha az belirgindir. Bu bölge CA1 ile CA3 arasında bulunup, CA1 ve CA3'ün iki piramidal nöron sınıfının birleştiği yer olması nedeniyle, bazı araştırmacılar tarafından geçiş bölgesi olarak kabul edilmektedir. CA3, cornu ammonisin kıvrımına yakın konumlanmıştır ve dentat girusun hilumunun girişindedir. Bu bölge Schaffer kollateralleri aracılığıyla CA1 bölgesiyle bağlantılı olup, çıktıları subikulum, EC ve prefrontal kortekse kadar uzanır (81). CA3 piramidal hücreleri CA2 ile benzer özelliklerdedir fakat ondan daha yoğun paketlenmişlerdir. Bu piramidal nöronlar ayrıca dentat granül hücrelerinden gelen mossy lifler ile yoğun bir şekilde innervasyon yapmasıyla ayırt edilebilirler. Dentat girusun çukurluğundaki bölge, Lorente de Nó tarafından CA4 olarak adlandırılmış olsa da, literatürde yaygın olarak "dentat hilus" olarak adlandırılır. Bu bölgede dağınık bir şekilde büyük nöronlar bulunmaktadır (82). Dağınık

popölasyona sahip piramidal hücrelerden oluşan CA4 bölgesi, hilumun içine kadar uzanır ve bu yapının üzerini dentat girus örter. Dentat girus hipokampal fissur ile CA1, CA3 ve CA4 bölgelerinden ve subikulumdan ayrılmaktadır (83).

Hipokampal formasyon içerisindeki bölgelerin her biri belli başlı hücre tabakalarından oluşmaktadır ve bunlar temel hücre tabakalarıdır. DG'nin temel hücre tabakasının nöronları "granül hücreleri"yken, CA bölgesinin temel hücre tabakasının nöronları "piramidal hücreler"dir. Granül ve piramidal hücreler eksitatorik glutamaterjik hücrelerdir (84). Subikulum ve hipokampüsün piramidal hücreleri temel projektör nöronlardır. Bunlar dentat granül hücreleri ve hipokampal ara nöronlarla bağlantılıdır. Bu nöral sistemde oldukça çeşitli nörotransmitterler bulunmaktadır (82).

Hipokampüsün piramidal hücreleri büyük, triangular ya da oval şekilli nöronlardır ve stratum oriens kadar uzanan belirgin bazilar dendrit kümeleri varken, apikal dendritler bir ya da iki proksimal dala ayrılır. Bunlar, str. radiatum ve str. moleculare-lacunosum'a kadar uzanmaktadır. Hücre somaları çeşitli alt bölgelerin str. pyramidale bölgesinde çeşitli yoğunluklarla paketlenmiştir. Str. pyramidale özellikle CA1 bölgesinde olmak üzere insanlarda kemirgenlerden daha dağınıktır. CA3 bölgesinde aksonlar diğer piramidal hücreler dahil komşu nöronlarla geniş lokal kollateral ağları kurarlar. CA1 bölgesindeki piramidal hücreler yoğunlukla ara nöronlarla bağlantı kurarken, komşu nöronlarla daha az lokal akson kollateralleri yaparlar. Piramidal hücrelere ek olarak hipokampüste oldukça çeşitlilikte ara nöronlar bulunmaktadır (79). Bu ara nöronlar şekillerine, lokasyonlarına ve nörofizyolojilerine göre birbirlerinden ayrılırlar. Basket hücreleri str. pyramidale'nin yakınına konumlanmıştır ve piramidal hücreleri aksosomatik sinapslar aracılığıyla inhibe ederler. Oriens/alveus ara nöronlar, moleculare-lacunosum ara nöronlar ve chandelier hücreler, piramidal nöronları akson başlangıç segmentinden inhibe ederler (81).

Dentat girus (DG), hipokampal formasyonun orta-rostrokaudal leviyesinde bulunan, C harfine benzer şekilde bir yapıdır. Hipokampal fissür ile CA bölgesinden ve subikulumdan ventral olarak ayrılmıştır (84). DG, ileride bahsedilecek olan perforant yol için bir geçit görevi görür ki bu yol hipokampüsün majör girdi yollarından biridir

(82). DG'nin temel nöronları olan granül hücrelerinin gövdesi str. granulosumda konumlanır ve dendritleri moleküler tabakaya kadar uzanarak, tabaka II EC nöronlarından, perforant yol ile eksitatorik girdiler alır. DG'nin en derin tabakası, polimorfik hücre tabakası ya da hilus olarak adlandırılmaktadır ve çok çeşitli nöronlara sahiptir. Mossy lifler (granül hücre aksonları), polimorfik hücre tabakasındaki mossy hücreler dahil, bazı nöronların üzerine kollateraller vererek sinaps yapar. Mossy hücreler glutamaterjik nöronlardır ve granül hücrelerin üstüne ve septotemporal eksen boyunca inhibitörük ara nöronlara geri projeksiyonlar yaparlar (85). Böylece granül hücreler ve mossy hücreler hem disinaptik hem trisinaptik feedback döngülerini oluştururlar. Bu feedback döngülerinin fonksiyonları hala bilinmemektedir (75).

Entorhinal korteks (EC) terimi Broadmann'ın 28. alanının sinonimidir ve iyi tanımlanmış 6 tabakaya sahiptir. I. tabaka aselüler ya da pleksiform tabaka olarak adlandırılırken, II. tabakası modifiye edilmiş piramidal ve stellat hücre adalarından oluşur. Bu hücre adalarının EC yüzeyinde oluşturduğu küçük çıkıntılar çıplak gözle görülebilmektedir. Siğile benzeyen bu çıkıntılar sayesinde EC'nin konumunun makroskobik olarak bulunması kolaylaşmıştır. EC'nin III. tabakası homojen piramidal hücre popülasyonları içerir ve bu nöronların dendritleri II. tabaka hücre adalarının arasındaki boşluklardan geçer. III. tabakanın altında bulunan IV. tabaka seyrek hücreler içermesiyle karakterizedir ve bu hücre seyrekliğine bitişik olan hücreler V. tabakayı oluşturur. V. ve VI. tabakaları birbirinden ayırt etmek oldukça zordur (86). EC, hipokampüse gelen temel kortikal inputlar için bir geçit bölgesi olup, medial ve lateral olarak ikiye ayrılır. II. ve III. tabaka nöronları hipokampüse, DG'ye ve subikuluma temel girdiler yollarken, V. ve VI. tabaka nöronları CA1'den ve subikulumdan feedbackler alır (87).

Subikulum, CA1 sınırında konumlanmaktadır ve bu iki yapı üst üste binerek karmaşık bir geçiş bölgesi oluşturur. Subikulum 3 tabakalı görünüme sahiptir: moleküler tabaka, piramidal hücre tabakası ve polimorfik tabaka (88,89). Moleküler tabaka hipokampal fissüre en yakın olan, en yüzeysel tabakadır ve komşu CA1 alanının stratum radiatum ve stratum lacunosum-moleculare'si ile devam eder. Subikular piramidal hücre tabakası moleküler ve polimorfik tabakalarca kuşatılmış

olup, hipokampüsün piramidal hücre tabakasından daha incedir. Bu tabaka fazlaca piramidal hücre içerir fakat hücre paketlenmesinin elverişsiz olması nedeniyle hipokampüsün stratum pyramidale'sinden ince görünür. Polimorfik tabaka alveusa yakındır ve en derinde konumlanmıştır. CA1'in stratum oriens'i ile devam eder (90). Subikulumun septal kompleksi, nükleus accumbens, anterior talamus ve mamiller çekirdeklerinin yanı sıra, EC'ye yapılan projeksiyonlar için ana subkortikal projeksiyonların kaynağıdır. Presubikulum, yoğun olarak paketlenmiş modifiye edilmiş piramidal nöronları içeren, tek, yüzeysel olarak yerleşmiş hücresel bir tabakadan oluşurken, parasubikulum, presubikulumdan ayırt edilmesi zor olan tek bir hücresel katman içerir (89,90).

3.3.2. Hipkampil Nörofizyoloji

1932 yılında Nobel ödülü alan İngiliz nörofizyolog Sir Charles Scott Sherrington, bir sinir hücrelerini diğerine bağlayan “sinaps” terimini icat etmiştir. Sherrington'ın keşfinden bu yana sinapslar üzerinde yoğun bir şekilde çalışılmıştır. Sinapsların bu kadar dikkat çekmesinin pek çok nedeni bulunmaktadır. Öncelikle, bireysel bir nöron tarafından sağlanan sinapslardan geçen bilgi, sinapsların bütünleştirici işlevlerinin sonucunu yansıtmaktadır. Bazı önemli istisnalar haricinde sinapslar, presinaptik nörondan postsinaptik nörona doğru bilgiyi aktaran bir “kapı” görevi görürler. Bu temel özelliklerinin yanı sıra sinaptik iletimin plastisitesi, hafızanın düzenlenmesi ve depolanmasının hücresel boyutunu temsil eden en önemli özelliğidir (76).

İnsanlık tarihi boyunca, nöronlar ya da sinapslar hakkında herhangi bir bilgiye sahip olmamalarına rağmen insanlar, sinapslar üzerine etki eden kimyasallar üreten bitkiler ve hayvanlar keşfetmişlerdir. Bilim insanlarının bu alandaki çalışmaları sayesinde sinir sisteminin temel çalışma prensipleri ve hücresel mekanizmaları aydınlatılmaya başlanmıştır. Sinir sisteminde bütün davranışlarımızın temellerinin şekillendirilmesi, yukarıda da bahsettiğimiz nedenlerden ötürü sinapslarda gerçekleşir. Sinapslardaki aktivite, presinaptik nöronda sentezlenen nörotransmitterler ile dolu sinaptik veziküllerin oluşturulması ile başlar. Bu veziküller sinaptik aralığa boşalacakları presinaptik membrana taşınırlar (74). Presinaptik nöron membranında ateşlenen aksiyon potansiyeli zar boyunca yayılarak presinaptik membrana ulaştığında, voltaja-duyarlı Ca^{+2} kanalları açılarak hücre içi Ca^{+2} derişimi artar. Ca^{+2} , presinaptik

nörondan sinaptik veziküllerin salınması için anahtar moleküldür. Çünkü Ca^{+2} iyonları, sinaptik veziküllerin üzerinde ve presinaptik membran üzerinde bulunan proteinlerin etkileşime girmesini sağlayarak, veziküllerin füzyonunu gerçekleştirir. Böylece nörotransmitterler sinaptik aralığa salınmış olurlar. Nörotransmitter molekülleri, postsinaptik membranda bulunan eksitatorik ya da inhibitörük postsinaptik potansiyellerin üretilmesini sağlayan reseptörleriyle etkileşime girerler (75,76).

Hipokampüsün nöronal fonksiyonları nöron devrelerinin bağlantılarına, eksitatorik ve inhibitörük sinaptik mekanizmalara, pasif nöronal membran özelliklerine ve aktif nöronal membran akımlarına bağlıdır. Hipokampal sinapslar nöromusküler kavşaktan farklı olarak, genellikle aksonal varikositler halinde bulunmaktadır. Bu bölgeler literatürde sıklıkla akson terminalleri olarak geçmesine rağmen kullanılan “terminal” terimi yanıltıcı olup, varikosit teriminin kullanılması daha doğrudur. Bu varikositler birçok akson boyunca düzenli aralıklarla ortaya çıkmaktadırlar. Bu bölgelerdeki nörotransmitter sentezi, veziküler paketlenme, salınım ve tekrarlayan endositozlar için gereken enerjiyi karşılamak üzere sıklıkla mitokondriler bulundurur (72).

Hipokampüste en bol bulunan sinapslar dendritik spinlerde bulunan küçük glutamaterjik sinapslar olup, postsinaptik yoğunluğunda özellikle AMPA ve NMDA reseptörleri içerirler. Bu sinapslar perforant yoldan dentat granül hücrelerine gelen sinapslarda, Schaffer kollaterallerinden CA1 hücrelerine gelen sinapslarda ve CA3 hücrelerine gelen asosiyasyonel-komissural projeksiyonlarda bulunurlar. Ayrıca CA1 ve CA3 hücrelerine perforant yoluyla gelen monosinaptik sinapslar ve CA1 piramidal nöronlarından çıkıp önce subikulumda sonra da entorhinal kortekse ulaşan sinapslar da bu özelliktedirler. Dentat girustan CA3 hücrelerine uzanan mossy lifleri, granül hücrelerinin ince, miyelinsiz aksonları olup, pek çok farklı tipte sinapslar içerir. Öncelikle hipokampal diğer sinapslardan oldukça büyüktürler ve diğer glutamaterjik terminallerde baskın olarak bulunan küçük, belirgin presinaptik veziküllere ek olarak oldukça yoğunlaştırılmış veziküller de içermektedirler. Bu yoğunlaştırılmış veziküller, dinorfin ve Zn^{+2} gibi moleküller içermekte olup, salınımları aktivite bağımlı olarak düzenlenmektedir. Bu sinapsların postsinaptik

kısımları CA3 nöronlarının apikal dendritlerinin proksimal bölgelerinde çok dallanmış bir yapı olarak karşımıza çıkmaktadırlar (73-75). Bu sinapslarda baskın olarak bulunan AMPA reseptörlerine ek olarak, kainat reseptörleri de bulunmakta ve NMDA reseptörleri ise oldukça az gözlenmektedir. Ayrıca eksitatorik piramidal nöronların küçük ve direkt olarak hipokampal ara nöronların soma veya dendritleriyle yaptıkları sinapslar da bulunmaktadır. Bu sinapsların haricinde hipokampus içerisinde akso-aksonal tipte sinapslara ise çok nadir rastlanmaktadır (77). Hipokampal formasyon içerisinde pek çok nörotransmitter ve reseptör olmasına rağmen hem temel projeksiyon devrelerinde hem de lokal eksitatorik devrelerde glutamaterjik eksitatorik sinapsların rolü oldukça büyüktür. Hipokampüsün temel afferentlerini oluşturan Entorhinal korteks tabaka II piramidal hücreleri de eksitatorik glutamaterjiktir. Dolayısıyla hipokampüsün ana yolağı olan trisinaptik devre glutamaterjiktir ve entorhinal kortekten gelen bilgi hipokampüse tek yönlü bir biçimde glutamaterjik olarak akmaktadır (86).

3.3.3. Hipokampal Fonksiyonlar

Hipokampüs yüzyıllar boyunca, koku almadan motor fonksiyonlara, inatçılık ve yaratıcılığa kadar pek çok fonksiyon ile ilişkilendirilmiştir. 1930'lara kadar hipokampal formasyon gelişiminin beyindeki koku bölgeleriyle paralel olması ve lateral olfaktör yoldan gelen liflerin hipokampal formasyonun etrafından geçiyor olması nedeniyle, nöroanatomistler sistemin bir parçası olarak kabul ediliyordu. Fakat günümüzde koku soğanından gelen liflerin direkt olarak hipokampüsün hiçbir bölgesini innerve etmediği ortaya koyulmuş ve geçmişte hipokampüse atfedilen pek çok bulgunun bu alanla ilişkili olmayabileceği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (81).

Hipokampüsün diğer bir dikkat çekici özelliği ise bilişsel harita teorisiyle ilişkilidir. Laboratuvar hayvanlarının hipokampüsünde tek-nöron aktivitesini izleyen mikro-elektrotların implantasyonu kullanılarak yapılan deneylerde, hipokampüsün uzaysal hafızadaki rolü gösterilmiştir. Buna göre hayvanlar bildik çevrelerindeyken hipokampüs onların uygun konumlanmalarına olanak tanımaktadır (84).

Uzun yıllardır periferik ve merkezi sinir sistemine ait nöronların, özellikle de merkezi nöronların, bölünme yeteneklerinin olmadığı ve bunun sonucunda

proliferasyon yapamadıkları düşünülüyordu. Bu durum büyük oranda doğru kabul edilse de son yıllarda bazı istisnalar olduğu anlaşılmıştır. Hipokampusun dentat granül hücreleri bu istisnalardan birisidir. Çünkü bu hücreler yaşam boyunca çoğalabilir özelliktedir ve bu sayede hipokampus yetişkin nörogenezinde de önemli bir yer edinmektedir (81).

3.4. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)

İnsanlarda BDNF geni 11p kromozomunda bulunmakta olup, farklı promotorlarla ilişkili dört adet 5' ekzonu (Ekzon I, II, III, IV) ve olgun BDNF proteinini kodlayan bir adet 3' ekzonu (Ekzon V) bulunmaktadır. Bu gen bölgesinden sekiz farklı mRNA transkribe edilir ve beyinde ekzon I-III içeren transkripsiyonlar baskınken, ekzon IV transkripsiyonu akciğer ve kalpte daha yaygındır. BDNF diğer nörotrofinlerle yaklaşık %50 oranında amino asit kimliğini paylaşır (91).

Memeli beyinde BDNF mRNA seviyeleri nöronal aktivite ile düzenlenir. Membran depolarizasyonu voltaj-kapılı Ca^{+2} kanalları ve özellikle NMDA reseptörü gibi Ca^{+2} 'a geçirgen glutamat reseptörleri aracılığıyla hücre içine Ca^{+2} girişini başlatır. Ca^{+2} , CaRF ve CREB gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu tetikleyerek BDNF gen transkripsiyonu için ilgili molekülleri devreye sokar (92). Her bir nörotrofin birbirine non-kovalent bağlı homodimerlerden oluşur ve iki çift anti-paralel β - pili motifi ve sistin rezidüleri bulunduran sistin ilmik motifi ile oluşturulmuş belirgin üç boyutlu yapıyı paylaşırlar. Diğer nörotrofinler gibi BDNF de başlangıçta endoplazmik retikulumda pre-pro-BDNF olarak sentezlenir. Sonrasında sinyal peptidin uzaklaştırılmasıyla pro-BDNF'ye dönüştürülür. Yaklaşık olarak 30 kiloDalton (kDa) moleküler ağırlığa (M.A.) sahip olan pro-BDNF, furin gibi pro-hormon konvertazları ile olgun BDNF (M.A ~ 14 kDa) haline getirilir. Pro-nörotrofinler, hem bağlanma özellikleri hem de biyolojik aktiviteleri açısından olgun nörotrofinlerden farklıdır (91).

Yapılan çalışmalar bu dönüşümün, pro-BDNF'nin nöronlardan aktivite bağımlı sekresyonunu takiben hücre dışı ortamda gerçekleştiğini ileri sürmektedir (93). Fakat bazı çalışmalar ise, pro-BDNF'nin intraselüler olarak hızlı bir şekilde olgun BDNF'ye dönüştürülerek depolandığını ve eksitatorik uyarı geldiğinde salındığını

ileri sürmektedir. Ayrıca yapılan diğer çalışmalar da pro-BDNF'nin trans-golgi ağından salgı veziküllerine geçtiğini ve burada prohormon konvertaz 1 ile olgun BDNF'ye dönüştüğünü göstermektedir (94). Olgun BDNF'nin olduğu yer literatürde bir süre tartışma konusu olsa da sonrasında anlaşılmıştır ki bu dönüşüm öncelikli olarak presinaptik hücre içerisinde gerçekleşirken bir sonraki konuda bahsedileceği gibi LTP'nin sürdürülmesinde ve L-LTP'de sinaptik aralık içinde yani ekstraselüler olarak gerçekleşmektedir. Ekstraselüler olarak gerçekleştirilen bu dönüşüm metalloproteinazlar ve ekstraselüler plasmin aracılığıyla gerçekleştirilmektedir (93).

NGF gibi retrograd olarak taşınan ve klasik, hedeften köken alan trofik faktör modelinin aksine, BDNF'nin beyinde anterograd taşındığına dair pek çok kanıt bulunmaktadır. İlk üretilen BDNF proteinleri akson terminallerine lokalize olacak şekilde taşınır. Bu aşamada aksonal transport inhibitörleri kullanılırsa bu taşınım iptal olur. İkincisi, daha yüksek çözünürlüklü çalışmalar göstermiştir ki, BDNF, nöropeptidlerin depolanması ve sinir terminallerinden salınması için temel alan olan yoğun içerikli veziküllerle ilişkilidir. Güncel kanıtlar nörotrofinlerin nöronal depolarizasyonu takiben akut bir şekilde salındığını ortaya koymasına rağmen, aslında BDNF'nin direkt aktivite bağımlı olarak presinaptik hücreden postsinaptik hücreye transnöronal transfer yoluyla aktarıldığını, florasin işaretli BDNF kullanarak göstermiştir (91). Bilim camiası BDNF'nin anterograd mı retrograd mı taşındığı konusunda başlangıçta ikiye ayrılmış olsa da günümüzde varılan ortak noktaya göre BDNF hem anterograd hem retrograd olarak taşınabilmektedir (92).

Endojen BDNF ile yapılan biyokimyasal çalışmalar, beyin BDNF düzeyinin doğumdan sadece 3 hafta sonra en yüksek değerlerine ulaşmasına rağmen, oluşturulan BDNF null mutantların bu zaman zarfına kadar öldüğünü ortaya koymuştur. Bu problemi çözmek için BDNF geni susturulmuş koşullu mutantlar üretilmiştir. İlginç bir şekilde bu fareler beyinde ölçülebilir BDNF seviyesi bulunmadığı halde doğumdan sonra aylarca yaşayabilmiştir (93). Dolayısıyla postnatal gelişim süreci için, ölçülebilir düzeyde BDNF proteini üretilmese de BDNF geninin genomda bulunması gerekmektedir.

3.4.1. BDNF ve Hastalıklarla İlişkisi

Beynin tecrübe ve çevresel koşullara kendini adapte edip değiştirme yeteneği uzun ve kısa vadede sinaptik bağlantılara bağlıdır. Nöronal aktivite tarafından sinapsların sayısının ve dayanıklılığının değiştirilebileceği kanıtlanmıştır. Sinapsların aktivite-bağımlı değişimi, beyinin bilişsel kısımlarında ve gelişiminde kritik rol oynar. BDNF mRNA'sının, felce uğratılmış deney hayvanlarının hipokampusünde ciddi miktarda artışı, BDNF geninin aktivite-bağımlı transkripsiyonunu ilk destekleyen gözlem olmuştur. Sonrasında BDNF mRNA ekspresyonunun öğrenme ve hafızayla ilişkisinin araştırılması oldukça önem kazanmıştır (92).

Nöronal aktivitenin, sinaptik esneklikte önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Sinaps aktivitesi, esnekliği ve nörotrofik regülasyon arasındaki ilişkinin halen bazı belirlenmemiş kısımları bulunmasına rağmen, araştırmalar büyük bir hızla ilerlemektedir. En baskın hipoteze göre; Aktivite-bağımlı sinaptik değişimler, nörotrofinler aracılığıyla gerçekleşir. BDNF'yi ele alacak olursak, nöronal aktivite ile BDNF geninin transkripsiyonu, mRNA'sının taşınması, BDNF proteininin dendritlere geçişi ve salgılanması kontrol edilir (91-92).

Fiziksel aktivite, koşma, diyetel kısıtlamalar, uyku, sirkadiyan ritmi gibi fizyolojik durumlar BDNF gen ekspresyonunu etkiler. Bununla beraber, nöronal aktiviteyi etkileyen Alzheimer, iskemi, depresyon, stres gibi çeşitli patolojik durumlarda da BDNF'nin mRNA seviyesi etkilenir. Ayrıca BDNF'nin diğer görevleri de; nöronal canlılık ve farklılaşma, sinaptik iletişim ve esneklik, transmitter sentezi, metabolize edilmesi ve salgılanması, post-sinaptik iyon kanalı akışı, dopaminerjik ve serotonerjik nöronların gelişimi ve canlılığının sağlanması şeklindedir (94).

BDNF, özellikle Dopamin 2 reseptör ailesine dâhil olan D3 reseptörünün ekspresyonunu da kontrol eder. Böylece beyin kortikal bölgesi, BDNF ve dopamin mekanizması arasındaki ilişki oldukça önemlidir (91). Son dönem yapılan çalışmalar, BDNF seviyelerinde meydana gelen değişimin bağımlılıkla ilişkili mekanizmalarda önemli bir modülatör olarak yer alabileceğine değinmektedir. BDNF nöroadaptasyon süreçlerine de katkıda bulunarak bağımlılığın gelişimine yardımcı olur (92).

BDNF geni olmayan ratlarda bazı periferik duyu nöronlarının gelişmediği ve bu hayvanların 3 haftadan daha uzun süre yaşayamadıkları, heterozigot ratların ise obez oldukları, nöbet eşiğinin yükseldiği ve uzamsal öğrenmenin bozulduğu gösterilmiştir (92). Beyinde en fazla BDNF eksprese edilen bölge olan hipokampüste yapılan çalışmalarda, BDNF'nin nöron fonksiyonundaki rolünü gösteren çok fazla bulgu açığa çıkarılmıştır. Hipokampal kesitlere BDNF uygulanmasının spontan presinaptik ateşleme oranı ile post-sinaptik akımların sıklığını ve amplitüdünü önemli şekilde artırdığı gösterilmiştir (95).

Bu süreçler içinde en çok değerlendirilenler ise dopaminerjik ve serotonerjik sistemlerdir. Aile temelli bir ilişkilendirme çalışmasında BDNF'nin bipolar bozukluk için potansiyel bir yüksek risk alleli olduğu belirlenmiştir (92-93).

3.4.2. BDNF Reseptörleri

Küçük dimerik yapıda bir protein olan BDNF düşük affinite göstererek p75NTR reseptörlerine bağlanır. Tümör Nekrozis Faktör (TNF) reseptör süper ailesinin bir üyesi olan p75NTR reseptörü, başlangıçta düşük affiniteli bir NGF reseptörü olarak keşfedilmiş, fakat sonra benzer bir affinite ile BDNF, NT-3 ve NT-4/5'e de bağlandığı fark edilmiştir (94). Reseptörün ekstraselüler domaini sistin amino asidince zengin motifler içermekte olup, sitoplazmik domaini diğer TNF reseptörleri gibi sitoplazmik domaininde “ölüm” sinyali içerir. Bu reseptör yapısında katalitik bir kinaz motifi içermiyor olmasına rağmen, nöronal hayatta kalma ve farklılaşma olaylarında önemli sinyalleri ileten birçok protein ile etkileşime girer. p75NTR reseptörü üç temel sinyal yolağını aktive etmektedir. Bunlardan ilki “Nükleer Faktör-Kappa B”nin aktivasyonudur. NFκB, nöronal sağkalımı destekleyen pek çok gen bölgesinin transkripsiyonuna yol açar. İkinci aktive ettiği yolak “Jun Kinaz” olup, nöronal apoptozise neden olur. Son olarak Rho aktivitesini düzenleyerek büyüme konisi hareketlerini azaltır (91). p75NTR reseptörünün en önemli fonksiyonlarından birisinin, Trk reseptör aktivasyonunu kolaylaştırmak olduğu ve bu kolaylaştırmayı, ya nörotrofinleri Trk reseptörlerine sunarak ya da Trk reseptöründe elverişli bir konformasyonel değişikliği indükleyerek yaptığı düşünülmektedir. Ayrıca pro-BDNF olarak salınan prekürsörün tercihen p75NTR reseptörünü aktive ettiğini gösteren bazı kanıtlar bulunmaktadır (95).

BDNF'nin yüksek affinite ile bağlandığı TrkB reseptörü ise transmembran bir domainden ve tirozin kinaz aktivitesine sahip sitoplazmik bir domainden oluşmaktadır. Reseptör ligandı ile bağlandığında dimerize olur ve bunun sonucunda bir dizi tirozin kinaz aktivitesi tetiklenir. Kısacası bu moleküllerin aktivasyonu ile Ras-MAPK gibi çeşitli hücre içi ikinci haberci sistemi kaskatlarının uyarımı ve CREB gibi transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonu aracılığıyla; gen ekspresyonunun düzenlenmesi, nöronal farklılaşma, hayatta kalma ve gelişim esnasındaki nöronal büyüme olayları düzenlenmektedir (96).

BDNF, glutamaterjik nöronlar tarafından sentezlenir, depolanır ve salınır. BDNF'nin bu nöronların dendrit ve akson terminallerinde depolandığı ve aktivite bağımlı olarak salındığı gösterilmiş olmasına rağmen, presinaptik ve/veya postsinaptik salınımın derecesi, merkezi sinir sistemi yolları arasında büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Hipokampusün granül ve piramidal hücrelerinde BDNF, HFS yoluyla uyarıldığında hemen salgılanmak üzere dendritik veziküllerde depolanıyor gibi görünmektedir (93). Katalitik sinyal dönüştürücü TrkB reseptörleri ise glutamaterjik nöronların hem presinaptik hem de postsinaptik kısımlarında bulunmakla birlikte özellikle NMDA reseptörlerinin konumlandığı postsinaptik yoğunlukta bulunuyor olması nedeniyle BDNF/TrkB bağlanmasının, NMDA reseptör fonksiyonunu modüle ettiği düşünülmektedir (94-95). Bu özellikleri nedeniyle BDNF, eksitatorik sinaptik iletim ve plastisiteyi iki yönlü (pre ve postsinaptik) olarak düzenleyen bir molekül olarak işlev görür.

3.4.3. BDNF ve Hipokampal Sinaptik Plastisite

Tüm nörotrofinler arasında, beyindeki ekspresyon düzeyi ve sinapslar üzerindeki güçlü etkilerinden dolayı BDNF ön plana çıkmaktadır. BDNF'nin erişkin beynindeki temel fonksiyonu, çeşitli beyin bölgelerinde eksitatorik ve inhibitör sinapslar üzerine kısa ve uzun süreli yapısal ve fonksiyonel etki ile sinaptik iletimi düzenlemektir. BDNF'nin beyin sinapslarındaki karmaşık etkilerinin altında yatan birkaç neden vardır. Çünkü hücre içi karmaşık sinyalizasyon kaskatlarını aktive edebilmektedir. Bunun yanı sıra pro-BDNF'nin ve BDNF'nin, TrkB ve p75NTR reseptörleri üzerinden taban tabana zıt etkiler gösteriyor olması da BDNF'nin etki yelpazesini genişletir. Nöronal aktivite ve sinaptik plastisite arasında BDNF

tarafından düzenlenen sinerjik ilişkiler, bilişsel süreçlerle karakterize karmaşık davranışların altında yatan mekanizma olabilir. Bununla ilişkili olarak yapılan sayısız çalışma, BDNF'nin öğrenme ve hafızanın oluşumunun moleküler mekanizması olan LTP süreci için kritik rol oynayan bir molekül olduğunu ortaya koymuştur (96-97).

Hipokampal nöron kültüründe hücrelerin BDNF ile yıkanması, CA1 hücre sinapslarının bazal sinaptik iletiminde uzun süreli artışa neden olmuştur (97). Buna karşın yapılan başka çalışmalar benzer prosedür uygulamış fakat BDNF'yi yıkama yoluyla değil de yavaşça perfüze ederek verilmesi, sinaptik iletimde akut bir artış meydana getirmemiştir (98). BDNF'nin verilmiş stiline göre TrkB reseptörünün aktivasyon kinetiği ve etki ettiği sinyalizasyon moleküllerini değiştirmesi farklı iki sonuca neden olmuştur.

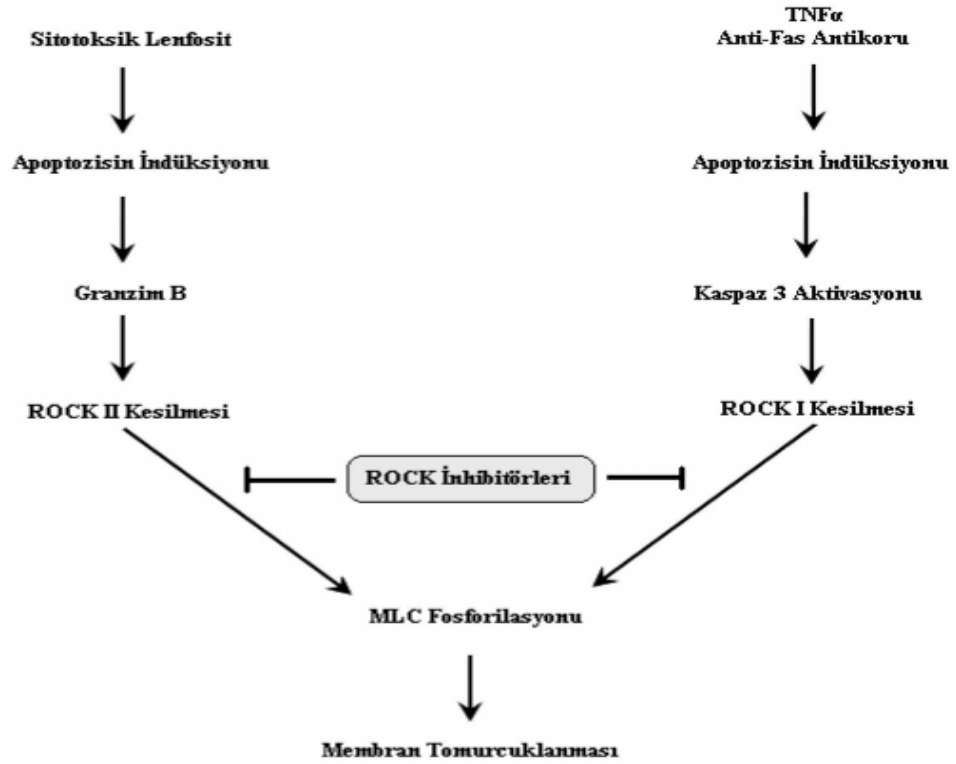
BDNF'nin sinaptik plastisiteye dâhil olabileceğine dair ilk ipucu, hipokampustaki BDNF ekspresyonunun, LTP'yi indüklemek için sıklıkla kullanılan yüksek frekanslı stimülasyon (HFS) ile indüklenebileceği gözleminde kaynaklanmıştır (93). BDNF, tetanik stimülasyona sinaptik yanıtı artırarak E-LTP'nin indüklenmesini kolaylaştırdığı, ayrıca sinaptik proteinlerin fosforilasyonu ve dağılımının düzenlenmesi yoluyla sinaptik veziküllerin mobilizasyonunu regüle ettiği düşünülmektedir (94). Genetik ve farmakolojik çalışmalar BDNF'nin L-LTP için gerekli olduğunu göstermiştir. BDNF (+/-) knockout farelerde, L-LTP'nin indüklenmesinde belirgin bozulmalar olduğunu göstermiştir (95). Aynı şekilde TrkB knockout (KO) fareler kullanılarak yapılan bir çalışmada da L-LTP bozulmuştur (96). Ayrıca BDNF knockout fareler, BDNF antikoru uygulanan ya da TrkB antagonisti verilen fareler, Morris Su Tankı gibi spasiyal öğrenme ve hafıza görevinde başarısız olmuşlardır. Endojen BDNF seviyelerinin yüksek olduğu yetişkin hipokampusunda, TrkB Immünglobulin G antikoru kullanılarak BDNF'nin çalışmasının engellemesi sonucunda, LTP'nin magnitudünde azalmalar gözlemlenmiştir. Ayrıca BDNF KO farelerle yapılan genetik çalışmalar, BDNF ekspresyonundaki azalmanın, hipokampal LTP'de belirgin bozulmalara neden olduğunu ortaya koymuştur (5). Hatta hem heterozigot KO farelerin (+/-) hem de homozigot KO farelerin (-/-) sergilediği LTP bozukluk derecesinin benzer seviyelerde olmasından dolayı LTP'nin indüklenmesi ve/veya sürdürülmesi için belli

miktarda hipokampal BDNF'ye ihtiyaç duyulmaktadır (93). E-LTP'nin indüklenmesini takiben oluşan Immediate-Early Gen adı verilen hücre büyümesiyle alakalı genlerden zif268 ve Arc, LTP'nin devamlılığında ve hafızanın sağlamlaştırılmasında rol oynar ve bu genlerin BDNF ile tetiklenen LTP'yi takiben de eksprese edildiği gösterilmiştir (90). Kısacası BDNF, LTP'yi kolaylaştırmakta ve sürdürülmesi için gerekmekte olup, yeni protein sentezi ile ilişkili olması dolayısıyla sinaptogenezde de önemli roller üstlenmektedir.

3.5. Rho/Rho-Kinaz (ROCK) Protein Ailesi

Rho; kinaz bölgesi, kıvrılmış kıvrım ve pleksitrin homoloğu bölge olmak üzere 3 bölümden oluşur. Kıvrılmış kıvrım bölgesinde Rho'nun bağlandığı bölge bulunurken, PH bölgesinde sisteince zengin bir bölge vardır (99).

ROCK, 160 kDa molekül ağırlığına sahip, serin/treonin kinaz etkinlikli protein olarak tanımlanmıştır. ROCK otoinhibitör etkiye sahiptir. İnaktif formda ROCK'nin C-terminal Plekstrin homoloğu bölgesi ve Rho bağlanma bölgesi (RBB), kinaz bölgesi ile etkileşim içindedir. Enzimin etkinlik gösterebilmesi için C terminal bölgesi ile katalitik bölge arasındaki etkileşimin bozulması gerekmektedir. Bu etkileşim çeşitli substratların enzimin C terminal bölgesine kendilerine özgül bağlanma yerlerine bağlanması ile veya C terminal bölgesinin kesilmesi ile engellenir (100). Y27632 ve HA-1077 (fasudil) gibi ROCK inhibitörleri, enzim kinaz bölgesine bağlanarak hem ROCK I'yi hem de ROCK II'yi inhibe ederler. Kaspaz-3 aracılıklı ROCK I aktivasyonu apoptotik uyarana bağlı olmaksızın hemen hemen tüm apoptotik olaylarda membran tomurcuk oluşumundan sorumludur (Şekil 1). ROCK, apoptozun işlem fazında gerçekleşen hücre kasılması, membran tomurcuk oluşumu, çekirdek parçalanması ve apoptotik hücrelerin apoptotik cisimciklere bölünmesi gibi morfolojik olayların düzenlenmesinde etkilidir (101).



Şekil 1. Apoptozda ROCK (Rho kinaz) I ve II'nin farklı şekillerdeki aktivasyonu ve buna bağlı apoptotic membrane tomurcuklanmasının oluşumu (101)

3.5.1. Rho Proteinleri

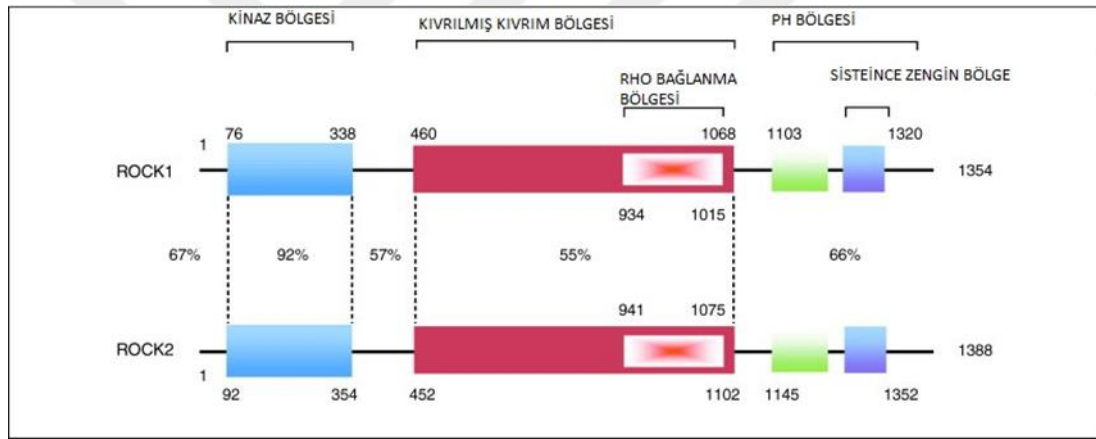
Küçük G proteinlerinden olan Rho'nun hücre adezyonu, proliferasyon ve apoptoz gibi birçok hücreyel olayda düzenleyici rolü vardır. Rho'nun çok sayıdaki efektörlerinden en iyi bilinen ve üzerinde en çok çalışılan Rho Kinaz'dır. Rho Kinazın iki izo formu ROCK α (ROCK II) ve ROCK β (ROCK I) bulunmaktadır (102).

Bir serin-treonin kinaz olan Rho kinaz, monomerik guanozin 5'- trifosfatazların Ras süperfamilyasının, Rho alt familyasının bir üyesi olan küçük GTPaz Rho'nun bir alt efektörüdür. Rho ailesinin memelilerde en az 10 üyesi tanımlanmıştır. Bunlar arasında Rho izoformlarından Rho A, B, C, D, E ve G; Rac izoformlarından Rac 1, Rac2, Rac3, Cdc42 ve TC10 bulunur (103).

Rho'ya ait proteinlerin bilinen ve üzerinde çalışılan en iyi efektörü Rho-kinaz (ROCK) enzimleridir Bugüne kadar tanımlanmış iki adet ROCK izoformu

bulunmaktadır. Bunlar ROCK1 (ROCKB, p160ROCK, Rho-kinaz P) ve ROCK2 (ROCKa)'dır. İnsanlarda ROCK1 ve ROCK2'ye ait gen faktörü sırasıyla kromozom 18 ve kromozom 2 üzerinde yer alır (104). Rho kinazlar başlangıçta GTP bağlayıcı proteinlerden birisi olan RhoA'nın aşağı akış hedeflerinden birisi olarak keşfedilmişlerdir (99-100).

Rho kinaz, N-terminal bölgesinde bulunan katalitik bölge, orta bölümde bulunan kıvrılmış kıvrım bölge ve C terminal bölgesinde bulunan ve sisteince zengin bölümden oluşan plekstrin homologu bölge olmak üzere 3 ana bölgeden oluşur. Rho hücrede, GTP bağlı aktif form veya GDP bağlı inaktif formda bulunur. Rho proteinleri gen ifadesini ve aktin hücre iskeletini kontrol eden sinyalleşme yollarında etkilidir (105).



Şekil 2. ROCK'un Moleküler Yapısı (106)

RBD'nin iki izoform yapısında yer alan C-terminal alanı normal koşullar altında ROCK aktivitesini inhibe edecek özelliği bulunmaktadır. Ayrıca C-terminal bölgesi ROCK1 için kaspaz3 enzimi ile ROCK2 için granzim-B enzimiyle aktive olması sonucunda yapısındaki kinaz otofaji ile tamamen ayrılabilmesi sağlanabilir. Bunun sonucunda da C-terminali ROCK aktivitesinin oto inhibisyonu gerçekleşebilir(107,108). Çünkü yapılan araştırmalarda ROCK2'nin kaspaz-2 enzimi aktivasyonu sonucunda hücrede trombinden kaynaklı olarak mikropartikül oluşmaktadır (109). Bunun sonucuna göre, ROCK molekülünde iki tane dimerizasyon alanı bulunmaktadır. Bunlar: RhoGTPaz bağlanma bölgesinde yer alan merkez kısım ve N terminal alanındaki kinaz yapısıdır (108).

3.5.2. Rho-Kinaz (ROCK)'ın Doku Alanları ve Hücre İçindeki Dağılımı

Her iki ROCK izoformu da yetişkin dokuların büyük bir bölümünde ve sıklıkla eksprese edilebilir. Ancak ROCK1 ve ROCK2'nin bulunduğu doku alanları ve buradaki ekspresyon seviyelerindeki farklılıklar önemlidir (99).

ROCK1, karaciğer, akciğer, testisler, kan ve immünsistemde baskın iken ROCK2, beyin, kalp ve düz kas hücrelerinde daha baskındır. ROCK1, hücrede çoğunlukla sitoplazmada yer alır. ROCK2 ise sitozolde daha yoğun olmak üzere iç ve plazma zarında da lokalize (RhoA aracılı aktivasyon sonrası) olabilir. Ayrıca hücre çekirdeğinde de lokalize olabilir. ROCK2'nin vimentin filamanları, stres lifleri ve sentrozomlar ile ilişkili olduğu bilinmektedir. ROCK1'in ise hücre adezyon temaları, plazma zarı, veziküller ve aktin filament yapıları ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (110).

RhoA, RhoB ve RhoC proteinleri ile aminoasit dizilimleri bakımından %85 oranında benzerlik göstermektedir. Bu proteinlerin aynı guanin nükleotid değişim faktörleri ve efektörleri ile etkileşime girdiği düşünülmektedir. Ancak buna rağmen fonksiyonel olarak farklılıklar içermektedir. RhoA, sitozoliktir ve belirli derecelerde plazma membranına bağlanır. RhoB, plazma membranı ve endomembran vezikülleri ile bağlantılıdır. RhoC ise sitozolik bir bağlantıya sahiptir. RhoB, RhoA ve RhoC'nin aksine fonksiyonel olarak zıtlık göstermektedir. Ayrıca RhoB'nin hücre büyümesini inhibe edici özelliği de bulunmaktadır (111,113).

3.5.3. Rho Proteinleri ve ROCK Aktivitesinin Düzenlenmesi

Geleneksel olarak, çok sayıda Rho GTPaz'ın sinyal yolu aktivasyonu, aktif olmayan, GDP'ye bağlı bir form ile aktif olan GTP'ye bağlı formu arasında geçiş yapmasıyla düzenlendiği bilinmektedir. Birkaç istisna dışında diğer düzenlemeler belirsizdir. Bunlardan, GEF'ler GDP'nin değişimi ile aktif Rho GTP bağlanmasını teşvik eder (114). Ardından aktif Rho GTP efektörü ile etkileşime girerek sinyal yolağını aktif hale getirir. GAP'lar ise GTP'nin hidrolize olmasını sağlayarak, GDP'ye bağlı protein oluşumunu desteklemektedirler. Ayrıca nükleotid bağlanmasını bloke eden ve Rho proteini aktivasyonunu inhibe eden GDI fonksiyonunda bu düzenlemeye

katılmaktadır. RhoGEF'ler Dbl benzeri bir protein ailesine ait yaklaşık 60 alt protein grubuna sahip olup RhoGAP'lar ise 80 üye içeren geniş bir protein ailesine sahiptir. RhoGAP'ların Rho aktivasyonunu düzenleme modları GEF'lere oranla daha az bilinmektedir. Ekstraselüler ve intraselüler bir uyarı sinyalinin olmadığı durumda Rho proteinleri, lipid modifikasyonlarını maskeleyen GDI'lar tarafından sitozolde tutulmaktadır (107,114).

Rho GTPaz'ların hücresel dağılımdaki çeşitliliği, bulunduğu konumdaki işlevselliğini etkilemektedir. Bu etki aynı zamanda GTPaz'ların hücre içi membranla olan bağlantıları, hücre lokalizasyonları ve C-terminal alanının lipid modifikasyonları ile ilgilidir. Rho'nun gen ekspresyonları ile olan düzenlemesinde RhoA, Rac1 ve Cdc42 gibi Rho GTPaz'ların mRNA'si ve protein seviyeleri, bütün dokularda genellikle stabildir. Ancak bazı Rho proteinleri, belirli dokularla sınırlı olup, bunun nedeni buradaki hücrelerde özel fonksiyonlar gerçekleştirmeleridir (115,116).

3.6. Hipokampal Nöroenez ve Aksonal Rejenerasyonda Rho/ROCK Aktivitesi

Yetişkin hipokampal nöroenez, yaşam boyu meydana gelen nöron yenilenmesidir. Rho GTPaz'lar nöron hücrelerinde; nöron morfolojisi, hücre iskeleti reorganizasyonu, nörit büyümesi, nöronal apoptoz ve sağkalım gibi çok sayıda hücresel olaylarla ilişkilidir. Nöronal büyüme esnasında ROCK aktivitesi aksonal retraksiyon ve stres lifi oluşumuna neden olmaktadır. Lateral ventrikül içerisine doğrudan Y-27632 infize edilmiş olan örneklerin deney modellerinde ROCK inhibitörünün en az 7 gün boyunca deney hayvanlarına uygulandığı bilinmektedir. Deney hayvanlarının beyin dokularından doku alınan örneklerinde ROCK inhibisyonunun uzamsal bellek gelişimi ile ilişkilendirilen dentat girus'ta bulunan yetişkin doğumlu nöronların sayısını artırdığı bildirilmiştir. Aynı zaman da granüler hücre tabakasında bulunan yeni doğumlu nöronların hayatta kalma oranını da artırdığı görülmüştür. Bütün bu fonksiyonlara rağmen beyin dokusunun subgranüler alanlarında ise nöroblast oluşumunu etkilemediği kaydedilen veriler arasındadır (117-120).

Merkezi Sinir Sistemi yaralanmalarından sonra nöron hücresi aksonları büyüme inhibe edici moleküller ve reaktif astrosit etkilerine maruz kalırlar. Bu durumda ROCK aktivitesinin artışı, aktomiyozin kontraktilitesinde bir artışa neden olur. Sonuç olarak sinir lifi oluşumunda baskılanmaya neden olduğu görülmüştür. Bu deneylerde farmakolojik ROCK inhibisyonu için Fasudil, dimetil Fasudil ya da Y-27632 kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, nörit retraksiyonunun önlendiği ve Ntera2 insan nöronlarında nörit büyümesini artırdığı görülmüştür (121).

3.7. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, aerobik solunum sırasında üretilen oksidan substratlar ile nötralizasyon görevi gören, enzimatik ya da non-enzimatik aktivite gösteren antioksidanlar arasındaki intrasellüler bir denge durumudur.

Artan serbest radikal üretimi ve/veya yetersiz antioksidan sistemleri nedeniyle artan oksidatif stresin potansiyel olarak çoklu patolojik sonuçları vardır. Düşük, fizyolojik dozlarda reaktif oksijen ürünleri (ROS), sinyal molekülü olarak davranır, immünolojik yanıtta önemli görev üstlenir ve mitoz gibi sayısız hücresel aktiviteye katılır. Ancak yüksek dozda, proteinlere (enzim ve reseptörler gibi), lipidlere ve DNA gibi hücre içeriğine zarar verir. Böylece apoptoz ve hücre ölümüne yol açar. Yaşlanma, aşırı kalori alımı, enfeksiyonlar, inflamatuvar hastalıklar, çevresel toksinler, farmakolojik tedaviler, duygusal ya da psikolojik travma, iyonize radyasyon, sigara, alkol kullanımı gibi sayısız fizyolojik ve patolojik süreç, oksidatif strese neden olmakta, eşleşmemiş elektronlar ile etkileşime giren ROS üretimi artmaktadır (122).

3.8. Glutamat

Glutamat, merkezi sinir sistemindeki temel eksitatorik nörotransmitter olup glutamat amino asidinin sinir sisteminde nörotransmitter işlevi gördüğünün ilk kanıtı, 1959 yılında Curtis ve ekibinin çalışmasıyla ortaya koyulmuştur (123). Ayrıca hipokampusun da başlıca uyarıcı nörotransmitteri olup, özellikle öğrenme ve hafızanın moleküler temeli olan uzun- dönem güçlendirme (LTP) ve uzun-dönem baskılama (LTD) olaylarının da kilit molekülüdür (124).

Bu nörotransmitter bir amino asit olup, hücrede gerçekleştirilen çeşitli metabolik süreçler sırasında üretilir. Glutamat, trikarboksilik asit (TCA) döngüsünün bir ara metaboliti olan α -ketoglutarat molekülünden türev alır. Sinir hücrelerinde glutamat, aspartat amino asitinden aspartat amino transferaz enzimi ile ve 2-oksooglutarattan glutamat dehidrogenaz enzimi ile sentezlenmektedir (122). Ayrıca glutamattan glutamik asit dekarboksilaz enzimi ile GABA nörotransmitterinin oluşumu gerçekleştirilir.

Glutamat hipokampal nöronları depolarize eder ve salındıktan sonra nöronlar ve glialar tarafından geri alınır. Özellikle astrositlerce geri alınan glutamat, glutamin sentaz enzimiyle dekarboksile edilir. Glutamin ya astrositlerdeki metabolik olaylarda kullanılmakta ya da presinaptik nörona diffüze olarak, presinaptik terminallerde glutaminaz enzimi ile tekrar glutamata dönüştürülüp bir sonraki salınım için kaynak veziküller oluşturulmaktadır (124).

3.8.1.Glutamat Reseptörleri

Glutamatın dört farklı reseptörü bulunmaktadır. Bu reseptörlerden üçü iyonotropik olup, glutamat bağlandığında direkt olarak açılan ligand kapılı kanallardır. İyonotropik glutamat reseptörleri isimlerini uyarıldıkları dört yapay ligandtan alırlar. AMPA (α -amino-3- hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionik asit) reseptörü, NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptörü ve kainat reseptörü. Diğer glutamat reseptörü ise G protein bağlı metabotropik reseptör olup, ikincil haberci sistemleri üzerinden indirekt olarak kanal açar. Bu reseptörlerin pek çok alt türünün olduğu düşünülmekle birlikte, bunların bir kısmının presinaptik otoresptör işlevi gördükleri bilinmektedir (123,125).

NMDA reseptörleri APV (2-amino-5-fosfonovalerik asit) ilacıyla seçici olarak bloke olurken, AMPA ve kainat reseptörleri ise APV'den etkilenmeyip CNQX (6-siyano-7-nitrokuinoksalin-2,3-dion) ilacıyla bloke olurlar. Bu nedenle bu iki iyonotropik reseptör bazen non-NMDA reseptörler olarak da literatürde yer almaktadır. İyonotropik glutamat reseptörleri aktive olduğunda her zaman nöronda depolarizasyon meydana getirirken, metabotropik glutamat reseptörleri hem eksitasyon hem inhibisyon meydana getirebilir (125).

3.9. N-Metil-D-Aspartat (NMDA) Reseptörleri

“Bu reseptör başlıca 6 bölge içerir (126,127):

- **NMDA ve Diğer Agonist Tanıma Bölgesi:** NMDA, glutamat ve diğer agonistler ile reaksiyona girer. Reseptör içindeki iyon kanalının açılmasını sağlayarak normal eksitator etkinin oluşmasını sağlar.
- **Katyon Bağlanma Bölgesi:** Kanal içinde yer alır, buraya Mg^{+2} bağlanır ve membran boyunca olan iyon akımını bloke eder. Mg^{+2} 'un etkisi agonist ve voltaj bağımlıdır.
- **Glisin Bağlanma Bölgesi:** Santral sinir sisteminde inhibitör nörotransmitter olarak çalışan glisin, paradoksal olarak NMDA reseptörünün etkinliğini, dolayısıyla da eksitator iletiyi güçlendirir.
- **Poliamin Bağlanma Bölgesi:** Endojen poliaminlerden spermin ve spermidinin bağlanma yeri olan bu bölgenin işlevi, glisin gibi reseptörün aracılık ettiği yanıtı arttırmaktır. Buna karşılık her iki bölge de normal durumlarda tam olarak aktif değildir.
- **Çinko Bağlanma Bölgesi:** Bu bölge inhibitör etki gösterir. Zn^{+2} blokajı da voltaj bağımlıdır.
- **Kanal Antagonist Bağlanma Bölgesi:** Reseptör kanal kompleksinin alt bölümünde yer alır. Eksitotoksik etkiyi antagonize edebilecek farmakolojik manüplasyonlara açık bir bölgedir. Bu bölgeye bağlanacak antagonistin bağlanma yerine ulaşabilmesi için kanalın açık olması, yani reseptörün NMDA, glutamat veya benzeri agonistlerce uyarılmış ve magnezyumun kanal kapatıcı etkisinin ortadan kaldırılmış olması gerekmektedir.

3.9.1.NMDA Reseptör Kanalları

NMDA reseptör kanallarının üç özelliği vardır (126):

- Yüksek iletkenliğe sahip iyon kanallarını kontrol ederler (50 pS) ve Na⁺ ile K⁺ 'un yanısıra Ca⁺²'a da geçirgendirler,
- Kanalin açılması, ko-faktör olarak glisin ekstrasellüler olarak bulunmasına bağlıdır. Kanal sadece glisin varlığında çalışır. Normal koşullarda ekstrasellüler glisin yoğunluğu NMDAR kanalının çalışabileceği miktarlarda bulunmaktadır,
- Açılması kimyasal haberciye bağlı olduğu kadar membran potansiyeline de bağlıdır. Bu, NMDAR'nü diğer voltaj kontrollü kanallardan ayıran bir özelliktir.

Voltaja bağımlılık diğer kanallarda olmayan farklı bir mekanizmadan kaynaklanmaktadır. Diğer kanallarda membran potansiyelindeki değişiklikler, intrinsek voltaj sensörü sayesinde kanalda konformasyonel değişikliklere neden olurken, NMDA ile aktive olan kanalda ekstresek bloker olan Mg⁺² (ekstrasellüler Mg⁺²) açık olan kanalı kapayan bir tıkaç gibi davranır ve iyon akışına engel olur. Mg⁺² istirahat membran potansiyelinde (-65 mV) de kanala sıkıca bağlanır. Ancak membran depolarize olduğunda (sözelimi, non-NMDA reseptörleri glutamat ile aktive olduğunda), Mg⁺² elektrostatik etkiyle kanaldan uzaklaştırılır ve Na⁺ ile Ca⁺²'un geçişine izin verir. Bu nedenle NMDA reseptörlerinde en yüksek iyon akımı her iki koşulun da gerçekleştiği zaman ortaya çıkar (128).

3.9.2.NMDA Reseptör Tipleri

NMDAR'lerinin şu ana kadar tanımlanan yedi tane subuniti vardır (130-131):

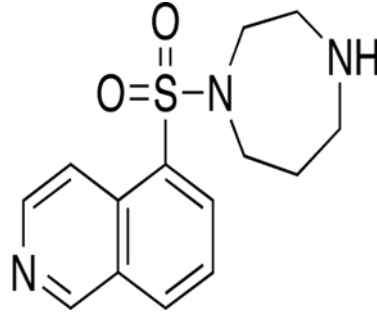
- **NR1:** Glisin bağlayıcı bölgeyi içerir. 938 aminoasitten'ten meydana gelmiştir. 105,5 kDA ağırlığındadır. NR1 reseptör subunit ekspresyonu MSS'de hemen hemen her yerde bulunmaktadır,
- **NR2:** Glutamat bağlayıcı bölgeyi içerir. 4 grubu bulunur:
- **NR2A:** Beyinde postnatal eksprese edilir.1464 aminoasitten meydana gelir ve 165,5 kDA ağırlığındadır. Ekspresyonu için yüzeyde NR1 N-terminalinin bulunması gereklidir. NR2A mRNA'sı tüm beyinde yaygın olarak bulunur;

fakat serebral korteks, hipokampus ve serebellumda daha yoğun olarak bulunmaktadır.

- **NR2B:** Tüm embriyonik beyinde eksprese edilir. Ayrıca embriyonik ve neonatal kardiyak miyositlerde eksprese edilir. Postnatal olarak yalnız ön beyinde eksprese edilir. 1482 aminoasitten oluşur ve ağırlığı 165,9 kDA'dır. NR2B'nin ekspresyonu önbeyinde, serebral korteks, hipokampus, septum, kaudat ve putamende seçici olarak yüksek düzeyde bulunmaktadır.
- **NR2C:** Postnatal olarak cerebellumda eksprese edilir. 1239 aminoasitten oluşur ve 135,4 kDA ağırlığındadır. NR2C'nin ekspresyonu ise serebellumda dominant olarak bulunurken, talamusda ve olfaktör bulbusda daha az olarak bulunmaktadır.
- **NR2D:** Diencephalon ve beyinsapında embriyonal ve neonatal olarak eksprese edilir. 1323 aminoasitten oluşur, 142,9 kDA ağırlığındadır. NR2D'nin ekspresyonu ortabeyin ve arkabeyinde yüksek iken; düşük düzeyleri talamusda, olfaktör bulbusda ve beyin sapında bulunmaktadır. NR2A ekspresyonunununa tamamlayıcıdır.
- **NR3:** Belirli sinir hücrelerinde gösterilmiştir. NR3 alt birimi tek başına fonksiyonel değildir ve NR1/NR2 alt birimi ile heteromerik kompleks halinde bulunabilir.

3.10. Fasudil

Fasudil, 10 yıldan uzun bir süredir kanı sulandırmak ve damardan akışını kolaylaştırarak beyne zarar vermesini önlemede kullanılan bir Rho kinaz inhibitörü ve vazodilatördür. İlk keşfedildiğinde serebral vasospasm tedavisinde kullanılmıştır (132). Aynı zamanda pulmoner hipertansiyonun tedavisi için efektif olduğu bulunmuştur (133).



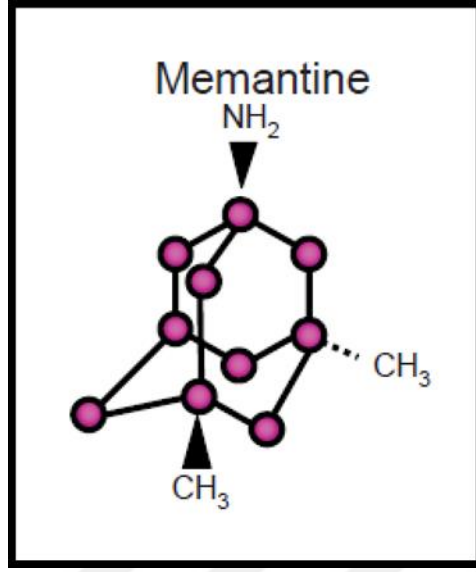
Şekil 3. Fasudilin Kimyasal Yapısı

Fasudilin Zue ve arkadaşları (134) tarafından yapılan bir çalışmada akciğer kanseri hücre hattı olan A549 hücrelerinde Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)'ün ekspresyonunu azaltarak migrasyonu ve invazyonu baskıladığı gösterilmiştir.

Han Ying ve arkadaşları (135) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise fare ve insan modellerinde tümör ilerleyişini inhibe ettiği gösterilmiştir.

3.11. Memantin

Memantin (1-amino-3,5-dimetil-adamantane), Amerika ve Avrupa'da orta şiddetli Alzhemier hastalığının tedavisinde kabul görmüş bir NMDA reseptör antagonistidir (136-137). NMDA reseptörleri, daha az yaygın olan AMPA reseptörleri ve çoğunlukla Ca^{+2} dan oluşan katyonların girişine izin veren kainat reseptörleriyle beraber sinir sisteminde temel glutamat kapılı iyon kanallarıdır (138). NMDA-tip glutamat reseptörleri, bu reseptörlerin aşırı aktivasyonu olan ekzitotoksisiteye sahip birçok kronik ve akut nörolojik hastalıkta son derece önemlidir ve hücrel hasarın ilerlemesinin bir faktörüdür.



Şekil 4. Memantinin Kimyasal Yapısı

Önceki girişimlerde, birçok NMDA antagonisti istenmeyen yan etkileri sebebiyle klinik çalışmalarda başarısız olmuştur. NMDA antagonistlerinin yan etkileri özellikle NMDA'nın fonksiyonel görevlere sahip olduğu fizyolojinin otonom kontrolleri üzerine istenmeyen etkileri nedeniyledir. NMDA antagonistlerinin glutamat reseptörlerinin fizyolojik ve patofizyolojik aktivasyonu arasında ayrım gösterememesi, memantinin yeni bir antagonist olarak keşfedilmesine kadar NMDA antagonistleri kavramının gözardı edilmesine neden olmuştur. Reseptör kanalını voltaja bağlı olarak bloklaması, orta derecede afinitesi ve hızlı açılış/kapanış kinetikleri gibi özellikler memantinin diğer NMDA antagonistlerinden ayrılmasını sağlayan ve istenmeyen yan etkilerini azaltan özellikleridir (136, 138, 139).

4. GEREÇ VE YÖNTEMLER

4.1. Çalışma Planı

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TIP-16023 numaralı proje ile desteklenmiştir. Ayrıca, T.C. Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sebahattin Payzın Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu' nun (DÜHADEK) 24.06.2016 tarih, 3 nolu kararı ve 2016/30 protokol numarası ile onaylanmıştır.

4.2. Deney Hayvanı Materyali

Deney hayvanları Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (DÜSAM)'nden temin edildi. Tüm hayvan deneyleri, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi' nde Kurumsal Hayvan Bakım ve Kullanım Kurulu tarafından belirlenen standartlara uygun olarak yapıldı. Deney protokolünde her grupta 8 hayvan olmak üzere 56 adet 3-4 haftalık erkek BALB/c mice kullanıldı. Fareler kafeslere yerleştirildi ve yiyecek, su ve ilaçları verildi. Denekler, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık sıklusa tabi tutulan bir odada (12-saat aydınlık/karanlık siklus, ışık başlangıç 07:00 pm), oda sıcaklığında (22 ± 2 °C), içinde en fazla 8 hayvan bulunan kafeslerde, suya ve yeme serbest erişimleri olacak şekilde barındırıldı.

Deney protokolüne göre günlük enjeksiyonlar her gün aynı saatte intraperitoneal (ip) olarak uygulandı. İlaçlar her bir enjeksiyon için 0.5 ml, 0.9% salin içinde çözündürülerek enjekte edildi. Kontrol grubuna ise ilaçsız salin uygulandı. Böylelikle deney hayvanlarının maruz kalacağı enjeksiyon stresi eşitlenmiş ve tüm çalışma grupları açısından deney protokolü standardize edilmiş oldu.

Fareler çalışmanın başlangıcında her grupta 8 hayvan olmak üzere rastgele 7 gruba ayrılmıştır:

Grup 1 (Kontrol Grubu): 14 gün boyunca günde 0.9% salin çözeltisi i.p. uygulandı.

Grup 2 (Skopolamin grubu): 14 gün boyunca günde 3 mg/kg skopolamin i.p. uygulandı.

Grup 3 (Fasudil Grubu): Deneklere 0-14 günler arası günde 10 mg/kg Fasudil i.p. uygulandı.

Grup 4 (Memantin grubu): 14 gün boyunca günde 3 mg/kg Memantin i.p. uygulandı.

Grup 5 (Skopolamin + Fasudil Grubu): Deneklere 0-14 günler arası günde 3 mg/kg skopolamin i.p. + 10 mg/kg Fasudil i.p. uygulandı.

Grup 6 (Skopolamin + Memantin Grubu): Deneklere 0-14 günler arası günde 3 mg/kg skopolamin i.p. ve + 3 mg/kg Memantin i.p. uygulandı.

Grup 7 (Skopolamin + Fasudil + Memantin Grubu; Skopolamin + Memantin Grubu): Deneklere 0-14 günler arası günde 3 mg/kg skopolamin i.p. ve + 10 mg/kg Fasudil i.p. + 3 mg/kg Memantin i.p. uygulandı.

4.3. Deney Hayvanlarında Demans Modelinin Oluşturulması

14 gün boyunca günde 3 mg/kg skopolamin i.p. uygulandı.

4.4. Deney Hayvanlarına Fasudil Uygulaması

Deneklere 0-14 günler arası günde 10 mg/kg Fasudil i.p. uygulandı.

4.5. Deney Hayvanlarına Memantin Uygulaması

Deneklere 0-14 günler arası günde 3 mg/kg Memantin i.p. uygulandı.

4.6. Deneyin Sonlandırılması

14 günlük enjeksiyonu takiben 15. gün deneklere Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD, Psikofarmakoloji Laboratuvarında motor fonksiyonları ile öğrenme-bellek kapasitelerini değerlendirebileceğimiz bazı gözlemsel davranış testleri uygulandı.

Bu testlerde anksiyete düzeyi tayini için Yükseltilmiş Artı Labirenti Testi, öğrenme ve bellek fonksiyonları tayini için Pasif Sakınma Testi, lokomotor aktivite tayini için Açık Alan Testi, Yabancı Nesne Tanıma Testi, Sıcak Tabaka (Hot Plate) Testi düzenekleri kullanıldı.

4.6.1. Yükseltilmiş Artı Labirenti Testi

Bilişsel davranış, uzamsal uzun süreli belleği ölçen Yükseltilmiş Artı Labirenti Testi kullanılarak belirlendi.

Labirent ahşaptan oluşuyordu; düşmeyi önlemek için kısa (1 cm) bir pleksiglas kenarla çevrili iki açık kol (29×5 cm) ve iki açık kol birbirine zıt olacak şekilde düzenlenmiş iki kapalı kol ($29 \times 5 \times 15$ cm) içeriyordu ve bu kollar, yerden 40 cm yukarıda olan bir düzenek ile merkezi bir platformla (5×5 cm) birbirine bağlanıyordu. Bu deneyin prensibi, kemirgenlerin açık alanlardan ve yükseklikten kaçınması, karanlık ve korunaklı alanları tercih etmesi temeline dayanmaktadır.



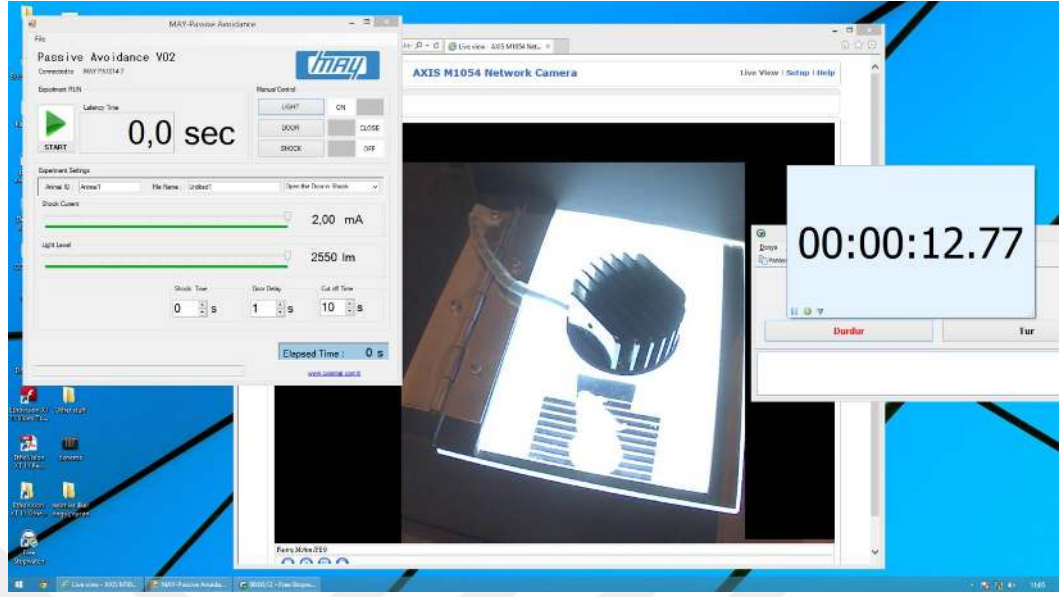
Şekil 5. Modified Elevated Plus Maze (Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirenti) Testi

Edinim oturumunda (1. gün), her fare, merkezi platformdan uzağa bakan açık bir kolunun uzak ucuna, merkezi platforma yüzü dönük şekilde yerleştirildi. Farelerin açık koldan kapalı kollardan herhangi birine hareket etmesi için gereken süre (transfer gecikmesi) kaydedildi. Her deneğin, kapalı kollardan herhangi birine geçiş

süreleri hesaplandı. Kapalı kola giren farelerin, labirent içinde açık ve kapalı kollarından bağımsız olarak 10 saniye boyunca serbestçe hareket etmelerine izin verildi. Geri çağırma (retrieval) oturumu, edinim oturumundan 24 saat sonra gerçekleşti. Fareler açık kola yerleştirildi ve transfer gecikmesi tekrar kaydedildi. Deneyler 10: 00-14: 00 saatleri arasında loş ışıklı, yarı ses geçirmez bir odada, doğal ışık altında gerçekleştirildi (140).

4.6.2. Pasif Sakınma (Passive Avoidance) Testi

Öğrenme ve bellek fonksiyonları tayini için, Pasif Sakınma test düzeneği kullanıldı. Test düzeneği, aydınlık oda (en 14 cm, boy 7 cm, yükseklik 12 cm), karanlık oda (en 14 cm, boy 7 cm, yükseklik 12 cm), ve bu odaları bağlayan bir kapıdan oluşmaktadır. Düzeneğin zemini 0.3 cm çapındaki elektrik ileten çelik barlardan oluşmaktadır. Deney 2 gün sürmektedir. İlk gün denekler aydınlık odaya konulduktan 60 sn sonra aradaki kapı açıldı ve denek karanlık odaya geçince elektrik şokuna (0.25 mA/1s) maruz bırakıldı. Eğer denek, ilk gün kapı açıldıktan sonra 5 dk içerisinde karanlık odaya geçmezse deneyden çıkarıldı. İkinci gün deneklere elektrik verilmedi ve aydınlık odadan, önceki gün yaşanan kötü hatırayı hatırlama yetilerini ölçmek amacıyla, karanlık odaya transfer süreleri hesaplandı. Bu test, deneklerin bağlamsal yaşanan tatsız tecrübeyi hatırlamaları ve korku koşullamaları temeline dayanmaktadır. PA testi uygulanmadan önce ilaç uygulaması öğrenme (acquisition), PA testi sonrası ilaç uygulanması deneklerin pekiştirme (consolidation) yetileri hakkında bilgi verir. İlaçlar PA testi ikinci günü test öncesi uygulanırsa, bu ilaçların transfer süreleri üzerine etkileri ile öğrenilmiş bir hatırayı geri çağırma yetisi (retrieval) üzerine etki olarak yorumlanır.



Şekil 6. Pasif Sakınma (Passive Avoidance) Testi

Testin ikinci gününde, deneklerin karanlık odaya geçiş süreleri “transfer latency (geçiş süresi)” olarak tanımlanır ve gruplar arasında karşılaştırma yapılarak emosyonel (duygusal) bellek yetisi üzerine yorum yapılır (141).

4.6.3. Open Field (Açık Alan) Testi

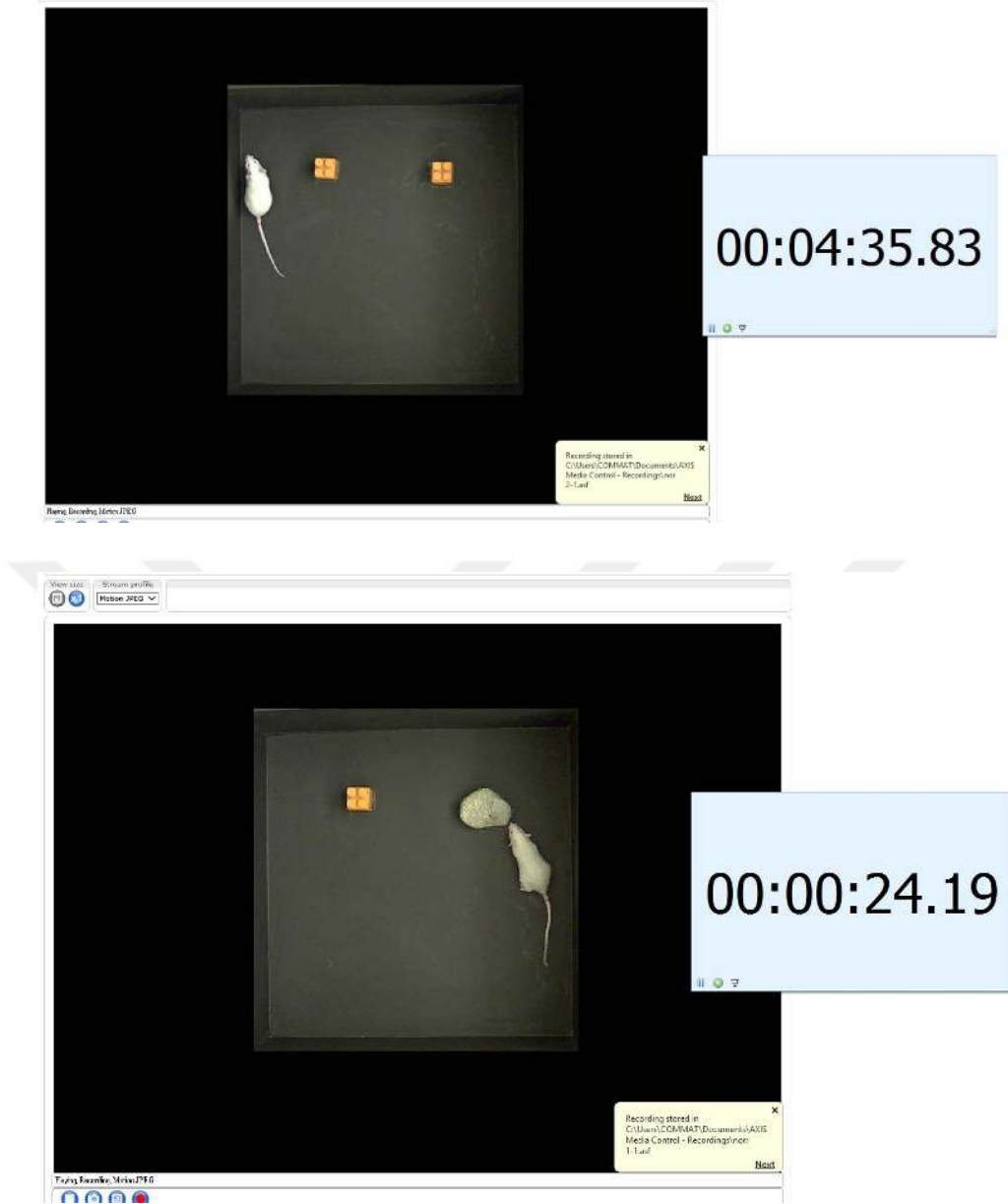
Lokomotor aktivite tayini için, zemini ve duvarları mat siyah renkte, Açık Alan test düzeneği (42x42 cm, H: 30 cm) kullanıldı. Deneklerin 5 dk içerisinde bu düzenek üzerinde serbestçe hareket etmelerine izin verildi. Bu süre içerisinde deneklerin toplam katettikleri mesafeler, lokomotor aktivite belirteci olarak hesaplandı. Deneyler EthoVision XT 11 kayıt ve takip sistemi ile kaydedilip, incelendi (142).



Şekil 7. Open Field (Açık Alan) Testi

4.6.4. Novel Object Recognition (Yeni Nesne Tanıma) Testi

Bu test, deneklerin tanıdık objeden ziyade farklı objeyi tanımaya çalışması prensibine dayanmaktadır. Testin ilk aşamasında denekler aparata (27×27 cm) konuldu, iki adet aynı şekil ve renkte objeyi (Tanıdık obje; Sarı (turuncu?); 9×5×9 cm) 5 dk boyunca tanıdıkları sağlandı. Aynı aparata aynı boyutta, farklı şekil ve renkte yeni bir obje yerleştirildikten (120 dk) sonra denek tekrar aynı aparata konuldu ve 5 dk boyunca deneklerin burun hizasının, tanıdık ve yeni objenin (novel object) 2 cm yakınında geçirdiği süreler hesaplandı. Testin ana prensibi deneklerin ilk testte edindikleri bilgiyi hatırlama yetilerinin ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Sonuçlar yabancı objeyi tanımak için harcanan sürenin, her iki objeyi de tanımak için harcadıkları süreye bölünmesinin 100'e katlanması ile hesaplandı ve Ratio Indeks olarak gösterildi. Bu değerin yüksek olması, daha kuvvetli geri çağırma yetisi olarak yorumlandı (143).



Şekil 8. Novel Object Recognition (Yeni Nesne Tanıma) Testi

4.6.5. Hot Plate Testi

Ağrı (analjezik etki) düzeyi ölçümü için, Hot Plate Test düzeneği kullanıldı. Test, 55 °C sıcaklıkta metal zeminli ve etrafı plastik bir kapla (H: 26 cm, D: 19 cm) çevrili bir sistem üzerinde gerçekleştirildi. Deneklerin arka ayaklarını yalamaları veya zıplama hareketi yapmaları halinde deney sonlandırıldı ve denek düzenden çıkarılıp kafesine konuldu (max 60 sn). Deneyler, EthoVision XT kayıt ve takip sistemi ile

kaydedilip, deneklerin ağırlı sıcak uyarana karşı reaksiyon süreleri hesaplanarak yorumlandı (144).

4.7. Biyokimyasal Ölçümler

Bu deneylerin sonunda deney hayvanları eter anestezisi altında servikal dekapitasyon yoluyla sakrifiye edildi. Takiben deneklerin kortikal beyin ve hipokampus dokuları ELİSA yöntemi ile beta amiloid, fosforile tau, beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) ve kaspaz 3 düzeyleri değerlendirmek amacıyla izole edilip - 80 °C’de çalışılana kadar muhafaza edildi.

Beyin dokuları, 9 (w / v) hacim buz soğukluğunda fosfat tamponlu salin (PBS, 0.01 M, pH: 7.4) içinde homojenize edildi. Homojenatlar 5 dakika (5000 devir) santrifüjlendi ve serum biyokimyasal analiz için toplandı.

BDNF, CREB1, beta amiloid, fosforile tau ve kaspaz 3 seviyeleri bir oto ELISA plaka analizörü kullanılarak beyin dokusu örneklerinde enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) kullanılarak analiz edildi. (Robonik readwell touch, Thane, Hindistan)

BDNF, CREB1 ve kaspaz 3 seviyeleri nanogram/ml; beta amiloid ile fosforile tau seviyeleri pikogram/ml olarak ifade edildi.

4.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme için SPSS 24.0 programı kullanıldı. Gruplara ait ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığı önce tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ve sonrasında Post Hoc Dunnett's veya Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmiştir. Sonuçlarda $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

5. BULGULAR

5.1. Deney Gruplarının Ağırlık Değişimine Ait Bulgular

Deney gruplarının deneyin başında ve sonunda yapılan ölçümlere göre ağırlık değişimlerine (gram cinsinden) ait bulgular Tablo 2.'de verilmiştir.

Tablo 2. Deneklerdeki ağırlık değişimi

	N	1.Ölçüm	2.Ölçüm	p
		Ortalama $\pm$ Std. Sapma	Ortalama $\pm$ Std. Sapma	
Kontrol	4	41,00 $\pm$ 0,36	37,10 $\pm$ 1,00*	0,007
Skopolamin	6	34,88 $\pm$ 3,41	32,88 $\pm$ 2,39*	0,016
Fasudil	6	39,98 $\pm$ 2,63	37,18 $\pm$ 1,54*	0,027
Memantin	6	35,38 $\pm$ 3,15	33,93 $\pm$ 3,16*	0,027
Sko+Fas	6	34,12 $\pm$ 3,07	33,07 $\pm$ 2,24	
Sko+Mem	6	35,63 $\pm$ 3,25	34,62 $\pm$ 2,87*	0,024
Sko+Fas+Mem	6	32,83 $\pm$ 2,21	31,06 $\pm$ 1,81	

İlk ağırlık ile son ağırlık verileri, Student's t testi ile değerlendirildi.

**p<0,05 1. Ölçüm ile karşılaştırıldığında.*

Tablo 2.'ye göre deney gruplarının deneyin başında ve sonunda yapılan ölçümlere göre ağırlık değerleri student's t testi ile karşılaştırılmıştır. Deney süresi boyunca tüm deney gruplarındaki hayvanların haftalık vücut ağırlıkları takip edilmiş olup yapılan ölçümlerde tüm grupların ortalama ağırlığında azalış gözlenmiştir. Kontrol grubu, Skopolamin grubu, Fasudil grubu, Memantin grubu ve Skopolamin+Memantin gruplarının ilk ve son ölçümleri karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

5.2. Davranış Deneylerine Ait Bulgular

5.2.1. Modified Elevated Plus Maze (Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirenti) Testi Ölçümleri

Deney gruplarının anksiyete düzeyi tayini için Modified Elevated Plus Maze (Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirenti) testi sonuçlarına ait bulgular Tablo 3.'te verilmiştir.

Tablo 3. Modified Elevated Plus Maze (Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirenti) testi sonuçları. mEPM testi 2. Gün, kapalı kollardan birine geçiş süreleri (saniye cinsinden)

	N	Ortalama	Std. Sapma
Kontrol	4	17,00	10,45
Skopolamin	6	37,5*	17,70
Fasudil	5	15,75	11,32
Memantin	6	17,50	9,47
Sko+Fas	6	23,5	14,42
Sko+Mem	5	19,5	12,11
Sko+Fas+Mem	5	19,00	14,56

Sonuçlar tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile değerlendirildi.

** $p < 0,05$ skopolamin grubu; Kontrol ve Fasudil grupları ile karşılaştırıldığında.*

Tablo 3.'te göre deneysel grupların modifiye edilmiş yükseltilmiş artı labirenti testi değerleri incelendiğinde kontrol grubu ortalaması 17, skopolamin grubu ortalaması 37,5, fasudil grubu ortalaması 15,75, memantin grubu ortalaması 17,5, sko+fas grubu ortalaması 23,5, sko+mem grubu ortalaması 19,5 olup, sko+fas+mem grubu ortalaması 19'dur.

Kontrol ve fasudil gruplarının 2. Gün kapalı kollardan birine geçiş sürelerinin Skopolamin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük olduğu gözlemlenmiştir ($p < 0.05$). Skopolamin ile beraber fasudil, memantin ve bu iki ilacın kombine edildiği gruplarda ise olası bir koruyuculuğu düşündürecek şekilde deneklerin skopolamin grubundakilere göre daha kısa sürede kapalı alana geçtiği gözlemlenmiş fakat aradaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$).

5.2.2. Hot Plate (Sıcak Tabaka, HP) Testi Ölçümleri

Deney gruplarının Hot Plate (Sıcak Tabaka, HP) testi ölçümlerinin gruplara göre değişimine ait bulgular Tablo 4.'te verilmiştir.

Tablo 4. Deney gruplarının sıcak tabaka (hot plate) testi ölçümlerinin (saniye cinsinden) gruplara göre değişimine ait bulgular

	N	Ortalama	Std. Sapma	F	p
Kontrol	4	19,50	2,52		
Skopolamin	6	20,50	5,01		
Fasudil	5	21,40	3,21		
Memantin	6	18,33	5,01	1,121	0,374
Sko+Fas	6	21,67	6,22		
Sko+Mem	5	15,20	3,63		
Sko+Fas+Mem	5	21,00	6,48		

Tablo 4.'e göre deney gruplarının sıcak tabaka (hot plate) testi ölçümlerinin gruplara göre değişimi incelendiğinde hot plate ölçümlerinin gruplara göre anlamlı düzeyde farklılık göstermediği saptanmıştır ($p>0,05$). Diğer bir ifade ile farklı çalışma gruplarındaki deneklerin ağırlı uyarana tepki verme süreleri arasında fark anlamlı bulunmadı.

5.2.3. Novel Object Recognition (Yeni Nesne Tanıma) Testi

Deney gruplarının RI testi ölçümlerinin gruplara göre değişimine ait bulgular Tablo 5.'de verilmiştir.

Tablo 5. Deney gruplarının NOR testi RI ortalamalarına göre yapılan ölçümlerin (saniye cinsinden) gruplara göre değişimine ait bulgular

	N	Ortalama	Std. Sapma	F	p
Kontrol	8	61,05	10,19		
Skopolamin	8	35,91*	8,03		
Fasudil	8	59,71	10,09		
Memantin	8	62,76	10,70	3,132	0,011
Sko+Fas	8	49,59	16,16		
Sko+Mem	8	52,31	19,89		
Sko+Fas+Mem	8	52,86	21,73		

* $p<0,05$ Skopolamin grubu; Kontrol, Fasudil, Memantin, Sko+Mem ve Sko+Fas+Mem gruplarından farklı

Tablo 5'e göre deney gruplarının Novel Object Recognition (NOR, Yeni Nesne Tanıma) testinde RI (Ratio İndeks, Oran İndeksi) ortalamaları dikkate alınarak yapılan ölçümlerin gruplara göre değişimi incelendiğinde anlamlı düzeyde farklılık gösterdiği bulundu ($p<0,05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan TUKEY testi sonuçlarına göre; Kontrol, fasudil, memantin, sko+mem ve sko+fas+mem grupları RI ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır; buna karşılık, skopolamin nörotoksitesine karşı koruyucu değeri incelenen ilaçların oluşturduğu RI ortalamaları skopolamin grubu ölçümlerinden anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır.

5.2.4. Open Field (Açık Alan) Testi

Deney gruplarının Open Field (açık alan) testi TDM (time division multiplexing-zaman bölmeli çoğullama) ölçümlerinin gruplara göre ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığının tespiti için yapılan tek yönlü varyans analizine ait bulgular Tablo 6.'da verilmiştir.

Tablo 6. Deney gruplarının Open Field (of, açık alan) testi tdm (total distance moved, toplam katedilen mesafe) ölçümlerinin (cm cinsinden) gruplara göre değişimine ait bulgular.

	N	Ortalama	Std. Sapma	F	p
Kontrol	4	921,6	128,1		
Skopolamin	6	1364,9*	344,4		
Fasudil	5	866,3	150,6		
Memantin	6	847,8	129,5	6,790	0,000
Sko+Fas	6	889,2	129,4		
Sko+Mem	5	841,3	121,1		
Sko+Fas+Mem	5	782,6	94,4		

* $p<0,05$ diğer gruplar ile karşılaştırıldığında.

Tablo 6.'ya göre deney gruplarının OF testi TDM ölçümlerinin gruplara göre değişimi incelendiğinde, gruplara göre anlamlı düzeyde fark bulundu ($p<0,05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan TUKEY testi

sonuçlarına göre; Skopolamin grubu ortalamasının diğer ölçümlerden anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Deney gruplarının OF testi Centertime (merkezde geçirilen zaman) ölçümlerinin gruplara göre ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığının tespiti için yapılan tek yönlü varyans analizine ait bulgular Tablo 7.'de verilmiştir.

Tablo 7. Deney gruplarının OF testi, deneklerin merkezde geçirdikleri sürelerin (saniye cinsinden) gruplara göre değişimine ait bulgular

	N	Ortalama	Std. Sapma	F	p
Kontrol	8	35,46	5,52		
Skopolamin	8	20,17 [#]	6,74		
Fasudil	8	35,98*	16,08		
Memantin	8	43,17**	9,45	4,217	0,002
Sko+Fas	8	25,51	11,95		
Sko+Mem	8	32,96	5,90		
Sko+Fas+Mem	8	30,50	12,10		

[#] $p < 0,05$ Skopolamin grubu; Fasudil, Kontrol ve Sko+Mem grubu ölçümlerinden farklı,

* $p < 0,05$ Fasudil grubu; Sko+Fas grubu ölçümlerinden farklı,

** $p < 0,05$ Memantin grubu; Skopolamin, Sko+Fas ve Sko+Fas+Mem grubu ölçümlerinden farklı.

Tablo 7.'ye göre deney gruplarının OF testi düzeneğinde, merkezde geçirdikleri süre ölçümlerinin gruplara göre değişimi incelendiğinde, gruplara göre anlamlı düzeyde fark bulundu ($p < 0,05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan TUKEY testi sonuçlarına göre; memantin grubu ölçümü skopolamin, sko+fas ve sko+fas+mem grubu ölçümlerinden anlamlı derecede daha yüksektir. Ek olarak, fasudil grubu ortalaması skopolamin ve sko+fas grubu ortalamasından, kontrol ve sko+mem grubu ortalamasının da skopolamin grubundan anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Deney gruplarının OF testi merkeze giriş sayılarının (frekans) gruplara göre ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığının tespiti için yapılan tek yönlü varyans analizine ait bulgular Tablo 8.'de verilmiştir.

Tablo 8. Deney gruplarının OF testi, deneklerin merkeze giriş sayılarının gruplara göre değişimine ait bulgular

	N	Ortalama	Std. Sapma	F	p
Kontrol	8	21,25	3,69		
Skopolamin	8	15,63	4,78		
Fasudil	8	14,13	7,95		
Memantin	8	12,63	5,13	2,086	0,072
Sko+Fas	8	12,13	5,28		
Sko+Mem	8	16,25	5,37		
Sko+Fas+Mem	8	17,13	8,71		

Tablo 8.'e göre deney gruplarının OF testi centerfr ölçümlerinin gruplara göre değişimi incelendiğinde, gruplara göre anlamlı düzeyde fark bulunmadı ($p>0,05$). Diğer bir ifade ile farklı gruplardan elde edilen OF.centerfr ölçümlerinin aynı düzeyde olduğu saptanmıştır.

5.2.5. Pasif Sakınma Testi

Pasif sakınma testinde deney gruplarına ilk gün testinden 24 saat sonra gerçekleştirilen hatırlama testinde karanlık odaya geçiş sürelerinin ortalamaları, standart sapmaları ile beraber Tablo 9.'da verilmiştir.

Tablo 9. Pasif sakınma testi sonuçları, deneyin ikinci gününde deneklerin karanlık odaya geçiş süreleri (transfer latency) (saniye cinsinden)

	N	Ortalama	Std. Sapma	F	p
Kontrol	8	210,00	22,35		
Skopolamin	8	104,62 *	48,79		
Fasudil	8	201,62	54,27		
Memantin	8	205,38	51,76		
Sko+Fas	8	177,62	106,50		
Sko+Mem	8	183,62	46,81		
Sko+Fas+Mem	7	190,43	68,16		

Sonuçlar tek-yönlü varyans analizi (one-way ANOVA), müteakiben post-hoc tukey testi ile değerlendirildi.

** $p<0.05$ Skopolamin grubu; Kontrol, Fasudil, Memantin gruplarından farklı.*

Tablo 9.'a göre, pasif sakınma testinin birinci gününde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir ($p>0.05$). İkinci gün testinde ise, skopolamin grubuna kıyasla, kontrol, fasudil ve memantin gruplarının verileri anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

5.3. Biyokimyasal Bulgular

Yapılan araştırma sonunda deneklerin beyin dokularından elde edilen örneklerden ELİSA yöntemiyle Amiloid Beta (ABETA), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), Caspase3 (Cas3), cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein 1 (CREB 1), pMAPT/pTAU (Human phosphorylated microtubule-associated protein tau; fosforile mikrotübül ile ilişkili protein tau) düzeyleri ölçülmüştür.

5.3.1. ABETA Düzeyleri

Deney gruplarının ABETA düzeylerinin (pg/ml) gruplara göre ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığının tespiti için yapılan tek yönlü varyans analizine ait bulgular Tablo 10.'da verilmiştir.

Tablo 10. ABETA düzeyleri

	N	Ortalama	Std. Sapma	F	p
Kontrol	8	0,258	0,193		
Skopolamin	8	0,913*	0,493		
Fasudil	8	0,213	0,142		
Memantin	8	0,225	0,126	6,768	0,000
Sko+Fas	8	0,509**	0,308		
Sko+Mem	8	0,358	0,226		
Sko+Fas+Mem	8	0,346	0,204		

* $p<0,05$ Skopolamin grubu; diğer gruplardan farklı,

** $p<0,05$ Sko+Fas grubu; Fasudil ve Memantin gruplarından farklı.

Tablo 10.'da verilen tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre ABETA düzeyleri gruplara göre anlamlı düzeyde farklı bulundu ($p<0,05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan TUKEY testi sonuçlarına göre; Skopolamin grubu ölçümleri ortalaması diğer gruplardan anlamlı derecede daha yüksektir. Ek olarak sko+fas grubu ölçüm ortalaması fasudil ve memantin grubu ölçümlerinden anlamlı derecede daha yüksektir.

5.3.2. BDNF Düzeyleri

Deney gruplarının BDNF düzeylerinin (ng/ml) gruplara göre ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığının tespiti için yapılan tek yönlü varyans analizine ait bulgular Tablo 11.'de verilmiştir.

Tablo 11. BDNF düzeyleri

	N	Ortalama	Std. Sapma	F	p
Kontrol	8	2,60	1,45		
Skopolamin	8	1,53	0,75		
Fasudil	8	2,06	1,21		
Memantin	6	2,54	0,86	1,255	0,296
Sko+Fas	8	1,83	0,40		
Sko+Mem	8	1,66	0,90		
Sko+Fas+Mem	8	2,15	1,09		

Tablo 11.'de verilen tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre BDNF düzeyleri gruplar arasında anlamlı düzeyde farklılık göstermemiştir ($p>0,05$).

5.3.3. Kaspaz-3 Düzeyleri

Deney gruplarının Cas3 düzeylerinin (ng/ml) gruplara göre ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığının tespiti için yapılan tek yönlü varyans analizine ait bulgular Tablo 12.'de verilmiştir.

Tablo 12. Kaspaz-3 düzeyleri

	N	Ortalama	Std. Sapma	F	p
Kontrol	8	2,84	1,34		
Skopolami	8	4,29	2,02		
Fasudil	8	2,39	1,17		
Memantin	8	2,97	1,34	1,114	0,368
Sko+Fas	8	3,64	2,11		
Sko+Mem	8	3,04	1,15		
Sko+Fas+Mem	8	3,21	2,02		

Tablo 12.'de verilen tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre Cas3 düzeyleri gruplar arasında anlamlı düzeyde farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

5.3.4. CREB1 Düzeyleri

Deney gruplarının CREB1 düzeylerinin (ng/ml) gruplara göre ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığının tespiti için yapılan tek yönlü varyans analizine ait bulgular Tablo 13.'te verilmiştir.

Tablo 13. CREB1 düzeyleri

	N	Ortalama	Std. Sapma	F	p
Kontrol	8	1,72	0,72		
Skopolamin	8	0,87*	0,46		
Fasudil	8	1,51	0,61		
Memantin	8	2,06**	0,66	2,627	0,027
Sko+Fas	8	1,38	0,73		
Sko+Mem	8	1,42	0,49		
Sko+Fas+Mem	8	1,45	0,65		

* $p<0,05$ Skopolamin grubu; Kontrol, Fasudil ve Memantin gruplarından farklı,

** $p<0,05$ Memantin grubu; Sko+Fas grubundan farklı.

Tablo 13.'te verilen tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre CREB1 düzeyleri gruplar arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan TUKEY testi sonuçlarına göre; kontrol,

fasudil ve memantin grupları ortalaması skopolamin grubu ölçümlerinden anlamlı derecede daha yüksektir. Ek olarak memantin grubu ortalaması sko+fas grubu ortalamasından anlamlı derecede daha yüksektir.

5.3.5. pMAPT/pTAU Düzeyleri

Deney gruplarının pMAPT/pTAU düzeylerinin (pg/ml) gruplara göre ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığının tespiti için yapılan tek yönlü varyans analizine ait bulgular Tablo 14.'te verilmiştir.

Tablo 14. pMAPT/pTAU düzeyleri

	N	Ortalama	Std. Sapma	F	p
Kontrol	8	0,40*	0,23		
Skopolamin	8	1,63**	0,72		
Fasudil	8	0,68	0,45		
Memantin	8	0,79	0,45	4,411	0,001
Sko+Fas	8	1,02	0,54		
Sko+Mem	5	0,99	0,57		
Sko+Fas+Mem	5	0,88	0,51		

* $p < 0,05$ Kontrol grubu; Sko+Fas ve Sko+Mem gruplarından farklı,

** $p < 0,05$ Skopolamin grubu; diğer gruplardan farklı.

Tablo 14.'te verilen tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre pMAPT/pTAU düzeylerinin gruplar arasında anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan TUKEY testi sonuçlarına göre; skopolamin grubu ölçümleri diğer gruplardan anlamlı derecede daha yüksektir. Ek olarak sko+fas ve sko+mem grubu ortalaması kontrol grubu ortalamasından anlamlı derecede daha yüksektir.

TARTIŞMA

Ölümcul ilerleyici bir hastalık ve en yaygın demans türü olan Alzheimer hastalığı dünya çapında yaklaşık 35 milyon kişiyi tehdit etmektedir (145). Bu hastalığın, ilerleyen yaşla birlikte oranı artmakta ve 65 yaşın üzerindeki nüfusun %6'sını etkilediği tahmin edilmektedir. Hastalar hafıza kaybı ve bilişsel işlevlerin azalmasından muzdariptir ve tanıdan ortalama dokuz yıl sonra öldükleri bilinmektedir (146). Alzheimer oluşumunda amiloid kaskadı hipotezi hastalığın patogenezi çalışmalarında en önemli fikir olarak kabul görmüştür. Amiloid öncü protein (APP) metabolizmasının bir ürünü olan Amiloid beta ($A\beta$) peptidi içeren senil plakların birikmesi ile karakterize edilir (147). $A\beta$ nöronal disfonksiyon ve ölümü tetikleyen başlangıç olayıdır. Histopatolojik ve genetik kanıtlar, bu birikimi belirten amiloid kaskadı hipotezinin temelini oluşturur. Alzheimer alanındaki araştırmaların odağı, $A\beta$ peptidi oluşumu ve etki mekanizmaları üzerine yoğunlaşmıştır ancak peptidin birikimini neyin tetiklediği net değildir. Bununla birlikte, amiloid kaskadı hipotezi halen Alzheimer tedavilerine yönelik yaklaşımları belirlemektedir. Ancak, patojenezle ilişkili amiloid plağını hedefleyen moleküllerin ve çalışmaların hiçbiri başarılı olamamıştır.

Nöroinflamasyon ve katekolaminerjik beyin sapı çekirdeklerinin dejenerasyonu, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda erken yaşta ortaya çıkmaktadır. Nöroinflamasyon, L tipi gerilime bağlı kalsiyum kanalları ve ryanodin reseptörleri aracılığıyla nöronal kalsiyum homeostazını değiştirebilen proinflamatuvar sitokinlerin ve reaktif oksijen türlerinin seviyelerini artırır. Substantia nigra (SN) ve locus coeruleus (LC)'deki kalsiyum kanal aktivitesindeki değişiklikler, bu alanlarda dejenerasyona neden olarak davranışsal bozukluklara yol açar. LC dejenerasyonu, Parkinson hastalığında ve Alzheimer hastalığında temel olarak nigra pars compacta (SNpc) ve hipokampal hasardan önce ortaya çıkmaktadır (148). Kronik nöroinflamasyon Alzheimer ve Parkinson hastalıklarının erken döneminde mikrogliya aktivasyonunun artışıyla ilgili olarak gelişir (149). SNpc ve LC beynin nöroinflamasyona karşı hassas bölgeleridir. Major histu-uyumluluk kompleksi I (MHC-I), santral sinir sisteminde çok düşük seviyelerde ifade edilir, bununla birlikte,

nöroinflamasyon varlığında SN ve LC nöronlarında spesifik olarak MHC-I ifadesi artar (149).

Literatürde deney hayvanları üzerindeki çalışmalarda, genel olarak erkek deney hayvanlarının kullanılması tercih edilmektedir. Bunun temel nedeni, erkek deney hayvanlarının menstruasyon döngüsü yaşamamalarından dolayı hormonal düzensizliklerinin olmaması ve hormonlardan kaynaklanabilecek değerlendirme hatalarının en aza indirgenebilmesidir. Literatürde BDNF düzeyleri üzerine yapılan in vivo çalışmalar bilhassa erkek deney hayvanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir (150-152). Benzer şekilde araştırmamızda da 3-4 haftalık 56 adet erkek BALB/c fare kullanılmıştır.

Deneyssel Alzheimer tipi demans oluşturma çalışmalarında deney hayvanlarında bir çok yöntem kullanılmaktadır. Genetik mutasyona sahip fareler Alzheimer modellemesinde kullanılabilmektedir. A β PP, PSEN1, PSEN2, APP+PSEN1 mutasyonları ve ApoE allelli fareler deneyssel Alzheimer modellemesinde çalışılmış örneklerdir (153). Bu çalışmada AH oluşturmak için skopolamin kullanılmıştır. Skopolamin, kan-beyin bariyerini aşarak merkezi sinir sistemine girer ve kolinerjik sinapslarda salıverilen asetilkoline karşı, muskarinik reseptörler için yarışır (154). Skopolamin, aynı zamanda presinaptik otoreseptör olarak görev yapan M₂ reseptörünü de bloke eder. M₂ reseptörü blokajı, asetilkolinin sinaptik aralığa salıverilmesini artırır. Skopolaminin sıçanlarda, elektroensefalografide yavaş delta ve teta dalgalarını güçlendirdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Delta ve teta dalgalarının artışı, yaşlılık ve Alzheimer hastalığında sıklıkla görülmektedir (155). Bizim çalışmamızda da deneyssel Alzheimer modeli oluşturmak üzere skopolamin tercih edilmiş ve dozlar literatürde önceki çalışmalarda kullanılan referans aralıklarına göre belirlenmiştir (153-155).

Psikopatoloji için kullanılan deneyssel hayvan modelleri; genetik, çevresel ya da farmakolojik nedenlerden ileri gelen bir bozukluğu olan hastalarda karakteristik semptomların sebeplerini ortaya koymada çok değerli bir araştırma aracı haline gelmiştir. Örneğin, yükseltilmiş t labirent testi fare, kobay, hamster ve gerbil gibi türler için geliştirilen, anksiyete araştırmaları için en popüler davranış testlerinden

biridir. Labirent yerden yüksektir, böylece açık kollar bilinmeyenlik, açıklık ve yükseklik unsurlarını birleştirir. Keşif ile yüksek açık alanlara yönelik isteksizlik arasındaki uyuşmazlık kullanılmakta ve keşif ile yaklaşım-kaçınma çatışmasının unsurları değerlendirilebilmektedir. Bu nedenle, test genellikle koşulsuz bir şekilde kendiliğinden davranışsal çatışma modeli olarak anılır (156). Kafeslerinden alınıp test platformuna konulan fareler genellikle, kapalı kolları tercih edip, açık koldan kaçınma ile karakterize bir davranış şekli göstereceklerinden bu davranış eğilimi anksiyolitikler tarafından bastırılırken anksiyojenik ajanlar tarafından pekiştirilmektedir.

Nitekim, bizim çalışmamızda Skopolamin grubunda kapalı ucu bulma süresi kontrole kıyasla öğrenme-bellek fonksiyonlarının bozulduğunu düşündürecek şekilde uzamıştır. Buna karşılık, Skopolamin ile beraber fasudil, memantin ve bu iki ilacın kombine edildiği gruplarda, aradaki fark anlamlı bulunmamakla birlikte, olası bir koruyuculuk lehine deneklerin karanlık ve korunaklı alana skopolamin grubuna göre daha kısa sürede geçtikleri gözlemlenmiştir. Bu testte birinci gün veya ikinci gün geçiş sürelerinin uzaması kullanılan maddenin amnestik etkilerini gösterirken bu sürelerin kısalması incelenen ilaçların hafızayı koruyucu etkisini ortaya koymaktadır. Bulgularımız literatür verileriyle uyum göstermektedir (157).

Ağrılı uyaranlara tepkilerin değerlendirildiği Hot Plate düzeneğinde elde edilen sonuçlara göre skopolamin ile diğer ilaç gruplarındaki deneklerin ağrı duyusuna karşı reaksiyonları hemen aynı seviyededir. Bu durum, memantin ile fasudilin en azından çalışmada kullanılan dozlarda ağrı duyusunu bloke etmediği şeklinde değerlendirilmiştir.

Nörodejeneratif süreçlerde bilişsel işlevlerin bozulduğunun göstergesi farkındalık, ilgi ve bellek yitimidir (147, 158, 159). NOR testinde skopolamin grubundaki denekler yeni nesneye çok az ilgi gösterirken skopolaminin beraberinde verilen ilaçların hafıza ve bellek üzerine olan muhtemel koruyuculukları ile yeni nesneye karşı deneklerin ilgisini kontrol grubundakilere benzer seviyelere yükselttiği ve farkındalığı muhafaza ettiği görülmüştür. Bu sonuç, fasudilin memantine benzer bir nöroprotektif etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir (160).

Açık alan testinde lokomotor aktivite açısından skopolamin haricindeki diğer tüm ilaç gruplarında benzer bir mesafe katedilmiş; merkezde geçirilen süre birbirlerine yakın bulunmuştur. Skopolamin grubunda katedilen mesafenin fazlalığı ve merkezde geçirilen sürenin görece kısa olması olasılıkla bilişsel işlevlerin zaafiyetiyle ilişkili anksiyeteden ileri gelmektedir (161).

Tehdit edici uyaranlara veya durumlara karşı sakınma korkunun temel bir özelliğidir. Aynı zamanda, gerçek tehdit yokluğunda aşırı derecede sakınma, bireylerin yaşam kalitelerini ciddi şekilde bozabilir ve anksiyeteye yol açabilir (158). Bu gibi durumlarda, kaçınma adaptasyon değerini kaybeder ve tepkiye dönüşebilir. Sakınmada adaptif bozukluk olması geniş bir zihinsel hastalık yelpazesinin merkezi bir özelliğidir (159). Kemirgen çalışmalarında, amigdala, infralimbik, prefrontal korteks ve prefrontal striatal nöronal devrelerin sakınma ile öğrenmede rol oynadığı gösterilmiştir (159,162).

Araştırmalarda pasif sakınma testi iki bölmeli deney mekanizmasında farenin aydınlık bölgeden karanlık bölmeye geçmeyi tercih etmesi, akabinde ayak şoku almasıyla sonuçlanmaktadır. Yirmi dört saat sonra tekrar açık bölmeye konulan farelerin karanlık alana geçmekten sakınmayı öğrenmesi beklenir. Test edilen ilaç veya madde, skopolaminle oluşturulan amneziyi hafifletiyorsa yaşlanmaya bağlı demanstaki bilişsel fonksiyonları iyileştirebileceği düşünülmektedir (163).

Bu çalışmada ise pasif sakınma düzeneğinde ikinci gün testlerinde skopolamin toksisitesine karşı gerek ayrı ayrı gerekse birarada verilen fasudil ile memantin, açık alandan kapalı alana geçiş sürelerini olası koruyuculuğu düşündürecek biçimde kontrol grubuna yakın değerlere yükseltmiştir. Literatür verileriyle uyumlu olmak üzere fasudil ile memantin, skopolamine bağlı öğrenme ve bellek yitimine karşı tek başlarına verildiklerinde karşılaştırılabilir bir koruyuculuğa sahip olduğu anlaşılmaktadır (163).

Arancibia ve ark.'nın (2008) deney hayvanlarında oluşturdukları Alzheimer Hastalığı modelinde, bilişsel bozuklukların hipokampus ve prefrontal korteksteki düşük BDNF düzeyi ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (164). Ayrıca demans hastalarında, hastalık belirtileriyle serum BDNF düzeyi arasında belirgin bir negatif korelasyon

olduğu yapılan araştırmada gözlemlenmiştir (165). Alzheimer Hastalığında meydana gelen bilişsel bozukluklarla ilgili yapılan hayvan modeli araştırmalarında yaşlı sıçan deney gruplarında oluşan öğrenme ve hafıza bozuklukları ve sinaps kaybının dışardan BDNF proteini verilerek geri döndürülebildiği saptanmıştır (165).

Xu ve ark. (2004) tarafından yapılan araştırmada, BDNF dışarıdan sağ perforan yoluna verilmek suretiyle BDNF'nin hipokampal hipereksitabilite ve epileptiform aktivite üzerine olan etkisi değerlendirilmiştir. Araştırmada BDNF hem tek enjeksiyon olarak (konsantrasyon: 1µg/µl, enjeksiyon volümü: 0.5 µl, enjeksiyonlar ameliyattan sonra 4, 8 ve 12. günlerde yapılmıştır) hem de devamlı infüzyon olarak (konsantrasyon: 1µg/µl, infüzyon oranı: 12 µl/gün, infüzyon periyodu: 14 gün) uygulanmış ve uygulama sonucunda tek enjeksiyonun epileptiform aktiviteyi arttırdığı ve devamlı infüzyonun ise baskıladığı saptanmıştır (166). Pencea ve ark. (2001) tarafından yapılan araştırmada ise, BDNF infüzyonunun yetişkin sıçan ön beyin bölgelerindeki hücrelerin proliferasyonuna ve/veya farklılaşması üzerine etkisi incelenmiştir. Araştırmanın amacı kapsamında BDNF (12µg/12µl/gün, 0.1 M PBS de çözünmüş olarak) hücre proliferasyon belirteci Bromodeoksiüridin (BrdU) ile beraber sağ lateral ventriküle 12 gün boyunca verilmiş ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (149).

BDNF'nin Alzheimer üzerine olan etkilerini araştıran Li ve ark. (2012) tarafından yapılan araştırmada ise, yaşlı ve bilişsel işlevleri gerileyen sıçanların ve genç kontrol grubu sıçanların nukleus akkumbens'ine BDNF'yi (0.5 µl/dk oranında, 5 µl/yarı küre) bilateral olarak 4 hafta boyunca haftada üçer gün olacak şekilde infüze etmişlerdir. Araştırmanın sonucunda dışarıdan verilen BDNF'nin, yaşlı ve bilişsel açıdan bozulmalar gösteren sıçanların Morris Su Tankı performanslarında artış meydana getirerek, genç kontrol grubununakilere yakın değerlere ulaşılmasını sağladığı gösterilmiştir (166).

Bizim çalışmamızda, skopolamin nörotoksitesi BDNF seviyelerini diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı olmamakla birlikte düşürmüştür. sko+fas+mem grubunda ise BDNF düzeyi kontrol grubuna yakın bir değer almıştır. BDNF ifadesi için gerekli olan transkripsiyon faktörü CREB1'in skopolamin grubunda ölçülen

düşük düzeyleri BDNF seviyelerine benzer şekilde nörotoksisteyi işaret etmektedir (167,168). Skopolamin + ilaç gruplarında CREB1 düzeyleri skopolamin grubuyla mukayese edildiğinde anlamlı bulunmamakla birlikte kontrol grubuna yakın değerler olarak yükselmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda da Skopolamin grubunun BDNF düzeyleri üzerinde benzer etkileri oluşturduğu tespit edilmiştir (169,170).

Rho-ilişkili proteinler, etkilerinin çoğunu, kinazlar (ROCK'lar) vasıtasıyla gösterirler. Rho-kinaz'lar, nöronlardaki büyüme konisi çökmesi ve retraksiyonu ile ilişkilendirilmiş olan RhoA'nın aşağı akışlı efektörleridir (171). Bazı çalışmalar, özellikle ROCK2'nin ekspresyon seviyelerinin, özellikle nörodejeneratif hastalığı olan insanlardan alınan numunelerde, farklı patolojik koşullar altında sinir dokusunda artmış olduğunu göstermiştir (171). Alzheimer hastalığı'nda (AH), A β prekürsör proteininin (APP) proteolitik olarak işlenmesi neticesinde A β plaklarında artış görülmektedir. Ayrıca hastalık durumunda artan nörofibriler yumakların komponentlerinin ise tau proteinlerinin hiperfosforillenmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. A β plakları parsivel olarak sinaptik fonksiyonu bozan aktin polimerizasyonunun disregülasyonundan sorumlu tutulmaktadır. Yapılmış olan metabolik etiketleme çalışmaları ROCK'un kinaz alanının APP proteinini fosforilleyebileceğini göstermiştir. AH modellerinde, frontal korteksten alınan doku örneklerinde ROCK2 ekspresyon seviyelerinin kontrole kıyasla arttığı görülmüştür. Aynı şekilde kognitif bozukluğu olan hasta insanlardan alınan homojenatlarda ROCK2 protein seviyeleri kontrollere kıyasla anlamlı oranda artış göstermiştir. Bu durum Rho/ROCK sinyal yolağının AH'nın seyrinde önemli rolü olduğunu düşündürmektedir.

Yapılmış araştırmalarda Rho/ROCK sinyal yolunun bazal ve uyarılmış α -sekretaz aktivitesinin modülasyonunu sağladığını göstermektedir. Dolayısıyla ROCK sinyal kaskatının aktivitesi APP proteinlerinin proteolitik aktivitesini artırarak da nörodejenerasyona katkı sağlayabilmektedir (172). ROCK inhibisyonu Alzheimer modellerinde artmış tau protein seviyeleri ve değiştirilmiş p25 protein seviyeleri üzerinde de olumlu etkiler göstermiştir. AH'nın ilerlemesini durdurmadaki deneysel stratejilerden birisi beyinde patolojik olarak artan A β 'nın düzeylerini azaltmaktır. Eski çalışmalar Rho/ROCK sinyal kaskatının in vitro A β 42 miktarını düzenlediğini

gösterilmiştir. ROCK inhibitörü Y-27632'nin bir transgenik fare modelinde uygulanması A β 42'nin beyindeki seviyelerini etkin bir şekilde düşürmüştür. İnsan SHSY5Y hücre hattında SHRNA ilişki ROCK1 azalması endojenöz insan A β 40 üretimini arttırırken ROCK2 azalımı A β 40 düzeylerini azaltmıştır. Aksine hem ROCK1 hem ROCK2'nin azalması primer kortikal kültürlerde A β 40 düzeylerinin tüketmiştir. A β modellerinde ROCK inhibisyonunun koruyucu mekanizması otofajik temizleme yollarının modülasyonu ile ilişkilendirilmiştir (173-175).

Araştırmamızda, skopolamin ile ilişkili nörodejenerasyon prefrontal korteks ve hipokampüste apoptotik süreci uyarmış ve Cas3 seviyelerini arttırmıştır. Öte yandan, Skopolamin + Fasudil ve/veya Memantin gruplarında Cas3 değerleri Skopolamin grubunda ölçülen değerlerden daha düşük saptanmıştır. Bu durum, gruplar arasındaki fark belirgin olmamakla birlikte ilaçların nöronal kaybı önleyebileceği anlamına gelmektedir. Biyokimyasal incelemelerde skopolamin grubunda nörodejenerasyonla uyumlu olmak üzere ABETA düzeyi yükselirken; skopolamin + fasudil ve/veya memantin verilen gruplarda ABETA değerleri olası koruyuculuk lehine kontrol grubu değerine gerilemiştir. Bu durum, nörodejenerasyonu sınırlamak veya gidişatı yavaşlatmak için NMDA reseptörleri kadar Rho/Rho-kinaz yolağının da hedeflenebileceğini göstermektedir. Bu verilere göre A β üretimi ile mücadelede ROCK inhibisyonu terapötik anlamda bir seçenek olma potansiyeli taşımaktadır. Benzer şekilde, pMAPT/pTAU düzeylerinin skopolamin grubundaki yükselişi nörotoksisite lehinedir. Koruyuculuk anlamında fasudil ile memantin ayrı ayrı kullanılması patojenez üzerine olumlu yönde etki gösterirken birarada verilimleri ilave bir fayda sağlamamıştır.

Sonuç olarak normal bilişsel işlevlerin gerçekleşebilmesi için nöronlarda sinaptik plastisite gelişimi esastır. Rho kinazlar düzenleyici proteinlerde sinaptik plastisiteyi yönlendirici önemli protein molekülleridir. Bu nedenle RhoGTPaz proteinlerinin hedef kinazları olan ROCK1 ve ROCK2'nin MSS'ndeki rolleri ve etkileri daha detaylı araştırılması patojenezini iyileştirmek bağlamında yeni yaklaşımlar sunabilir. Küçük GTPaz moleküllerine ait sinyal yollarının hastalıklar üzerindeki etkisi ve daha selektif inhibitörlerinin geliştirilmesi MSS'nde oluşan çok sayıda nörodejeneratif hastalık için tedavi seçeneği değeri taşımaktadır.

Bu araştırmada deneklerin hipokampüsleri üzerinde hücresel düzeyde ROCK inhibitörü fasudil ve NMDA reseptör antagonisti memantinin tek başlarına verildiklerinde hipokampal sinaptik plastisite süreçlerine etkisi araştırılmıştır. Elde edilen biyokimyasal sonuçlara göre ABETA, CREB1 ve pMAPT/pTAU düzeyleri arasında gruplara göre anlamlı düzeyde farklılık saptandığından fasudil ve memantinin sinaptik plastisite üzerinde koruyucu yönde değişikliklere neden olmuştur. Sonuç olarak hipokampal öğrenme ve bellek üzerinde hücresel yanıtlarda değişikliğe neden olan ROCK sinyal yolağının nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde terapötik bir hedef olarak düşünölmektedir.



SONUÇ

Bu araştırmanın amacı, Rho/Rho Kinaz yolağı ve Glutamat NMDA reseptörleri gibi iki farklı hedefi bloke ederek Alzheimer hastalığı patojenezi üzerine olumlu etkiler gösteren sırasıyla fasudil ile memantinin deneysel Alzheimer benzeri demans modelinde terapötik değerlerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesidir. Bu kapsamda, ayrıca fasudil ile memantinin bir arada kullanılmaları halinde klinik faydalanım ve patolojinin sınırlandırılması açısından cebirsel toplamın üzerinde bir koruyuculuğun elde edilip edilemeyeğinin değerlendirilmesi yapılmıştır. Sonuçlarımız aşağıda sunulmuştur:

- Deney süresi boyunca tüm deney gruplarındaki hayvanların haftalık vücut ağırlıkları takip edilmiş olup yapılan ölçümlerde tüm grupların ortalama ağırlığında azalma gözlenmiştir. Kontrol grubu, Skopolamin grubu, Fasudil grubu, Memantin grubu ve Skopolamin+Memantin gruplarının ilk ve son ölçümleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).
- Modified Elevated Plus Maze (Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirenti) testi sonuçlarına göre; Kontrol ve Fasudil gruplarının 2. gün kapalı kollardan birine geçiş sürelerinin Skopolamin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Skopolamin ile beraber, fasudil, memantin ve bu iki ilacın kombinasyonlarının tedavi protokolü olarak uygulandığı gruplarda da skopolamin grubuna göre düşüş gözlemlenmiş, fakat aradaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).
- Sıcak tabaka (hot plate) testi ölçümlerinde gruplar arasında anlamlı düzeyde fark bulunmamıştır.
- NOR testi RI ortalamaları için yapılan ölçümlerde gruplar arasında anlamlı düzeyde farklılık izlenmiştir ($p<0.05$). Farklılık; Kontrol, Fasudil, Memantin, Sko+Mem ve Sko+Fas+Mem grupları RI ortalamalarının skopolamin grubu ölçümlerinden anlamlı derecede daha yüksek olmasından ileri gelmektedir.

- Gruplar mukayese edildiğinde OF testi TDM (total distance moved; toplam katedilen mesafe) ölçümlerinde anlamlı düzeyde fark saptanmıştır ($p<0.05$). Skopolamin grubu ortalamasının diğer ölçümlerden anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür.
- OF testi centertime (merkezde geçirdikleri süre) ölçümleri bakımından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark bulunmamıştır. Memantin grubundaki ölçümler Skopolamin, Sko+Fas ve Sko+Fas+Mem grubu ölçümlerinden anlamlı derecede daha yüksektir. Ek olarak fasudil grubu ortalaması Skopolamin ve Sko+Fas grubu ortalamasından, kontrol ve Sko+Mem grubu ortalaması da skopolamin grubundan anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.
- Gruplar arasındaki karşılaştırmaya göre OF testi centerfr (merkeze giriş sayıları) ölçümleri anlamlı düzeyde fark göstermemiştir.
- Pasif sakınma testinin birinci gününde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlenmezken, ikinci gün testinde ise, Skopolamin grubuna kıyasla, Kontrol, Fasudil ve Memantin gruplarının verileri anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).
- ABETA düzeylerinin gruplara göre anlamlı düzeyde farklılık gösterdiği saptanmıştır. Skopolamin grubu ölçümleri ortalaması diğer gruplardan anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0.05$).
- BDNF düzeyleri için gruplar arasında anlamlı düzeyde fark saptanmamıştır.
- Cas3 düzeyleri için yapılan ölçümlerde gruplar arasında anlamlı düzeyde fark bulunmamıştır.
- CREB1 düzeyleri açısından ilaç grupları arasında anlamlı düzeyde fark bulunmadı. Kontrol, Fasudil ve Memantin grupları ortalaması Skopolamin grubu ölçümlerinden anlamlı derecede daha yüksektir. Ek olarak Memantin grubu ortalaması Sko+Fas grubu ortalamasından anlamlı derecede daha yüksek değerler almıştır.

- pMAPT/pTAU düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark bulundu ($p<0.05$). Skopolamin grubu ölçümleri diğer gruplardan anlamlı derecede daha yüksektir. Ek olarak Sko+Fas ve Sko+Mem grubu ortalaması Kontrol grubu ortalamasından anlamlı derecede daha yüksektir.

Öğrenme ve bellekle ilgili hem davranışsal hem de moleküler ve genetik düzeylerdeki çalışmalar geçmişten günümüze hızla devam etmektedir. Öğrenme ve hafızanın moleküler temelinde sinir hücrelerini birbirine bağlayan sinapslardaki aşırımın kuvvetlendirilmesi ve baskılanmasının bulunduğu bilinmektedir. Bu mekanizmalar oldukça karmaşık olup pek çok nörotransmitter, reseptör ve proteinlerin hassas bir düzen içerisinde çalışması sayesinde düzenlenen süreçlerdir. Özellikle nörotrofik faktörlerin anılan süreçler üzerindeki etkisi halen aktif olarak çalışılmaktadır.

Araştırmamızın sonuçlarına göre Alzheimer hastalığı patojenezinde NMDA reseptörleri kadar pek çok fizyolojik ve patolojik süreçlerde yeri olan Rho/Rho-kinaz yolağının da rolünün bulunduğu ortaya konulmuştur. Bu bulgular, öncelikle ilaçların kullanılan dozlarda antinosiseptif etki sergilemediğini göstermektedir. Ayrıca, skopolamin ile deneysel Alzheimer hastalığı modelini başarıyla oluşturduğumuzu, koruyuculuk anlamında fasudilin memantinin terapötik değeriyle mukayese edilebileceğini, farmakodinamik bağlamında kümülatif veya sinerjistik bir etkileşimin mümkün olmadığını ancak fasudilin memantinin tolere edilememesi halinde alternatif bir ilaç değeri taşıyabileceğine işaret etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Öztürk MO. Ruh sağlığı ve bozuklukları (13. Baskı). Ankara: Nobel Kitapevi, 2015; 365–374.
2. Berr C. Prevalence of dementia in the elderly in Europe. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2005; 15: 463-471.
3. Shah D, Blockx I, Guns PJ, De Deyn PP, Van Dam D, Jonckers E, Delgado Y Palacios R, Verhoye M, Van der Linden. Acute modulation of the cholinergic system in the mouse brain detected by pharmacological resting-state functional MRI. *Neuroimage.* 2015; 109 (1):151-159.
4. Lin LF, Luo HM. Screening of treatment targets for Alzheimer's disease from the molecular mechanisms of impairment by β -amyloid aggregation and tau hyperphosphorylation. *Neurosci Bull.* 2011; 27(1): 53-60.
5. Singh S, Kushwah AS, Singh R, Farswan M, Kaur R. Current therapeutic strategy in Alzheimer's disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2012; 16: 1651-1664.
6. Hooff GP, Wood WG, Müller WE, Eckert GP. Isoprenoids, Small GTPases and Alzheimer's Disease. *Biochim Biophys Acta.* 2010; 1801(8): 896–905.
7. Kovács AD, Saje A, Wong A, Ramji S, Cooper JD, Pearce DA. Age-dependent therapeutic effect of memantine in a mouse model of juvenile Batten disease. *Neuropharmacology.* 2012; 63: 769-775.
8. Gharedaghi MH, Rahimian R, Dehpour AR, Yousefzadeh-Fard Y, Farani AM. Dinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis impairs spatial recognition memory in mice: roles of N-methyl D-aspartate receptors and nitric oxide. *Psychopharmacology.* 2015; 232(16): 3081-3090.
9. Inan SY, Buyukafsar K. Antiepileptic effects of two Rho-kinase inhibitors, Y-27632 and fasudil, in mice. *British Journal of Pharmacology.* 2008; 155: 44-51.
10. Koppel RD. Alzheimer's Disease: The Costs to U.S. Businesses in Alzheimer's Association. 2002.
11. Arsava M. Alois alzheimer. Selekler K (Ed), Alzheimer ve diğer demanslar kitabı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2003: 1-3.

12. Karakoç E, Selekler K. Alzheimer hastalığı ve diğer demanslar (1. Baskı). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2007: 1055-1103.
13. World Alzheimer Report 2015. The global impact of dementia: an analysis of prevalence, incidence, cost and trends. Alzheimer's Disease International <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2015.pdf> 2015.
14. Pary RJ, Rajendran G, Stonecipher A. Overview of Alzheimer's disease in down syndrome. In: Prasher VP (ed). Down Syndrome and Alzheimer's Disease Biological Correlates. Oxen, UK: Radcliffe Publishing, 2006: 2-13.
15. Bertram L, McQueen MB, Mullin K, Blacker D, Tanzi RE. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: The AlzGene database. Nat Genet 2007; 39: 17-23.
16. Alam R, Tripathi M, Mansoori N, Parveen S, Luthra K, Lakshmy R, et al. Synergistic Epistasis of Paraoxonase 1 (rs662 and rs85460) and apolipoprotein E4 genes in pathogenesis of Alzheimer's disease and vascular dementia. American Journal of Alzheimer's Disease and Other Dementias 2014; 29: 768-776
17. Brayne C, Stephan BCM, Matthews FE. European perspective on population studies of dementia. Alzheimers Dement 2011; 7: 3-9.
18. Ekici, İ, Elazığ İli Abdullahağa Eğitim ve Araştırma Sağlık Ocağı bölgesinde yaşayan 65 yaş ve üzeri nüfusta demans prevalansı ve demans alt grupları (Uzmanlık Tezi). Fırat Üniversitesi, Elazığ.
19. David AS. Lishmans' organic psychiatry (2. Edition). New Jersey: Wiley-Blackwell, 2009:312-325.
20. Park HL, O'Connell JE, Thomson RG. A systematic review of cognitive decline in the general elderly population. Int J Geriatr Psychiatry 2004; 18: 1121-1134.
21. Joel D, Berman Z, Tavor I. Sex beyond the genitalia: the human brain mosaic. Proc Natl Acad Sci USA 2015; 112: 15468-15473.
22. Mielke MM, Vemuri P, Rocca WA. Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: Assessing sex and gender differences. Clin Epidemiol 2014; 6: 37-48.
23. Laws KR, Irvine K, Gale TM. Sex differences in cognitive impairment in Alzheimer's disease. World J Psychiatry 2016; 6: 54-65.
24. Xu W, Tan L, Wang HF. Education and risk of dementia: dose response meta-analysis of prospective cohort studies. Mol Neurobiol 2016; 53: 3113-3123.

25. Sadock BJ, Sadock VA. Comprehensive textbook of psychiatry (Ninth Edition). Baltimore, USA, 2003.
26. Mortamais M, Portet F, Brickman AM. Education modulates the impact of white matter lesions on the risk of mild cognitive impairment and dementia. *Am J Geriatr Psychiatry* 2014; 22: 1336-1345.
27. Wang XP, Ding HL. Alzheimer's disease: epidemiology, genetics, and beyond. *Neurosci Bull* 2008; 24: 105-109.
28. Arvanitakis Z. Update on frontotemporal dementia. *Neurologist* 2010; 16: 16-22.
29. Todd S, Barr S, Roberts M, Passmore AP. Survival in dementia and predictors of mortality: a review. *Int J Geriatr Psychiatry* 2013; 28 (11): 1109.
30. 34. Victor M, Ropper AH. Adam's and Victor's Textbook of Neurology. 11. Edition, New York, 2010: 1210-1236.
31. Dementia Study Group of the Italian Neurological Society, Guidelines for the diagnosis of dementia and Alzheimer's disease. *Neurol Sci* 2000; 21: 187-194.
32. Gomez-Gallego M, Gómez-Amor J, Gómez-García J. Determinants of quality of life in Alzheimer's disease: perspective of patients, informal caregivers, and professional caregivers. *Int Psychogeriatr* 2012; 24: 1805-1815.
33. Şahin HA. Alzheimer hastalığının klinik belirtileri ve seyri. *Türkiye Klinikleri* 2009; 2: 31-35.
34. Bakar M. Demanslar. Oğul E (Ed). Klinik nöroloji (1. Baskı). İstanbul: Motif Basım, 2002: 415-429.
35. 39. Solomon A, Mangialasche F, Richard E, Andrieu S, Bennett DA, Breteler MM, et al. Advances in the prevention of Alzheimer's disease and dementia. *J Intern Med* 2014; 275: 229–250.
36. Galasko D, Salmon D, Gamst A. Prevalence of dementia in Chamorro on Guam: relationship to age, gender, education, and APOE. *Neurology* 2007; 68: 1772–1781.
37. Molero AE, Altimari CC, Duran DA. Toplam plazma homocysteine values among elderly subjects: findings from the Maracaibo Aging Study. *Clin Biochem* 2006; 39: 1007–1015.
38. Mohandas E, Rajmohan V, Raghunath B. Neurobiology of Alzheimer's disease. *Indian J Psychiatry* 2009; 51: 55-61.

39. Hachinski V. Treatable and potentially preventable dementias (1. Edition). Londra:Cambridge University Press, 2018: 123-141.
40. Heckmann JM, Low WC, de Villiers C. Novel presenilin 1 mutation with profound neurofibrillary pathology in an indigenous Southern African family with early-onset Alzheimer's disease. *Brain* 2004; 127: 133–142.
41. Llibre JJ, Guerra MA, Perez-Cruz H. Dementia syndrome and risk factors in adults older than 60 years old residing in Habana [in Spanish]. *Rev Neurol* 1999; 29: 908– 911.
42. Anstey KJ, von Sanden C, Salim A, O'Kearney R. Smoking as a risk factor for dementia and cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *Am J Epidemiol* 2007; 166 (4): 367-378.
43. Petrella JR. Neuroimaging and the Search for a cure for Alzheimer disease. *Radiology* 2013; 269: 671-691.
44. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-mental state. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12: 189- 198.
45. Brucki SMD, Nitrini R. Mini-Mental State Examination: transcultural evaluation. *Dement Neuropsychol* 2010; 4: 120-125.
46. Ertan T, Eker E, Güngen C. The standardised Mini-Mental Examination for illiterate Turkish elderly population. Paper presented at 2nd International Symposium on Neurophysiological and Neurophysiolog 1999.
47. 59. Abraham R, Moskvina V, Sims R, Hollingworth P, Morgan A, Georgieva L, et al. A genome-wide association study for late onset Alzheimer's disease using DNA pooling. *BMC Med Genomics* 2008; 1: 44-43.
48. Bertram L, Lange C, Mullin K, Williamson J, Goldman J, Marder KS. Genetic aspects of Alzheimer disease. *Neurologist* 2009; 15 (2): 80-86.
49. Suhanov AV, Pilipenko PI, Korczyn AD. Risk factors for Alzheimer's disease in Russia: a case-control study. *Eur J Neurol* 2006; 13: 990–995.
50. Borenstein AR, Copenhaver CI, Mortimer JA. Early-life risk factors for Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2006; 2: 63–72.
51. Borenstein AR, Wu Y, Mortimer JA. Developmental and vascular risk factors for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2005; 26: 325–334.

52. Molero AE, Pino-Ramirez G, Maestre GE. Modulation by age and gender of risk for Alzheimer's disease and vascular dementia associated with the apolipoprotein E- ϵ 4 allele in Latin Americans: findings from the Maracaibo Aging Study. *Neurosci Lett* 2001; 307: 5–8.
53. Ganguli M, Chandra V, Kamboh MI. Apolipoprotein polymorphism and Alzheimer disease: the Indo-US Cross-National Dementia Study. *Arch Neurol* 2000; 57: 824– 830.
54. Hall JR, Wiechmann AR, Johnson LA. Biomarkers of vascular risk, systemic inflammation and microvascular pathology and neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2013; 35: 363-371.
55. Hynd MR, Scott HL, Dodd PR. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 2004; 45: 583-595.
56. Chetelat G, Villemagne VL, Bourgeat P, Pike KE, Jones G, Ames D, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy in Alzheimer's disease: a review. *Acta Neurol Belg* 2010; 110: 291–298.
57. Ferri CP, Ames D, Prince M. Behavioral and psychological symptoms of dementia in developing countries. *Int Psychogeriatr* 2004; 16: 441–459.
58. Hattori H. Elderly depression and depressive state with Alzheimer's disease. *Nippon Rinsho* 2009; 67: 835-844.
59. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's. Disease. *Neurology* 1984; 34: 939–944.
60. Jack CR, Albert MS, Knopman DS, McKhann GM, Sperling RA, Carrillo MC, et al. Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association work groups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011; 7: 257–262.
61. Mueller SG, Schuff N, Weiner MW. Evaluation of treatment effects in Alzheimer's and other neurodegenerative diseases by MRI and MRS. *NMR Biomed* 2006; 19: 655– 668.
62. Loos C, Achten E, Santens P. Proton magnetic resonance spectroscopy in Alzheimer's disease: a review. *Acta Neurol Belg* 2010; 110: 291–298.

63. Szwaast SJ, Hendrie HC, Lane KA. Association of statin use with cognitive decline in elderly African Americans. *Neurology* 2007; 69: 1873–1880.
64. Wattmo C, Londos E, Minthon L. Response to cholinesterase inhibitors affects lifespan in Alzheimer's disease. *BMC Neurol* 2014; 14: 173.
65. DeKosky ST, Fitzpatrick A, Ives DG. The Ginkgo Evaluation of Memory (GEM) study: design and baseline data of a randomized trial of Ginkgo biloba extract in prevention of dementia. *Contemp Clin Trials* 2006; 27: 238–253.
66. Zhang ZX, Zahner GE, Roman GC. Dementia subtypes in China: prevalence in Beijing, Xian, Shanghai, and Chengdu. *Arch Neurol* 2005; 62: 447–453.
67. Nelson PT, Schmitt FA, Jicha GA. Association between male gender and cortical Lewy body pathology in large autopsy series. *J Neurol* 2010; 257: 1875–1881.
68. Boot BP, Orr CF, Ahlskog JE. Risk factors for dementia with Lewy bodies: a case-control study. *Neurology* 2013; 81: 833–840.
69. Seelaar H, Rohrer JD, Pijnenburg YA. Clinical, genetic and pathological heterogeneity of frontotemporal dementia: a review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011; 82: 476–486.
70. Savica R, Grossardt BR, Bower JH, Boeve BF, Ahlskog JE, Rocca WA. Incidence of dementia with Lewy bodies and Parkinson disease dementia. *JAMA Neurol* 2013; 70: 1396–1402.
71. Miller IN, Cronin-Golomb A. Gender differences in Parkinson's disease: clinical characteristics and cognition. *Mov Disord* 2010; 25: 2695–2703.
72. Al-Jader LN, Harper PS, Krawczak M, Palmer SR. The frequency of inherited disorders database: prevalence of Huntington disease. *Community Genet* 2001; 4: 148–157.
73. Wexler NS, Lorimer J, Porter J. Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 3498–503.
74. Nath U, Ben-Shlomo Y, Thomson RG, Lees AJ, Burn DJ. Clinical features and natural history of progressive supranuclear palsy: a clinical cohort study. *Neurology* 2003; 60: 910–916.
75. Deshmukh SS, Knierim JJ. Hippocampus. *WIREs Cogn. Sci.* 2012; 3: 231–251.

76. İzci Y, Erbaş CY. Hipokampus: Yapısı ve fonksiyonları. Türk Nöroşir. Derg. 2015; 25(3):287-295.
77. Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, O'Keffe J. The hippocampus book. USA, New York: Oxford University Press, 2007; 3-581.
78. Isaacson RL. Hippocampus. Encyclopedia of Neuroscience. 2004; 1119-1127.
79. van Strien NM, Cappaert NLM, Witter MP. The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal–hippocampal network. Nat. Rev. Neurosci. 2009; 10:272–282.
80. Yıldırım M. Temel Nöroanatomi (İkinci Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2004; 93-96.
81. Knowles WD. Normal anatomy and neurophysiology of the hippocampal formation. Journal of Clinical Neurophysiology. 1992; 9(2): 252-263.
82. Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG. Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. The Journal of Neuroscience. 1986; 6(10):2950- 2967.
83. Tien RD, Felsberg GJ, Crain B. Normal anatomy of the hippocampus and adjacent temporal lobe: high-resolution fast spin-echo MR images in volunteers correlated with cadaveric histologic sections. AJR Am J Roentgenol. 1992; 159(6):1309-1313.
84. Taupin P. The hippocampus- Neurotransmission and Plasticity in the Nervous System. New York: Nova Biomedical Books, 2007;3-101.
85. Schultz, C., and Engelhardt D. (2014). Anatomy of the hippocampal formation. In K. Szabo and M. G. Hennerici (Eds.), The hippocampus in clinical neuroscience. Basel: Karger, 34: 6–17.
86. Buckmaster PS, Wenzel HJ, Kunkel DD, Schwartzkroin PA. Axon arbors and synaptic connections of hippocampal mossy cells in the rat in vivo. J. Comp. Neurol. 1996; 366: 271–292.
87. Naber PA, Lopes da Silva FH, Witter MP. Reciprocal connections between the entorhinal cortex and hippocampal fields CA1 and the subiculum are in register with the projections from CA1 to the subiculum. Hippocampus, 2001; 11:99–104.

88. O'Mara SM, Commins S, Anderson M, Gigg J. The subiculum: a review of form, physiology and function. *Prog. Neurobiol.* 2001; 64:129–155.
89. O'Mara SM. The subiculum: what it does, what it might do, and what neuroanatomy has yet to tell us. *J. Anat.* 2005; 207: 271–282.
90. Matsumoto N, Kitanishi T, Mizuseki K. The subiculum: unique hippocampal hub and more. *Nature Neuroscience.* 2008; 11(2):131-133.
91. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors.* 2004; 22(3): 123-131.
92. Park H, Poo M. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2013; 14: 7-23.
93. Lu B, Pang PT, Woo, NH. The yin and yang of neurotrophin action. *Nature Reviews Neuroscience.* 2005; 6:603-614.
94. Matsumoto T, Rauskolb S, Polack M, Klose J, Kolbeck R, Korte M, Barde YA. Biosynthesis and processing of endogenous BDNF: CNS neurons store and secrete BDNF, not pro-BDNF. *Nature Neuroscience.* 2008; 11(2): 131- 133.
95. Farhadi HF, Mowla SJ, Petrecca K, Morris SJ, Seidah NG, Murphy RA. Neurotrophin-3 sorts to the constitutive secretory pathway of hippocampal neurons and is diverted to the regulated secretory pathway by coexpression with brain-derived neurotrophic factor. *J. Neurosci.* 2000; 20: 4059–4068.
96. Lewin GR, Carter BD (Editors). *Neurotrophic factors. Handbook of experimental pharmacology*, Berlin: Springer-Verlag, 2004; 3-251.
97. Kang H, Schuman EM. Long-lasting neurotrophin-induced enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus. *Science.* 1995; 267: 1658– 1662.
98. Ji Y, Lu Y, Yang F, Shen W, Tang TT, Feng L, Duan S, Lu, B. Acute and gradual increases in BDNF concentration elicit distinct signaling and functions in neurons. *Nat Neurosci.* 2010; 13:302–309.
99. Riento K, Guasch RM, Garg R, Jin B, Ridley AJ. RhoE binds to ROCK I and inhibits downstream signaling. *Mol Cell Biol.* 2003; 23(12):4219-4229.
100. Matsui T, Amano M, Yamamoto T, Chihara K, Nakafuku M, Ito M, Nakano T, Okawa K, Iwamatsu A, Kaibuchi K. Rho associated kinase, a novel serine/threonine kinase as putative target for small GTP binding protein RHO. *EMBO J.* 1996; 15(9):2208-2216.

101. Özdemir A, Ark M. Rho Kinaz ve Apoptoz. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2009; 2(2): 1-9.
102. Leung T, Manser E, Tan L, Lim L. A novel serine/threonine kinase binding the Ras- related RhoA GTPase which translocates the kinase to peripheral membranes. J Biol Chem. 1995; 270(49):29051-29052.
103. Sasaki Y, Suzuki M, Hidaka H.; The novel and specific Rho-kinase inhibitor (S)-(+)-2- methyl-1-[(4-methyl-5-isoquinoline)sulfonyl]-homopiperazine as a probing molecule for Rho-kinase-involved pathway.; Pharmacol Ther. 2002; 93(2- 3):225-32.
104. Jacobs M, Hayakawa K, Swenson L, Bellon S, Fleming M, Taslimi P, Doran J. The structure of dimeric ROCK I reveals the mechanism for ligand selectivity. J. Biol Chem 2006; 281(1):260-8.
105. Julian L, Olson MF. Rho associated coiled coil containing kinases (ROCK): structure, regulation and functions. Small GTPases. 2014; 5:e29846.
106. Zhang H, Guo M, Zhang L, Xue H, Chai Z, Yan Y, Xing Y, Xiao B, Zhang P, Ma C.; [Anti-inflammatory effect and mechanisms of Huangqi glycoprotein in treating experimental autoimmune encephalomyelitis].; Folia Neuropathol. 2017; 55(4):308-316.
107. Sladojevic N, Yu B, Liao JK. ROCK as a therapeutic target for ischemic stroke. Expert Rev Neurother. 2017; 17(12):1167-1177.
108. Koch JC, Tatenhorst L, Roser AE, Saal KA, Tönges L, Lingor P. ROCK inhibition in models of neurodegeneration and its potential for clinical translation. Pharmacol Ther. 2018;189:1-2.
109. Sapet C, Simoncini S, Lloriod B, Puthier D, Sampol J, Nguyen C, Dignat-George F, Anfosso F. Thrombin-induced endothelial microparticle generation: identification of a novel pathway involving ROCK-II activation by caspase-2. Blood. 2006;108(6):1868-1876.
110. Iizuka M, Kimura K, Wang S, Kato K, Amano M, Kaibuchi K, Mizoguchi A. Distinct distribution and localization of Rhokinase in mouse epithelial, muscle and neural tissues. Cell Struct. 2012;3782:155-175.

111. Bustelo XR, Sauzeau V, Berenjeno IM. GTP-binding proteins of the Rho/Rac family: regulation, effectors and functions in vivo. *Bioessays*. 2007; 29(4):356-370.
112. Fujita Y, Yamashita T. Axon growth inhibition by RhoA/ROCK in the central nervous system, *Front Neurosci*. 2014; 22;8:338.
113. Gu Y, Filippi MD, Cancelas JA, Siefring JE, Williams EP, Jasti AC, Harris CE, Lee AW, Prabhakar R, Atkinson SJ, Kwiatkowski DJ, Williams DA. Hematopoietic cell regulation by Rac1 and Rac2 guanosine triphosphatases. *Science*. 2003; 302(5644):445-449.
114. Schmidt A, Hall A. Guanine nucleotide exchange factors for Rho GTPases: turning on the switch. *Genes Dev*. 2002;16(13):1587-609.
115. Amin E, Dubey BN, Zhang SC, Gremer L, Dvorsky R, Moll JM, Taha MS, Nagel- Steger L, Piekorz RP, Somlyo AV, Ahmadian MR. Rho-kinase: regulation, (dys)function, and inhibition. *Biol Chem*. 2013; 394(11):1399-1410.
116. Castro-Alvarez JF, Gutierrez-Vargas J, Darnaudéry M, Cardona-Gómez GP. ROCK inhibition prevents tau hyperphosphorylation and p25/CDK5 increase after global cerebral ischemia. *Behav Neurosci*, 2011; 125(3):465-472.
117. Ogawa T, Hirokawa N. Microtubule Destabilizer KIF2A undergoes distinct site- specific phosphorylation cascades that differentially affect neuronal morphogenesis *Cell Reports*. 2015; 12(11):1774-178.
118. Yan J, Pan Y, Zheng X, Zhu C, Zhang Y, Shi G, Yao L, Chen Y, Xu N. Comparative Study of ROCK1 and ROCK2 in Hippocampal Spine Formation and Synaptic Function. *Neurosci Bull*. 2019;35(4):649-660.
119. Swanger SA, Mattheyses AL, Gentry EG, Herskowitz JH. ROCK1 and ROCK2 inhibition alters dendritic spine morphology in hippocampal neurons. *Cell Logist*. 2016; 19(4):e1133266.
120. Bito H, Furuyashiki T, Ishihara H, Shibasaki Y, Ohashi K, Mizuno K, Maekawa M, Ishizaki T, Narumiya, S. A critical role for Rho associated kinase, p160ROCK, in determining axon outgrowth in mammalian CNS neuron. *Neuron*. 2000;26(2):431-441.
121. Lingor P, Teusch N, Schwarz K, Mueller R, Mack H, Bähr M, Mueller BK. Inhibition of Rho kinase (ROCK) increases neurite outgrowth on chondroitin s

- ulphateproteoglycan in vitro and axonal regeneration in the adult optic nerve in vivo. *J Neurochem.* 2007;103.
- 122.** Siwek M, Sowa-Kucma M, Dudek D, Styczen K, Szewczyk B, Kotarska K, et al. Oxidative stress markers in affective disorders. *Pharmacological Reports: PR.* 2013;65(6):1558-71.
 - Court JA, Perry EK. CNS Nicotine receptors. *Pharmacol Pathophysiol* 1994;2:216.
 - 123.** Barret JE. Interrelationships between behaviour and pharmacology as factors determinig the effects of nicotine. *Pharmacol Biochem Behav* 1993;19:1027.
 - 124.** Ozawa S, Haruyuki K, Tsuzunki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Progress Neurobiol* 1987;54:581-618.
 - 125.** Schneggenburger R, Zhou Z, Konnerth A, Neher E. Fractional contribution of calcium to the cation current through glutamate receptor channels. *Neuron* 1993;11:133-43.
 - 126.** Coyle IT, Bird SI, Evans RH, Gulley RL, Nadler JV, Nicklas WJ, Olney JW. Excitatory amino acid neurotoxins: selectivity, specifity, and mechanism of action. *Neurosci Res Prog Bull* 1981;19:331-427.
 - 127.** Scatton B, Carter C, Benavides J. N-metyl-D-aspartate receptor antagonists: A novel therapeutic perspective for the treatment of ischemic brain injury. *Cerebrovasc Dis* 1999;1:121-4.
 - 128.** McMillan M, Pritchard GA, Miller LG. Characterisation of Ca⁺⁺-mobilizing excitatory amino acid receptors in cultured chick cortical cells. *Eur J Pharmacol* 1990;189:253-66.
 - 129.** Wong EHF, Kemp JA. Sites for antagonism on the N-methyl-D-aspartate receptor channel complex. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1991;31:401-25.
 - 130.** Candy S, Brickley SG. NMDA receptors. *Encyclopedia of Life Sciences* 2001.
 - 131.** Ozawa S, Haruyuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Progress in Neurobiology* 1987;54:581-618.
 - 132.** Shibuya M, Suzuki Y. Treatment of cerebral vasospasm by a protein kinase inhibitor AT 87. No to Shinkei (in Japanese). 1993; 45 (9): 819–824.

- 133.** Doggrell SA. Rho-kinase inhibitors show promise in pulmonary hypertension. *Expert Opin Investig Drugs*. 2005; 14 (9): 1157–115.
- 134.** Zhu F, Zhang Z, Wu G, Li Z, Zhang R, Ren J, Nong L. Rho kinase inhibitor fasudil suppresses migration and invasion through down-regulating the expression of VEGF in lung cancer cell line A549. *Medical Oncology*. 2011; 28(2):565-571.
- 135.** Ying H, Biroc SL, Li Wei-wei, A B, Xuan J., Pagila R, Ohashi Y, Okada T, Kamata Y, Dinte H. “The Rho kinase inhibitor fasudil inhibits tumor progression in human and rat tumor models.” *Mol Cancer Ther* September 2006; 5: 2158.
- 136.** Parsons CG, Danysz W, Quack G. Memantin is a clinically well tolerated n-methyl-d-aspartate (nmda) receptor antagonist--a review of preclinical data. *Neuropharmacology*. 1999;38: 735-767.
- 137.** Lipton SA. Failures and successes of nmda receptor antagonists: molecular basis for the use of open-channel blockers like memantin in the treatment of acute and chronic neurologic insults. *NeuroRx: J Neuro Therapeutics*. 2004; 1: 101-110.
- 138.** Robinson DM, Keating GM. Memantin: a review of its use in alzheimer's disease. *Drugs*. 2006; 66: 1515-1534.
- 139.** Lipton SA. Paradigm shift in neuroprotection by nmda receptor blockade: memantin and beyond. *Nat Rev Drug Discov*. 2006; 5: 160-170.
- 140.** Mutlu O, Akar F, Celikyurt IK, Tanyeri P, Ulak G, Erden F. 7-NI and ODQ Disturbs Memory in the Elevated Plus Maze, Morris Water Maze, and Radial Arm Maze Tests in Mice. *Drug Target Insights*. 2015(4); 9: 1-8. doi: 10.4137/DTI.S23378. PMID: 25788830; PMCID: PMC4354329.
- 141.** Uchihashi Y, Kuribara H, Isa Y, Morita T, Sato T. The disruptive effects of ketamine on passive avoidance learning in mice: involvement of dopaminergic mechanism. *Psychopharmacology (Berl)*. 1994; 116(1): 40-4. doi: 10.1007/BF02244869. PMID: 7862929.
- 142.** Lau AA, Crawley AC, Hopwood JJ, Hemsley KM. Open field locomotor activity and anxiety-related behaviors in mucopolysaccharidosis type IIIA mice. *Behav Brain Res*. 2008(5); 191(1): 130-6. doi: 10.1016/j.bbr.2008.03.024. PMID: 18453006.

143. Akar F, Mutlu O, Komsuoglu Celikyurt I, Bektas E, Tanyeri P, Ulak G, Erden F. Effects of 7-NI and ODQ on memory in the passive avoidance, novel object recognition, and social transmission of food preference tests in mice. *Med Sci Monit Basic Res.* 2014(19); 20: 27-35. doi: 10.12659/MSMBR.890438. PMID: 24643075.
144. Mutlu O, Gumuslu E, Kokturk S, Ulak G, Akar F, Erden F, Kaya H, Tanyeri P. Effects of chronic administration of adipokinetic and hypertrehalosemic hormone on animal behavior, BDNF, and CREB expression in the hippocampus and neurogenesis in mice. *Fundam Clin Pharmacol.* 2016; 30(1): 4-13. doi: 10.1111/fcp.12165. PMID: 26791996.
145. Kantarci K. Molecular imaging of Alzheimer disease pathology. *American Journal of Neuroradiolog.* 2014; 35(6): 12-7.
146. Joseph JD, Peng Y, Mak DOD, Cheung KH, Vais H., Foskett JK., Wei, H. General anesthetic isoflurane modulates inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor calcium channel opening. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists.* 2004; 121(3): 528-537.
147. Pimplikar SW. Reassessing the amyloid cascade hypothesis of Alzheimer's disease. *The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology.* 2009;41(6): 1261-1268.
148. Simic G, Stanic G, Mladinov M, Jovanov-Milosevic N, Kostovic I, Hof PR. Does Alzheimer's disease begin in the brainstem?. *Neuropathology and applied neurobiology.* 2009; 35(6): 532-554.
149. Iannaccone S, Cerami C, Alessio M, Garibotto V, Panzacchi A, Olivieri S, ..., Perani D. In vivo microglia activation in very early dementia with Lewy bodies, comparison with Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders.* 2013; 19(1):47-52.
150. Pencea V, Bingaman KD, Wiegand SJ, Luskin MB. Infusion of brain-derived neurotrophic factor into the lateral ventricle of the adult rat leads to new neurons in the parenchyma of the striatum, septum, thalamus, and hypothalamus. *The Journal of Neuroscience.* 2001; 21(17): 6706-6717.

- 151.** Scharfman HE, Goodman J, Macleod A, Phani S, Antonelli C, Croll S. Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. *Experimental Neurology*. 2005; 192: 348-356.
- 152.** Cirulli F, Berry A, Alleva E. Intracerebroventricular administration of brain-derived neurotrophic factor in adult rats affects analgesia and spontaneous behaviour but not memory retention in a Morris Water Maze task. *Neuroscience Letters*. 2000; 287: 207-210.
- 153.** Esquerda-Canals G, Montoliu-Gaya L, Güell-Bosch J, Villegas S. Mouse Models of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2017;57(4):1171-1183. doi: 10.3233/JAD-170045. PMID: 28304309.
- 154.** Misane I, Ögren SO. Selective 5-HT 1A antagonists WAY 100635 and NAD-299 attenuate the impairment of passive avoidance caused by scopolamine in the rat. *Neuropsychopharmacology*. 2003;28(2): 253.
- 155.** Kayaalp O. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji (10. Baskı). Feryal Matbaacılık Limited Şirketi, Ankara, 2002: 916-994.
- 156.** Bourin M. Animal models for screening anxiolytic-like drugs: a perspective. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. 2005; 17(3): 295.
- 157.** Hlíák Z, Krejčí I. Oxiracetam prevented the scopolamine but not the diazepam induced memory deficits in mice. *Behav. Brain Res*. 2002;133:395-399.
- 158.** Barlow DH. Anxiety and its disorders: The nature and treatment of anxiety and panic. Guilford Press, 2004.
- 159.** Amir N, Kuckertz JM, Najmi S. The effect of modifying automatic action tendencies on overt avoidance behaviors. *Emotion*. 2013; 13(3): 478.
- 160.** Han RW, Zhang RS, Xu HJ, Chang M, Peng YL, Wang R. Neuropeptide S enhances memory and mitigates memory impairment induced by MK801, scopolamine or A β ₁₋₄₂ in mice novel object and object location recognition tasks. *Neuropharmacology*. 2013;70:261-7.
- 161.** Chintoh A, Fulton J, Koziel N, Aziz M, Sud M, Yeomans JS. Role of cholinergic receptors in locomotion induced by scopolamine and oxotremorine-M. *Biochemistry and Behavior* 2003; 76: 53-61.

162. Moscarello JM, LeDoux JE. Active avoidance learning requires prefrontal suppression of amygdala-mediated defensive reactions. *Journal of Neuroscience*. 2013;33(9): 3815-3823.
163. Bravo-Rivera C, Roman-Ortiz C, Brignoni-Perez E, Sotres-Bayon F, Quirk GJ. Neural structures mediating expression and extinction of platform-mediated avoidance. *Journal of Neuroscience*. 2014; 34(29):9736-9742.
164. Ebert U, Kirch W. Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. *European Journal Of Clinical Investigation*. 1998; 28(11): 944- 949.
165. Arancibia S, Silhol M, Moilière F, Meffre J, Höllinger I, Maurice T, Tapia-Arancibia L. Protective effect of BDNF against of beta-amyloid induced neurotoxicity in vitro and in vivo in rats. *Neurobiol. Dis*. 2008; 31: 316-326.
166. Lake C, Stransky E, Leyhe T, Eschweiler GW, Maetzler W, Witroff A, Soekadar S, Richartz E, Koehler N, Bartels M, Buchkremer G, Schott K. BDNF serum and CSF concentration in Alzheimer's Disease, normal pressure hydrocephalus and healthy controls. *J Psychiatr Res*, 2007; 41:387-394.
167. SoukhakLari R, Moezi L, Pirsalami F, Ashjazadeh N, Moosavi M. Curcumin ameliorates scopolamine-induced mice memory retrieval deficit and restores hippocampal p-Akt and p-GSK-3 β . *Eur J Pharmacol*. 2018;841:28-32.
168. Moosavi M, SoukhakLari R, Moezi L, Pirsalami F. Scopolamine-induced passive avoidance memory retrieval deficit is accompanied with hippocampal MMP2, MMP-9 and MAPKs alteration. *European Journal of Pharmacology* 2018; 819: 248–253.
169. Hong SW, Yang J, Joh EH, Kim HJ, Kim DH. Gypenoside TN-2 ameliorates scopolamine-induced learning deficit in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2011; 134(3): 1010–1013.
170. Jung IH, Jang SE, Joh EH, Chung J, Han MJ, Kim DH. Lancemaside A isolated from *Codonopsis lanceolata* and its metabolite echinocystic acid ameliorate scopolamine-induced memory and learning deficits in mice. *Phytomedicine* 2012; 20(1): 84–88.
171. Li M, Dai F, Du X, Yang Q, Zhang X, Chen Y. Infusion of BDNF into the Nucleus Accumbens of aged rats improves cognition and structural synaptic

- plasticity through PI3K-ILK-Akt signaling. *Behavioral Brain Research*, 2012; 231:146-153.
- 172.** Xu B, Michalski B, Racine RJ, Fahnstock M. The effects of brain- derived neurotrophic factor (BDNF) administration on kindling induction, Trk expression and seizure-related morphological changes. *Neuroscience*. 2004;126: 521-531.
- 173.** Koch JC, Tatenhorst L, Roser AE, Saal KA, Tönges L, Lingor P. ROCK inhibition in models of neurodegeneration and its potential for clinical translation. *Pharmacol Ther*. 2018;189:1-2.
- 174.** Pedrini S, Carter TL, Prendergast G, Petanceska S, Ehrlich ME, Gandy S. Modulation of statin-activated shedding of Alzheimer APP ectodomain by ROCK. *PLoS Med*. 2005; 2(1): e18.
- 175.** Mulherkar S, Firozi K, Huang W, Uddin MD, Grill RJ, Costa-Mattioli M, Tolias KF. RhoA-ROCK inhibition reverses synaptic remodeling and motor and cognitive deficits caused by traumatic brain injury. *Scientific reports*, 2017; 7(1): 1-12.





**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ÖZGEÇMİŞ

EĞİTİM DÜZEYİ

İŞ DENEYİMİ

EKLER

Ek 1 Etik Kurul İzni

Ek 2 Tez İntihal Formu

ORJİNALLİK RAPORU

Turnitin Raporu-04.03.2021

ORJİNALLİK RAPORU

% **14**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **10**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **1**

YAYINLAR

% **10**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Submitted to Erciyes Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

% **3**

2

tez.sdu.edu.tr

İnternet Kaynağı

% **2**

3

acikerisim.dicle.edu.tr

İnternet Kaynağı

% **1**

4

www.dicle.edu.tr

İnternet Kaynağı

% **1**

5

adudspace.adu.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

% **1**

6

Submitted to Dicle University

Öğrenci Ödevi

<% **1**

7

Submitted to Bahcesehir University

Öğrenci Ödevi

<% **1**

8

noropsikiyatriarsivi.com

İnternet Kaynağı

<% **1**

9

Submitted to European University of Lefke

Öğrenci Ödevi

<% **1**