T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALZHEİMER HASTALARINDA SERUM SİRTUİN-1, HMGB1-TLR4, NF-kB ve IL-6 DÜZEYLERİ VE NÖROENFLAMATUVAR YOLAĞIN DEMANS ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Nazrin GULMAMMADLİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Dildar KONUKOĞLU

Biyokimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Ağustos, 2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Nazrin GULMAMMADLİ tarafından, **Prof. Dr. Dildar KONUKOĞLU** danışmanlığında hazırlanan ***ALZHEİMER HASTALARINDA SERUM SİRTUİN-1, HMGB1-TLR4, NF-kB ve IL-6 DÜZEYLERİ VE NÖROENFLAMATUVAR YOLAĞIN DEMANS ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI*** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **10/06/2022** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

		İmza	**Sonuç**
DANIŞMAN	Prof. Dr. Dildar KONUKOĞLU İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı		☐ Kabul
ÜYE	Prof. Dr. Hüseyin Avni SÖNMEZ İstanbul Üniversitesi-Cerrahğaşa Biyokimya Anabilim Dalı		☐ Kabul
ÜYE	Prof. Dr. Şölen HİMMETOĞLU Biruni Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı		☐ Kabul

BEYAN

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

Nazrin GULMAMMADLİ

(İmza)

BÜTÇE DESTEKLERİ

ALZHEİMER HASTALARINDA SERUM SİRTUİN-1, HMGB1-TLR4, NF-kB ve IL-6 DÜZEYLERİ VE NÖROENFLAMATUVAR YOLAĞIN DEMANS ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 35926

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda ve klinik ile ilgili çeşitli uygulamalarda bana yardımcı olan ve her zaman her şekilde yardım ve desteklerini esirgemeyen; azmi, çalışkanlığı ve profesiyonelliğini ve disiplinini hayranlanılıkla izlediğim ve kendime örnek aldığım, öğrencisi olmaktan büyük onur ve gurur duyduğum danışanım ve değerli hocam;

Prof. Dr. Dildar Konukoğlu'na

Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Hüseyin Avni Sönmez'e ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nın değerli tüm hocalarına,

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bana destek olan uzman arkadaşlarıma başta Uzm. Öğr. Dr. Melek Karasu, Dr. Eda Merve Kurtuluş'a, Dr İbrahim Erbay ve tüm Fikret Biyal Tıbbi Laboratuvar personeline,

Tez çalışmamda yer alan parametrelerin çalışılmasında büyük emeği olan Selva Kaplanoğlu'na

Çalışmaya gönüllü olarak dahil olan herkese,

Koşulsuz sevgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili annem, babam, abime ve değerli arkadaşlarım Esra Kosif ve Sara Gül Avcı'ya çok teşekkür ederim.

Ağustos 2022 **Nazrin GULMAMMADLİ**

İçindekiler

TEZ KABUL VE ONAYI ii
BEYAN iii
BÜTÇE DESTEKLERİ iv
TEŞEKKÜR v
İçindekiler vi
ŞEKİL LİSTESİ viii
TABLO LİSTESİ xi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ xii
ÖZET xviii
ABSTRACT xx
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Alzheimer Demansı 3
2.2. Alzheimer-dışı demans 4
2.3. Epidemiyoloji 5
2.4. Risk Faktörleri 7
2.5. Klinik Belirtiler ve Hastalığın Seyri 9
2.6. Tanı 11
2.6.1. Biyobelirteçler 11
2.7. Standart Mini Mental Testi (SMMT) 14
2.8. NINCDS–ADRDA (National Institute of Neurological Disorders and Stroke–Alzheimer Disease and Related Disorders) 14
2.9. Tedavi 14
2.10. ALZHEİMER DEMANSININ MOLEKÜLER TEMELİ 15
2.10.1. Aβ protein hipotezi (Amiloid kaskad hipotezi) 17
2.10.2. Tau protein toksisitesi 18
2.10.3. Kolinerjik hipotez 20
2.10.4. Oksidatif stres hipotezi 22
2.10.5. Nöroenflamasyon 24
2.11. Nöroenflamatuvar Belirteçler 27

2.11.1. HIGH MOBİLİTY GROUP BOX-1 (HMGB1) 32
2.11.2. TOLL BENZERİ RESEPTÖR-4 (TLR4) 36
2.11.3. SİRTUİN-1 (SIRT-1) 29
2.11.4. İNTERLÖKİN-6 (IL-6) 38
2.11.5. Nükleer Faktör-kB (NF-kB) 41
2.11.6. FOSFORİLE-TAU-181 (p-tau181) 43
2.11.7. AMİLOİD β-42 (Aβ-42) 44
3. YÖNTEM 46
3.1. Çalışma grupları 46
3.2. Örneklerin alınması 48
3.3. Kullanılan araç ve gereçler 48
3.4. Parametreler ve Yöntemler 48
3.4.1. Serum HMGB1 analizi 50
3.4.2. Serum TLR4 analizi 52
3.4.3. Serum NF-kB-p65 analizi 54
3.4.4. Serum IL-6 analizi 56
3.4.5. Serum SIRT1 analizi 48
3.5. Serum P-tau181 analizi 58
3.5.2. Serum Aβ-42 analizi 60
3.5.3. İstatistiksel Analiz 63
4. BULGULAR 64
4.1. Demografik özellikler ve genel laboratuvar parametreleri 64
4.2. Nöroenflamatuvar belirteçlerin serum düzeyleri 65
4.2.1. Demans ve kontrol gruplarının karşılaştırılması 65
4.2.2. Demans gruplarının karşılaştırılması 66
4.3. Korelasyon analizleri 69
5. TARTIŞMA 75
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 80
7. KAYNAKLAR 82
8. İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 101
9. ETİK KURUL İZİN YAZISI 102
10. ÖZGEÇMİŞ 103

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. Demans Tipleri 4

Şekil 2. Alzheimer Demans'ının Cinsiyete Göre Dağılımı 7

Şekil 3. Alzheimer Demans Gelişiminde Rol Oynayan Modifiye Edilebilir Risk Faktörleri 8

Şekil 4. Alzheimer Demans Evreleri 10

Şekil 5. Alzheimer Demans Tanısında Biyobelirteçler 12

Şekil 6. Alzheimer Demansında Davranışsal ve Psikolojik Bulguları 15

Şekil 7. Alzheimer Demansında Gelişiminde Rol Oynadığı Düşünülen hipotezler 16

Şekil 8. Amiloid Prekürsör Protein (APP) Yıkımı 18

Şekil 9. Tau yapısı 19

Şekil 10. Nörofibriller Yumak (NFY) Oluşumunun Moleküler Mekanizması 20

Şekil 11. Asetilkolin esteraz, Bütiril kolin esteraz ve Enflamatuvar Mediatörlerin Alzheimer Demans'ında Rolü 21

Şekil 12. Alzheimer Demans'ında oksidatif stres ve nörodejenerasyon reaksiyonları 23

Şekil 13. Glia Hücrelerinin Alzheimer Demans'ının Gelişmesindeki Rolü 24

Şekil 14. Alzheimer Demans'ında Kronik Nöroenflamasyon 26

Şekil 15. Nöroenflamatuvar Belirteçler 27

Şekil 16. Sirtuin 1 (SIRT 1) ve Katalitik Reaksiyonu 29

Şekil 17. SIRT-1'in Yapısı 30

Şekil 18. SIRT1'in Metabolik, Yaşa Bağlı Ve Kardiyovasküler Hastalıklarda Hedef Proteinleri 31

Şekil 19. HMGB1 Yapısı 33

Şekil 20. HMGB1'in Redoks Formları ve Reseptörleri 34

Şekil 21. HMGB1'in Nöroenflamatuvar Etkisi 34

Şekil 22. Toll benzeri reseptör-4 yapısı. 36

Şekil 23. Toll Benzeri Reseptör-4 Yapısı 37

Şekil 24. Toll Benzeri Reseptör Aktivasyonu 38

Şekil 25. İnterlökin-6'nın yapısı 39

Şekil 26. İnterlökin-6 (IL-6) Sinyal Mekanizması 40

Şekil 27. İnterlökin-6 (IL-6)'ın Alzheimer Demans Patofizyolojisine Etkisi 41

Şekil 28. Nöronlarda NF-kB'nin aktive edilmesi ve gen ekspresyonları 42

Şekil 29. Tau proteininin fosforilasyon bölgeleri 44

Şekil 30. SIRT1 standart eğrisi 51

Şekil 31. HMGB1 Standart eğrisi 53

Şekil 32. TLR4 standart eğrisi 55

Şekil 33. NF-kB-p65 standart eğrisi 57

Şekil 34. IL-6 Standart eğrisi 59

Şekil 35. Amiloid β-42 standart eğrisi 62

Şekil 36. Demans ve kontrol gruplarının serum SIRT1 düzeyi 67

Şekil 37. Demans ve kontrol gruplarının serum HMGB1 ve TLR4 düzeyleri 67

Şekil 38. Demans ve kontrol gruplarının serum Amiloid β-42 ve IL-6 düzeyleri 68

Şekil 39. AD, VD, AD+VD ve kontrol gruplarının serum SIRT1 düzeyi 70

Şekil 40. AD, VD, AD+VD ve kontrol gruplarının serum HMGB1 ve TLR4 düzeyleri 70

Şekil 41. AD, VD, AD+VD ve kontrol gruplarının serum IL-6 ve Aβ-42 düzeyleri 71

Şekil 42. SIRT1 ve IL-6 değerlerinin korelasyon grafiği 73

Şekil 43. SIRT1 ve Aβ-42 değerlerinin korelasyon grafiği 73

Şekil 44. SIRT1 ve HMGB1 değerlerinin korelasyon grafiği 74

Şekil 45. SMMT ve TLR4 değerlerinin korelasyon grafiği 74

Şekil 46. SMMT ve HMGB1 değerlerinin korelasyon grafiği 75

Şekil 47. SMMT ve IL-6 değerlerinin korelasyon grafiği 75

Şekil 48. SMMT ve Aβ-42 değerlerinin korelasyon grafiği 76

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. Alzheimer Hastalığının Genel Belirtileri 11

Tablo 2. Alzheimer Demansında Kullanılan Biyobelirteçler 13

Tablo 3. Sirtuin proteinlerinin karakterizayonu 30

Tablo 4. HMGB1 redoks forumuna göre aktivitesi 32

Tablo 5. HMGB1'in Nörolojik Hastalıklarda Rolü 36

Tablo 6. Amiloid betaların hücre tipine göre işlevleri 45

Tablo 7. Çalışma Grupların Genel Özellikleri 48

Tablo 8. Kontrol ve Alzheimer Demans (AD) , Vasküler Demans (VD) ve AD ve VD gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuvar verileri (Ortalama±Standart Sapma) 65

Tablo 9. Alzheimer Demans (AD), Vasküler Demans (VD) , AD+VD ve kontrol grubunun Serum SIRT1, TLR4, HMGB1, NF-kB, Aβ-42, p-tau181 ve IL-6 düzeyleri (ortalama +- Standart sapma) 69

Tablo 10. Demans hastalarında SMMT ve serum nöroenflamatuvar belirteçleri arasındaki Pearson korelasyon kat sayıları 72

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Kısaltmalar	Açıklama
4-HNE	4-hidroksinonenal
5-HİAA	5-hidroksiindol asetik asit
5-HT	5-hidroksitriptamin
8-OHdG	8-Hidroksideoksiguanozin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AD	Alzheimer Demansı
AKE	Asetilkolinesteraz
AKEİ	Asetilkolinesteraz İnhibitörü
ALT	Alanin Amino Transferaz
AP	Amiloid Plak
APOE	Apolipoprotein E
APP	Amiloid Prekürsör Protein
Asn	Asparajin
AST	Aspartat Amino Transferaz
ATP	Adenosin Trifosfat
Aβ	Amiloid-β
BDNF	Brain derived neurotrophic factor 'Beyin-türevli nörotrofik faktör'
BKE	Butirilkolinesteraz

BOS	Beyin-Omurilik Sıvısı
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CBD	Corticobasal Degeneration 'Kortikobazal Dejenerasyon'
CCL	C-C motif kemokin ligandı
CD14	Cluster of Differentiation 14
CHI3L1	Kitinaz 3-benzeri protein 1
CRTC	"CREB-regulated" transcription coactivator cAMP yanıtına bağlı transkripsiyon koaktivatörü
CTD	C-terminal domain
CXCL1	CXC motif kemokin ligand-1
DAMP	Hasar-İlişkili Moleküller Kalıplar (Damage-associated molecular pattern)
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	Enzim-işaretli immün yöntem
ETZ	Elektron Taşıma Zinciri
FTD	Frontotemporal Demans
FTDP	FTD Parkinsonizm
FTLD	Frontotemporal Lobar Dejenerasyon
FXR	Farnesoid X reseptörü
GABA	Gama Aminobütirik Asit
GP	Glikoprotein
GSH	Glutatyon
GSH-PX	Glutatyon-Peroksidaz

GSK-3β	Glikojen Sentaz Kinaz-3β
GSSG	Glutatyon Disülfit
HBB	Hafif Bilişsel Bozukluk
HD	''Huntington Disease''Huntington Hastalığı
HDAC	Histon Deasetilaz
HMGB	''High Mobility Group Box''Yüksek Mobilite Grup Kutu
HSP	''Heat Shock Protein'' Isı Şok Protein
HTT	Huntingtin
İ/R	İskemi/Reperfuzyon
IL	İnterlökin
İSH	İntraserebral Hemoraji
KAT	Kolinasetil Transferaz
KBB	Kan Beyin Beriyeri
KVH	Kardiyovasküler Hastalık
LBD	'Lewy Body Dementia'Lewy Cisimcikli Demans
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LRR	'Leucine-Rich Repeat' Lösin Zengin Tekrar
LXR	'Liver X receptor'Karaciğer X reseptör
MAPT	'Microtubule Associated Protein Tau' Mikrotübül İlişkili Tau Proteini''
MCP-1	Monosit Kemoatraktan Protein-1,
MD2	Miyeloid farklılaşma faktörü 2
MDA	Malondialdehit
MR	Magnetik Rezonans

MS	Multipli Skleroz
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
mTOR	Rapamisin protein kompleksi
MyD88	Miyeloid Farklılaşma Faktorü 88
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NF-kB	Nükleer Faktör kappa B
NF-L	Nörofilament Hafif Zincir
NFY	Nörofibriler Yumak
NGF	Neuron growth factor 'Nöron büyüme faktörü'
NINCDS–ADRDA	National Institute of Neurological Disorders and Stroke–Alzheimer Disease and Related Disorders) 'Ulusal Nörolojik ve İletişim Hastalıkları Enstitüsü ve İnme-Alzheimer Hastalığı ve İlişkili Hastalıklar Derneği'
NINDSA-AIREN	National Institute of Neurological Disorders and Stroke and the Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences 'Ulusal Nörolojik ve İletişim Hastalıkları Enstitüsü ve İnme-Uluslararası Nörobilim Araştırma ve Eğitim Derneği'
NK	Natural killer 'Doğal öldürücü'
NLS	Nukleer Lokalizasyon Sinyal
NO	Nitrik Oksit
NTD	N-terminal domain
O^2	Süperoksit Radikali

OH^-	Hidroksil Radikali
OPG	Osteoprotegerin
PAMP	Pathogen Associated Molecular Pattern 'Patojen-İlişkili Moleküler Kalıp'
PARP-1	Poli [ADP-riboz] polimeraz *1*
PD	Parkinson Demans
PET	Positron Emisyon Tomografisi
PGC-1α	PPAR Gamma Koaktivatör *1α*
PiD	Pick Disease 'Pick hastalığı'
PPAR	Peroksizom Proliferatör-Aktif Reseptör
PRR	Pattern Recognition Receptor 'Kalıp Tanıma Reseptörü'
PSEN	Presenilin
PSP	Progresif Supranüklear Palsi
P-tau	Fosforile tau
r	Korelasyon katsayısı
RAGE	Receptor for Advanced Glycation End Products 'İleri Glikozilasyon Son Ürün Reseptörü'
RNT	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
Ser	Serin
SIRT	Sirtuin
Sis	Sistein
SMMT	Standart Mini Mental Testi
SOD1	Superoksid Dismutaz 1

SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SREBP	Sterol regulatory element-binding proteins 'Sterol Düzenleyici Eleman Bağlayıcı Protein'
T2DM	Tip 2 Diyabetes Mellitus
TDP-43	TAR (Transactive Response/Transaktif Yanıt) DNA-bağlayıcı protein 43
TGF-β	Transforming Growth Factor-β
Thr	Treonin
TIR	Toll-İL-1 reseptor
TİRAP	TİR(Toll İnterlökin Reseptör) domain içeren adaptör protein
TLR	Toll Benzeri Reseptör
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör-α
TRAM	Translocating Chain-Associated Membrane Protein 2 'Translokasyon Zincir- İlişkili Membran Proteini 2'
T-tau	Total-tau
Tyr	Tirozin
VD	Vasküler Demans
α-sin	α-sinüklein

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALZHEİMER HASTALARINDA SERUM SİRTUİN-1, HMGB1-TLR4, NF-KB VE IL-6 DÜZEYLERİ VE NÖROENFLAMATUVAR YOLAĞIN DEMANS ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Nazrin GULMAMMADLİ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyokimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Danışman : Prof. Dr. Dildar KONUKOĞLU

Amaç: Çalışmamızın amacı, AD, VD ve AD+VD tanısı alan bireylerin serum nöroenflamatuvar belirteçlerin (*SIRT-1, TLR-4, HMGB1, p-tau 181, Aβ-42, IL-6 ve NF-kB*) düzeylerinin belirlenmesi ve bu molekül seviyelerinin demans şiddeti ile ilişkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve yöntem: NINDS-ADRA ve NINDS-AIREN kriterlerine göre; Standart Mini Mental Test (SMMT) skoru baz alınarak AD (n:32) ve VD (n:17), AD+VD (n:21) grupları oluşturuldu. SMMT puanı >25 olan 60 yaş ve üzeri, antienflamatuvar ve/veya antioksidant ilaç tedavisi almayan ve sistematik hastalığı olmayan (ya da kontrol altında olan) bireyler kontrol grubuna (n:20) alındı. Serum SIRT-1, HMGB1, TLR4, NF-kB, p-tau 181, Aβ-42 ve IL-6 seviyeleri enzim-işaretli immünolojik test yöntemi ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak değerlendirildi.

Bulgular: AD ve AD+VD gruplarının serum SIRT1 ($p<0,001$ ve $p<0,01$), HMGB1 ($p<0,001$ ve $p<0,05$), IL-6 ($p<0,001$ ve $p<0,001$) ve Aβ-42 ($p<0,001$ ve $p<0,001$) düzeyleri kontrol grubundan anlamlı yüksekti. Serum TLR4 düzeyi AD hastalarında, kontrol ve VD gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,001$ ve $p<0,05$). VD hastalarının serum HMGB1, IL-6 ve Aβ-42 düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptandı ($p<0,001$, $p<0,001$ ve 0,05). AD grubuyla karşılaştırıldığında, AD+VD hastalarının serum Aβ-42 düzeyi düşük ($p<0,001$); TLR4 düzeyi ise yüksekti ($p<0,05$). Serum p-tau181 ve NF-kB düzeylerinde demans grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadı. SMMT ile TLR4 arasında pozitif ($p<0,01$), HMGB1, IL-6 ve Aβ-42 düzeyleri arasında negatif (her birisi için $p<0,001$); SIRT1 düzeyi HMGB1, IL-6 ve Aβ-42 düzeyleri arasında pozitif ($p<0,01$, $p<0,05$, $p<0,01$); IL-6 ve Aβ-42 düzeyleri ile TLR4 düzeyi arasında negatif (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$); HMGB1 düzeyleri ile pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,01$).

Sonuç: Sonuçlarımız Aβ42, SIRT1, HMGB1 ve TLR4 seviyelerinin AD ve VD hasta gruplarında değiştiğini göstermektedir. SIRT1 aktivitesi, özellikle AD hastalarında, demans gelişiminin nöroenflamatuvar yolağında önemli bir rol oynamaktadır. Sonuçlarımıza göre Aβ42'nin nöroenflamatuvar yolakta kritik bir role sahip olduğu ve özellikle SIRT1, Aβ42 ve HMGB1'in demans hastalarında terapötik bir hedef olabileceğini düşünüyoruz. Ancak bu durumu netleştirmek için demansın şiddeti, süresi ve tedavileri dikkate alınarak, duyarlı ölçüm tekniklerinin kullanıldığı geniş bir hasta grubu üzerinde çalışmalara ihtiyaç vardır.]

Ağustos 2022 , [129] sayfa.

Anahtar kelimeler: [Sirtuin 1, HMGB1-TLR4, nöroenflamasyon]

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

SERUM SIRTUIN-1, HMGB1-TLR4, NF-kB AND IL-6 LEVELS IN PATIENTS WITH ALZHEIMER'S DISEASE AND INVESTIGATION OF THE RELATION BETWEEN NEUROINFLAMMATORY PATHWAY AND SEVERITY OF DEMENTIA

Nazrin GULMAMMADLİ

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Biochemistry

Biochemistry

Supervisor : Prof. Dr. Dildar KONUKOGLU

Co-Supervisor: Academic Title Name SURNAME

Purpose: The aim of our study was to examine the level of serum neuroinflammatory biomarkers (*SIRT-1, TLR-4, HMGB1, p-tau 181, Aβ-42, IL-6 ve NF-kB)* and to investigate the relationship between the levels of neuroinflammatory markers and severity of dementia (MMSE) in patients diagnosed with AD, VD and AD+VD.

Material and Methods: According to NINDS-ADRA ve NINDS-AIREN criterias; the subjects were grouped as AD (n:32), VD (n:17) and AD+VD (n:21) based on Mini-mental state examination (MMSE). İndividuals older than 60 years an whom MMSE score >25 and who did not receive inflammatory and/or antioxidant drug and did not have any systemic diseases (or whose under control) were included in the control group (n:20). Serum SIRT-1, HMGB1, TLR4, NF-kB, p-tau 181, Aβ-42 and IL-6 levels were determined by enzyme-labeled immunoassay method . $p<0.05$ was considered as statistically significant.

Results: Serum SIRT1 ($p<0.001$ and $p<0.01$), HMGB1 ($p<0.001$ and $p<0.05$), IL-6 ($p<0.001$ and $p<0,001$) and Aβ-42 ($p<0,001$ ve $p<0,001$) levels were significantly higher in AD and AD+VD groups than control group. Serum TLR4 level was found to be significantly lower in AD patients compared to control and VD groups ($p<0.001$ and $p<0.05$). VD patients have higher HMGB1, IL-6 and Aβ-42 levels than control group ($p<0.001$, $p<0.001$ and 0.05). Compared with the AD group, patients with AD+VD have significantly lower Aβ-42 ($p<0,001$) level; elevated serum TLR4 level ($p<0,05$). Serum p-tau181 and NF-kB levels were not significantly different among the groups. MMSE values were positively correlated with TLR4 ($p<0,01$), but negatively with HMGB1, IL-6 and Aβ-42 levels ($p<0,001$ for each); SIRT1 level was positively correlated with HMGB1, IL-6 and Aβ-42 ($p<0,01$, $p<0,05$, $p<0,01$); IL-6 and Aβ-42 levels were negatively correlated with TLR4 ($p<0,05$ and $p<0,01$ respectively), but positively with HMGB1 ($p<0,01$ and $p<0,01$ respectively).

Conclusion: Our results show that the levels of the Aβ42, SIRT1, HMGB1, and TLR4 are altered in AD and VD patient groups. SIRT1 activity plays an important role in the neuroinflammatory pathway of dementia development, particularly in Alzheimer's disease. According to our results, Aβ42 plays a critical role in neuroinflammatory pathway, and we propose that especially SIRT1, Aβ42, and HMGB1 might be as a a therapeutic targets in patients suffering from dementia. However, to make it clear, future studies with a large patient groups, taking the severity, the duration of disease and treatments into consideration and usage of more sensitive techniques for measurement are needed.]

July 2022, [129] pages.

Keywords: [Sirtuin 1, HMGB1-TLR4, neuroinflammation]

1. GİRİŞ

Alzheimer Demansı (AD), tüm dünyada özellikle yaşlı toplum için önemli bir sağlık sorunu olan nörodejeneratif bir hastalıktır. AD, ilerleyen hafiza kaybı, konuşma bozukluğu ve bilişsel işlevlerin bozulması ile kendini gösterir. Beynin merkezi bölgelerinde amiloid-beta (Aβ) protein birikimi ile karakterize olan senil plakların oluşumu ve mikrotübül ile ilişkili tau protein fosforilasyonunun bir sonucu olarak nörofibriler yumakların oluşumu sinir hücrelerinin ölümünden sorumludur. AD'de yüksek konsantrasyonda oluşan nonfibriller Aβ proteinin, mikroglial aktivasyonu yaparak nöron hasarı başlattığı ve veya ilerlettiğine yönelik mekanizmalar tam olarak belirlenmesine karşın birlikte, nöron hasarının kronik enflamatuvar hücreler tarafından alevlendirildiğine ilişkin sonuçlar bulunmaktadır. Nöron ve glial hücre kültür çalışmalarında Aβ uyarımının NF-kB (Nükleer faktör kappa B) aktivasyonuna yol açtığı gösterilmesine karşın AD ilişkili nöroenflamasyondaki rolü kesinlik kazanmamıştır. Diğer taraftan, *Vasküler Demans(VD) ve Parkinson Demans (PD)* proteinlerinin AD'de tanısal ve terapötik potansiyele sahip olabilecek enflamatuvar patofizyolojik yer alabileceğine yönelik kanıtlar mevcuttur[1],[2].

Sirtuin (SIRT) aracılı deasetilasyon Nikotinamid adenin dinükleotit+ (NAD+) yarılmasına; nikotin amid ve o-asetil adenozin difosfat-riboz oluşumuna yol açar. Deasetilasyonda etkilenen, proteinin lizin amino asididir. SIRT4 hariç sirtüinlerin tümünde deasetilasyon aktivitesi vardır ve çok sayıda protein asetilasyon işleminden etkilenir. En iyi tanımlanmış sirtuin proteini olan SIRT1, histonların, transkripsiyon faktörlerinin ve koaktivatör proteinlerin düzenlenmesinde, nörojenez ve nöral farklılaşmada yer aldığı ve özellikle nöroenflamasyon patogenezinde yer aldığı düşünülmektedir [3].

Deneysel çalışmalarda Aβ peptitleri tarafından etkilenen mikroglia hücrelerinin NF-kB-bağımlı sinyal yolağının aktivasyonuna neden olarak nöronal dejenerasyonda rol oynadığı, mikroglia hücresinin Aβ tarafından uyarılmasıyla NF-kB yolağını düzenleyen RelA/p65 proteininin lizin (310) kalıntısı üzerinden asetilasyonu artırdığı, SIRT1 deasetilazın overekspresyonu ile NF-kB yolağının inhibe olduğu bildirilmektedir. NF-κB ve SIRT1 arasındaki antagonistik etkinin bozulmanın da metabolik streste rol oynayabileceği ileri sürülmüştür [4].

SIRT1 eksikliğinin Alzheimer hastalarının serebral korteksinde Aβ ve tau birikimi ile de ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca SIRT1, tau proteinini deasetile eder; deasetilasyon tau proteinin fosforilasyonu önler. Bunun sonucunda tau proteininin ubikitinasyona ve ardından degradasyona yatkın hale geldiği *invivo* çalışmalar ile gösterilmiştir[5]. Dolayısı ile amiloidojenik yolun düzenlenmesinde SIRT1-bağımlı yolakların yer aldığına yönelik bilgiler SIRT1'in metabolik stres ve AD risk artışı ile ilişkili olabileceği yönündeki hipotezleri güçlendirmektedir. Konu ile ilgili klinik çalışmalar oldukça kısıtlıdır.

TLR4 reseptörlerine bağlanarak proenflamatuvar etki gösteren mediyatörlerden biri Yüksek Mobilite Grup Kutusu 1 (HMGB1) proteinidir. HMGB1 proteini, amfoterin olarak da bilinir ve HMGB1 geni tarafından kodlanır. Genellikle çekirdekte yerleşir. Uyarım sonucunda hücre dışına salgılandığı ve hücre dışı HMGB1'in enflamasyonda rol oynadığı ileri sürülmekle birlikte kesin mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. HMGB1 ve Toll benzeri reseptörün (TLR4) inhibe edildiği deneysel AD modellerinde, nöroenflamasyonun baskılandığı, Aβ yükününün ve üretiminin azaldığı ve mikroglial uyarımın engellendiği ileri sürülmektedir [6].

İnvivo ve *invitro* çalışmaların sonuçları, sitoplazmik HMGB1 düzeyinin iskemik beyin hasarı sonucu arttığı, mikroglia aktivasyonunu regüle ettiği ve TLR4/NF-κB sinyal yolağının nöronal hasara bağlı olarak nöroenflamasyonu azalttığını destekler yöndedir. Diğer bir çalışmada HMGB1'in beyin dokularında interlökin İnterlökin-6 (IL-6) ve diğer enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu indüklediğini göstermiştir [7]. Bu nöroenflamatuvar sitokinin ekspresyonu, nöron apoptozunu uyarır ve nörodejeneratif hastalığın gelişimini ve ilerlemesinde rol oynayabilir. Bu veriler, HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağını ve izleyen nöroenflamatuvar yanıtı inhibe etmek için SIRT1'i aktivasyonunun nöroprotektif rol oynayabileceğini; SIRT1 ve HMGB1 ile başlatılan enflamatuvar yolakların AD hastalarındaki ilerleyici nöron kaybında rol oynayabileceğini düşündürebilir.

Projemizde SIRT1 ve HMGB1 ile başlatılan enflamatuvar yolaklar incelemek ve bu yolakların ilişkisini klinik örneklerde ortaya koymayı amaçladık. Bu parametrelerin Alzheimer hasta klinik modelinde araştırıldığı çalışmalar oldukça kısıtlıdır ve sonuçlar tartışmalıdır. Beklentimiz çalışmamızın sonuçlarının bu yolakla ilişkili tedavi modellerinin geliştirilmesine katkıda bulunmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

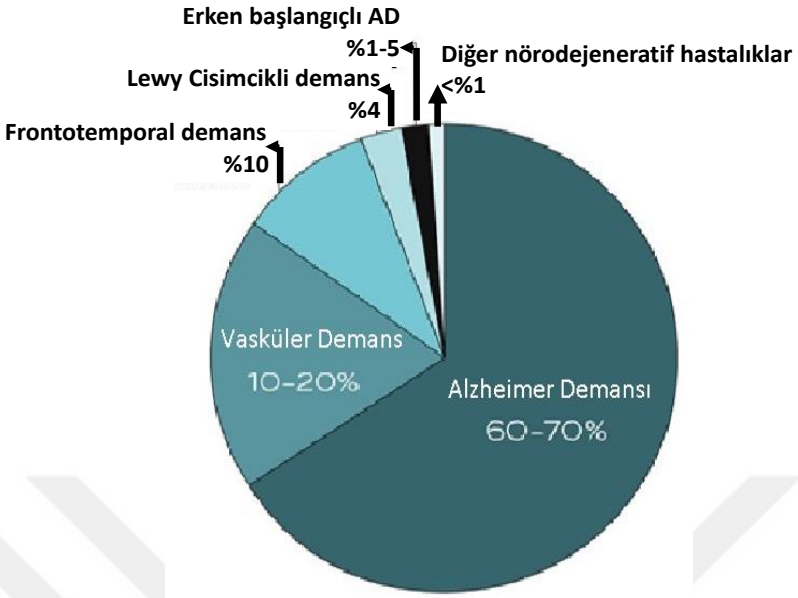
2.1. Alzheimer Demansı

Demans; hafıza kaybı, dil ve konuşma, problem-çözme gibi günlük yaşam aktiviteleri yerine getirmede güçlük veya kısıtlılık ile karakterize ilerleyici bir klinik tablodur. Demans tipleri (Şekil 1) arasında AD, en yaygın demans nedeni olan nörodejeneratif bir hastalıktır [8].

AD belirli bir nöropatoloji ile yaşla ilişkili bilişsel (kognitif) ve işlevsel yeteneklerde kayıplarla seyreden bir hastalıktır. İlerleyici hafıza kaybı ve nörokognitif işlev bozukluğu en önemli özelliğidir. İlk kez Alman nörolog Alois Alzheimer tarafından hafıza kaybı, konuşma, oryantasyon bozukluğu ve halüsinasyonla şikayetleri olan 51 yaşında Auguste Deter adlı kadın hasta da tanımlanmış ve ölüm sonrası yapılan otopsi de serebral kortekste amiloid plaklar (AP) ve nörofibriler yumakların (NFY) görülmesi ile nörodejeneratif olaylar tanımlanmıştır [9].

AD beyinde patolojik değişiklikler ile semptomlar ortaya çıkmadan 20 yılı aşkın sürede başladığı bilinmektedir. Ancak yıllarca süren özgün değişikliklerinden sonra, hastalarda hafıza kaybı ve konuşma bozukluğu gibi fark edilebilir semptomlar görülmeye başlar. Yakın geçmiş olayları hatırlama sorunları, hastalığın ilk evrelerinin belirtisidir. Kognisyon ve davranışsal değişiklikler ise hastalığın sonraki evrelerinde görülür. Semptomlar; beynin düşünme, öğrenme ve hafızayla (bilişsel işlev) ilgili bölümlerindeki nöronların (sinir hücrelerinin) hasar görmesi sonucu ortaya çıkar. Hastalık ilerledikçe beynin diğer bölümlerindeki nöronlar da hasar görür. Sonuç olarak, beynin yürüme ve yutma gibi temel işlevlerinin gerçekleştirilmesini sağlayan bölümlerindeki sinir hücreleri de etkilenir. Sonu ölümcül olan bu hastalıkta bireyler yatağa bağımlı hale gelerek bakıma ihtiyaç duyarlar [10].

Şekil 1. Demans Tipleri[10]



2.2. Alzheimer-dışı demans

AD ve AD dışında gruplanan en yaygın demans türlerinden *Vasküler Demans (VD) ve Parkinson Demans (PD)* tipleri davranışsal ve kognitif bozukluklarla Merkezi Sinir Sistemi'ni (MSS) etkileyen nörodejeneratif hastalıklardır. Araştırmalara göre, bu hastalıkların risk faktörleri, belirtileri, patolojik mekanizmaları örtüşmektedir. Örneğin, yaşlanma bu nörodejeneratif hastalıkların öncü risk faktörüdür ve etkisi 60 yaş üzerinde görülür. Ayrıca hipertansiyon, atriyal fibrilasyon, serebral iskemi ve diyabet gibi bazı kronik hastalıkların da AD, VD ve PD gelişimini indüklediği bilinmektedir. AD ve PD'ye oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve proteinopati (yalnış katlanmış proteinlerin anormal birikimi) gibi ortak patolojik süreçler eşlik ederken[11], AD ve VD'ye oksidatif stres ve enflamasyon gibi ortak mekanizmaların eşlik etmektedir[12].

Beynin belirli bölgelerinde iskemik veya hemorajik doku hasarı sonucu gelişen kognitif bozukluk gibi klinik tabloyla sonuçlanan VD, dünya çapında AD'den sonra görülen en yaygın ikinci demans türüdür (*Şekil 1*). Belirli düzeyde azalan serebral kan akımı VD'nin esas nedenlerindendir. VD'nin klinik ve patolojik belirtileri beyinde vasküler lezyonların bulunduğu bölgeye, belirli nöral substratlara ve inme derecesine bağlıdır. VD tedavisi veya önlenmesi için ilk olarak demansa neden olan hipertansiyon, diyabet, obezite gibi vasküler

faktörlerin belirlenmesi ve kontrol altında tutulması gerekmektedir. VD gelişimine sebebiyet veren bu vasküler risk faktörler ele alınarak AD oranının da azaldığı bildirilmiştir[10].

Lewy cisimciklerinin birikimi ve halüsinasyon, spontan parkinsonizm ve hızlı göz hareketi gibi bozukluklar ile karakterize nörodejeneratif hastalıklara Lewy Cisimcikli Demans (LBD) ve PD türleri aittir. Her 2 demans türüne α-sinüklein (α-sin) kümelerinin oluşturduğu yaygın limbik ve kortikal Lewy cisimcikleri ve nörit birikimi, orta beyinde dopamin hücrelerinin ve ön beyin çekirdeklerinde kolinerjik nöron kayıpları gibi patolojik süreçler eşlik eder. AD'ye karakterize fibriler Amiloid-β (Aβ) ve p-tau gibi nöropatolojik bulgular LBD ve PD'de yaygındır. Bu sinerjide α-syn, tau hiperfosforilasyonunu indükleyerek nörofibriler yumak oluşumunu tetikler. Yapılan araştırmada, LBD'de Aβ agregantlarına entorinal korteks, amigdala ve putamende daha sık ve PD'de ise korteks ve striatumda daha az Aβ ve tau proteinlerine rastlandığı bulunmuştur[13]. Diğer bir farklılık ise LBD'de amigdala da α-syn yükününün fazla olmasıdır [10].

Frontotemporal Demans (FTD) frontotemporal lobar dejenerasyon ile karakterize (FTLD) nörodejeneratif hastalıktır. Patolojik olarak, FTLD'nin %90− 95 hücre-içi p-tau veya TAR DNA-bağlayıcı protein 43 (TDP-43) agregatlarının birikimi sonucu geliştiği bilinmektedir. FTD hastaları ile yapılan klinik araştırmada, bireylerin %8−29'da frontotemporal kortekste Aβ birikimi saptanmıştır[14].

2.3. Epidemiyoloji

Demans, dünya çapında en büyük sağlık sorunlarından biridir Nüfusun yaşlanmasıyla artan demans oranı dünyanın tüm bölgelerinde yüksek düzeydedir. Gelişmiş ülkeler arasında Japonyanın en düşük demans prevalansına sahip olduğu bildirilmiştir[15]. Orta Doğu ve Afrika ülkelerinde demans vakalarının sayısının 2040 yılına kadar anlamlı derecede artacağı ön görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün yaptığı araştırmalarda demans hastalarının sayısının 2020 (42 milyon) ile 2040 (81 milyon) yılları arasında ikiye katlanacağını tahmin edilmektedir[16].

AD, demans vakalarının %50-70'ini oluşturur. 2000 ve 2019 yılları arasında inme, kalp hastalıkları ve HİV kaynaklı ölüm sayısının azalmasına karşın AD'den ölüm oranının %145 arttığı bildirilmiştir. Ayrıca, COVİD-19 pandemisi nedeniyle de AD'den ölüm oranı 2020 yılında artış göstermiştir. Araştırmalara göre, Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) AD

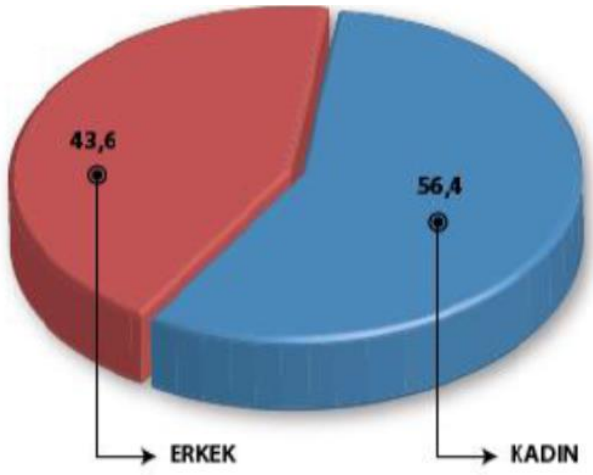
sayısının (≥65 yaş) 2050'ye kadar 5,8 milyondan 13,8 milyona artış göstereceği tahmin edilmektedir[17].

AD'nin yaklaşık üçte ikisini kadın hastalar oluşturmaktadır. ABD kaynaklı bir çalışmada 65 yaş ve üstü 6,2 milyon AD'den 3,8 milyonu kadın ve 2,4 milyonunu ise erkek olduğu bildirilmiştir [18]. Kadınlarda Alzheimer veya diğer demans tiplerinin daha sık rastlanmasının nedeni büyük olasılıkla kadınların ortalama erkeklerden daha uzun süre yaşaması ve yaş artışının AD için en büyük risk faktörü olmasından kaynaklanmaktadır 1,25. Erken gelişen AD'de (ortalama 45 yaş) ölüm riski erkekler için % 10, kadınlar için ise %20'dir [19].

Preklinik ve prodromal (hafif bilişsel bozukluk; HBB)'luğu olan hastalarda AD prevalansı hakkında daha az bilgi bulunmaktadır. 60-64 yaş arasında %6,7, 65-69 yaş arasında %8,4, 70-74 yaş arasında %10,1, 75-79 yaş arasında % 14,8 ve 80-84 yaş arasında % 25,2 oranında HBB'si olduğu bildirilmiştir. HBB saptanan 64 yaş ve üzeri kişilerde yaklaşık 2 yıl içinde %15-20 oranında Alzheimer demans tablosu gelişmektedir [20]. Türkiye genelinde 65 yaş üstü nüfüsun artmasıyla demans hastalarının sayısıda da hızla artış göstermektedir. 2008'de yapılan araştırmalarda 70 yaş ve üzeri bireylerde demans prevalansının %20, AD prevalansının %11 olduğu saptanmıştır. Turkiyede sağlık bakanlığına bağlı hastanelerden alınan verilere göre 2014 yılında hastanede bulunan 18.158 hastadan %43,6 (7.911) erkek hastalara, %56,4 (10.247) ise kadın hastalara ait olduğu belirtilmistir[21] (Şekil 2).

Standart Mini Mental Testi (SMMT) ile yapılan değerlendirmelere göre genç yaş, eğitim düzeyinin yüksekliği ve daha az nöropsikiyatrik semptomların bulunması HBB'nin iyileşme olasılığı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir[22].

Şekil 2. Alzheimer Demans'ının Cinsiyete Göre Dağılımı [21]



2.4. Risk Faktörleri

Yapılan çalışmalar, AD klinik belirtileri ortaya çıkmadan onlarca yıl önce başladığını göstermiştir. Bu nedenle demansı olmayan ortayaşlı insanlarda risk faktörlerini hedef alarak AD gelişimini önlemenin veya geciktirmenin mümkün olabileceği düşünülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar sonucu, AD gelişimini önlenmek için modifiye edilebilir risk ve koruyucu faktörler tanımlanmıştır. AD'nin önceden var olan hastalıklardan kaynaklandığı ve bu nedenle bilişsel durumu korumak AD önlenmesine ilişkin bazı uygulanabilir öneriler sunulmuştur[17] *(Şekil 3).*

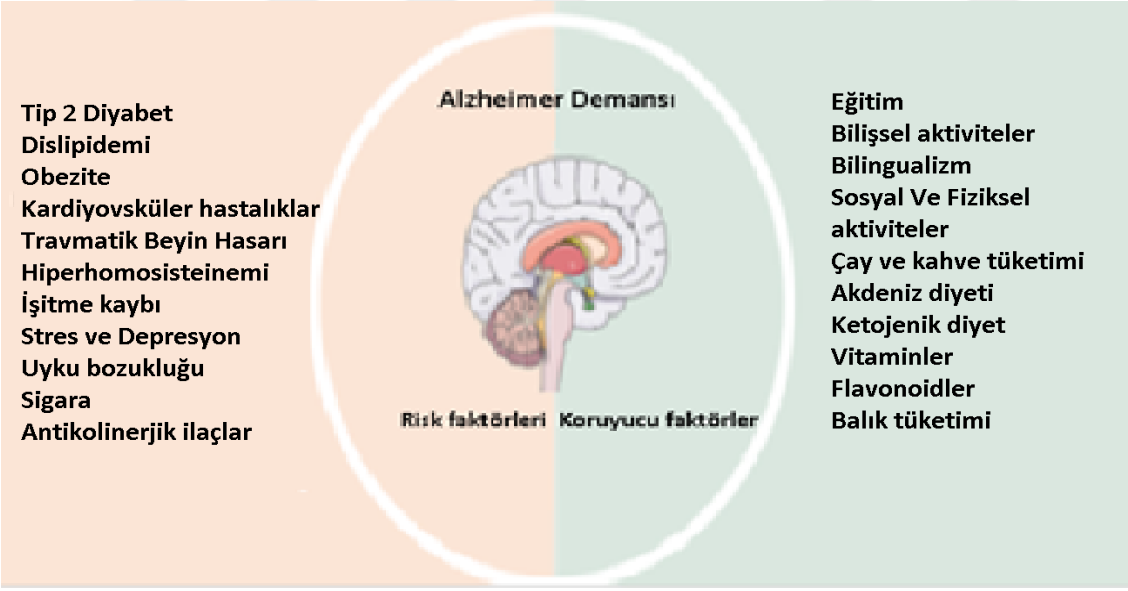
Genetik yatkınlık ve çevresel faktörler hastalığı ciddi önemli şekilde etkilemektedir**.** Yaşam süresi arttıkça ve demografik yaşlanma gerçekleştikçe AD'nin prevalansı özellikle gelişmekte olan ülkelerde artmaya devam etmektedir. Genel olarak kısa eğitim hayatı ve diğer sosyoekonomik faktörler AD riskini artıran obezite, sedanter yaşam, diyabet, hipertansiyon, dislipidemi ve metabolik sendrom gibi riskler ile ilişkilendirilmiştir[23].

Escott-Price ve ark. [24] AD hastalarında yaptığı poligenik skor çalışmasında hastalarının %84'ünün kalıtsal risk taşıdığını ortaya koymuşlardır. Takip eden çalışmalarda özellikle APP, PSEN1 ve PSEN2 (sırasıyla amiloid prekürsör proteini, presenilin-1 ve presenilin-2 protenlerini kodlayan) gen defektlerinin sorumlu olduğu ortaya konulmuştur. Hastalığın otozomal dominant formlarına neden olan bu genlerin ilişkili olduğu proteinlerdeki nadir

mutasyonlar, ***'amiloid kaskadı'*** hipotezini ortaya çıkarmıştır. AD vakalarının çoğunluğu, kalıtsal olmaksızın geç başlangıçlı "***sporadik***" hasta grubundadır[25].

1993 yılında Apolipoprotein E (APOE) geninin ε4 allelinin ilerleyen AD riski ile ilişkili olduğu görülmüştür[26]. Günümüze dek bu ilişki, Afrika popülasyonu hariç tüm etnik gruplarda tespit edilmiştir[27]. ApoE proteini lipit taşınması ve metabolizmasında rol alır ve hücre mebranını ve sinapsları korumak amacıyla hasar onarımında kritik rol oynadığı bulunmuştur. ApoE ayrıca beyinden Aβ'yı uzaklaştırarak kanda taşıyıcı olarak rol oynamaktadır. ApoE'nin etkisini yaş (genç yaşlarda daha çok etkili) ve cinsiyet faktörleri belirler[28]. Vakaların %95'i için geçerli olan geç başlangıçlı formun (sporadik-65 yaşından sonra) 70:30 oranında genetik ve çevresel faktörlerin kombinasyonundan kaynaklandığı kabul edilmektedir. Az sayıda görülen erken başlangıçlı formların (presenil-40-50 yaşlarda) ise büyük ölçüde veya tamamen genetik kaynaklı olduğu kabul edilmektedir; tüm hastaların aile öyküsü olmasa da (%60'a kadar) sadece birkaç ailesel erken dönemli AD vakası, net bir otozomal dominant kalıtımı göstermiştir (%10-15)[29].

Şekil 3. Alzheimer Demans Gelişiminde Rol Oynayan Modifiye Edilebilir Risk Faktörleri [17].



2.5. Klinik Belirtiler ve Hastalığın Seyri

Demans hastalarının beyninde gerçekleşen yapısal ve fonksiyonel değişiklikler özellikle kortikal ve sub-kortikal yapıları etkilemektedir. Sinaps bağlantılarının azalmasına eşlik eden NFY ve Aβ plakları, beyin hacminde azalmaya (atrofi) yol açan nöron kayıpları gibi olaylar hastalığın histopatolojik bulguları olarak kabul edilmektedir.

Neokorteksteyaygın olarak hücre dışı Aβ plaklarının birikimi ve limbik ve kortikal birleşme alanlarında hücre içi NFY (p-tau birikimi) paterninin görülmesi AD'nin esas nöropatolojik belirtilerindendir. Aβ plakların birikimi neokorteksteözellikle medial prefrontal ve medial parietal kortekslerde gerçekleşir. Araştırmalara göre klinik semptomlar ortaya çıkmadan 10-20 yıl önceden Aβ birikimi başlar. Tau agregatları ise 60 yaşından sonra medial temporal lobda yaygın olarak bulunur; entorinal korteksten başlayarak hipokampus ve kortikal assosiasyon alanlarına yayıldığı süre içerisinde hastalık asemptomatik veya preklinik fazdan şiddetli demans türüne ilerlerler [30]

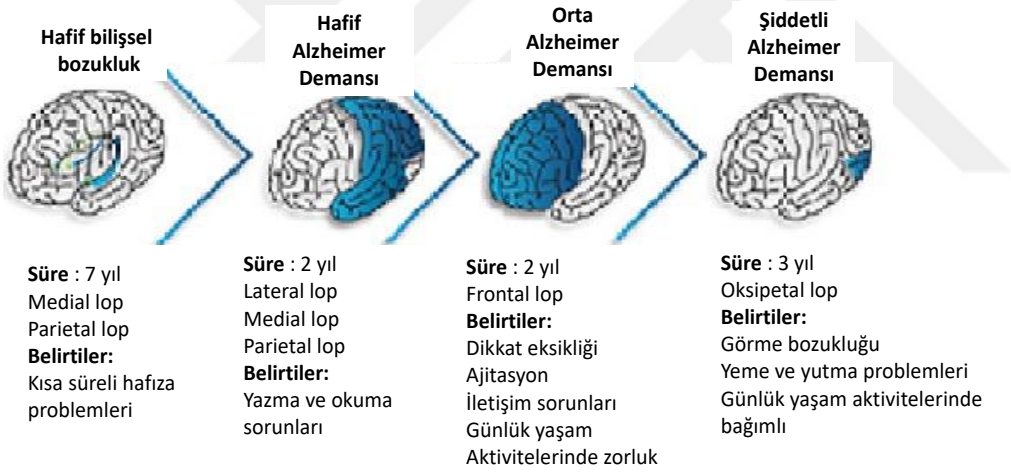
Fark edilemeyen beyin değişikliklerinden, hafiza ve sonda fiziksel sorunlara kadar gelişen değişiklikler AD sürecini kapsar. Bu süreç üç evredir: **Preklinik AD**, **Hafif Bilişsel Bozukluk (HBB)** ve **Alzheimer Demansı** (Şekil 4).

1. **Preklinik AD:** Hastalarda erken dönemde belirgin beyin değişiklikleri (PET taraması ve beyin-omurulik sıvısı (BOS) analizi ile Aβ yapılarının görülmesi) var olup ancak unutkanlık gibi semptomlar görülmemektedir
2. **HBB**: Hafiza ve düşünme ile ilgili sorunlar görülmeye başlar. Bu tür bilişsel sorunlar, aile üyeleri ve arkadaşlar tarafından fark edilebilir, ancak başkaları tarafından fark edilemez ve bireylerin günlük yaşam aktivitelerini gerçekleştirmesine engel olmaz
3. **AD**: Alzheimer'a bağlı beyinde gerçekleşen değişiklikleri ve biyobelirteçlerle birlikte, hastanın günlük yaşam aktivitesine engel olan belirgin hafiza, düşünce veya davranış problemleri ile karakterizedir. Hastalık ilerledikçe zamanla hastalar değişik semptomlara rastlayabilirler. Bu semptomlar, beynin farklı bölümlerindeki sinir hücrelerine verilen hasar derecesine bağlıdır.

AD, klinik şiddetine **hafif, orta** ve **şiddetli** evrelere göre sınıflandırılmıştır; semptomlar kişinin günlük aktivitelerini gerçekleştirme yeteneğine hangi derecede müdahale etmesine bağlıdır:

1. **Hafif AD:** Hasta çoğu işini kendisi yapabilir (araba kullanmak veya çalışmak) ancak bazı aktivitelerde yardıma ihtiyaç duyabilir.
2. **Orta AD:** Genellikle en uzun evredir; hastalar iletişim kurmakta ve günlük yaşam aktivitelerini (banyo yapmak ve giymek) yapmakta zorluk çekerler; zaman-zaman idrar kaçırma da görülebilir; şüphe ve ajitasyon gibi nöropsikiyatrik semptomlar da görülmeye başlar.
3. **Şiddetli AD:** Hastalar günlük yaşam aktivitelerinde yardıma muhtaç olup 24 saatlik bakıma ihtiyaç duyarlar. Beynin hareketle ilgili bölümlerinde gelişen hasardan dolayı hastalar yatağa bağımlı hale gelirler. Yeme ve yutmada zorluk çeker ve bu tür zorluğun yiyeceğin yemek borusu yerine soluk borusuna geçmesine neden olabilir. Bu nedif enle gıda parçacıklarının akciğerlerde birikmesi ile akciğer enfeksiyonu görülür. Bu tür enfeksiyona Aspirasyon Pnömonisi adı verilir ve bir çok AD'de ölüme neden olur.

Şekil 4. Alzheimer Demans Evreleri



Hastalık seyrinde **amnezi** (hafıza kaybı), **agnozi**, **apraksi**, **afazi**, **apati, depresyon, uyku bozukluğu** ve **psikoz** gibi nöropsikiyatrik semptomlar da görülebilir. Psikotik semptomlar, artmış neokortikal NFY'ler ve intranöronal hiperfosforile tau düzeyleri, bozulmuş serotonerjik sinyal yolağı, azalmış nöron yoğunluğu ve artmış miyoinozitol/kreatinin oranı ile ilişkilidir [30].

Tablo 1. Alzheimer Hastalığının Genel Belirtileri [30]

- Günlük yaşam aktiviteleri etkileyen hafiza kaybı
- Plan yapma veya problem çözme yeteneğinde zorluklar
- Rutin işleri gerçekleştirmede zorluklar
- Zaman veya yer ile ilgili konfüzyon
- Görsel imgeleri ve uzaysal ilişkileri anlamada zorluklar
- Konuşma veya yazmada, kelime bulmada zorluk
- Eşyaları yerini unutmak
- İş veya sosyal faaliyetlerden uzaklaşmak

2.6. Tanı

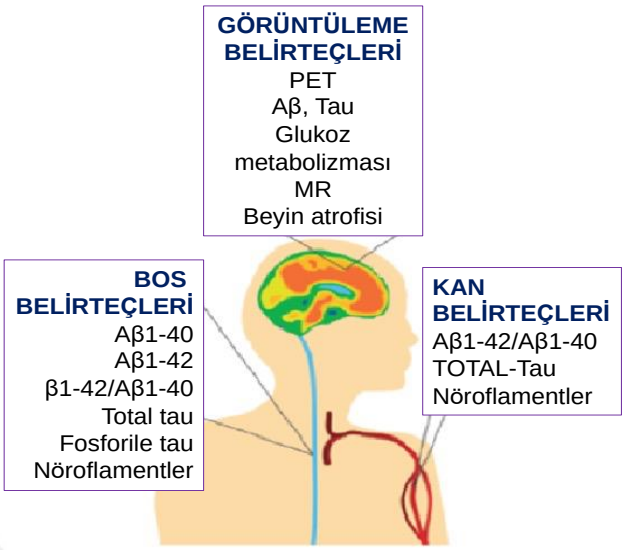
Tanıda, hem aile hemde hastanı klinik öyküsü ve bulguları önemlidir. Kapsamlı fiziksel ve nörolojik muayene ile refleksler, kas tonusu ve gücü, görme ve işitme duyusu, koordinasyon ve denge durumları değerlendirilir. Laboratuvar testleri demansı ayırıcı tanısı için önemlidir. Demansın belirtileri vitamin eksikliği, enfeksiyon, metabolik bozukluklar ve ilaçların yan etkileri gibi nedenlere bağlı olarak görülebilir. Bu nedenle demans teşhisinde öncelikli olarak kan testleri (tam kan sayımı, glukoz, B_{12} vitamini, folik asit, transaminazlar, laktat dehidrojenaz, üre, kreatinin düzeyleri, elektrolitler, bilirubin, tiroid fonksiyon testleri, sedimentasyon hızı) ve idrar testleri ile diğer hastalık durumlarını dışlanması gerekir. Magnetik rezonans (MR), bilgisayarlı tomografi (BT) ve positron emisyon tomografisi (PET) gibi radyolojik incelemeler beyinin yapısı, nörolojik sistemin ve damarların değerlendirilmesi açısından önemlidir. Rutin olmamakla bereber gerekli durumlarda BOS incelemeleri yapılabilir. Psikometrik testler ve kriterleri günümüzde hala en önemli klinik tanı aracıdır. Bu testler aşağıda özetlenmiştir [31].

2.6.1. Biyobelirteçler

AD biyobelirteçleri 2 grupta ele alınabilir:

1. **BOS** ve **kanda** ölçülen protein belirteçleri
2. **PET** ve **MR** gibi görüntülüme belirteçleri (Şekil 5)

Şekil 5. Alzheimer Demans Tanısında Biyobelirteçler [31]



2.6.1.1. *BOS Biyobelirteçleri*

APP'nin enzimatik bölünmesi sonucu oluşan Aβ1-38, Aβ1-40 ve Aβ1-42 fragmanları ve tau proteinleri gibi BOS belirteçleri AD tanısında kullanılmaktadır. BOS'ta bakılan özellikle Aβ42 ve total-tau (t-tau) gibi biyokiymasal belirteçlerin HBB ve AD'de tanısal doğruluğu kanıtlanmıştır[32].

Aβ'nın %50–70 BOS'ta Aβ-40 formunda bulunurken, %10 Aβ-42 formunda bulunur (diğerleri Aβ37, Aβ38, Aβ39, veya Aβ43 formlarında bulunur). AD'de, Aβ42:Aβ40 oranının değerlendirilmesi Aβ'42 konsantrsyonuna kıyasla tanı için daha uygun olduğu öne sürülmüştür. AD'de kognitif düşüş, Aβ'ya kıyasla yüksek BOS t-tau ve fosforile-tau (p-tau) düzeylerini yansıtacak şekilde nörodejenerasyon süreci ile ilişkili olduğu bulunmuştur. BOS'ta belirgin düzeyde azalan Aβ42 ve artan t-tau ve p-tau %80'in üzerinde bir duyarlılık ve özgüllük ile AD'nin tanısı için kullanıma uygun olduğu bulunmuştur[33].

Üç temel BOS Aβ42, t-tau ve p-tau biyobelirteçlerine ek olarak, aksonal dejenerasyon, sinaps kaybı ve glia hücrelerinin aktivasyonunu yansıtan biyobelirteçler de araştırılmaktadır. Nöron aksonunun yapısal bileşeni olan ve nörofilamentlerin subünitesini oluşturan Nörofilament Hafif Zincir (NF-L) polipetidi, nöron hasarının ardından BOS ve sistemik dolaşıma salındığından nörodejeneratif hastalıklarda sıklıkla araştırılmaktadır. Yapılan meta-analizde, NF-L AD hastalarını kontrol bireylerinden ayırt etmede büyük etkinliğe sahip olduğu sonucuna varılmıştır[34]. Bununla birlikte, Zetterberg ve ark.'larının çalışması yüksek BOS

NF-L düzeyinin AD ve HBB hastalarında zamanla bilişsel bozulma ve beyin atrofisi ile ilişkili olduğunu ve BOS NF-L'nin AD'de prognostik bir belirteç olarak kullanılabileceğini desteklerler yöndedir[35].

Lomber ponksiyonla BOS alımının hem invaziv hemde yüksek maliyetli olması nedeniyle rutin klinikte kullanımı hastaların isteğine göre yapılmaktadır. BOS ile ilgili sınırlar, daha az invaziv, düşük maliyetli, düzenli aralıklarla ve büyük popülasyonlardan alınan kan numunesinde, biyobelirteçlerin araştırılmasını teşvik eder. Sonuç olarak, kan biyobelirteçlerinin uygulanabilirliği hastalığın ilerlemesi veya tedavi takibi için klinikte daha pratiktir[36].

2.6.1.2. Kan Biyobelirteçleri

AD hastalarında gelişen Kan Beyin Beriyeri (KBB) hasarı belirteçlerin BOS'tan kana geçmesini sağlar. Bu moleküller kan dolaşımında AD'de gelişen patolojik süreçkeri yansıtmaktadır. Araştırmalarda yüksek **Aβ40** düzeyinin demans riskiyle ilişkili olduğu, demansı olmayan yaşlı bireylerde ise düşük **Aβ42/Aβ40** oranının kognitif düşüş ile ilişkili olduğu bulunmuştur[37]. Son çalışmalarda AD hastalarında düşük BOS **Aβ42** düzeyi ile tutarlı olarak, AD veya amiloid-pozitif HBB hastalarının plazma Aβ42 düzeyinin de düşük olduğu görülmüştür [38].

Serum NF-L ve p-tau 181 düzeylerinin de tanısal değerleri araştırılmıştır. Serum NF-L düzeylerinin hem FTD ve AD'de arttığı, buna karşın serum p-tau 181 düzeylerinin AD'li hastalarda spesifik olarak arttığı bulunmuştur [39]. Benzer şekilde, hem progresif supranükleer palsi (PSP) hastalığında hem de AD'de plazma NF-L düzeylerinn arttığı görülmüştür[40].

Tablo 2. Alzheimer Demansında Kullanılan Biyobelirteçler [33],[41].

Kan Biyobelirteçleri	Beyin omurilik sıvısı biyobelirteçleri
Aβ42, Aβ40	p-181, p-217
Aβ42/Aβ40 oranı	Total-tau
Total-tau	YKL-40
p-tau-181	Nörogranin
Nörofilament Hafif Zincir	Aβ-38, Aβ-40 Aβ-42

2.7. Standart Mini Mental Testi (SMMT)

İlk kez *Marshal F*, tarafından 1975 yılında tanımlanmış olan SMMT, toplam 30 puan üzerinden değerlendirilmektedir[42]. SMMT sırasında ilk olarak hastanın oryantasyon becerisi değerlendirilir. Hastanın oryantasyon becerisi değerlendirilirken 10 adet soru sorulur ve her doğru cevap 1 puan olarak kayıt edilir. Daha sonra hastanın kayıt hafızası değerlendirilir. Hastaya 3 adet kelime söylenir ve 20 saniye sonra tekrarlaması istenir. Her doğru kelime 1 puan olarak kabul edilir. Daha sonra hastanın cebirsel becerisi değerlendirilir. Hastanın 100 den geriye doğru 7şer 7şer sayması istenir ve ilk 5 cevaptan kaçı doğru olduğuna göre her biri 1 puan olmak üzere hastaya 0-5 arası puan verilir. Sonra hastanın hatırlama beceresi değerlendirilir. Hatırlama sırasında söylenen 3 kelime tekrar sorulur ve her kelime 1 puan olacak şekilde 0-3 arası puan verilir. Son olarak hastanın lisan-dil becerisi sorgulanır. Lisan becerisi sırasında 6 alt başlık vardır. Biri 2 puan biri 3 puan diğerleri 1 er puan olmak üzere hasta bu başlıktan da 0-9 arası bir puan alır. Testler aynı nöroloji uzmanı tarafından aynı koşullar altında değerlendirilmelidir. 24-30 puan arası normal, 18-23 puan arası hafif demans, 17 puan ve altı ciddi demansla uyumludur [43].

2.8. NINCDS–ADRDA (National Institute of Neurological Disorders and Stroke–Alzheimer Disease and Related Disorders)

Demansla ilgili araştırmalarda NINCDS–ADRDA kriteleri sadece histopatolojik onaylanan AD tanısında kullanılır[44]. Kriterlerin belirlenmesinde birkaç nokta önemlidir: (a) hastalarda demans kriterlerini karşılayacak kadar bilişel işlev bozukluğunun olması, (b) postmortem incelemeye bağlı kesin tanı (c) kognitif bozukluğun diğer olası nedenlerin dışlanması (d) ilerleyen hafıza kaybı veya kognitif bozuklukları açıklayan diğer sistemik veya beyin hastalıklarının olmaması. Bu kriterler otopsi sonucuyla karşılaştırıldığında, AD'nin kesin klinik tanısı için %80 pozitif ve %60 negatif prediktif değere sahip olduğu bulunmuştur[45].

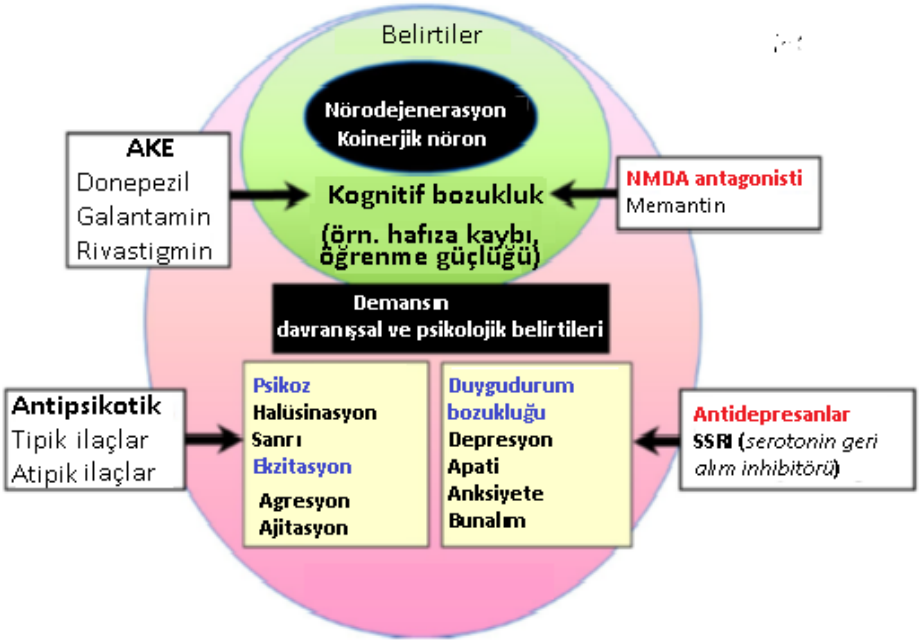
2.9. Tedavi

Kolinerjik nörotransmitterler bellek ve bilişsel işlevlerde önemli rol oynar. Asetilkolinesteraz (AKE) ve Butirilkolinesteraz (BKE) beyinde asetilkolin nörotransmiterini hidrolize ederek kolin ve asetat oluşumunu sağlayan 2 ana enzimdir. Kolinerjik hipotez, atrofi nedeniyle özellikle Meynert'in bazal çekirdeğinde azalan kolinerjik nöronların, düşük asetilkolin düzeyine ve bilişsel gerilemeye neden olduğunu öne sürer. AD tedavisinde AKE ve BKE

enzimlerinin hedeflenmesi sıklıkla uygulanmaktadır. Enzim inhibitörlerin kullanımı ile asetilkolin konsantrasyonu yüksek dezeyde tutularak sinir hücreleri arasında daha iyi sinyal iletimi sağlanabilmektedir. Bu ilaçların özellikle AD ilerlemesini yavaşlattığı düşünülmektedir [46]. AD tedavisinde kullanılan FDA onaylı ilaçlardan Galantamin ve donepezil AKE inhibitörü (AKEİ) iken, rivastigmin hem AKE hem de BKE'nin geri dönüşümlü inhibitörüdür.

Demans hastalarının %90'da davranışsal ve psikolojik semptomlar ortaya çıkar. Ajitasyon ve saldırganlık, duygudurum bozuklukları (ilgisizlik, depresyon ve anksiyete), psikoz (halüsinasyonlar ve sanrılar), yeme ve uyku bozuklukları gibi. Bunun için gerekli durumlarda tedaviye antipsikotikler de eklenir[47]. (Şekil 6)

Şekil 6. Alzheimer Demansında Davranışsal ve Psikolojik Bulguları [47]



2.10. ALZHEİMER DEMANSININ MOLEKÜLER TEMELİ

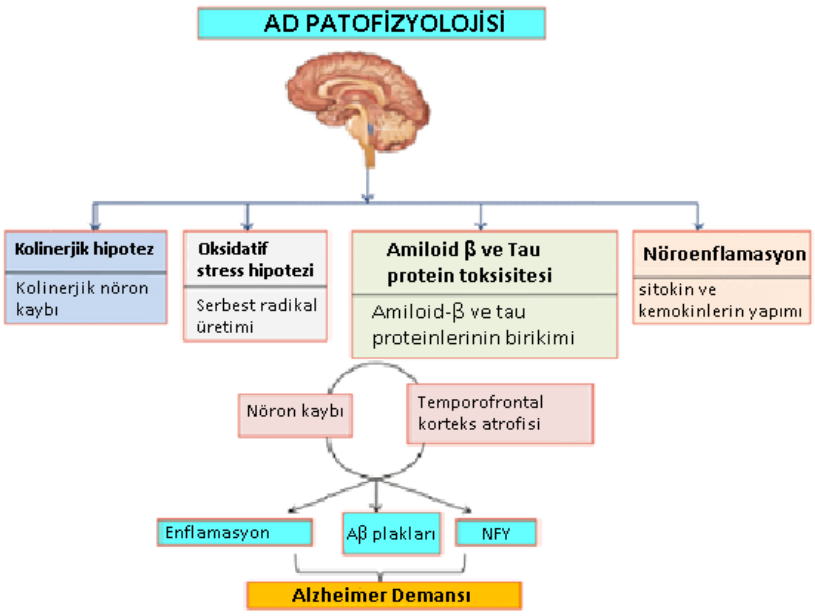
AD, farklı anatomik lokuslarda gerçekleşen yoğun nöron ve sinaps kayıpları sonucu ortaya çıkan fenotipik bir bozukluktur. Nöron kaybı; özellikle hipokampus, amigdala, entorinal korteks ve frontal, temporal ve parietal kortekslerdeki kortikal asosiasyon alanlarında görülür. Ayrıca, subkortikal nukleuslar olan serotonerjik dorsal rafe çekirdeğinde, noradrenerjik lokus sereleusta ve kolinerjik bazal nukleusta da görülmektedir.

AD'nin patogenezi, kortikal assosiasyon alanlarında oluşan hücre dışı Aβ plakları ve hücre içi NFY dayanmaktadır. Senil plaklar oluşturan Aβ proteinlerinin genetik mutasyonları, dış faktörler, yaşlanma ve agregasyona bağlı konformasyonel değişiklikleri nöronlarda fonksiyon bozukluğu ve nöron kaybına yol açar. Fosforile tau proteinlerinin oluşturduğu NFY ise besinlerin ve diğer esansiyel moleküllerin nöronlara taşınmasını engeller.

Hastalığın bir diğer patolojik belirtileri ise temporofrontal kortekste atrofi ile sonuçlanan nöron kaybı ve nöroenflamasyondur. Toksik Aβ agregatlarının ve tau kümelerinin artışı, serebral kortekste mikroglia ve astrosit adı verilen aktif glial immün hücrelerinin artışına neden olduğu düşünülmektedir. Glial hücreler toksik proteinleri ve ölmüş ve ölmekte olan hücre kalıntılarını fagositoz işlemi ile yok ederek vücudun savunma mekanizmasında yer alır. Savunma mekanizmasını gerçekleştirmede yetersiz kaldıkları durumda kronik nöroenflamasyon durumu ortaya çıkar. AD oluşumu ve ilerlemesinde (patofizyolojisine) ilişkin hipotezler[48]. (Şekil 7):

1. Amiloid kaskad hipotezi
2. Tau protein toksisitesi
3. Kolinerjik hipotez
4. Oksidatif stres
5. Nöroenflamasyon

Şekil 7. Alzheimer Demansında Gelişiminde Rol Oynadığı Düşünülen hipotezler [48].

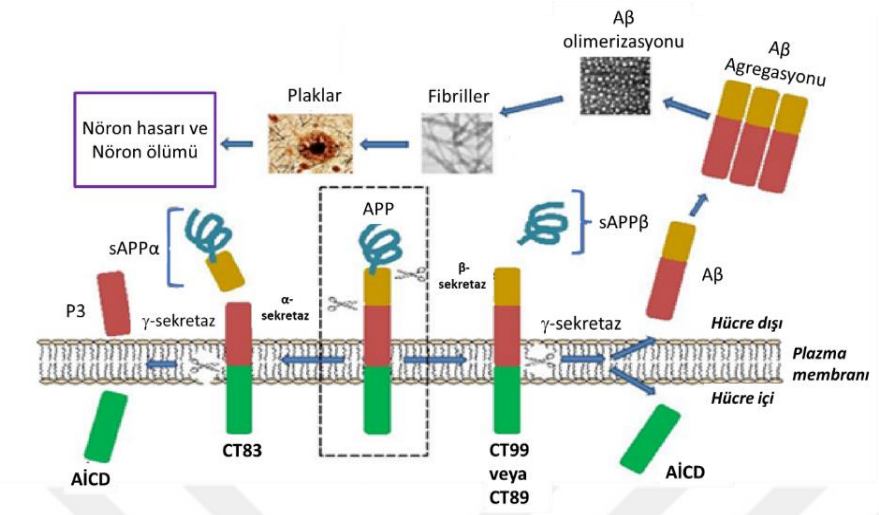


2.10.1. Aβ protein hipotezi (Amiloid kaskad hipotezi)

39-43 amino asitten oluşan Aβ peptitleri, transmembran proteini olan ve 21. kromozomun uzun kolunda bulunan APP bölünmesi sonucu oluşan proteolitik fragmanlardır. Aβ fragmanının iki izoformu mevcuttur: çözünür Aβ40 ve çözünmeyen Aβ42 *(Şekil 8).* Normal fizyolojik koşullarda, Aβ'nın %90'dan fazlası Aβ 40 formundayken, %5'ten azı uzun formu olan Aβ42'yi oluşturur. Artan Aβ42 konsantrasyonunun nörotoksik özelliklere sahip olan oligomerlerin oluşumunu indüklediği bilinmektedir. Bu oligomerler AD'de meninks ve gri maddede kümeler oluşturma eğilimindedir. Bu birikimler plaklar olarak adlandırılmaktadır. Aβ peptidlerinden oluşan senil plaklar, AD'de beynin en önemli patolojik özelliklerindendir. Patolojik koşullarda (amiloidojenik yolak), APP β ve γ-sekretaz enzimleri ile proteolitik yıkım ürünü ve amiloid plakların subünitesini oluşturan Aβ-42 veya Aβ-40 fragmanlarını oluştururken , fizyolojik koşullarda (amiloidojenik olmayan) β-sekretaz yerine α-sekretazların yardımıyla çözünür APPα fragmanlarını oluşturur [49] (*Şekil 8*).

Aβ'nın AD'deki rolü genetik araştırmalarla da açıklanmıştır. APP, PSEN1 ve PSEN2 genlerinde oluşan mutasyonlar ailesel-AD ve erken başlangıçlı AD'de rastlanmaktadır. APP geninde rastlanan missense mutasyonu AD'de Aβ agregasyonu veya kognitif düşüş üzerinde hem hızlandırıcı hem de engelleyici etki göstererek Aβ metabolizmasını düzenler. PSEN1 ve PSEN2 genlerinde rastlanan mutasyonlar ise γ-sekretaz üzerinden Aβ agregasyonunu artırarak AD gelişimini hızlandırır. Erken başlangıçlı(presenil) ve geç başlangıçlı(sporadik) AD'nin en etkili risk faktörü ApoE proteinidir. APOE izoformları (APOE ε4 alleli AD riskini artırır, APOE ε2 alleli ise Aβ birikimini azaltır) Aβ klirensini farklı şekilde düzenleyerek AD'ye etki eder[50].

Şekil 8. Amiloid Prekürsör Protein (APP) Yıkımı [49]

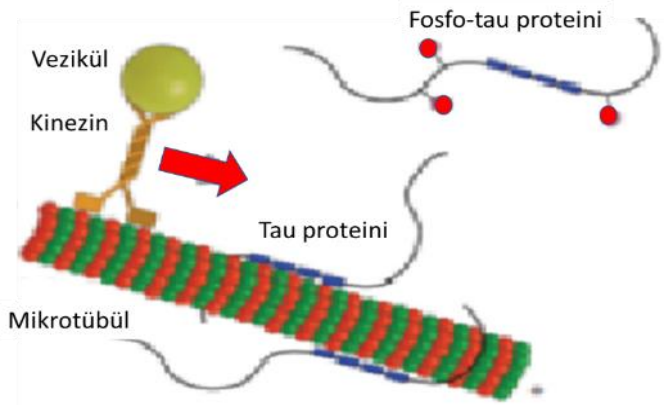


Amiloidojenik olmayan APP işlenmesi*: Plazma membranına bağlı APP, α-sekretaz aracılığı ile Aβ bölümünden işlenerek sAPPα ve CTF-α (CT83) oluşur. CTF-α γ-sekretaz enzimi ile işlenerek P3 ve AİCD gibi fragmanlar oluşur. Amiloidojenik yolak; APP'nin sırasıyla β- ve γ-sekretaz enzimleri ile kesilerek sAPPβ, Aβ ve AICD oluşumu ile sonuçlanır. CTF-β (99 veya 89), β-sekretaz yıkımının ara ürünüdür. APP:amiloid prekürsör protein, Aβ:amiloid beta , sAPP:çözünür (solubl) amilloid precursor protein, CTF:C-terminal domain , AICD: APP intrasellüler (hücre içi) domain.*

2.10.2. Tau protein toksisitesi

AD'nin diğer patolojik özelliklerinden birisi de NFY oluşumudur. NFY'ler piramidal nöronlarda (serebral korteks, hipokampus ve amigdala p-tau formlarının birikimi sonucu gelişir. Tau nöron aksonları ve oligodendrositlerde bulunan ve 17. kromozomun uzun kolunun 17q21 bandında kodlanan çözünür proteindir. Normal fizyolojik koşullarda, tau proteini 4 tübülin bağlanma domaini ile mikrotübüllerin stabilizasyonundan ve aksonal taşımadan (aksonal transport) sorumludur[51] *(Şekil 9).*

Şekil 9. Tau yapısı [51]

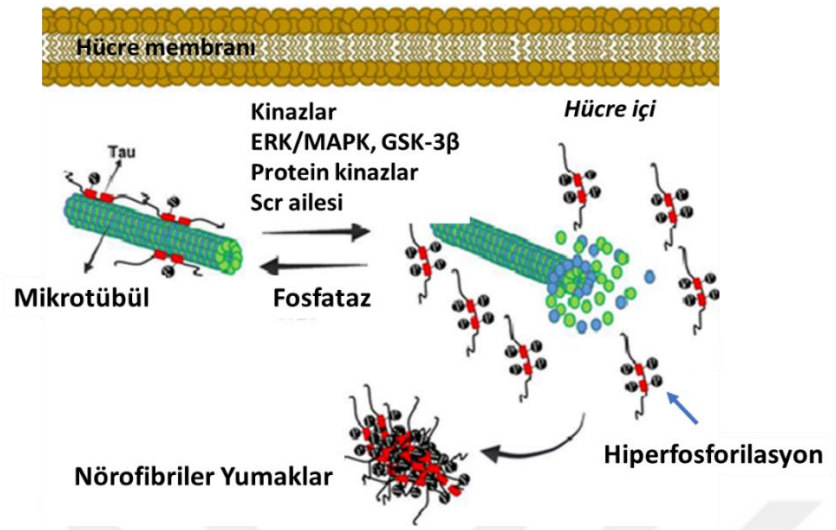


Tau proteini uzun izoformunda 4 tubulin bağlama domainleri ile mikrotübüllerin stabilizasyonunu sağlar. Tau proteininin mikrotübüllere bağlanması, düzenli kinaz ve fosfataz enzimlerinin etkileri ile dengede tutulur. Mikrotübüllere bağlanma aktivitesini düzenleyen tau fosforilasyonu aksonal taşımaya etki eder. Tau proteini veziküllerin mikrtotübüller boyunca kinezin ile taşınmasını inhibe eder.

Nöron sitozolünde bulunan fosforile veya defosforile tau, sırasıyla kinaz ve fosfataz enzimlerinin aktivitesi ile dengede tutulur. Tau proteininin yapısal değişiklikleri, mikrotübüllerin stabilizasyonu ve bu proteinle ilgili diğer süreçleri etkiler. Hiperfosforilasyon, asetilasyon, glikasyon, ubikitinasyon, proteolitik yıkım, konformasyonel değişiklikler gibi post-translasyonel modifikasyonların tau proteinlerinin fonksiyon kaybına ve patolojik özellikler kazanmasına neden olduğu öne sürülmüştür. Normalde taunun optimal aktivitesi için yapısında 2–3 mol fosfat/mol bulunması yeterlidir. Tau'nun hiperfosforilasyonu ise mikrotübüllere bağlanmasını baskılayarak mikrotübüllerin normal işlevine etki eder [52] *(Şekil 10).*

Tau proteinlerinin neden olduğu AD, parkinsonizm ilişkili FTD-17 (FTD17), Pick hastalığı (PiD), PSP, Kortikobazal Dejenerasyon (CBD) gibi nörodejeneratif hastalıklara taupatiler denir. FTD hastalarında mikrotübül ilişkili tau proteini (MAPT) geninde gelişen mutasyonların, tau disfonksiyonunun bu hastalığın patolojik belirtilerinden olduğunu gösterir. FTD frontal ve temporal loblarda gelişen atrofi ile karakterize nörodejeneratif bozukluktur. FTD tipleri olan FTDP-17 ve PiD gibi taupatilerde histopatolojik araştırmalar (incelemeler) sonucu tau cisimciklerinin görülmesi hastalığın gelişiminde rolleri olduğunu gösterir. FTD nedenleri arasında PiD en nadir görülen demans tipidir. Patolojik olarak, PiD nöron kaybı, gliozis ve nöron inklüzyonları ile ilişkili asimetrik ve sınırlı kortikal atrofi ile karakterizedir. (Pick cisimleri). Ailesel PiD hastalığında da MAPT geninde mutasyonlar görülmüştür[53].

Şekil 10. Nörofibriller Yumak (NFY) Oluşumunun Moleküler Mekanizması[52]



CAMKII, Kalsiyum/Kalmodulin-ilişkili Protein Kinaz Tip II; Cdk5, Siklin-ilişkili kinaz 5; ERK, "Extracellular signal-regulated" kinaz; GSK3β, Glikojen Sentaz Kinaz 3β; MAPK, Mitojenle etkileşen Protein Kinaz; PK (A,B,C), Protein Kinaz; PP2A, Protein Fosfataz 2A; Src-proto-onkojenik tirozin kinaz grubu

Ailesel FTD ve kromozom 17'ye bağlı FTD parkinsonizm (FTDP)17 demans tiplerinde tau geninde mutasyonların belirlenmesi tau'nun nörodejenerasyondaki rolünü gösterir. Tau mutasyonlarının nöron ölümüne neden olmasında yer alan mekanizmaları halen bilinmemiş olsa da, tau mutasyonlarının farklı tau izoformları ve birikimleri ile karakterize tau filamanlarının oluşumuna neden olduğu bilinmektedir[54].

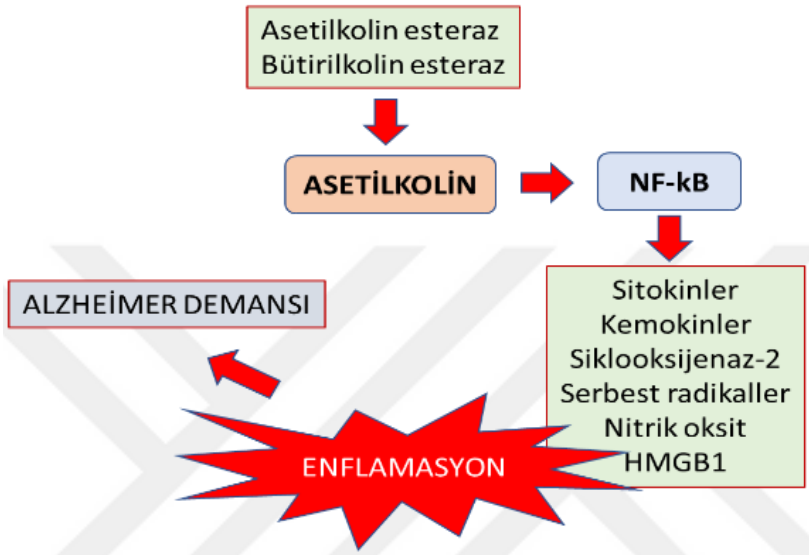
2.10.3. Kolinerjik hipotez

Kolinerjik sinapslar, talamus, striatum, limbik sistem ve neokortekste yoğun olup kolinerjik ileti hafiza, öğrenme, dikkat ve diğer beyin işlevleri için kritik öneme sahiptir. AD'nin kolinerjik hipotezi, progresif limbik ve neokortikal kolinerjik uyarı kaybına dayanmaktadır. Nörofibriler dejenerasyonun, ön beyinde yaygın presinaptik kolinerjik denervasyona yol açarak kolinerjik nöronların işlev bozukluğu ve ölümünün birincil nedeni olduğu bilinmektedir. AD'nin kolinerjik hipotezi, kolinerjik nöronların öğrenme, hafiza ve kognitif süreçler üzerine olan etkilerine dayanmaktadır. Başta Meynert bazal çekirdeği olmak üzere bazal ön beyinde bulunan kolinerjik nöron kaybının AD ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır[55].

Asetilkolin reseptörlerinin azalmasının, Aβ plakları ve NFY birikimiyle ilişkili olduğuna dair kanıtlar bulunmuştur. Bazal ön beyin kolinerjik nöronlarının gövdesi nörofibriler

dejenerasyona ve NFY oluşumuna karşı duyarlı olduğu görülmüştür. AD beyninde yapılan otopsi çalışmaları sonucu azalan kolinasetil transferaz (KAT) aktivitesi ile artan senil plakların ilişkili olduğu kanıtlanmıştır[56] *(Şekil 11).*

Şekil 11. Asetilkolin esteraz, Bütiril kolin esteraz ve Enflamatuvar Mediatörlerin Alzheimer Demans'ında Rolü [56].



Glukozun, glikoliz (Krebs döngüsü) yoluyla parçalanması sonucu oluşan Asetil-KoA molekülleri, KAT enzimi ile birlikte asetilkolin sentezinde kritik rol oynar. Asetil-kolin,sinaptik boşluğa salındıktan sonra postsinaptik reseptöre bağlanarak bir nörondan diğerine sinyal iletimini sağlar. Sinaptik boşluktaki fazla nörotransmiterler, AKE enzimi ile kolin ve asetata parçalanır[57].

Sadece Asetilkolin değil, aynı zamanda dopamin, gama aminobütirik asit (GABA), glutamat ve serotonin gibi diğer nörotransmitterlerin de AD patofizyolojisinde rol oynadığı bilinmektedir. Bir çok çalışmada AD'de dopaminerjik nöronların kaybı görülmüş ve hastalığın gelişimi sürecinde dopamin salınımı, reseptörlerinin sayısı, taşıyıcılarının ekspresyonu ve tirozin hidroksilaz aktivitesinin azalmasına ilişkin sonuçlara varılmıştır[58].

İleri AD vakalarında davranışsal ve psikolojik semptomların düşük GABA düzeylerine bağlı olduğu açıklanmıştır[59]. Son dönemde yapılan klinik araştırmalarda kontrollere kıyasla AD'de idrar ve serum serotonin konsantrasyonlarının önemli derecede düşük olduğu bulunmuştur[60]. Bir diğer çalışmada ise AD ve depresyonu olan hastalarda sağlıklı kontrol grubuna kıyasla BOS glutamat ve glutamin düzeyleri önemli derecede artış göstermiştir.

Ayrıca, BOS glutamat ve glutamin seviyelerinin AD için bir biyobelirteç olan amiloid ve tau indeksleri ile ters orantılı olduğu görülmüştür[61].

2.10.4. Oksidatif stres hipotezi

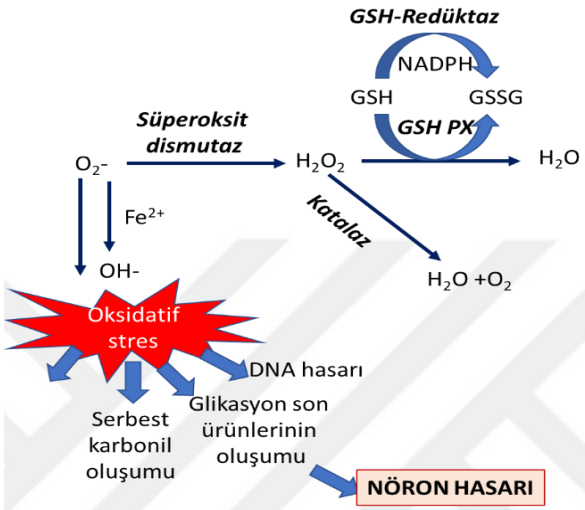
Oksidatif stress, Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS)'un proteinler, fosfolipitler ve DNA gibi kritik hücresel bileşenler üzerindeki zararlı etkileri ile hücre fizyolojisinin bozulması ve disfonksiyonuna yol açması birçok nörodejeneratif hastalığın patogenezinde yer alan hipotezlerden biridir. Örn., malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal (HNE), F2 izoprostanlar gibi fosfolipit hasar belirteçlerinin birikmesi; protein karbonilleri veya 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) gibi DNA hasar belirteçleri BOS ve kanda arttığı gösterilmiştir[62].

Beyin membranında çoklu doymamış yağ asitlerinden oluşan fosfolipitler özellikle serbest radikallere karşı savunmasızlar. Bu doymamış bağlar, AD beyninde dejeneratif değişimin en belirgin özelliği olan hidrojen iyonlarının çıkarılması ve lipit peroksidasyonunda artışa yol açar. Ek olarak, beyin proteinlerinin oksidasyonu nöron ve glial fonksiyonu için önemli olan enzimleri etkileyebileceğinden, serbest radikaller tarafından bu proteinlerin oksidatif hasarı AD'de önemlidir. Bu, özellikle oksidatif modifikasyona duyarlı olan iki enzim için geçerlidir: AD beyinlerinde *glutamin sentetaz* ve *kreatin kinaz* enzimlerinin belirgin şekilde azalmış olduğu gösterilmiştir. Glutamat konsantrasyonunun değişimi eksitotoksisiteyi arttırırken, kreatin kinazın oksidatif bozulması enerji azalmasından sorumlu tutulmaktadır. Hidrojen peroksit radikalleri, hidroksil radikalleri ve süperoksit radikalleri gibi elektron taşıma zincirinin (ETZ) yan ürünlerinin mitokondride aşırı birikmesi oksidatif strese yol açarak AD'de oksidatif hücre hasarı ve ölümüne neden olabilmektedir[63](*Şekil 12*).

Stres koşulları altında ve yaşlanma nedeniyle mitokondri ETZ ile artan ROS oluşumu, AD gelişimi için risk oluşturmaktadır. AD'de mitokondriyal disfonksiyonun nöron dejenerasyonuna yol açtığı mekanizmaların ROS üretimi, bozulmuş adenosin trifosfat (ATP) üretimi ve değişen kalsiyum homeostazıyla ilişkili olduğuna ilişkin kanıtlar bulunmaktadır. Yaşlanmayla birlikte beyinde artan oksidatif stres, aşırı ROS oluşumu veya antioksidan sisteminin işlev bozukluğu ile karakterize redoks durumundaki dengesizlikler ile uyarılır. Biyometal ve lipit içeriği zengin olan beyin büyük oranda peroksidasyona duyarlı ve oksijen ihtiyacı yüksek olan bir dokudur. Sonuç olarak, sinir dokusu üzerindeki oksidatif stres, hücre içi serbest Ca^{2+} artışı, uyarıcı amino asitlerin salınımı ve nörotoksisite gibi etkileşim

mekanizmalarıyla birlikte nöron hasarı artar. Nitrik oksit (NO) ve peroksinitrit gibi Reaktif Nitrojen Türleri (RNT) oksidatif stresin diğer önemli kaynakları veya modülatörlerindendir. Oksidatif stresin Aβ fragmanlarının uzunluğu ile ilişkili olduğu, Aβ (1-42)'nin Aβ (1-40)'dan toksik olduğu ve hidrojen peroksit ve diğer ROS'ların üretimine katkıda bulunmaktadır[64].

Şekil 12. Alzheimer Demans'ında oksidatif stres ve nörodejenerasyon reaksiyonları [63]



GSH, Glutatyon; GSSG, Glutatyon Disülfit; GSH-PX, Glutatyon Peroksidaz; O2-Süperoksit Radikali; OH- Hidroksil Radikali

Artan kanıtlar, demir, çinko ve bakır dahil olmak üzere biyometallerin Aβ patologenezi ve nörodejenerasyonda önemli rol oynadığını göstermektedir. Bu bulgularla uyumlu olarak, Aβ ve öncüsü APP'nin N-terminal metal bağlama bölgesinde bakır ve çinko için yüksek afiniteli bağlanma bölgeleri bulunur. Bakır yüksek oranda reaktif hidroksil radikalinin (OH•) güçlü bir mediatörüdür ve sonuç olarak amiloid plaklarda bulunan yüksek bakır oranı AD beyninin oksidatif stres toksisitesinin artışında rol oynar [65]. Ek olarak, AD patolojisinde yüksek çinko konsantrasyonu çoğunlukla en çok etkilenen neokorteks, amigdala ve hipokampus dahil olmak üzere beynin hafiza ve kognitif bölümlerinden sorumlu bölegeleri ile ilişkilendirilmiştir. Çinkonun bağlanması Aβ (1-40) konformasyonel değişimine neden olarak toksik, fibriler, Aβ agregatlarının çoğalmasına yol açar . Bu nedenle, kontrolsüz çinko veya Aβ birikiminin Zn-kaynaklı ve Aβ-aracılı oksidatif strese ve sitotoksisiteye yol açtığı araştırmalar yayınlanmıştır[66].

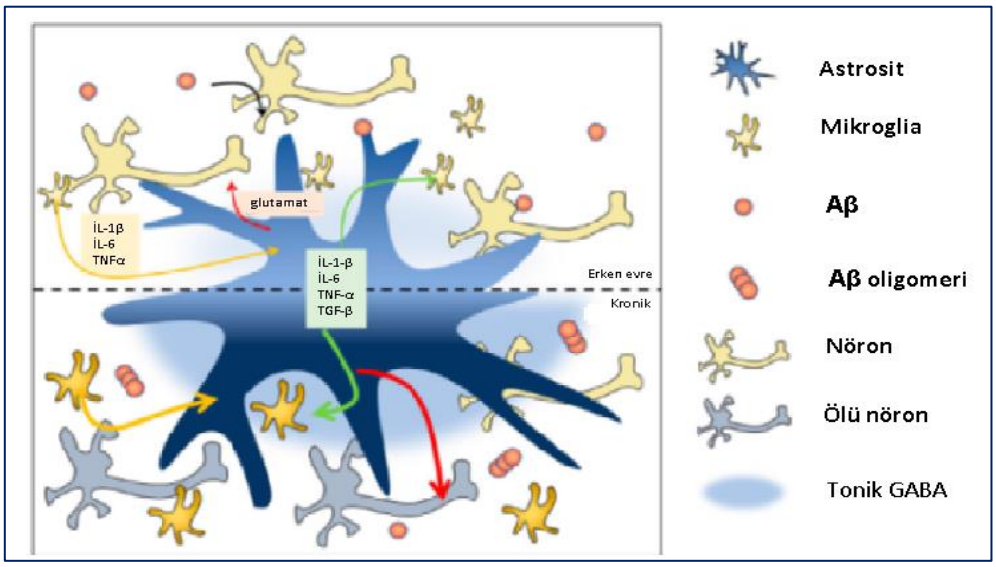
Proteinlerin amino grubu ile monosakkaritler enzimatik olmayan reaksiyona girerek glikasyon son ürünlerinin oluşumu gibi post-translasyonel modifikasyonlar protein oksidasyonunu

indükler. Artan kanıtlar, Aβ plaklarının elektron taşıma zinciri üzerinden serbest radikaller ürettiğini, böylece oksidatif streste artışa yol açtığını göstermektedir. Oldukça reaktif olan bu süperoksit radikallerinin bazıları ayrıca NO ile reaksiyona girerek, bir başka yüksek reaktif oksidatif türlerden olan peroksinitrit radikallerinin oluşumuna neden olur. Ek olarak, AD'de oluşan serbest radikaller, deoksiribo nükleik asit (DNA) ipliklerinin oksidasyonu ve kırılmasına, DNA proteinlerinin çapraz bağlanmasına ve hatta DNA baz-çifti modifikasyonlarına yol açabilir[67].

2.10.5. Nöroenflamasyon

Nöroenflamasyon MSS'de enfeksiyon, travma, iskemi gibi patolojik nedenleden veya toksinlerden kaynaklı enflamatuvar yanıtı ifade eder. Bu süreç MSS'deki doğal bağışıklık hücrelerinden (mikroglia ve astrositler) interleukin-1β (IL-1β), IL-6, IL-18 ve tümör nekroz faktörü-α (TNFα) gibi proenflamatuvar sitokinler; C-C motif kemokin ligandı-1 (CCL1), CCL5 ve CXC motif kemokin ligandı 1 (CXCL1) gibi kemokinlerin; prostaglandinler ve NO gibi küçük haberci moleküllerin ve ROS salınımı ile karakterizedir. Salınan proenflamatuvar sitokinler sinaptik disfonksiyon, nöron ölümü ve nörojenez inhibisyonuna sebebiyet verir Anti-enflamatuvar sitokinlerden IL-1 reseptör antagonisti, IL-4, IL-10 ve IL-11 gibi sitokinlerin salınmasının nöroenflamasyonun önlenmesine katkısı olduğu düşünülmektedir. Ancak, devamlı sitokin salınımı kronik nöroenflamasyona neden olarak nörodejeneratif hastalığın ilerlemesine sebebiyet vermektedir[68] (Şekil 13).

Şekil 13. Glia Hücrelerinin Alzheimer Demans'ının Gelişmesindeki Rolü [68]



Nöroenflamasyon sürecinde mikroglia, astrosit ve nöron hücrelerinin nörodejenerasyonu eşzamanlı olarak teşvik ettiği bilinmektedir. Astrositler, protoplazmik (ağırlıklı olarak gri maddede) veya fibröz formda (ağırlıklı olarak beyaz maddede) bulunan ve MSS yapısını oluşturan özel glial hücrelerdir. Astrositlerin beyine kan akışının düzenlenmesi, nörotransmitter homeostazının korunması, sinaps oluşumunun indüklenmesi, amiloid ve tau gibi nörotoksik proteinlerin eliminasyonu gibi işlevleri vardır. İnsan beyni ile yapılan doku çalışmasında, amiloid plakları çevreleyen astrosit hücrelerinde amiloid yapılarını içeren granüllerin görülmesi, bu hücrelerin hastalık sürecinde amiloid birikiminin ortadan kaldırılmasında rolü olduğunu düşündürmüştür [69]. Ardından yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda, astrositlerin amiloid plaklara doğru göç ettiği ve Aβ proteinlerini yıkımını gerçekleştirdiği saptanmıştır [70].

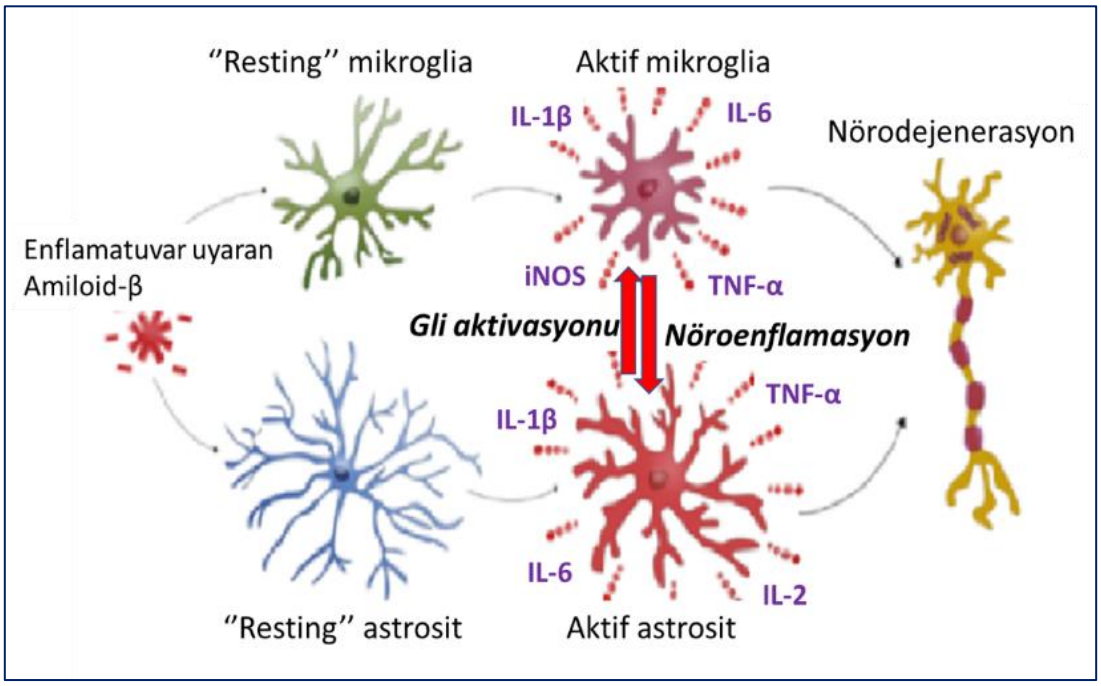
Bazı araştırmalarda astrositlerin nöroprotektif etkiye sahip olduğuklarını gösterirken, diğerleri reaktif astrositlerin nörotoksik etkiye sahip olduğunu iddia edilmektedir. AD'nin erken evresinde mikrogliadan salınan enflamatuvar sitokinler, glia hücreleri aktive eder. Aktif astrositler ise; hem yakınında bulunan mikroglia hücrelerini aktive ederek TNF-α, TGF-β, IL-1β sitokinlerin salınmasına neden olur, hem de ApoE2 apolipoproteinleri ile çözünür Aβ formlarının yıkımını gerçekleştirir. Astrosit hücrelerinin bu etkileri AD tedavisinde terapötik hedef olarak kullanılabilirliğini göstermektedir. Mikrogliaya benzer şekilde, uzun süre reaktif astrositlerin varlığı, yüksek glutamat salınımı ile ve mikrogliaların fagositik etkisini baskılayarak nörotoksik işlevini gösterir. Sonuç olarak, glia hücreleri AD'nin erken evrelerinde nöroprotektif etkilere sahipken, kronik Aβ varlığında nörotoksik etkilerini göstermektedirler [68] *(Şekil 12)*.

Mikroglia hücreleri nöron apoptozu, sinaptik plastisitenin korunması gibi MSS ile ilgili olaylarda önemli rollere sahiptir. Endojen veya ekzojen patolojik uyaranlara maruz kaldığında, *hasar-ilişkili moleküler* (DAMP) ve patojen-*ilişkili moleküler* (PAMP) kalıpların, hücre kalıntılarının ve/veya Aβ dahil olmak üzere anormal yapılı proteinlerin mikroglia yüzeyinde bulunan TLR'ler ve ileri glikozillenmiş son ürünü (RAGE) gibi reseptörlere bağlanarak mikrogliada enflamatuvar yanıtı başlattığı bilinmektedir. Mikroglia üzerinde bulunan TLR2 ve 4 reseptörlerin, Aβ'nın hem fibriler formunun fagositozundan hem de çözünür formunun pinositozundan sorumlu olduğu bulunmuştur[71]. Aktif mikroglialardan salınan TNF-α gibi sitokinler, mikroglia'yı sürekli aktif konuma dönüştürür. Sürekli aktif mikroglia ya apoptoz yoluyla baskılanır ya da diğer glia hücrelerini aktif hale dönüştürmeye

devam eder. Salınan sitokinlerin etkisi ve kronik nöron hasarı ile mikroglialar sürekli aktif hale geldiğinden, enflamasyon ve immün yanıt mikrogliadan fazla sitokin salımına neden olmaktadır. Sonuç olarak devamlı mikroglia aktivasyonu nörotoksik etkisini göstermektedir. Kronik AD durumunda ise mikroglia hücreleri, fazla glutamat salınımı ile nöron ölümüne sebebiyet vermektedir[72].

Özetle, AD ilerledikçe mikroglia Aβ plakları varlığında aktif konuma geçer. Mikrogliadan salınan sitokin ve kemokinler ise astrositleri aktive eder. Mikroglia ve astrositlerden salınan sitokinler diğer mikroglia ve astrosit hücrelerine geri bildirim sağlayarak aktivasonlarına sebebiyet verirler. Bu döngü, kronik enflamatuvar sürecini başlatır; hastalık ilerledikçe mikroglia koruyucu fonksiyonunu kaybederek nörotoksik hale gelir. AD'nin erken evresinde, mikroglia hücreleri Aβ proteinleri ile aktive edilerek sitokinlerin ve kemokinlerin (IL-1β,IL-6, TNF-α) salımını gerçekleşir. Aktif mikroglia hücreleri astrositleri aktive ederek Tümör nekroz faktörü α (TNF-α), Transforming Growth Factor-β (TGF-β), IL-1β ve IL-6 gibi sitokinlerin ve bazı nörotransmiterlerin (glutamat) salımına neden olmaktadır. Bu süreçte mikroglia ve astrositler birbirlerine pozitif geri bildirim sağlayarak sürekli aktif konuma geçerler (Şekil 14). Mikroglia ve atrositlerin nöron koruyucu veya nörotoksik etkilerinin kesinleşmesi tedavi stratejilerinin arşatırılması için önemlidir[73]

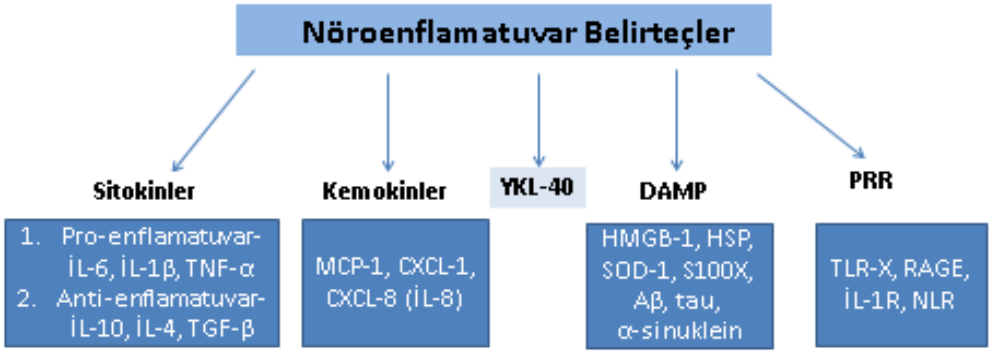
Şekil 14. Alzheimer Demans'ında Kronik Nöroenflamasyon [73]



2.11. Nöroenflamatuvar Belirteçler

Nöroenflamasyon, sitokin ve enflamatuvar mediatörlerin salınımı ile karakterize süreçleri kapsayan ve nöron ölümü ile sonuçlanan bir süreçtir. Bu mediatörler nöroenflamatuvar belirteçler olarak bilinmektedir (Şekil 15). MSS'de yalnış katlanmış protein veya agregatlar, hasar ilişkili moleküler kalıplar (DAMP), kalıp tanıma reseptörleri (PRR), mikroglia, astrosit, endotel ve nöron gibi farklı hücrelerden salınan sitokinler nöroenflamatuvar belirteçleri oluşturur. Mikroglia ve astrosit aktivasyonu KBB'yi aşarak kan dolaşımına geçen enflamatuvar mediatörlerin salınımını tetikler. Bu mediatörler daha sonra glia hücrelerine etki ederek, hücrelerin hastalığa karşı duyarlılığını artırırlar. Nörodejeneratif bozukluklarla başarılı bir şekilde mücadele etmek için hastalığın erken tanısı, ilerlemesi ve tedavi sürecinin takibi gibi için doğru ve hassas belirteçlere ihtiyaç vardır[74].

Şekil 15. Nöroenflamatuvar Belirteçler



IL-6—nterlökin-6, IL-1β—İnterlökin-1β, TNF-α—Tümör Nekroz Faktör-α, IL-10—İnterlökin-10, IL—4-İnterlökin-4, TGF-β—Transforming Growth Factor-β, MCP-1—Monosit Kemoatraktan Protein-1, CXCL-8 (IL-8—interlökin 8)- Kemokin Ligandı-8, YKL-40 (CHI3L1)- kitinaz 3 benzeri protein 1, DAMP-Hasar ilişkili moleküler kalıplar, HMGB1-yüksek mobilite grup B1, HSP-ısı şok proteinleri, SOD-1—Superoksit Dismütaz-1, Aβ-Amiloid Beta, TLR-X—Toll benzeri reseptör-X, RAGE—ileri glikozillenmiş son ürün reseptörü

Sitokinler: Sitokinler enflamasyonu düzenleyerek hücre büyümesini, yaşamını sürdürülmesini ve farklılaşmasını sağlar. Sitokinler, yapısal özellikleri ve reseptörlerine göre pro- veya anti-enflamatuvar faktör gruplarını oluşturur. Sitokinler monositler (veya makrofajlar), limfositler ve nöron, endotel ve glia gibi beyin hücrelerinden salınır.

1.1. Proenflamatuvar sitokinler. IL-6, IL-1β ve TNF-α AD'de proenflamatuvar yanıtın başlıca mediatörleridir.

2.1. Anti-enflamatuvar sitokinler. IL-10, IL-4 ve TGF-β enflamatuvar aktivasyonu engelleyen antienflamatuvar sitokinlerdir. En önemli aktiviteleri makrofaj aktivasyonunun ve proenflamatuvar sitokin yapımının baskılanmasıdır[74]

Kemokinler: Nöroenflamasyon gelişimi monositlerin birikimi ve glia hücrelerinin aktivasyonu sonucu yüksek kemokin ve reseptörlerinin regülasyonu ile gerçekleşir. Kemokin ligand 2 (CCL2) olarak bilinen Monosit Kemoatraktan protein-1 (MCP1) senil plaklarda immün hücrelerinin birikiminde rol oynar. MCP1 AD'nin ileri evrelerinde yüksek düzeyde ifade edilerek enflamasyonu indüklediği bulunmuştur[75]. AD'de BOS ve kanda yüksek düzeyde görülen CXCL-8 (IL-8) kemokininin yapımı, proenflamatuvar uyaranlara ve Aβ'ya yanıt olarak gerçekleşir. Natural killer (NK; doğal öldürücü) hücrelerinin kemoatraktanı olan CX3CL1 (Fraktalkin) MSS'de nöron ve glia hücrelerinde ifade edilir. Anti-enflamatuvar kemokin olan fraktalkin mikroglia aktivasyonunu ve enflamatuvar mediatörlerin yapımını inhibe ederek nörotoksisiteyi engeller [76].

YKL-40 : Kitinaz 3-benzeri protein 1(CHİ3L1) olarak bilinen YKL-40 glikoproteini TNF-α ve IL- 1β gibi sitokinlere yanıt olarak enflamatuvar süreçte upregüle edilir. AD'de YKL-40 proteini amiloid plakların etrafında bulunan reaktif astrositlerde ifade edildiği görülmüştür [77].

Hasar ilişkili moleküler kalıplar (DAMP): DAMP'ler,enfeksiyon harici uyaranlara (steril enflamasyon) yanıt olaraak salınan ve enflamatuvar yanıtı tetikleyen belirteçlerdir. DAMP'ler, Kalıp Tanıma Reseptörlerine (PRR) bağlanarak MSS'de immün yanıta aracılık ederler. HMGB1, ısı şok proteinler (Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40), amilioid-β, α-sinuklein, tau gibi yanlış katlanmış proteinler, superoksid dismutaz 1 (SOD1), S100X (S100A8, S100A9, ve S100A12, S100B) proteinler enflamasyon sürecinde DAMP molekülleri olarak görev alır. ATP, ürik asit, heparan sulfat ve DNA gibi protein olmayan DAMP'ler de nöroenflamasyonda yer alır [78].

Kalıp Tanıma Reseptörleri (PRR): PRRler, DAMPlerin bağlanması ile aktive edilerek hücre hasarı ve enflamasyon süreçlerne aracılık eder. Toll-benzeri resseptörler (TLRler), interlökin-1 reseptör (IL-1R), RAGE, NOD-benzeri reseptörler (NLR) DAMP reseptörleridir. TLR ve RAGE membrana bağlı hücre dışı reseptör iken, NLR'ler ise hücre içi yerleşimli reseptörlerdir [78].

2.11.1. SİRTUİN-1

"Silence information regulator" (SIR'ler) olarak adlandırılan Sirtuin-1 proteinleri ilk olarak Saccharomyces cerevisiae'de tespit edilmişve III sınıf histon deasetilazlar (HDAC'ler) grubuna dair edilmiştir. Sirtuinler, yaşlanma veya yaşa bağlı hastalıklarda çok sayıda hücre yolaklarını düzenleyen NAD^+ bağımlı enzimlerdir. Sirtuinler aynı zamanda hücre metabolizmasını, apoptoz ve DNA onarımı gibi bir çok biyolojik süreçlerde yer alan epigenetik düzenleyicilerdir. Hücre içi yerleşimi ve biyolojik aktivtesine göre toplam 7 sirtuin (SIRT1-SIRT7) tipi tanımlanmıştır [79] *(Tablo 5)*.

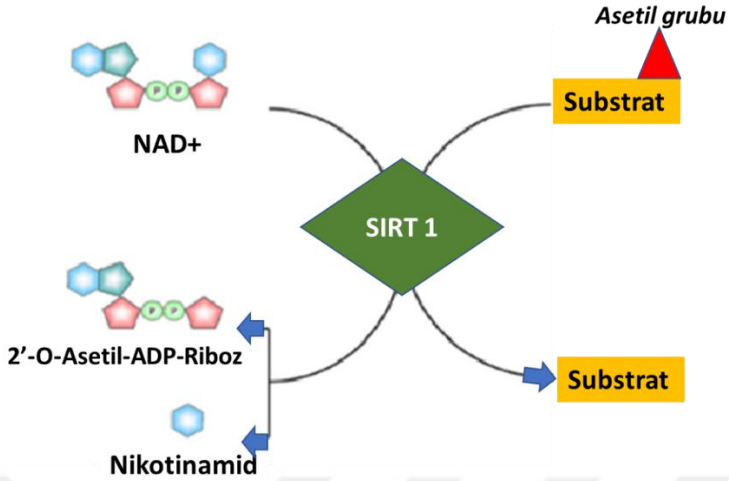
Sirtuinler, kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi metabolik ve yaşa-bağlı hastalıklarda koruyucu etkilere sahiptir. SIRT1 ve SIRT2 hem nukleus hem de sitoplazmada bulunur. SIRT1, SIRT6 ve SIRT7 genel olarak nukleusta bulunurken, histon gibi hücre içi haberci proteinlerini deasetile eder ve gen ekspresyonlarını düzenler. Sitoplazmada lokalize SIRT2 hücre döngüsünü düzenleyerek nükleer protein gibi davranır. Mitokondride bulunan SIRT 3, 4 ve 5 enerji metabolizmasını düzenler[80].

Sirtuinler arasında SIRT1 en çok araştırılan enzimdir. Gen stabilitesini koruma etkisine sahip SIRT1, DNA onarımı, metabolik regülasyon, yaşlanma, oksidatif stress, anjiyogenez, enflamasyon, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklarım patofizyolojisi ile ilişkili olduğu bulunmuştur[81]. Sıklıkla nöronlarda bulunan SIRT-1'lerin gen ifadesi yüksek düzeyde korteks, hipokampus, serebellum ve hipotalamusunda gerçekleşirken, beyaz cevherde düşük düzeyde ifade edilmektedir. SIRT1, NAD+ kofaktörü ile nikotinamid (NAM) ve 2′-O-asetil-ADP-riboz ürünlerini oluşturarak proteinlerin deasetilasyonunu sağlar [79] (Şekil 22).

Tablo 5. Sirtuin proteinlerinin karakterizayonu[79]

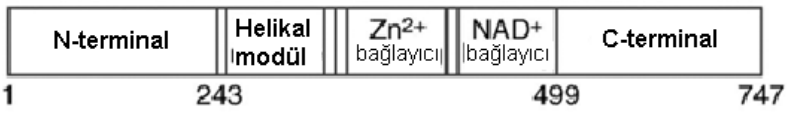
Tip	Moleküler kütle (KDa)	Enzimatik aktivite	Hücre içi yerleşimi
Sirtuin 1	81,7	Deasetilaz	Nükleus, Sitoplazma
Sirtuin 2	43,2	Deasetilaz	Nükleus, Sitoplazma
Sirtuin 3	43,6	Deasetilaz	Mitokondri
Sirtuin 4	35,2	ADP-riboziltransferaz	Mitokondri
Sirtuin 5	33,9	Deasetilaz demalonilaz desuksinilaz	Mitokondri
Sirtuin 6	39,1	ADP-riboziltransferaz, deasetilaz	Nükleus
Sirtuin 7	44,8	Deasetilaz	Nükleolus

Şekil 22. Sirtuin 1 (SIRT 1) ve Katalitik Reaksiyonu [79]



Yapısında 747 amino asit bulunan SIRT1 proteini ve üç esas domainden oluşur (Şekil 23). NAD^+ bağlama ve Zn^{2+} bağlama subdomainlerinden oluşan deasetilaz domaini-merkezi (central core), ve SIRT1 aktivatörleri veya represörlerininin bağlandığı domain- N- ve C-terminal domainleri. SIRT1 düzeyi ve aktivitesi fosforilasyon, metilasyon, S-nitrosilasyon ve karboksilasyon gibi post-transkripsiyonel modifikasyonla düzenlenir. Ayrıca, SIRT1'in aktivitesi belirgin şekilde NAD+/NADH oranına da bağlıdır [82] (Şekil 23).

Şekil 23. SIRT-1'in Yapısı [82]



İn vivo çalışmada, NAD+ düzeyleri uzun süreli açlık, kalori kısıtlanması ve egzersiz gibi durumlarda artarak NAD+/NADH oranını ve sirtuin aktivitesini artırdığı görülmüştür. Yüksek enerji durumunda ise (örneğin: tokluk), azalan NAD+ seviyelerinin sirtuin aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir [79]. Enerji metabolizmasından hücrenin yaşam süresince değişik hücresel mekanizmalarda yer alan SIRT1; p53, NF-κB, FOXO ve PGC-1α gibi transkripsiyon faktörlerini deasetile eder. Bu nedenle, SIRT1, bir çok hastalıkta terapötik hedef olarak bilinmektedir. SIRT1 p53, NF-kB, PPAR-γ, PGC-1α, FOXO gibi nöroprotektif proteinlerin hem asetilasyonlarını hem de transkripsion aktivitelerini düzenler. PD'de, SIRT1 ısı şok proteinleri ve PGC-1α gibi proteinleri deasetille ederek α-sinüklein agregasyonunu inhibe

eder ve, bu nedenle dopaminerjik nöronları Lewy cisimcikleri adı verilen çözünmeyen fibrillere bağlı gelişen hücre ölümüne karşı korur [83].

Çalışmalar, SIRT1'in AD'de nöroenflamasyon, nörodejenerasyon ve mitokondriyal disfonksiyon gibi patofizyolojik süreçlerde rol aldığını göstermektedir. *İn vivo* ve *in vitro* çalışmalarda, sirtuinin amiloidojenik olmayan yolağın substratlarını deasetile ederek veya doğrudan Aβ and Tau gibi proteinlerine üzerine etki ederek AD patolojisini azalttığına yönelik sonuçlar bulunmaktadır. Ek olarak, sirtuinlerin AD'nin ilerlemesine neden olan nöroenflamasyon ve oksidatif stres gibi süreçleri azaltıcı etki gösterdiği bulunmuştur[79].

Bir çok hastalıkta Sirtuin-aracılı otofaji töropatik hedef olarak kullanılır. Otofaji, hasarlı proteinlerin ve mitokondri, ER, peroksizom gibi organellerin lizozom-aracılı yıkımına denir. Otofajiyi indükleyen SIRT1 beyinde de koruyucu etkiye sahiptir. Örn., SIRT1, otofajinin negatif düzenleyicisi olan mTOR sinyal yolağını baskılayarak MSS'de nöron gelişimini ve hücrenin yaşam süresini uzatır[80].

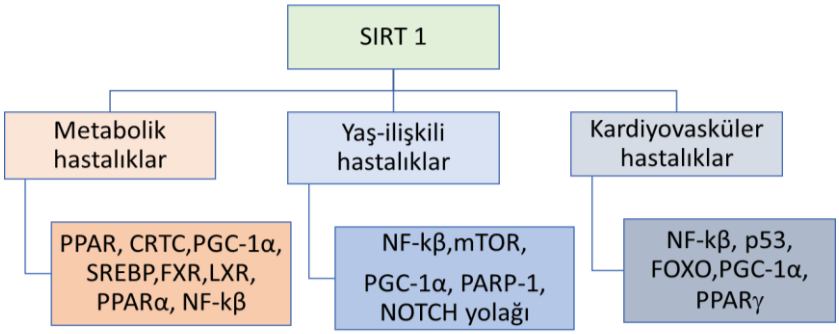
Sirtuinler ve Kronik Hastalıklar

Metabolik Hastalıklar: SIRT1 yağ dokusu ve karaciğer işlevini glukoz homeostazı ve yağ metabolizması üzerinden obeziteye karşı korur. SIRT1 PPARα aktivitesini ve yağ asidi oksidasyonunu düzenlenmesinde yer almaktadır[84]. SIRT1, transkripsiyon faktörü PPARγ'yı baskılayarak yağ birikimini azaltır. Obezitede adipositlerin sayısı ve boyutu artarken, SIRT düzeyi ve aktivitesi azaldığı bildirilmektedir. Artan adipositler ile gerçekleşen makrofaj artışı TNF-α, IL-6, ve iNOS gibi enflamatuvar moleküllerin salımına da neden olur. SIRT1 ekspresyonu ve aktivasyonundaki artış insülin sekresyonunda artışa yol açarken, SIRT1 eksikliği insülin yanıtı baskılanarak glukoz düzeylerinde artış yapmaktadır [85].

Kardiyovasküler hastalıklar **:** Artan kanıtlar, aterosklerozda sirtuinlerin anti-enflamatuar rolünü destekler. SIRT1 makrofajlarda RelA/p65-NF-kB'yi deasetile ederek aterosklerozda aktiflenen NF-kB sinyal yolağını baskılar ve köpük hücre oluşumunu azaltır [86].

Kronik Böbrek Hasarı: Sirtuinler kronik böbrek enflamasyonunu düzenler. Hayvanlarda indüklenen kronik enflamatuvar böbrek hasarında, SIRT1 NF-kB-RelA/p65 ve p53 deasetile ederek nöroenflamasyonu ve iskemi/reperfuzyon hasarında apoptozu azaltır [87](Şekil 24).

Şekil 24. SIRT1'in Metabolik, Yaşa Bağlı Ve Kardiyovasküler Hastalıklarda Hedef Proteinleri[82]



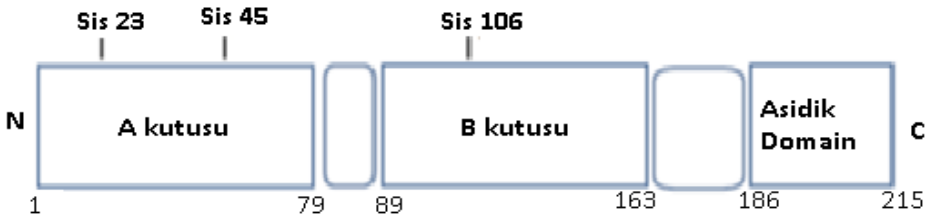
***PPAR**-Peroksizom proliferatör-aktive reseptörler*, ***CRTC**-"CREB-regulated" transkripsiyon koaktivatörü*, ***PGC-1α**- PPAR Gamma Koaktivatör 1α*, ***SREBP**-Sterol düzenleyici eleman bağlayıcı Protein*, ***FXR**-Farnesoid X reseptörü*, ***LXR**-Karaciğer X reseptörleri*, ***NF-kB**-nükleer faktör kappa β*, ***mTOR**- Rapamisin protein kompleksi*, ***PARP-1**- Poli [ADP-riboz] polimeraz 1*

2.11.2. HIGH MOBİLİTY GROUP BOX-1 (HMGB1)

215 amino asitten oluşan 30 kDa'lık HMGB1, DNA-bağlayıcı protein ailesine ait histon olmayan proteindir. Yapısında yüksek düzeyde asidik ve bazik amino asit bulunması ve poliakrilamid jel elektroforezinde hızlı hareket etme özelliklerine sahip olduğu için HMGB1 olarak adlandırılmış olan bu protein, ilk 1973'te bulunmuştur [88].

Hücresel stres yanıtını düzenleyen HMGB1 hücre içinde DNA şaperonu, hücre dışında ise hasar ilişkili moleküller kalıplar (DAMP) gibi farklı rollerde sahiptir. Yapısal olarak HMGB1, 3 domainden oluşur: 2 pozitif yüklü DNA-bağlayıcı domain (N-terminal A kutusu (1-79) ve B kutusu (89-163)) ve protein-protein etkileşimlerini düzenleyen negatif yüklü asidik C-terminal domain *(Şekil 16)*. Normal fizyolojik koşullarda monosit ve makrofajlardan serbestleşmesini sağlayan 2 nukleer lokalizasyon sinyalleri veya dizileri (NLS) bulunur. HMGB1'in NLS üzerinden hiperasetilasyonu sonucu molekül çekirdekten sitoplazmaya geçer ve ardından hücre-dışına salınır. Hücre-dışı HMGB1, enfeksiyon veya doku hasarı sonrası salınan enflamatuvar mediatördür[89].

Şekil 16. HMGB1 Yapısı[89].



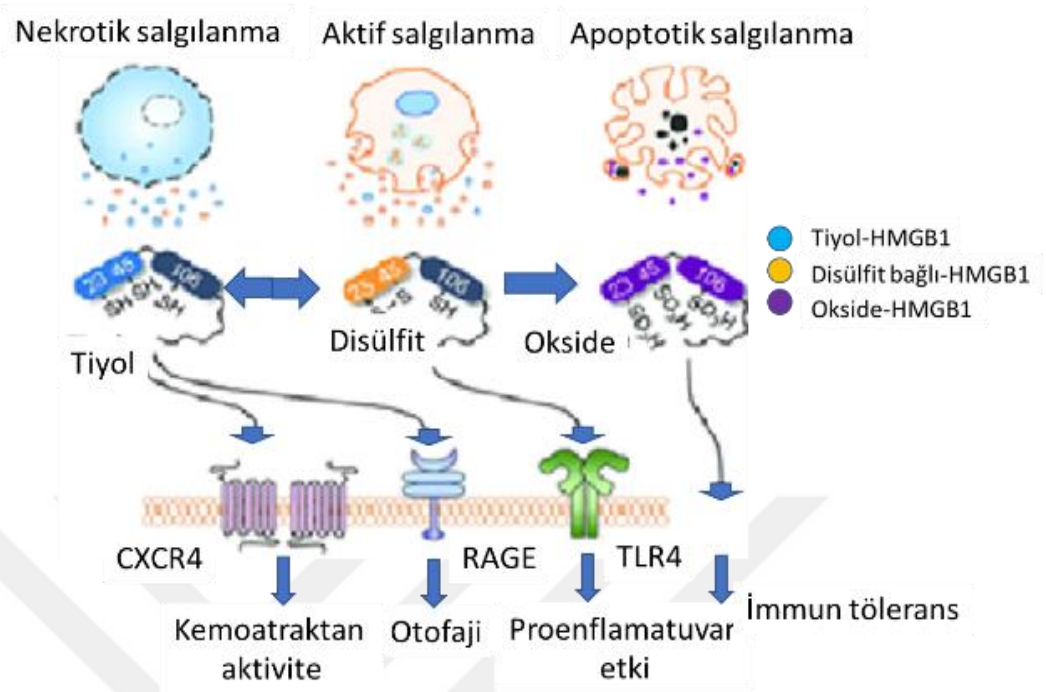
HMGB1'in 150-183 amino asit aralığında bulunan C-terminal domaini, mediatörün RAGE ve TLR gibi reseptörlere bağlanmasını sağlar. Hücre-dışı HMGB1'in biyolojik aktivitesini belirleyen üç sistein (Sis) kalıntısı vardır: A domaininde birbirine yakın 2 Sis (C23 ve C45) ve B kutusunda ise 1 Sis kalıntısı (C106) [90] (Tablo 3).

HMGB-1'in biyolojik aktivitesi bulunduğu hücre tipine, bağlandığı moleküllere ve redoks durumlarına göre değişiklik göstermektedir. Spesifik olarak, tamamen indirgenmiş HMGB1 formu(tiyol) göre RAGE ve CXCR4'e bağlanarak, sırasıyla otofaji ve kemotaksisi indükler. Sistein 23 ve sistein 45 arasında oluşan disülfit bağı ile kısmen oksitlenmiş (indirgenmiş) HMGB1 formu, TLR4 reseptörüne bağlanarak enflamatuvar yanıtı başlatır. Ancak tamamen oksitlenmiş formunda (sülfhidril gruplarının sülfonatlara oksidasyonu), kemotaksis ve proenflamatuvar etkisini kaybeder. Fizyolojik koşullarda hücre içi HMGB1'in büyük bir kısmı tamamen indirgenmiş formda bulunur [91] (Şekil 17)

Tablo 3. HMGB1 redoks forumuna göre aktivitesi[90]

Redoks form	Moleküler yapı	Sitokin Aktivitesi	Kemoatraktan Aktivite
Tiyol – HMGB1	$-C_{23}-SH \quad C_{45}-SH \quad C_{106}-SH$	**Yok**	**Var**
Disülfit– HMGB1	$S-S$ (C23–C45) $\quad C_{106}-SH$	**Var**	**Yok**
Okside – HMGB1	$-C_{23}-SO_3H \quad C_{45}-SO_3H \quad C_{106}-SO_3H$	**Yok**	**Yok**

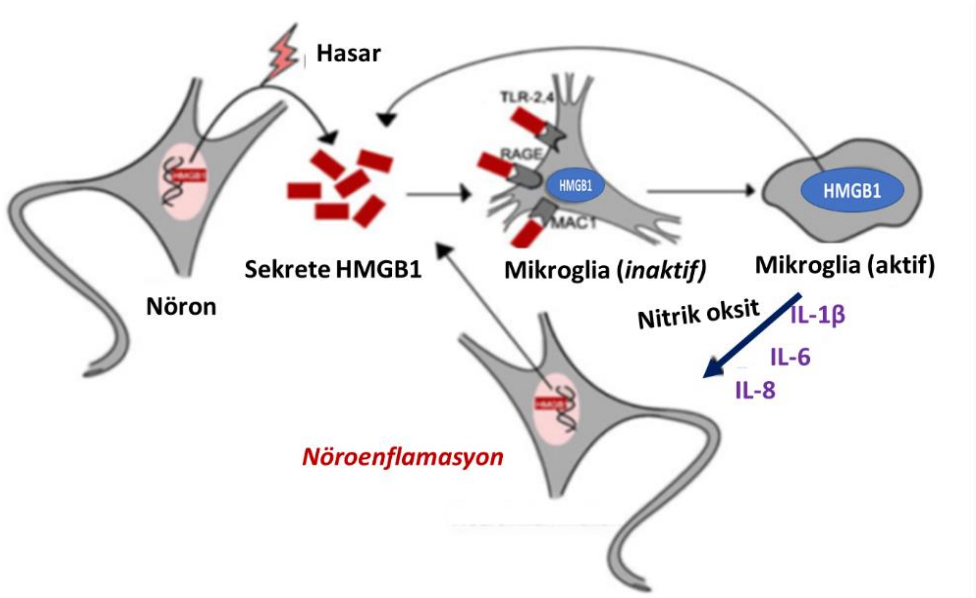
Şekil 17. HMGB1'in Redoks Formları ve Reseptörleri [91]



Bir çok araştırmada, enflamatuvar faktör olarak, HMGB1'in monositler, doku makrofajları, astrositler ve nöronlar gibi farklı hücrelerden salındığı bulunmuştur. HMGB1 aynı zamanda ölü hücrelerden de salınabilir. HMGB1'in romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, hepatik iskemi, reperfüzyon ve nefrit gibi birçok hastalıklarda RAGE, TLR-4 ve TLR-9 reseptörleri aracılığıyla enflamasyonuun uyarılmasında yer aldığı gösterilmiştir. Nöronlar hasara uğradığında, HMGB1 nöroenflamasyonu başlatır. Nöron ölümü sonucu HMGB1 salınımı gerçekleşir ve RAGE, TLR-2, TLR-4 ve Mac1 gibi reseptörlere bağlanarak mikroglia aktivasyonuna yol açar. Aktif mikrogliadan nitrit ve sitokinler salınarak nöroenflamasyonu başlatır, böylece diğer nöronların nekrozu indüklenerek daha fazla HMGB1 salınımıyla kronik nöroenflamasyon gelişir [92] (Şekil 18).

HMGB1 epilepsi, PD, AD ve Multiple Skleroz (MS) gibi bir çok MSS hastalıklarında gerçekleşen nöroenflamatuvar sürece aracılık eden mediyatördür (Tablo 4).

Şekil 18. HMGB1'in Nöroenflamatuvar Etkisi [92]



HMGB1 akut serebrovasküler hastalıklarda da enflamasyon sürecini başlatır. İskemi sonrası, hasarlı beyin dokusundan HMGB1 salınımı, proenflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin ve adezyon moleküllerininin ifadesini artırarak glia ve endotel hücrelerin aktivasyonunu sağladığı bilinmektedir. Kan-beyin bariyeri (KBB) geçirgenliğinin bozulması,hipoksik-iskemik beyin hasarının önemli evresidir. HMGB1'in vasküler geçirgenliği ve KBB disfonksiyonunu artırdığı bulunmuştur [93]. İntraserebral hemorajide (İSH) HMGB1 hasarlı hücrelerden hücre dışı boşluğa salınır ve proenflamatuvar sitokin olarak enflamatuvar süreci başlatır ve bunun sonucunda davranış bozuklukları ve KBB geçirgenliği artarak şiddetli ödem ile beyinde hasar oluşumuna neden olur. Deneysel çalışmada, HMGB1 antikor enjeksiyonunun iskemik beyin hasarını iyileştirebileceği tespit edilmiştir [94].

Tablo 4. HMGB1'in Nörolojik Hastalıklarda Rolü[92]

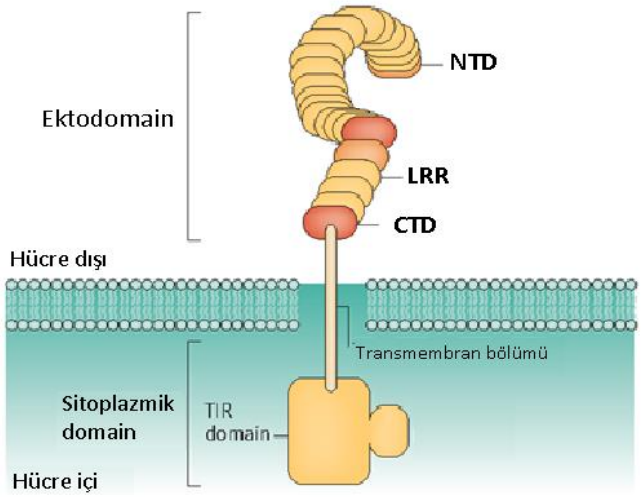
Hastalık	Bulgular
Epilepsi	HMGB1-TLR4 sinyal yolağı ile nöbetlerin artması
Alzheimer Demansı	HMGB1 Aβ'ya bağlanır ve mikroglianın Aβ-42 üzerine olan fagositik etkisini engeller HMGB1-TLR4 ve RAGE reseptörleri aracılığıyla hafızanın zayıflaması
Parkinson Demansı	HMGB1, Lewy cisimciklerini oluşturan α-sinükleinlere bağlanır HMGB1, MAC1 reseptörne bağlanarak mikrogliayı aktive eder ve kronik nöroenflamasyonu başlatır

2.11.3. TOLL BENZERİ RESEPTÖR-4 (TLR4)

Tip I transmembran glikoproteinlerine ait TLR'ler, patojen ilişkili moleküler kalıplar (PAMP) ve DAMP gibi ligandlara bağlanan reseptörlerdir. Örn., doku hasarı sonrası salınan HMGB1, ısı-şok proteinleri ve hücre-dışı yıkım ürünleri gibi DAMP'lar TLR4 reseptörüne bağlanarak enflamatuvar yanıtı başlatır. İnsanda bulunan TLR tipleri (1-10) beynin tüm hücrelerinde ifade edilir (mikroglia hücrelerinde 10 TLR'den 9'u ifade edilir (TLR 1-9) [95].

TLR'ler 3 domainden oluşur—hücre membranının dışına doğru uzanan N-terminal domain (NTD), tek sarmaldan oluşan transmembran domain ve sitoplazm yerleşimli C-terminal domain (CTD). NTD, PAMP gibi ligandların bağlanması için gerekli ektodomain oluştururken, CTD Toll-IL-1 reseptor (TIR) domaini üzerinden sinyal iletiminini başlatan adaptörlerin bağlanması için gereklidir. Transmembran domain PAMP'ler/DAMP'lerin TLR'lere yüksek özgünlük ve duyarlılıkla bağlanmasını sağlayan tekrarlanan 19-25 lösinden oluşan tandem motifler (LRR-tandem leucine-rich repeat) bulunur (Şekil 19) [96].

Şekil 19. Toll benzeri reseptör-4 yapısı[96]



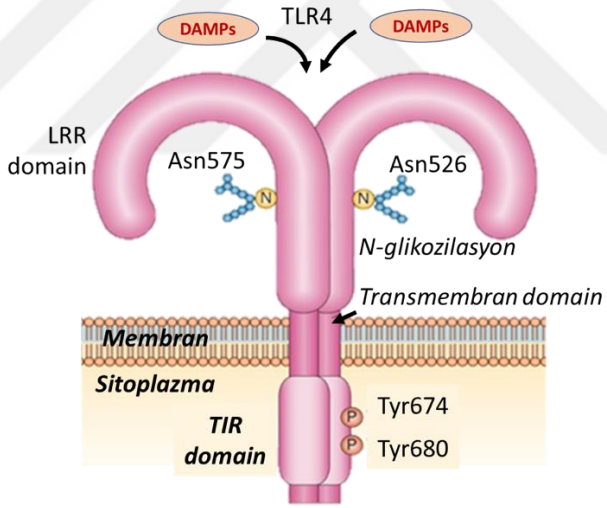
NTD, N-terminal domain, LRR- "leucin-rich repeat", CTD-C-terminal domain, TİR-Toll interlökin reseptör

TLR sinyal kaskadı bağlanan ligand tipleri ve adaptör moleküllere bağlıdır. Ligandların bağlanmasıyla TLR dimerizasyonu ve aktivasyonu gerçekleşir. TLR aktivasyonu myeloid differentiation factor 88 (MYD88) ve TIR-alanı içeren adaptör-indükleyici interferon (TRİF) adaptör proteinlerine göre 2 farklı yolakla gerçekleşir. MyD88-ilişkili yolak: proenflamatuvar

sitokinlerin gen ekpresyonunu artırır, TLR3 haricinde tüm TLR'lerin aktivasyonu bu adaptör protein ile gerçekleşir. TRİF-ilişkili yolak: TLR3 and TLR4 reseptörlerinin interferon tip-1 gen ekspresyonunu tetikler. Sonuç olarak, TLR4 aktivasyonu ROS (nitröz oksit, hidrojen peroksit ve superoksit), TNF-α ve interlökinler gibi proenflamatuvar sitokinlerin salımını indükler[97] (Şekil 20).

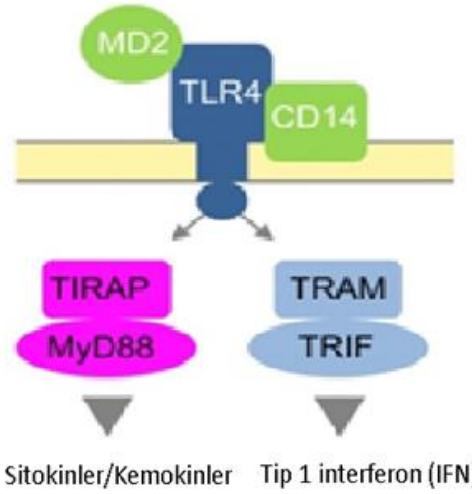
839 amino asitten oluşan ve 95.6 kDa moleküler ağırlığa sahip TLR4 geni 9 (9q33.1) kromozomun uzun kolunda yer alır. TLR4'ün aktivasyon ve hücre dışında ifadesinden sorumlu bölümleri fosforilasyon ve glikasilasyon gibi post-translasyonel modifikasyona uğrar. Spesifik olarak, TLR4'ün Asparajin (Asn) 526 ve Asn575 amino asitleri üzerinden glikosilasyonu reseptörün hücre yüzeyinde ifadesi edilmesi için önemlidir. Fosforilasyon, TLR4'ün hücrelere optimal sinyal iletisinin sağlanması için gerekli Tirozin (Tyr) 674 veTyr680 amino asitleri üzerinden gerçekleşir[98] (Şekil 21).

Şekil 20. Toll Benzeri Reseptör-4 Yapısı[98]



***TLR4**,Toll benzeri reseptör-4, **MD2**, Myeloid farklılaşma faktörü 2, **TİRAP**, TİR (toll interlökin reseptör) domain içeren adaptör protein, **MyD88**,myeloid farklılaşma faktörü 88, TRAM, "Translocating chain-associated membrane protein 2", TRİF-TİR içeren interferon-β, CD14-"cluster of differentiation 14"*

Şekil 21. Toll Benzeri Reseptör Aktivasyonu [97]



DAMP, Hasar ilişkili moleküler kalıplar; LRR domain- "leucin-rich repeat" domain; ASN, Asparajin; TYR, tirozin; TİR-toll interlökin reseptör, TLR4-toll benzeri reseptör-4

TLR4 makrofaj, monosit ve dendrit hücreleri gibi immün hücrelerde ifade edilir, bununla birlikte, kondrosit, sinoviyosit ve osteoblast gibi hücrelerdeki ekspresyonu TLR4'ün eklem ve bağ dokularının patofizyolojisindeki rolü olduğunu gösterir. Serebral iskemili fare modellerinde yapılan araştırma sonucu, TLR4 sinyal yolağı üzerinden başlanan nöroenflamasyonun beyin hasarını şiddetlendirdiği bilinmektedir. TLR4 eksikliği olan inmeli fare modellerinde ise nörolojik ve/veya davranışsal sorunların geliştiği bildirilmiştir[99].

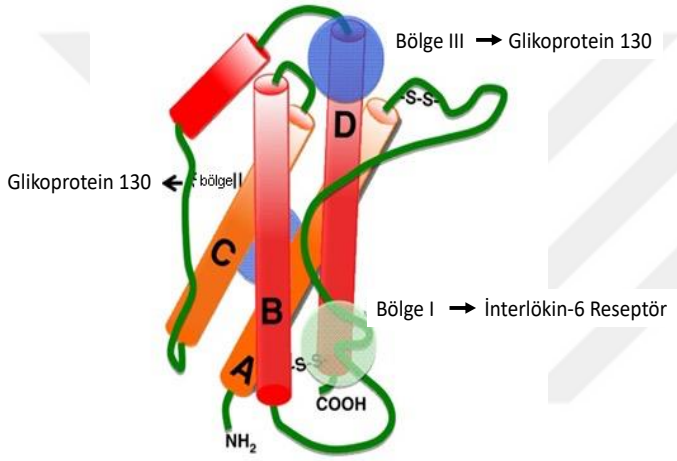
TLR4'ün, AD'de nöron hasarı ile ilişkili olan DAMP'ların nörotoksik etkilerine aracılık ettiğine dair çalışmalar mevcuttur. Fujita ve meslektaşlarının yaptığı araştırmada nekrotik nöronlardan salınan HMGB1'in TLR4'e bağlanarak nörit dejenerasyonunu indüklediği, Aβ plak varlığında ise HMGB1 antikor enjeksiyonunun nörit dejenerasyonunu önlediği ve kognitif düşüşü engellediği gösterilmiştir [100].

2.11.4. İNTERLÖKİN-6 (IL-6)

7p21 kromozomda kodlanan IL-6 geni 4 intron ve 5 ekzondan oluşur. Düzeyi proenflamatuar ajanlar, viral ve bakteriyel patojenler, nörotransmitterler gibi çok sayıda faktörlerler ile modüle edilen IL-6 sitokini monmonosit, fibroblast, endotel hücreleri ve MSS'nin astroglia,

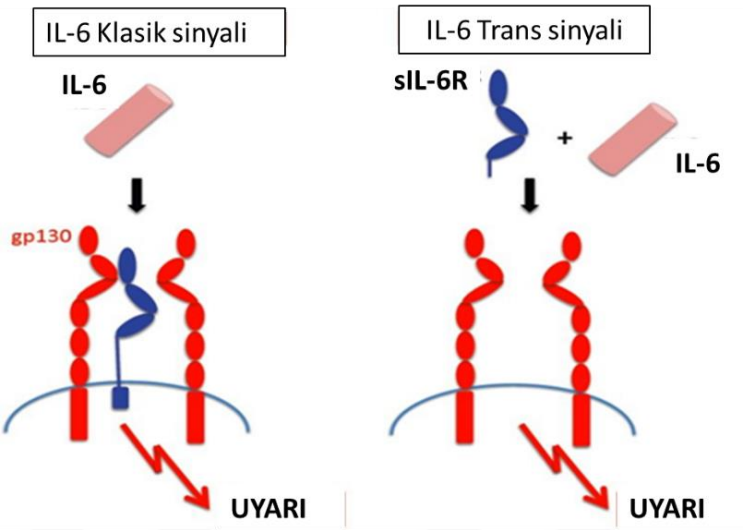
mikroglia, nöron ve endotel hücreleri gibi hücrelerinde ifade edilir. 4 sarmaldan oluşan (A–D) IL-6 fosforillenmiş tek zincirli glikoproteindir. A ve B sarmalları tek yöne, C ve D sarmalları ise ters yöne doğru uzanır. A ve B sarmallarında 2 disülfit bağı bulunur. D sarmalının C-terminalinde ligand-bağlayıcı glikoprotein IL-6 reseptörüne (IL-6R) bağlanması için "Bölge I" bulunurken, A ve C sarmalında yerleşen "Bölge II" transmembran glikoprotein 130 (gp130) subünitesine bağlanır. D sarmalının N-terminalinde bulunan "Bölge III" ise diğer gp130 subünitesine bağlanır [101] (Şekil 25).

Şekil 25. İnterlökin-6'nın yapısı[101].



Hücreye sinyal IL-6R ve glikoprotein (gp) 130 oluşan hücre yüzey tip-I reseptör kompleksi aracılığıyla iletir. Anti-enflamatuvar yanıtı teşvik eden ve zara bağlı IL-6R gerektiren klassik sinyal yolağı hepatositler, bazı epitel ve lökositler gibi sınırlı hücrelerde gerçekleşir. Trans-sinyal yolağı ise vücudun tüm gp130 ifade eden hücrelerinde proenflamatuvar süreci tetiklerken kullanılır[102] (Şekil 26).

Şekil 26. İnterlökin-6 (IL-6) Sinyal Mekanizması[102] *sIL-6R-çözünür interlökin-6 reseptörü, gp130-glikoprotein 130*



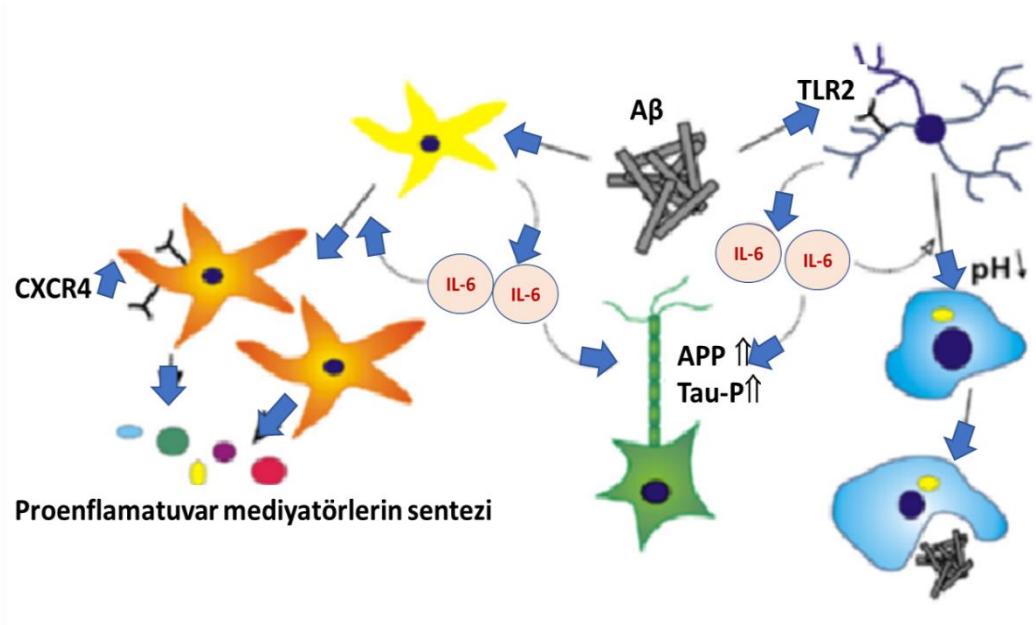
Düzensiz IL-6 aktivitesi, ateroskleroz dahil olmak üzere kronik enflamasyon ve otoimmün patolojilerle ilişkilidir. Plazma IL-6 düzeylerinin koroner arter hastalığı ve ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıklarda (KVH) enflamatuvar bir belirteçtir. Aterosklerotik lezyonlarda da IL-6 ekspresyonu artmıştır [103].

Kognitif bozuklukla ilgili nöroenflamasyon ve nörodejenerasyon gibi patolojik mekanizmalarda IL-6 karmaşık role sahiptir. İlk olarak 2002'de, yüksek IL-6 düzeylerinin yaşa bağlı bilişsel bozukluk ile ilgili olduğu kanıtlanmıştır. Daha sonra yaşa veya enflamasyona bağlı artan IL-6 düzeylerinin bellek ve hafiza gibi kognitif süreçleri etkilediği bulunmuştur[104, 105].

Nöron homeostazının sürdürülmesinde yer alan ve IL-6'nın salınımı ile sonuçlanan sinyal yolakları inhibe edildiğinde düşük mikroglia aktivasyonu gerçekleşirken, fazla salınımı kronik nöroenflamasyon ve nörodejenerasyona yol açmaktadır. Farelerle ilgili yapılan araştırmalar, tau fosforilasyonu, sinaps kaybı ve disleksi (öğrenme güçlüğü) gibi patolojik süreçlerde yer alan IL-6'in, aynı zamanda AD'de erken başlangıçlı amiloid plak oluşumunun önemli bir bileşeni olduğunu göstermiştir [106] *(Şekil 27)*. Artan IL-6 gen ifadesinin hipokampus ve prefrontal korteksde nörotranmisyonu olumsuz yönde etkiliyerek kognitif işlev bozukluğunu tetiklediği düşünülmektedir. IL-6 enjeksiyonu yapılan farelerde serotonin (5-hidroksitriptamin

(5-HT)) metaboliti 5-hidroksiindol asetik asitin (5-HİAA) artışı ile sonuçlanan çalışma bu hipotezi destekleme yönündedir [101].

Şekil 27. İnterlökin-6 (IL-6)'ın Alzheimer Demans Patofizyolojisine Etkisi[105]



CXCR4, C-X-C kemokin reseptörü tip 4; APP-amiloid prekürsör proteini; Tau-P-fosforile tau; Aβ-amiloid β; TLR2-toll benzeri reseptör 2,

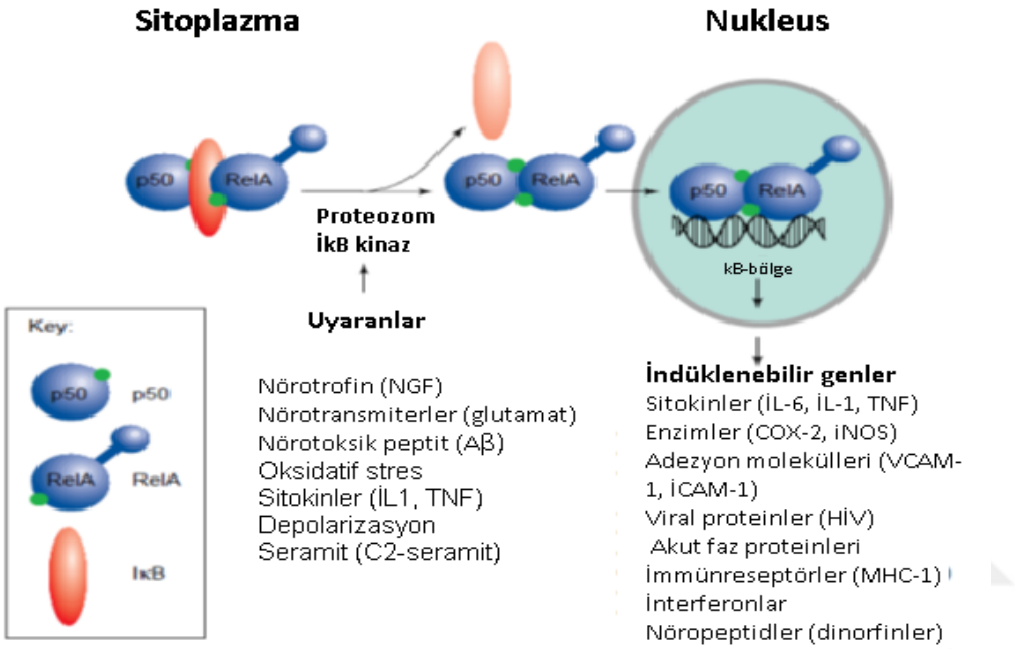
2.11.5. NF-kB

Immün ve enflamatuvar yanıtı düzenleyen mediatör olarak bilinen Nukleer transkripsiyon faktör-kB (NF-kB)'in ilk 1986'da nöron, astrosit, mikroglia ve oligodendrosit gibi beyin hücrelerinde ifade edildiği görülmüştür. NF-kB 5 subüniteden oluşur: p50, p-65 (Rel-A), c-Rel ve Rel-B. Bu subüniteler dinlenim halindeki hücrelerde (resting cells) homo veya heterodimer formda ve inhibitör IκB (IκBα, IκBβ, IκBε, p100 and p105) proteinine bağlı inaktif halde bulunurlar. p50 ve p65 subünitelerinden oluşan aktif NF-kB formu korteks ve hipokampus nöronlarının çekirdeğinde bulunur. Fizyolojik olarak aktif NF-κB formu, dendritlerin gelişimi, nöron yaşamının sürdürülmesinde, sinaptik plastisite oluşumu ve uzun süreli bellek ile ilişkilendirilmiştir. NF-κB-eksikliği olan farelerde sinaptik ileti ve bellek gelişiminin bozulduğu görülmüştür[107].

p50 ve p65 subünitelerinden oluşan NF-kB çoğu hücrelerde inhibitörü IkB'ye bağlı halde sitozolde bulunur. Uyarılmasına takiben, IkB inhibitörü kinazlar tarafından forforile edilir.

Daha sonra, IkB proteazomlar tarafından ubikitinasyon ve yıkıma uğrar. Sonuç olarak, NF-kB heterodimeri nukleusa geçererek hedef genlere bağlanır ve ifadelerini (ekpresyonunu) artırır. Nöron ve glia hücrelerinde NF-kB'nin farklı uyaranlarla aktive edilerek beyinde bulunan enflamatuvar genlerin ifadesini artırır [108] (Şekil 28).

Şekil 28. Nöronlarda NF-kB'nin aktive edilmesi ve gen ekspresyonları[108]



NF-κB aktivasyonu viral ve bakteriyel enfeksiyonlar, nekrotik hücre kalıntıları, DNA hasarı, oksidatif stres ve proenflamatuar sitokinler tarafından indüklenir. Aktif NF-kB transkripsiyon faktörü kanser hücrelerinin çoğalması (proliferasyonu), apoptozun engellenmesi, anjiyogenez ve metastaz süreçlerini hızlandırarak tümörigenezin farklı evreleri ile ilişkili olduğu bilinmektedir. NF-kB aktivasyonu durdurulduğunda tümör hücrelerin çoğalmasının engellendiği görülmüştür. Enflamatuvar epitel hücrelerde, devamlı NF-kB aktivasyonu ROS üretimini artırarak DNA hasarına neden olur[109].

NF-κB, enflamatuvar bağırsak hastalıkları, artrit, sepsis, gastrit, astım, ateroskleroz gibi birçok kronik enflamatuvar hastalıklarda devamlı aktif halde bulunur. Bununla birlikte, özellikle kardiyovasküler hastalıklarda osteoprotegerin (OPG) gibi bazı NF-kB aktivatörlerinin artışının mortalite ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür[110].

Böbrek hastalıklarıyla ilgili deneysel ve klinik çalışmalarda, renal hücrelere bağlı patolojilerin NF-kB aktivasyonunu tetiklediği bulunmuştur. Böbrek iskemi reperfüzyon hasarında üretilen sitokin ve patolojik faktörler NF-kB'nın uyaranları olarak bilinmektedir. İskemi-reperfüzyon NF-kB'ye bağlı TNF-α yapımını indükler ve TNF-α reseptörüne bağlanarak NF-kB aktivasyonunu artırarak pozitif geri bildirim sağlar[111].

Araştırmalara göre NF-kB aktivitesi glutamaterjik (eksitatör) ve GABAnerjik (inhibitör) nöronlarda ve sinapslarda bulunur. Nöron büyüme faktörü (NGF), Beyin-türevli nörotrofik faktör (BDNF) ve uyarıcı nörotransmiterler (agonist) gibi enflamatuvar mediatörler nöronlarda NF-kB sinyal yolağını aktive eder[112].

NF-kB yolağının mikrogliada aktivasyonu sonucu enflamatuvar mediatörlerinin üretimi nöron ölümünü tetiklediği bilinmektedir. Hasar sonrası astrositlerde NF-kB aktivasyonunun pro-enflamatuvar yanıta katkıda bulunduğu ve inhibisyonuyla astrositlerde fonksiyonel düzelmenin gerçekleştiği tespit edilmiştir [113].

Ruh halinde oluşan değişiklikleri, koordinasyon ve kognitif bozukluklar ile karakterize otozomal dominant hastalık olan Huntington Hastalığı (HD) gibi bilinen ölümcül nörodejeneratif hastalık Huntingtin proteini ile ilişkilidir. HD de mutant Huntingtin (HTT) proteinin NF-kB ile ilişkili olduğu ve glial nöroenflamasyonda rol aldığı bildirilmiştir. Araştırmalar sonucu HTT promoterinde transkripsiyonunu düzenleyen NF-kB bağlayıcı bölge bulunmuş ve bağlanmada bozukluk görüldüğünde HTT transkripsiyonunun yavaşladığı saptanmıştır [114].

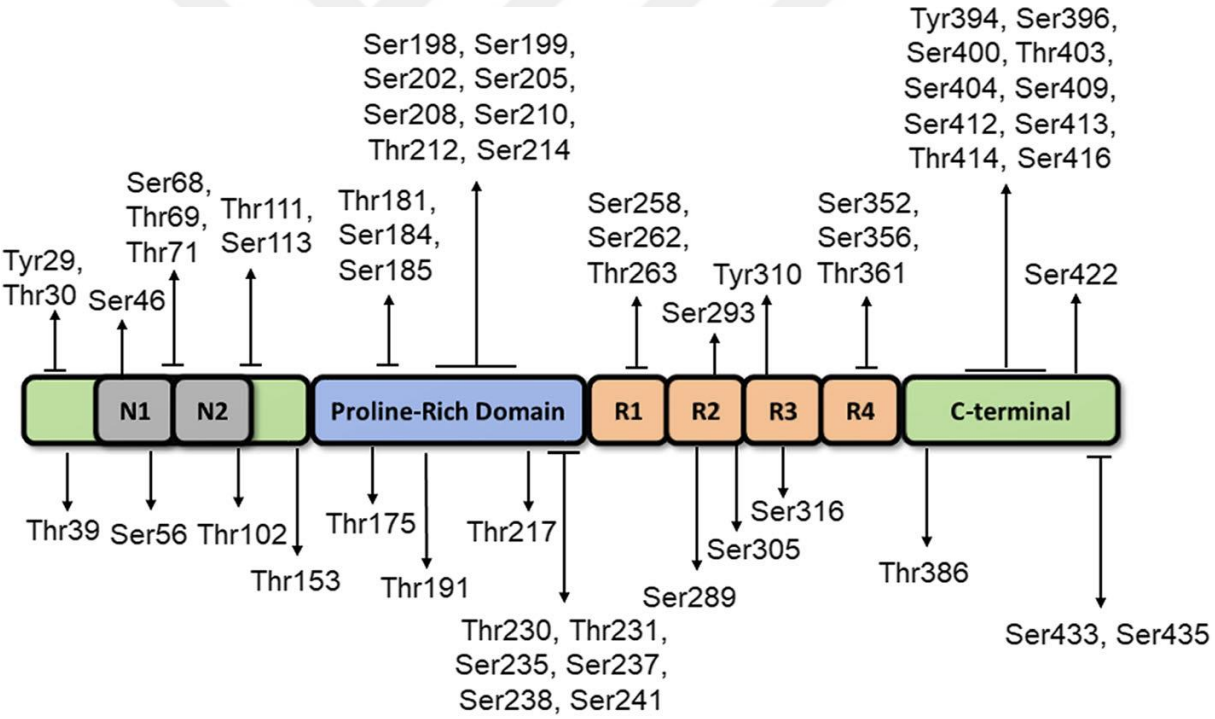
2.11.6. FOSFORİLE-TAU-181

Fosforile tau proteinlerin birikimi AD, Progresif supranüklear palsi (PSP), kortikobazal dejenerasyon (CBD), frontotemporal demans (FTD) gibi nörodejeneratif hastalıkların karakteristik özelliklerindendir. Tau proteinlerinin yapısında serin, treonin, serin, tirozin gibi toplam 85 fosforilasyon bölgeleri mevcuttur. AD beyninde çözünemeyen uzun tau formları bulunur. Çözünemeyen kısa tau fragmanları ise PSP, CBD ve FTD hastalıklarında saptanmıştır [115].

Glikojen sentaz kinaz-3β (GSK-3β) enzimi hem normal fizyolojik hem de patolojik koşullarda tau fosforilasyonunun düzenlenmesinden sorumlu enzimdir. Bu enzim Tau proteinini Serin 199 (Ser199) , Ser400, Ser404, Treonin 231 (Thr231) ve Thr181 amino

asitlerden fosforile eder (*Şekil 29*). Thr231 amino asiti üzerinden olan fosforilasyon konformasyonel değişikliğe neden olarak GSK-3β ve diğer kinazlar tau proteinin hiperfosforilasyonunu artırır. Patolojik koşullarda, tau proteinleri hiperfosforilasyon sonucu çözünmez hale gelerek kümeler oluşturur ve mikrotübüllerin stabilizasyonunu engeller. Mikrotübüllerin destabilizasyonu, nörotransmiterlerin aksonal taşınmasına (aksonal transport) etki ederek hafiza ve öğrenme gibi becerileri etkiler. AD beyninde fosforile tau formlarının %40'ı sitozolde bulunur ve çift sarmal filamentler haline polimerize edilmez veya NFY'ler oluşturmazlar. Araştırmalarda p-tau proteinlerinin normal tau proteinlerinin mikrotübüllerden ayrılarak sitozolik faza geçmesinde rol oynadığı bulunmuş ve hipokampus, entorinal korteks ve neokortekse yayılan NFY yoğunluğunun demansın derecesi ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür [116].

Şekil 29. Tau proteininin fosforilasyon bölgeleri [117]



Thr, Treonin; Tyr, Tirozin; Ser, Serin;

2.11.7. AMİLOİD β-42

Amiloid β peptitlernin β ve γ sekretaz enzimleri tarafından yıkımı sonucu Aβ-40 ve Aβ-42 fragmanları oluşur. AD'nin belirli patolojik özellikerinden olan senil plaklar ve NFY sadece AD hastalarına özgü değil, aynı zamanda 40 yaş ve üzeri Down Sendromu olan hastalarda da tespit edilmiştir [118]. Yapılan klinik araştırmada, sağlıklı kontrollere kıyasla Down

Sendromu olan bireylerde yüksek Aβ-40 ve tau düzeyleri görülmüştür [119]. Yapılan deneysel ve klinik araştırmalar Aβ peptitlerinin yaşlanma, AD ve kardiyovasküler hastalıklarda mediatör işlevi olduğu bulunmuştur. Ek olarak, yaş-ilişkili vasküler ve kardiyak Aβ birikiminin doku enflamasyonu ve organ disfonksiyonunu indüklediği belirlenmiştir [120] (Tablo 6).

Tablo 6. Amiloid betaların hücre tipine göre işlevleri[120]

Amiloid beta	Hücre veya doku tipi	Fonksiyon
Aβ42	Plazma (Trombositler)	FXII'ye bağlı aktivasyonda trombin üretiminin indüklenmesi
Aβ42	Makrofajlar	CD 36 sinyal yolağı ile ROS ve IL-1β and TNF-alpha gibi proenflamatuvar sitokinlerin üretimi
Aβ40, Aβ42	Makrofajlar	Lipoproteinlerin opsonizasyonunu artırarak makrofajlara alımı ve bunun sonucunda kolesterol birikimi yani köpük hücre oluşumu gerçekleşir
Aβ40, Aβ42	Monositler	ERK-1/-2 aktivasyonuyla enflamatuvar sitokinlerin (TNF-α ve IL-1β) ve kemokinlerin (MCP-1, IL-8, MIP-1α ve CCR5) hipersekresyonu [53,76-79]
Aβ42	Monositler	Monositlerin makrofajlara farklılaşması

Bazı çalışmalarda kanseri yenen hastalarda AD gelişim riskinin düşük olduğunu kanıtlanmıştır. 110 kanser hastası (özofagus, kolorektal, karaciğer kanseri ve akciğer kanserleri) ve 70 sağlıklı bireylerden oluşan çalışmada plazma Aβ40 ve Aβ42 düzeylerinin tüm kanser hastalarında kontrollere kıyasla yüksek olduğu görülmüştür. Spesifik olarak, hepatik kanser hastalarında plazma Aβ düzeyleri daha yüksek olarak bildirilmiştir [121].

BACE1 enzimi, APP ve β-amiloid (Aβ) artışı, vasküler hastalıkların gelişimi ile ilişkilidir. Ayrıca, yüksek BACE1 ve Aβ düzeylerinin hiperglisemi ve hiperlipidemiye neden olduğu saptanmıştır. Deneysel fare araştırmalarında, obezitede plazma ve damarda yüksek saptanan Aβ42 düzeyi ile endotel disfonksiyonun ilişkili olduğu gösterilmiştir. Tip 2 Diyabet (T2DM) ve obezite gelişiminin dolaşımda Aβ düzeylerini artırarak vasküler disfonksiyonu teşvik ettiği ve T2DM hastalarında plazma Aβ42 düzeyleri ile glikehemoglobin arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir [122].

3. YÖNTEM

3.1. Çalışma grupları

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulunun (28.12.2020; 83045809-604.01.02-28828 sayılı yazı) onayı alınarak gerçekleştirildi. Çalışmaya alınan tüm hastalara, çalışma öncesinde çalışmayı anlatan bilgilendirme formu verildi ve imzalı onay belgesi alındı. Çalışma gruplarımız Şubat 2021-Şubat 2022 tarihleri arasında İÜC CTF Nöroloji Anabilim Dalı Demans polikliniğine tanı, muayene veya takip için başvuran hastalar arasından hasta seçim kriterleri açısından değerlendirilerek seçildi. Demans şiddetinin belirlenmesi için SMMT test ölçümleri yapıldı. Rutin laboratuvar (tam kan sayımı, glukoz, vitamin B12, folik asit, enzim düzeyleri, üre, kreatinin, tiroid uyarıcı hormon; TSK, C-reaktif protein; CRP, kan lipitleri) sonuçları, antropometrik verileri (yaş, cinsiyet, komorbid hastalık, tedavi) ve uygulanan tedavi bilgileri hasta dosyalarından elde edildi (Tablo 7).

Çalışmaya 60 yaş üstü ve SMMT ≤25 olan Alzheimer demansı ve vasküler demans tanısı alan hastalar dahil edildi. Kontrol grubu 60 yaş üstü, SMMT > 25 olan bireylerden oluşturuldu. Kronik karaciğer, kronik böbrek yetmezliği olanlar, düzenli non-steroidal antienflamatuvar ilaç kullananlar, antioksidan ilaç kullananlar, düzensiz antipsikotik ilaç alanlar ya da majör psikiyatrik bozukluğu olanlar ve 60 yaşından küçük olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Tüm hastalara MR ve/veya Fludeoxyglucose positron emission tomography- Fludeoksiglukoz pozitron emisyon tomografisi (FDG-PET) görüntülemelerine ek olarak ayrıntılı hasta öyküsü ile mental durum muayenesi(bellek, yürütücü işlevler, dikkat, dil, görsel-mekansal yetenekler, praksis), davranışsal değerlendirme (kişilik değişiklikleri, duygudurum bozuklukları, algı bozuklukları, düşünce bozuklukları) ve genel nörolojik muayene (kranyal sinirler, kas gücü, kaba duyu, DTR ve patolojik refleksler) yapıldı.

Alzheimer demans (AD) grubu hastaların genel nörolojik muayenesi, NINCDS/ADRDA [123] kriterlerine uygun olacak şekilde MR, FDG-PET ve ya BT bulgularına değerlendirildi. Kranial MR'da medial, bazal ve lateral temporal lob, hipokampus ve medial parietal kortekste atrofi gösteren ve FDG-PET'te temporoparietal korteks ve posteriyor singulat girusta hipometabolizma kriterlerine uygun AD tanısı alan 32 hasta çalışmaya alındı.

Vasküler Demans (VD) hastaları NINDSA-AIREN [124] kriterleri ile uyumlu "muhtemel vasküler demans" özelliklerini karşılayan 17 hastadan oluşturuldu. Bu hastalar etiyolojilerine göre aşağıdaki tanı kriterlerine uygun olarak belirlendi:

- İnme sonrası demans: Saptanabilen bir inmeyi izleyen 3 ay içinde başlayan demans
- Multi-infarkt demans: Multipl kortikal alanda infarkta sahip olmak
- Subkortikal iskemik vasküler demans: Yaygın ak madde tutulumu olması
- Stratejik infarkt: Bilateral talamik, bilateral kaudat nükleus gibi tutulumların olması
- Kardiyovasküler hastalarda vasküler değişiklik ve atrofi kombinasyonunun olması
- Hemorajik demansı olanlarda öncesinde hemorajik değişikliğe sahip olmak ve amiloid anjiyopatinin görülmesi
- Hipoperfüzyon demans için bölgede infarkt görüntüsü olması, beyaz madde lezyonları ve ak maddede inkomplet lezyonların olması

AD+VD grubu, hem AD hem de VD kriterlerini karşılayan 21 hastadan oluşturuldu.

Tablo 7. Çalışma Gruplarının Genel Özellikleri

	Kontrol	**AD**	**VD**	**AD+ VD**
n	20	32	17	21
Yaş	65.4± 4.5	67.5±9.4	73.7±8.2	72.6 ±9.3
Cinsiyet (n) (Kadın/Erkek)	13/6	18/13	12/5	14/7
SMMT	28.9±0.8	17.3 ± 2.5	17.9 ± 3.5	17.7 ± 3.3
Demans süresi (Min-Max)	-	0,6 - 5 yıl	1-4 yıl	1-5 yıl
İlaç kullanımı n (%)				
NMDA antagonisti	-	8 (%25,8)	3 (%17,6)	3 (%14,3)
Asetil Kolin Esteraz İnhibitörü	-	11 (%35,5)	7 (%41,2)	7 (%33,3)
Antipsikotik	-	4 (%12,9)	2(%11,8)	6 (%28,6)
Antidepresan	-	11 (%35,5)	5 (%29,4)	6 (%28,6)

SMMT: Standart Mini Mental Test; ***NMDA***: N-metil D-aspartik asit antagonisti

3.2. Örneklerin alınması

Çalışmaya alınan hasta ve sağlıklı bireylerden gece açlığını takiben 10 ml venöz kan örnekleri alındı. Kan örnekleri 3000 rpm'de 20 dakika süreyle santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Ayrılan serum örnekleri porsiyonlandı ve -20^{0}C'de test parametrelerinin çalışılmasına dek dondurularak saklandı.

3.3. Kullanılan araç ve gereçler

- Santrifüj (Heraeus)
- Derin dondurucu (SEG RF4540 A)
- Pipetler (Eppendorf 50, 100, 200µl)
- Eppendorf tüpleri (Labosel)
- Vortex
- Otomatik ELISA cihazı (ELx-800,Bio-Tek İnstruments, Inc.)
- Otomatik ELISA yıkayıcı (ELx-50 Auto Washer, Bio-Tek Instruments, Inc.)
- Disposible pipet uçları

3.4. Parametreler ve Yöntemler

3.4.1. Serum SIRT1 analizi

3.4.1.1. *Yöntemin prensibi*

Serum SIRT1 düzeyinin analizi için sandviç ELISA kit yöntemi kullanıldı (Human SIRT1 Elabscience ELISA Kit, Katalog Numarası: E-EL-H1546; çalışma içi %CV: 4,04, çalışmalar arası %CV: 4,55). 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan SIRT-1 için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur. Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat resksiyonu sonucu oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan SIRT-1 miktarı ile orantılıdır.

3.4.1.2. *Kullanılan ayıraçlar*

- SIRT-1 antikoruyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize SIRT-1 standardı
- Biyotinle işaretli anti SIRT-1 antikor
- HRP-avidin kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi

- HRP-avidin kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

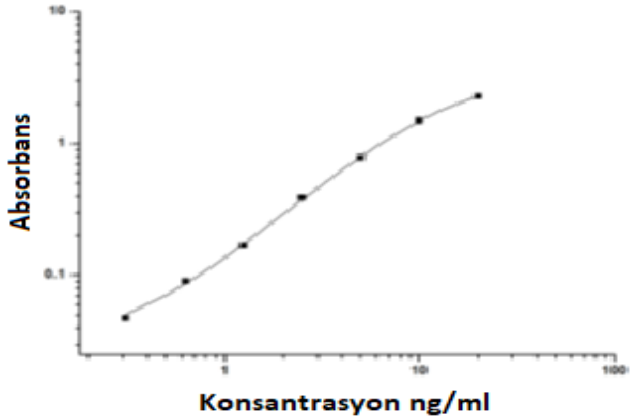
3.4.1.3. ***Reaktiflerin hazırlanması***

1. Hasta örnekleri ve reaktifler oda ısısına (18-25°C) getirildikten sonra Standart, konsantre biyotin ve konjugat çözeltileri 1 dakika santrifüj edildi.
2. Her bir tüpe 180 µl kalibratör dilüent konuldu ve üzerine 20 µl hasta örnekleri eklendi.
3. Standart stok çözeltisi: Stok standarda 1ml dilüent ekleyip 10 dakikada çözülmesi sağlanarak standart stok çözeltisi hazırlandı. 7 standart dilüsyon tüpüne 500 µl kalibratör dilüent eklendi. Ilk dilüsyon tüpüne stok çözeltiden 500 µl konularak karıştırıldı. Tüm standartlara (20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.31 ve 0) seri dilüsyon uygulandı.
4. Biyotin çözeltisi: 110 µl konsantre biyotin 10890 dilüenti ile sulandırıldı (1:99)
5. Yıkama çözeltisi: 30 ml yıkama çözeltisine 720 ml distile suyu eklenerek toplam 750 ml hacimlik çözelti elde edildi (1:25).
6. HRP (Avidin-Horseradish Peroksidazı) konjugat: 110 µl HRP konjugat çözeltisine konjugat dilüent eklendi (1:99).

3.4.1.4. ***Testin yapılışı***

1. Örnekler belirtilen oranda seyreltildi.
2. Standart stok çözeltisi hazırlanarak belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
3. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 µl eklendi ve 37ºC'de 90 dakika inkübe edildi.
4. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 µl biyotinle işaretli anti-sirtuin antikoru eklenerek 37ºC'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
6. Her kuyucuğa 100 µl avidin-HRP konjugatı eklenerek 37ºC'de 30 dakika inkübe edildi.
7. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
8. Her kuyucuğa 90 µl TMB substrat çözeltisi eklendi
9. Karanlık ortamda 37ºC'de 15 dakika inkübe edildi.

10. 50 µl durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
11. Standart eğrisi oluşturuldu.
12. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (ng/ml).



Şekil 34. SIRT1 standart eğrisi

3.4.2. Serum HMGB1 analizi

3.4.2.1. *Yöntemin prensibi*

Serum HMGB1 düzeyinin analizi için sandviç 'Enzyme Linked İmmunabsorbent Assay' (ELISA) kit yöntemi kullanıldı (Human HMGB1 Elabscience ELISA Kit, Katalog No: E-EL-H1554; çalışma içi CV:%4,25, çalışmalar arası CV:%4,69). 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan HMGB1 için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur. Ortama eklenen Horseredish peroksidaz (HRP) işaretli antikorlar ile tetrametilbenzidin (TMB) substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat reaksiyonu sonucu oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan HMGB1 miktarı ile orantılıdır.

3.4.2.2. *Kullanılan ayıraçlar*

- Anti-HMGB1 antikoru ile kaplı 96 kuyucuklu plak

- Liyofilize HMGB1 standardı
- Biyotinle işaretli anti HMGB1 antikor
- Avidin-biyotin-peroksidaz kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi
- Avidin-biyotin-peroksidaz kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

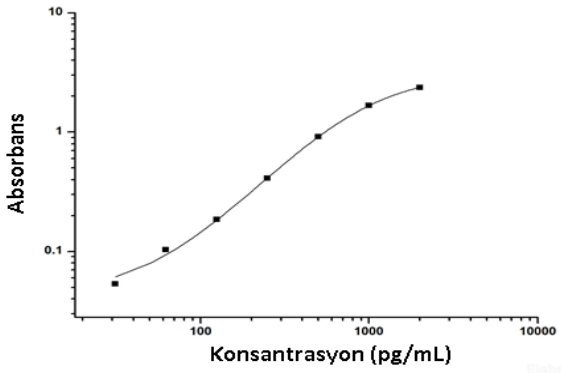
3.4.2.3. ***Reaktiflerin hazırlanması***

1. Hasta örnekleri ve reaktifler oda ısısına (18-25°C) getirildikten sonra Standart, konsantre biyotin ve konjugat çözeltileri 1 dakika santrifüj edildi.
2. Her bir tüpe 180 µl kalibratör dilüent konuldu ve üzerine 20 µl hasta örnekleri eklenerek 1:10 serum dilüsyonu yapıldı.
3. Standart stok çözeltisi: Stok standarda 1 ml dilüent ekleyip 10 dakikada çözülmesi sağlanarak standart stok çözeltisi hazırlandı. 7 standart dilüsyon tüpüne 500 µl kalibratör dilüent eklendi. Ilk dilüsyon tüpüne stok çözeltiden 500 µl konularak karıştırıldı. Tüm standartlara (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 0) seri dilüsyon uygulandı.
4. Biyotin çözeltisi: 110 µl konsantre biyotin 10890 µl dilüent ile sulandırıldı (1:99).
5. Yıkama çözeltisi: 30 ml yıkama çözeltisine 720 ml distile suyu eklenerek toplam 750 ml hacimlik çözelti elde edildi (1:25).
6. HRP (Avidin-Horseradish Peroksidazı) konjugat: 110 µl HRP konjugat çözeltisine konjugat dilüent eklendi (1:99).

3.4.2.4. ***Testin yapılışı***

1. Örnekler belirtilen 1:10 oranda seyreltildi.
2. Standart stok çözeltisi hazırlanarak belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
3. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 µl eklendi ve 37ºC'de 90 dakika inkübe edildi.

4. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 µl biyotinle işaretli anti-HMGB1 antikoru eklenerek 37ºC'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
6. Her kuyucuğa 100 µl HRP konjugatı eklenerek 37ºC'de 30 dakika inkübe edildi.
7. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
8. Her kuyucuğa 90 µl TMB substrat çözeltisi (mavi) eklendi.
9. Karanlık ortamda 37 ºC'de 15 dakika inkübe edildi.
10. 50 µl durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
11. Standart eğrisi oluşturuldu.
12. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (pg/ml).



Şekil 30. HMGB1 Standart eğrisi

3.4.3. Serum TLR4 analizi

3.4.3.1. *Yöntemin prensibi*

Serum TLR4 düzeyinin analizi için sandviç ELISA kit yöntemi kullanıldı (Human TLR4 Elabscience ELISA Kit, Katalog Numarası: E-EL-H6123; çalışma içi CV: %4,54, çalışmalar arası CV: %4,78). 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan TLR4 için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur. Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat reaksiyonu sonucu oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan TLR4 miktarı ile orantılıdır.

3.4.3.2. *Kullanılan ayıraçlar*

- TLR4 antikoru ile kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize TLR4 standardı
- Biyotinle işaretli anti TLR4 antikor
- HRP-avidin kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi
- HRP-avidin kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

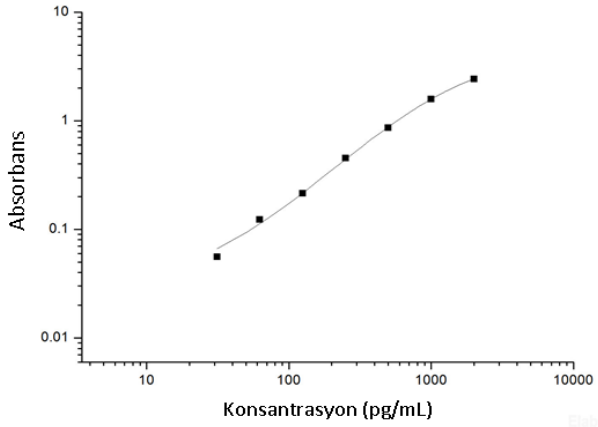
3.4.3.3. *Reaktiflerin hazırlanması*

1. Hasta örnekleri ve reaktifler oda ısısına (18-25°C) getirildikten sonra Standart, konsantre biyotin ve konjugat çözeltileri 1 dakika santrifüj edildi.
2. Her bir tüpe 180 µl kalibratör dilüent konuldu ve üzerine 20 µl hasta örnekleri eklenerek 1:10 serum dilüsyonu yapıldı.
3. Standart stok çözeltisi: Stok standarda 1ml dilüent ekleyip 10 dakikada çözülmesi sağlanarak standart stok çözeltisi hazırlandı. 7 standart dilüsyon tüpüne 500 µl kalibratör dilüent eklendi. Ilk dilüsyon tüpüne stok çözeltiden 500 µl konularak karıştırıldı. Tüm standartlara (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 0) seri dilüsyon uygulandı.
4. Biyotin çözeltisi: 110 µl konsantre biyotin 10890 dilüent ile sulandırıldı (1:99).
5. Yıkama çözeltisi: 30 ml yıkama çözeltisine 720 ml distile suyu eklenerek toplam 750 ml hacimlik çözelti elde edildi (1:25).
6. HRP (Avidin-Horseradish Peroksidazı) konjugat: 110 µl HRP konjugat çözeltisine konjugat dilüent eklendi (1:99).

3.4.3.4. *Testin yapılışı*

1. Örnekler belirtilen oranda seyreltildi.
2. Standart stok çözeltisi hazırlanarak belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.

3. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 µl eklendi ve 37ºC'de 90 dakika inkübe edildi.
4. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 µl biyotinle işaretli anti-TLR4 antikoru eklenerek 37ºC'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
6. Her kuyucuğa 100 µl avidin-HRP konjugatı eklenerek 37ºC'de 30 dakika inkübe edildi.
7. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
8. Her kuyucuğa 90 µl TMB substrat çözeltisi eklendi.
9. Karanlık ortamda 37ºC'de 15 dakika inkübe edildi.
10. 50 µL durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
11. Standart eğrisi oluşturuldu.
12. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (pg/ml).



Şekil 31. TLR4 standart eğrisi

3.4.4. Serum NF-kB-p65 analizi

3.4.4.1. *Yöntemin prensibi*

Serum NF-kB düzeyinin analizi için sandviç ELISA kit yöntemi kullanıldı. (Human NF-kB Elabscience ELISA Kit, Katalog Numarası: E-EL-H1388; çalışma içi CV:%4,03 çalışmalar arası CV:%5,04). 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan NF-kB-p-65 için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur (sandwich formu). Ortama eklenen HRP işaretli

antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat resksiyonu sonucu oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan NF-kB-p-65 miktarı ile orantılıdır.

3.4.4.2. *Kullanılan ayıraçlar*

- NF-kB-p65 antikoruyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize NF-kB-p-65 standardı
- Biyotinle işaretli anti NF-kB-p-65 antikor
- HRP-avidin kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi
- HRP-avidin kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

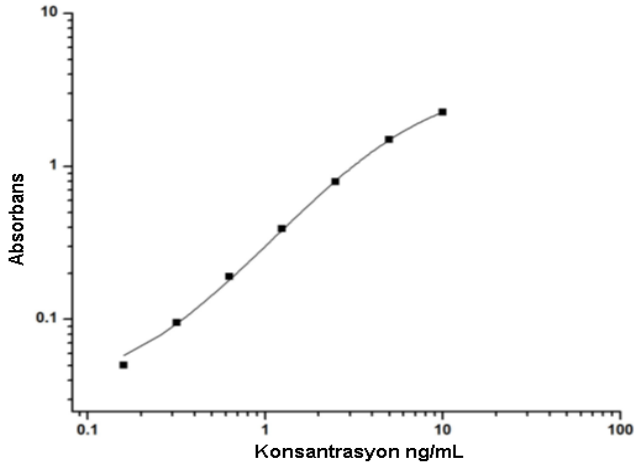
3.4.4.3. *Reaktiflerin hazırlanması*

1. Hasta örnekleri ve reaktifler oda ısısına (18-25°C) getirildikten sonra Standart, konsantre biyotin ve konjugat çözeltileri 1 dakika santrifüj edildi.
2. Standart stok çözeltisi: Stok standarda 1 ml dilüent ekleyip 10 dakikada çözülmesi sağlanarak standart stok çözeltisi hazırlandı. 7 standart dilüsyon tüpüne 500 µl kalibratör dilüent eklendi. Ilk dilüsyon tüpüne stok çözeltiden 500 µl konularak karıştırıldı. Tüm standartlara (5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.32, 0.16, 0) seri dilüsyon uygulandı.
3. Biyotin çözeltisi: 110 µl konsantre biyotin 10890 dilüenti ile sulandırıdı (1:99).
4. Yıkama çözeltisi: 30 ml yıkama çözeltisine 720 ml distile suyu eklenerek toplam 750 ml hacimlik çözelti elde edildi (1:25).
5. HRP (Avidin-Horseradish Peroksidazı) konjugat: 110 µl HRP konjugat çözeltisine konjugat dilüent eklendi (1:99).

3.4.4.4. *Testin yapılışı*

1. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 µl eklendi ve 37ºC'de 90 dakika inkübe edildi.
2. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 µl biyotinle işaretli anti-NF-kB-p65 antikoru eklenerek 37ºC'de 60 dakika inkübe edildi.
3. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.

4. Her kuyucuğa 100 µl avidin-HRP konjugatı eklenerek 37ºC'de 30 dakika inkübe edildi.
5. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
6. Her kuyucuğa 90 µl TMB substrat çözeltisi eklendi
7. Karanlık ortamda 37ºC'de 15 dakika inkübe edildi.
8. 50 µl durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
9. Standart eğrisi oluşturuldu.
10. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (pg/ml).



Şekil 32. NF-kB-p65 standart eğrisi

3.4.5. Serum İnterlökin-6 (IL-6) analizi

3.4.5.1. *Yöntemin prensibi*

Serum IL-6 düzeyinin analizi için sandviç ELISA kit yöntemi kullanıldı (Human IL-6 Elabscience ELISA Kit, Katalog Numarası: E-EL-H0102; çalışma içi %CV: 4,14, çalışmalar arası %CV:5,11). 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan IL-6 için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur. Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat resksiyonu sonucu oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan IL-6 miktarı ile orantılıdır.

3.4.5.2. *Kullanılan ayıraçlar*

- IL-6 antikoruyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize IL-6 standardı

- Biyotinle işaretli anti IL-6 antikor
- HRP-avidin kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi
- HRP-avidin kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

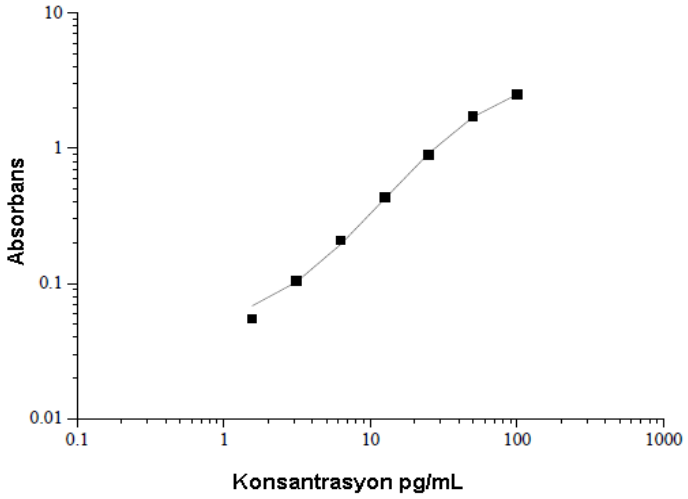
3.4.5.3. ***Reaktiflerin hazırlanması***

1. Hasta örnekleri ve reaktifler oda ısısına (18-25°C) getirildikten sonra Standart, konsantre biyotin ve konjugat çözeltileri 1 dakika santrifüj edildi.
2. Standart stok çözeltisi: Stok standarda 1ml dilüent ekleyip 10 dakikada çözülmesi sağlanarak standart stok çözeltisi hazırlandı. 7 standart dilüsyon tüpüne 500 µl kalibratör dilüent eklendi. Ilk dilüsyon tüpüne stok çözeltiden 500 µl konularak karıştırıldı. Tüm standartlara (250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.81, 0) seri dilüsyon uygulandı.
3. Biyotin çözeltisi: 110 µl konsantre biyotin 10890 dilüenti ile sulandırıldı (1:99).
4. Yıkama çözeltisi: 30 ml yıkama çözeltisine 720 ml distile suyu eklenerek toplam 750 ml hacimlik çözelti elde edildi (1:25).
5. HRP (Avidin-Horseradish Peroksidazı) konjugat: 110 µl HRP konjugat çözeltisine konjugat dilüent eklendi (1:99).

3.4.5.4. ***Testin yapılışı***

1. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 µl eklendi ve 37ºC'de 90 dakika inkübe edildi.
2. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 µl biyotinle işaretli anti-NF-kB-p65 antikoru eklenerek 37ºC'de 60 dakika inkübe edildi.
3. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
4. Her kuyucuğa 100 µl avidin-HRP konjugatı eklenerek 37ºC'de 30 dakika inkübe edildi.
5. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
6. Her kuyucuğa 90 µl TMB substrat çözeltisi eklendi
7. Karanlık ortamda 37ºC'de 15 dakika inkübe edildi.

8. 50 µL durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
9. Standart eğrisi oluşturuldu.
10. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (pg/ml).



Şekil 33. IL-6 Standart eğrisi

3.5. Serum P-tau181 analizi

3.5.1.1. *Yöntemin prensibi*

Serum P-tau181 düzeyinin analizi için sandviç ELISA kit yöntemi kullanıldı (Human p-tau181 Mybiosource ELISA Kit, Katalog Numarası: MBS7606650; çalışma içi %CV:<8, çalışmalar arası %CV:<10). 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan P-tau181 için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur. Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat resksiyonu sonucu oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan P-tau181 miktarı ile orantılıdır.

3.5.1.2. *Kullanılan ayıraçlar*

- P-tau181 antikoruyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize P-tau181 standardı
- Biyotinle işaretli anti P-tau181 antikor
- HRP-avidin kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi

- HRP-avidin kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

3.5.1.3. *Reaktiflerin hazırlanması*

1. Hasta örnekleri ve reaktifler oda ısısına (18-25°C) getirildikten sonra Standart, konsantre biyotin ve konjugat çözeltileri 1 dakika santrifüj edildi. Örnekler standart stok çözelti ile 1:2'i dilüe edildi.
2. Her bir tüpe 180 µl kalibratör dilüent konuldu ve üzerine 20 µl hasta örnekleri eklenerek 1:10 serum dilüsyonu yapıldı.
3. Standart stok çözeltisi: Stok standarda 1ml dilüent ekleyip 10 dakikada çözülmesi sağlanarak standart stok çözeltisi hazırlandı. 7 standart dilüsyon tüpüne 500 µl kalibratör dilüent eklendi. Ilk dilüsyon tüpüne stok çözeltiden 500 µl konularak karıştırıldı. Tüm standartlara (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 0) seri dilüsyon uygulandı.
4. Biyotin çözeltisi: 110 µl konsantre biyotin 10890 dilüenti ile sulandırıldı (1:99).
5. Yıkama çözeltisi: 30 ml yıkama çözeltisine 720 ml distile suyu eklenerek toplam 750 ml hacimlik çözelti elde edildi (1:25).
6. HRP (Avidin-Horseradish Peroksidazı) konjugat: 110 µl HRP konjugat çözeltisine konjugat dilüent eklendi (1:99).

3.5.1.4. *Testin yapılışı*

1. Örnekler belirtilen oranda seyreltildi (1:2).
2. Standart stok çözeltisi hazırlanarak belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
3. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 µL eklendi ve 37ºC'de 90 dakika inkübe edildi.
4. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 µL biyotinle işaretli anti-TLR4 antikoru eklenerek 37ºC'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
6. Her kuyucuğa 100 µL avidin-HRP konjugatı eklenerek 37ºC'de 30 dakika inkübe edildi.
7. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
8. Her kuyucuğa 90 µL TMB substrat çözeltisi eklendi.

9. Karanlık ortamda 37ºC'de 15 dakika inkübe edildi.
10. 50 µL durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
11. Standart eğrisi oluşturuldu.
12. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (pg/ml).

3.5.2. Serum Amiloid β-42 (Aβ-42) analizi

3.5.2.1. *Yöntemin prensibi*

Serum Aβ-42 düzeyinin analizi için sandviç ELISA kit yöntemi kullanıldı (Human Aβ-42 Elabscience ELISA Kit, Katalog Numarası: E-EL-H0543; çalışma içi %CV: 5,69, çalışmalar arası %CV: 6,21). 96 kuyucuklu plaklara önceden kaplanan Aβ-42 için spesifik antikorlar ile plaklara eklenen numunelerdeki antijen ve biyotin işaretli antikorların arasında antikor-antijen-antikor kompleksi oluşur. Ortama eklenen HRP işaretli antikorlar ile TMB substrat çözeltisi arasında gerçekleşen enzim-substrat resksiyonu sonucu oluşan sarı rengin yoğunluğu, plakta tutulan Aβ-42 miktarı ile orantılıdır.

3.5.2.2. *Kullanılan ayıraçlar*

- Aβ-42 antikoruyla kaplı 96 kuyucuklu plak
- Liyofilize Aβ-42 standardı
- Biyotinle işaretli anti Aβ-42 antikor
- HRP-avidin kompleksi
- TMB substrat çözeltisi
- TMB durdurma çözeltisi
- HRP-avidin kompleksi dilüsyon çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Antikor dilüsyon çözeltisi
- Yıkama çözeltisi

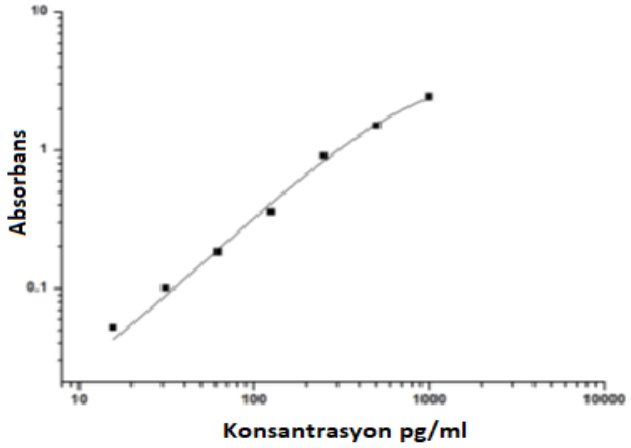
3.5.2.3. *Reaktiflerin hazırlanması*

1. Hasta örnekleri ve reaktifler oda ısısına (18-25°C) getirildikten sonra Standart, konsantre biyotin ve konjugat çözeltileri 1 dakika santrifüj edildi. Örnekler standart stok çözelti ile 1:2'i dilüe edildi.
2. Her bir tüpe 180 µl kalibratör dilüent konuldu ve üzerine 20 µl hasta örnekleri eklenerek 1:10 serum dilüsyonu yapıldı.

3. Standart stok çözeltisi: Stok standarda 1ml dilüent ekleyip 10 dakikada çözülmesi sağlanarak standart stok çözeltisi hazırlandı. 7 standart dilüsyon tüpüne 500 µl kalibratör dilüent eklendi. Ilk dilüsyon tüpüne stok çözeltiden 500 µl konularak karıştırıldı. Tüm standartlara (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 0) seri dilüsyon uygulandı.
4. Biyotin çözeltisi: 110 µl konsantre biyotin 10890 dilüenti ile sulandırıldı (1:99).
5. Yıkama çözeltisi: 30 ml yıkama çözeltisine 720 ml distile suyu eklenerek toplam 750 ml hacimlik çözelti elde edildi (1:25).
6. HRP (Avidin-Horseradish Peroksidazı) konjugat: 110 µl HRP konjugat çözeltisine konjugat dilüent eklendi (1:99).

3.5.2.4. *Testin yapılışı*

1. Örnekler belirtilen oranda seyreltildi.
2. Standart stok çözeltisi hazırlanarak belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
3. Plak kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 µl eklendi ve 37ºC'de 90 dakika inkübe edildi.
4. Plak içeriği döküldükten sonra her bir kuyucuğa 100 µl biyotinle işaretli Amiloid-42 antikoru eklenerek 37ºC'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Kuyucuklar 3 kez yıkandı.
6. Her kuyucuğa 100 µl avidin-HRP konjugatı eklenerek 37ºC'de 30 dakika inkübe edildi.
7. Kuyucuklar 5 kez yıkandı.
8. Her kuyucuğa 90 µl TMB substrat çözeltisi eklendi.
9. Karanlık ortamda 37ºC'de 15 dakika inkübe edildi.
10. 50 µl durdurma çözeltisi her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
11. Standart eğrisi oluşturuldu.
12. Örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (pg/ml).



Şekil 35. Amiloid β-42 Standart eğrisi

3.8 STANDART MİNİ MENTAL TEST (SMMT)

Oryantasyon (Toplam 10 puan)-Her bir madde için 1 puan verilir

1. Hangi yıl içindeyiz.....
2. Hangi mevsimdeyiz.....
3. Hangi aydayız.....
4. Bugün ayın kaçı.....
5. Hangi gündeyiz.....
6. Hangi ülkede yaşıyoruz.....
7. Şu an hangi şehirde bulunmaktasınız.....
8. Şu an bulunduğunuz semt neresidir.....
9. Şu an bulunduğunuz bina neresidir.....
10. Şu an bu binada kaçıncı kattasınız.....

Kayıt hafızası (toplam 3 puan)-20 sn süre tanınır, her doğru isim için 1 puan verilir

11. Size birazdan söyleyeceğim 3 ismi dikkatlice dinleyip ben bitirdikten sonra tekrarlayın (masa, bayrak, elbise).....

Dikkat ve hesap yapma (toplam 5 puan)- Her doğru işlem için 1 puan verilir

12. 100'den geriye doğru 7 çıkartarak gidin. Dur deyinceye kadar devam edin (100,93,86,79,72,65).....

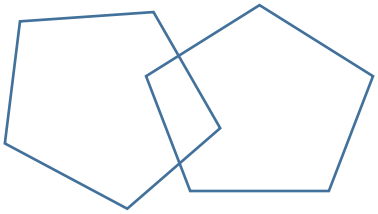
Hatırlama (toplam puan 3)- her doğru isim için 1 puan verilir

13. Yukarıda tekrar ettiğimiz kelimeleri hatırlıyor musunuz? Hatırladıklarınızı söyleyin (masa, batrak, elbise).....

Lisan (toplam 9 puan)

14. Bu gördüğünüz nesnelerin isimleri nelerdir? (saat, kalem) (20 sn süre tanınır her doğru isim için 1 puan verilir) (**toplam 2 puan**).....
15. Şimdi size söyleyeceğim cümleyi dikkatle dinleyin ve ben bitirdikten sonra tekrar edin- 'eğer ve fakat istemiyorum'
    (10 n süre tanınır, doğru ve tam cümle için **1 puan** verilir).....
16. Şimdi sizden bir şey yapmanızı isteyeceğim, beni dikkatle dinleyin ve söylediğimi yapın. 'Masada duran kağıdı sağ/sol elinizle alın, iki elinizle ikiye katlayın ve yere bırakın lütfen' (30 sn süre tanınır, her doğru işlem için 1 puan verilir, **toplam puan 3**).....

17. Şimdi yüzüme bakın ve yaptığımın aynısını yapın (gözlerinizi kapatın) (doğru işlem için **1 puan** verilir).....
18. Şimdi evinizle ilgili bir şey söyleyin (30 sn süre tanınır, anlamlı bir cümle için **1 puan** verilir).....
19. Size göstereceğim şeklin aynısını çizin (1 dk süre tanınız, kenar sayısı tam şekil için **1 puan** verilir).....



3.5.3. İstatistiksel Analiz

Verilerin tanımlayıcı istatistikler tablolarda ortalama, standart sapma frekans (n) ve yüzde (%)değerleri cinsinden verildi. Değişkenlerin dağılımını değerlendirmede Kolmogrov-Smirnov testi kullanıldı. Dağılımların normallikten farklı olmasının tespiti üzerine analizde kullanılan testler non-paremetrik testlerden seçildi. Çoklu grupların beraber değerlendirilmesinde non-parametrik ANOVA testinden ve ikili grupların değerlendirilmesinde (pair-wise) Mann-Whitney U testinden yararlanıldı. Verilerin birbirleriyle olan ilişkisini değerlendirmek için Spearman's ve Pearson korelasyon analizi yapıldı. Verilerin analizinde SPSS 21.0 programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiki anlamlılık düzeyi $p<0,05$ alınarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik özellikler ve genel laboratuvar parametreleri

Çalışmaya alınan kontrol ve demans gruplarına ait demografik bilgiler ve genel kan biyokimyası Tablo 8'de gösterilmiştir. Çalışma gruplarında anemi, beslenme yetersizliği, B12 ve folik asit eksikliği, hiperglisemi, tiroid fonksiyon bozukluğu ve karaciğer fonksiyon bozukluklarına ilişkin laboratuvar bulguları yoktu. Kontrol grubunun SMMT skoru 28,84±0,898 olup, tüm demans gruplarından anlamlı derecede yüksekti (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$ ve $p<0,001$).

Tablo 8. Kontrol ve Alzheimer Demans (AD) , Vasküler Demans (VD) ve AD+VD gruplarının genel özellikleri ile rutin laboratuvar verileri (Ortalama±Standart Sapma)

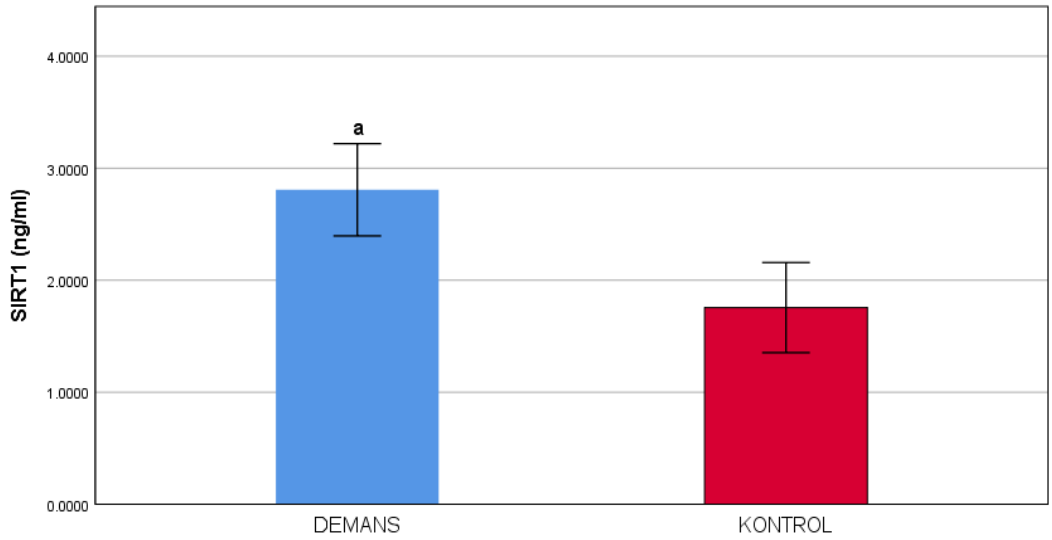
	Kontrol(n:20)	AD (n:32)	VD (n:17)	VD+AD (n:21)
Glukoz (mg/dl)	106,1±45,8	97,3±21,4	91,3±12,9	95,6±33,9
Lökosit sayısı (10^3/ µl)	6,99±1,79	7,16±1,22	6,91±1,37	7,43±1,83
Eritrosit sayısı (10^6/ µl)	4,63±0,27	4,76±0,59	4,59±0,53	4,61±0,50
Hemoglobin (g/dl)	13,5±1,1	13,8±1,8	13,2±1,4	13,4±1,6
HDL-kolesterol (mg/dl)	56,4±2,9	47,8±3,2	51,2±2,6	49,9±3,8
LDL-kolesterol (mg/dl)	131,8±10,9	128,7±6,9	134,5±5,5	136,3±3,7
C-reaktif protein (mg/L)	2,75±1,60	3,83±1,38	3,34±1,13	3,12±1,93
Kreatinin (mg/dl)	0,79±0,10	0,86±0,25	0,89±0,28	0,85±0,26
Üre (mg/dl)	30,5±1,9	33,5±6,2	33,4±3,2	36,0±5,9
AST (U/L)	20,6 ±10,7	19,9 ±5,4	22,4±8,6	19,2 ±4,6
ALT (U/L)	21,5±18.4	14,7±6,1	18,5 ±9,9	15,5 ±4,7
LDH (U/L)	172,4±34,6	199,8±33,3	194,2±45,8	192,3±33,5
B12 (pg/ml)	420 ±135	405 ±209	585 ±523	604 ±492
Folik asit (ng/ml)	9,08±3,17	7,30±4,85	7,40±3,25	7,72±4,64
TSH (µIU/ml)	1,90±1,23	2,44±3,11	2,49±1,41	2,50±2,13

4.2. Nöroenflamatuvar belirteçlerin serum düzeyleri

4.2.1. Demans ve kontrol gruplarının karşılaştırılması

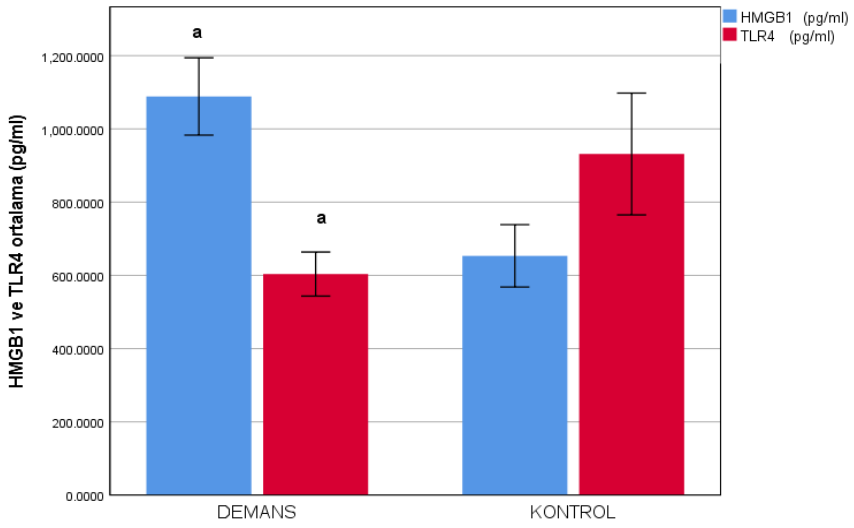
- Demans grubunun serum SIRT1, HMGB1, IL-6 ve Aβ-42 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı yüksek (sırası ile p<0,001, p<0,01, p<0,001 ve p<0,001,); TLR4 düzeyi anlamlı düşük bulundu (p<0,001) (Tablo 10, Şekil 36, 37, 38).
- Serum NF-kB ve p-tau181 düzeylerinde ise demans ve kontrol grupları arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05).

Şekil 36. Demans ve kontrol gruplarının serum SIRT1 düzeyi



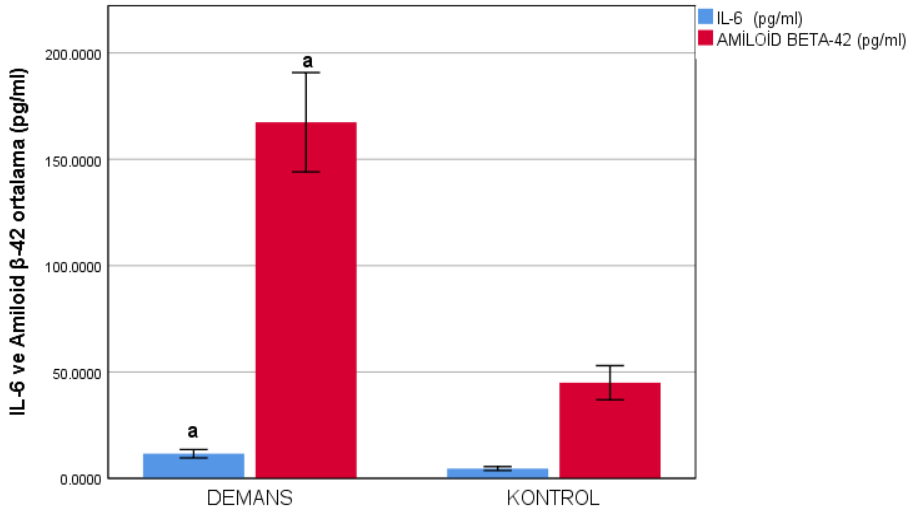
a: Kontrol grubu ile istatistiksel karşılaştırma; a: p<0,05

Şekil 37. Demans ve kontrol gruplarının serum HMGB1 ve TLR4 düzeyleri



a: Kontrol grubu ile istatistiksel karşılaştırma; a: p<0,001

Şekil 38. Demans ve kontrol gruplarının serum Amiloid β-42 ve IL-6 düzeyleri



a: Kontrol grubu ile istatistiksel karşılaştırma; a: p<0,001

4.2.2. Demans gruplarının karşılaştırılması

Gruplarımız AD, VD ve AD+VD ve kontrol grupları olarak ayrıldığında serum SIRT-1, TLR4, HMGB1, NF-kB, Aβ-42, p-tau181 ve IL-6 düzeyleri (Şekil 39, 40, 41) ***Tablo 9'da*** verilmiştir.

Kontrol grubuyla karşılaştırma

- AD grubunun serum SIRT1, HMGB1, IL-6, ve Aβ-42 değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı yüksek (her birisi için p<0,001); TLR4 düzeyi ise anlamlı düşük bulundu (p<0,001). p-tau181 ve NF-kB düzeylerinde ise gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.
- VD grubunun serum HMGB1, IL-6 ve Aβ-42 düzeyleri, kontrol grubunun düzeylerinden anlamlı olarak yüksek (sırası ile p<0,001, p<0,001 ve p<0,05). Serum SIRT1, TLR4, p-tau181 ve NF-kB düzeylerinde ise istatiksel olarak anlamlı fark görülmedi (p>0,05).
- AD+VD grubunun serum SIRT1, HMGB1, IL-6 ve Aβ-42, düzeyi kontrol grubundan anlamlı yüksek (p<0,01, p<0,05, p<0,001, p<0,001,) bulundu. Serum TLR4, NF-kB ve p-tau181 ortalamalarında kontrol ve AD+VD grubu arasında anlamlı fark bulunmadı (p>0,05).

AD grubu ile VD ve AD+VD gruplarının karşılaştırması

- AD grubuna kıyasla VD grubunun TLR4 düzeyi anlamlı derecede yüksekti (p<0,05). SIRT1 ve Aβ42 düzeyleri ise AD grubunda VD grubuma göre anlamlı yüksek bulundu

(p<0,01 ve p<0,01). Serum p-tau181, NF-kB, IL-6, HMGB1 düzeyleri açısından iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

- AD grubunun TLR4 düzeyi AD+ VD grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük (p<0,05); Aβ42 düzeyi ise anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0,001). Serum SIRT1, HMGB1, p-tau181, IL-6 ve NF-kB düzeyleri açısından iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı.
- AD+VD ve VD grupların verilerinin istatistiksel karşılaştırılmasında araştırma parametreleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p>0,05).

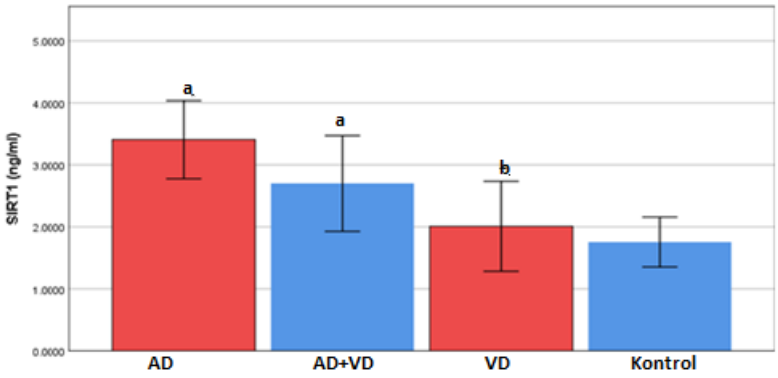
Tablo 9. Alzheimer Demans (AD), Vasküler Demans (VD) , AD+VD, kontrol ve toplam Demans grubunun Serum SIRT-1, TLR4, HMGB1, NF-kB, Aβ-42, p-tau181 ve IL-6 düzeyleri (Ortalama±Standart sapma)

	Kontrol (n=20)	**AD (n=32)**	**VD (n=17)**	**AD+VD (n=21)**	**Demans grubu (n=70)**
Aβ-42 (pg/ml)	44,9 ± 16,6	217,9 ± 98,2^{a3}	105,1 ± 65,7 ^{a1,b2}	152,1 ± 80,1^{a3,b3}	167,4 ± 97,2^{a3}
p-tau181 (pg/ml)	312,9 ± 44,4	322,7 ±35,9	303,9 ± 79,5	296,2 ± 70,5	309,9 ± 60,5
SIRT1 (ng/ml)	1,75 ± 0,83	3,40 ± 1,31^{a3}	2,01 ± 1,19 ^{b2}	2,70 ± 1,50^{a2}	2,85 ± 1,41^{a1}
TLR4 (pg/ml)	931,5 ± 344,9	483,7 ± 208,4^{a3}	702,3 ± 264,3^{b1}	699,9 ± 217,2^{b1}	603,5 ± 250,4^{a3}
HMGB1 (pg/ml)	653,3 ± 176,6	1166,8 ± 409,1^{a3}	1026,7 ± 403,5^{a3}	1023,2 ± 508,6^{a1}	1088,6 ± 439,6^{a3}
NF-kB (pg/ml)	0,846 ± 0,398	0,961± 0,527	0,876 ± 0,354	0,784 ± 0,239	0,830 ± 0,440
IL-6 (pg/ml)	4,61 ± 2,90	12,99 ± 4,53 ^{a3}	11,88 ± 4,94 ^{a3}	9,24 ± 3,59 ^{a3}	11,58 ± 8,24^{a3}

a; Kontrol grubu ile karşılaştırma , ^{a1}p<0,05, ^{a2}p<0,01, ^{a3}p<0,001

b; AD grubu ile karşılaştırma ^{b1}p<0,05, ^{b2}p<0,01, ^{b3}p<0,001, p<0,05:istatistiksel anlamlı

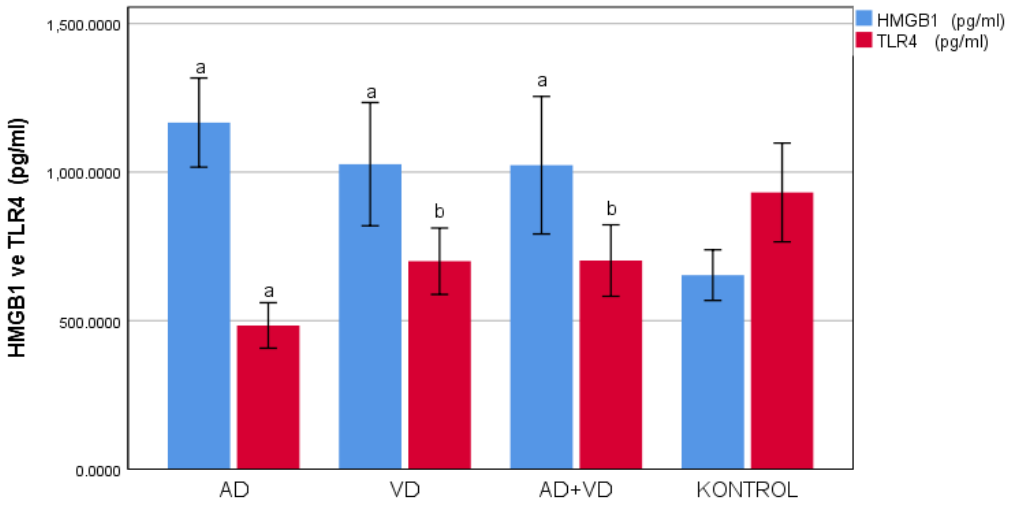
Şekil 39. AD, VD, AD+VD ve kontrol gruplarının serum SIRT1 düzeyi**.**



a: Kontrol grubu ile istatistiksel karşılaştırma; a: p<0,05

b: AD grubu ile istatistiksel karşılaştırma; b: p<0,05

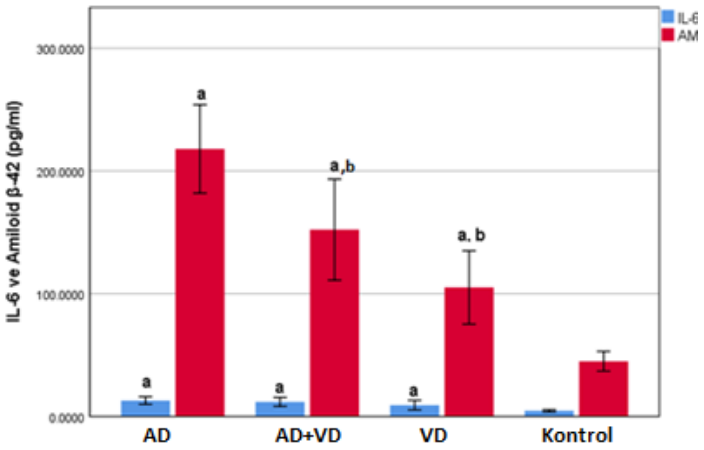
Şekil 40. AD, VD, AD+VD ve kontrol gruplarının serum HMGB1 ve TLR4 düzeyleri



a: Kontrol grubu ile istatistiksel karşılaştırma; a: p<0,05

b: AD grubu ile istatistiksel karşılaştırma; b: p<0,05

Şekil 41.AD, VD, AD+VD ve kontrol gruplarının serum IL-6 ve Aβ-42 düzeyleri



a: Kontrol grubu ile istatistiksel karşılaştırma; a: p<0,05

b: AD grubu ile istatistiksel karşılaştırma; b: p<0,05

4.3. Korelasyon analizleri

Demans altgruplarında ve kontrol gruplarında yapılan korelasyon analizlerinde anlamlı bulgular bulunmadı. Demans grupları birlikte değerlendirildiğinde korelasyon analizlerine göre (Tablo 10, Şekil 42-48);

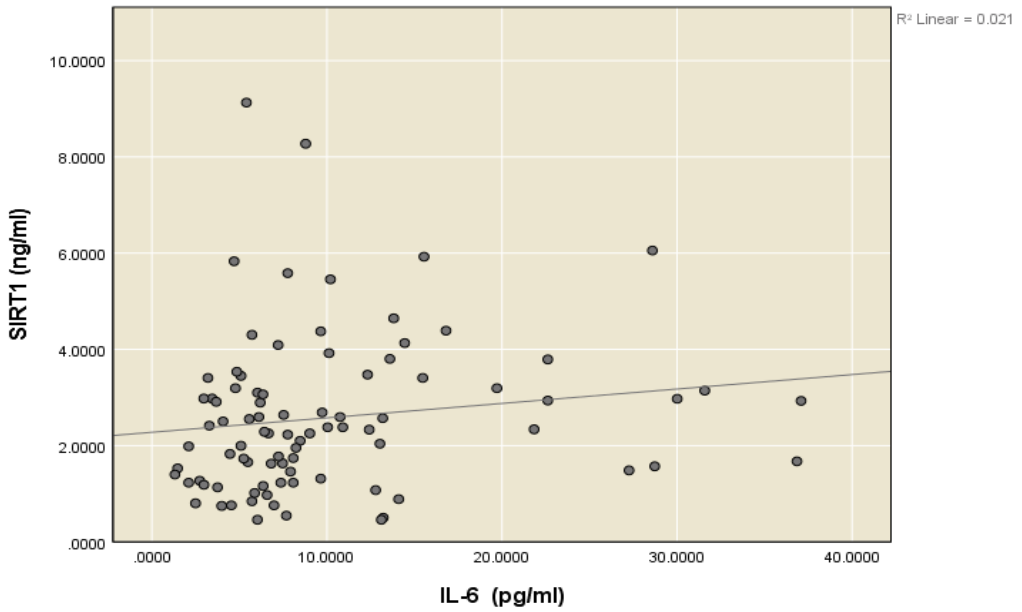
- SMMT düzeyleri ile serum IL-6 (r:-0,275, p<0,01), Aβ-42 (r:-0,380, p<0,01) ve HMGB1 (r:-0,307, p<0,01) arasında anlamlı zayıf negatif; TLR4 (r:0,290, p<0,01) arasında ise anlamlı zayıf pozitif korelasyon bulundu.
- Serum SIRT1 düzeyleri ile Aβ-42 (r:0,339, p<0,01), IL-6 (r:0,241, p<0,05) ve HMGB1 (r:0,339, p<0,01) arasında anlamlı zayıf pozitif korelasyon bulundu.
- Serum Aβ-42 düzeyleri ile IL-6 (r:0,415, p<0,001) ve HMGB1 (r:0,497, p<0,01) düzeyleri arasında anlamlı pozitif; TLR4 (r:-0,336, p<0,01) arasında anlamlı negatif korelasyon bulundu.
- Serum IL-6 düzeyleri ile HMGB1 (r:-0,228; p<0,01) arasında anlamlı zayıf pozitif; TLR4 (r:0,431, p<0,05) anlamlı negatif korelasyon bulundu.

Tablo 10. Demans hastalarında SMMT ve serum nöroenflamatuvar belirteçleri arasındaki Pearson korelasyon kat sayıları.

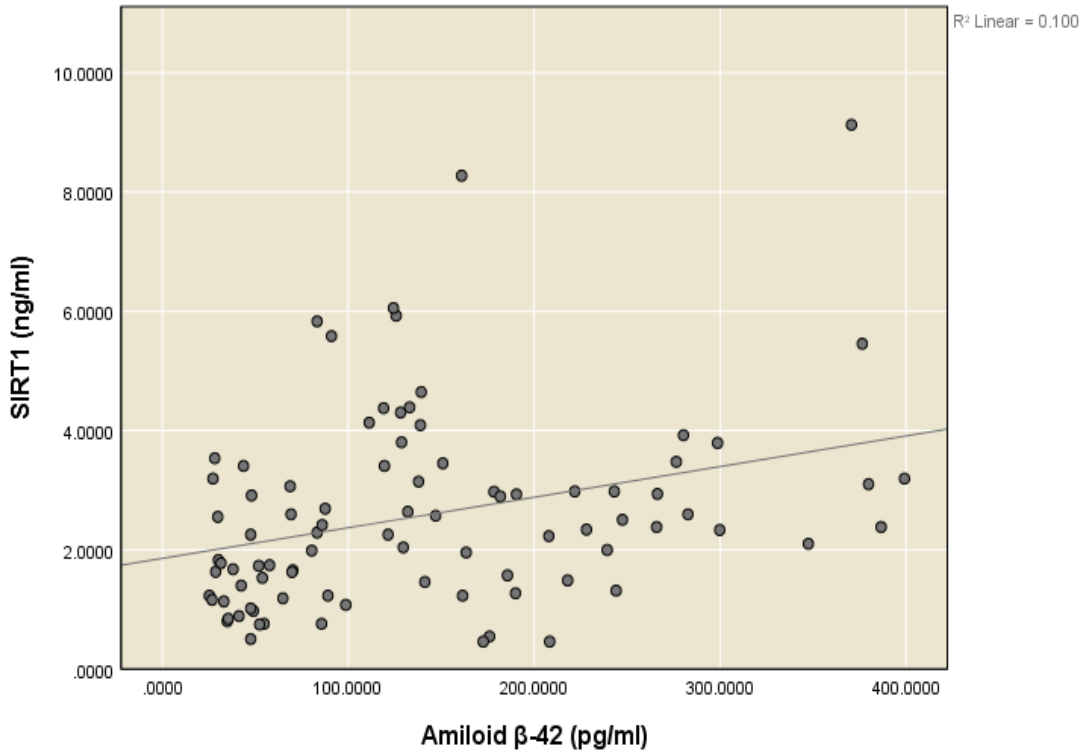
	SMMT	**SIRT-1**	**IL-6**	**Aβ-42**	**TLR4**	**NF-kB**	**HMGB1**
SMMT	-	r:-0,194	r: -0,275[b]	r: -0,380[b]	r: 0,290[b]	r:-0,017	r: -0,307[b]
SIRT-1	r: -0,194	-	r: 0,241[a]	r: 0,339[b]	r:-0,163	r: 0,123	r: 0,339[b]
IL-6	r: -0,275[b]	r: 0,241[a]	-	r: 0,415[b]	r: -0,228[a]	r: 0,153	r: 0,431[b]
Aβ-42	r: -0,380[b]	r: 0,339[b]	r: 0,415[b]	-	r: -0,336[b]	r: 0,112	r: 0,497[b]
TLR-4	r: 0,290[b]	r:-0,163	r:-0,228[a]	r: -0,336[b]	-	r: 0,127	r:-0,153
NF-kB	r: -0,017	r: 0,123	r: 0,153	r: 0,112	r: 0,127	-	r: 0,165
HMGB1	r: -0,307[b]	r: 0,339[b]	r: 0,431[b]	r: 0,497[b]	r:-0,153	r: 0,165	-

**İstatistiksel anlamlı korelasyon: [a]p<0,05 [b]p<0,01*

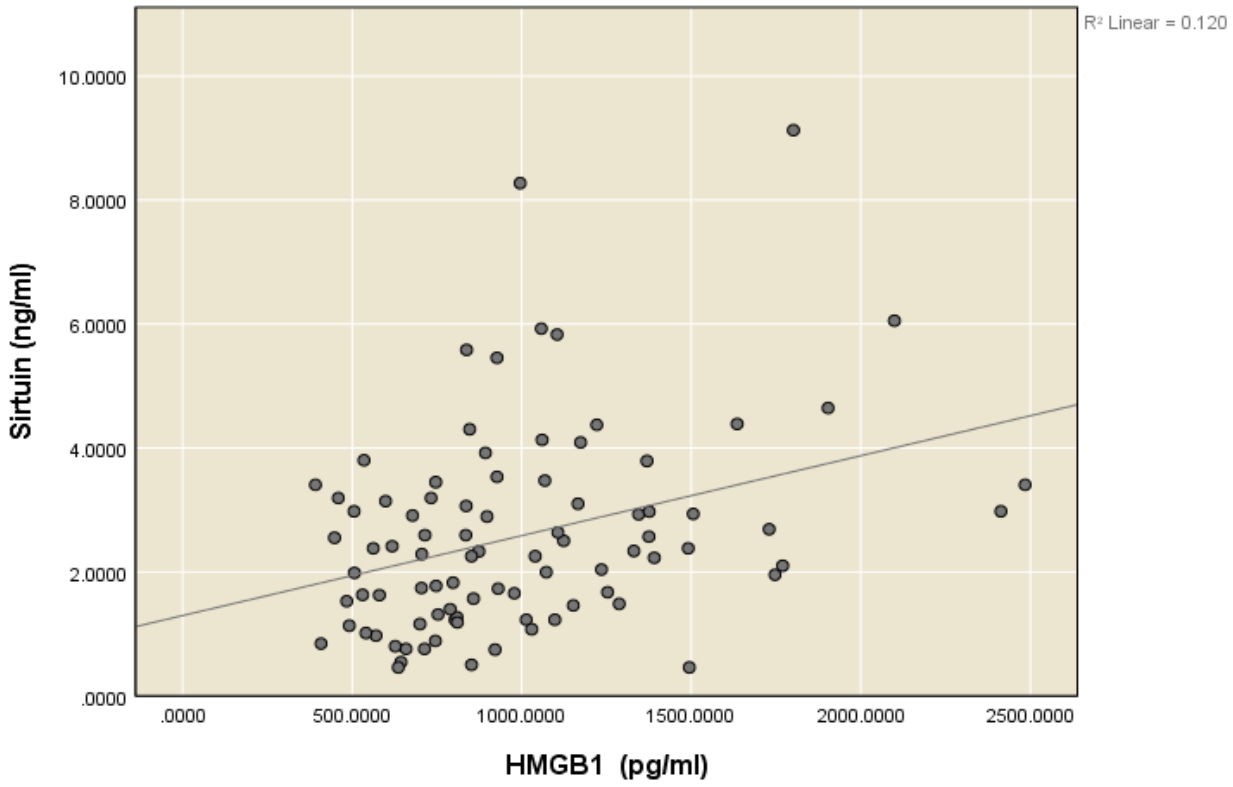
Şekil 42. SIRT1 ve IL-6 değerlerinin korelasyon grafiği (r:0,241, p<0,05)



Şekil 43. SIRT1 ve Aβ-42 değerlerinin korelasyon grafiği (r:0,339, p<0,001)



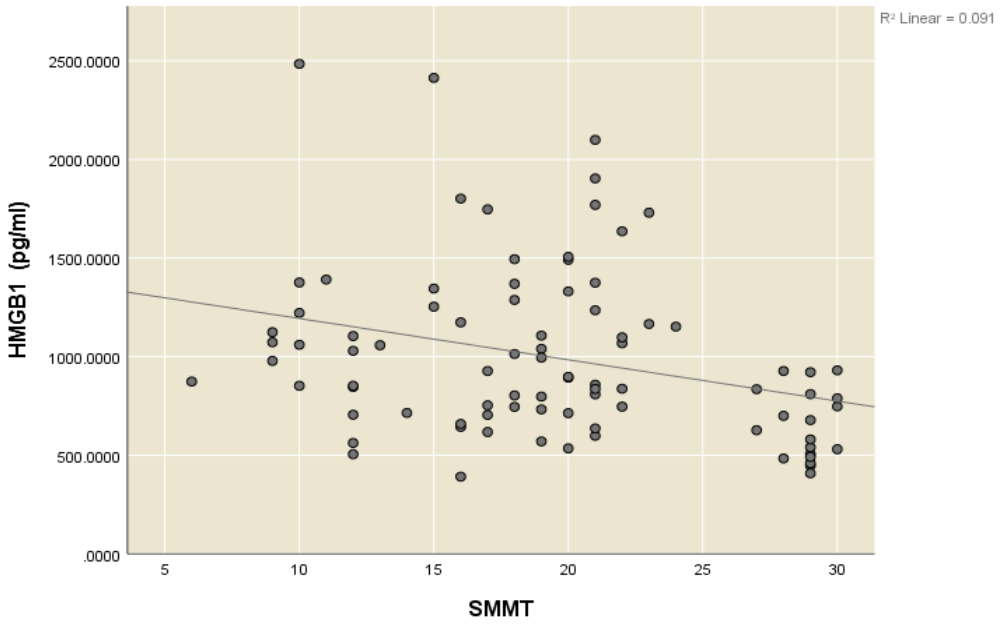
Şekil 44. SIRT1 ve HMGB1 değerlerinin korelasyon grafiği (r:0,339, p<0,001)



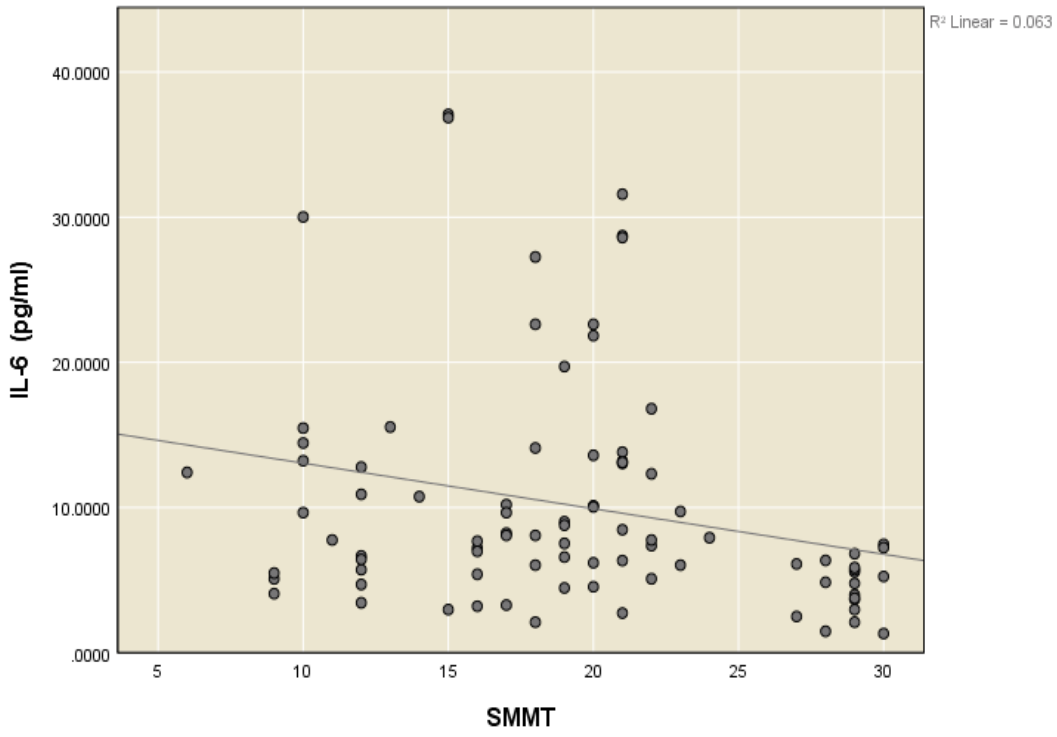
Şekil 45. SMMT ve TLR4 değerlerinin korelasyon grafiği (r:0,290, p<0,001)



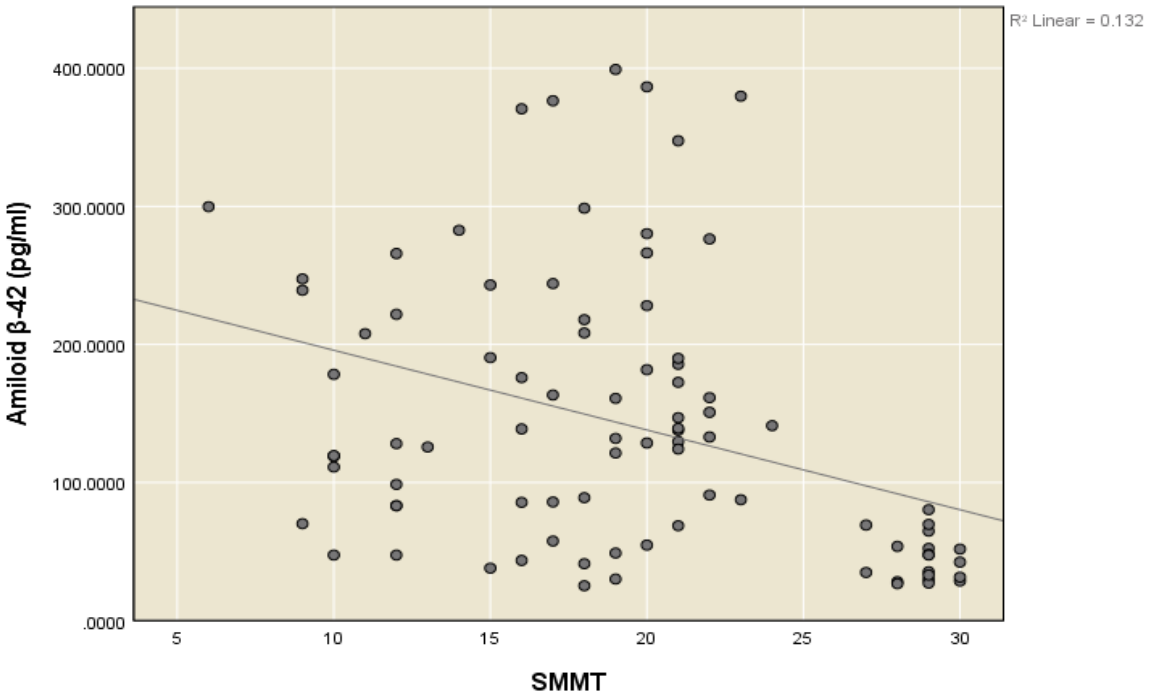
Şekil 46. SMMT ve HMGB1 değerlerinin korelasyon grafiği (r:-0,307, p<0,001)



Şekil 47. SMMT ve IL-6 değerlerinin korelasyon grafiği (r:-0,275, p<0,001)



Şekil 48. SMMT ve Aβ-42 değerlerinin korelasyon grafiği (r:-0,380, p<0,001)



5. TARTIŞMA

Çalışmamızda NINCS-ADRA kriterlerine göre AD tanısı konulan hastalarda serum SIRT1, HMGB1-TLR4, NF-kB, IL-6, Aβ-42 ve p-tau181 düzeylerini belirlemek ve sistemik dolaşımdaki bu moleküllerin düzeyinin tayini ile ilerleyici nöron kaybına yol açan enflamatuvar yolaklar ile demans şiddeti arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçlandı.

Sirtuinler, protein deasetilaz ve adenozin difosfat (ADP)-ribozil transferaz faaliyeti içerisindeki protein ailesinden olan ve hem çekirdek hem de sitozolde yerleşik olan proteinler olup, gen ifadesini düzenleme yeteneğine sahip olmalarından dolayı nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Son çalışmalarda nörodejenerasyon ve enflamasyon arasındaki ilişkiyi sirtuin proteinleri aracılığı ile ortaya koyan kanıtlar bulunmaktadır. Özellikle SIRT1 proteini ile ilişkili olan hücre içi sinyal moleküllerinin nöron harabiyeti ve demans patogenezindeki rolü dikkat çekicidir. Fizyolojik koşullarda hedef proteinlerinin deasetilasyonuna yol açan SIRT-1'in bu etkisinin demans hastalarında azaldığına ve NF-kB ile ilişkili yolağın aktive edilerek nöroinflamatuvar süreçlerin uyarıldığına ilişkin şüpheler vardır [125]. SIRT1'in AD ile ilişkili nöroenflamatuvar ve hücresel stress süreçlerinde rol oynamasına rağmen, serumda bu süreçlerle ilişkisine ait çok az çalışma mevcut olup bu çalışmalarda da farklı sonuçlar elde edilmştir. ***Kumar ve ark.*** [126] 70-74 yaşları arasında 40 AD, 9 HBB hasta ve 22 genç ve 22 yaşlıdan oluşan kontrol grubunda serum SIRT1 düzeyleri değerlendirilmiştir. AD' de serum SIRT1 düzeyi kontrol gruplarına ve HBB'ye kıyasla anlamlı derecede düşük ve SIRT1'in yaşlı kontrollerde genç kontrollere göre düşük olduğunu bildirilmişlerdir. ***Pradhan ve ark.*** [127] çalışmasında, AD grubunda kontrol grubuna kıyasla düşük SIRT1 değerleri saptanmıştır. Diğer taraftan, ***Kılıç ve ark.*** [128] AD, AD-dışı demans ve kontrol grubunda yaptıkları çalışmada AD ve AD-dışı demans hastalarında serum SIRT1 düzeyini kontrol grubuna kıyasla yüksek bulmuşlardır, ancak demans grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Çalışmalarda farklı sonuçlar bulunmasının nedeni SIRT1 ölçüm yöntemi olabilir. Bazı çalışmalarda SIRT1'in enzim aktivitesi bazı çalışmalarda da bizim çalışmamızda olduğu gibi proteinin miktarı belirlenmiştir. Hayvan çalışmalarında yaşlanma ile SIRT1 aktivitesinin azaldığını proteinin ekspresyonunun arttığı yönünde sonuçlar raporlanmıştır [129],[130]. Çalışmamızda AD

grubunda serum SIRT1 düzeylerinin kontrol ve AD+VD gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olması ve VD ile kontrol grubu arasında bir fark bulunmaması SIRT1 düzeylerinin AD demansı için özgün olduğu yönündeki hipotezleri destekler yöndedir. Diğer taraftan çalışmamızda SIRT1 ile SMMT arasında anlamlı korelasyon olmaması SIRT1'in kognitif durumu yansıtmadığını ancak AD hastalığının varlığı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Diğer taraftan, SIRT-1 ve Aβ42 arasındaki anlamlı korelasyon, SIRT-1'in Aβ42-ilişkili enflamatuvar yolakta rolü olduğunu göstermektedir. Dolayısı ile AD hastalarındaki SIRT1 artışı , değişen enzim aktivasyonuna adaptasyon mekanizmasının bir sonucu olabilir.

Bir diğer araştırma parametremiz stres yanıtının düzenlenmesinden sorumlu olan HMGB1 ve TLR4 reseptörüdür [131]. HMGB1, nekrotik hücrelerden salınan ve enflamasyonu indükleyen proenflamatuvar protein olarak bilinmektedir [90]. Çeşitli araştırmalarda HMGB1'in TLR4 reseptörüne bağlanarak enflamatuvar yanıtı başlattığı ileri sürülmüştür. [132],[91]. Festoff ve ark. [133] yaptıkları araştırmada AD hastalarının serumlarında kontrol grubuna göre artış gösteren HMGB1 düzeylerinin nöroenflamatuvar belirteçlerle ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmamızda demans gruplarında kontrol grubuna göre serum HMGB1 düzeylerinin yüksek; serum TLR4 düzeylerinin ise düşük olduğu bulunmuştur. Sonuçlarımız stres sensör molekül olarak tanımlanan SIRT1 düzeylerine adaptif bir yanıt olarak HMGB1 protein ekspresyon düzeyinde artışa yol açabileceği yönündeki kanıtları güçlendirmektedir. Serum HMGB1 düzeyleri demans grupları arasında farklılık göstermez; iken serum TRL4 düzeyleri AD grubunda diğer demans gruplarımıza göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Ek olarak, serum Aβ42 düzeyleri ile HMGB1 arasında pozitif, TLR4 arasında ise negatif korelasyon görülmüştür. Bu durum Alzheimer hastalığının gelişiminde HMGB1-TLR4 yolağının aktivitesinin Aβ42 düzeyleri ile ilişkili olarak diğer demans türlerinden farklılık gösterdiğini düşündürmektedir. Diğer taraftan, klinik çalışmalarda AD hastalarında yüksek, düşük ve normal serum Aβ42 düzeyleri rapor edilmiştir [134],[135],[136],[137]. Çalışmamız HMGB1'in Aβ42 yoluyla bazı nöroinflamatuar etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

TLR4 eksikliği olan AD fare modellerinde düşük mikroglia aktivasyonuyla Aβ birikiminin artışı ve kognitif bozukluğun geliştiği saptanmıştır [138]. AD'nin erken evrelerinde ortaya çıkan TLR4 aktivasyonu, Aβ-klirensinde artışa yol açarak koruyucu etki gösterirken, kronik aktivasyon durumunda Aβ agregasyonunun artışında rol oynadığı ileri sürülmüştür [139]. VD

hastalarında yapılan doku kültürü çalışmasında, VD hastalarda hipokampusta TLR4'ün yüksek düzeyde ifade edilmesi ve Aβ plaklarının birikimi gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, VD'de Aβ birikiminin TLR4 reseptörüne bağlanarak mikroglia aktivasyonu ve ardından IL-6 dahil proenflamatuvar sitokinlerin artışıyla karakterize kronik nöroenflamasyonun geliştiği tespit edilmiştir[140]. Benzer çalışma AD ile yapılmış ve AD'de Aβ'nın TLR4 aracılığı ile mikroglia aktivasyonu ve nöroenflamatuvar süreçleri artırdığı; TLR4 inhibisyonu sonucunda enflamasyon azalarak nöroprotektif etki görülmüştür. Özetle TLR'ün Aβ-aracılı nörotoksisiteye karşı kognitif fonksiyonun sürdürmesini sağladığı kanıtlanmıştır [141]. Yapılan deneysel çalışmalarda, AD'de TLR4'ün Aβ plakların gelişimi ile korelasyon gösterdiği bulunarak TLR4'ün AD nöroenflamasyonundaki rolü kanıtlanmıştır. TLR4 geninin mutasyonu sonucu reseptörün işlevini kaybederek mikroglianın Aβ fagosite edememesi sonucu amiloid plakların (AP) birikimi ve IL-6 gibi enflamatuvar sitokinlerin artışı gözlemlenmiştir [142], [143]. Çalışmamızda AD hastalarında VD'ye kıyasla düşük TLR4 düzeyinin yüksek Aβ düzeylerinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. TLR4 ile IL-6 ve Aβ-42 arasındaki negatif korelasyon yapılan araştırmaları desteklemektedir. Sonuçlarımız aynı zamanda HMGB1 ve TLR4 arasında önemli bir ters ligand-reseptör ilişkisinin demansta varlığını göstermektedir.

NF-kB nükleer translokasyonu proenflamatuvar sitokinlerin yapımını artırarak enalamasyonu indükleyen bir sitokindir [144]. NF-kB aktivasyonu, AD hastalarının beyinlerindeki dejenere olmaya başlayan nöronlarda[145] ve erken evre plaklarının etrafında bulunan nöronal ve glial çekirdeklerde tespit edilmiştir[146]. Araştırmalar NF-kB'nın Aβ42 oligomerlerinin yapımını düzenlediğini; düzensiz NF-kB aktivasyonunda Aβ üretimini artırarak AD ilerlemesinde rol oynadığını ortaya koymaktadır. NF-kB bir taraftan beynin normal işlevlerinde rol alırken, diğer taraftan nöroenflamasyon, mikroglia aktivasyonu ve oksidatif stres ile apoptotik hücre ölümüne neden olarak homeostazın bozulmasında yer alır [147], [148]. NF-kB makrofajlarda HMGB1-TLR4 sinyal yolağı üzerinden IL-6 ifadesini indükleyen faktörlerden biridir. PD hastalarında, NF-kB'nin HMGB1-TLR4 ile birlikte sağlıklı kontrollere kıyasla yüksek olduğu bildirilmiştir [149]. AD'de bu yolağı değerlendiren çalışmalar yeterli değildir. Çalışmamızda serum NF-kB düzeylerinin alzheimer hastalarında yüksek olmasına karşın kontrol grubu ile arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durum AD hastalarındaki TLR4 reseptör proteinindeki azalma ile ilişkili olabileceği gibi SIRT1 artışının NF-kB' sentezini baskılanmasına bağlı olabilir. Fakat NF-kB'nin AD nörodejenerasyonla ilişkili transkripsiyon faktörü olduğu bilinmektedir[150]. Diğer taraftan NF-kB'nin yarı ömrü oldukça kısadır ve

yıkımına bağlı olarak serumdaki artış saptanamamış olabilir veya hastaların kullandığı tedavi ajanlarının NF-kB ekspresyonun baskılaması veya yıkımında artışa yol açması ile ilişkilendirilebilir. ***Marucci ve ark.larının*** yaptığı çalışmada kolinesteraz inhibitör kullanımının NF-kB aktivitesini baskıladığını bildirmiştir[151].

Diğer taraftan IL-6, yaşla ilişkili hastalıklarda rol alan esas enflamatuvar sitokin olarak kabul edilmektedir[152]. Fizyolojik olarak, IL-6 akut faz proteinlerinde artışa yol açtığı ve MSS'de sinyal yolaklarında yer aldığı bilinmektedir[153]. IL-6 'nin demansla ilişkisi araştıran çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir. Bir kısım çalışmada kanda IL-6 düzeylerinin AD hastalarında kontrollere kıyasla daha yüksek [154] [155], [156] olduğu raporlanırken fark olmadığını da ileri süren çalışmalar mevcuttur [157], [158]. VD hastalarında serum IL-6 değerini düşük bildiren yayınlarda bulunmaktadır [159]. Diğer taraftan demans şiddeti ile IL-6 arasında bildirilen korelasyon sonuçları da farklıdır [160],[161],[162]. Çalışmamızda tüm demans gruplarında serum IL-6 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olarak saptandı ve demans grupları arasında farklılık bulunmadı. Sonuçlarımız IL-6 'nın demansın gelişiminde yer alan nöroenflamatuvar yolaklarda rol aldığını ve serum düzeylerinin demansın şiddeti hakkında bir fikir verebileceğini göstermektedir. Aynı zamanda serum SIRT1 ve IL-6 arasındaki zayıfta olsa anlamlı korelasyon ve NF-kB düzeylerinin demans hastalarında farklı olmaması SIRT1 aracılı nöroenflamasyonda NF-kB artışından ziyade IL-6 aracılı farklı bir yolağın aktivasyonun rolünün olabileceğini düşündürmektedir. Son yıllarda farklı hasta gruplarında yapılan çalışmalarda SIRT-1 ekspresyonunun Akt-bağımlı fosforilasyon yolağı IL6 ekspresyonunu değiştirdiği bildirilmiştir [163].

Tau proteinlerinin aksonal taşınma, nörit büyümesi gibi işlevleri fosforilasyon derecesi ile ilişkili olduğu ve normal fosforilasyon sürecinin bozulmasının proteinde fonksiyon bozukluğuna yol açarak AD patolojisinde yer aldığı bildirilmiştir. İn vitro araştırmalar, protein kinazlarla anormal tau fosforilasyonun tau-tau etkileşimlerininin artışına neden olarak NFT oluşumu ile ilişkili olduğu yönde bulgu göstermektedir [117],[164]. Kaynaklarda total tau düzeylerine ilişkin çok sayıda yayın bulunmasına karşın, diğer araştırma parametremiz olan p-tau181'ın plazma düzeylerinin araştırılmasına ilişkin sınırlı sayıda klinik çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda BOS total tau düzeylerinin AD hastalarında kontrol grubuna göre yüksek olduğu [165], [166], [167] bildirilmektedir. Ancak BOS çalışmaları invaziv bir yöntem olduğundan, son birkaç yıldır plazmada ultraduyarlı digital ELISA tekniği ile ölçümüne yönelik yeni bir yöntem geliştirilmiştir (Simoa™ system, Quanterix). Bu

yöntemle ölçülen plazma total tau düzeyleri açısında AD ile kontroller arasında net bir ayrım elde edilememiştir[168]. Plazmada p-tau181 düzeylerine ilişkin ilk pilot çalışma 2017 yılında ***Tatebe ve ark.ları***[167] tarafından yayınlanmıştır. Ultra yüksek duyarlılığı nedeniyle dijital dizi teknolojisi (Simoa™ sistemi, Quanterix)'nin kullanıldığı bu çalışma plazma p-tau181'in beyin AD patolojisinin saptanması için umut verici bir kan biyobelirteç olduğuna dair oldukça değerli bilgiler sağlamıştır. Çalışmamızda yüksek duyarlık ve özgünlüğe sahip bir ELİSA kiti kullanıldı ve demans gruplarında kontrole göre serum p-tau181 düzeylerinde bir fark bulunmadı. Kullanıdğımız ELISA kiti FosfoTau (P181) antikor-fosfoTau (P181) antijen etkileşimlerine ve örneklerdeki fosfo Tau (P181) antijeni saptamak için bir kolorimetrik saptama sistemine dayanmakta olup rekombinant olmayan doğal fosforile tau'yu (P181) tespit etmek için tasarlanmıştır. Diğer taraftan genel olarak sandviç ELISA'larda antikorların seçimi, bu analizlerin etkinliğini büyük ölçüde etkilemektedir. Fosforile tau düzeylerinin tespitine yönelik ELİSA tekniğinde, genellikle pThr181 ve pThr217'ye karşı benzer antikorlar kullanır, ancak saptama antikorunun seçiminde farklılık gösterebilir. Tespit için standart orta alan tau antikoru (amino asit kalıntıları 159-163) veya N-terminal tau antikoru (amino asit kalıntıları 6-18) kullanılabilmekte olup ayırt edici özellikleri farklı olduğu ve kanda diğer proteinlerin varlığı da fosforile tau proteinlerinin saptanmasını etkilediği bildirilmektedir[169]. Diğer taraftan BOS'a kıyasla kanda daha düşük düzeyde tau proteinlerinin bulunması, daha yüksek sensitiviteli testlerin geliştirilmesini ve kullanılmasını işarette etmektedir.

Çalışmamızın kısıtlılığı, enflamatuvar yolağa ilişkin hipotezleri açıklamak için hasta sayının düşük olmasıdır. Daha yüksek hasta sayıları ile yaş ve SMMT sınıflaması yapılarak yeni çalışmalar planlanmaktadır. Diğer taraftan literatürlerde de farklı sonuçlar bilidirilmektedir. Bu farklı sonuçların önemli nedenleri arasında çalışma gruplarına alınan hastaların seçimi, demans süresi, tedavi modelleri, eşlik eden hastalıklar ve bunlara özgü tedaviler yaş ve kognitif durumun ve analiz yöntemlerin farklı duyarlılıkta olmasıdır. Çalışmamızda tedavi görmemiş ve yeni demans tanısı alan hasta grubu oluşturamadığından benzer tedavi alan demans grupları oluşturulmuştur. Diğer taraftan zayıf yöndeki korelasyonlar hasta sayısının artışı ile güçlenebilir. Zira alt grupları ayırarak yapılan korelasyon analizlerimizde anlamlı sonuçlar bulamadık. Ancak kısıtlı hasta sayısına rağmen HMGB1 ve amiloid beta arasındaki kuvvetli korelasyonlar bu iki molekülün aynı yönde değişiklik gösterdiğini destekler yöndedir. Tüm bu kısıtlılıklar göz önüne alınarak yolaktaki diğer proteinleri de göz önüne alan ve denek sayısı yeterli olan çalışmaların duyarlı yöntemler ile yapılması gereklidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Nöroenflamasyon epilepsi, başta Alzheimer demansı olmak üzere çeşitli nörolojik bozuklarla ilişkilendirilmiştir. Nöroenflamatuvar mediatör olan HMGB1 nöroenflamatuvar hastalıklarda bilinmeyen bir sıra moleküler mekanizmalar aracılığı ile yer aldığı bilinmektedir. Serumda belirli düzeylerde artışı saptanan HMGB1'in nöroenflamasyon ilişkili patolojide ve kognitif düşüşte yer aldığı hipotezlerini güçlendirmektedir[170]. Önceki çalışmalarda, SIRT1 proteinin HMGB1-TLR4 aracılı enflamatuvar yolakla ilişkili olduğu ve demans riskini artırdığı bildirilmiştir [128].

Sonuçlarımız Aβ42, SIRT 1, HMGB1 ve TLR4 seviyelerinin AD ve VD hasta gruplarında değiştiğini göstermektedir. SIRT 1 aktivitesi, özellikle AD hastalarında, demans gelişiminin nöroenflamatuvar yolağında önemli bir rol oynar. Sonuçlarımıza göre Aβ42'nin nöroenflamatuvar yolakta kritik bir role sahip olduğu ve özellikle SIRT 1, Aβ42 ve HMGB1'in demans hastalarında terapötik bir hedef olabileceğini düşünüyoruz. Ancak bu durumu netleştirmek için demansın şiddeti, süresi ve tedavileri dikkate alınarak, duyarlı ölçüm tekniklerinin kullanıldığı geniş bir hasta grubu üzerinde çalışmalara ihtiyaç vardır.

Özet olarak, Alzheimer Demansı hastalarında nöroenflamatuvar yolakta yer alan belirteçlerin düzeyini ve SIRT1'in bu süreçle ilişkisini inceleyen çalışmamızın çıkarımları şu şekilde sıralanabilir;

1. Alzheimer Demansı hastalarında serum HMGB1 düzeyi artış, TLR4 düzeyi ise düşüş göstermektedir. Bu bulgu, AD'de HMGB1 ve TLR4 arasında anlamlı ters bir yönde ligand-reseptör ilişkisinin varlığını desteklemektedir. Serum HMGB1 düzeyleri demans grupları arasında farklılık göstermez iken serum TRL4 düzeyleri AD grubunda diğer demans gruplarımıza göre anlamlı derecede düşük olması Alzheimer hastalığının gelişiminde HMGB1-TLR4 yolağının aktivitesinin farklı olduğunu düşündürmektedir.
2. Çalışmamızda AD grubunda serum SIRT1 düzeylerinin kontrol ve AD+VD gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olması ve VD ile kontrol grubu arasında bir fark bulunmaması SIRT1 düzeylerinin AD demansı için özgün olduğu yönündeki bulguları

destekler yöndedir. SIRT1 ile SMMT arasında anlamlı korelasyon olmaması SIRT1'in kognitif durumuyla ilişkili olmadığını daha ziyade AD hastalığının varlığıyla ilişkili olabileceği kanısındayız.

3. Çalışmamızın diğer bir bulgusu olan serum HMGB1 ile Aβ42 düzeyleri arasındaki anlamlı pozitif korelasyon HMGB1'in nöroenflamatuvar etkisini Aβ42 aracılı da gösterebileceğini; AD grubunda vasküler demansa göre yüksek saptanan Aβ42 düzeylerinin nöroenflamasyonla ilişkili olarak bu hastalarda farklı mekanizmaların nöron hasarının gelişmesinde rol oynadığı hipotezini güçlendirmektedir. Çalışmamız, kontrol grubuna göre demans gruplarında Aβ42'nin artışı ve SMMT skoruyla negatif korelasyon göstermesi kognitif düşüşün kan değerlerinide yansıttığını kanıtlayarak önceki çalışmaları destekler yöndedir. Ayrıca, HMGB1 ve TLR4 ile sırasıyla pozitif ve negatif korelasyon göstermesi nöroenflamatuvar süreçte yer aldığını destekler yöndedir.
4. Çalışmamızda serum NF-kB düzeylerinin alzheimer hastalarında yüksek olmasına karşın kontrol grubu ile yapılan istatistiksel karşılaştırmalarda anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durum AD hastalarındaki TLR4 reseptör proteinindeki azalma ile ilişkili olabileceği gibi SIRT1 artışının NF-kB' sentezini baskılamış olabilir. Diğer taraftan NF-kB'nin yarı ömrü oldukça kısadır ve yıkımına bağlı olarak serumdaki artış saptanamamış olabilir veya hastaların kullandığı anti-demans ilaçların baskılaması söz konusu olabilir.
5. Çalışmamızda tüm demans gruplarında serum IL-6 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olarak saptandı ve demans grupları arasında farklılık bulunmadı. Yapılan korelasyon analizleri IL-6 ile Aβ42 ve HMGB1 arasında pozitif korelasyon, TLR4 ve SMMT ile negatif korelasyon IL-6'nın demansın gelişiminde yer alan nöroenflamatuvar yolaklarda etkin bir rol aldığını ve demansın şiddeti ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

   Sonuç olarak demans patogenezinde enflamatuvar süreç önemli rol oynamaktadır. SIRT1, HMGB1 ve TLR4 düzeylerin arasındaki ilişkiyi göstermek için geniş hasta gruplarında çalışmalar planlanmalıdır.

7. KAYNAKLAR

[1] Chen, J., Zhou, Y., Mueller-Steiner, S., Chen, L. F., Kwon, H., Yi, S. *et.al* (2005). SIRT1 protects against microglia-dependent amyloid-β toxicity through inhibiting NF-κB signaling. *Journal of Biological Chemistry*, *280*(48), 40364-40374

[2] Castellani, R. J., Peclovits, A., & Perry, G. (2014). Neuropathology of Alzheimer's Disease. In *Pathobiology of Human Disease: A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms*. Elsevier Inc.

[3] Bayram, A., Mehri, İ. (2013). Sirtuin genleri ve işlevleri. *Fırat Tıp Dergisi*, *18*(3), 136-140

[4] Kauppinen, A., Suuronen, T., Ojala, J., Kaarniranta, K., Salminen, A. (2013). Antagonistic crosstalk between NF-κB and SIRT1 in the regulation of inflammation and metabolic disorders. *Cellular signalling*, *25*(10), 1939-1948.

[5] Qin, Y., Liu, Y., Hao, W., Decker, Y., Tomic, I., Menger, M. D., *et.al,* (2016). Stimulation of TLR4 attenuates Alzheimer's disease–related symptoms and pathology in tau-transgenic mice. *The Journal of Immunology*, *197*(8), 3281-3292.

[6] Paudel, Y. N., Angelopoulou, E., Piperi, C., Balasubramaniam, V. R., Othman, I., Shaikh, M. F. (2019). Enlightening the role of high mobility group box 1 (HMGB1) in inflammation: Updates on receptor signalling. *European journal of pharmacology*, *858*, 172487

[7] Kiiski, H., Långsjö, J., Tenhunen, J., Ala-Peijari, M., Huhtala, H., Hämäläinen, M., *et.al,* (2017). Time-courses of plasma IL-6 and HMGB-1 reflect initial severity of clinical presentation but do not predict poor neurologic outcome following subarachnoid hemorrhage. *Eneurologicalsci*, *6*, 55-62.

[8] Monica Moore, M. S. G., Díaz-Santos, M., Vossel, K. (2021) Alzheimer's Association 2021 Facts and Figures Report. 3, 327–406

[9] Möller, H. J., Graeber, M. B. (1998). The case described by Alois Alzheimer in 1911. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, *248*(3), 111-122.

[10] Bir, S. C., Khan, M. W., Javalkar, V., Toledo, E. G., Kelley, R. E. (2021). Emerging concepts in vascular dementia: a review. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, *30*(8), 105864.

[11] Ganguly, G., Chakrabarti, S., Chatterjee, U., Saso, L. (2017). Proteinopathy, oxidative stress and mitochondrial dysfunction: cross talk in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Drug design, development and therapy*, *11*, 797.

[12] Kamal, M. A., Baeesa, S. S., Mushtaq, G., Shakil, S., Ahmad, A., Tabrez, S. (2016). Recent updates on the association between alzheimer's disease and vascular dementia. *Med. Chem*, *12*(3).

[13] Hepp, D. H., Vergoossen, D. L., Huisman, E., Lemstra, A. W., Netherlands Brain Bank, Berendse, H. W., *et.al,* (2016). Distribution and load of amyloid-β pathology in Parkinson disease and dementia with Lewy bodies. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *75*(10), 936-945.

[14] Chiu, M. J., Yang, S. Y., Chen, T. F., Lin, C. H., Yang, F. C., Chen, W. P., *et.al* (2021). Synergistic association between plasma Aβ1–42 and p-tau in Alzheimer's disease but not in Parkinson's disease or frontotemporal dementia. *ACS Chemical Neuroscience*, *12*(8), 1376-1383.

[15] Selbek, G. (2021). Dementia risk: time matters. *The Lancet Public Health*, *6*(2), e85-e86

[16] Ferri, C. P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., *et.al* (2005). Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *The lancet*, *366*(9503), 2112-2117.

[17] Zhang, X. X., Tian, Y., Wang, Z. T., Ma, Y. H., Tan, L., *et.al* (2021). The epidemiology of Alzheimer's disease modifiable risk factors and prevention. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, *8*(3), 313-321.

[18] Rajan, K. B., Weuve, J., Barnes, L. L., McAninch, E. A., Wilson, R. S., Evans, D. A. (2021). Population estimate of people with clinical Alzheimer's disease and mild cognitive impairment in the United States (2020–2060). *Alzheimer's & dementia*, *17*(12), 1966-1975.

[19] L. Jolla, U. States, L. Jolla, and U. States, (2019) "Alzheimer ' s disease. 2019,"167, 321-381.

[20] Petersen, R. C., Lopez, O., Armstrong, M. J., Getchius, T. S., Ganguli, M., Gloss, D., *et.al* (2018). Practice guideline update summary: Mild cognitive impairment: Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, *90*(3), 126-135.

[21] Alıcılar,H.E., Çalışkan, D. (2021). Alzheimer Hastalığı ve Korunma Stratejileri. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, *30*(2), 107-115.

[22] Sugarman, M. A., Alosco, M. L., Tripodis, Y., Steinberg, E. G., Stern, R. A. (2018). Neuropsychiatric symptoms and the diagnostic stability of mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's disease*, *62*(4), 1841-1855..

[23] Norton, S., Matthews, F. E., Barnes, D. E., Yaffe, K., Brayne, C. (2014). Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *The Lancet Neurology*, *13*(8), 788-794.

[24] Escott-Price, V., Myers, A. J., Huentelman, M., & Hardy, J. (2017). Polygenic risk score analysis of pathologically confirmed Alzheimer disease. *Annals of neurology*, *82*(2), 311-314..

[25] Bellenguez, C., Grenier-Boley, B., & Lambert, J. C. (2020). Genetics of Alzheimer's disease: where we are, and where we are going. *Current Opinion in Neurobiology*, *61*, 40-48.

[26] Strittmatter, W. J., Saunders, A. M., Schmechel, D., Pericak-Vance, M., Enghild, J., Salvesen, G. S., *et.al* (1993). Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *90*(5), 1977-1981.

[27] Gureje, O., Ogunniyi, A., Baiyewu, O., Price, B., Unverzagt, F. W., Evans, R. M., *et al (*2006). APOE ε4 is not associated with Alzheimer's disease in elderly Nigerians. *Annals of neurology*, *59*(1), 182-185.

[28] Bonham, L. W., Geier, E. G., Fan, C. C., Leong, J. K., Besser, L., Kukull, W. A., *et.al* (2016). Age-dependent effects of APOE ε4 in preclinical Alzheimer's disease. *Annals of clinical and translational neurology*, *3*(9), 668-677.

[29] König,T., & Stögmann, E. (2021). Genetics of Alzheimer's disease. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, *171*(11), 249-256.

[30] Deardorff, W. J., & Grossberg, G. T. (2019). Behavioral and psychological symptoms in Alzheimer's dementia and vascular dementia. *Handbook of Clinical Neurology*, *165*, 5-32.

[31] Leuzy, A., Heurling, K., Ashton, N. J., Schöll, M., & Zimmer, E. R. (2018). Focus: Medical Technology: In vivo Detection of Alzheimer's Disease. *The Yale journal of biology and medicine*, *91*(3), 291

[32] Hansson, O., Lehmann, S., Otto, M., Zetterberg, H., & Lewczuk, P. (2019). Advantages and disadvantages of the use of the CSF Amyloid β (Aβ) 42/40 ratio in the diagnosis of Alzheimer's Disease. *Alzheimer's research & therapy*, *11*(1), 1-15.

[33] Engelborghs, S., Le Bastard, N. (2012). The impact of cerebrospinal fluid biomarkers on the diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular diagnosis & therapy*, *16*(3), 135-141.

[34] Zhao, Y., Xin, Y., Meng, S., He, Z., & Hu, W. (2019). Neurofilament light chain protein in neurodegenerative dementia: a systematic review and network meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *102*, 123-138.

[35] Lewczuk, P., Ermann, N., Andreasson, U., Schultheis, C., Podhorna, J., Spitzer, P., *et al.*, (2018). Plasma neurofilament light as a potential biomarker of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Alzheimer's research & therapy*, *10*(1), 1-10.

[36] Hampel, H., O'Bryant, S. E., Molinuevo, J. L., Zetterberg, H., Masters, C. L., Lista, S., *et al.*, (2018). Blood-based biomarkers for Alzheimer disease: mapping the road to the

clinic. *Nature Reviews Neurology*, *14*(11), 639-652.

[37] Yaffe, K., Weston, A., Graff-Radford, N. R., Satterfield, S., Simonsick, E. M., Younkin, S. G., *et al*, (2011). Association of plasma β-amyloid level and cognitive reserve with subsequent cognitive decline. *Jama*, *305*(3), 261-266.

[38] Zou, K., Abdullah, M., & Michikawa, M. (2020). Current biomarkers for Alzheimer's disease: from CSF to blood. *Journal of Personalized Medicine*, *10*(3), 85.

[39] Benussi, A., Karikari, T. K., Ashton, N., Gazzina, S., Premi, E., Benussi, L., *et.al*, (2020). Diagnostic and prognostic value of serum NfL and p-Tau181 in frontotemporal lobar degeneration. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *91*(9), 960-967.

[40] Rojas, J. C., Karydas, A., Bang, J., Tsai, R. M., Blennow, K., Liman, V., *et.al*, (2016). Plasma neurofilament light chain predicts progression in progressive supranuclear palsy. *Annals of clinical and translational neurology*, *3*(3), 216-225.

[41] Suárez-Calvet, M., Karikari, T. K., Ashton, N. J., Lantero Rodriguez, J., Milà-Alomà, M., Gispert, J. D., *et al* (2020). Novel tau biomarkers phosphorylated at T181, T217 or T231 rise in the initial stages of the preclinical Alzheimer's continuum when only subtle changes in Aβ pathology are detected. *EMBO molecular medicine*, *12*(12), e12921.

[42] Folstein, M. F. (1975). " Mini-Mental State"; a practical methods for grading the cognitive state of patients for clinician. *J. Psychiatr. Res.*, *12*, 182-198.

[43] Mittal, S., Singh,J., Pathania, M, Patil, P., Goel, A. (2017) "Neural Up in Arms against Alzheimer's Disease," J. of Neurology and Experimental Neural Science, JNNS-127.

[44] Dubois, B., Feldman, H. H., Jacova, C., DeKosky, S. T., Barberger-Gateau, P., Cummings, J., *et.al* (2007). Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS–ADRDA criteria. *The Lancet Neurology*, *6*(8), 734-746.

[45] Beach, T. G., Monsell, S. E., Phillips, L. E., & Kukull, W. (2012). Accuracy of the clinical diagnosis of Alzheimer disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005–2010. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, *71*(4), 266-273..

[46] Haake, A., Nguyen, K., Friedman, L., Chakkamparambil, B., & Grossberg, G. T. (2020). An update on the utility and safety of cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert opinion on drug safety*, *19*(2), 147-157.

[47] Sharma, K. (2019). Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics. Molecular medicine reports, 20(2), 1479-1487.

[48] Thakur, A. K., Kamboj, P., Goswami, K., & Ahuja, K. (2018). Pathophysiology and management of Alzheimer's disease: An overview. *J. Anal. Pharm. Res*, *7*(1)

[49] Cárdenas-Aguayo, M. D. C., Silva-Lucero, M. D. C., Cortes-Ortiz, M., Jiménez-Ramos, B., Gómez-Virgilio, L., Ramírez-Rodríguez, G., *et al.* (2014). *Physiological role of amyloid beta in neural cells: the cellular trophic activity* (pp. 1-26). IntechOpen, London..

[50] Castellano, J. M., Kim, J., Stewart, F. R., Jiang, H., DeMattos, R. B., Patterson, B. W., *et.al* (2011). Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid-β peptide clearance. *Science translational medicine*, *3*(89), 89ra57-89ra57.

[51] Kolarova, M., García-Sierra, F., Bartos, A., Ricny, J., & Ripova, D. (2012). Structure and pathology of tau protein in Alzheimer disease. *International journal of Alzheimer's disease*, *2012*.

[52] Argentati, C., Tortorella, I., Bazzucchi, M., Emiliani, C., Morena, F., *et.al* (2020). The other side of Alzheimer's disease: Influence of metabolic disorder features for novel diagnostic biomarkers. *Journal of Personalized Medicine*, *10*(3), 115..

[53] Domise, M., & Vingtdeux, V. (2016). AMPK in neurodegenerative diseases. *AMP-activated Protein Kinase*, 153-177.

[54] Gasparini, L., Terni, B., & Spillantini, M. G. (2007). Frontotemporal dementia with tau pathology. *Neurodegenerative diseases*, *4*(2-3), 236-253.

[55] Ferreira-Vieira, T., M Guimaraes, I., R Silva, F., & M Ribeiro, F. (2016). Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. *Current neuropharmacology*, *14*(1), 101-115.

[56] Kamal, M. A., Greig, N. H., & Reale, M. (2009). Anti-Inflammatory Properties of Acetylcholinesterase Inhibitors Administred in Alzheimer's Disease. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*, *8*(1), 85-100.

[57] Hampel, H., Mesulam, M. M., Cuello, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., *et.al* (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*, *141*(7), 1917-1933.

[58] Nobili, A., Latagliata, E. C., Viscomi, M. T., Cavallucci, V., Cutuli, D., Giacovazzo, G., *et.al* (2017). Dopamine neuronal loss contributes to memory and reward dysfunction in a model of Alzheimer's disease. *Nature communications*, *8*(1), 1-14..

[59] Mandal, P. K., Kansara, K., & Dabas, A. (2017). The GABA–working memory relationship in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease Reports*, *1*(1), 43-45..

[60] Whiley, L., Chappell, K. E., D'Hondt, E., Lewis, M. R., Jiménez, B., Snowden, S. G., *et.al* (2021). Metabolic phenotyping reveals a reduction in the bioavailability of serotonin and kynurenine pathway metabolites in both the urine and serum of individuals living with Alzheimer's disease. *Alzheimer's research & therapy*, *13*(1), 1-18.

[61] Madeira, C., Vargas-Lopes, C., Brandão, C. O., Reis, T., Laks, J., Panizzutti, R., *et.al* (2018). Elevated glutamate and glutamine levels in the cerebrospinal fluid of patients with probable Alzheimer's disease and depression. *Frontiers in psychiatry*, 561.

[62] Ganguly, U., Kaur, U., Chakrabarti, S. S., Sharma, P., Agrawal, B. K., Saso, L., *et.al* (2021). Oxidative stress, neuroinflammation, and NADPH oxidase: implications in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.

[63] Kumar, K., Kumar, A., Keegan, R. M., & Deshmukh, R. (2018). Recent advances in the neurobiology and neuropharmacology of Alzheimer's disease. *Biomedicine & pharmacotherapy*, *98*, 297-307.

[64] Huang, W. J., Zhang, X. I. A., & Chen, W. W. (2016). Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biomedical reports*, *4*(5), 519-522.

[65] Strozyk, D., Launer, L. J., Adlard, P. A., Cherny, R. A., Tsatsanis, A., Volitakis, I., *et.al* (2009). Zinc and copper modulate Alzheimer Aβ levels in human cerebrospinal fluid. *Neurobiology of aging*, *30*(7), 1069-1077.

[66] Cuajungco, M. P., Fagét, K. Y. (2003). Zinc takes the center stage: its paradoxical role in Alzheimer's disease. *Brain Research Reviews*, *41*(1), 44-56.

[67] Valko, M. M. H. C. M., Morris, H., & Cronin, M. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, *12*(10), 1161-1208.

[68] Kim, Y. S., Jung, H. M., & Yoon, B. E.(2018). Exploring glia to better understand Alzheimer's disease. *Animal cells and systems*, *22*(4), 213-218.

[69] Thal, D. R., Schultz, C., Dehghani, F., Yamaguchi, H., Braak, H., & Braak, E. (2000). Amyloid β-protein (Aβ)-containing astrocytes are located preferentially near N-terminal-truncated Aβ deposits in the human entorhinal cortex. *Acta neuropathologica*, *100*(6), 608-617.

[70] Wyss-Coray, T., Loike, J. D., Brionne, T. C., Lu, E., Anankov, R., Yan, F., *et.al* (2003). Adult mouse astrocytes degrade amyloid-β in vitro and in situ. *Nature medicine*, *9*(4), 453-457..

[71] Song, M., Jin, J., Lim, J. E., Kou, J., Pattanayak, A., Rehman, J. A., *et.al* (2011). TLR4 mutation reduces microglial activation, increases Aβ deposits and exacerbates cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of neuroinflammation*, *8*(1), 1-14.

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

[73] Frederiksen, H. R., Haukedal, H., & Freude, K. (2019). Cell type specific expression of toll-like receptors in human brains and implications in Alzheimer's disease. *BioMed Research International*, *2019*.

[74] Angiulli, F., Conti, E., Zoia, C. P., Da Re, F., Appollonio, I., Ferrarese, C., *et al* (2021). Blood-Based Biomarkers of Neuroinflammation in Alzheimer's Disease: A Central Role for Periphery?. *Diagnostics*, *11*(9), 1525.

[75] Blennow, K., Dubois, B., Fagan, A. M., Lewczuk, P., De Leon, M. J., & Hampel, H. (2015). Clinical utility of cerebrospinal fluid biomarkers in the diagnosis of early Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, *11*(1), 58-69.

[76] Alsadany, M. A., Shehata, H. H., Mohamad, M. I., & Mahfouz, R. G. (2013). Histone deacetylases enzyme, copper, and IL-8 levels in patients with Alzheimer's disease. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias®*, *28*(1), 54-61.

[77] Bonneh-Barkay, D., Bissel, S. J., Kofler, J., Starkey, A., Wang, G., & Wiley, C. A. (2012). Astrocyte and macrophage regulation of YKL-40 expression and cellular response in neuroinflammation. *Brain pathology*, *22*(4), 530-546.

[78] Okun, E., Griffioen, K. J., & Mattson, M. P. (2011). Toll-like receptor signaling in neural plasticity and disease. *Trends in neurosciences*, *34*(5), 269-281.

[79] Rizzi, L., Roriz-Cruz, M. (2018). Sirtuin 1 and Alzheimer's disease: An up-to-date review. *Neuropeptides*, *71*, 54-60.

[80] Lee, I. H. (2019). Mechanisms and disease implications of sirtuin-mediated autophagic regulation. *Experimental & molecular medicine*, *51*(9), 1-11.

[81] Balaiya, S., Abu-Amero, K. K., Kondkar, A. A., & Chalam, K. V. (2017). Sirtuins expression and their role in retinal diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2017*.

[82] Elibol, B., & Kilic, U. (2018). High levels of SIRT1 expression as a protective mechanism against disease-related conditions. *Frontiers in endocrinology*, *9*, 614. *(Lausanne).*, vol. 9, no. OCT, pp. 1–7, 2018, doi: 10.3389/fendo.2018.00614.

[83] Donmez, G., Arun, A., Chung, C. Y., McLean, P. J., Lindquist, S., & Guarente, L. (2012). SIRT1 protects against α-synuclein aggregation by activating molecular chaperones. *Journal of Neuroscience*, *32*(1), 124-132.

[84] Mariani, S., Fiore, D., Basciani, S., Persichetti, A., Contini, S., Lubrano, C., *et.al* (2015). Plasma levels of SIRT1 associate with non-alcoholic fatty liver disease in obese patients. *Endocrine*, *49*(3), 711-716.

[85] Vachharajani, V. T., Liu, T., Wang, X., Hoth, J. J., Yoza, B. K., & McCall, C. E. (2016). Sirtuins link inflammation and metabolism. *Journal of immunology research*.

[86] Stein, S., Lohmann, C., Schäfer, N., Hofmann, J., Rohrer, L., Besler, C., *et.al* (2010). SIRT1 decreases Lox-1-mediated foam cell formation in atherogenesis. *European heart journal*, *31*(18), 2301-2309..

[87] Fan, H., Yang, H. C., You, L., Wang, Y. Y., He, W. J., *et.al* (2013). The histone deacetylase, SIRT1, contributes to the resistance of young mice to ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury. *Kidney international*, *83*(3), 404-413..

[88] Goodwin, G. H., Sanders, C., & Johns, E. W. (1973). A new group of chromatin-associated proteins with a high content of acidic and basic amino acids. *European Journal of Biochemistry*, *38*(1), 14-19.

[89] Dawnay, A.B, Millar, D.J. (1997) "Glycation and advanced glycation end-product formation with icodextrin and dextrose," *Perit. Dial. Int.*, 17, 1, 52–58.

[90] Venereau, E., Casalgrandi, M., Schiraldi, M., Antoine, D. J., Cattaneo, A., De Marchis, F.,*et.al* (2012). Mutually exclusive redox forms of HMGB1 promote cell recruitment or proinflammatory cytokine release. *Journal of Experimental Medicine*, *209*(9), 1519-1528.

[91] Kwak, M. S., Kim, H. S., Lee, B., Kim, Y. H., Son, M., & Shin, J. S. (2020). Immunological significance of HMGB1 post-translational modification and redox biology. *Frontiers in immunology*, *11*, 1189..

[92] Fang, P., Schachner, M., & Shen, Y. Q. (2012). HMGB1 in development and diseases of the central nervous system. *Molecular neurobiology*, *45*(3), 499-506.

[93] Zhang, J., Takahashi, H. K., Liu, K., Wake, H., Liu, R., Maruo, T., *et.al (*2011). Anti-high mobility group box-1 monoclonal antibody protects the blood–brain barrier from ischemia-induced disruption in rats. *Stroke*, *42*(5), 1420-1428.

[94] Wang, D., Liu, K., Wake, H., Teshigawara, K., Mori, S., & Nishibori, M. (2017). Anti-high mobility group box-1 (HMGB1) antibody inhibits hemorrhage-induced brain injury and improved neurological deficits in rats. *Scientific reports*, *7*(1), 1-16..

[95] Calvo-Rodriguez, M., García-Rodríguez, C., Villalobos, C., & Núñez, L. (2020). Role of toll like receptor 4 in Alzheimer's disease. *Frontiers in Immunology*, *11*, 1588.

[96] Gay, N. J., Gangloff, M., & Weber, A. N. (2006). Toll-like receptors as molecular switches. *Nature Reviews Immunology*, *6*(9), 693-698.

[97] Behzadi, P., García-Perdomo, H. A., & Karpiński, T. M. (2021). Toll-like receptors: general molecular and structural biology. *Journal of Immunology Research*, *2021*.

[98] Gómez, R., Villalvilla, A., Largo, R., Gualillo, O., & Herrero-Beaumont, G. (2015). TLR4 signalling in osteoarthritis—finding targets for candidate DMOADs. *Nature Reviews Rheumatology*, *11*(3), 159-170.

[99] Cao, C. X., Yang, Q. W., Lv, F. L., Cui, J., Fu, H. B., *et.al* (2007). Reduced cerebral ischemia-reperfusion injury in Toll-like receptor 4 deficient mice. *Biochemical and biophysical research communications*, *353*(2), 509-514.

[100] Fujita, K., Motoki, K., Tagawa, K., Chen, X., Hama, H., Nakajima, K., .*et.al* (2016). HMGB1, a pathogenic molecule that induces neurite degeneration via TLR4-MARCKS, is a potential therapeutic target for Alzheimer's disease. *Scientific reports*, *6*(1), 1-15.

[101] Trapero, I., & Cauli, O. (2014). Interleukin 6 and cognitive dysfunction. *Metabolic brain disease*, *29*(3), 593-608..

[102] Rose-John, S., Kiel, C. (2012). IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. *International journal of biological sciences*, *8*(9), 1237.

[103] Kinlay, S., & Egido, J. (2006). Inflammatory biomarkers in stable atherosclerosis. *The American journal of cardiology*, *98*(11), S2-S8.

[104] Dugan, L. L., Ali, S. S., Shekhtman, G., Roberts, A. J., Lucero, J., Quick, K. L., *et.al* (2009). IL-6 mediated degeneration of forebrain GABAergic interneurons and cognitive impairment in aged mice through activation of neuronal NADPH oxidase. *PloS one*, *4*(5), e5518

[105] Lyra e Silva, N. M., Gonçalves, R. A., Pascoal, T. A., Lima-Filho, R. A., Resende, E. D. P. F., Vieira, E. L., *et.al* (2021). Pro-inflammatory interleukin-6 signaling links cognitive impairments and peripheral metabolic alterations in Alzheimer's disease. *Translational psychiatry*, *11*(1), 1-15

[106] Spooren, A., Kolmus, K., Laureys, G., Clinckers, R., De Keyser, J., Haegeman, G., *et.al* (2011). Interleukin-6, a mental cytokine. *Brain research reviews*, *67*(1-2), 157-183.

[107] Srinivasana, M., & Lahirib, D. K.(2015) Significance of NF-κB as a pivotal therapeutic target in the neurodegenerative pathologies of Alzheimer's disease and multiple sclerosis. Expert Opinion on Therapeutic Targets Apr 3;19(4):471–87.

[108] O'Neill, L. A., & Kaltschmidt, C. (1997). NF-kB: a crucial transcription factor for glial and neuronal cell function. *Trends in neurosciences*, *20*(6), 252-258.

[109] Gupta, S. C., Kim, J. H., Prasad, S., & Aggarwal, B. B. (2010). Regulation of survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis of tumor cells through modulation of inflammatory pathways by nutraceuticals. *Cancer and Metastasis Reviews*, *29*(3), 405-434.

[110] Lieb, W., Gona, P., Larson, M. G., Massaro, J. M., Lipinska, I., Keaney Jr, J. F., *et.al* (2010). Biomarkers of the osteoprotegerin pathway: clinical correlates, subclinical disease, incident cardiovascular disease, and mortality. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, *30*(9), 1849-1854.

[111] Zhang, H., & Sun, S. C. (2015). NF-κB in inflammation and renal diseases. *Cell & bioscience*, *5*(1), 1-12.

[112] Snow, W. M., & Albensi, B. C. (2016). Neuronal gene targets of NF-κB and their

dysregulation in Alzheimer's disease. *Frontiers in molecular neuroscience*, *9*, 118.

[113] Dresselhaus, E. C., & Meffert, M. K. (2019). Cellular specificity of NF-κB function in the nervous system. *Frontiers in immunology*, *10*, 1043.

[114] Bečanović, K., Nørremølle, A., Neal, S. J., Kay, C., Collins, J. A., Arenillas, D., *et.al* (2015). A SNP in the HTT promoter alters NF-κB binding and is a bidirectional genetic modifier of Huntington disease. *Nature neuroscience*, *18*(6), 807-816..

[115] Noble, W., Hanger, D. P., Miller, C. C., & Lovestone, S. (2013). The importance of tau phosphorylation for neurodegenerative diseases. *Frontiers in neurology*, *4*, 83..

[116] Li, B., Chohan, M. O., Grundke-Iqbal, I., & Iqbal, K. (2007). Disruption of microtubule network by Alzheimer abnormally hyperphosphorylated tau. *Acta neuropathologica*, *113*(5), 501-511.

[117] Nelson, P. T., Jicha, G. A., Schmitt, F. A., Liu, H., Davis, D. G., Mendiondo, M. S., *et.al* (2007). Clinicopathologic correlations in a large Alzheimer disease center autopsy cohort: neuritic plaques and neurofibrillary tangles" do count" when staging disease severity. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *66*(12), 1136-1146.

[118] Zana, M., Janka, Z., & Kálmán, J. (2007). Oxidative stress: a bridge between Down's syndrome and Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, *28*(5), 648-676.

[119] Lee, N. C., Yang, S. Y., Chieh, J. J., Huang, P. T., Chang, L. M., Chiu, Y. N., *et.al* (2017). Blood beta-amyloid and tau in Down syndrome: a comparison with Alzheimer's disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 316.

[120] Stakos, D. A., Stamatelopoulos, K., Bampatsias, D., Sachse, M., Zormpas, E., Vlachogiannis, N. I., *et.al* (2020). The Alzheimer's disease amyloid-beta hypothesis in cardiovascular aging and disease: JACC focus seminar. *Journal of the American College of Cardiology*, *75*(8), 952-967.

[121] Driver, J. A., Beiser, A., Au, R., Kreger, B. E., Splansky, G. L., Kurth, T., *et.al* (2012). Inverse association between cancer and Alzheimer's disease: results from the Framingham Heart Study. *Bmj*, *344*.

[122] Meakin, P. J., Coull, B. M., Tuharska, Z., McCaffery, C., Akoumianakis, I., Antoniades, C.,*et.al* (2020). Elevated circulating amyloid concentrations in obesity and diabetes promote vascular dysfunction. *The Journal of clinical investigation*, *130*(8), 4104-4117.

[123] Dubois, B., Feldman, H. H., Jacova, C., DeKosky, S. T., Barberger-Gateau, P., Cummings, J., *et.al* (2007). Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS–ADRDA criteria. *The Lancet Neurology*, *6*(8), 734-746.

[124] Erkinjuntti, T. (1994). Clinical criteria for vascular dementia: the NINDS-AIREN criteria. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, *5*(3-4), 189-192.

[125] Singh, V., & Ubaid, S. (2020). Role of silent information regulator 1 (SIRT1) in regulating oxidative stress and inflammation. *Inflammation*, *43*(5), 1589-1598.

[126] Kumar, R., Chaterjee, P., Sharma, P. K., Singh, A. K., Gupta, A., Gill, K., *et.al* (2013). Sirtuin1: a promising serum protein marker for early detection of Alzheimer's disease. *PloS one*, *8*(4), e61560.

[127] Pradhan, R., Singh, A. K., Kumar, P., Bajpai, S., Pathak, M., Chatterjee, P., *et.al* (2022). Blood circulatory level of seven sirtuins in Alzheimer's disease: Potent biomarker based on translational research. *Molecular Neurobiology*, *59*(3), 1440-1451

[128] Kilic, U., Elibol, B., Uysal, O., Kilic, E., Yulug, B., Sakul, A. S., *et.al* (2018). Specific alterations in the circulating levels of the SIRT1, TLR4, and IL7 proteins in patients with dementia. *Experimental gerontology*, *111*, 203-209.

[129] Koltai, E., Szabo, Z., Atalay, M., Boldogh, I., Naito, H., Goto, S., *et.al* (2010). Exercise alters SIRT1, SIRT6, NAD and NAMPT levels in skeletal muscle of aged rats. *Mechanisms of ageing and development*, *131*(1), 21-28.

[130] Braidy, N., Guillemin, G. J., Mansour, H., Chan-Ling, T., Poljak, A., & Grant, R. (2011). Age related changes in NAD+ metabolism oxidative stress and Sirt1 activity in wistar rats. *PloS one*, *6*(4), e19194.

[131] Magna, M., & Pisetsky, D. S. (2014). The role of HMGB1 in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases. *Molecular medicine*, *20*(1), 138-146

[132] Tang, Y., Zhao, X., Antoine, D., Xiao, X., Wang, H., Andersson, U., *et.al* (2016). Regulation of posttranslational modifications of HMGB1 during immune responses. *Antioxidants & redox signaling*, *24*(12), 620-634.

[133] Festoff, B. W., Sajja, R. K., van Dreden, P., & Cucullo, L. (2016). HMGB1 and thrombin mediate the blood-brain barrier dysfunction acting as biomarkers of neuroinflammation and progression to neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Journal of neuroinflammation*, *13*(1), 1-12.

[134] Luis, C. A., Abdullah, L., Paris, D., Quadros, A., Mullan, M., Mouzon, B., *et.al* (2009). Serum β-amyloid correlates with neuropsychological impairment. *Aging, Neuropsychology, and Cognition*, *16*(2), 203-218.

[135] Startin, C. M., Ashton, N. J., Hamburg, S., Hithersay, R., Wiseman, F. K., Mok, K. Y., *et.al* (2019). Plasma biomarkers for amyloid, tau, and cytokines in Down syndrome and sporadic Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, *11*(1), 1-12.

[136] Lewis, H., Beher, D., Cookson, N., Oakley, A., Piggott, M., Morris, C. M., *et.al* (2006). Quantification of Alzheimer pathology in ageing and dementia: age-related accumulation of amyloid-β (42) peptide in vascular dementia. *Neuropathology and applied neurobiology*, *32*(2), 103-118.

[137] Mayeux, R., Honig, L. S., Tang, M. X., Manly, J., Stern, Y., Schupf, N., *et.al* (2003). Plasma Aβ40 and Aβ42 and Alzheimer's disease: relation to age, mortality, and risk. *Neurology*, *61*(9), 1185-1190.

[138] Udan, M. L., Ajit, D., Crouse, N. R., & Nichols, M. R. (2008). Toll-like receptors 2 and 4 mediate Aβ (1–42) activation of the innate immune response in a human monocytic cell line. *Journal of neurochemistry*, *104*(2), 524-533.

[139] Fiebich, B. L., Batista, C. R. A., Saliba, S. W., Yousif, N. M., & De Oliveira, A. C. P. (2018). Role of microglia TLRs in neurodegeneration. *Frontiers in cellular neuroscience*, *12*, 329.

[140] Belkhelfa, M., Beder, N., Mouhoub, D., Amri, M., Hayet, R., Tighilt, N., et.al (2018). The involvement of neuroinflammation and necroptosis in the hippocampus during

vascular dementia. *Journal of neuroimmunology*, *320*, 48-57.

[141] Liu, Y., Dai, Y., Li, Q., Chen, C., Chen, H., Song, Y., et.al (2020). Beta-amyloid activates NLRP3 inflammasome via TLR4 in mouse microglia. *Neuroscience letters*, *736*, 135279.

[142] Walter, S., Letiembre, M., Liu, Y., Heine, H., Penke, B., Hao, W.,et.al (2007). Role of the toll-like receptor 4 in neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *20*(6), 947-956.

[143] Tahara, K., Kim, H. D., Jin, J. J., Maxwell, J. A., Li, L., & Fukuchi, K. I. (2006). Role of toll-like receptor signalling in Aβ uptake and clearance. *Brain*, *129*(11), 3006-3019.

[144] Asavarut, P., Zhao, H., Gu, J., & Ma, D. (2013). The role of HMGB1 in inflammation-mediated organ injury. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica*, *51*(1), 28-33..

[145] Terai, K., Matsuo, A., & McGeer, P. L. (1996). Enhancement of immunoreactivity for NF-κB in the hippocampal formation and cerebral cortex of Alzheimer's disease. *Brain research*, *735*(1), 159-168.

[146] Kaltschmidt, B., Uherek, M., Volk, B., Baeuerle, P. A., & Kaltschmidt, C. (1997). Transcription factor NF-κB is activated in primary neurons by amyloid β peptides and in neurons surrounding early plaques from patients with Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *94*(6), 2642-2647.

[147] Lian, H., Yang, L., Cole, A., Sun, L., Chiang, A. C. A., Fowler, S. W., *et.al* (2015). NFκB-activated astroglial release of complement C3 compromises neuronal morphology and function associated with Alzheimer's disease. *Neuron*, *85*(1), 101-115.

[148] García-García, V. A., Alameda, J. P., Page, A., & Casanova, M. L. (2021). Role of NF-κB in ageing and age-related diseases: lessons from genetically modified mouse models. *Cells*, *10*(8), 1906.

[149] Yang, Y., Han, C., Guo, L., & Guan, Q. (2018). High expression of the HMGB1–TLR4 axis and its downstream signaling factors in patients with Parkinson's disease and the relationship of pathological staging. *Brain and Behavior*, *8*(4), e00948.

[150] Jha, N. K., Jha, S. K., Kar, R., Nand, P., Swati, K., & Goswami, V. K. (2019). Nuclear factor-kappa β as a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Journal of neurochemistry*, *150*(2), 113-137.

[151] Marucci, G., Buccioni, M., Dal Ben, D., Lambertucci, C., Volpini, R., & Amenta, F. (2021). Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, *190*, 108352.

[152] Franceschi, C., & Campisi, J. (2014). Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, *69*(Suppl_1), S4-S9..

[153] Erta, M., Quintana, A., & Hidalgo, J. (2012). Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system. *International journal of biological sciences*, *8*(9), 1254.

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

[155] Wu, Y. Y., Hsu, J. L., Wang, H. C., Wu, S. J., Hong, C. J., & Cheng, I. H. J. (2015). Alterations of the neuroinflammatory markers IL-6 and TRAIL in Alzheimer's disease. *Dementia and geriatric cognitive disorders extra*, *5*(3), 424-434.

[156] Bozluolcay, M., Andican, G., Fırtına, S., Erkol, G., & Konukoglu, D. (2016). Inflammatory hypothesis as a link between A lzheimer's disease and diabetes mellitus. *Geriatrics & gerontology international*, *16*(10), 1161-1166.

[157] Uslu, S., Akarkarasu, Z. E., Ozbabalik, D., Ozkan, S., Çolak, O., Demirkan, E. S., *et.al* (2012). Levels of amyloid beta-42, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurochemical research*, *37*(7), 1554-1559.

[158] Vishnu, V. Y., Modi, M., Garg, V. K., Mohanty, M., Goyal, M. K., Lal, V., *et.al (*2017). Role of inflammatory and hemostatic biomarkers in Alzheimer's and vascular dementia–A pilot study from a tertiary center in Northern India. *Asian Journal of Psychiatry*, *29*, 59-62.

[159] Karadas, Ö., Koç, G., Özön, A. Ö., Öztürk, B., & Konukoğlu, D. (2017). Biomarkers of Alzheimer's Disease and vascular dementia simltaneously sampled from serum and cerebrospinal fluid. *Turkish Journal of Geriatrics/Türk Geriatri Dergisi*, *20*(1):1-7.

[160] Lai, K. S. P., Liu, C. S., Rau, A., Lanctôt, K. L., Köhler, C. A., Pakosh, M., *et.al* (2017). Peripheral inflammatory markers in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of 175 studies. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *88*(10), 876-882.

[161] Sun, Y. X., Minthon, L., Wallmark, A., Warkentin, S., Blennow, K., & Janciauskiene, S. (2003). Inflammatory markers in matched plasma and cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer's disease. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, *16*(3), 136-144.

[162] Angelopoulos, P., Agouridaki, H., Vaiopoulos, H., Siskou, E., Doutsou, K., Costa, V., *et.al* (2008). Cytokines in Alzheimer's disease and vascular dementia. *International Journal of Neuroscience*, *118*(12), 1659-1672

[163] Tang, L., Chen, Q., Meng, Z., Sun, L., Zhu, L., Liu, J., *et.al* (2017). Suppression of Sirtuin-1 increases IL-6 expression by activation of the Akt pathway during allergic asthma. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *43*(5), 1950-1960.

[164] Johnson, G. V., & Stoothoff, W. H. (2004). Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction. *Journal of cell science*, *117*(24), 5721-5729.

[165] Tsai, C. L., Liang, C. S., Lee, J. T., Su, M. W., Lin, C. C., Chu, H. T., *et.al* (2019). Associations between plasma biomarkers and cognition in patients with Alzheimer's disease and amnestic mild cognitive impairment: a cross-sectional and longitudinal study. *Journal of Clinical Medicine*, *8*(11), 1893.

[166] Chen, S. D., Huang, Y. Y., Shen, X. N., Guo, Y., Tan, L., Dong, Q., *et.al* (2021). Longitudinal plasma phosphorylated tau 181 tracks disease progression in Alzheimer's disease. *Translational Psychiatry*, *11*(1), 1-10.

[167] Tatebe, H., Kasai, T., Ohmichi, T., Kishi, Y., Kakeya, T., Waragai, M., *et.al* (2017). Quantification of plasma phosphorylated tau to use as a biomarker for brain Alzheimer

pathology: pilot case-control studies including patients with Alzheimer's disease and down syndrome. *Molecular neurodegeneration*, *12*(1), 1-11.

[168] Mattsson, N., Zetterberg, H., Janelidze, S., Insel, P. S., Andreasson, U., Stomrud, E., *et.al* (2016). Plasma tau in Alzheimer disease. *Neurology*, *87*(17), 1827-1835.

[169] Xia, Y., Prokop, S., & Giasson, B. I. (2021). "Don't Phos Over Tau": recent developments in clinical biomarkers and therapies targeting tau phosphorylation in Alzheimer's disease and other tauopathies. *Molecular Neurodegeneration*, *16*(1), 1-19.

[170] Paudel, Y. N., Shaikh, M. F., Chakraborti, A., Kumari, Y., Aledo-Serrano, Á., Aleksovska, K., ... & Othman, I. (2018). HMGB1: a common biomarker and potential target for TBI, neuroinflammation, epilepsy, and cognitive dysfunction. *Frontiers in neuroscience*, *12*, 628..

8. İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ALZHEİMER HASTALARINDA SERUM SİRTUİN-1, HMGB1-TLR4, NF-kB ve IL-6 DÜZEYLERİ VE NÖROENFLAMATUVAR YOLAĞIN DEMANS ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIGINALITY REPORT

17%	15%	4%	6%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet Source	9%
2	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Student Paper	1%
3	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 Internet Source	1%
4	dspace.trakya.edu.tr:8080 Internet Source	1%
5	bobbewegt.com Internet Source	1%
6	Submitted to Istanbul University Student Paper	<1%
7	doczz.net Internet Source	<1%
8	www.frontiersin.org Internet Source	<1%