T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

ALZHEİMER HASTALARINDA TAU VE BETA-AMİLOİD OLUŞUMUNA YOL AÇAN GEN POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

FEYZA GENÇ ŞATIR

DANIŞMAN
PROF. DR. SADRETTİN PENÇE

MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI

İSTANBUL-2016

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında Feyza GENÇ ŞATIR tarafından hazırlanan Alzheimer Hastalarında Tau ve Beta-Amiloid Oluşumuna Yol Açan Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi başlıklı Yülsek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

07 / 03 / 2016

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)	İmzası
1.Prof. Dr. İlhan YAYLIM İ.Ü.DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı	
2.Prof.. Dr. Sadrettin PENÇE İ.Ü.DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı	
3.Prof. Dr. Hülya YILMAZ AYDOĞAN İ.Ü.DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı	
4. Prof. Dr. Fahri AKBAŞ Bezmialem Ünv. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D.	
5.Prof. Dr. Arzu ERGEN İ.Ü.DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı	

BEYAN

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

Feyza Genç Şatır



İTHAF

Tezimi bana her zaman güvenen ve sürekli destekçilerim olan, sevgili Annem ve Babam ve Eşim'e ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenen, her konuda bana destek olan çok saygıdeğer hocam İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Sadrettin Pençe'ye,

Bu çalışmanın her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Gökhan Erkol'a

Tez çalışmamda laboratuar ve istatistik çalışmalarında, bilgi, tecrübe ve yardımlarını benden esirgemeyen Dr. Ender M. Çoşkunpınar'a

Tezim için gerekli hasta örneklerinin sağlanmasındaki katkılarından dolayı İstanbul Darülaceze Müdürlüğü'ne

Tez çalışmam süresince yardımları ve destekleri için Prof. Dr. İlhan Yaylım Prof. Dr. Oğuz Öztürk, Prof. Dr. Hülya Yılmaz Aydoğan, Prof. Dr. Bedia Ağaçhan, Prof. Dr. Ş. Ümit Zeybek, Prof. Dr. Arzu Ergen ve tüm Moleküler Tıp Anabilim Dalı çalışanlarına,

Tez çalışmam boyunca tanı ve örnek toplama aşamasında bana yardımcı olan Dr. Gülsün Ersen'e teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman, her koşulda yanımda olup, her koşulda desteğini ve sevgisini benden esirgemeyen değerli ailem; annem, babam ve ablam ve eşim Erhan Şatır'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 24976

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ X
ÖZET ..... Xİ
ABSTRACT ..... Xİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. Alzheimer Hastalığı (AH) 2
2.2. Alzheimer Hastalığının Tanı Kriterleri 2
2.3. Alzheimer Hastalığında Görülen Patalojik Değişiklikler 5
2.3.1. Nörofibriler Yumaklar (NFY) 7
2.3.2. Senil Plaklar (Amiloid plaklar) 10
2.3.3. Vasküler Amiloid Birikimi (Serebral Amiloid Anjiyopati, Kongofilik Anjiopati) 14
2.3.4. Granulovakoler Dejenerasyon 15
2.3.5. Hirano Cisimcikleri 15
2.3.6. Nöron Kaybı 16
2.3.7. Sinatik Kayıp 16
2.3.8. Kolinerjik Kayıp 16
2.4. Risk Faktörleri 18
2.5. Alzheimer Hastalığında Etkili Olabilecek Genetik Risk Faktörleri 20
2.6. Alzheimer Hastalığınının Tedavisi 23
2.6.1. Kolinerjik Yerine Koyma Tedavisi 24
2.6.2. Antioksidatif Tedavi 24
2.6.3. Antiinflamatuvar İlaçlar 25

2.7. CLU....26
2.8. SORL1....27
2.9. CR1....28
3. GEREÇ VE YÖNTEM....29
3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı....29
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler....29
3.3. Kullanılan Gereçler....30
3.4. Kullanılan Çözeltiler....30
3.4.1. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltiler....30
3.4.2. Periferik Kandan DNA İzolasyonu....31
3.4.3. PZR'da Kullanılan Kimyasal Maddeler ve PZR'ın Hazırlanışı....33
3.4.4. Agaroz Jel Elektroforezinin Uygulanması....36
3.4.5. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatiksel Yöntemler....41
4. BULGULAR....42
5. TARTIŞMA....45
KAYNAKLAR....50
HAM VERİLER....65
FORMLAR....66
ETİK KURUL KARARI....70
PATENT HAKKI İZNİ....74
TELİF HAKKI İZNİ....75
ÖZGEÇMİŞ....76

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Alzheimer Hastalığı Olası Risk Faktörleri 19
Tablo 2 : Ailevi Alzheimer Hastalığı Genleri 20
Tablo 3: CLU geni için PZR karışımı 34
Tablo 5: Gen varyantlarının gözlendiği bölgelerin çoğaltılması için kullanılan amplifikasyon koşulları 35
Tablo 6 : Alzheimer ve kontrol gruplarına ait CLU (rs202081077) genotip ve allel dağılımları 42
Tablo 7 : Alzheimer ve kontrol gruplarına ait SORL1 (rs641120) genotip ve allel dağılımları 43
Tablo 8 : Alzheimer ve kontrol gruplarına ait CR1 (rs202213311) genotip ve allel dağılımları 44

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Alzheimer hastalarında görülen hasta nöronların yapısı (28). 6
Şekil 2 : Normal bir beynin nöronlarıyla, Alzheimer'lı bir beynin nöronlarının karşılaştırılması (36) 8
Şekil 3 : Alzheimer hastalarında görülen mikrotübül yapısı (42). 9
Şekil 4 : Amiloid Prekürsör protein (APP)'nin proteolitik kesimi (58). 12
Şekil 5 : Alzheimerlı beyinin serebral korteks bölgesinin fotomikrograf görüntüsü. 14
Şekil 6 : Hematoksilin ve eozin boyama ile boyanmış hipokampus bölgesinde görülen piramidal nöronun perikaryonunda Hirano cisimcikleri (66). 15
Şekil 7: Kromozom 8 ve CLU geninin lokasyonu 26
Şekil 8: Kromozom 11 ve SORL1 geninin lokasyonu 27
Şekil 9 : Kromozom 1 ve CR1 geninin lokasyonu 28
Şekil 10 : Uygun primerlerle çoğaltılan 236 bç'lik (CLU) ve 150 bç'lik (CR1) PZR ürünlerinin %3'lük agaroz jeldeki görüntüsü. (Marker: 50 bç DNA marker) 37
Şekil 11 : Uygun primerlerle çoğaltılan 194bç'lik (SORL1) PZR ürünlerinin %3'lük agaroz jeldeki görüntüsü. (Marker: 50 bç DNA marker) 38
Şekil 12: CLU geni Hyp99i enzim kesimi sonucunda ürünlerin %3'lük agaroz jeldeki bant görüntüsü 39
Şekil 13: CR1 geni HindIII enzim kesimi sonucunda ürünlerin %3'lük agaroz jeldeki bant görüntüsü 40
Şekil 14: SORL1 geni Ms1I enzimi kesimi sonucu ürünlerin%3'lük agaroz jeldeki bant görüntüsü 40

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AH : Alzheimer Hastalığı

AD : Alzheimer’s Disease

NFY : Nörofibriler Yumak

NFT : Neurofibrillary Tangles

Aβ : Amiloid Beta Protein

APP : Amiloid Prekürsör Protein

SP : Senil Amiloid Plak

NINCDS-ADRDA : National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer’s Disease and Related Disorders Association

MAP : Mikrotübül Asosiye Proteinler

GFAP : Glial Fibriler Asidik Protein

PSP : Progresif Supranükleer Palsy

KBD : Kortikobazal Ganglionik Dejenerasyon

AGD : Argirofilik Grain Hastalığı

BACE : Beta-site APP Cleaving Enzyme

MCI : Mild Cognitive Impairment (hafif bilişsel bozukluk)

AchE : Asetilkolin Esteraz Enzimi

CAT : Kolinasetiltransferaz enzimi

NSAID : Non Steroidal Antienflamatuar İlaçlar

Apo-E4 : Apolipoprotein E4 aleli

ICAM : İntraselüler Adezyon Molekül

IL : İnterleukin

PSEN : Presenilin

CLU : Clusterin

SORL1 : Sortilin-related Receptor 1

CR1 : Complement Receptor 1

CALHM1 : Kalsiyum Homeostaz Modülatörü 1

ÖZET

GENÇ ŞATIR, F. (2016). Alzheimer Hastalarında Tau Ve Beta-Amiloid Oluşumuna Yol Açan Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Kronik nörodejenaratif bir hastalık olan Alzheimer hastalığı (AH), demans tablosunun en sık görülen nedenidir. Nörofibriler yumaklar Alzheimer hastalarında karakteristik bulgulardan biridir. NFY'ların en önemli moleküler belirteci Tau proteinidir. AH'deki ikinci temel nöropatolojik değişiklik olan amiloid plaklar farklı morfolojik yapılarda olabilir ancak ana bileşeni amiloid beta proteindir (Aβ). Clusterin (CLU) apoptoz ve inflamasyon gibi Alzheimer ilişkili yolakları düzenlediği düşünülen bir proteindir. SORL1 efektif olarak Amiloid prekürsör proteine bağlanarak toksik amiloid β miktarının azalmasını sağlar. CR1 geni çeşitli otoimmün ve enfeksiyon hastalıklarının patogenez ve gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülen bir protein kodlar.

Çalışmamızda Alzheimer patogenezinde yer alan SORL1, CLU ve CR1 proteinlerini kodlayan genlerdeki rs641120, rs202081077 ve rs202213311 varyasyonlarının Alzheimer hastalarında incelenmesi ve hastalığın gelişiminde risk faktörü olarak bireysel etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. CLU , SORL1 ve CR1 genotipleri PZR-RFUP metodu kullanılarak belirlenmiştir. Alelik asosiyasyon testi sonuçları CLU geninde rs202081077, SORL1 geninde rs641120 ve CR1 geninde rs202213311 polimorfizmlerinin alelik dağılımları açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlara göre rs202081077 varyant aleli (T), rs641120 varyant aleli (T) ve rs202213311 varyant aleli (G) Alzheimer hastalığı patogenezinde olumlu etki göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda CLU rs202081077, SORL1 rs641120 ve CR1 rs202213311 genotip ve allel dağılımları incelendiğinde normal genotip ve allellerin sağlıklı bireylerde yüksek oldığu ve dolayısıyla Alzheimer hastalığı açısından koruyucu etki gösterdiği ; nadir genotip ve allelerin hasta bireylerde yüksek olduğu ve dolayısı ile Alzehimer hastalığı için risk oluşturduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, polimorfizm, alleller, genetik, nöroloji

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 24976

ABSTRACT

GENÇ ŞATIR, F. (2016). Investigation of gene polymorphism which cause formation of tau and beta-amyloid in Alzheimer's disease patients. İstanbul University, Institute of Health Science, Molecular Medicine. Master's Thesis. İstanbul.

Alzheimer's Disease (AD) is a neurodegenerative disease and the most common cause of dementia. Neurofibrillary tangles (NFT) are one of the characteristic findings of AD. Tau proteins are the most significant markers of NFTs. The second most fundemental neuropathological change in AD are the amyloid plaques which are always mainly comprised of amyloid beta protein (Aβ) despite having various morphologies. Clusterin protein (CLU) on the other hand plays a key role in various cellular processes associated with AD including apoptosis and inflammation. SORL1 protein binds to amyloid precursor protein and effectively decreases toxic Aβ amount. CR1 gene encodes a protein which is considered to play crucial roles in the development and progression of various autoimmune and infectious diseases.

The aim of our study was to determine the individual and combined effects of rs202081077, rs641120 and rs202213311 polymorphisms located on genes coding for CLU, SORL1 and CR1 proteins. 68 patients with AD and 75 healthy volunteers were enrolled in this study. Polymerase Chain Reaction (PCR) and Restriction Endonuclease Fragment Length Polymorphism (RFLP), and Agarose Gel Electrophoresis Techniques were used to determine CLU rs202081077, SORL1 rs6541120 and CR1 rs202213311 gene polymorphisms.

Allelic association test showed that allelic distributions of rs202081077 on CLU gene, rs641120 on SORL1 gene and rs202213311 on CR1 gene were significantly different in Alzheimer's patients.

CLU (rs202081077) TT genotype and T allele frequency (p=0,044856, p=0,003871) ; SORL1 (rs641120) TT genotype and T allele frequency (p=0,000001, p=0,00000) ; CR1 (rs202213311) GG genotype and G allele frequency (p=0,001911, p=0,000037) were higher in Alzheimer group than in control group.

In conclusion, our investigation of CLU rs202081077, SORL1 rs641120 and CR1 rs202213311 allele distributions among AD patients and healthy controls has shown that these polymorphisms may contribute to the pathogenesis of Alzheimer's disease.

Key Words: Alzheimer's disease, polymorphism, alleles, genetics, neurology

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University.

Project No. 24976

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yaşlanma birçok demans hastalığının major risk faktörüdür ve Alzheimer hastalığı (AH) demansın en sık nedenidir. 2013 yılındaki verilere göre Dünya çapındaki Alzheimer hastalarının tahmini sayısı 50 milyondur ve bu sayı yaşlanan nüfus ile birlikte her geçen gün artmaktadır (1).

AH beyinde çok sayıda senil plak ve nörofibriler yumak ile karakterize edilen nörodejeneratif bir hastalıktır (2). Senil plaklar ekstrasellüler olarak bulunur ve ana bileşeni amiloid beta proteindir (Aβ). Beta amiloid 40-42 aminoasitten oluşan bir protein olup daha büyük bir transmembran protein olan, 19. kromozomda kodlanan ve işlevi tam olarak anlaşılamamış bir transmembran protein olan amiloid prekürsör protein (APP)'den proteolitik yolla oluşur (3,4). Nörofibriler yumaklar (NFY) ise intrasellüler olarak bulunur ve başlıca Tau proteini içerir (1). Alzheimer hastalığında, tau proteini anormal olarak fosforile edilir ve NFY içinde agrege olur (5).

Clusterin (CLU) amilod-beta agregasyonunu ve/veya atılımını değiştirmek için amiloid-beta şaperon olarak rol alır (7,8). Ayrıca clusterin apoptoz ve inflamasyon gibi Alzheimer ilişkili yolakları düzenler (9,10,11).

Sortilin-ilişkili lipoprotein (SORL1) beyinde özellikle trans-golgi ve endozomlar içerisindeki nöronal transport sürecinde rol alır. Endojen APP ve SORL1 hücre içinde fizyolojik şartlarda birbirleriyle fiziksel olarak etkileşime girer ve SORL1 APP'nin hücre içi trafiğinin bazı bölümlerini düzenler (12,13). SORL1 aktivitesi yokluğunda, APP amiloidojenik yolaklara yönelir (14).

Komplement reseptör 1 (CR1)'in ise geç başlangıçlı Alzheimer hastalığından sorumlu olabileceği düşünülmektedir (15).

Bizim de bu çalışmamızda, Alzheimer hastalığı patogenezine yönelik çeşitli yolaklarda önemli rol oynayan CLU, SORL1 ve CR1 genlerindeki varyasyonların hastalık ile ilişkisinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alzheimer Hastalığı (AH)

Alzheimer hastalığı (AH), demans tablosunun en sık nedeni (%60-80) olan kronik nörodejeneratif bir hastalıktır. 65 yaş üstü hastalarda demansın en önemli nedenleri; Alzheimer hastalığı (%60), vasküler demans (%15) ve vasküler-Alzheimer hastalığı bir arada bulunmasıdır. (%10). Diğer hastalıklar demans sebeplerinin %10'unu oluşturur: Lewy cisimcikli demans, Pick hastalığı, frontotemporal demanslar, normal basınçlı hidrosefali, alkolik demans, enfeksiyon hastalıkları (HIV, sifiliz) ve parkinson hastalığına bağlı demans gibi. Demans kliniği gözlenen hastaların yaklaşık yüzde %5'inde demans tablosu metabolik anomaliler (ör: hipotirodizm), beslenme bozuklukları (ör: vitamin B12 eksikliği, folat eksikliği) veya depresyon gibi geri dönebilen sebeplere bağlıdır (16).

Her yıl tüm dünyada 4,6 milyon yeni AH olgusu geliştiği tahmin edilmektedir (17). İlk olarak 1907 yılında Alman hekim Alois Alzheimer tarafından klinik ve nöropatolojik özellikleri ile tanımlanmıştır (18,19). Hastalığın görülme riski yaşa bağlı olarak logaritmik biçimde artar (20,21). Yaşı 60-65 arasında olan popülasyonda görülme sıklığı yaklaşık olarak %0,1 iken, 85 yaşın üzerinde görülme sıklığı %47'ye kadar çıkar (21,22). 2050 yılında dünya nüfusunun %25'inden fazlasının 65 yaşın üzerinde olacağı öngörülmektedir (23). Bu rakamlar artan yaşlı nüfusu ile birlikte logaritmik oranda artan AH'nin gelecekte en önemli sağlık sorunlarından biri olacağı izlenimini vermektedir. 1999 yılında ülkemizden bildirilen bir çalışmada Türkiye'deki Alzheimer hastası sayısının 200.000'in üzerinde olduğu tahmin edilmektedir (21).

2.2. Alzheimer Hastalığının Tanı Kriterleri

Alzheimer hastalığının klinik tanısı için yayınlanmış olan ve bugün yaygın biçimde Ulusal ve Nörolojik ve İletişim Hastalıkları Enstitüsü ve İnme-Alzheimer Hastalığı ve İlişkili Hastalıklar Derneği (NINCDS-ADRDA) (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) (24) ve Amerikan Psikiyatri Birliği Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı (DSM-IV) tanı kriterleri kullanılmaktadır (25).

NINCDS-ADRDA Alzheimer Hastalığının Klinik Tanı Kriterleri

I. MUHTEMEL Alzheimer Hastalığı klinik tanı kriterleri şunları içerir:

- Klinik muayene ile saptanan, Mini-Mental Test, Blessed Demans Ölçeği ya da benzer bir test ile dokümante edilen ve nöropsikolojik testlerle de doğrulanan demans tablosu;
- İki ya da daha fazla bilişsel süreçte bozulma;
- Bilinç bozukluğu yok.
- Başlangıç 40-90 yaşları arasında, büyük sıklıkla da 65 yaşından sonra;
- Bellek ya da diğer bilişsel süreçlerde ilerleyici bozukluğa yol açabilecek sistemik ya da beyne ait başka bir hastalık yok.

II. MUHTEMEL Alzheimer Hastalığı tanısı şunlarla desteklenir:

- Dil (afazi), motor yetenekler (apraksi) ve algı (agnozi) gibi özgül bilişsel işlevlerde ilerleyici bozulma;
- Günlük yaşam aktivitelerinde bozulma ve davranış biçiminde değişme;
- Ailede benzer bozukluk öyküsü (özellikle patolojik olara kanıtlanmışsa);
- Laboratuarda:
    - Standart tekniklerle normal lomber ponksiyon,
    - EEG'nin normal olması yada yavaş dalga aktivitesinde artış gibi non-spesifik değişiklikler,
    - Bilgisayarlı Tomografide (BT) serebral atrofiye ilişkin bulgular ve seri incelemelerde bu bulguların ilerleyişi.

III. Alzheimer hastalığı dışındaki nedenler dışlandıktan sonra, MUHTEMEL

Alzheimer Hastalığı tanısı ile uyumlu olabilecek diğer klinik özellikler şunlardır:

• Hastalığın seyrinde platolar;

• Depresyon, uykusuzluk, inkontinans, hezeyan, yanılsama ve halusinasyonlar, verbal, emosyonel ya da fiziksel katastrofik patlamalar, cinsel bozukluklar ve kilo kaybı gibi eşlikçi bulgular;

• Bazı hastalarda, özellikle hastalığın ileri dönemlerinde, kas tonusunda artış, myoklonus ya da yürüme güçlüğü gibi diğer nörolojik bozukluklar;

• Hastalığın ileri evresinde nöbetler;

• Yaş için normal BT.

IV. MUHTEMEL Alzheimer Hastalığı tanısını belirsizleştiren ya da ihtimal dışına

çıkaran özellikler şunlardır:

• İnme tarzında ani başlangıç;

• Hemiparezi, duysal kayıp, görme alanı defektleri ve inkoordinasyon gibi fokal nörolojik bulguların hastalığın erken evrelerinde bulunması;

• Nöbetler ya da yürüyüş bozukluklarının, daha başlangıçta ya da hastalığın çok erken evrelerinde bulunması;

V. MÜMKÜN Alzheimer Hastalığı tanı kriterleri şunlardır:

• Demansa neden olabilecek diğer nörolojik, psikiyatrik ya da sistemik bozukluklar olmaksızın, başlangıç, presentasyon ya da klinik seyirde varyasyonların bulunması durumunda konulabilir;

• Demansa neden olabilecek, ancak demansın nedeni gibi görünmeyen ikinci bir sistemik ya da beyin hastalığının bulunması durumunda konulabilir;

• Diğer belirlenebilir nedenlerinin dışlandığı, tek ve yavaş ilerleyici bir bilişsel bozukluğun bulunması durumunda, araştırma çalışması amaçlı olarak kullanılabilir.

VI. KESİN Alzheimer Hastalığı tanısı kriterleri şunlardır:

Biyopsi ya da otopsiyle elde edilen histopatolojik kanıtlar.

DSM-IV Alzheimer Tipi Demans İçin Tanı Kriterleri

A. Birden fazla bilişsel alanı içeren bozukluk kendini aşağıdaki iki maddeyi de kapsayacak şeklinde gösterir:

1. Bellek bozukluğu (yeni bir bilgi öğrenme ve öğrenilmiş eski bir bilgiyi hatırlama yeteneğinin bozulması)

2. Aşağıda sıralanan bilişsel bozuklardan en az biri:

a. Afazi (dil bozukluğu)

b. Apraksi (motor işlevlerin normal olmasına karşın belirli motor eylemlerin yerine getirilmesi yeteneğinde bozulma)

c. Agnozi (duysal işlevlerin salim olmasına karşın nesneleri tanımakta güçlük)

d. Yürütücü işlevlerde bozulma (planlama, organize etme, sıralama, soyutlama)

B. A1 ve A2 kriterlerinde tanımlanan bilişsel bozukluklar toplumsal ve mesleki işlevselliği ciddi biçimde bozmakta ve eski işlevsellik düzeyine göre anlamlı bir gerilemeyi temsil etmektedir.

C. Seyir, sinsi başlangıç ve yavaş ilerleyici kognitif yıkım özelliklerindedir.

D. A1 ve A2 kriterlerinde tanımlanan bilişsel bozukluklar aşağıda sıralanan nedenlerden herhangi birine bağlı değildir:

1. Bellek ve diğer bilişsel işlevlerde ilerleyici bozulmaya neden olabilecek merkez sinir sistemine ait diğer durumlar (örn. serebrovasküler hastalık, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, subdural hematom, normal basınçlı hidrosefali, beyin tümörü)

2. Demansa neden olabileceği bilinen sistemik durumlar (örn. Hipotiroidizm, B12 vitamini ya da folik asit eksikliği, niasin eksikliği, hiperkalsemi, nörosifilis, HIV enfeksiyonu)

3. İlaçlar ve madde kullanımı ile ilgili durumlar

E. Bozukluklar delirium seyri dışında ortaya çıkmıştır.

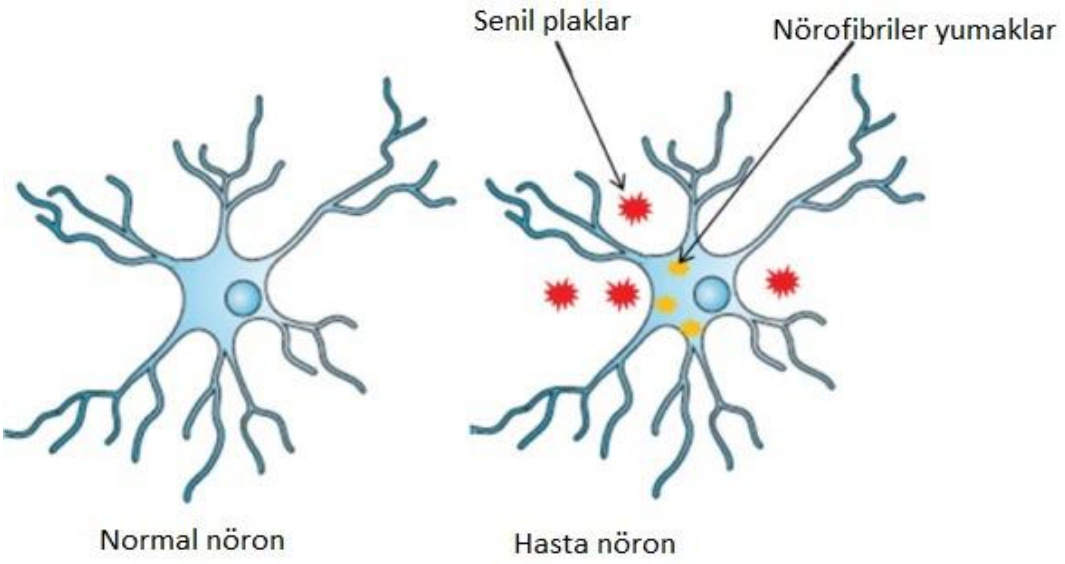
F. Bozukluk başka bir Eksen I hastalığı ile açıklanabilir nitelikte değildir.

2.3. Alzheimer Hastalığında Görülen Patalojik Değişiklikler

AH'ında histopatolojik olarak nörofibriler yumak (NFY) oluşumu, senil amioid plaklar (SP), sinaps-nöron kaybı ve beyinde belirgin bir atrofi mevcuttur (20).

AH'daki patolojik değişiklikler, nöronların dejenerasyonları ve kaybı nedeniyle meydana gelen serebral kortikal atrofi yanı sıra nöronların hücre cisimleri içinde ve etrafında anormal protein yapılarının birikimi ile karakterizedir (26).

Alzheimer hastalığının kesin tanısı nöropatolojik inceleme ile konabilir. Hastaların beyinlerinin makroskopik incelemesinde tüm beyinde atrofi, sulkuslarda genişleme, giruslarda küçülme (en belirgin olarak frontotemporal alanlarda ve parahipokampal girusta) ve doku kaybına bağlı olarak ventrikül genişlemesi gözlenir. Mikroskobik bulgular arasında hücre içine yerleşmiş nörofibriler yumaklar (NFY), hücre dışı yerleşimli senil amiloid plaklar (SP), granülovaküoler dejenerasyon, nöron ve dolayısıyla sinaps kaybı ve amiloid anjiopatiler vardır (27).



Şekil 1: Alzheimer hastalarında görülen hasta nöronların yapısı (28).

Alzheimer hastalığının fizyopatolojisini açıklamak üzere yapılan bazı çalışmalarda glutaminerjik sistemin kronik olarak uyarılması sonucunda artan intraselüler kalsiyum (Ca^{+2}) konsantrasyonunun, nöronal eksitotoksisiye ve buna bağlı olarak nöronal disfonksiyona ve hücre ölümüne neden olduğu bildirilmiştir (29). Alzheimer hastalığında beyinde Ca^{+2} konsantrasyonu artışının bu iyonla aktive edilen nötral proteinazların (kalpainler) aktivasyonunu arttırdığı, amiloid plak ve NFY oluşumuna neden olduğu rapor edilmiştir (30). Diğer yandan, AH'nda nörotoksik amiloid-betanın Ca^{+2} homeostazını bozduğu ileri sürülmektedir (31).

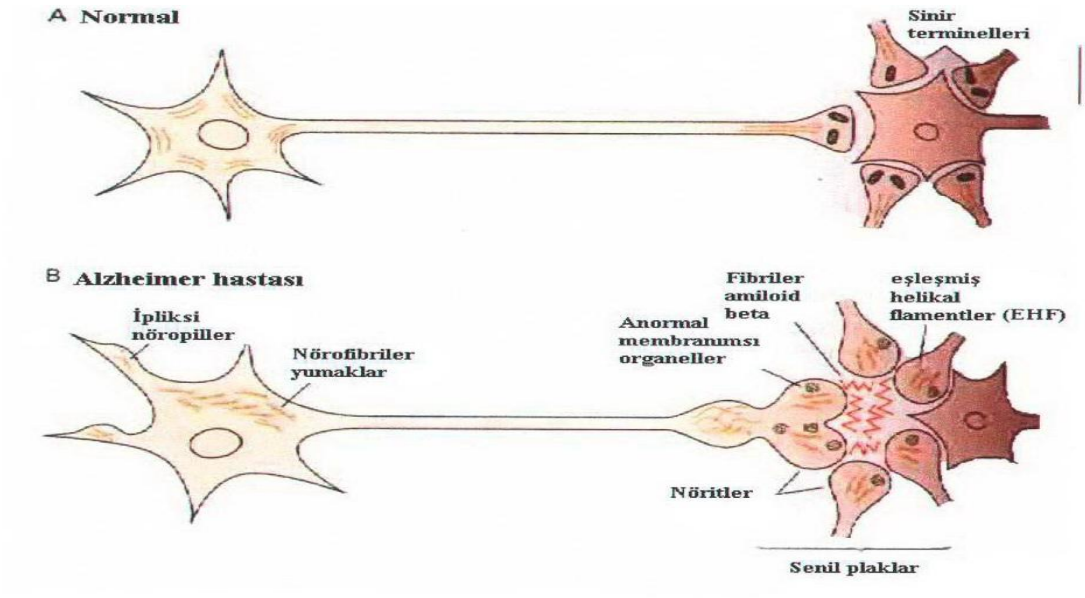
2.3.1. Nörofibriler Yumaklar (NFY)

Nörofibriler yumaklar Alzheimer hastalarında karakteristik bulgulardan biridir. Ancak hastalığa özgü değildir. Diğer dejeneratif demans hastalarında da bulunmuştur (27).

Nörofibriler yumakların morfolojisi ve moleküler kompozisyonu, hücre tipine ve beyindeki lokasyonuna göre değişir. Bu nedenle kortikal ve subkortikal NFY, morfolojik olarak benzerdir fakat kimyasal olarak farklıdır. NFY oluşumunun, spesifik tipteki nöronların dejenerasyonu ile ilgili olabileceği düşünülmüştür (32).

NFY'ların en önemli moleküler belirteci Tau proteinidir. Tau 17. kromozom tarafından kodlanan mikrotübül asosiye proteinler (MAP) ailesinden bir proteindir. Mikrotübüllerin stabilizasyonu, hücre iskeletinin bütünlüğü ve aksonal transportta önemli rol alır. AH patogenezinde hiperaktif kinazlar ve/veya hipoaktif fosfatazlar tau proteininin hiperfosforilizasyonuna yol açarak mikrotübüllere bağlanma yeteneğini bozarlar. Bağlanmamış fosforilize tau, çözülemeyen çift sarmallı filamanlara polimerize olur. Bunlar zaman içinde intranöronal NFY'ler haline gelir. Bu sürecin yıllar süren uzun bir dönem olduğu düşünülmekte, bu süreçte tau hedefli tedavi stratejilerinin, çözülemeyen çift sarmallı filamanların NFY şeklinde çökmesini azaltması ile AH progresyonunu azaltabileceği düşünülmektedir (33). NFY sonunda hücre iskeletinin bütünlüğünü ve aksonal transportu bozarak hücre ölümüne neden olur. Hücre ölümüyle ortaya çıkan ekstraselüler NFY'ye "hayalet yumak" adı verilir. Yukarıda belirtildiği üzere AH'deki kognitif kötüleşmenin ciddiyeti amiloid depozisyonundan ziyade NFY miktarı ile koreledir (34).

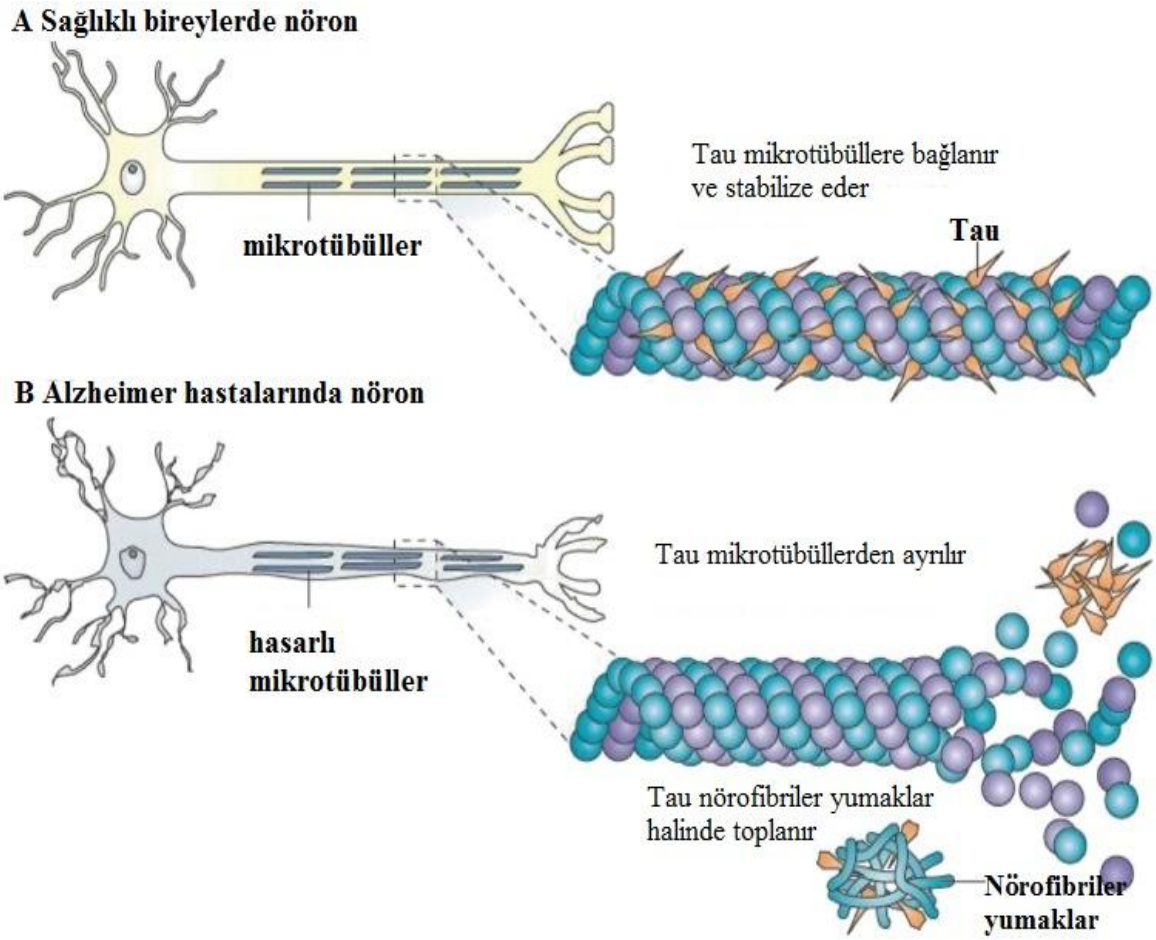
Alzheimer hastalığında, tau proteini anormal olarak fosforile edilir ve NFY içinde agrege olur. Bu yüzden NFY'ların protein kompozisyonlarındaki farklılıklar, spesifik yolaklardaki hücrelerin eksprese ettikleri antijenlere bağlı olabilir. İlave olarak NFY, tau gibi moleküler yapıtaşlarının post-transkripsiyonel modifikasyonundan da faklılık kazanabilir (21).



Şekil 2 : Normal bir beynin nöronlarıyla, Alzheimer'lı bir beynin nöronlarının karşılaştırılması (36)

NFY oluşumu için hiperfosforilasyon ve glikolizasyon kritik role sahiptir (ubikinitasyon, glikasyon, poliaminasyon, nitrasyon ve proteoliz gibi). Bunlar nöronlardaki hasarlı ya da kümeleşmiş proteinlerin ortadan kaldırılmasında rol oynayan mekanizmalar olabilir. Ardından NFY'ların dejenerasyonu birçok yumak proteininin modifikasyonu ya da kaybı ile sonuçlanır. Bu nedenle ekstrasellüler NFY modifiye tau ve ubikuitin içerir ve aynı zamanda glial fibriler asidik protein (GFAP) ve amiloid-beta gibi yeni proteinler kazanır (şekil.2) (37, 38, 39, 40)

Nörofibriler yumağın gelişiminde erken dönemlerde nöron içerisinde tau proteini vardır. Bu devrede çekirdek çevresinde tau proteininin birikimi immünohistokimyasal olarak gösterilebilir. Ancak gümüşleme yöntemi ile herhangi bir değişiklik izlenmez. Gelişim evresinde; tau proteinleri küçük düz filamentlerden oluşan çiftli heliksel filamentler şeklinde agregat haline gelir. Bazı tau proteinleri ubiquitine olur ve böylece ubiquitin ile immünhistokimyasal olarak gösterilebilir. Bu evrede gümüşleme yöntemi ile klasik yumaklar gösterilebilir. Geç evrede nöron ölür ve hücre artıkları lokal fagositlerce ortamdan uzaklaştırılır. Nörofibriler yumaklar AH'nda karakterisitik olmasına rağmen spesifik değildir (41).



Şekil 3 : Alzheimer hastalarında görülen mikrotübül yapısı (42).

Genetik mühendislik ile elde edilmiş farelerdeki çalışmalar primer nörotoksik oluşumun NFY'den ziyade mutant tau proteini olduğunu düşündürmektedir (43, 44). Bu nedenle hem NFY'ler hem de amiloid plakları, AH patogenezinin mediatörleri değil sonuç ürünleri olabilir. Ancak ailesel AH'deki mutasyonların tau değil amiloid β üretimini artırmaları ve AH'ye benzemeyen bazı nörodejeneratif hastalıklarda da tau'nun bulunması, AH fizyopatolojisinde tau'nun önemini tartışmaya açmaktadır (45). Bununla birlikte beyinde tau oluştuğu zaman, doğrudan nörodejenerasyona sebep olduğu gösterilmiştir (45, 46)

Tau depozitleri AH dışında, progresif supranükleer palsy (PSP), kortikobazal ganglionik dejenerasyon (KBD), Pick Hastalığı, argirofilik grain hastalığı (AGD) ve Guam'ın Parkinson-Demans kompleksi gibi diğer bazı nörodejeneratif hastalıklarda da bulunur. PSP, KBD ve AGD'de tau depozitleri hem sinir hücreleri hem de glial hücrelerde bulunurken, AH, Pick hastalığı ve Guam'ın Parkinson-Demans

kompleksinde çoğunlukla sadece sinir hücresinde bulunur. AH dışındaki hiçbir tau patolojisinde amiloid β depozitleri yoktur (27).

Alzheimer hastalığında döneme bağlı nöropatolojik değişiklikler oluşur. Konu ile ilgili olarak bir model ileri sürülmüştür. Bu modelde NFY'ların başlangıçta özellikle entorhinal bölgede lokalize olduğunu, sonra paralimbik bölgeye ve hipokampusa ve son olarak da isokortikal bölgeye (neokorteks) uzandığı bildirilmektedir. Entorhinal dönem, epizodik bellekte defisitle karakterizedir. Limbik dönemde sözel yetenekler, görsel alansal işlevler bozulur. Primer bellek ise isokortikal bölgenin tutulmasıyla bozulur (27).

2.3.2. Senil Plaklar (Amiloid plaklar)

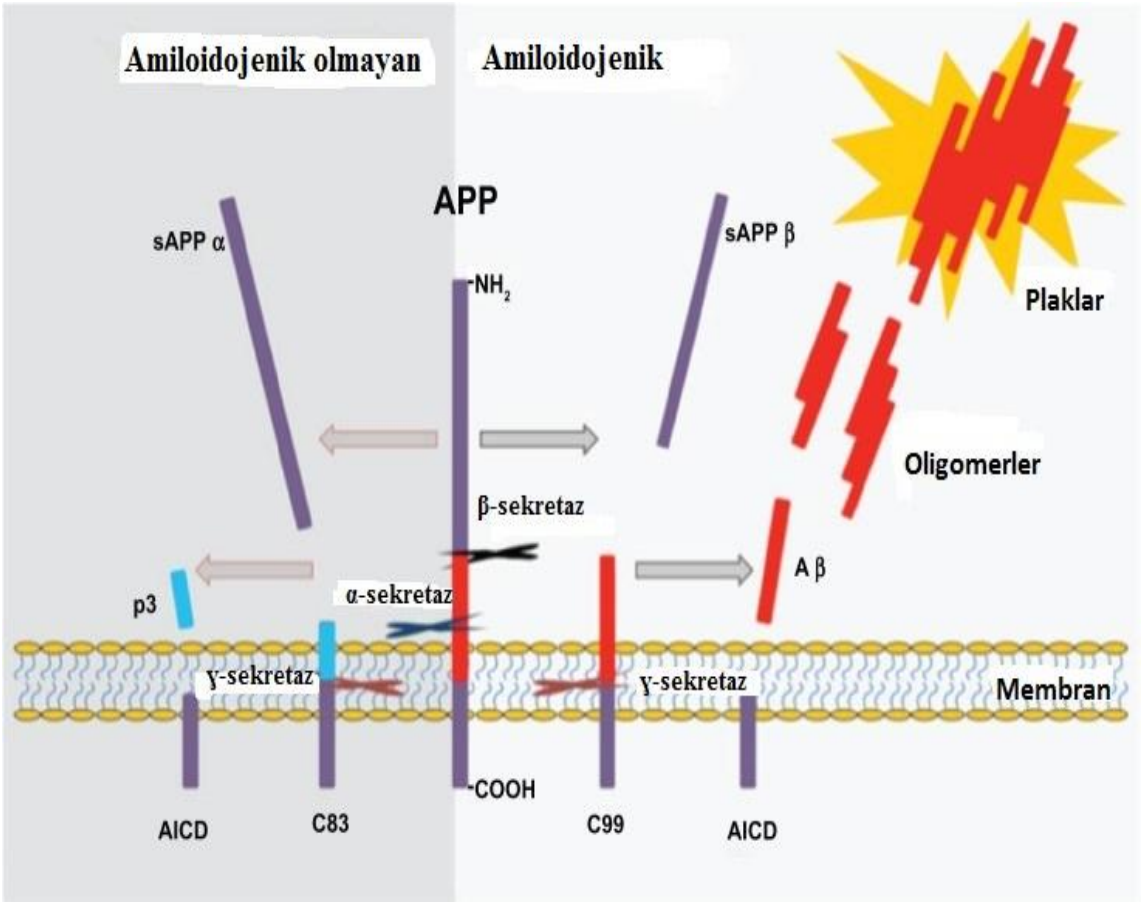
Senil amiloid plaklar (nöritik plaklar) hücre dışında bulunup, 21. Kromozomda kodlanan amiloid beta prekürsör protein (APP)'den kaynaklanan 40–42 aminoasitlik santral yerleşimli beta-amiloid peptid çekirdeği içerir. APP metabolizması genetik kontrol altındadır. 1, 14 ve 21 kromozomlardaki presenilin genleri amiloid depolanmasını artırmaktadır. İlk birikim NFY'ların tersine limbik sistemde değil, neokortekste ve gevşek (diffuse) plaklar şeklindedir. Diffüz plaklar yuvarlak veya amorf şekildedir. Sınırları belirgin değildir. Bu plaklarda aktive mikroglia ve astrositler yoktur, akson ve dendritlerde ise çok az değişiklik vardır. Bu plaklardaki amiloid henüz lokal nörotoksik etkilere sahip olduğu düşünülen beta kıvrımlı transforme olmuş amiloid değildir. Gevşek plaklarda amiloid birikimi bir yandan oksidatif gerilim ve serbest radikallerin oluşumu ve bunların etkisiyle, diğer yandan gliozis ve mikroglial aktivasyon ile meydana gelecek olan inflamatuar değişikliklerin sonucunda amiloid 26 birikimi çözünmez fibriller forma (beta-kıvrımlı) dönüşür. Daha sonra mikroglia aktive olur ve amiloidin şişmiş dejenere nöritlerle çevrelendiği "nöritik plak" oluşur. Nöritik plaklar keskin sınırlı ve yuvarlaktırlar. Klasik bir plakta ortada amiloid çekirdek, etrafında küçük mikroglia hücresi, düzinelerce dejenere nörit ve sinaps ve astrosit uzantılar vardır. Bu plaklarda dejenere akson ve dendritler de bulunur. Alzheimer hastalığında hastalığın bütün evrelerinde erken, matüre ve eski plakların birlikte görülmesi SP'larda bir turn-over olduğunu göstermektedir. Bu nedenle birim alana düşen plak dansitesi aynı olabilir. SP'lar en fazla korteksin 2. ve 3. tabakasında, en az 1. tabakasında görülür (27).

AH'deki ikinci temel nöropatolojik değişiklik olan amiloid plaklar farklı morfolojik yapılarda olabilir ancak ana bileşeni amiloid beta proteindir (Aβ). Beta amiloid 40-42 aminoasitten oluşan bir protein olup daha büyük bir transmembran protein olan, 19. kromozomda kodlanan ve işlevi tam olarak anlaşılamamış bir transmembran protein olan amiloid prekürsör protein (APP)'den proteolitik yolla oluşur (3,4). Yani, Amiloid β, APP'nin metabolizma ürünlerindendir. APP geninin yok edildiği transgenik farelerde (APP knock-out mice) anlamlı bir mortalite ya da morbidite gözlenmemiştir. APP'nin nörotrofik ve nöroprotektif aktivitesi olabilir (47).

Aβ amiloid'in normal fonksiyonu ise bilinmemektedir. Çözünebilir amiloid fibrillerinin oluşması, AH'deki ilk patolojik olay olabilir ve nöritik plak oluşmuyla sonuçlanabilir. Bütün transmembran proteinlerde olduğu gibi APP'nin de hücre içi karboksi ucu, membran içinde seyreden 28 aminoasitlik bölümü ve hücre dışı amino ucu vardır. Amiloid β, APP'nin membran içi 28 aminoasitlik bölgesini de içeren bir parçasıdır. APP bir dizi proteolitik enzimle kesilerek metabolize edilir. Bu enzimlere α, β ve γ sekretaz adları verilir. α-sekretaz APP'yi Amiloid β'nın yaklaşık olarak ortasından keser. Bu kesim sonunda çözülebilir Amiloid β yerine APP ya da sAPP adı verilen ekstraselüler yeni protein meydana gelir. Bu molekülün hücre kültürlerinde nöronlar üzerine nörotrofik olumlu etkileri gösterilmiştir. Oysa, diğer iki enzim (β ve γ-sekretazlar), APP'yi amino ucundan (β-sekretaz) veya karboksi ucundan (γ -sekretaz) ile böler ve ürün olarak amiloid β oluşur. Oluşan Amiloid β'ler 40 veya 42 aminoasit uzunluğundadır. Bunlardan daha fazla amiloidojenik olanı 42 aminoasitlik form olup ilk çöken de odur (48). Takiben amiloid β diffüz plaklar halinde agrege olur ve bunlar yoğun nöritik plaklara dönüşür (49).

Aβ amiloid'in serebral arteriollerde birikmesi "amiloid anjiopati" olarak adlandırılır ve serebral lober kanamalara sebep olabilir. AH'li olguların beyinlerinde de meningeal kan damarlarında Amiloid β tespit edilmiştir. Erken demansı olan olguların beyin dokuları ve BOS'unda artmış Amiloid β42 ve Amiloid β oligomerleri bulunur ve bu düzeyler kognitif azalma ile koreledir (50, 51). Bu bulgular, AH'deki nörotoksisitenin mediatörlerinin amiloid plakların değil, küçük amiloid β oligomerlerinin olduğu hipotezini desteklemektedir (52, 53). Öte yandan Amiloid β normalde de oluşan bir üründür (54, 55). Bu da henüz anlaşılmamış olsa da fizyolojik

bir fonksiyonu olduğunu düşündürmektedir. APP mutasyonları, ya toplam amiloid β üretimini ya da daha amiloidojenik form olan amiloid β 42 üretimini artırır (56, 57).

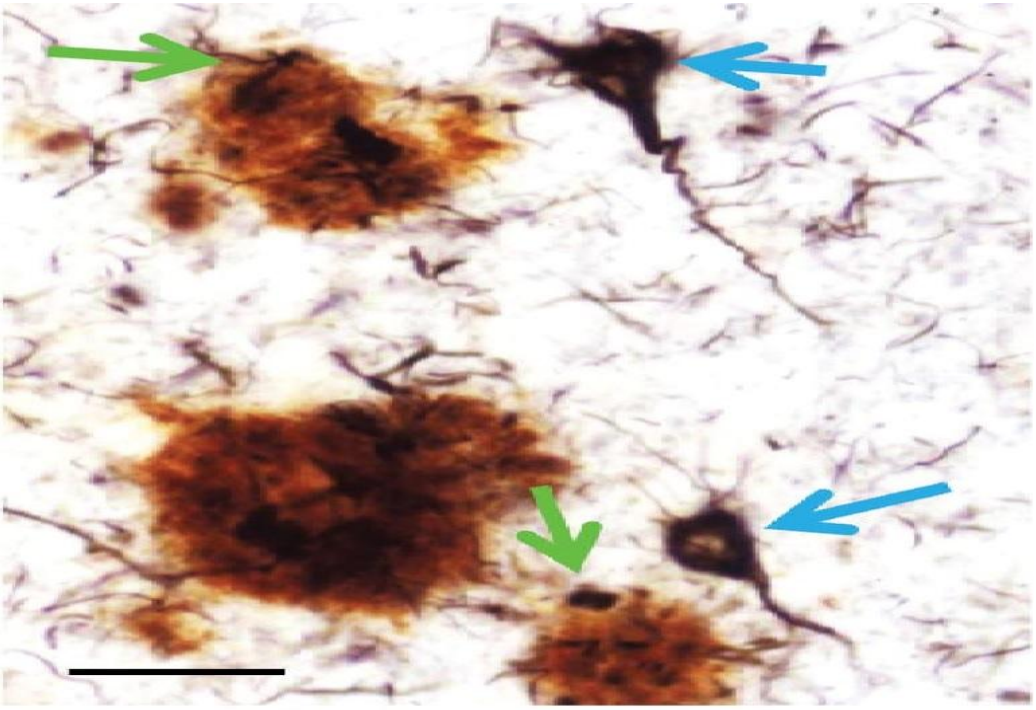


Şekil 4 : Amiloid Prekürsör protein (APP)'nin proteolitik kesimi (58).

AH'de α- sekretaz yolu baskılanırken, dengenin β ve γ-sekretaz yollarına saptığı ileri sürülmektedir. β-sekretazın son yıllarda geni de bulunarak karakterize edilmiş ve BACE (beta-site APP cleaving enzyme) adı verilmiştir. γ-sekretazın ise presenilin ile aynı şey mi, yoksa presenilinle aktive edilen henüz bilinmeyen bir proteaz mı olduğu tartışmaları sürmektedir (59).

AH'nin bilinen bütün genetik mekanizmaları amiloid β oluşumunu artırmaktadır. Genetik mekanizmalar neticesinde ya substrat olan APP miktarında artış olması ile (Down sendromu) ya da APP'den amiloid β üreten β-sekretaz veya γ-sekretaz aktivasyonuna bağlı aşırı üretim olması sebebi ile "amiloid β miktarı" artar. Oysa, tau proteini genindeki mutasyonlar AH-dışı dejenerasyonlara neden olmaktadır. Normal

bireylerde APP işlenmesinde bu 3 yol da kullanılırken, büyük ölçüde 60 yaşından itibaren, ileride demans geliştirecek olsun olmasın, herkeste β ve γ-sekretaz ürünü amiloid β temizlenemeyip plaklarda birikmeye başlar. İlk birikim NFY'lerin aksine limbik sistemde değil, neokortekste olur ve gevşek plaklar halindedir. Bunlar, lokal nörotoksik etkilere sahip olan β kıvrımlı transforme olmuş amiloid değildir. Zararsız amiloid β içeren gevşek plakların β kıvrımlı zararlı yoğun plaklara dönüşümünü açıklayan bir dizi teori vardır. Gevşek plaklarda amiloid β birikimi oksidatif gerilim ve serbest radikallerin oluşumuna, bu faktörler de plakların fiziksel değişimine yol açıyor olabilir. Öte yandan, gliozis ve mikroglial aktivasyon ile meydana gelen inflamatuar değişiklikler de plakların yoğunlaşmasına sebep olabilir. AH tedavisinde denenen serbest radikal giderici ajanların (E vitamini, selegilin, Ginkgo biloba) ve anti-inflammatuarların bu mekanizmalara etki edeceği umulmuştur. Nöritik olmayan katı plaklar demanssız beyinlerde de görülebilir. Katı plakların lokal nörotoksisitesi, hücre ölümü ve nöritik dejenerasyona neden olur. Bu aşamadan sonra dejenere nöritler içeren katı plaklara "nöritik plaklar" adı verilir. Nöritik plaklar, nöritik olmayan katı plakların aksine, yalnızca demanslı beyinlerde görülür. Nöritik plaklarda Aβ amiloid, proteoglikanlar, ApoE4, alfa1 antikimotripsin ve diğer proteinlerden oluşan merkezi bölge vardır. Nöritik bileşen, sinaptik artık ve nörofilamanlardan oluşur ve çoğu aynı zamanda tau için de pozitif immün reaksiyon gösterir. Tau (+) plaklarda nöritik bileşenin NFY içeren nöronların kalıntıları olduğu söylenebilir. Böylelikle bölgesel olarak farklı başlangıç yatkınlıklarına sahip olan NFY ve SP'ler hastalığın seyri içinde tau (+) plaklar halinde yan yana gelmiş olurlar. Nöritik plak oluştuktan sonra, inflamasyon, eksitotoksisite ve muhtemelen apoptozisten oluşan sekonder kaskad, ek hasar oluşmasına aracılık eder. Hem amnestik MCI'de (sıklıkla AH'nin prodromal evresini temsil eder) hem de ileri AH olgularında benzer lipid peroksidasyon bulgularının olması, lipid peroksidasyonunun AH'de anlamlı etiyolojik rolü olduğunu düşündürmektedir (60).



Şekil 5 : Alzheimerlı beyinin serebral korteks bölgesinin fotomikrograf görüntüsü.

İmmunohistokimyasal olarak boyanmıştır. Kırmızı-kahverengi olarak boyanan kısım beta-amiloid birikimleridir. Siyah olarak boyanan kısım mikrotübül ilişkili protein Tau'dur. Yeşil ok ile gösterilen nörofibriler yumaklar nöronlar içinde oluşurken, mavi ok ile gösterilen amiloid plaklar kabaca küresel ve ekstrasellülerdir. Amiloid plaklar içindeki bazı distrofik nöritler (sinir uzantısı) , kimyasal olarak intrasellüler nörofibriler yumaklarda (NFY) görülen anormal tau protein patolojisi içerirler (siyah). Bu amiloid plaklar "nörotik plaklar" olarak adlandırılır. (Ölçek =50µm) (61).

2.3.3. Vasküler Amiloid Birikimi (Serebral Amiloid Anjiyopati, Kongofilik Anjiopati)

Nörotik plakların central core bölgelerinde Amiloid Beta birikimine ek olarak, bu protein aynı zamanda serebral kortikal kan damarlarının duvarlarında da depositler oluşturmaya eğilimlidir. Bu protein küçük arterlerin duvarlarında ve leptomeninklerin arteriollerinde ve serebral korteks dokuları içinde birikir. Bu lezyon kırmızı Kongo boyası ile boyanarak belirlenebildiği için "Kongofilik Anjiopati" olarak da adlandırılır. Damar duvarlarındaki amiloid beta birikimi vasküler lumina tıkanmasına neden olarak

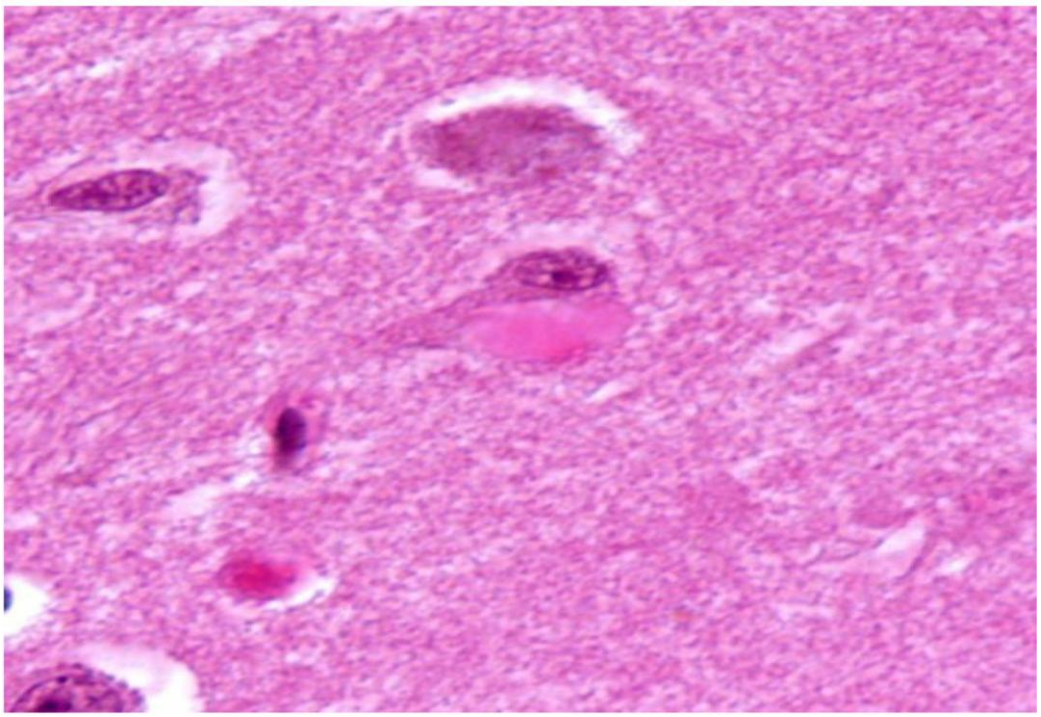
görülmez ya da bu damarların fonksiyonuna engel olur. Fakat vasküler tutulumun derecesi yaygın ise beyin dokusunda bir spontan vasküler yırtılma için eğilim vardır.

2.3.4. Granulovakoler Dejenerasyon

Granulovakuler dejenerasyon ilk kez 1911'de Simchowitz tarafından tanımlanmıştır (62). 2 ile 4 µm çapında intranöronal vakuollerin kümelerini içeren, çok az anlaşılmış bir lezyondur. Her biri 1 µm çapında küçük yoğun bazofilik granül içerir. Bu granül içeren vakuollere özellikle hipokampusta primadal nöronların perikaryal sitoplazmasında rastlanır (63).

2.3.5. Hirano Cisimcikleri

Hirano cisimcikleri intra-nöronal eosinofilik inklüzyonlardır. Hipokampusta lokalize olurlar ve 15-30 µm uzunluğundadırlar. AH'da yaşla beraber sıklıkları artar. Yapısında aktin, α-actinin, vinkulin ve tropomiyozin gösterilmesine rağmen Hirano cisimciklerinin kimyasal kompozisyonları tam olarak bilinmemektedir (64). İlk olarak amyotrofik lateral skleroz-Parkinsonizm-Demans kompleksli hastaların hipokampal dokularında tanımlanmalarına rağmen, Hirano cisimcikleri Alzheimer hastalığında, normal yaşlanmada, alkolizmde, Pick hastalığında yaygın olarak görülür (65).



Şekil 6 : Hematoksilin ve eozin boyama ile boyanmış hipokampus bölgesinde görülen piramidal nöronun perikaryonunda Hirano cisimcikleri (66).

2.3.6. Nöron Kaybı

AH'de nöron kaybı entorhinal korteksten başlar. Limbik sistemi takiben superior temporal sulkusta tespit edilir. Nöron kaybının zaman içinde ilerleme ve anatomik yatkınlık tarzı genel anlamda NFY'nin tarzına benzerdir. NFY ile nöron sayılarının arasında anlamlı negatif korelasyon vardır. Bununla birlikte nöron ölümünden tek başına NFY'ler sorumlu tutulamaz. Subkortikal çekirdekler gibi NFY'lerin bulunduğu bölgelerde mutlaka nöron kaybının olması gerekmez. Öte yandan, NFY'lerin az sayıda olduğu ya da hiç bulunmadığı bölgelerde ağır nöron kaybı görülebilir. Amiloid nörotoksisitesi ve transsinaptik dejenerasyon, hücre ölümünde rol oynadığı düşünülen diğer etkenlerdir. Hücre ölümünün bir başka mekanizması olarak da apoptozis ya da programlanmış hücre ölümü üzerinde durulmaktadır (59).

2.3.7. Sinatik Kayıp

Sinaps kaybı kortikal biyopsi örneklerinde klinik demans ağırlığıyla en yüksek korelasyon gösteren yapısal değişikliklerin başında gelir. Sinaptofizin gibi sinaptik proteinlerin miktarlarının demans ağırlığıyla korelasyonu gösterilmiştir. Sinaps kaybı daha çok NFY ve nöron ölümünün Wallerian dejenerasyon sonucu sekonder etkisi ile açıklanır. Ancak primer hasarın sinapslarda olması ve bozukluğun retrograd olarak hücre gövdesine taşınarak, NFY oluşumu ve nihayetinde hücre ölümüne yol açması da olasıdır (59).

2.3.8. Kolinerjik Kayıp

Alzheimer hastalığında amin yapısındaki santral sinir sistemi mediyatörlerinden asetilkolin, noradrenalin, dopamin ve serotonin düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı bilinmektedir (67).

Alzheimer hastalığında bazı nöromediyatörlerin ve özellikle normal fizyolojik koşullarda dikkati arttıran ve öğrenmeye yardım eden asetilkolinin (ACh) seviyelerinde değişiklikler meydana gelmektedir (68). Diğer nöromediyatörlerin düzeylerinde gözlenen farklılığın ACh düzeyindeki değişikliğe göre daha az olduğu bildirilmiştir (69).

Demansdan sorumlu tutulan Alzheimer hastalığında tahrip olan nöronal yollardan en önemlilerinden biri kolinerjik yollardır. Amiloid plakların çevresinde asetilkolinesteraz

aktivitesi artarken kolinerjik ve nonkolinerjik nöronlarda asetilkolinesteraz aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Kolinerjik defisit olması nedeniyle, Alzheimer hastalığının tedavisinde, kolinesteraz enzim inhibitörleri önemli bir yer işgal etmektedir (70). Ancak, demans tedavisinde asetilkolin prekürsörleri kolin ve lesitin kullanımının (67, 71) yeri olup olmadığı incelenmiş ve plazma kolin değeri anlamlı olarak yükseldiğinde çok nadir hastada düşük bir terapötik etki elde edilebilmiştir (72).

Asetil kolin (Ach) hipokampusu serebral kortekse bağlayan nörotransmitterdir. Kolin ve asetil koA'dan asetil transferaz enzimi ile asetil kolin oluşur. AH'de primer defisit beyindeki kolinerjik sistemin, özellikle öğrenme ve bellek ile ilgili bölgelerde, bozulmasıdır (73).

Ach sentezinden sorumlu olan kolin asetil transferaz seviyesi, hipokampus ve neokortekste %58-90 azalmıştır. Asetil kolin presinaptik nöronlardaki veziküllerden salınır ve postsinaptik reseptörlere bağlanır. Sinaptik aralıkta difüzyonla ilerleyen Ach postsinaptik membranda nikotinik reseptörlere bağlanarak doğrudan, muskarinik reseptörlere bağlanarak G-proteini ilişkili ikincil mesajcılar üzerinden etkisini gösterir. Nikotinik etkilerin hücrenin uyarılabilirliğini artırarak dikkat tonusunun sağlanmasında rol oynadığı, muskarinik etkilerin ise kalıcı sinaptik değişikliklerle yeni bilginin depolanması şeklindeki nöroplastisite mekanizmalarının unsuru olduğu bilinmektedir. Hem nikotinik, hem de muskarinik stimülasyon kaybının Aβ oluşumunun artması ve Aβ nörotoksisitesinin artması şeklinde in vitro etkileri gösterilmiş, Aβ'nın sentez, salınım ve postsinaptik etkinliğini azaltabileceği de ortaya konmuştur. Asetil kolin esteraz (AchE) enzimi Ach'yi "asetat" ve "kolin"e hidrolize ederek Ach'nin post-sinaptik aktivitesini durdurur (74).

Kolinesterazların iki formu bulunur: asetil kolinesteraz (daha çok beyinde bulunur) ve butiril kolinesteraz (daha çok periferde bulunur). Buna göre, AH'de kolinerjik kaybın kendisi de amiloid plak oluşumuna katkıda bulunan özelliklerdendir. Aβ da muhtemelen kolinerjik kaybı artırarak bir kısır döngü ortaya çıkarmaktadır. Östrojen limbik nöronlarda sinaptogeneze katkıda bulunup nöroplastisitede rol oynarken, Meynert'te Ach üretimine de katkıda bulunur (74).

Ek olarak, bazal ön beyinde kolinerjik nöron dejenerasyonu olur. Bu nedenle, Ach üretiminde ilerleyici bir düşüş olur. Bütün korteksin kolinerjik innervasyonu temel limbik yapılardan biri olan bazal ön beyindeki Meynert çekirdeğinden sağlanır. Bu

innervasyon dikkat ve bellek işlevlerinin optimal sürdürülebilmesi açısından büyük önem taşır. Tau hiperfosforilazasyonun ilk görüldüğü alanlardan biri de Meynert çekirdeğidir. AH'de limbik alanlardaki yaygın NFY formasyonu ve nöron kaybı Meynert çekirdeğini de etkiler. Kolinerjik aksonların kaybı diğer patolojik özellikler gibi bir bölgesel yatkınlık gösterir. Lokal internöronlardan sağlanan striatal kolinerjik innervasyon ve talamusun beyin sapı pedinkülopontin çekirdek kaynaklı kolinerjik innervasyonu etkilenmezken, Meynert kaynaklı kolinerjik innervasyonda etkilenir. Kortekste en fazla etkilenen bölgeler limbik ve asosiasyon korteksleri iken, primer sensoryel ve motor korteksler göreli olarak salim kalırlar (74).

Alzheimer hastalığında ACh sentezinde meydana gelen düşüşün kolinasetiltransferaz (CAT) enziminin miktar ve işlevlerinin ve kolin geri alımının azalmasına, kolinerjik nöron ve aksonlarda oluşan hasarlara, korteks ve hipokampusa projekte olan kolinerjik nöronlarda meydana gelen kayıplara bağlı olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca AH'nda öğrenme ve bellek üzerine etkileri bilinen nikotinik reseptörlerde ve presinaptik M2 muskarinik reseptörlerde kayıpların gözlendiği, postsinaptik M1 muskarinik reseptörlerin yoğunluğunun ise değişmediği bildirilmiştir (75).

Alzheimer hastalığında meydana gelen kolinerjik kaybın, hastalarda gözlenen depresyon, ajitasyon, anksiyete, psikoz gibi çeşitli davranışsal ve psikiyatrik belirtilerle de ilişkili olduğu rapor edilmiştir (76). Söz konusu belirtilerin ortaya çıkmasında kolinerjik disfonksiyonun yanı sıra serotonerjik ve dopaminerjik nörotransmisyonda meydana gelen düzensizliklerin ve nöron kayıplarının da etkili olduğu düşünülmektedir (76, 77).

2.4. Risk Faktörleri

Yaş, ailede demans öyküsünün varlığı, kadın cinsiyet, Down Sendromu, 1, 14 ve 21. kromozomlarda spesifik mutasyonların varlığı, apolipoprotein E-4 genotipi ve kafa travması AH için bilinen risk faktörleridir (78,79,80,81). Vaskuler demans için ise inme için varolan risk faktörleri geçerlidir; hipertansiyon, hiperlipidemi, diabetus mellitus, sigara, yas, erkek cinsiyeti. Bu faktörlerden korunma ve değiştirilebilir olanların tedavisinin sağlanmasının, Vaskuler demans için olduğu kadar AH için de yararlı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yüksek eğitim seviyesi, fiziksel aktivite, NSAID (Non steroidal antienflamatuar) ilaç kullanımı, östrojen, statin, E vitamini gibi antioksidan

ilaçlar ve orta derecede alkol tüketiminin AH'da risk azalmasına neden olduğu bazı çalışmalarda belirtilmişse de bu konuda henüz yeterli kanıt yoktur (82). Tüm risk faktörleri Tablo-1'de gösterilmistir.

Tablo 1: Alzheimer Hastalığı Olası Risk Faktörleri

1-İleri yaş	13-Hipertansiyon
2-Aile hikayesi	14-Homosistein
3-Apolipoprotein E4 alleli	15-Diyabet
4-Down sendromu	16-Vitamin B12 eksikliği
5-Düşük eğitim seviyesi	17-Dislipidemiler
6-Sık kafa travması	18- Hipotiroidizm
7-Kadın cinsiyet	19-Enfeksiyonlar
8-Nörotoksinler, sigara, alkol	20-Serum demir yüksekliği
9-Serebrovasküler hastalık	21-Ferritin yüksekliği
10-Estrojen kullanımı koruyucu	22-C-reaktif protein yüksekliği
11-NSAID ilaçlar koruyucu olabilir	23-Folat eksikliği
12-Miyokard infarktüsü	24-Menopoz

Hastada bu belirti ve bulguların başlama zamanı, baskın bulgunun hangisi olduğu, eşlik eden nörolojik ve psikiyatrik problemler ve hastalık seyrine göre hangi tip demansın varolduğu teşhisine varılabilir.

Yaş, kadın cinsiyet ve aile öyküsü dışında kesinleşmiş risk faktörü yoktur. Yaşlanmayla kognitif kapasitenin nasıl bozulmaya başladığı ile ilgili yapılan ''Oregon Brain Aging'' çalışmasında yaş, hipokampal volüm, mantıksal düşünme kapasitesi, eğitim seviyesi, Apo-E4 varlığı, yürüme zamanının gecikmesi kognitif kapasite üzerine etkili risk faktörleri olarak saptanmıştır (83,84). Yaslanmayla geri çağırma, kayıt etme ve yakın hafıza da yavaşlamalar, algılama ve psikomotor performansta azalma olur.

Yaşlanmakla erkeklerde algılama ve kelime hafızası etkilenirken, kadınlarda dikkat ile ilgili alanlarda yaşa bağlı değişiklikler olduğu bildirilmiştir (85). Düşük eğitim düzeyi bu yaşa bağlı değişiklikleri daha da belirginleştirir (86). Kisinin premorbid kisilik özellikleri de AH gelişimini belirleyebilir.

Yaşlanmaya bağlı değişikliklerin belirgin olduğu kişilerde yüksek intraselüler adezyon molekül (ICAM)-1 ve interleukin(IL)-6 ekspresyonunun varlığı hafıza değişikliklerinin immunolojik bir temeli olabileceğini düşündürmektedir (87).

2.5. Alzheimer Hastalığında Etkili Olabilecek Genetik Risk Faktörleri

AH'de genetik faktörler büyük oranda hastalığın gelişimi için çevresel faktörlere bir yatkınlık zemini oluşturan risk faktörü niteliğindedir. Yani genetik ve çevresel faktörlerin karmaşık bir etkileşimi ile AH oluşur. AH'li olguların çoğu sporadiktir. Bununla birlikte, tüm Alzheimer olgularının %1'inden azı kalıtsal olma (mendelien otomozal dominant geçiş) özelliği taşır (88).

Otozomal dominant AH tipik olarak erken yani 65 yaşından önce başlar. Başlangıç yaşı 20'li yaşlara kadar inebilir. AH, Mendelien geçiş açısından da heterojenite gösteren polijenik/multiallelik bir hastalıktır. Yani birden fazla kromozomdaki gen lokuslarının çok sayıda farklı mutasyonları aynı hastalığa yol açar.

Tablo 2 : Ailevi Alzheimer Hastalığı Genleri

Kromozom	Gen Ürünü	Başlangıç Yaşı	Etkisi
21	APP mutasyonları	erken	Aβ salınımımda artış
14	Presenilin 1 mutasyonları	erken	Aβ42 salınımımda artış
1	Presenilin 2 mutasyonları	erken	Aβ42 salınımımda artış
19	Apolipoprotein E4 (polimorfizm)	geç	Aβ'nın amiloid plaklarda ve vasküler amiloid çökeltilerde artması, AH'nın daha erken başlangıcı

Otozomal dominant geçişten sorumlu şimdiye kadar 3 ayrı gen bulunmuştur: amiloid prekürsör protein (APP) geni (21. kromozom), presenilin 1 (PSEN1) geni (14.

kromozom) ve presenilin 2 (PSEN2) geni (1. kromozom) (89,90,91). Bu genlerin kodladığı üç protein de normal işlevleri çok iyi bilinmeyen, nöronal plastisitede rol oynadıkları öne sürülen trasmembran proteinlerdir. Söz konusu genlerdeki mutasyonların hepsi APP'den metabolize edilen Aβ proteininin atılamayarak amiloid plaklar içinde biriken daha uzun şeklinin (Aβ42) üretiminin artışına yol açar. APP geni mutasyonu taşıyan aileler çok az sayıda olsa da, amiloid metabolizması üzerinden hastalığın patogenezine ışık tutabilmiş ve Down sendromu ile AH arasındaki ilişkiyi de aydınlatmıştır. Bilindiği gibi Down sendromlular 21. Kromozomun üç kopyasını taşırlar (Trizomi 21). Bu hastalar 30'lu yaşlardan itibaren daima AH'nin nöropatolojik değişikliklerini göstermeye başlarlar. Down sendromlu hastalar fazla kopya nedeniyle fazla miktarda APP üretirler. APP genindeki mutasyonlar ailesel AH'lerin az bir kısmının sebebidir.

PSEN1'deki mutasyonlar ailesel AH'lerin en sık sebebidir (88). PSEN1 ve PSEN2 genlerinde 160'dan fazla mutasyon tanımlanmıştır. Presenilinler APP'nin γ-sekretaz ile bölünmesinden sorumlu atipik aspartil proteaz komplekslerinin merkezi bileşenleridir. Presenilin mutasyonları amiloid β42/amiloid β40 oranını artırırlar. Bu değişim muhtemelen fonksiyondaki değişim neticesiyle oluşmaktadır (92).

PSEN1 mutasyonlarının preklinik evresinde amiloid β 42 depozisyonu erken bir bulgudur (93,94). Transgenik hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, γ-sekretaz aktivitesinde azalmanın, amiloid β depozitleri olmaksızın tau hiperfosforilasyonuna yol açıyor olabileceğini düşündürmüştür (95). Presenilinlerin aksine β-sekretaz ile aynı olan aspartil proteaz BACE1'de AH'ye sebep olan bir mutasyon tanımlanmamıştır (96). Buna göre, ailesel AH olgularında yapılan araştırmalar, amiloid kaskadı hipotezinin temelini oluşturmakta, amiloid β 42'deki artışın tüm AH olgularından sorumlu olduğunu, NFY oluşumu, nöron dejenerasyonunu ve demansın amiloid β 42 oluşumuna bağlı ve onu takip ederek olduğunu düşündürmektedir (88, 97).

Şimdiye kadar tanımlanan mutasyonlar ailesel AH'nın %50'si kadarını oluştururlar. Geri kalan %50 için henüz bulunmayan genler ve otozomal dominant olmayan geçiş biçimleri ileri sürülmektedir (59).

Apolipoprotein E2'nin e4 alleli sporadik AH'lerde ortaya konmuş olan tek genetik risk faktörüdür (98). APOE (19.kromozom) ve α2-makroglobulin (12. kromozom) genleri doğrudan belirleyiciler olarak değil ancak sporadik AH'de risk

faktörleri olarak ortaya konmuştur. Kolesterolün taşınmasında rol oynayan bir enzim olan APOE üç ayrı allelik forma sahiptir: e2, e3 ve e4. Normal populasyonda en sık e3 (%70) görülürken, e4'ün sıklığı %20'dir. AH'de e4 sıklığı ikiye katlanarak %40'a ulaşır. e4, AH riskini doza bağlı bir artırır ve hastalık başlangıç yaşını düşürür. e4 heterozigotlarda (e2-e4 ve e3-e4) AH riski, e4 taşımayanlara göre 2 ile misli artmıştır. Öte yandan e4 homozigotlarında ise, hastalık e4 heterozigotlara göre daha erken yaşta başlar. Ayrıca, APP mutasyonlu ailesel AH olgularında e4 varlığı hastalık başlangıç yaşını erkene alır. e4'ün AH patogenezindeki rolü tam anlamıyla ortaya konamamıştır. Ancak hem amiloid β'nin patolojik şaperonu olarak "nöritik plak oluşumunda" hem de tau proteininin patolojik hiperfosforilasyonuna katkıda bulunarak "nörofibriler yumak oluşumunda" rol oynadığına ilişkin kanıtlar vardır. APOE'nin nöronal plastisite, rejenerasyon ve onarımda rol oynadığı, bu işlevlerde e4'ün, e2 ve e3'ü göre daha başarısız olduğuna ilişkin kanıtlar da mevcuttur. APOE geni olmayan (knock-out) farelerde sinaptik yoğunlukta yaşa bağlı bir azalma görülür. Kafa travması, serebrovasküler hastalık gibi beyin hasarlarından sonra e4 taşıyıcıları daha kötü prognoz gösterir. ApoE4 varlığı, AH patolojisine katkıda bulabilecek bir dizi faktör (düşük glukoz kullanımı, mitokondriyel anomaliler ve hücre iskelet disfonksiyonları gibi) ile ilişkilidir (99).

Pek çok başka polimorfizm de AH gelişim riskini etkileyebilir. Yeni bir gen olan sortilin-ilişkili reseptör 1 (SORL1) genindeki farklılıklar AH ile ilişkili bulunmuştur (100). SORL1 proteini APP metabolizmasında rol oynuyor olabilir. SORL1'in ekspresyonunda azalmanın APP'yi β-sekretaz kompleksine kaydırdığı ve böylelikle Amiloid β üretimini arttırdığı öne sürülmektedir (101).

AH riskini arttırdığı en son öne sürülen gen kalsiyum homeostazı modülatörü 1 (CALHM1) geni olup, 2008 yılında Dreses-Werringloer ve ark. tarafından tanımlanmştır (101). Dreses-Werringloer ve ark., AH'de öncelikle etkilenen bölgenin hipokampus olmasından yola çıkarak, özellikle hipokampusta eksprese edilen ve AH gelişimi için riskle ilişkilendirilmiş kromozomal bölgelerde bulunan genleri araştırmışlardır (102). Hem bu koşulları karşılayan, hem de ekstrasellüler amiloid beta seviyelerini module eden, böylelikle AH'de karakteristik olan amiloid β agregasyonu ile ilişkili olabilecek, bir gen olarak CALHM1 genini tanımlamışlardır. CALHM1 geninin kalsiyum homeostazında rol aldığı düşünülmektedir. CALHM1 proteini hücre

membranı ve hücre içi organellerden endoplazmik retikulumun membranında bulunur. Artmış CALHM1 proteini ekspresyonunun hücreye kalsiyum girişini arttırdığı, böylelikle sitoplazmik kalsiyum miktarını arttırdığını, bunların sonucunda APP işlenmesi sırasında daha düşük seviyelerde amiloid β oluşumu ile sonuçlandığını bulmuşlardır. Ben gende tek bir nükleotid polimorfizminin protein seviyesinde 86. aminoasit olan prolinin lösin ile yer değiştirmesine sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Normal olgularda, lösin bulunan proteini sentezleyen gen versiyonu %20 sıklığında bulunurken, AH'li hastalarda yaklaşık 2 kat daha sık bulunduğu tespit edilmiştir. Lösin alleli varlığının AH gelişme riskini %40 arttırdığını öne sürmüşlerdir. Araştırmacılar lösin allelinin CALHM1 fonksiyonunda bozulmaya yol açarak kalsiyum geçirgenliğini azalttığını ve ekstrasellüler amiloid β miktarında artışa sebep olduğunu göstermişlerdir. Literatürde daha önce yayınlanmış değişik araştırmalarda, intrasellüler kalsiyum seviyelerinin APP metabolizmasını etkilediği gösterilmiştir. Örneğin, SERCA (endoplazmik retikulum membranında yer alan bir kalsiyum kanalı)'nın inhibisyonunun sitoplazmik kalsiyum seviyesini attırdığı ve amiloid beta seviyesini azalttığı gösterilmiştir (103). Benzer şekilde PSEN genlerinin fonksiyon kaybı neticesinde sitoplazmik kalsiyum seviyelerinin etkilendiği de gösterilmiştir (104). PSEN1 ve PSEN2 genlerindeki mutasyonların kalsiyum girişini azaltarak, daha az plak oluşumu ile ilişkilendirilen amiloid β 40 yerine daha fazla plak oluşumu ile ilişkilendirilen amiloid β 42 'nin seviyelerinde artışa sebep olduğu gösterilmiştir (91,105). Tüm bu bulgulara rağmen, CALHM1'in "AH geni" olarak tanımlanması için henüz çok erkendir (106). Literatürde özellikle son 30 yılda, AH gelişim riskini etkileyebildiği öne sürülen çok sayıda "yeni AH genleri" öne sürülmüştür. Ancak benzer çalışmaların büyük çoğunluğunun bulguları zaman içinde benzer araştırmalarla konfirme edilememiştir (102).

2.6. Alzheimer Hastalığınının Tedavisi

Alzheimer Hastalığının (AH) primer tedavisi, hastalığın hafıza ve bilişsel semptomlarına odaklanmış olup; semptomatiktir. İkincil tedavisi ise hastalığın seyri sırasında ortaya çıkan depresyon, sanrılar, bunaltı, ajitasyon ve uyku bozukluğu gibi bulguların giderilmesini amaçlayıp, hastanın yaşam kalitesini artırıcı, bakımını destekleyici özelliktedir. Primer demans tedavisinde amaç hastalığın bilişsel semptomlarında iyilik, olmazsa hastalığın gidişatını durdurmak; hiç olmazsa progresini

yavaşlatmaktır. Primer AH tedavisinde kullanılan ya da geliştirilen tedavi stratejileri şu ana başlıklarda incelenebilir:

- Transmitter (özellikle kolinerjik) yerine koyma tedavisi
- Antioksidatif tedavi
- Antiinflamatuvar ilaçlar
- Nörotrofik faktörler
- Östrojen tedavisi

2.6.1. Kolinerjik Yerine Koyma Tedavisi

Kolinerjik hipoteze göre, AH'da bilişsel işlevlerin ve özellikle bellek bozukluğunun azalmış kolinerjik transmisyondan kaynaklandığı öngörülmektedir. Antikolinerjik ilaçların bellek bozukluğuna neden olması, AH'da asetilkolin transferaz enzim aktivitesinin düşük bulanması ve AH'da nöron kaybının en belirgin olarak kolinerjik nöronlarda görülmesi bu hipotezi desteklemektedir. Gerçekten de AH'da en fazla yararlı bulunan ve üzerinde çalışılan ilaçlar kolinerjik ilaçlardır. Kolinerjik ilaçlardan günümüzde en fazla kullanılan ya da denenen ilaçlar ise kolinesteraz inhibitörleridir (107). Kolinesteraz inhibitörleri, asetilkolinin intrasinaptik yıkılımını geciktirmekte ve etkisini uzatmaktadır. Kolinesteraz inhibitörlerinin etkinliği sağlam kolinerjik nöronların varlığına bağlıdır, bu sebeple tedaviye mümkün olduğunca erken başlanmalıdır ve tedavi aralıksız sürdürülmelidir (108,109).

Asetilkolin (Ach) beyinin bellek ile ilgili bölgelerinde önemli bir nörotransmiterdir. Alzheimer hastalığında Ach azalması bellek bozukluğu ile koreledir. Kolinerjik fonksiyonda düzelme sağlayan ajanlar kognitif fonksiyonlarda stabilizasyon veya düzelme sağlayabilirler. Ancak bu tedaviler hastalığın fizyopatolojik ilerlemesini durdurmaz. Bu amaçla kullanılan temel ilaçlar asetilkolinesteraz inhibitörleridir. Kolinesteraz inhibitörleri erken ve orta evre Alzheimer hastalığı tedavisinde ruhsatlandırılmıstır ve su anda Alzheimer hastalığı tedavisinde standart ilaçlardır. Donepezil, rivastigmin ve galantamine ülkemizde kullanımdadır (109).

2.6.2. Antioksidatif Tedavi

Antioksidanlar amiloid beta proteinine karşı serbest radikal oluşumunu azaltır. Serbest radikal birikimi ve lipid peroksidasyonu ile nöron hasarı gerçeklesir. Antioksidan ilaçlar amiloid proteinin toksisitesini azaltır. Serbest radikal antagonistleri (propentofilin, pentoksifilin, ginkgobiloba ekstreleri), l-carnitine (mitokondrilerde uzun zincirli yağ asitlerinin birikimini azaltır), vitamin E ve vitamin C bu amaçla

kullanılabilir (110,111,112,113,114,115). Vitamin E'nin Alzheimer hastalığı progresyonunu azalttığı bildirilmistir. Vitamin E ve C'nin vasküler demansta etkileri daha belirgindir. Vitamin E kullananlarda bakım evine yatışta anlamlı gecikme ve günlük yasam aktiveteleri kayıplarında azalma olduğu yayınlanmıştır (111,112).

2001 yılı verilerine göre 48 değisik ajanın Alzheimer hastalığında kognitif kaybı engellemede etkinliğini arastırmaya yönelik çalısmalar yapılmıstır. Bunlardan kolinesteraz inhibitörleri, memantine, E vitamini ve kısmen gingko bilolabalar dısındakilerin etkinlikleri konusunda yeterli verilere ulasılamamıstır (108,109,116). Üzerinde en çok çalısılan ilaç gruplarının basında da bitkisel tedaviler gelmektedir. Günümüzde bilimsel veri desteği olmasa da birçok kisi Alzheimer hastalığından korunmak amacıyla bitkisel ürünleri kullanmaktadır. Bitkisel ürünlerden 'ginkgo biloba'yı diğerlerinden ayırmak gerekmektedir. Zira gingko bilobanın plaseboya oranla Alzheimer hastalığında kognitif fonksiyonlar üzerine etkin olduğunu gösteren bazı çalısmalar mevcuttur (116). Ancak yapılan tüm çalısmalarda benzer pozitif etki saptanamamıstır. Alzheimer hastalığından korunmak için gingko bilobaların primer korunmada kullanımı ile ilgili çalısmalar halen devam etmektedir (109,113,116). Ancak yeterli kanıtlar yoktur.

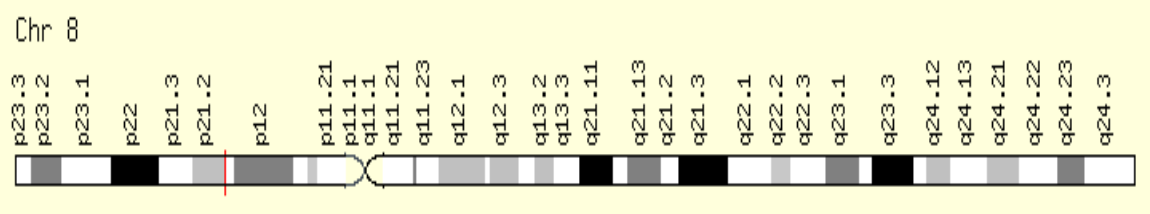
2.6.3. Antiinflamatuvar İlaçlar

Amiloid proteinine bağlı hasarın inflamasyon aracılığı ile olduğu düşünülmektedir. Nörodejenerasyona yol açan inflamatuar mekanizmalar kompleman aktivasyonu, mitokondri aktivasyonu, sitokin reaksiyonları şeklindedir. Nörotik plaklar beta amiloidden ve bir çok inflamasyon ürünündan oluşmaktadaır. Bu inflamatuar mediatörler amiloid plağı çözünmez ve kompakt bir hale getirirler. CRP ve antikimotripsin gibi akut faz reaktanları Alzheimer hastalarında yüksek bulunmuştur. Antikimotripsin amiloid proteinin en önemli bileşenidir. Steroid ya da Nonsteroid dışı antiinflamatuar ilaç kullananlarda Alzheimer hastalığının daha az görüldüğü gösterilmistir (117,118). Indometasin bu amaçla önceki yıllarda sıklıkla demans tedavisinde kullanılmıstır, ancak belirgin yan etkileri nedeni ile kullanımı azalmıştır.

2.7. CLU

Clusterin 8 kromozomda p21.1 lokusuda konumlanır. Apolipoprotein J olarak da bilinir.

Alzheimer'dan kansere birçok hastalıkta rol alabileceği düşünülmektedir (9,129,130,131).

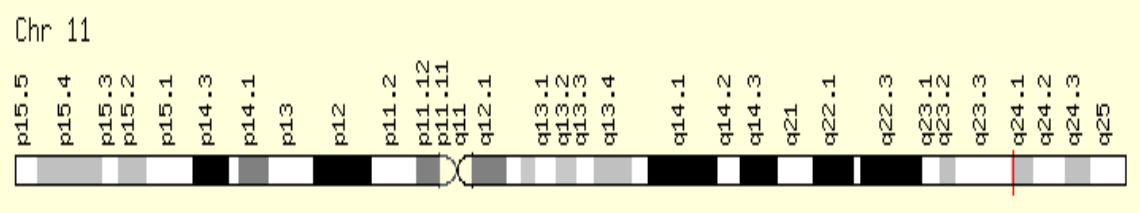


Şekil 7: Kromozom 8 ve CLU geninin lokasyonu

Clusterinin Alzheimerdaki rolü kesin olarak bilinmemesine rağmen, Alzheimer ile ilişkisine dair pek çok kanıt vardır: Clusterin mRNA ve protein miktarını AH'da arttığı gösterilmiştir (122); clusterin amiloid plakların bir komponentidir (131,132,133); clusterin apoptoz ve inflamasyon gibi Alzheimer ilişkili yolakları düzenler (9,10,11) ve clusterin amilod-beta agregasyonunu ve/veya atılımını değiştirmek için amiloid-beta şaperon olarak rol alır (7,8).

2.8. SORL1

Bu gen 11. kromozomun q24.1 lokusunda konumlanır.



Şekil 8: Kromozom 11 ve SORL1 geninin lokasyonu

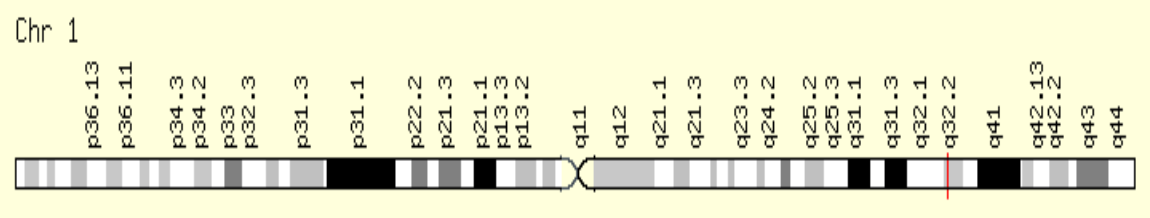
SORL1 başlıca korteks, hipokampus, serebellum ve spinal cord bölgelerindeki nöronlarda; çok az miktarda da böbrek ve diğer organlarda eksprese edilen bir glikoproteindir (134).

Bu protein vakuolar sorting (Vps) 10p domain, düşük yoğunluklu lipoprotein reseptör (LDLR) sınıf A ve fibronektin domain ile yüksek oranda korunmuş tip 1 reseptördür.

LDRL domain, APOE için bağlanma bölgesi sağlar ve fibronektin domain nöronal sitoiskeletin stabilitesinde rol alır. Beyinde SORL1 protein özellikle trans-golgi ve endozomlar içerindeki nöronal transport sürecinde rol alır. Endojen APP ve SORL1 hücre içinde fizyolojik şartlarda birbirleriyle fiziksel olarak etkileşime girer ve SORL1 APP'nin hücre içi trafiğinin bazı bölümlerini düzenler (12,13). Yeni kanıtlar SORL1'in "regülatör kapı tutucu" olarak görev yapıp, APP'nin en son varış noktasını belirlediğini göstermiştir (13). Yeni sentez edilen APP, post golgi bölümünde ya da plazma membranında α-sekretaz ile kesilir ve solübl APP (sAPPα) oluşur. Alternatif yol olarak, APP plazma membranından içeri alınır, sonra β-sekretaz ve ɣ-sekretaz işlemi ile sAPPβ ve amiloid-beta peptidi oluşturmak için geç endozoma ulaşır. SORL1 efektif olarak APP ile bağlanırsa sAPPβ ve amiloid β miktarında bir azalma olur. SORL1 defektli farelerde, sAPPβ ve Aβ miktarlarının arttığı bulunmuştur (135). Böylece SORL1 APP'yi β-sekteraz aktivitesinden korur ve alternatif yolaklara yönlendirir. Sonuç olarak SORL1 aktivitesi yokluğunda, APP amiloidojenik yolaklara yönelir (14).

2.9. CR1

Geç başlangıçlı AH'dan sorumlu olabileceği düşünülen bir gendir. 1.kromozun q32 lokusunda konumlanır. Komplement kaskadında rol oynar. CR1 (komplement reseptör 1, CD35) C3b vr C4b komplement fragmentleri için bir membran reseptörüdür ve özellikle dolaşım sisteminde eritrositlerde, lökositlerde olmak üzere farklı hücre tiplerinde eksprese olur (15).



Şekil 9 : Kromozom 1 ve CR1 geninin lokasyonu

CR1, C3b ve C4b ile kaplı patojen ve immün komplekslerin yol edilmesinde önemli rol oynar. Eritrositelerdeki CR1 ekspresyon seviyeleri farklıdır ve CR1 farklı moleküler ağırlıklara sahip olan polimorfik bir moleküldür.

Çeşitli otoimmün ve enfeksiyon hastalıklarının patogenez ve gelişiminde önemli rol oynar. Çözünebilen CR1 (sCR1)'in terapötik potansiyeli, şu anda pek çok araştırmaya konu olmaktadır (136).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı

Bu çalışmada iki örnek grubu kullanılmıştır. Herhangi bir nörolojik hastalık ve Alzheimer hastalığı hikayesi olmayan sağlıklı bireyler kontrol grubuna alınmıştır. İkinci grup İstanbul Darülaceze Müdürlüğü Kayışdağı Tesisleri'nde ikamet eden Alzheimer hastalığı tanısı koyulmuş bireylerden oluşturulmuştur. CLU (rs202081077), SORL1 (rs641120), CR1 (rs202213311) gen polimorfizmlerinin incelenmesi için 68 hasta, 75 kontrol kullanılmıştır.

Kontrol ve hasta seçiminde izlenmiş kriterler aşağıda özetlenmiştir.

Kontrol Grubu: Herhangi bir nörolojik hastalığı bulgusu, hipertansiyon, lipid anomalisi, metabolik rahatsızlık (DM, böbrek yetersizliği, KC yetersizliği vs.), ailede bilinen Alzheimer hastalığı, nörolojik hastalık bulgusu olmayanlar kontrol grubuna alınmıştır.

Alzheimer Hastalığı: Alzheimer hastalığı tanısı Ulusal ve Nörolojik ve İletişim Hastalıkları Enstitüsü ve İnme-Alzheimer Hastalığı ve İlişkili Hastalıklar Derneği (NINCDS-ADRDA) (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) kriterlerine göre konulmuştur. Tanı için ayrıca hastalara mini-mental test uygulaması yapılmıştır.

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Agaroz (Promega MBG),,
- tris baz (Sigma T-1503),
- borik asit (Sigma B-6768),
- EDTA (dihidrat) (Merck K-90602121),
- etidyum bromür (Sigma E-8751),
- 6X DNA yükleme boyası (Fermentas),

- 50 bç DNA marker (Fermentas),
- proteinaz K (Sigma),
- Taq PCR Master Mix (Biomatik) (2X)
- primerler (Integrated DNA Technologies) (0,2 μM),
- restriksiyon enzimleri (BioLabs),
- DNA izolasyon kiti (Invitrogen),
- Sodyum asetat,
- %95'lik etanol,
- %70'lik etanol,
- İnvitek PZR Rapid Kit,
- BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit.

3.3. Kullanılan Gereçler

Thermal Cycler cihazı (Applied Biosystems), Otoklav, Etüv, ısı bloğu, Dijital Görüntüleme sistemi, Elektroforez için güç kaynağı (E-C Apparatus Corporation), Elektroforez Sistemi (E-C 350 MIDICELL), Hassas terazi (Mettler), Polaroid kamera (Kodak), Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (Elektromag), Mikrodalga fırın (Philco), Mikrosantrifüj (VWR), pH metre (Hanna), Pipet takımı (Eppendorf), nanodrop ND-1000 spectrophotometer, UV transilluminator (Stratagene UV/White light Transilluminator), ABI PRİSM 9700, ABI PRISM 3100.

3.4. Kullanılan Çözeltiler

3.4.1. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltiler

3.4.1.1. Etidyum Bromür (10 mg/ml)

10 gram etidyum bromür tartılarak steril ddH2O ile 10 ml'ye tamamlandı.

3.4.1.2. Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5x)

20 gr Ficoll 400, 1 gr SDS, 0,2 ml 0,5 molarlık EDTA, 1 ml 1 molarlık Tris (pH 8,0), 200 mg Brom fenol mavisi, 200 mg Ksilen siyanol tartılarak steril ddH2O ile 100 ml'ye tamamlanır. Oda sıcaklığında saklanır.

3.4.1.3. 50x Tris - Asetik Asit - Etilen Diamin Tetra Asetat (TAE) Tamponu

242 gram Tris baz tartılarak bir behere alınır. Üzerine 57,1 ml Glasiyal asetik asit ve 100 ml 0,5 molarlık EDTA ve 800 ml ddH2O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürülür. Balon jojeye aktarılarak, 1 litreye tamamlanır. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilir ve oda sıcaklığında saklanır.

3.4.1.4. 5X Tris-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetat (TBE) Tamponu

54 gr Tris baz ve 27,5 gr Borik asit tartılarak bir beher içine aktarılır. Üzerine 20 ml 0,5 molarlık EDTA (pH'sı 8,0) ve 800 ml ddH_2O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürülür. Çözelti balon jojeye aktarılarak, 1 lt'ye tamamlanır ve 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilir. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığında saklanır.

3.4.2. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için alınan kan örneği ticari kitteki prosedüre göre işleme tabi tutularak DNA izole edilmiştir (Invitrogen, K182001).

3.4.2.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Kit İçeriği ve Hazırlık Aşaması

Invitrogen Purelink Genomic DNA Kit içeriği; RNase, Proteinaz K, PureLink Genomik Liziz/Bağlama solüsyonu, Elution Buffer, Yıkama Solüsyonu 1 ve Yıkama Solüsyonu 2, PureLink Koleksiyon tüpü.

Başlamadan önce, DNA izolasyon kiti içerisindeki yıkama solüsyonları, her etiketin üstündeki yönergelere uygun olarak PureLink Genomik Yıkama Solüsyonu 1 ve PureLink Genomik Yıkama Solüsyonu 2'ye %96-100 etanol ekledi.

3.4.2.2. Kan Örneklerinden Lizat Hazırlanması

İlk olarak su banyosu veya ısı bloğu 55°C'ye ayarlandı. 200 µl taze veya dondurulmuş kan örneği steril bir mikrosantrifüj tüpü içine alındı. Örnek içine kit ile sağlanan Proteinaz K'dan 20 µl eklendi. Daha sonra örnek içine yine kit ile sağlanan RNaz A'dan 20 µl eklendi, vortekslenerek iyice karıştırıldı ve oda sıcaklığında 2 dk inkübe edildi. 200 µl PureLink Genomik Liziz/Bağlama solüsyonu eklenir,homojen bir solüsyon eklemek için vorteksleyerek iyice karıştırıldı. Protein digesyonunu ilerletmek

için 55°C'de 10 dk. inkübe edildi. Lizata 200 µl %96-100 etanol eklendi. Homojen bir solüsyon elde etmek için vorteksleyerek 5 saniye iyice karışması sağlandı. Daha sonra DNA'ya bağlanma aşamasına geçildi.

3.4.2.3. DNA'ya Bağlanma

Koleksiyon tüpü içinde sağlanan spin kolonu paketten çıkarıldı. Genomik Liziz/Bağlama solüsyonu ve etanol ekli lizatı (640 µl) PureLink spin kolona eklendi. Kolon, 1 dk. oda sıcaklığında 10.000xg'de santrifüj edildi. Koleksiyon tüpünü atılarak kit ile sağlanan yeni bir PureLink Koleksiyon tüpü içine yerleştirildi. DNA yıkama aşamasına geçildi.

3.4.2.4. DNA Yıkama Aşaması

Kolona, etanol ile hazırlanan yıkama solüsyonu I'den 500 µl eklendi. Kolonu 1 dk. oda sıcaklığında 10.000xg'de santrifüj edildi. Koleksiyon tüpünü atılarak kolon, kit ile sağlanan yeni bir PureLink Koleksiyon tüpü içine yerleştirildi. Kolona etanol ile hazırlanan Yıkama solüsyonu II'den 500 µl eklendi ve oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dk. santrifüj edildikten sonra toplama tüpü ayılarak DNA elüsyon aşamasına geçildi.

3.4.2.5. DNA Elüsyon Aşaması

Kolonu steril bir 1.5 ml mikrosantrifüj tüp içine konudu. Üzerine 25-200 µl PureLink Genomik Elüsyon Çözeltisi eklendi. Oda sıcaklğında 1 dk. İnkübe edildikten sonra, oda sıcaklığında maksimum hızda 1 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında tüpte toplanan purifiye genomik DNA saklandı. Daha fazla DNA kurtarmak için kolon yeni bir steril 1.5 ml mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı ve aynı miktarda elüsyon çözeltisi kullanarak ikinci bir elüsyon aşaması yapıldı. Elde edilen pürifiye genomik DNA -20°C'de saklandı.

3.4.2.6. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon Ve Kalitesinin Tayini

Elde edilen DNA örneklerinden 1'er µl alınarak nanodrop spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu belirlendi. DNA örneklerinin saflığı OD260/ OD280 oranı kullanılarak belirlendi.

Spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu belirlendi. O.D.260 / O.D.280 oranı 1,7-1,8 olan

DNA'lar temiz olarak kabul edildi. DNA'nın 50µg/ml çift iplikçikli içeriğinin 260 nm dalga boyunda bir optik densite (OD) verdiği kabul edilmektedir. Ortamda fenol veya protein mevcutsa bu oran 1,8'den küçük olacaktır. OD260/OD280 değeri 2'den büyükse ortamda RNA bulunduğu anlamına gelir. Çalışmamızda kullanılan örneklerin saflığı 1,8-2 arasındadır.

260 nm'deki ölçüm değeri aşağıdaki formüle uygulanarak DNA konsantrasyonu hesaplandı.

DNA Konsantrasyonu (ng/µl): Sulandırma katsayısı (100) x A_{260} x 50

3.4.3. PZR'da Kullanılan Kimyasal Maddeler ve PZR'ın Hazırlanışı

3.4.3.1. Kullanılan Primerler:

CLU geninde rs202081077 polimorfizminin gözlendiği bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primerlerin nükleotid dizileri aşağıda verildiği gibidir :

İleri primer: 5'-CGACTCACCCACAGACAAGA -3'
Geri primer: 5'-CTGGGCAACAGAGTGAGACC -3'

SORL1 geninde rs641120 polimorfizminin gözlendiği bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primerlerin nükleotid dizileri aşağıda verildiği gibidir :

İleri primer: 5'-TTTCTAGTCTATTACCAGCAACCTAA -3'
Geri primer: 5'-GCTGTTAAGTGGAAAGATGGTTAAGAT -3'

CR1 geninde rs202213311 polimorfizminin gözlendiği bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primerlerin nükleotid dizileri aşağıda verildiği gibidir :

İleri primer: 5'-TCCTAATGGGAGACACACAGG -3'
Geri primer: 5'-TCCCCTTGAGGGTCACTTGT -3'

3.4.3.2. Gen Varyantlarının Gözlendiği Bölgenin PZR Yöntemi İle Çoğaltılması

DNA örneklerinden gen varyantlarının gözlendiği bölgelerin çoğaltılması için buz üzerinde ve steril kabin içerisinde PZR karışımı hazırlandı.

Tablo 3: CLU geni için PZR karışımı

İçerik	**Hacim (µl)**	**Konsantrasyon**
Taq PCR Master Mix (2X) (0.25U/µl Taq DNA polimeraz, 2X PCR buffer, 0.4mM dNTP, 3.2 mM MgCl2, 0.02% bromofenol mavisi.	12,5	2X
Forward Primer (10 µM)	0,5	0,2 µM
Reverse Primer (10 µM)	0,5	0,2 µM
Kalıp DNA (15 µg/µl)	1	15 ng
ddH_2O	10,5	-

Örnek sayısı kadar 0,2 ml'lik tüplere 24 µl reaksiyon karışımı dağıtıldı. Daha sonra her tüpe 1 µl DNA (15 ng) eklenerek yeniden pipetleme yapıldı, PZR cihazına örnekler yerleştirildi ve PZR işlemi başlatıldı. Tüm genler için kullanılan amplifikasyon koşulu tablo 4'de gösterilmiştir.

Tüm örnekler için Touch Down PZR uygulandı. Denatürasyon sıcaklığı 95 ºC, bağlanma sıcaklıkları 67-55 ºC arasında (Tablo 4'de ayrıltılı olarak verilmiştir), uzama sıcaklığı ise 72 ºC'dir.

Tablo 4: Gen varyantlarının gözlendiği bölgelerin çoğaltılması için kullanılan amplifikasyon koşulları

Adım	Sıcaklık	Süre
Başlangıç denatürasyonu	95 ºC	5 dakika
1. döngü bağlanma sıcaklığı	67 ºC	4 siklus
2. döngü bağlanma sıcaklığı	65 ºC	3 siklus
3. döngü bağlanma sıcaklığı	63 ºC	2 siklus
4. döngü bağlanma sıcaklığı	61 ºC	2 siklus
5. döngü bağlanma sıcaklığı	59 ºC	2 siklus
6. döngü bağlanma sıcaklığı	57 ºC	2 siklus
7. döngü bağlanma sıcaklığı	55 ºC	23 siklus

Touch-Down PZR, standart PZR çalışmalarına çok benzeyen bir yöntemdir. Bu PZR'da farklı olarak primer sıcaklıkları ilk önce çok yüksek tutularak primerlerin spesifik şekilde hedef diziye bağlanması amaçlanmaktadır. Primerin bağlanma sıcaklığı ilk önce 67 °C tutulmakta ve her döngüde 2°C azaltılarak (7 döngü) 55 °C'ye kadar düşürülmektedir. 55 °C'den sonra ise 20-25 döngü yapılarak PZR tamamlanmaktadır.

Bağlanma ısısı döngü sayısı ilerledikçe düşürülür. Amplifiye olmaya başlayan hedef dizinin kalıp popülasyondaki oranı arttığı için düşen ısıda artık yalnızca hedef dizi çoğalacaktır. Touchdown PZR nonspesifik amplifikasyonun azalmasını sağlar. Bu yaklaşım ilk sikluslarda daha spesifik bağlanma sağladığından doğru ürünün nonspesifikler aleyhine artırılmasını sağlar (150).

3.4.4. Agaroz Jel Elektroforezinin Uygulanması

3.4.4.1. 5X Tris-Borik asit-Etilen diamin tetra asetat (TBE) hazırlanması

54 gr tris baz, 27,5 gr borik asit, 20 ml 0.5 molarlık EDTA (pH'sı 8.0) ve 800 ml ddH_2O manyetik karıştırıcıda çözündürüldükten sonra balon jojeye aktarılarak ddH_2O ile 1 litreye tamamlandı. Hazırlanan çözelti 120 ^oC'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi ve oda sıcaklığında saklandı. Elektroforezde stok 5X TBE tamponundan hazırlanan 1X TBE kullanıldı.

3.4.4.2. %2'lik Agaroz Jel Hazırlanması:

- 4 gr. agaroz (Sigma) tartılarak erlen içine konuldu. Üzerine son hacim 200 ml. olacak şekilde 1X TBE tamponu eklenerek, mikrodalga fırında kaynatma yolu ile çözündürüldü.
- Erlenin sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde (50-55ºC) çözünmüş agaroz jel içine 4.5 µl etidyum bromür (10mg/ml) ilave edildi.
- Hazırlanan jel yatay jel yatağı içine dökülerek, yükleme kuycuklarının oluşması için tarak yerleştirilerek donmaya bırakıldı.
- Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve jel örnek yüklenmesi için hazır duruma geldi.

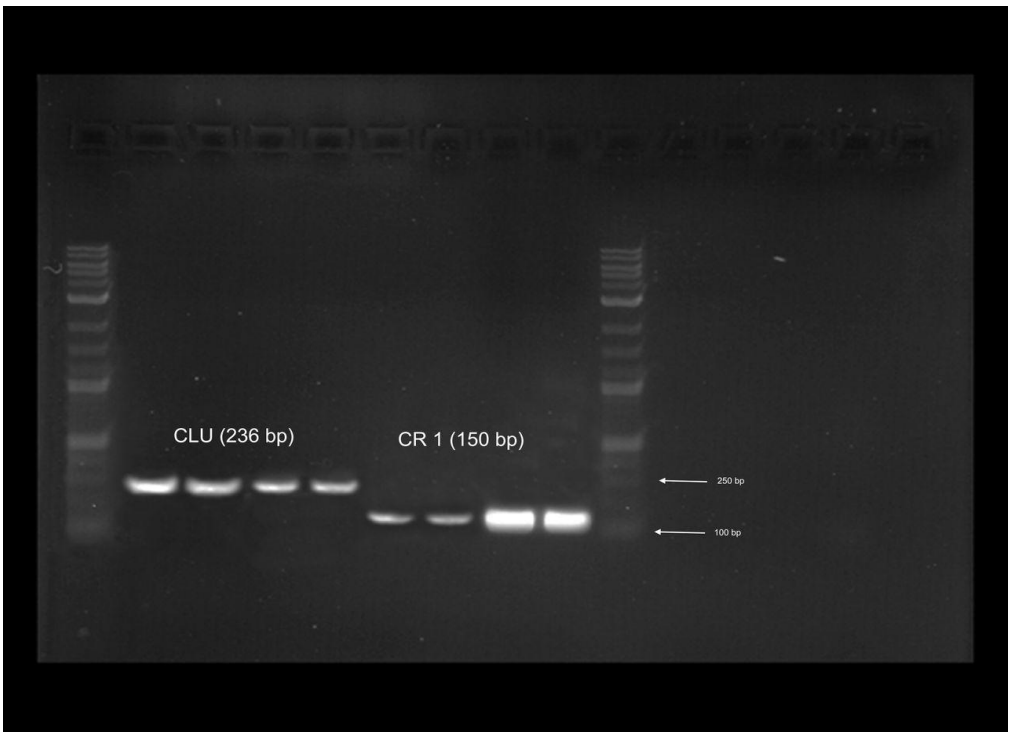
3.4.4.3. PCR Ürünlerinin %2'lik Jel'e Yüklenmesi:

- %2'lik jel hazırlandıktan sonra 1X TBE tamponu içeren jel tankı içine uygunşekilde konuldu.
- Agaroz jelin üzerini 2-3 ml gececek şekilde 1X TBE tamponu jel üzerine eklendi.

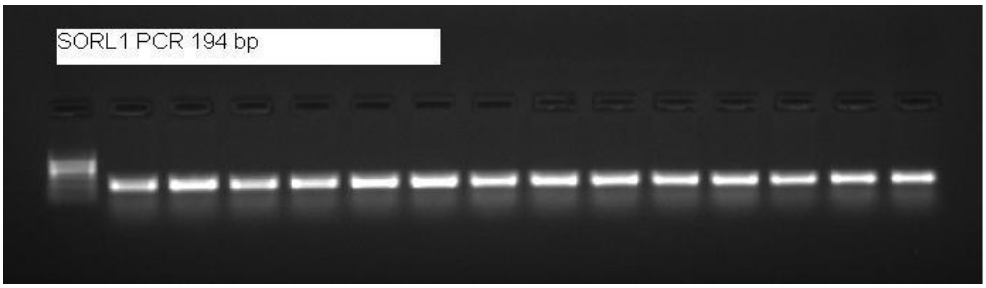
- 7 µl PCR ürününe, 3 µl yükleme tamponu (6X) eklenip pipetleme yapılarak karıştırıldı. 10 µl'lik örnek karışımı kuyucuklara sırasıyla yüklendi.
- Yükleme işleminden sonra jel tankının kapağı kapatıldı. Güç kaynağı (E-C apparatus Corporation, E-C4000P) 250 miliamper 120 volt elektrik gücüne ayarlanarak elektroforez jel yürütülmesi gerçekleştirildi.

3.4.4.4. Gen Varyantlarının Gözlendiği Bölgelerin PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde İncelenmesi

Her PZR tüpünden elde edilen 7 µl PZR ürünü, 3 µl 6X yükleme boyası ile karıştırıldı, %3'lük agaroz jeldeki kuyulara yüklenerek 120 voltluk elektrik akımında yürütüldü ve yürütme sonrası polaroid kamera ile UV ışık altında jelin fotoğrafı çekilip 236 bç, 150 bç ve 194 bç'lik PZR ürünleri tespit edildi (Şekil 10,11).



Şekil 10 : **Uygun primerlerle çoğaltılan 236 bç'lik (CLU) ve 150 bç'lik (CR1) PZR ürünlerinin %3'lük agaroz jeldeki görüntüsü. (Marker: 50 bç DNA marker)**



Şekil 11 : Uygun primerlerle çoğaltılan 194bç'lik (SORL1) PZR ürünlerinin %3'lük agaroz jeldeki görüntüsü. (Marker: 50 bç DNA marker)

3.4.4.5. Hyp99i, Ms1I ve HindIII Restriksiyon Endonükleaz Enzimleri İle Restriksiyon Fragman Uzunluğu Polimorfizminin (RFUP) Analizi

Restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizminin belirlenmesi için PZR ürünleri CLU geni için,

5'…CGA(T)CG↓…3'

3'…↑GCA(T)GC…5'

tanıma bölgesine sahip olan Hyp99i restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildi.

Restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizminin belirlenmesi için PZR ürünleri SORL1 geni için,

5'…CAC(T)NN ↓NNA(G)TG…3'

3'…GTA(G)NN↑NNC(T)AC…5'

tanıma bölgesine sahip olan Ms1I restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildi.

Restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizminin belirlenmesi için PZR ürünleri CR1 geni için,

5'…A↓AGCTT…3'

3'…TTCGA↑A …5'

tanıma bölgesine sahip olan HindIII restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildi.

Kesim karışımı :

ddH_2O : 9 µl

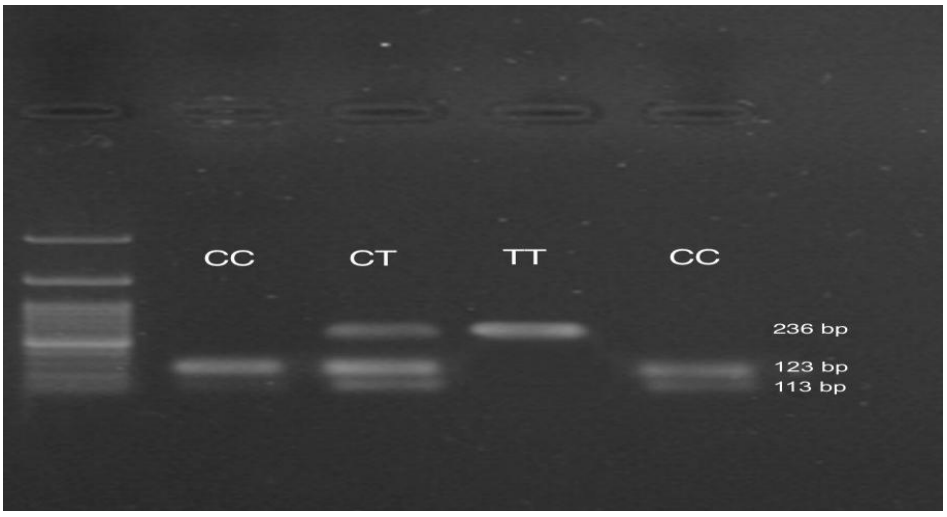
10X tampon : 1 µl

Restriksiyon endonükleaz enzimi (10 u/µl) : 0,5 µl

PZR ürünü : 10 µl

10,5 µl kesim karışımı ile 10 µl PZR ürünü 37°C sıcaklıkta 2 saat inkübe edildi. 10 µl kesim ürünü, 3 µl 6X yükleme boyası ile karıştırılıp %3'lük agaroz jeldeki kuyulara yüklendi ve 120 volt'ta yürütüldü. Yürütme sonrası, UV ışık (304 nm) altında polaroid kamera ile jelin fotoğrafı çekilerek kesim ürünleri incelendi.

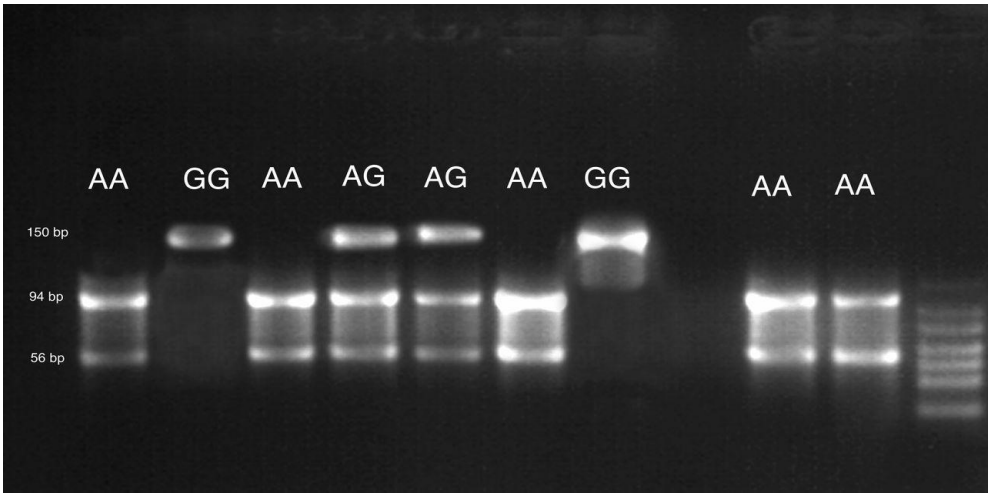
CLU geninde rs202081077 için C alleli varlığında Hyp99i restriksiyon enzimi için kesim bölgesi oluşur. T alleli varlığında ise kesim gerçekleşmez. Homozigot TT genotipine (mutant) sahip PZR ürünleri 236 bç büyüklüğünde tek bant halinde görünürken, homozigot CC genotipine (normal) sahip PZR ürünleri, enzim kesimi sonrası 123 bç ve 113 bç'lik iki parçaya ayrılır. Heterozigot CT genotipine sahip olma durumunda ise PZR ürünleri enzim kesimi sonrası 236 bç, 123 bç ve 113 bç'lik üç parçaya ayrılır (Şekil 12).



Şekil 12: CLU geni Hyp99i enzim kesimi sonucunda ürünlerin %3'lük agaroz jeldeki bant görüntüsü.

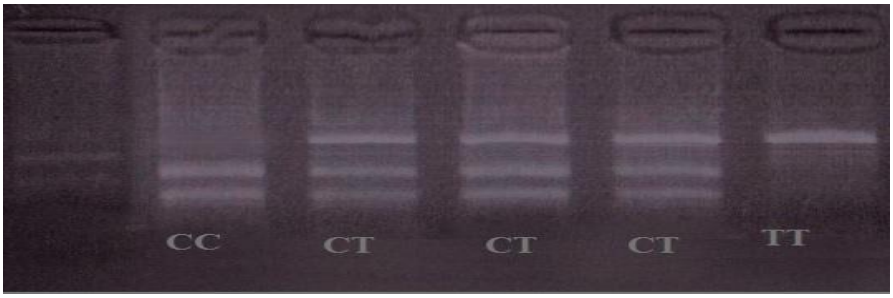
CR1 geninde rs202213311 A alleli varlığında HindIII restriksiyon enzimi için kesim bölgesi oluşur. G alleli varlığında ise kesim gerçekleşmez. Homozigot GG

genotipine (mutant) sahip PZR ürünleri 150 bç büyüklüğünde tek bant halinde görünürken, homozigot AA genotipine (normal) sahip PZR ürünleri, enzim kesimi sonrası 94 bç ve 56 bç'lik iki parçaya ayrılır. Heterozigot AG genotipine sahip olma durumunda ise PZR ürünleri enzim kesimi sonrası 150 bç, 94 bç ve 56 bç'lik üç parçaya ayrılır (Şekil 13).



Şekil 13: CR1 geni HindIII enzim kesimi sonucunda ürünlerin %3'lük agaroz jeldeki bant görüntüsü.

SORL1 geninde rs641120 C alleli varlığında Ms1I restriksiyon enzimi için kesim bölgesi oluşur. T alleli varlığında ise kesim gerçekleşmez. Homozigot TT genotipine (mutant) sahip PZR ürünleri 194 bç büyüklüğünde tek bant halinde görünürken, homozigot CC(normal) genotipine sahip PZR ürünleri, enzim kesimi sonrası 140 bç ve 54 bç'lik iki parçaya ayrılır. Heterozigot CT genotipine sahip olma durumunda ise PZR ürünleri enzim kesimi sonrası 194 bç, 140 bç ve 54bç'lik üç parçaya ayrılır (Şekil 14).



Şekil 14: SORL1 geni Ms1I enzimi kesimi sonucu ürünlerin%3'lük agaroz jeldeki bant görüntüsü

3.4.5. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatiksel Yöntemler

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri için SPSS 17.0 paket programı kullanılmıştır. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki Kare testi ($\chi 2$), sayısal verilerin karşılaştırılmasında Fisher's Exact Testi kullanıldı. Allel frekansları gen sayımı yöntemi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada iki örnek grubu kullanılmıştır. Herhangi bir nörolojik hastalık ve Alzheimer hastalığı hikayesi olmayan sağlıklı bireyler kontrol grubuna alınmıştır. İkinci grup İstanbul Darülaceze Müdürlüğü Kayışdağı Tesisleri'nde ikamet eden Alzheimer hastalığı tanısı koyulmuş bireylerden oluşturulmuştur. CLU (rs202081077), SORL1 (rs641120), CR1 (rs202213311) için 68 hasta, 75 kontrol kullanılmıştır.

CLU geni için; hasta ile kontrol gruplarının genotileri arasındaki anlamlı($p<0,05$); alleleri arasında ise oldukça anlamlı fark vardır ($p<0,01$).

Hasta ve kontrol gruplarına ait CLU (rs202081077) genotip ve allel dağılımları Tablo 5'de görülmektedir. Hasta ve kontrol grupları arasında CLU (rs202081077) genotipleri ve allelleri açısından anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Homozigot TT genotipine sahip hasta bireylerin (16,1%) frekansı kontrol grubuna (5,3%) göre anlamlı derecede yüksek çıkmıştır (*$p<0,05$). T alleline sahip bireylerin frekansının hasta grubunda (%28,7) kontrole (% 14,7) göre oldukça anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (*$p<0,01$), (Tablo 6).

Tablo 5 : Alzheimer ve kontrol gruplarına ait CLU (rs202081077) genotip ve allel dağılımları

CLU	Alzheimer grubu		Kontrol grubu		
	n	%	n	%	p değeri
Genotip					
CC	40	58.9	57	76	
CT	17	25	14	18,7	
TT	11	16,1	4	5,3	**0,044856**
Allel					
C	97	71,3	128	85,3	
T	39	28,7	22	14,7	**0,003871**

SORL1 geni için; yine hasta ve kontrol gruplarının gerek genotipleri gerek allelleri arasında ileri derecede anlamlı farklar bulunmaktadır (p<0,001).

Hasta ve kontrol gruplarına ait SORL1 (rs641120) genotip ve allel dağılımları Tablo 6'da görülmektedir. Hasta ve kontrol grupları arasında SORL1 (rs641120) genotipleri ve allelleri açısından anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Homozigot TT genotipine sahip hasta bireylerin (17,6%) frekansı kontrol grubuna (2,6%) göre anlamlı derecede yüksek çıkmıştır (*p<0,001).T alleline sahip bireylerin frekansının hasta grubunda (%40,4) kontrole (%12,0) göre oldukça anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (*p<0,001), (Tablo 7).

Tablo 6 : Alzheimer ve kontrol gruplarına ait SORL1 (rs641120) genotip ve allel dağılımları

SORL1	Alzheimer grubu		Kontrol grubu		
	n	%	n	%	p değeri
Genotip					
CC	25	36,8	59	78,7	
CT	31	45,6	14	18,7	
TT	12	17,6	2	2,6	**0,000001**
Allel					
C	81	59,6	132	88,0	
T	55	40,4	18	12,0	**0,00000004**

CR1 geni için; hasta ile kontrol grupları genotipleri arasındaki fark oldukca oldukça anlamlıdır (p<0,01). Alleller arasında ise istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark vardır (p<0,001).

Hasta ve kontrol gruplarına ait CR1 (rs202213311) genotip ve allel dağılımları Tablo 7'de görülmektedir. Hasta ve kontrol grupları arasında CR1 (rs202213311) genotipleri ve allelleri açısından anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Homozigot GG genotipine sahip hasta bireylerin (14,7%) frekansı kontrol grubuna (2,7%) göre anlamlı

derecede yüksek çıkmıştır (*p<0,01). G alleline sahip bireylerin frekansının hasta grubunda (%27,2) kontrole (% 8,7) göre oldukça anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (*p<0,001), (Tablo 8).

Tablo 7 : Alzheimer ve kontrol gruplarına ait CR1 (rs202213311) genotip ve allel dağılımları

CR1	Alzheimer grubu		Kontrol grubu		
	n	%	n	%	p değeri
Genotip					
AA	41	60,3	64	85,3	
AG	17	25	9	12	
GG	10	14,7	2	2,7	**0,001911**
Allel					
A	99	72,8	137	91,3	
G	37	27,2	13	8,7	**0,000037**

5. TARTIŞMA

Alzheimer yetişkinlerde görülen en yaygın nörödejeneratif hastalıktır. Demans olgularının %50'den fazlası Alzheimer olarak belirtilmiştir ve 2010 yılında dünya çapında 24 milyon Alzheimer hastası olduğu bildirilmiştir. Ayrıca her yıl 5 milyon Alzheimer vakası ile karşılaşılmaktadır. 60-70 yaş aralığında % 1 insidans gösterirken, 85 ve üzeri yaşlarda % 6-8 insidans gösterir (137).

AH'nın prevelansı ve insidansında yaş bilinen en etkili risk faktörüdür. AH'nın prevalansı yaş ile birlikte önemli oranda artar. İnsidansı 65-69 yaş aralığında olan bireylerde, her 1000 kişide 2.8 iken, 90 yaş ve üzerinde olan her 1000 kişide 56.1'dir (138). 70 yaş ve üzerindeki bireylerin %10'unda bellek kaybı yaşanır ve bunların %50'den fazlası Alzheimer hastasıdır (139).

Yaşlanmayla ilişkili diğer hastalıklar (kardiyovasküler hastalıklar, diabet, kanser) gibi beslenme, davranışsal ve diğer çevresel faktörler de AH için muhtemel risk faktörüdür. Fakat bu alanlarla ilgili araştırmalar henüz kesin öneriler yapabilmek için yeterli noktaya gelmemiştir. Epidemiyolojik bulgular, düşük eğitim seviyesi, kafa travma öyküsü, yüksek kalori ve yağ içeren beslenme, hareketsiz yaşam biçimi gibi faktörlerin AH riskini arttırdığını göstermiştir (140, 141).

Spesifik diyet bileşenlerinin AH için risk olabileceği düşünülmektedir. Düşük folat ve yüksek homosistein içeren dietlerle beslenen bireylerde AH riski artabilir (141). Bakır, demir gibi metaller ve lipitler beslenmeyle ilgili diğer risk faktörleri olarak düşünülmektedir (140, 142).

Alzheimer hastalığı hakkında yapılan genetik çalışmaların birçok amacı vardır: 1) Hastalığın patofizyolojisini anlamak için altta yatan genetik faktörleri ortaya çıkarılmalıdır. 2) Birçok çevresel risk faktörünün aksine genetik risk faktörlerini değiştirebilmek. 3) Genetik risk faktörleri tarafından kodlanan moleküller yeni ilaçlar için hedef olabilir. 4) Genetik risk faktörleri değiştirilebilir çevresel risk faktörleri için ipucu sağlayabilir. 5) Genetik çalışmalar ile tanımlanan genetik varyantlar ve moleküller, hastalığı önlemek amacıyla risk populasyonlarını belirlemek için biyomarker olarak kullanılabilir. 6) Bireylerdeki genetik risk faktörlerini bilmek gelecekte bireylere özgü ilaç geliştirilmesine olanak sağlar (143).

Alzheimer hastalığının (AH) genetik kökenini araştırmak üzere çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda ailesel otozomal dominant AH ile ilişkili APP, PSEN1 ve PSEN2 genleri ve genetik risk faktörü olarak da APOE4 alleli tanımlanmıştır.

Yapılan genetik çalışmalar CLU geni varyantları ile AH arasında bir ilişki olduğuna işaret etse de, CLU geni varyantlarının hastalık oluşumunu nasıl etkilediği halen kesin olarak bilinmemektedir. Ancak clusterin'in çeşitli çalışmalarla ortaya konan biyolojik özellikleri, onun AH patolojisi üzerinde koruyucu etkileri olabileceğini göstermektedir.

ApoJ olarak da adlandırılan clusterin, beyinde daha fazla olmak üzere neredeyse tüm memeli dokularında üretilen bir apolipoproteindir. Clusterin'in AH patolojisi ile ilişkili olabilecek çeşitli özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (153). AH'da ekstraselüler amiloid plakları ve nörofibril yumakları ile birlikte yer aldığı gösterilen clusterin'in, esnek yapısı sayesinde AH patolojisine katılan Aβ peptidine bağlanabildiği, böylece amiloid plak oluşumu ve Aβ'nın nöronlar üzerindeki toksik etkileri üzerinde önleyici bir rol oynadığı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile gösterilmiştir (154,155,156).

Transgenik AH modelleri ile 2004 ve 2006 yılında yapılan iki farklı çalışmada, ApoE ve clusterin'in Aβ temizlenmesine aracılık ettiği gösterilmiştir. Bu apolipoproteinlerin seviyesinde meydana gelen bir azalmanın, hem amiloid plaklarda hem de BOS'ta Aβ birikiminin artmasına yol açtığı bildirilmiştir (157, 158) .

Clusterin ayrıca, ApoE ile birlikte lipid transportuna katılır (159), nöron apoptozunu önler (160) ve nöron koruyucu TGF-β sinyalini güçlendirir (161). Yapılan çalışmalarda clusterin proteininin, Alzheimer hastalarının beyin-omurilik sıvısında (BOS) önemli derecede arttığını gösterilmiştir (162, 163).

2011 yılında CLU ve CR1 genlerine ait çeşitli polimorfizmler üzerinde yapılan bir çalışmaya göre, bu polimorfizmler ile AH'da görülen nörofibriler yumak oluşumu arasında bir bağlantı saptanamamıştır. Bu çalışma bizim CLU ve CR1 geni için bulgularımız ile uyuşmamaktadır (144).

Belçika, Finlandiya, İtalya ve İspanya gibi ülkelerden 3,978 Alzheimer hastası ve 3,297 kontrol kullanılarak yapılan bir çalışmada, CLU ve CR1 genine ait 2 farklı polimorfizmin AH ile ilişkili olduğu gösterilmiştir ve bu genlerin Alzheimer

hastalarının beyinlerinde görülen amiloid plakların oluşumunda başlıca öğe olan beta-amiloid proteinin atılımında destekleyici rolleri olduğu belirtilmiştir (152).

CLU geni polimorfizmleri üzerinde yapılmış olan bazı çalışmalarda genotip ve allel dağılımları bakımından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunamazken, bazı çalışmalarda ise allelerin hastalığa yatkınlığı arttırdığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda, CLU geninde rs202081077 polimorfizmi Alzheimer riski açısından incelendiğinde hasta ve kontrol grupları arasındaki alelik dağılımın, C alelinin koruyucu etki gösterdiğine işaret eder ve bu etkinin istatistiksel açıdan oldukça anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p< 0,01$).

2010 yılında yapılan bir meta-analiz çalışmasında CLU, CR1 genlerindeki bazı polimorfizmlerin beyaz bireylerde AH ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Fakat diğer etnik gruplarda bu bağlantının olmadığı söylenmiştir. Aynı çalışmada beyaz ve Arap bir grupta APOE4 allelinin AH ile ilişkisinden bahsedilmiştir (145).

CR1 geninde rs202213311 polimorfizmi Alzheimer riski açısından incelendiğinde hasta ve kontrol grupları arasındaki allelik dağılımı, A alelinin koruyucu etki gösterdiğine işaret eder ve bu etkinin istatistiksel açıdan çok yüksek anlamlılık gösterdiği belirlenmiştir ($p< 0,001$).

Rogaeva ve ark. genetik ve çevresel faktörler ile SORL1 ekspresyon veya fonksiyonundaki değişimlerin, AH patogenezi ile bağlantı gösterdiğini ve hastalık için az miktarda etkili bir risk oluşturabileceğini göstermişlerdir. SORL1'deki genetik efektörlerin kesin tanımlanması henüz yapılamamıştır. Ancak Rogaeva ve ark.'larının yaptığı çalışmanın sonuçlarına göre: i) farklı populasyonlarda SORL1 geninde farklı genomik bölgelerde birçok farklı alelik varyant vardır; ii) bu varyantlar hücre tipini ya da SOLR1'in dokuya spesifik ekspresyonunu belirleyen muhtemel intronik regulatör dizilerde bulunur; iii) bu varyantlar APP yapımında SORL1'in fizyolojik rolünü değiştirerek hastalık için risk faktörü olarak etki gösterir (144).

Rogaeva ve ark. APP'nin ayrımsal sıralanmasında (proteinlerin sentezlendikten sonra golgi organelinde hücre içinde veya dışında gideceği lokasyona göre sınıflandırılıp ayrılması) SORL1'in anahtar fizyolojik rol oynadığını göstermişlerdir. SORL1 varlığında, APP retromer aracılığıyla kaplanır. SORL1 yokluğunda ise, APP retromer sınıflandırma yolağından ayrılır ve Aβ proteinini oluşturacak olan β- ve γ-sekretaz kesimine maruz kalacağı geç endozomal yolağa salınır (146).

Belçika populasyonunda geç başlangıçlı Alzheimer hastası 550 birey ve 637 sağlıklı kontrol üzerinde yapılan çalışmaya göre, SOLR1'deki genetik varyantların geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı için risk faktörü olabileceği ileri sürülmüştür (147).

2015 yılında yapılan bir meta analiz çalışmasında SORL1 genine ait rs641120 polimorfizminin Alzheimer hastalığı için riski azalttığı ve koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (149). Bu veriler bizim çalışmamızla uyuşmamaktadır.

2009 yılında İtalyan populasyonunda, 708 hasta ve 358 sağlıklı kontrol üzerinde yapılan çalışmada SORL1 geninde ait 13 polimorfizm incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda 4 polimorfizmin geç başlangıçlı AH patogenezine katkıda bulunabileceği gösterilmiştir. Bu polimorfizmlerden biri de bizim de çalışmamızda anlamlı olarak yer alan rs641120'dir. Cellini ve ark. yaptığı bu çalışma, bizim sonuçlarımız ile paralel niteliktedir (148).

2012 yılında, 105 Alman Alzheimer hastası üzerinde yapılan bir çalışmaya göre SORL1 rs641120 polimorfizmi sonucu T alleli (minör allel) varlığının AH ile ilişkili olabileceğini göstermişlerdir (151).

Çalışmamızda SORL1 geninde rs641120 polimorfizmi Alzheimer riski açısından incelendiğinde hasta ve kontrol grupları arasındaki allelik dağılımı C alelinin koruyucu etki gösterdiğine işaret eder ve bu etkinin istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$).

Çalışmamızda CLU rs202081077, SORL1 rs641120 ve CR1 rs202213311 genotip ve allel dağılımları incelendiğinde normal genotip ve allellerin sağlıklı bireylerde yüksek oldığu ve dolayısıyla Alzheimer hastalığı açısından koruyucu etki gösterdiği ; nadir genotip ve allelerin hasta bireylerde yüksek olduğu ve dolayısı ile Alzehimer hastalığı için risk oluşturduğu gözlenmiştir.

Bu çalışma Alzheimer hastalarında CLU, SORL1 ve CR1 genleri üzerinde Türk popülasyonunda yapılmış ilk polimorfizm çalışmasıdır. Literatürde birçok nörolojik hastalık ile ilgili bu bu genlere ait farklı veriler bulunmakla birlikte Alzheimer hastalığında bu polimorfizmlerin hepsinin aynı çalışmada araştırıldığı görülmemektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar Türk toplumu için oluşturulacak ilk veri olma özelliğindedir.

Genetik, epigenetik ya da çevresel etmenlerin etkisiyle uzun bir süreç sonucunda ortaya çıktığı bilinen Alzheimer hastalığı, patogenezi arasındaki olası ilişkinin araştırıldığı bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ön veriler olma niteliğindedir. Daha

kesin verilerin elde edilmesi için çalışma grubunun sayısı artırılarak çalışma devam ettirilebilir.

KAYNAKLAR

1. Metabolism of amyloid β peptide and pathogenesis of Alzheimer's disease. Saido TC. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2013;89(7):321-39. Review.
2. Replication of CLU, CR1, and PICALM associations with alzheimer disease. Carrasquillo MM1, Belbin O, Hunter TA, Ma L, Bisceglio GD, Zou F, Crook JE, Pankratz VS, Dickson DW, Graff-Radford NR, Petersen RC, Morgan K, Younkin SG. Arch Neurol. 2010 Aug;67(8):961-4. doi: 10.1001/archneurol.2010.147. Epub 2010 Jun 14.
3. Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. Biochem Biophys Res Commun 1984; 120: 885-90.
4. Masters CL, Simms G, Weinman NA, et al. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. Proc Natl Acad Sci USA 1985; 82: 4245-9.
5. Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's Disease. Science. 2006; 314: 777-781.
6. The Distribution and Expression of Picalm in Alzheimer Disease, Shabnam Baig, Sally A. Joseph, Hannah Tayler, Richard Abraham, Michael J. Owen, Julie Williams, Patrick G. Kehoe, Seth Love, J Neuropathol Exp Neurol. Author manuscript; available in PMC 2011 April 1. Published in final edited form as: J Neuropathol Exp Neurol. 2010 October; 69(10): 1071–1077. doi: 10.1097/NEN.0b013e3181f52e01
7. Yerbury JJ, Poon S, Meehan S, Thompson B, Kumita JR, et al. (2007) The extracellular chaperone clusterin influences amyloid formation and toxicity by interacting with prefibrillar structures. FASEB J 21: 2312–2322.
8. Bell RD, Sagare AP, Friedman AE, Bedi GS, Holtzman DM, et al. (2007) Transport pathways for clearance of human Alzheimer's amyloid beta-peptide and apolipoproteins E and J in the mouse central nervous system. J Cereb Blood Flow Metab 27: 909–918.
9. Sala A, Bettuzzi S, Pucci S, Chayka O, Dews M, et al. (2009) Regulation of CLU gene expression by oncogenes and epigenetic factors implications for tumorigenesis. Adv Cancer Res 105: 115–132.

10. Zhang H, Kim JK, Edwards CA, Xu Z, Taichman R, et al. (2005) Clusterin inhibits apoptosis by interacting with activated Bax. Nat Cell Biol 7: 909–915.
11. Falgarone G, Chiocchia G (2009) Chapter 8: Clusterin: A multifacet protein at the crossroad of inflammation and autoimmunity. Adv Cancer Res 104: 139–170.
12. Rogaeva E, Meng Y, Lee JH, Gu Y, Kawarai T, Zou F, et al. The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. Nat Genet 2007;39:168–77.
13. Schmidt V, Sporbert A, Rohe M, Reimer T, Rehm A, Andersen OM, et al. SorLA/LR11 Regulates Processing of Amyloid Precursor Protein via Interaction with Adaptors GGA and PACS-1. J Biol Chem 2007;282:32956–64.
14. Alzheimer's disease: advances in trafficking. Mayeux R, Hyslop PS. Lancet Neurol. 2008 Jan;7(1):2-3.
15. Complement receptor 1 (CR1) and Alzheimer's disease. Crehan H, Holton P, Wray S, Pocock J, Guerreiro R, Hardy J. Immunobiology. 2012 Feb;217(2):244-50. doi: 10.1016/j.imbio.2011.07.017. Epub 2011 Jul 23. Review.
16. Kaplan & Sadock Klinik Psikiyatri, El Kitabı. Çeviri Editörü: Prof. Dr. Ercan Abay. 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1999: 31-35.
17. Ferri CP, Prince M, Brayne C., et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. Lancet 2005; 366: 2112-7.
18. Alzheimer A. Uber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. Allg Z Psychiat 1907; 64: 146-8.
19. Alzheimer A. Über eigenartige Krankheitsfälle des späteren Alters. Z Ges Neurol Psychiatr 1911; 4: 356-385.
20. Katzman R, Saitoh T. Advances in Alzheimer’s disease. FASEB J 1991; 5: 278-86.
21. Taneli B, Sivrioğlu Y, Taneli T. Alzheimer diease. In: H Aydın, İT Uzbay eds. Gülhane Psychopharmacology Symposium. 1. Basım. Ankara: Gülhane Military Medical Academy Printing Office; 1999:31-80.
22. Evans DA, Funkenstein H, Albert Ms et al. Prevalence of Alzheimer’s Disease in a community population of older persons. JAMA 1989; 262: 2551-2556.
23. Olhansky SJ, Carnes BA, Cassel CK. The aging of the human species. Sci Am 1993; 268: 46-52.
24. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM (1984). 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.;34(7):939–44.

25. Amerikan Psikiyatri Birliği (1994) Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı, dördüncü baskı (DSM-IV). (Çev. Ed.: E.Köroğlu) Hekimler Yayın Birliği, Ankara
26. Takashima A, Noguchi K, Sato K, Hoshino T, Imahori K., Tau protein kinase I is essential for amyloid beta-protein-induced neurotoxicity, Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 Aug 15;90(16):7789-93.
27. Mesulam M. Davranışsal ve Kognitif Nörolojinin ilkeleri. Çeviri Editörü: Gürvit H. Oxfort University Pres. Inc. Yelkovan Yayıncılık. 2004.
28. Advances with RNA interference in Alzheimer's disease research. Chen S, Ge X, Chen Y, Lv N, Liu Z, Yuan W. Drug Des Devel Ther. 2013;7:117-25. doi: 10.2147/DDDT.S40229. Epub 2013 Feb 22.
29. Hynd MR, Scott HL, Dodd PR. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. Neurochem Int 2004;45(5):583-95.
30. Edelberg HK, Wei JY. The biology of alzheimer's disease. Mech Ageing Dev 1996;91(2):95-114.
31. Small DH. Network dysfunction in Alzheimer's disease: does synaptic scaling drive disease progression?. Trends Mol Med 2008;14(3):103-8.
32. Tabaton M, Perry G, Autilio-Gambetti L, Manetto V, Gambetti P. Influence of neuronal location on antigenic properties of neurofibrillary tangles. Ann Neurol 1988; 23: 604-610.
33. Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. Acta Neuropathol 1991; 82: 239-59.
34. Bennett DA, Schneider JA, Wilson RS, et al. Neurofibrillary tangles mediate the association of amyloid load with clinical Alzheimer disease and level of cognitive function. Arch Neurol 2004; 61: 378.
35. Spillantini MG, Murrell JR, Goedert M, et al. Mutation in the tau gene in familial multiple system tauopathy with presenile dementia. Proc Natl Acad Sci U S A 1998; 95: 7737-41.
36. Price DL. Aging of the brain and demantia of the Alzheimer type. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM, Principals of Neural Science 4th ed. McGraw-Hill, New York,2000,1149-1161.

37. Santacruz K, Lewis J, Spires T, et al. Tau suppression in a neurodegenerative Mouse model improves memory function. Science 2005; 309: 476.

38. Cras P, Kawai M, Siedlak S, Perry G. Microglia are associated with the extracellular neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. Brain Res 1991; 558: 312-314.

39. Love S, Saitoh T, Quijada S, Cole GM, Terry RD. Alz-50, ubiquitin and tau immunoreactivity of neurofibrillary tangles, Pick bodies and Lewy bodies. J Neuropath Exp Neurol 1988; 47: 393-405.

40. Yamaguchi H, Nakazato Y, Kawarabayashi T, Ishiguro K, Ihara Y, Morimatsu M, Hirai S. Extracellular neurofibrillary tangles associated with degenerating neurites and neuropil threads in Alzheimer-type dementia. Acta Neuropathol 1991; 81: 603-609.

41. Sezer C, Memiş L: Alzheimer hastalığı histopatolojisi, Demans Dergisi;1: 42-49, 2001.

42. Advances with RNA interference in Alzheimer's disease research. Chen S, Ge X, Chen Y, Lv N, Liu Z, Yuan W. Drug Des Devel Ther. 2013;7:117-25. doi: 10.2147/DDDT.S40229. Epub 2013 Feb 22.

43. Tanzi RE. Tangles and neurodegenerative disease a surprising twist. N Engl J Med 2005; 353:1853.

44. Bondareff W, Wischik CM, Novak M, Amos WB, Klug A, Roth M. Molecular analysis of neurofibrillary degeneration in Alzheimer's disease: an immunohistochemical study. Am J Pathol 1990; 137: 711-723.

45. Buee L, Delacourte A. Comparative biochemistry of tau in progressive supranuclear palsy, corticobasal degeneration, FTDP-17 and Pick's disease. Brain Pathol 1999; 4: 681-693.

46. Chen F, David D, Ferrari A, Gotz J. Posttranslational modifications of tau: role in human tauopathies and modelling in transgenic animals. Curr Drug Targets 2004; 5: 503-515.

47. Bird TD, Miller BL. Alzheimer's disease and other dementias. In: Kaspar DL et al.; eds. Harrison's Principles of Internal Medicine. 16th ed. McGraw-Hil;,2005:2393-2406.

48. Iwatsubo T, Odaka A, Suzuki N, et al. Visualization of A beta 42(43) and A beta 40 in senile plaques with end-specific A beta monoclonals: evidence that an initially deposited species is A beta 42(43). Neuron 1994; 13: 45-53.

49. Cummings JL. Alzheimer’s disease. N Engl J Med 2004; 351: 56.

50. Naslund J, Haroutunian V, Mohs R, et al. Correlation between elevated levels of amyloid beta-peptide in the brain and cognitive decline. JAMA 2000; 283: 1571

51. Georganopoulou DG, Chang L, Nam JM, et al. Nanoparticle-based detection in cerebral spinal fluid of a soluble pathogenic biomarker for Alzheimer’s disease. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102: 2273

52. Kelin WL, Kraft GA, Finch CE. Targeting small Abeta oligomers: the solution to an Alzheimer’s disease conundrum? Trends Neurosci 2001; 24: 219.

53. Gandy S. The role of cerebral amyloid beta accumulation in common forms of Alzheimer disease. J Clin Invest 2005; 115: 1121.

54. Haass C, Schlossmacher MG, Hung AY, et al. Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. Nature 1992; 359: 322-5.

55. Shoji M, Golde TE, Ghiso J, et al. Production of the Alzheimer amyloid beta protein by normal proteolytic processing. Science 1992; 258: 126-9.

56. Citron M, Oltersdorf T, Haass C, et al. Mutation of the beta-amyloid precursor protein in familial Alzheimer’s disease increases beta-protein production. Nature 1992; 360: 672-4.

57. Suzuki N, Cheung TT, Cai XD, et al. An increased percentage of long amyloid beta protein secreted by familial amyloid beta protein precursor (beta APP717) mutants. Science 1994; 264:1336-40.

58. Advances with RNA interference in Alzheimer's disease research. Chen S, Ge X, Chen Y, Lv N, Liu Z, Yuan W. Drug Des Devel Ther. 2013;7:117-25. doi: 10.2147/DDDT.S40229. Epub 2013 Feb 22.

59. Gürvit H. Sinir Sisteminin Dejeneratif Hastalıkları. Demans Sendromu, Alzheimer Matbaacılık; 2004: 367-415.

60. Markesbery WR, Kryscio RJ, Lovell MA et al. Lipid peroxidation is an early event in the brain in amnestic mild cognitive impairment. Ann Neurol 2005; 58: 730.

61. Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature., Nelson PT, Alafuzoff I, Bigio EH, Bouras C, Braak H, Cairns NJ, Castellani RJ, Crain BJ, Davies P, Del Tredici K, Duyckaerts C, Frosch MP, Haroutunian V, Hof PR, Hulette CM, Hyman BT, Iwatsubo T, Jellinger KA, Jicha GA, Kövari E, Kukull WA, Leverenz JB, Love S, Mackenzie IR, Mann DM, Masliah E, McKee AC, Montine TJ, Morris JC, Schneider JA, Sonnen JA, Thal DR,

Trojanowski JQ, Troncoso JC, Wisniewski T, Woltjer RL, Beach TG., J Neuropathol Exp Neurol. 2012 May;71(5):362-81.

62. Simchowicz T. Histologische studien ¨uber die senile dementz in histol. und histopathol. Arbeiten Aber Grosshirnrinde 1911; 4: 267–260.
63. Hirano A, Dembitzer HM, Kurland LT, Zimmerman HM. The fine structure of some intraganglionic alterations. Neurofibrillary tangles, granulovacuolar bodies and ‘‘rod-like’’ structures as seen in Guam amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism dementia complex. J Neuropathol Exp Neurol 1968; 27: 167–182.
64. Galloway PG, Perry G, Gambetti P. Hirano body filaments contain actin and actinassociated proteins. J Neuropathol Exp Neurol 1987;46:185–199. [PubMed: 3029338]
65. Alzheimer Disease, Castellani RJ, Rolston RK, Smith MA., Dis Mon. 2010 Sep;56(9):484-546. doi: 10.1016/j.disamonth.2010.06.001.
66. Hirano A, Dembitzer HM, Kurland LT, Zimmerman HM. The fine structure of some intraganglionic alterations. Neurofibrillary tangles, granulovacuolar bodies and "rod-like" structures as seen in Guam amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex. J Neuropathol Exp Neurol 1968;27:167–182.
67. Boyd WD, Graham-White J, Blachwood G ve ark. (1977) Clinical effects of choline in Alzheimer senile dementia. Lancet,2:711.
68. Fisher A. Cholinergic treatments with emphasis on ml muscarinic agonists as potential disease-modifying agents for Alzheimer's disease. Neurotherapeutics 2008;5(3):433-42.
69. Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. Nature 2004;430(7000):631-9.
70. Ercan ZS (2002) Alzheimer hastalığı tedavisinde kullaıýlan kolinesteraz inhibitörleri. Demans Dergisi, 2:5-9.
71. Tahl LJ, Rosen W, Sharpless NS ve ark. (1981) Neuropeptidergic systems in plaques of Alzheimer's Disease. Neurobiol Aging, 2:205-208.
72. Little A, Chuaqui-Kidd P, Levy R (1984) Early results from double-blind, placebo control trails of high dose lecithin in Alzheimer's Disease, Alzheimer's Disease: Advences in Basic Research and Therapies. RJ Wurtman, SH Corkin, JH Growdon (Ed), Zurich, s.313-339.

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

74. Alzheimer Hastalığının Fizyopatolojisi, Gülistan Bahat ÖZTÜRK, M. Akif KARAN, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri B.D.

75. Fisher A. Cholinergic treatments with emphasis on ml muscarinic agonists as potential disease-modifying agents for Alzheimer's disease. Neurotherapeutics 2008;5(3):433-42.

76. Grossberg GT. The ABC of Alzheimer's disease: behavioral symptoms and their treatment. Int Psychogeriatr. 2002;14 (Suppl 1):27-49.

77. Tanaka Y, Meguro K, Yamaguchi S, Ishii H, Watanuki S, Funaki Y, et al. Decreased striatal D2 receptor density associated with severe behavioral abnormality in Alzheimer's disease. Ann Nucl Med 2003;17(7):567-73.

78. Cankurtaran M, Arıoğul S. Alzheimer hastalığı ve vasküler demansta risk faktörleri. Hacettepe Üniversitesi İç Hastalıkları AD Geriatri Ünitesi Yan dal uzmanlık tezi, 2004.

79. Moceri V. Early risk factors and development of Alzheimers disease. Neurology 2000; 54:415-420.

80. Arıoğul S. Alzheimer tip demansta risk faktörleri. 5. Ulusal İç hastalıkları Kongresi kitabı 2003; 102-105.

81. Kurt GS. Alzheimer hastalığında genetik dısı etyolojik faktörler. Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi 2003;1(1):38-44.

82. Van Dujin CM. Risk factors for Alzheimer’s disease. Overview of EURODEM. Int J Epidemiol 1991; 20(2): 4-11.

83. Terry RD, Katzman R, Bick KL, Sisodia SS. Alzheimer hastalığı. Çeviri editörü İ Hakan Gürvit. Yelkovan yayıncılık, İstanbul, 2001.

84. Karaman Y. Alzheimer hastalığı ve diğer demanslar. 1.baskı. Ankara, Lebib Yalkın Matbaası, 2002.

85. Kaye JA. Diagnostic challenges in dementia. Neurology 1998;51(suppl 1):S45-52.

86. Ravaglia G. Education, occupation and prevalance of dementia. Finding from the Concelice study. Dement geriatr Cogn Disorderd 2002;14:90-100.

87. Tuppo EE, Arias H. The role of inflammation in Alzheimer's disease. Int J Biochem Cell Biol 2005; 37: 289-305.

88. Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's Disease. Science. 2006; 314: 777-781.

89. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. Nature 1991; 349: 704-6.

90. Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. Nature 1995; 375: 754-60.

91. Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. Science 1995; 269: 973-7.

92. Citron M, Westaway D, Xia W, et al. Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. Nat Med 1997;3: 67-72.

93. Lippa CF, Nee LE, Mori H, et al. Abeta-42 deposition precedes other changes in PS-1 Alzheimer's disease. Lancet 1998; 352: 1117-8.

94. Smith MJ, Kwok JB, McLean CA, et al. Variable phenotype of Alzheimer's disease with spastic paraparesis. Ann Neurol 2001; 49: 125-9.

95. Doglio LE, Kanwar R, Jackson GR, et al. Gamma-cleavage-independent functions of presenilin, nicastrin, and Aph-1 regulate cell-junction organization and prevent tau toxicity in vivo. Neuron 2006; 50: 359-75.

96. Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, et al. Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. Science 1999; 286: 735-41.

97. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. Science 2002; 297: 353-6.

98. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, et al. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. Proc Natl Acad Sci U S A 1993; 90: 1977-81.

99. Mahley RW, Weisgraber KH, Huang Y. Apolipoprotein E4: a causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease. Proc Natl Acad Sci U S A 2006; 103: 5644-51.

100. Rogaeva E, Meng Y, Lee JH, et al. The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. Nat Genet 2007; 39: 168-77.

101. Dreses-Werringloer U, Lambert JC, Vingtdeux V,et al. A polymorphism in CALHM1 influences Ca2+ homeostasis, Abeta levels, and Alzheimer's disease risk. Cell 2008;133: 1149-61.

102. Bertram L, McQueen MB, Mullin K, et al. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. Nat Genet 2007; 39: 17-23.

103. Green KN, Demuro A, Akbari Y, et al. SERCA pump activity is physiologically regulated by presenilin and regulates amyloid beta production. J Cell Biol 2008; 181: 1107-16.

104. Yoo AS, Cheng I, Chung S, et al. Presenilin-mediated modulation of capacitative calcium entry. Neuron 2000; 27: 561-72.

105. Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. Nature 1995; 375: 754-60.

106. Tanzi RE, Bertram L. Alzheimer's Disease The latest suspect. Nature 2008; 454: 706-7.

107. Sano M; Update on treatment of cognitive symptoms in dementia. In: Dementia Update. American Academy of Neurology 49th Annual Meeting, April 12-19, 1997 Boston, MA; 1997, American Academy of Neurology Press, USA, 1997: 107-115.

108. Cummings JL. Alzheimer's Disease. NEJM 2004; 351: 56-67.

109. Jones R. The Dementias. Clinical Medicine 2003; 3: 404-408.

110. Park HL, O'Connell JE, Thomson RG. A systematic review of cognitive decline in the general elderly population. Int J Geriatr Psychiatry 2004; 18(12):1121-1134.

111. Terry RD, Katzman R, Bick KL, Sisodia SS. Alzheimer hastalığı. Çeviri editörü İ Hakan Gürvit. Yelkovan yayıncılık, İstanbul, 2001.

112. Karaman Y. Alzheimer hastalığı ve diğer demanslar. 1.baskı. Ankara, Lebib Yalkın Matbaası, 2002.

113. Cankurtaran M, Arıoğul S. Alzheimer hastalığı ve tedavisinde yenilikler. Türkiye Tıp Dergisi Dahili Tıp Bilimleri 2002; 9(3): 128-136.

114. Yavuz BB, Arıoğul S. Yaşlıda demans, risk faktörleri ve tedavisi. Cep Tıp Geriatri serisi Nöropsikiyatri, 2005.

115. Yaşlı hastada demans değerlendirmesi ve önemi Dede ŞD, Arıoğul S. Türkiye Tıp Dergisi Geriatri özel Sayısı, 2005.

116. Ulger Z, Arıoğul S. Demans ve tedavisi. Türkiye Tıp Dergisi Geriatri özel Sayısı, 2005.

117. Schenk D, Barbour R, Dunn W. Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. Nature1999; 400: 173-179.

118. Orgogozo JM, Gilman S, Dartigues JF et al. Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abeta42 immunization. Neurology 2003; 61: 46-54.

119. Tebar F, Bohlander SK, Sorkin A (1999) Clathrin assembly lymphoid myeloid leukemia (CALM) protein: localization in endocytic-coated pits, interactions with clathrin, and the impact of overexpression on clathrin-mediated traffic. Mol Biol Cell 10: 2687–2702.

120. Mettlen M, Stoeber M, Loerke D, Antonescu CN, Danuser G, et al. (2009) Endocytic accessory proteins are functionally distinguished by their differential effects on the maturation of clathrin-coated pits. Mol Biol Cell 20: 3251–3260.

121. Nordstedt C, Caporaso GL, Thyberg J, et al. Identification of the Alzheimer β/A4 amyloid precursor protein in clathrin-coated vesicles purified from PC12 cells. J. Biol. Chem. 1993; 268:608–12.

122. Kyriazis GA, Wei Z, Vandermey M, et al. Numb endocytic adapter proteins regulate the transport and processing of the amyloid precursor protein in an isoform-dependent manner: implications for Alzheimer disease pathogenesis. J Biol Chem. 2008; 283:25492–502.

123. Ford MG, Pearse BM, Higgins MK, et al. Simultaneous binding of PtdIns(4,5)P2 and clathrin by AP180 in the nucleation of clathrin lattices on membranes. Science. 2001; 291:1051–5.

124. Yao PJ, Zhang P, Mattson MP, et al. Heterogeneity of endocytic proteins: Distribution of clathrin adaptor proteins in neurons and glia. Neuroscience. 2003; 121:25–37.

125. Tebar F, Bohlander SK, Sorkin A. Clathrin assembly lymphoid myeloid leukemia (CALM) protein: localization in endocytic-coated pits, interactions with clathrin, and the impact of overexpression on clathrin-mediated traffic. Mol Biol Cell. 1999; 10:2687–702.

126. Bushlin I, Petralia RS, Wu F, et al. Clathrin assembly protein AP180 and CALM differentially control axogenesis and dendrite outgrowth in embryonic hippocampal neurons. J Neurosci. 2008;28:10257–71.

127. Kim JA, Kim HL. Cleavage of purified neuronal clathrin assembly protein (CALM) by caspase 3 and calpain. Exp Mol Med. 2001; 33:245–50.

128. Rudinskiy N, Grishchuk Y, Vaslin A, et al. Calpain hydrolysis of α- and β2-adaptins decreases clathrin-dependent endocytosis and may promote neurodegeneration. J Biol Chem. 2009;284:12447–58.

129. Redondo M, Tellez T, Roldan MJ (2009) The role of clusterin (CLU) in malignant transformation and drug resistance in breast carcinomas. Adv Cancer Res 105: 21–43.

130. Nuutinen T, Suuronen T, Kauppinen A, Salminen A (2009) Clusterin: a forgotten player in Alzheimer's disease. Brain Res Rev 61: 89–104.

131. Calero M, Rostagno A, Matsubara E, Zlokovic B, Frangione B, et al. (2000) Apolipoprotein J (clusterin) and Alzheimer's disease. Microsc Res Tech 50: 305–315.

132. May PC, Lampert-Etchells M, Johnson SA, Poirier J, Masters JN, et al. (1990) Dynamics of gene expression for a hippocampal glycoprotein elevated in Alzheimer's disease and in response to experimental lesions in rat. Neuron 5: 831–839.

133. Choi-Miura NH, Ihara Y, Fukuchi K, Takeda M, Nakano Y, et al. (1992) SP-40,40 is a constituent of Alzheimer's amyloid. Acta Neuropathol 83: 260–264.

134. Fiete D, Mi Y, Oats EL, Beranek MC, Baenziger JU. N-linked oligosaccharides on the low density lipoprotein receptor homolog SorLA/LR11 are modified with terminal GalNAc-4-SO4 in kidney and brain. J Biol Chem 2007;282:1873–81.

135. Andersen OM, Reiche J, Schmidt V, Gotthardt M, Spoelgen R, Behlke J, et al. Neuronal sorting protein-related receptor sorLA/LR11 regulates processing of the amyloid precursor protein. Proc Natl Acad Sci U S A 2005;102:13461–6.

136. The role of CR1 complement receptor in pathology. Rochowiak A, Niemir ZI. Pol Merkur Lekarski. 2010 Jan;28(163):84-8. Review.

137. Ferri CP, Prince M, Brayne C, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. Lancet. 2005;366(9503):2112–2117.

138. Kukull WA, Higdon R, Bowen JD, et al. Dementia and Alzheimer disease incidence: a prospective cohort study. Arch Neurol. 2002;59(11):1737–1746.

139. Bird TD. Genetic aspects of Alzheimer disease. Genet Med. 2008;10(4):231–239.

140. Mayeux R. Epidemiology of neurodegeneration. Ann Rev Neurosci. 26:81–104.

141. Mattson MP. Gene-diet interactions in brain aging and neurodegenerative disorders. Ann Intern Med. 139:441–444.

142. Bush AI, Masters CL, Tanzi RE. Copper, beta-amyloid, and Alzheimer's disease: tapping a sensitive connection. Proc Natl Acad Sci USA. 2003;100:11193–11194.

143. Genetics of Alzheimer's disease: a centennial review. Ertekin-Taner N. Neurol Clin. 2007 Aug;25(3):611-67, v. Review.

144. CLU, CR1 and PICALM genes associate with Alzheimer's-related senile plaques. Kok EH1, Luoto T, Haikonen S, Goebeler S, Haapasalo H, Karhunen PJ.Alzheimers Res Ther. 2011 Apr 5;3(2):12. doi: 10.1186/alzrt71.

145. Meta-analysis confirms CR1, CLU, and PICALM as alzheimer disease risk loci and reveals interactions with APOE genotypes. Jun G1, Naj AC, Beecham GW, Wang LS, Buros J, Gallins PJ, Buxbaum JD, Ertekin-Taner N, Fallin MD, Friedland R, Inzelberg R, Kramer P,Rogaeva E, St George-Hyslop P; Alzheimer's Disease Genetics Consortium, Cantwell LB, Dombroski BA, Saykin AJ, Reiman EM, Bennett DA,Morris JC, Lunetta KL, Martin ER, Montine TJ, Goate AM, Blacker D, Tsuang DW, Beekly D, Cupples LA, Hakonarson H, Kukull W, Foroud TM,Haines J, Mayeux R, Farrer LA, Pericak-Vance MA, Schellenberg GD..Arch Neurol. 2010 Dec;67(12):1473-84. doi: 10.1001/archneurol.2010.201. Epub 2010 Aug 9.

146. Nat Genet. 2007 Feb;39(2):168-77. Epub 2007 Jan 14. The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. Rogaeva E, Meng Y, Lee JH, Gu Y, Kawarai T, Zou F, Katayama T, Baldwin CT, Cheng R, Hasegawa H, Chen F, Shibata N, Lunetta KL, Pardossi-Piquard R, Bohm C, Wakutani Y, Cupples LA, Cuenco KT, Green RC, Pinessi L, Rainero I, Sorbi S, Bruni A, Duara R, Friedland RP, Inzelberg R, Hampe W, Bujo H, Song YQ, Andersen OM, Willnow TE, Graff-Radford N, Petersen RC, Dickson D, Der SD, Fraser PE, Schmitt-Ulms G, Younkin S, Mayeux R, Farrer LA, St George-Hyslop P.

147. Bettens K, Brouwers N, Engelborghs S, De Deyn PP, Van Broeckhoven C, Sleegers K. SORL1 is genetically associated with increased risk for late-onset Alzheimer disease in the Belgian population. Hum Mutat. 2008 May;29(5):769-70.

148. Implication of sex and SORL1 variants in italian patients with Alzheimer disease. Cellini E, Tedde A, Bagnoli S, Pradella S, Piacentini S, Sorbi S, Nacmias B. Arch Neurol. 2009 Oct;66(10):1260-6. doi: 10.1001/archneurol.2009.101.

149. Meta-analysis of the Association between Alzheimer Disease and Variants in GAB2, PICALM, and SORL1. Wang Z, Lei H, Zheng M, Li Y, Cui Y1, Hao F. Mol Neurobiol. 2015 Nov 27.

150. Don, R.H., P.T. Cox., B.J. Wainwright, K. Baker and J.S. Mattick 1991. Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene aplification. Nucleic Acids Res., 19:4008.

151. SORL1 Genetic Variants And Cerebrospinal Fluid Biomarkers Of Alzheimer's Disease. Guo LH, Westerteicher C, Wang XH, Kratzer M, Tsolakidou A, Jiang M, Grimmer T, Laws SM, Alexopoulos P, Bujo H, Kurz A, Perneczky R. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2012 Sep;262(6):529-34.

152. Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. Lambert JC1, Heath S, Even G, Campion D, Sleegers K, Hiltunen M, Combarros O, Zelenika D, Bullido MJ, Tavernier B, Letenneur L, Bettens K, Berr C, Pasquier F, Fiévet N, Barberger-Gateau P, Engelborghs S, De Deyn P, Mateo I, Franck A, Helisalmi S, Porcellini E, Hanon O; European Alzheimer's Disease Initiative Investigators, de Pancorbo MM, Lendon C, Dufouil C, Jaillard C, Leveillard T, Alvarez V, Bosco P, Mancuso M, Panza F, Nacmias B, Bossù P, Piccardi P, Annoni G, Seripa D, Galimberti D, Hannequin D, Licastro F, Soininen H, Ritchie K, Blanché H, Dartigues JF, Tzourio C, Gut I, Van Broeckhoven C, Alpérovitch A, Lathrop M, Amouyel P. Nat Genet. 2009 Oct;41(10):1094-9. doi: 10.1038/ng.439. Epub 2009 Sep 6.

153. Nuutinen, T., Suuronen, T., Kauppinen, A. ve Salminen, A. (2009). Clusterin: A forgotten player in Alzheimer's disease. Brain Research Reviews, 61(2), 89-104.

154. Yerbury, J.J., Poon, S., Meehan, S., Thompson B., Kumita, J.R., Dobson, C.M. ve ark. (2007). The extracellular chaperone clusterin influences amyloid formation and toxicity by interacting with prefibrilar structures. The FASEB Journal, 21(10), 2312-2322.

155. Charnay, Y., Imhof, A., Vallet, P.G., Kovari, E., Bouras, C. ve Giannakopoulos, P. (2012). Clusterin in neurological disorders: molecular perspectives and clinical relevance. Brain Research Bulletin, 88(5), 434-443.

156. Yu, J.T. ve Tan, L. (2012). The role of clusterin in Alzheimer's disease: Pathways, pathogenesis, and therapy. Molecular Neurobiology, 45(2), 314-326.

157. Nilselid, A.M., Davidsson, P., Nagga, K., Andresen, N, Fredman, P., Blennow,

K. (2006). Clusterin in cerebrospinal fluid: analyses of carbohydrates and quantification of natice and glycosylated forms. Neurochemistry International, 48(8), 718-728.

158. DeMattos, R.B., Cirrito, J.R., Parsadaninan M., May, P.C., O'Dell, M.A, Taylor,J.W. ve ark. (2004). ApoE and clusterin cooperatively suppress Abeta levels anddeposition: evidence that ApoE regulates extracellular Abeta metabolism in vivo.Neuron, 41 (2), 193-202.

159. De Silva, H.V., Stuart, W.D., Duvic, C.R., Wetterau, J.R., Ray, M.J., Ferguson,D.G. ve ark. (1990). A 70-kDa apolipoprotein designated ApoJ is a marker forsubclasses of human plasma high density lipoproteins. The Journal of BiologicalChemistry, 265(22), 13240-13247.

160. Zhang, H., Kim, J.K., Edwards, C.A., Xu, Z., Taichman, R., Wang, C.Y. (2005).Clusterin inhibits apoptosis by interacting with activated Bax. Nature Cell Biology,7(9), 909-915.

161. Nuutinen, T., Suuronen, T., Kauppinen, A. ve Salminen, A. (2009). Clusterin: A forgotten player in Alzheimer's disease. Brain Research Reviews, 61(2), 89-104.

162. Nilselid, A.M., Davidsson, P., Nagga, K., Andresen, N, Fredman, P., Blennow, K. (2006). Clusterin in cerebrospinal fluid: analyses of carbohydrates and quantification of natice and glycosylated forms. Neurochemistry International, 48(8), 718-728.

163. Structural and quantitative comparison of cerebrospinal fluid glycoproteins in Alzheimer's disease patients and healthy individuals. Sihlbom C, Davidsson P, Sjögren M, Wahlund LO, Nilsson CL. Neurochem Res. 2008 Jul;33(7):1332-40. doi: 10.1007/s11064-008-9588-x. Epub 2008 Feb 21.

HAM VERİLER

FORMLAR

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)

Çalışmanın Adı: “Alzheimer Hastalarında Tau ve Beta-amiloid Oluşumuna Yol Açan Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi”

Çalışmaya alzheimer tanısı konulmuş 60 hasta ve 60 birey katılacaktır.

Gönüllüden 10 cc EDTA’lı kan örneği alınacaktır.

Alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılacaktır.

Elde edilen DNA örneklerinde hastalığınızın oluşmasında rol oynayabileceği düşünülen

gen polimorfizmlerinin incelenmesi için Real-Time PCR tekniği kullanılacaktır.

Polimorfizm çalışmaları, direkt hastalık sonucunu belirtmemekte olup, kişiye söz konusu hastalığa yatkınlıkla ilişkili genetik yapıya sahip olup olmadığını göstermektedir.

Elde edilen DNA bu çalışma dışında başka bir işlem için kullanılmayacaktır.

Diğer bir çalışmada gönüllü DNA’sının kullanılması gerektiğinde kendisinden izin alınacaktır.

Gönüllünün uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlıkla ve riskle karşılaşması söz konusu değildir.

Bu çalışmada gönüllünün hiçbir hukuki ve mali sorumluluğu bulunmayıp tüm sorumluluk araştırıcı ve destekleyiciye aittir. Gönüllü arzusu üzerine mali ve hukuki yükümlülük olmaksızın çalışmadan ayrılabilir.

Kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır.

Bu işlemler için sizden hiçbir ücret talep edilmeyecektir.

Bu çalışma için size herhangi bir ücret ödenmeyecektir.

Çalışmaya katılmak zorunluluğunuz bulunmamaktadır.

Gönüllünün çalışmaya katılmayı reddetmesi onun gelecekteki takip ve tedavisi üzerine olumsuz etkisi bulunmayacaktır.

Bu çalışmada gönüllünün hiçbir hukuki ve mali sorumluluğu bulunmayıp tüm sorumluluk araştırıcı ve destekleyiciye aittir.

Gönüllünün çalışmaya katılım süreci sadece doku örneğinin alınması ile sınırlıdır.

Çalışma kabul kriterlerin'e ve özelliklerine uyum sağlamadığınız takdirde çalışmadan çıkarılabileceğiniz durumlar oluşabilir. Bu nedenle çalışmadan araştırıcının isteği ile çıkarılabilirsiniz.

Çalışma sonunda elde edilecek verilerle uluslararası çapta yayınlanabilecek, hastalığınıza açıklık getirecek bilgiler elde edilebilmesi mümkündür. Bu şekilde çalışma sonucunda ulaşılan önemli bir bilgi varsa tarafınıza bildirilecektir.

Sayın Prof. Dr. Gökhan Erkol tarafından İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde,

her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte,

Prof. Dr. Gökhan Erkol'u arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımıma ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-soyadı, İmzası

Prof. Dr. Gökhan Erkol

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-soyadı, İmzası, Görevi

Moleküler Biyolog Feyza Genç

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı : 542 Tarih : 22.03.2012

Konu : Prof.Dr.Sadrettin PENÇE

Sayın Prof.Dr.Sadrettin PENÇE
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü

İlgi :Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsünün 02/03/2012 gün ve 199 sayılı yazısı

Sorumlu araştırıcılığını üstlendiğiniz ve Yüksek Lisans Öğrencisi Feyza GENÇ'in yürüteceği 2012/436-994 dosya numaralı "Alzheimer hastalarında tau ve beta-amiloid oluşumuna yol açan gen polimorfizmlerinin incelenmesi" başlıklı araştırma kurulumuzun 09.03.2012 tarihli 05 sayılı toplantısında onaylanmış olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.
Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	02/03/2012		Türkçe ■ İngilizce ☐ Diğer☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☐		Türkçe ■ İngilizce ☐ Diğer☐
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer☐

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐	
	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	■	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	■	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgu Rapor Formu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:05**	**Tarih: 09/03/2012**
	İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsünde görevli **Prof.Dr.Sadrettin PENÇE** 'nin yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir..	

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	**19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik**
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	**Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN**

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐	K ■	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof. Dr. Rukiye EKER ÖMEROĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☐	K ■	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof. Dr. Pınar SAİP	Onkoloji	İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü	E ☐	K ■	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Dr. Muhtar ÇOKAR	Deontolog	İstanbul İnsan Kaynağını geliştirme Vakfı	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof.Dr. Ayşen BULUT	Halk Sağlığı	Emekli	E ☐	K ■	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Doç.Dr. Tufan TÜKEK	İç Hastalıkları	Okmeydanı Eğitim ve Araş.Hast.İç Hast.1.Dahiliye Kliniği	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof. Dr. Ünal KUZGUN	Ortopedi	Emekli	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof. Dr. Ahmet O. ARAMAN	Eczacılık	İ.Ü. Eczacılık Fakültesi	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK	Hukukçu	İstanbul Üniversitesi	E ☐	K ■	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof. Dr. Demir TİRYAKİ	Biyofizik	Emekli	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
M. Kerim AKMAN	İİBF iktisat bölümü	Özel (Ekonomist)	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Dr. Sevda ÖZEL	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E ☐	K ■	E ☐	H ■	E ■	H ☐	

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

Bu karar araştırma projesinin etik açıdan değerlendirme sonucunu bildirmektedir. Klinik ilaç araştırması projeleri için, etik kurulu onayı sonrasında, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmeliğin 5/a .maddesi gereğince, Sağlık Bakanlığına da başvurulması ve gerekli iznin alınması gerekmektedir.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**"Alzheimer hastalarında tau ve beta-amiloid oluşumuna yol açan gen polimorfizmlerinin incelenmesi"**			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	**Prof.Dr.Sadrettin PENÇE**			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	**Moleküler Tıp**			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	**İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü**			
	DESTEKLEYİCİ	**İ.Ü.Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi**			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
		Yüksek Doz Araştırması	☐		
		Diğer ise belirtiniz : Deneysel Araştırma			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ■	ULUSAL ■	ULUSLARARASI ☐

İSTANBUL
2012
T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

Sayı : B.30.2.İST.O.42.00.00/ 3338
Konu: Tez projesi hk.

25/5/2012

Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanlığı'na,
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü

İlgi: 16.05.2012 tarihli 197 sayılı yazınız ve ekleri.

Anabilim Dalınızda 2010-2011 öğretim yılı bahar yarıyılında başladığı Yüksek Lisans eğitimine Prof.Dr.Sadrettin Pençe'nin danışmanlığı altında devam eden **5883** no'lu **Feyza Genç'in** "Alzheimer Hastalarında Tau ve Beta-Amilod Oluşumuna Yol Açan Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi" başlıklı tez çalışması hakkındaki ilgi yazılarınız ve buna ekli Tez Projesi Formu Yönetim Kurulumuzun 22.05.2012 tarihli 21 sayılı toplantısında incelenmiş, uygun olduğuna karar verilmiştir.

Tez projesinin Danışman tarafından izlenerek Müdürlüğümüze her yarıyıl en az bir ara rapor sunulmasını ve durumun Danışman öğretim üyesine ve öğrenciye duyurulmasını rica ederim.

Prof.Dr.Nevin YALMAN
V.Müdür

PATENT HAKKI İZNİ

TELİF HAKKI İZNİ

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Feyza	**Soyadı**	GENÇ ŞATIR
Doğ.Yeri	Köyceğiz	**Doğ.Tar.**	17/05/1989
Uyruğu	T.C.	**TC Kim No**	
Email	fyzgnc@gmail.com	**Tel**	05544971840

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İ.Ü. Fen Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik	2010
Lise	Burdur Fen Lisesi	2006

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Biyolog	İstanbul Anadolu Kuzey Merkez Laboratuvarı / RT-PCR Lab.	2013- halen
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İngilizce	orta	zayıf	zayıf	67	

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	95	96	
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Keman çalmak