

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**ALZHEİMER HASTALIĞINDA *PARP1* VE *DNA POL β*
mRNA EKSPRESYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Sercan KENANOĞLU**

**Danışman
Prof. Dr. Munis DÜNDAR**

Yüksek Lisans Tezi

**Temmuz 2017
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**ALZHEİMER HASTALIĞINDA *PARP1* VE *DNA POL β*
mRNA EKSPRESYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

**Hazırlayan
Sercan KENANOĞLU**

**Danışman
Prof. Dr. Munis DÜNDAR**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından **TYL-2016-6956** kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Temmuz 2017
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

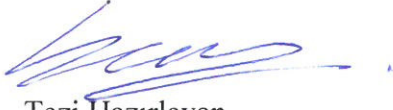
Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı Soyadı: Sercan KENANOĞLU

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Alzheimer Hastalığında *PARP1* ve *DNA POL β* mRNA Ekspresyonlarının Araştırılması” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.



Tezi Hazırlayan

Sercan KENANOĞLU

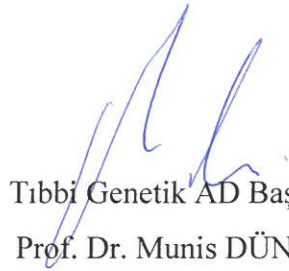
İmza



Danışman

Prof. Dr. Munis DÜNDAR

İmza



Tıbbi Genetik AD Başkanı

Prof. Dr. Munis DÜNDAR

İmza

Prof. Dr. Munis DÜNDAR danışmanlığında Sercan KENANOĞLU tarafından hazırlanan “**Alzheimer Hastalığında *PARP1* ve *DNA POL β* mRNA Ekspresyonlarının Araştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Genetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

14 / 07 / 2017

JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Munis DÜNDAR

(Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı)

Üye : Prof. Dr. Çetin SAATÇI

(Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı)

Üye : Prof. Dr. Uğur ÖZBEK

(İstanbul Acıbadem Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı)

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

.....

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgisini ve desteğini hiçbir şekilde esirgemeyen, tez konumun belirlenmesinde ve sonuçlanmasında yardımcı olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Munis DÜNDAR'a,

Çalışma grubunu oluşturma konusunda sağladıkları destekten dolayı Üniversitemizin Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Emel KÖSEOĞLU'na, Nöroloji Anabilim Dalı asistanı Dr. Mehmet Fatih GÖL'e, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndan, Uzm. Moleküler Biyolog Hilal Akalın'a, Uzm. Dr. Muhammet Ensar DOĞAN'a,

Çalışma grubundaki gönüllülerden periferik kan alma işlemlerinde yardımını esirgemeyen bölüm hemşiremiz Selma Gül ÜSTÜNEL'e, bölüm sekreterlerimiz Özgül ÖZBEK ve Özlem DOĞAN'a,

Tez çalışması süresince, tezin her aşamasında yardımların esirgemeyen Kimyager Dr. Nazife TAŞÇIOĞLU'na,

İstatistik analizlerinde yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Genetik Anabilim Dalı asistanı Dr. Ruslan BAYRAMOV'a,

Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında görev yapan bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Yusuf ÖZKUL ile Prof. Dr. Çetin SAATÇI'ye, manevi desteğini benden esirgemeyen çalışma arkadaşlarım ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ailesine,

Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine,

Varlıklarından her zaman minnet duyduğum ve her zaman yanımda olarak sevgilerini ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili anne ve babama çok teşekkür ederim.

Sercan KENANOĞLU

Kayseri, Temmuz 2017

ALZHEİMER HASTALIĞINDA *PARP1* VE *DNA POL β* mRNA EKSPRESYONLARININ ARAŞTIRILMASI

Sercan KENANOĞLU

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2017

Danışman: Prof. Dr. Munis DÜNDAR

ÖZET

Nörodejeneratif hastalıklar arasında oldukça önemli bir paya sahip olan Alzheimer Hastalığı, yaşlı popülasyonda en sık görülen demans formudur. Bilişsel aktivitelerin azalmasıyla karakterize olan Alzheimer Hastalığında öncelikli olarak, hatırlama kabiliyetinin ve belleğin zayıfladığı görülmektedir. Bunun yanı sıra düşünme, konuşma ve oryantasyon için önemli olan beyin bölgelerindeki sinir hücrelerinin yavaş ve progresif bir şekilde öldüğü görülmektedir.

Ne yazık ki hastalığın ilerleyen dönemlerinde hastalar yatağa bağımlı ve bakıma muhtaç hale gelmektedir. Bu da hasta yakınlarına hem maddi hem de manevi yönden oldukça ağır bir yük getirmektedir. Bu yüzden Alzheimer Hastalığının altında yatan mekanizmaların anlaşılması için yapılan çalışmalarla, hastalığın sosyo-ekonomik yönden getirdiği dezavantajların ortadan kaldırılması amaçlanmaktadır.

Alzheimer Hastalığı multifaktöriyel bir hastalık olup hastalığın etiyolojisinde genetik faktörlerin oldukça geniş bir etkisi vardır. *Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 (PARP1)* geni, diferensiyasyon, proliferasyon ve tümör transformasyonu gibi önemli hücrel proseslerin regülasyonlarını içerir ve hücreyi DNA hasarına karşı korur. *DNA POLİMERAZ β (DNA POL β)* geni tarafından kodlanan bir protein olan DNA Polimeraz β ise baz ekzisyon ve tamirinde yer alarak boşluk doldurucu enzim olarak görev alır.

Çalışmada Alzheimer Hastalığında *PARP1* ve *DNA POL β* mRNA ekspresyonları araştırılmıştır. Gönüllülerden alınan periferik kanlardan RNA izolasyonu yapılmış,

ardından cDNA elde edilerek Real-Time PCR’da bu iki genin ekspresyon düzeylerine bakılmıştır.

Sonuç olarak Alzheimer tipi demansı olan hastalarda azalmış *PARP1* ekspresyonu görülmüş ve kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuşken; *DNA POL β* geni için istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer Hastalığı, *PARP1*, *DNA POL β* , mRNA ekspresyonu, BER

THE INVESTIGATION OF *PARP1* AND *DNA POL β* mRNA EXPRESSIONS ON ALZHEIMER'S DISEASE

Sercan KENANOĞLU

Erciyes University, Institute of Health Sciences

Department of Medical Genetics

Master's Thesis, July 2017

Supervisor: Prof. Munis DÜNDAR

ABSTRACT

Alzheimer's Disease, which has a significant share among neurodegenerative diseases, is the most common form of dementia in the elderly population. In the case of illness it is seen primarily in memory impairment and memory weakness which is characterized by a decrease in cognitive activities. In addition, it seems that the nerve cells in the brain regions, which are important for thinking, speaking and orientation, have died slowly and progressively.

Unfortunately, in the later stages of the disease, the patients are dependent on the bed and requires need of care. And this brings a rather heavy burden to the patients' relatives both in the material and the moral side. Therefore, studies aiming to understand the underlying mechanisms of the Alzheimer's Disease are aimed at removing the disadvantages brought by the socio-economic aspects of the disease.

Alzheimer's disease is a multifactorial disease and there is a wide effect of genetic factors in the etiology of the disease. *Poly (ADP-Ribose) Polymerase 1 (PARP1)* encompasses regulation of important cellular processes such as differentiation, proliferation and tumor transformation, and protects the cell against DNA damage. DNA Polymerase β , a protein encoded by the *DNA POLYMERASE β (DNA POL β)* gene, functions as a spacer-flanking enzyme in base excision and repair.

In the study, *PARP1* and *DNA POL β* mRNA expressions in Alzheimer's Disease were investigated. First, RNA isolation was performed from the peripheral blood from the

volunteers, then cDNA was obtained and the expression levels of these two genes were examined in Real-Time PCR.

As a result, decreased *PARP1* expression was observed in patients with Alzheimer type dementia and there was a statistically significant difference with the control group; however there was no statistically significant result for the *DNA POL β* gene.

Key words: Alzheimer's Disease, *PARP1*, *DNA POL β*, mRNA expression, BER

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER.....	x
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	xiii
TABLolar LİSTESİ.....	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. NÖRODEJENERATİF HASTALIKLAR BİYOLOJİSİ.....	4
2.1.1. Nörodejeneratif Hastalıkların Biyolojisine Genel Bakış	4
2.1.2. Nörodejeneratif Hastalıkların Sınıflandırılması	5
2.1.2.1. Klinik ve anatomik sınıflandırma.....	8
2.1.2.2. Nöropatolojik sınıflandırma.....	8
2.2. Ubiquitin – Proteozom Sistemleri ve Nörodejenerasyon ile İlişkisi	9
2.3. Nörodejeneratif hastalıkların sınıflandırılmasındaki proteinler	10
2.4. Yaşlanma ve Yaşlılıkla İlgili Nörolojik Hastalıklar	11
2.4.1. Yaşlılık ve sinir sisteminde meydana gelen değişiklikler.....	12
2.4.2. Yaşlanma ve nörolojik hastalıklar	13
2.4.3. Demans	13
2.4.3.1. Demans tanısına yaklaşım ve nörolojik testlerin duyarlılığı	16
2.5. ALZHEİMER HASTALIĞI.....	18
2.5.1. Alzheimer Hastalığının Moleküler Patolojisi	19
2.5.2. Alzheimer Hastalığının Genetiği.....	23
2.5.2.1. Alzheimer Hastalığı için yeni genlerin araştırılması.....	24
2.5.3. Erken Başlangıçlı Otozomal Dominant Ailesel Alzheimer Hastalığı.....	28

2.5.3.1. Erken Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı ile İlişkili Genler.....	28
2.5.3.1.1. APP (Amiloid Prekürsör Protein)	28
2.5.3.1.2. <i>PSEN 1</i> (Presenilin 1).....	31
2.5.3.1.3. <i>PSEN2</i> (Presenilin 2).....	32
2.5.4. Geç Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı	34
2.5.4.1. <i>APOE</i> İzoformlarının Etkisi ve Mekanizması	37
2.5.4.2. <i>APOE</i> 'nin A β Yıkımı Üzerine Olan Etkisi	39
2.6. <i>PARP1</i> GEN YAPISI.....	40
2.6.1. Poly (ADP-Riboz) Polimeraz'ın Fonksiyonu	42
2.6.2. DNA Hasarı Karşısında PARP-1	43
2.6.3. Baz Ekzisyon Tamiri ve PARP'ların İlgisi.....	44
2.6.4. Nörodejenerasyonda Mitokondriyal Disfonksiyonların Etkisi	46
2.7. <i>DNA POL β</i> GEN YAPISI	47
2.7.1. DNA POL β 'nin Fonksiyonları.....	49
2.7.2. DNA POL β ve BER İlişkisi	50
2.8. REAL-TIME (GERÇEK-ZAMANLI) POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (RT-PCR).....	51
2.8.1. Real-Time PCR'ın Uygulama Alanları	52
2.8.2. Real-Time PCR'ın Çalışma Mekanizması.....	53
3. GEREÇ VE YÖNTEM	54
3.1. Araştırmanın tipi.....	54
3.2. Araştırmanın yeri ve zamanı	54
3.3. Araştırmada kullanılan materyal	54
3.3.1 Hasta grubu	54
3.3.2. Kontrol grubu	55
3.4. Veri Toplama Araçları	55
3.4.1. Demirbaş Malzemeler.....	55
3.4.2. Sarf Malzemeler	55
3.4.2.1. Ekspresyon analizi için gerekli sarf malzemeler.....	55
3.5. YÖNTEMLER	56
3.5.1. Uygulama Prosedürleri	56
3.5.1.1. Kan Örneklerinden Lökosit İzolasyonu.....	56
3.5.1.2. Lökositlerden Total RNA İzolasyonu	56
3.5.1.3. cDNA Sentezi	57

3.5.1.4. Preamplifikasyon aşaması	59
3.5.1.5. Ekspresyon analizi.....	60
3.5.1.6. İstatistiksel analiz	62
4. BULGULAR	63
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	69
6. KAYNAKLAR	72
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

AAN	Amerikan Nöroloji Akademisi
AH	Alzheimer Hastalığı
AICD	APP intracellular domain-APP intrasellüler domain
ALS	Amyotrofik Lateral Skleroz
AP	Apürinik / Apirimidinik
APE1	AP-Endonükleaz I
<i>APOE</i>	Apolipoprotein E
<i>APP</i>	Amiloid Prekürsör Protein
A β	Amiloid Beta
BER	Baz Ekzisyon Onarımı
BT	Bilgisayarlı Tomografi
cDNA	Komplementer DNA
CMA	Chaperone-mediated Autophagy (Şaperon Aracılı Otofaji)
Ct	Eşik Değeri Döngüsü
<i>DNA POL β</i>	<i>DNA POLİMERAZ</i> Beta
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dsDNA	Double Strand (Çift zincirli) DNA
EOAD	Early-Onset Alzheimer's Disease (Erken Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı)
FDG-PET	Florodeoksiglukoz- Pozitron Emisyon Tomografi
Fen1	Flap Endonükleaz I
FTD	Frontotemporal Demans
<i>GAPDH</i>	Gliseraldehit 3-Fosfat Dehidrogenaz
GWAS	Genome-wide Association Studies (Genom çaplı-İlişkilendirme Çalışmaları)
H&E	Hematoksilen ve Eozin Boyama
KBB	Kan-Beyin Bariyeri
kDa	Kilodalton
LCD	Lewy Cisimcikli Demans
LDL	Low-Density Lipoprotein (Düşük yoğunluklu Lipoprotein)

LDLR	Low-Density Lipoprotein Receptor (Düşük yoğunluklu Lipoprotein Reseptörü)
LOAD	Late-Onset Alzheimer's Disease (Geç Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı)
LRP1	LDL-Related Protein 1 (LDL-İlişkili Protein 1)
MAPT	Mikrotübül İlişkili Protein tau
MG	Myastenia Gravis
MMSE	Mini Mental State Examination (Mini Mental Durum Muayenesi)
MMT	Mini Mental Test
MPTP	1-Metil 4-Fenil 1,2,3,6-Tetrahidro Piridin
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
mRNA	mesajcı RNA
MSA	Multi Sistem Atrofi
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NAD ⁺	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
PARG	Poli(ADP-riboz) glikohidrolaz
<i>PARP1</i>	<i>Poli(ADP-Riboz) Polimeraz 1</i>
<i>PARP2</i>	<i>Poli(ADP-Riboz) Polimeraz 2</i>
PCNA	Proliferating Cell Nuclear Antigen (Prolifere Olan Hücre Nükleer Antijeni)
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PET	Pozitron Emisyon Tomografi
<i>PSEN1</i>	Presenilin 1
<i>PSEN2</i>	Presenilin 2
PSP	Progresif Supranükleer Palsi
RNA	Ribo Nükleik Asit
RT-PCR	Real-Time (Gerçek Zamanlı) Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAA	Serebral Amiloid Anjiyopati
UPS	Ubikitin Proteozom Sistemi

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Nörodejeneratif hastalıkların sınıflandırmasındaki güncel kavramlar ve ölçütler.....	7
Tablo 2.2. Demans sendromlarında kardinal ve sekonder alanların sorgulanması	15
Tablo 2.3. Alzheimer Hastalığı ile ilişkisi bilinen genler ve özellikleri	23
Tablo 2.4. Alzheimer Hastalığında yayınlanan genom-çaplı ilişkilendirme araştırmalarına genel bakış	26
Tablo 3.1. cDNA reaksiyonu için 1. Karışım.	58
Tablo 3.2. cDNA reaksiyonu için 2. Karışım.	58
Tablo 3.3. cDNA sentezi için thermal cycler cihazındaki sıcaklık ve süre döngüsü.....	59
Tablo 3.4. Pre-amplifikasyon aşaması için reaksiyon karışımı.	59
Tablo 3.5. Pre-amplifikasyon için thermal cycler cihazındaki sıcaklık, süre ve döngü sayısı.....	60
Tablo 3.6. Ekspresyon analizi için reaksiyon karışımı	61
Tablo 3.7. LightCycler 480 II yazılımında ekspresyon için ayarlanan sıcaklık ve süreler.	61
Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grubunda cinsiyet, yaş, birey sayısı ve yüzdelik dağılımları	64
Tablo 4.2. <i>PARP1</i> ve <i>DNA POL β</i> genleri için çalışma gruplarının ortalama, standart sapma ve p değerleri.	68

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Nörodejeneratif hastalıklarda savunmasızlık paternlerinin özeti.....	6
Şekil 2.2. Proteinlerin ubiquitinizasyon sürecindeki kalite kontrol sistemleri.....	10
Şekil 2.3. MMT testlerinin eğitim düzeyi ile olan korelasyonu.	18
Şekil 2.4. Alzheimer Hastalığının ilerlemesindeki nöropatoloji.	20
Şekil 2.5. Alzheimer Hastalıklı bir beyne ait Hematoksilen-Eozin boyalı bölüm	21
Şekil 2.6. Amiloid prekürsör protein (APP)'in proteolitik yıkımı ve amiloid β oluşumu	22
Şekil 2.7. Amiloid bozukluklarda protein agregasyonunun şematik gösterimi	30
Şekil 2.8. Presenilin 1'in şematik gösterimi.....	33
Şekil 2.9. Presenilin 2'nin şematik gösterimi.....	33
Şekil 2.10. <i>APOE</i> genindeki polimorfizmler ve oluşan alleller.	35
Şekil 2.11. Alzheimer Hastalığında <i>APOE</i> 'nin patojenik mekanizması.	38
Şekil 2.12. <i>APOE</i> 'nin Aβ metabolizması ve birikmesi üzerine olan etkisi	40
Şekil 2.13. <i>PARP1</i> geninin kromozomal lokalizasyonu	41
Şekil 2.14. Poly (ADP-Ribose)'un yapısı ve poly(ADP-ribozil)asyon mekanizması	41
Şekil 2.15. <i>PARP-1</i> protein yapısı ve katalitik domainleri	42
Şekil 2.16. <i>PARP-1</i> aktivasyonunun hiyerarşik sonuçları	43
Şekil 2.17. Memeli hücrelerinde DNA baz ekzisyon tamirinin temel adımlarının şematik gösterimi.....	45
Şekil 2.18. <i>PARP1</i> aktivasyonunun hücre içinde neden olduğu olaylar.....	47
Şekil 2.19. DNA Polimeraz β'nın gen ve protein yapıları arasındaki ilişki.....	48
Şekil 2.20. <i>DNA POL β</i> geninin kromozomal lokalizasyonu.....	49
Şekil 2.21. DNA Baz Ekzisyon tamir mekanizmasında rol alan enzimler	50
Şekil 2.22. Real-Time PCR'ın amplifikasyon eğrisi ve reaksiyondaki fazlar	53
Şekil 4.1. Light Cycler 480 II cihazında gerçekleşen RT-PCR amplifikasyon eğrisi. ...	64
Şekil 4.2. Hasta grubundaki 17 bireyin <i>PARP1</i> geni için amplifikasyon eğrileri.	65
Şekil 4.3. Kontrol grubundaki 22 bireyin <i>PARP1</i> geni için amplifikasyon eğrileri.	65
Şekil 4.4. Hasta grubundaki 17 bireyin <i>DNA POL β</i> geni için amplifikasyon eğrileri... ..	66
Şekil 4.5. Kontrol grubundaki 22 bireyin <i>DNA POL β</i> geni için amplifikasyon eğrileri.	66

Şekil 4.6. <i>PARP1</i> geninin hasta ve kontrol grubundaki ekspresyon değerleri.	67
Şekil 4.7. <i>DNA POL β</i> geninin hasta ve kontrol grubundaki ekspresyon değerleri	67

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer Hastalığı, bilişsel faaliyetlerin yıkıcı bir şekilde azalmasıyla karakterize olan ve dünya genelinde yaklaşık 24-35 milyon insanı etkileyen demansın en yaygın görülen biçimidir. 2050 yılı itibariyle bu insidansın her 85 kişide bir görülerek artması ve 130 milyon civarına ulaşacağı tahmin edilmektedir (1).

Alzheimer hastalığı tanısı alan bireyler tipik olarak 3 – 9 yıllık sağkalım süresine sahiptirler ve hastalığın son evrelerinde bakıma muhtaç hale gelmektedirler (1, 2). Alzheimer Hastalığının global olarak artan insidansının yanında erken teşhis edilmesi, hastalığın etiyolojisinin anlaşılmasında ve etkili tedavilerin geliştirilmesinde önem arz etmektedir (1).

Alzheimer Hastalığında başlıca risk faktörü yaş olmakla beraber; hastalığın insidansı 65 yaşından sonra her 5 yılda bir ikiye katlanmakta ve her yıl 65 yaş üzerindeki 100.000 kişi başına yılda 1275 yeni vaka tanısı konulmaktadır (3). Diğer yandan yüz yaşını aşmış kişilerin dahil edildiği çalışmalara bakıldığında Alzheimer Hastalığının yalnızca yaşlanmanın sonucu olmadığı; yine de bununla birlikte 85 yaşından sonra Alzheimer Hastalığı tanısı alma ihtimalinin üçte biri aştığı görülmektedir (4).

Alzheimer hastalığının yaşa bağlı olarak tanımlanan iki öncü tipi vardır: 1) Erken başlangıçlı Alzheimer Hastalığı, 2) Geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı. Bunların her biri kendine özgü nedensel ve risk oluşturan genetik faktörler barındırmaktadır. Erken başlangıçlı olan tip Alzheimer Hastalığına neden olan mutasyonları içerirken; geç

başlangıçlı tipin genleri hastalık için risk faktörleri içerdiği, ancak bilinen allellerin hastalığa neden olmak için yetersiz kaldığı da görülmektedir (1).

Erken başlangıçlı Alzheimer Hastalığı 65 yaşından önce başlar ve insidans aralığı tüm Alzheimer Hastalığı vakaları arasında %0-1 ila %6-7 aralığında değişmektedir (5, 6). Erken başlangıçlı Alzheimer Hastalığı dominant olarak kalıtılsa da tamamen penetrant değildir. Erken başlangıçlı Alzheimer Hastalığı vakalarının %13'ünden az bir kısmı tam penetrant otozomal dominant kalıtım özelliği göstermektedir (6).

Geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı ise 65 yaşından sonra başlayan ve sporadik olarak gelişen formdur. Geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı için önemli sayıda genetik risk faktörleri ve biyomarkerlar tanımlanmış olsa da hastalığa sebep olan genler henüz tam aydınlatılamamıştır. Ancak apolipoproteinler ve lipid homeostazisi, endositozla ilişkili genler gibi ortak fonksiyonları ve yolakları paylaşan genler de hastalığın bu formuyla ilişkilendirilmiştir (7).

Daha önceleri yapılan genetik, patolojik ve fonksiyonel çalışmalar beyinde üretilen ve yıkılamayan amiloid- β ($A\beta$) peptidlerinin akümülyasyona yol açarak agregasyona neden olduğunu ortaya koymuştur. Çözünebilir oligomer yapısındaki toksik $A\beta$ agregatları, intranöronal $A\beta$ ve amiloid plaklar sinapslara zarar vererek dejenerasyona ve nihayetinde demans gelişimine sebep olur (8).

Alzheimer Hastalığıyla ilişkin başlıca nöropatolojik lezyonlara örnek olarak senil plaklar ve nörofibriler yumrular gösterilir. Senil plaklar distrofik nöritlerce çevrelenen $A\beta$ amiloid'in ekstrasellüler çekirdeğinden oluşurlar. Nörofibriler yumrular ise seçilmiş beyin bölgelerindeki nöronlarda biriken çiftli sarmal filamentler adı verilen anormal filament demetlerinden oluşur. Bu çift sarmal filamentler, mikrotübül-ilişkili protein olan tau'nun hiperfosforile formlarından oluşur (9).

Tau, bir mikrotübül ilişkili protein olup direkt olarak mikrotübüle bağlanır ve mikrotübülün stabilitesinin regülasyonunu ve fonksiyonunu sağlar. Patolojik koşullar altında tau kendiliğinden filament yapılara yerleşerek nörofibriler yumrular oluşturur. Bu belirgin nörofibriler patoloji, toplu olarak "tauopatiler" olarak adlandırılır ve başta

Alzheimer Hastalığı ve diğer nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasında öncü rol üstlenir (9, 10).

PARP1 (Poly (ADP-Ribose) Polymerase 1) çeşitli nükleer proteinleri poli (ADP-ribozil) transferaz ile modifiye eden bir kromatin ile ilişkili enzim olan poli (ADP-ribozil) transferazı kodlayan ve insanda 1. kromozom (1q42.12) bölgesinde lokalize bir gendir. Bu gen tarafından kodlanan PARP1 ise, DNA hasarı ile aktive olabilen; DNA tamirinde, genomik stabilitede ve hücre apoptozisi gibi birçok fizyolojik süreçte rol alan nükleer bir enzimdir (11).

PARP1 bir DNA hasar sensörü olarak işlev görebilir. Hasar gören DNA'ya bağlandıktan sonra, PARP1, homodimerler oluşturarak nükleer alıcı proteine kovalent olarak bağlanır ve uzun dallandırıcı poli (ADP-riboz) polimerlerinin sentezlenmesi için NAD⁺'nin nikotinamid ve ADP-riboza bölünmesini katalize eder (11-13).

DNA POL β (DNA Polymerase Beta) geni insanda 8. kromozom (8p11.21) bölgesinde lokalize olan bir gen olup bu gen tarafından kodlanan protein, boşluk dolduran DNA sentezi olarak da adlandırılan baz ekzisyon ve onarımına katılan önemli bir DNA Polimeraz çeşididir. Kodlanmış protein normal olarak sitoplazmada bulunur ve bir monomer olarak işlev görür, ancak DNA hasarı karşısında nükleusa yer değiştirir (14).

Literatür taramalarında Alzheimer Hastalığı üzerinde *PARP1* ve *DNA POL β* genleri ile ilgili ekspresyon düzeyinde bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmada, Geç Başlangıçlı Alzheimer Hastalarında *PARP1* ve *DNA POL β* mRNA ekspresyonlarının araştırılması ile bu hastalık grubundaki iki genin ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması ve ekspresyon farklılıklarının belirlenerek hastalığın fizyopatolojisindeki olası rolünü tanımlamak; ve hastalığın tanı/prognozunun kontrolünde yeni yöntemler geliştirebileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. NÖRODEJENERATİF HASTALIKLAR BİYOLOJİSİ

2.1.1. Nörodejeneratif Hastalıkların Biyolojisine Genel Bakış

Nörodejeneratif hastalıklar geleneksel olarak, belirgin anatomik dağılımlar içinde nöronların ilerleyici bir şekilde kaybıyla karakterize olan hastalıklar olarak tanımlanmaktadır. Klinik fenotiplerine göre farklı tiplerde nörodejeneratif hastalık mevcuttur. Ve bu hastalıklarda protein işleme sürecinde meydana gelen değişikliklerin patojenik rolünü vurgulamak için bunlar konformasyonel hastalıklar olarak da ifade edilebilir (15).

Son 30 yılda birçok kalıtsal nörodejeneratif hastalıklardan sorumlu olan genler ve karakteristik inklüzyonların çoğu belirlenmiştir. Ancak yine de nöronal dejenerasyona neden olan moleküler mekanizmalar tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Benzersiz hücre özelliklerine göre nöronların savunmasızlığını açıklayan konformasyonel hastalık teorisi ve RNA hastalık teorisi gibi güncel yaklaşımlarla hastalığın moleküler patogenezi anlamak daha da mümkün hale gelmektedir (16).

Nörodejeneratif hastalıklar yaşla ilişkili ve oldukça kompleks mekanizmalara sahip, etkilenen bireylere ve yakınlarına muazzam bir yük getiren ve günümüzde artarak devam eden önemli bir sağlık sorunu olarak nitelendirilmektedir. Yaşam beklentisinin üst noktalara çıktığı endüstrileşmiş ülkelerde hastalığın insidansının artmasıyla bu bozuklukların ilerlemesini durdurmak ve/veya tersine çevirmek için yeni tedavilere olan ihtiyaç kaçınılmaz hale gelmektedir. Daha etkili tedavilerin geliştirilmesinin merkezinde son yirmi yıldır bu bozukluklarla ilişkili moleküler biyoloji ve hücre biyolojisi alanında kapsamlı araştırmalar yapılmış ve biyolojik belirteçlerin gelişimi ile mekanizmaya dayalı tedavilere başlanmıştır. Böylece hastalığın henüz erken evrelerinde olan hastaları

tedavi etmek ya da hastalığın prognozunu kontrol altına almak mümkün hale gelmiştir (17).

Bugüne kadar nörodejeneratif bozukluklarda payı olan çok sayıda moleküler ve hücresel olaylar ortaya konmuştur. Örneğin mitokondriyal disfonksiyon Parkinson Hastalığında belirgin olmasına rağmen, Alzheimer Hastalığı ve Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) ile de bağlantısı olduğu anlaşılmıştır. Yine proteinlerin yanlış katlanması da birçok bozuklukta gösterilmiş olsa da, yapılan son çalışmalarda nörodejeneratif hastalıklarda rol üstlenen yanlış katlanmış proteinlerin kendilerini nasıl çoğaltabildikleri gösterilmiştir (17).

Birçok hastalıkta olduğu gibi nörodejeneratif hastalıkların altında da ortak hücresel yolların rol oynadığı ve protein, mitokondriyal ve transkripsiyonel homeostazisin değiştiği bilinmektedir. Alzheimer Hastalığında sinapsların hasarı ya da kaybı anlamına gelen sinaptopatilerin gelişimi yaygın olarak kabul edilen sav arasındadır (17). Sinapslarda meydana gelen bu hasar nöronal döngünün değişmesine yol açar. Nöron-spesifik post-sinaptik bir protein olan Arc, hafıza konsolidasyonunun düzenlenmesindeki katkısı için son zamanlarda dikkatleri üzerine çekmiştir (18). Arc proteininin Alzheimer hastalarının ve oluşturulan hayvan modellerinin beyinlerinde sinaptik aktarımı nasıl değiştirdiği; ve bu hücresel yolağın terapötik gelişimde nasıl ilgi çektiği yönünde çalışmalar yapılmıştır (17, 18).

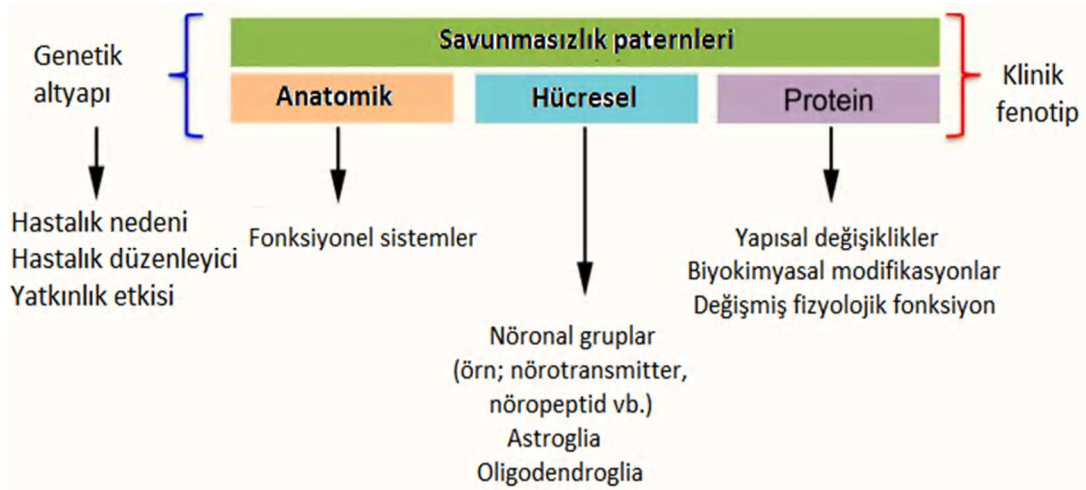
2.1.2. Nörodejeneratif Hastalıkların Sınıflandırılması

Nörodejeneratif hastalıkların sınıflandırılması aşağıdaki gibidir:

Majör Klinik Semptomlar: Bunlar nöronal işlev bozukluğu veya kaybı gösteren anatomik bölge tarafından belirlenir ve arka plandaki moleküler değişiklikleri mutlaka yansıtmazlar. Bu sınıf içine konformasyonel değişimler ve biyokimyasal modifikasyonlar gösteren proteinler de dahil olmaktadır.

Hücresel ve hücre altı patoloji: Bu, hücrelerin kompartmanlarından nöronların ve glial hücrelerde (astro-oligodendroglia dahil) ya da ekstraselüler alanda patolojik protein depolanması olup olmadığı anlamına gelir.

Buna göre bir nörodejeneratif sendrom ile ilişkili olarak anatomik, hücresel ve protein açığı tanımlanabilir. Bunun yanında genetik değişiklikler de bu değişikliklere yol açabilir veya bu hastalıkların gelişmesinde yatkınlığı etkileyebilir. Şekil 2.1’de nörodejeneratif hastalıklarda savunmasızlık paternleri gösterilmiştir (19).



Şekil 2.1. Nörodejeneratif hastalıklarda savunmasızlık paternlerinin özeti (19).

Geçen yüzyılda, farklı gümüş boyama tekniklerinin uygulanmasıyla, arjirofilik hücre içi ve hücre dışı (yani plaklar) yapıların birçok nörodejeneratif hastalık formuyla ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Böylece nörodejeneratif hastalıklarda değişen fizikokimyasal özelliklere sahip proteinlerin insan beyninde çökeldiği anlaşılmıştır (20).

Bütün bu tariflerden yola çıkarak fizyolojik bir proteinin yapısal konformasyonu değişir ve bu da değişmiş bir fonksiyona veya potansiyel olarak toksik intrasellüler veya ekstrasellüler akümülyasyona neden olur. Ayrıca protein kodlayan genlerdeki mutasyonlar da kalıtsal hastalık biçimiyle bağlantılıdır. Konformasyonel anlamda proteinlerin yanlış katlanmasıdaki temel etken endoplazmik retikulum (ER)'un homeostazının bozulmasıdır (21).

Kapsamlı deneysel ve nöropatolojik bulgular, nörodejeneratif hastalıkların, mitokondriyal disfonksiyon, stres tepkileri, sinaptik yeniden düzenlenmeler ve değişmiş protein ifadesi de dahil olmak üzere kompleks patojenik bir senaryonun ortak yollarını paylaştığını göstermektedir. Bununla ilgili güncel kavramlar ve sınıflandırma kriterleri Tablo 2.1’de özetlenmiştir (20).

Tablo 2.1. Nörodejeneratif hastalıkların sınıflandırmasındaki güncel kavramlar ve ölçütler (20).

Nörodejeneratif hastalıklar ile ilgili biyolojik ölçütler	Hedef etken
Nörodejeneratif hastalıkların protein bazında moleküler sınıflandırılması	Katlanmamış protein cevabı
	Ubiquitin – proteozom sistemi
	Otofaji – lizozom yolağı
Nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili protein modifikasyonları	Fosforile form
	Nitratlı form
	Oligomerler
	Proteaz dirençli formlar
	Protein yıkım ürünleri
Beynin anatomik bölgesindeki protein kümelerinin hiyerarşisi	Yanlış katlanan proteinlerin prion benzeri hücre-hücre yayılım teorisi
	Protein birikiminin evrelerinin tanımlanması
Nöronal kayıp ile ilişkili patojenik yollar	Apoptozis
	Hücre döngüsünde bozukluk
	Moleküler hatalar (lipid peroksidasyonu, DNA oksidasyonu gibi)
	Enerjik disregülasyon (oksidatif stres ve mitokondriyal kararsızlık gibi)
	Metabolik değişimler (kolesterol metabolizmasındaki değişiklikler gibi)
	İyon homeostazisinin bozulması
	Anti-inflamatuar sitokinler, mikroglial aktivasyon ve anti-apoptotik veya antioksidan süreçler gibi adaptasyon düzensizlikleri
Nöronal zayıflığın hastalığın erken evrelerindeki seçiciliği	Fokal atrofi tespiti
	Erken semptomatik tedavi için temel

2.1.2.1. Klinik ve anatomik sınıflandırma

Klinik semptomlar sistem tarafından belirlenir ve moleküler patolojik altyapıyı açık bir şekilde yansıtmaz. Birçok vakada hastalığın semptomları arasında üst üste çakışma ve yakınsaklık görülmektedir. Bu yüzden klinik sınıflandırma erken klinik semptomların değerlendirilmesinde çoğunlukla yardımcı bir parametredir. Nörodejeneratif hastalıkların önemli bulguları arasında bilişsel azalma, demans ve beyin fonksiyonlarında değişimler görülmektedir. Etkilenen en önemli anatomik bölgeler arasında hipokampus, entorhinal korteks, limbik sistem (amigdala, olfaktör korteks, anterior singulat korteks, subkortikal yapılar) ve nörokortikal bölgeler gösterilmektedir. Bazal ganglia, talamus, beyin sapı nükleusu, serebellar korteks ve nükleusu, motor kortikal bölgeler spinal kordun alt motor nöronlarında görülen değişiklikler de hareket bozukluklarıyla ilişkilidir. Klinik olarak bu durumlar hipokinetik veya akinetik rijid semptomlarla değerlendirilen Parkinson sendromu gibi hastalıklarla ilişkilidir. Hiperkinetik hareket bozuklukları arasında Kore Hastalığı, distoni, ballismus, athetozis ve tremor yer almaktadır. Ataksik hareket bozuklukları ise üst ve alt motor nöron semptomlarıyla ilişkilidir. Bütün bu semptomların kombinasyonu bazı hastalıkların klinik seyirlerinin erken aşamalarında ve birçok vakada progresyon esnasında görülebilmektedir (20).

2.1.2.2. Nöropatolojik sınıflandırma

Nöropatolojik sınıflandırma birtakım parametreler göz önünde bulundurarak yapılır. Öncelikle nöronal kaybın ve reaktif astrogliosis ile ilişkili olan anatomik dağılımlar değerlendirilir, daha sonra ise vasküler lezyonlarda ve prion hastalığında olduğu gibi spongiform değişimlerin histolojik bulguları değerlendirilir. Bu değişimler konvensiyonel boyama teknikleriyle görülebilmektedir (20).

Sinir sistemindeki protein birikintilerinin değerlendirilmesinde ise birtakım immünohistokimyasal analizler yapılarak bu birikmenin intrasellüler mi yoksa ekstrasellüler alanda mı olduğuna karar verilir. Bu anatomik bölgelerin değerlendirilmesi hastalığın erken klinik semptomlarını saptamada ve prognozunu belirlemede önemli bir rol üstlenmektedir (20).

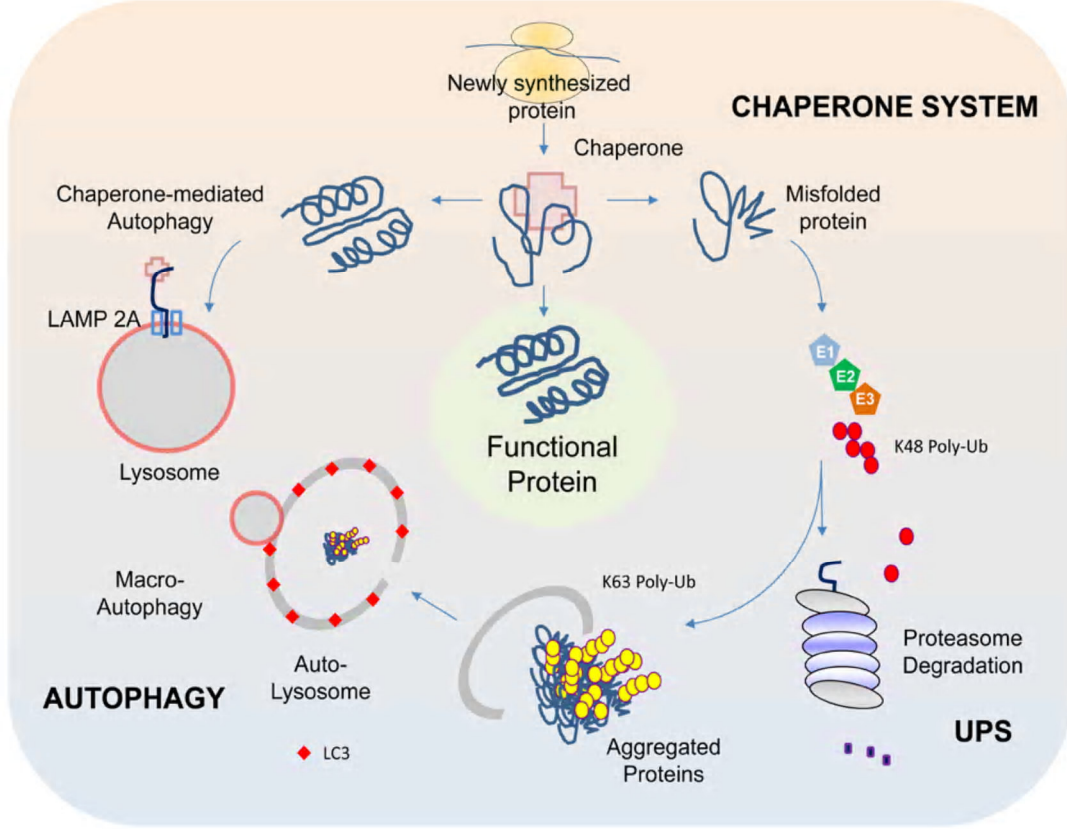
2.2. Ubiquitin – Proteozom Sistemleri ve Nörodejenerasyon ile İlişkisi

Ubiquitin–proteozom sistemi (UPS)’nin nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde merkez rol üstlenmesi gerçeğinden yola çıkarak, ubiquitin immünohistokimyasının diagnostik nöropatolojide ayrılmaz bir bütün olduğu görülmektedir. Ubiquitin, kısa ömürlü ve hasarlı proteinlerin degradasyonuna katılan küçük, stresle indüklenen bir proteindir ve nörodejeneratif hastalıkların farklı filamentöz inklüzyonlarında görülmektedir (20).

Buna ek olarak ubiquitin-bağlayan protein 62/sequestosome 1, 62 kDa ağırlığında sitozolik bir protein olup çeşitli inklüzyonların ortak bileşenidir. Inklüzyon oluşumu esnasında ubiquitinizasyon hücre içinde geç evrelerde görülür. Pre-agregatlar ve pre-inklüzyonlar olarak da bilinen erken evredeki protein birikintileri spesifik bozuk proteine karşı spesifik antikorlar kullanılarak tespit edilir (20, 22).

Şekil 2.2’de protein kalite kontrolünde rol üstlenen şaperon, ubiquitin-proteozom sistemi ve otofaji sistemlerinin intrasellüler protein homeostazisini sağlamada birbirleriyle koordineli olduğu şema verilmiştir. Bu sistem içerisinde Şaperonlar, ısı-şok proteinlerini içeren proteinler olup, proteinlerin doğru katlanmasını ve yeniden katlanmasını sağlayan ilk savunma hatları olarak rol alırlar. Proteinler yanlış katlandıkları zaman Şaperon proteinleri tarafından degradasyon için proteozom yollarına yönlendirilirler. Proteozom yollarına yönlendirilen proteinlere ise birtakım enzim kombinasyonlarıyla (Ubiquitin-Activating (E1), Ubiquitin-Conjugating (E2), Ubiquitin-Ligating (E3)) ubiquitin zinciri eklenir. Daha sonra poly-ubiquitinlenmiş substrat 26S proteozom kompleksi tarafından tanınır ve degradasyon sürecini başlatır. Bazı durumlarda proteinler K-63 bağlı poly-ubiquitinizasyon birimi tarafından modifiye edilebilirler ve agregasyonlarını inklüzyon cisimlerine dönüştürerek bir sonraki adım olan otofaji ile yıkımı teşvik edebilirler. Otofaji süreci, substratları yutan otofagozom adı verilen iki membranlı bir yapıya genişleyen bir fagofor ile substratların ayrıştırılmasını içerir. Otofagozom daha sonra asidik lizozomal hidrolazlarla iç membranının dağıldığı ve kargonun degrade olduğu otolizozomlarla kaynaşır. Otofajinin diğer bir formu ise katlanmamış substrat proteinlerin lizozomal membrana geçmesini sağlayan Şaperon-aracılı otofaji (Chaperone-mediated autophagy (CMA)) ile gerçekleşir. hsc70 ve integral lizozomal membran reseptörü olan

LACMP2A (lysosome-associated membrane protein type 2A) bu geçiş yardımcı olan proteinlerdir (23).



Şekil 2.2. Proteinlerin ubiquitinizasyon sürecindeki kalite kontrol sistemleri (23).

2.3. Nörodejeneratif hastalıkların sınıflandırılmasındaki proteinler

Birtakım proteinler nörodejeneratif hastalıkların sporadik ve genetik olarak ortaya çıkmasıyla ilişkilidir. Bunlar arasında başlıca aşağıdaki proteinler sıralanabilir:

Mikrotübül-ilişkili protein tau (MAPT), mikrotübüllerin bir araya gelmesinden ve stabilizasyonundan sorumludur. *Tau (MAPT)* geni 17q21.2 bölgesinde lokalizedir(20). Amiloid- β precursor protein ($A\beta$ PP)'den köken alan $A\beta$ ise 770 amino asit uzunluğunda bir proteindir. *A β PP* geni 21q21.3'ün sentromerik bölgesinde bulunmaktadır(20).

140 amino asit uzunluğunda bir protein olan α -Synuclein ise β ve γ formları da mevcut olan ve beyinde bol miktarda bulunan proteinler arasındadır. α -Synuclein proteinini kodlayan gen 4. kromozom üzerinde yer almaktadır(20).

253 amino asit uzunluğunda bir protein olan PrP, prion hastalıklarının veya bulaşıcı spongiform ensefalopatiler gibi hastalıklarda merkezi rol üstlenmektedir. PrP proteinini kodlayan *PRNP* geni 20. Kromozom üzerindedir (20).

414 amino asit uzunluğunda nükleer bir protein olan TDP-43, çevresel sinir sisteminde korunmuş bir şekilde ve yüksek oranda eksprese olmaktadır. TDP-43, *TARDBP* geni tarafından kodlanır ve 1p36.22 bölgesinde yer almaktadır (20).

Literatürde anormal protein inklüzyonlarıyla seyreden ve nörolojik trinükleotid tekrarları barındıran çok sayıda genetik nörodejeneratif hastalık mevcuttur. Bu hastalıkların temeli Huntington Hastalığı ve kalıtsal ataksiler gibi gelişimsel çocukluk hastalıklarından geç-başlangıçlı hastalıklara kadar genişleyen kararsız trinükleotid tekrarlarına dayanmaktadır. Nöroserpinopati gibi daha nadir görülen kalıtsal bozukluklar, çoğunlukla merkezi sinir sisteminde eksprese olan serin proteaz inhibitörleriyle ilişkilidir ve bunu kodlayan gen 3. Kromozomda yer almaktadır (20).

Özetle, nörodejeneratif hastalıkların gelişiminde rol üstlenen protein birikmeleri; taupatiler, α -synucleinopatiler, prion hastalıkları, trinükleotid tekrar bozuklukları ve TDP-43, FUS proteinopatileri olarak sınıflandırılır. En sık görülen nörodejeneratif hastalıklar arasında Alzheimer Hastalığı, bu gruplara dahil edilmez ancak, A β plakları ve intrasellüler alanda nörofibriler yumaklar şeklinde tau proteinlerinin birikmesiyle bir çeşit proteinopatilere dahil edilebilir. Buna ek olarak bu kategorilere tam anlamıyla dahil edilemeyen birkaç hastalık formu daha mevcut olmakla birlikte, hastalıkların kendi majör moleküler patolojilerine göre incelenmesi gerekmektedir (20).

Belirli hastalıklarla bağlantılı bir şekilde adı geçen bu proteinlere ilaveten, birçok proteinin daha inklüzyonlar ve protein çökeltileri şeklinde bulunacağı aşıkardır. Ancak bunlar anormal fibrillerin yapısal elementleri olmaktan ziyade bunlara bağlanan proteinler olarak göze çarpmaktadır (20).

2.4. Yaşlanma ve Yaşlılıkla İlgili Nörolojik Hastalıklar

Yaşlanma, oldukça karmaşık bir altyapısı olan biyolojik, psikolojik ve sosyal süreçler olup türe özgü bir olay olarak değerlendirilmektedir. Her türün ortalama ve maksimum

yaşam süreleri belli olmakla birlikte, yaşlanma, olgunlaşma sürecini tamamladıktan sonra canlının fizyolojik kapasitelerinin azalması ve giderek yıpranmasına bağlı olarak yaşam fonksiyonlarında meydana gelen aksamaları ifade etmektedir (24).

Yaşlılık sınırı genellikle 65 yaş olarak kabul edilse de günümüzde biyolojik yaştan kronolojik yaştan daha fazla önem kazandığı görülmektedir. Böylelikle kronolojik yaş tedavi ve sağ kalımın değerlendirilmesinde mutlak bir endikasyon niteliği olmaktan sıyrılmıştır (25).

2.4.1. Yaşlılık ve sinir sisteminde meydana gelen değişiklikler

Yaşlanma ile birlikte beyinde ateroskleroza olan yatkınlıklar artmaktadır. Ayrıca oksidatif hasar, vasküler endotel disfonksiyonuna, inflamatuvar yanıtla birlikte ise birtakım vasküler değişiklikler meydana gelir. Bu süreçte beyin kan akımında %20'ye varan oranda azalmalar meydana gelir ve bu da inme riskinde ciddi artışlara neden olur. Bunlara ek olarak beyin perfüzyonunda meydana gelen azalmalar bilişsel fonksiyonlarda düşüşe neden olabilmektedir (24).

Yaşlılıkla beraber beyindeki nöronlarda lipofuksin birikimi, gliosis ve nöronal dejenerasyon görülür. Tau, amiloid ve α -synuclein gibi çözilemeyen proteinlerin ekstrasellüler alanda birikmesiyle dentritlerde retraksiyon ve ekspansiyon, buna paralel olarak da sinaps kaybı ve reorganizasyonu ile glial hücre reaktivasyonu meydana gelir. Ayrıca 60'lı yaşlardan itibaren beyin hacminde azalmalar meydana gelmektedir (24).

Yaşlanma ile beraber görülen diğer fizyolojik değişimler arasında nörotransmitter sistemlerde değişiklikler ve nöroendokrin sistem üzerindeki değişiklikler sayılabilir. Nörotransmitter sistemlerdeki değişiklikler arasında monoaminerjik ve dopaminerjik transmiyonlarda düşüşler görülebilmektedir. Bu nedenle yaşlılarda depresyon ve ekstrapiramidal yan etkilerin görülme sıklığı artmaktadır. Nöroendokrin sistem üzerindeki değişiklikler arasında ise en belirgin olarak glukokortikoid düzeylerindeki artış göze çarpmaktadır. Bu artışın hipokampal nöron hasarına, iskemi ve ekzotoksositeye yatkınlık oluşturmalarının yanı sıra, inme ve Alzheimer Hastalığı sıklığında artışa yol açtığı da belirlenmiştir (24).

2.4.2. Yaşlanma ve nörolojik hastalıklar

Yaşlanma ile birlikte bazı nörolojik hastalıkların görülme sıklığında belirgin bir şekilde artış görülmektedir. Bu hastalıkların başında inme ve nörodejeneratif hastalıklar ilk sırada yer almaktadır. Alzheimer Hastalığı için yaş en önemli risk faktörü olup hastalığın prevalansı 65 yaşından sonra her 5 yılda bir katlanarak artmaktadır (24). Türkiye’de yapılan bir çalışmada 70 yaş üzerinde Alzheimer Hastalığı prevalansı %10 olarak bulunmuştur (26). Diğer nörodejeneratif hastalıklardan Parkinson Hastalığı için ortalama başlangıç yaşı 50-60 yaş aralığı olup prevalansın yaşla birlikte arttığı görülmektedir. Multi sistem atrofi (MSA), progresif supranükleer palsi (PSP), Lewy cisimcikli demans (LCD), frontotemporal demans (FTD), amiotrofik lateral skleroz (ALS) gibi diğer birçok nörodejeneratif hastalığın prevalansının yaşla birlikte arttığı gösterilmiştir (24, 26).

Yaşlı popülasyonda görülen bir diğer önemli sağlık sorunlarından birisi de inmedir. Yaşın önemli bir risk faktörü olduğu inmede, inme geçirenlerin %70’i 65 yaş üzerinde olup inme insidansı 55 yaşından sonra her 10 yıl içinde iki kat artmaktadır (24).

Epilepsi hastalığına bakıldığında ise, Epilepsi insidansının yüksek olduğu iki dönem görülmektedir. Bunlar; yaşamın ilk yılı ve 60 yaş sonrası olarak ele alınır. Yaşlılarda ayrıca görülen metastatik beyin tümörleri ve serebrovasküler olaylar ile dejeneratif beyin hastalıklarının daha sık görülüyor olması epilepsi insidansının artmasıyla ilişkilendirilmektedir. Myastenia Gravis (MG) daha çok genç hastalığı olarak bilinmekle birlikte, MG’nin kadınlarda en sık 20-30 yaş arası veya 50 yaş üzerinde olmak üzere bimodal, erkeklerde ise en sık olarak 50 yaş üzerinde başladığı rapor edilmiştir (24).

2.4.3. Demans

Etimolojik olarak demans kelimesi, Latince zihin anlamına gelen “mens” kelimesinin önüne -de olumsuzluk ekinin getirilmesiyle oluşturulmuş olup edinilmiş zihinsel fonksiyonların sonradan yitilmesi anlamında kullanılmaktadır. Günümüzde genel kabul gören kavramlar temelinde demans *“merkezi sinir sisteminin hasarlanması sonucu, bilinç bulanıklığı, deliriyum olmaksızın, birden fazla bilişsel alanın bozulmasıyla günlük yaşam aktivitelerinin etkilendiği ve eski düzeyde sürdürülemediği,*

doğal seyri açısından kalıcı ve sıklıkla da ilerleyici bir klinik tablo” olarak tanımlanmaktadır (24).

Demans etiyolojisinde birçok farklı neden tanımlanmış olsa da en sık görülen demans nedeni olan Alzheimer Hastalığı, tüm demansların üçte ikisinden fazlasını oluşturmaktadır. Yaşlanan nüfusla birlikte Alzheimer Hastalığının görülme sıklığı ve hastalığın yarattığı yük her geçen gün artmaktadır. Yeni tedavilerin de gelişmesiyle Alzheimer Hastalığının ve diğer demans alt tiplerinin erken bulgularının tanınması giderek önem kazanacaktır (24).

Pratikte demansı saptamak ve değerlendirebilmek oldukça zordur. Yapılan bir çalışmada demans tanısının hastaların %21’inde atlandığı, demans tanısı konan hastaların ise %20’sinin demanslı olmadığı gösterilmiştir (27). Demanslı hastaların çoğunun yakındığı şey genellikle unutkanlık değildir ve kişilerin kendi bildirdikleri unutkanlıktan yakınmaları genellikle demansla ilişkili değildir. Ancak yakınlarının kişinin bellek problemi yaşadığını bildirmesiyle demans tanısı ile korelasyonunun daha yüksek olduğu da gösterilmiştir (28). Bununla birlikte, hasta yakınları demans semptomlarını farketmekte gecikebilirler ve bu semptomları yaşlılığın normal bir sonucuymuş gibi algılayabilirler. Demanslı hastalar, genellikle birden fazla bilişsel alanda sorun yaşamakla birlikte yeni bilgileri öğrenmede, olaylar arasında sebep sonuç ilişkisi kurmakta, dil işlevlerinde ve spasyal becerilerde birtakım sorunlarla karşılaşabilmektedirler. Demansın ayrıca, deliriyum ve depresyondan da ayırt edilmesi önemli bir husustur. Deliriyum akut veya subakut bir şekilde başlarken, demans daha çok sinsi başlama eğilimindedir. Hatta zaman zaman demans ile depresyon karışabilmektedir. Depresyonlu hastalarda psikomotor yavaşlama gözlenebilir ve bu bireylerin bilişsel testlerde gösterdikleri çaba azalırken, demanslı hastalarda ise bireylerin testlerde başarılı olmak için çaba sarf ettikleri görülür, ancak bu testlerde başarılı olamazlar (24).

Demans hastalığında motor, otonom ve uyku bozukluklarına ilişkin belirti ve bulguların olması bazı demans sendromlarının tanı ve ayırıcı tanısında beraber değerlendirilen ölçütler arasındadır. Demans sendromlarının semptomolojisine dayalı bilişsel, davranışsal ve işlevsel bozukluklar Tablo 2.2’de açıklanmıştır (24).

Tablo 2.2. Demans sendromlarında kardinal ve sekonder alanların sorgulanması (24).

Bilişsel bozukluklar	Bellek	Yakın: Yakın geçmişe ait kişisel ve aktüel olaylar Uzak: İlkokul öğretmeni, okuduğu okullar, evlilik tarihleri, vb.
	Dikkat	Dalgalanma, konsantrasyon, çelinebilirlik
	Dil	Kelime bulma, anlama, okuma, yazma, hesaplama güçlükler
	Görsel-mekansal işlevler	Yabancı/tanıdık mekânlarda dolaşabilme, yazı karakterinde (ortografik) değişiklik
	Yürütücü işlevler	Problem çözme, yargılama, soyutlama bozuklukları
	Kişilik değişiklikleri	Apati, disinhibisyon, sosyal uygunsuzluk
Davranışsal bozukluklar	Algı bozuklukları	Görsel ve diğer halüsinasyonlar
	Düşünce bozuklukları	Hırsızlık, sadakatsizlik, Capgras ve diğer türden hezeyanlar
	Sokakta günlük yaşam aktiviteleri	İş yaşamı, yolculuk, mali işler, alışveriş, sosyal ilişkiler
İşlevsel bozukluklar	Evde günlük yaşam aktiviteleri	Hobiler, ev aygıtlarını kullanma, yemek pişirme, diğer ev işleri, küçük tamirat
	Kendine bakım	Yemek yeme, yıkanma, giyinme, makyaj, traş olma, tuvalet mekaniği, sfinkter kontrolü
Motor nöron bozukluklar		Yürüyüş bozukluğu, düşmeler, donmalar, dengesizlik, hareket yavaşlığı, güçsüzlük, erime, seyirme
Otonom bozukluklar		İnkontinans, empotans, ortostatizm, konstipasyon, terleme
Uyku bozuklukları		REM-davranış bozukluğu, aşırı gündüz uykusu, uyku apne sendromu

2.4.3.1. Demans tanısına yaklaşım ve nörolojik testlerin duyarlılığı

Demans tanısından şüphelenilen bir hastada ilk odaklanılması gereken şey hastadan ve hastanın yakın çevresinden alınacak detaylı öyküdür. Öncelikli olarak hastanın davranışlarında ve bilişsel fonksiyonlarında zaman içerisinde meydana gelen değişiklikler sorgulanmalıdır. Tam bir demans muayenesi için 30 dakikalık bir muayene süresinin yeterli olmamasıyla birlikte, hastanın nörolojik, fizik ve kognitif muayenesinin yapılması, biyokimya incelemelerinin ve görüntülemelerinin değerlendirilmesi de gerekenler arasındadır. Hatta bazı hastalar için ayrıntılı nöropsikolojik testler de gerekebilmektedir. Bunların yanında hastanın bilincini etkileyecek ilaç tedavisi (antikolonerjik, sedatif, hipnotik, antipsikotik, narkotik analjezik gibi) alıp almadığı da sorgulanması gerekenler arasındadır (24).

DSM-V tanı kriterlerine göre demans yerine “major nörokognitif bozukluk” terimi kullanılmıştır. Hastanın öyküsüne dayanarak yapılan klinik değerlendirmeler sonucunda, bilişsel alanlardan en az bir tanesinde belirgin bir biçimde etkilenme olmalıdır. Bunlar; öğrenme ve hafıza kaybı, dil ve kendini ifade edebilmede yaşanan zorluklar, yürütücü ve algısal-motor işlevlerde kayıplar olarak öne çıkabilmektedir. Değerlendirme esnasında bütün bu parametrelerdeki kayıpların, kişinin önceki işlevsel durumuna göre belirgin bir kayıp içermesi gerektiği unutulmamalıdır (24).

Daha önceleri yapılan bir meta-analizde Mini Mental Test (MMT) ve diğer demans tarama testleri değerlendirilmiş ve bu tarama testlerinin sensitivitesi %75-92, spesifisitesi ise %81-91 olarak bulunmuştur (29). Bu testler değerlendirilirken hastanın eğitim durumu ve normal bilinç düzeyi göz önünde bulundurulmalıdır. MMT maksimum skoru 30 puan olup 24 puan altı demans için anlamlı olarak kabul edilmektedir. MMT testlerinin değerlendirilmesinde eğitim önemli bir etkidir. Bir popülasyon çalışmasında ortalama MMT skorları 5-8 yıllık eğitim almış kişilerde 26 bulunurken, 4 yıl ve daha az eğitim almış kişilerde bu skor 22 olarak kaydedilmiştir (Şekil 2.3) (30).

Mini-Cog testi, saat çizme testi ve 3 kelime hatırlamanın beraber yapıldığı bir tarama testidir. Bu testin sensitivite ve spesifisitesi MMT ile benzer özellik taşımaktadır. Saat çizme testi ile MMT skorları arasında korelasyon bulunmuştur (31). Klinik demans

derecelendirme ölçeği (Clinical Dementia Rating-CDR) ise Alzheimer Hastalığının evrelendirilmesinde kullanılmaktadır. Bunların haricinde hayvan isimlendirme testi, Modifiye Boston Adlandırma testi, MMT, kelime listesi öğrenme testleri Alzheimer Hastalığı ve normal yaşlanma ile ilişkili bilişsel değişiklikleri ayırt etmede kullanılabilmektedir (24).

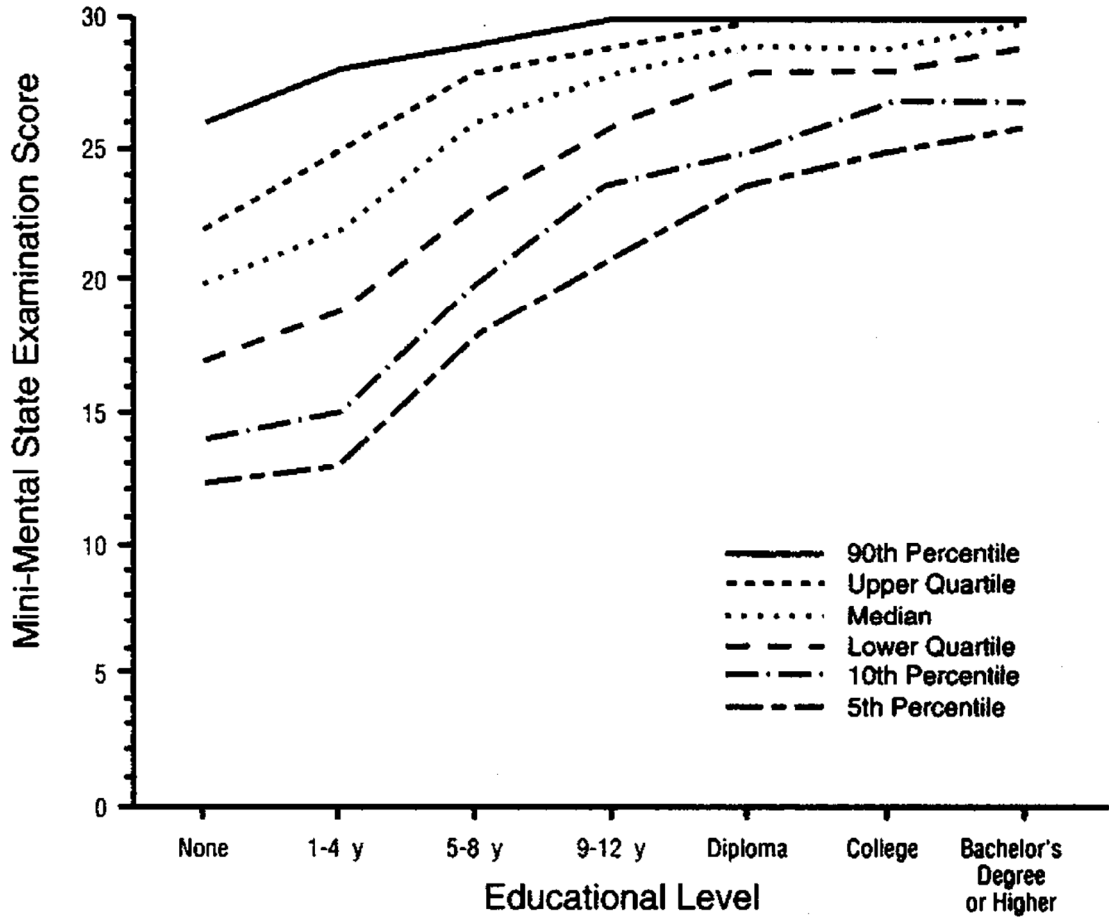
Amerikan Nöroloji Akademisi (AAN), demanslı hastalarda B12 eksikliği ve hipotirodizm taraması yapılmasını tavsiye etmektedir. Hızlı ilerleyen ve erken başlangıçlı demanslı hastalarda beyin omurilik sıvısı (BOS) incelemelerinin ve serolojik testlerin yapılması ile ayrıca nörogörüntüleme ve EEG incelemelerinin değerlendirilmesi tanıda yararlı olabilmektedir. Alzheimer Hastalığı için rutin genetik değerlendirme pek önerilmemektedir. Çünkü homozigot apolipoprotein E4 taşıyıcılarında bile Alzheimer Hastalığının gelişeceği kesin değildir. Bu yüzden yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçların sık olması nedeniyle çok sağlıklı sonuçlar alınması ne yazık ki mümkün değildir (32).

Demans tanısıyla gelen her hastaya bilgisayarlı tomografi (BT) veya manyetik rezonans görüntüleme (MRG) incelemelerinin yapılması tavsiye edilmektedir. Görüntüleme, erken başlangıçlı (<60 yaş) fokal nörolojik bulguların olduğu hızlı ilerleyen demanslarda özellikle önem arz etmektedir. Alzheimer Hastalığında hipokampal atrofi belirgin olmakla birlikte; hipokampal atrofının kognitif etkilenme ile birlikte seyrettiği de rapor edilmiştir (33).

Pozitron emisyon tomografi (PET) demanslı hastalarda son yıllarda hem günlük pratikte hem de araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Florodeoksiglukoz-PET (FDG-PET) ile farklı demans sendromlarının ayırıcı tanısı yapılabilmekte ve demans tanısı için destekleyici bulgular elde edilebilmektedir. Amiloid PET ile hafif bilişsel bozukluğu olan kişilerde Alzheimer Hastalığında progresyon açısından önemli bilgiler elde edilebilmektedir (33).

Demans tanısında son zamanlarda üzerinde durulan bir önemli nokta da BOS'ta tau ve fosfo-tau proteinlerinin düzeylerindeki artış ve β -amiloid42 düzeylerindeki düşmedir. Bunlar yüksek sensitivite ve spesifisite ile Alzheimer Hastalığının tanısında kabul gören

en ileri yöntemler arasındadır. Ayrıca bu belirteçlerin hafif bilişsel bozukluğu olan hastaların Alzheimer Hastalığına dönüşümünde önemli oldukları da son zamanlarda düşünülenler arasındadır (34).



Şekil 2.3. MMT testlerinin eğitim düzeyi ile olan korelasyonu (30).

2.5. ALZHEİMER HASTALIĞI

Alzheimer Hastalığı, bilişsel faaliyetlerin yıkıcı bir şekilde azalmasıyla karakterize ve dünya genelinde 24-35 milyon kişiyi etkilediği tahmin edilen ve yaşlı popülasyonda en sık görülen demans formudur. 2050 yılı itibarıyla hastalığın insidansının her 85 kişiden birinde görülecek şekilde artacağı öngörülmektedir (1).

Demansın klinik belirtileri ile birlikte beyinde nöropatolojik, dejeneratif değişikliklere yol açan bir hastalık olarak Alzheimer Hastalığı, ilk kez Alman bir psikiyatrist ve nöropatolog olan Alois Alzheimer tarafından 1907 yılında, 55 yaşın üzerinde, ilerleyen

demansa sahip bir vakada tanımlanmıştır. Bu vakanın beyin otopsisinde, şu anda tanı kriterleri olarak kullanılan ekstraselüler amiloid plaklar ve intranöronal nörofibriler yumaklar gözlemlenmiştir (35, 36).

Alzheimer Hastalığında beynin özel bölgelerinde sinir hücrelerinin kaybıyla birlikte A β yığınlarından oluşan nöritik plaklar ve tau'dan oluşan nörofibriler yumaklar görülür. Bu değişikliklerin varlığı hastalığın patolojik karakteristiklerini oluşturur ve kesin tanı ancak bu yolla konulabilir. Hastalığın klinik tanısı için gerekli olan kriterler ana hatlarıyla sinsi başlangıç, hafızada ve diğer bilişsel fonksiyonlarda ilerleyici bozulmaları içerirler (37).

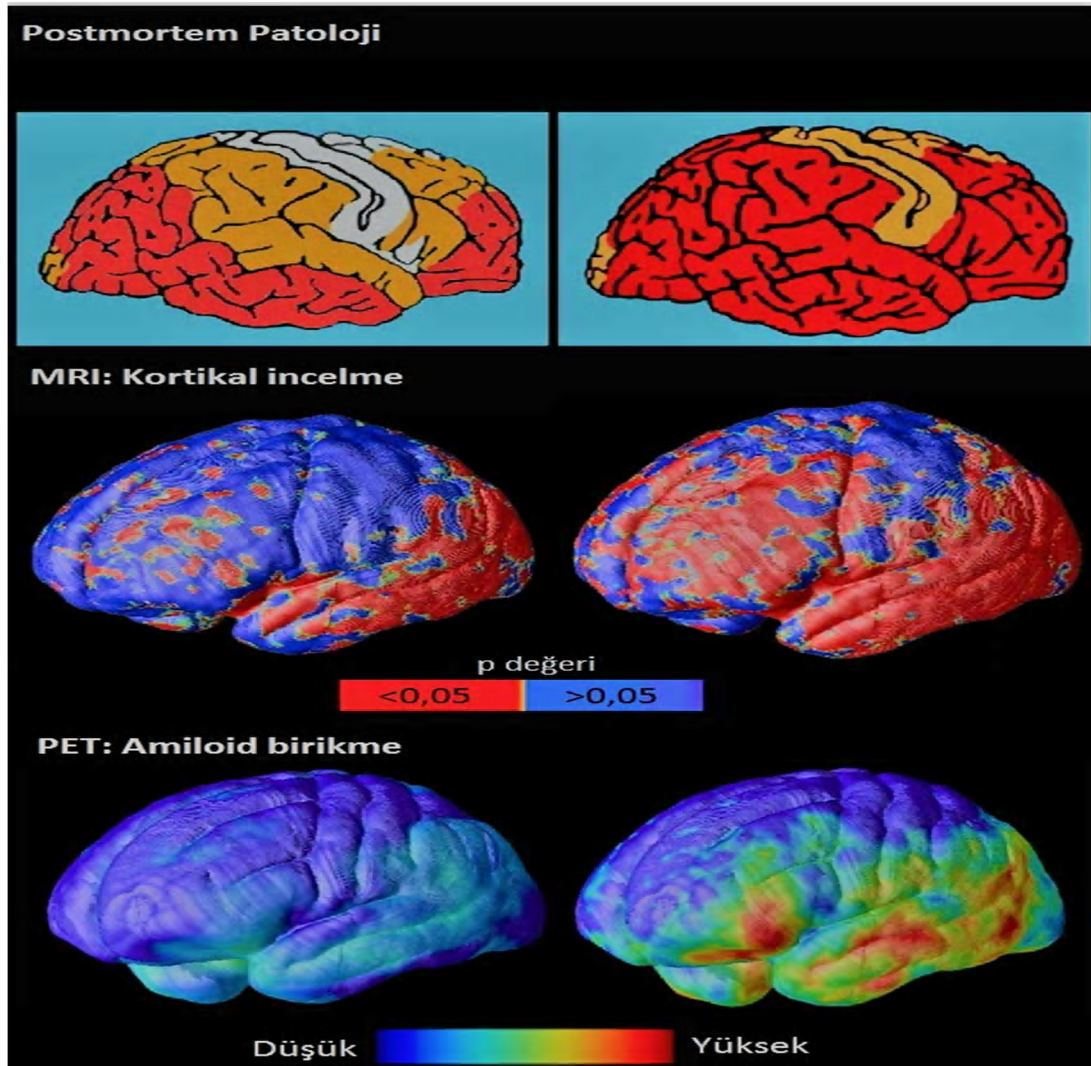
Alzheimer hastalığının prevalansını ve insidansını etkileyen en önemli risk faktörü yaş olmakla birlikte, 65 yaş öncesindeki durumda hastalık erken başlangıçlı Alzheimer Hastalığı (Early Onset AD (EOAD)) veya “presenilin” olarak adlandırılırken; 65 yaş ve üzerindeki durumunda ise geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı (Late Onset AD (LOAD)) veya “senilin” olarak adlandırılır (38, 39).

Erken başlangıçlı Alzheimer Hastalığı vakalarının çoğu tek gene bağlı otozomal dominant kalıtım paternine göre aktarılırken, geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı vakalarında birçok genin belirli oranlarla katıldığı, ayrıca çevresel faktörlerin de yer aldığı kompleks bir kalıtım paterni görülür (35, 39, 40).

2.5.1. Alzheimer Hastalığının Moleküler Patolojisi

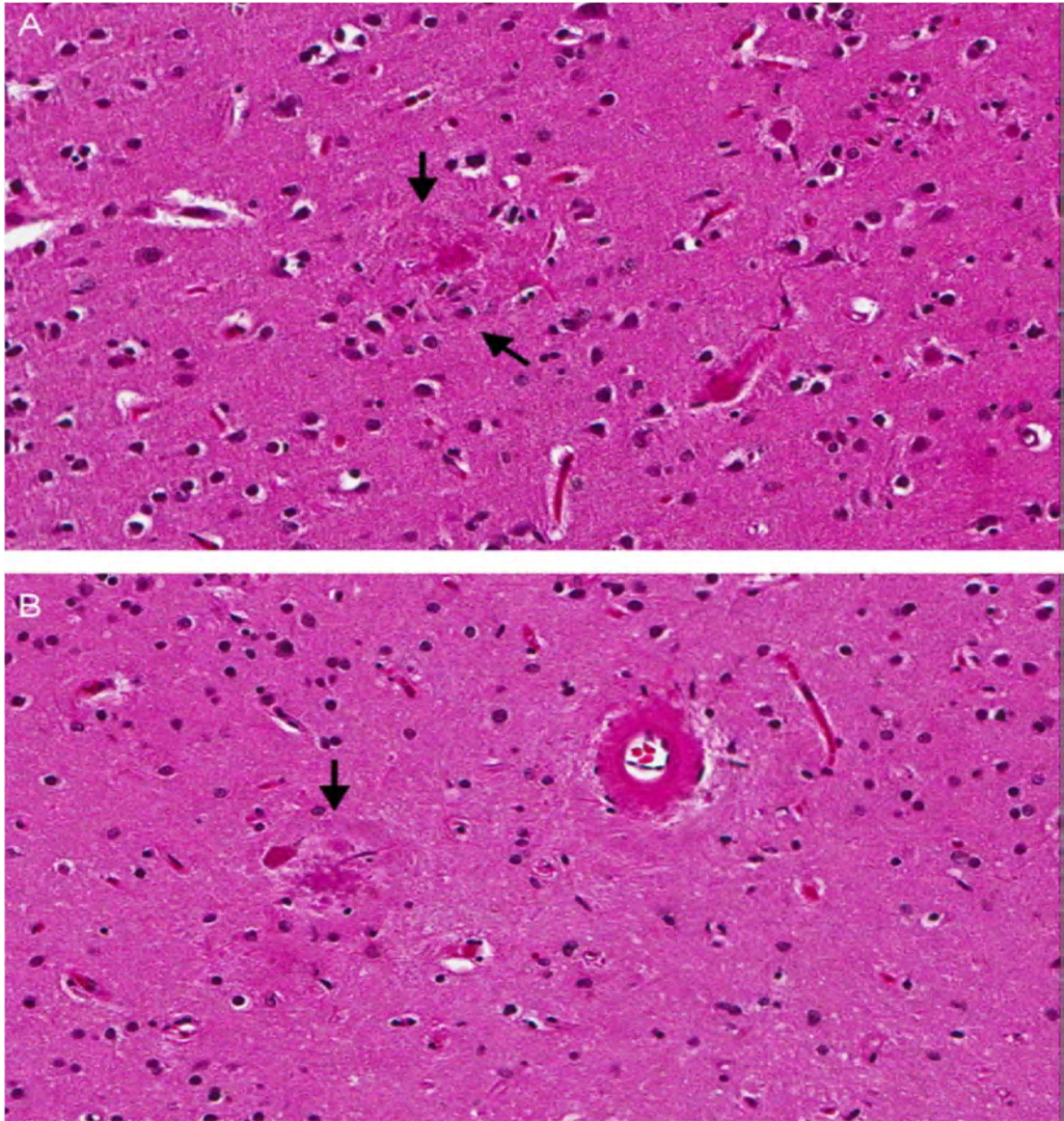
Alzheimer Hastalığı ile ilgili temel olarak iki patolojik bulgu tanımlanmıştır. Bunlar; senil (amiloid) plaklar ve nörofibriler yumaklar olmak üzere ikiye ayrılır. Öncelikle şunu belirtmek gerekir ki; kantitatif MRI (Magnetic Resonance Imaging-Magnetik Rezonans Görüntüleme) ile Alzheimer Hastalığı gibi zamanla ilerleyen nörodejeneratif hastalıklarda beynin hipokampus ve neokorteks bölgesindeki atrofiler görülebilmektedir. Dahası, amiloid proteinlerin lokalizasyonlarını belirlemede pozitron emisyon tomografisi çalışmaları yapılarak amiloid proteinler için ligandlar geliştirilmektedir. Nöropatolojik çalışmalarla A β ve tau gibi önemli proteinlerin birikimleri ile sinaps kayıpları yüksek spesifiteye sahip antikolar kullanılarak gösterilebilmektedir (15).

Şekil 2.4'te Alzheimer Hastalığının progresyonunun nöropatolojisine dayalı yapısal MRI görüntüsü ile amiloid ve tau-spesifik ligandlar kullanılarak yapılan PET görüntüleri verilmiştir. Nörofibriler yumaklar Alzheimer Hastalığının en önemli belirteçleri arasında yer almakta olup beyindeki yayılımı hastalığın karakteristiğini oluşturmaktadır. Post-mortem materyalin histolojik boyanmaları esas alınarak koyu kırmızı bölgeler yumak birikiminin en yoğun olduğu yerleri temsil etmektedir. MRI görüntüsünde hafif seyirli Alzheimer Hastalığında gri madde atrofi bölgelerinin temporal lobları içerdiği; orta seyirli Alzheimer Hastalığında ise frontal korteksin tamamına yayıldığı görülmektedir. Son olarak yapılan *in vivo* çalışmalarda serebral amiloid ve nörofibriler yumak birikiminin FDDNP PET ligandının kullanılarak kontrol bireylerinde düşük, bilişsel bozukluğu olan hastalarda da yüksek olduğu görülmüştür (15).



Şekil 2.4. Alzheimer Hastalığının ilerlemesindeki nöropatoloji (15).

Alzheimer Hastalığı olan bireylerin merkezi sinir sisteminde (temelde serebral korteks, aynı zamanda bazal gangliyon, talamus gibi derin santral gri yapılar) biriken mikroskopik lezyonlar, rutinde kullanılan (hematoksilen-eozin boyama; H&E) özel boyama ve immünohistokimyasal tekniklerin kullanılmasıyla kolaylıkla gösterilebilir. Şekil 2.5'te Hematoksilen-Eozin boyaması yapılmış bir beyin kesitine ait nörotik senil plaklar ve amiloid çekirdekler gösterilmiştir (15). Ayrıca Alzheimer Hastalığındaki lezyonların antijenik yapısı aydınlatıldığından, senil plakların ve nörofibriler yumakların bileşenlerine karşı monoklonal ya da poliklonal yüksek spesifisiteye sahip antikolar kullanılarak merkezi sinir sisteminde bu lezyonları göstermek ve miktarlarını tayin etmek de kolaylaşmıştır (15).



Şekil 2.5. Alzheimer Hastalıklı bir beyne ait Hematoksilen-Eozin boyalı bölüm (15).

Amiloid plaklar, Alzheimer Hastalığında görülen patolojik bulguların başında gelmekle birlikte, Amiloid Prekürsör Proteinin (APP) proteolitik yıkımı sonucunda oluşan ve Alzheimer Hastalığı ile ilişkilendirilmiş Amiloid β peptidleri tanımlanmıştır. APP transmembran proteini 3 proteolitik enzim tarafından metabolize edilir. Bunlar; α , β ve γ sekretaz adı verilen enzimlerdir. APP ilk etapta nörotoksik olmayan ve normal kesim şekli olan α -sekretaz veya nörotoksik olan ve anormal kesim şekli olan β -sekretaz enzimlerinden biri ile kesilir. α -sekretaz ile kesim sonucunda SAPP α fragmanı ekstrasellüler boşluğa salınırken, C83 fragmanı hücre membranında kalır. β -sekretaz ile gerçekleşen kesim sonucunda ise sAPP β ekstrasellüler boşluğa salınırken, C99 fragmanı hücre membranında kalır. İkinci etapta ise γ -sekretaz enzimi devreye girerek β -sekretaz ile kesim sonucu oluşan C99'dan A β ve AICD (APP intracellular domain-APP intrasellüler domain) fragmanlarını oluşturur. Şekil 2.6'da bu kesim paterni gösterilmiştir (41).

γ -sekretaz ile gerçekleşen kesim heterojendir. Bu süreçte A β 40 oluşumu, A β 42 oluşumuna göre daha sık görülmektedir. A β 42 fibriler forma dönüşmeye daha yatkın olup daha uzun ve hidrofobik özellikte bir peptiddir. Bu yüzden A β 42, amiloid plaklarda tespit edilen ve çökme eğilimi olan bir amiloid proteindir (39, 41).



Şekil 2.6. Amiloid prekürsör protein (APP)'in proteolitik yıkımı ve amiloid β oluşumu (41).

Alzheimer Hastalığında en sık görülen diğer bir patolojik bulgu ise nörofibriler yumaklardır. Mikrotübüllerin stabilizasyonundan sorumlu olan ve mikrotübüllerin temel bileşeni olan tau proteinleri, Alzheimer Hastalığı olan bireylerin beyinde hiperfosforile durumdadır. Bu hiperfosforillenme sonucunda mikrotübüler sistem parçalanarak tau açısından zengin nörofibriler yumaklara dönüşür. Bu nörofibriler yumakların, amiloid plaklara göre hastalığın şiddetinin arttığı dönemdeki daha fazla ön plana çıktığı görülmüştür (41).

2.5.2. Alzheimer Hastalığının Genetiği

Genetik faktörler kişinin Alzheimer Hastalığını geliştirme riskini belirlemede önemli bir rol oynamaktadır.

Alzheimer Hastalığı başlıca iki grup altında incelenir. Bunlar; Erken Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı ve Geç Başlangıçlı Alzheimer Hastalığıdır.

Günümüzde Alzheimer Hastalığının genetik etiyolojisinde yer aldığı düşünülen 4 lokus tanımlanmıştır. Ailesel otozomal dominant Alzheimer Hastalığı ile ilişkili olarak 21. kromozom üzerinde yer alan *APP* (amiloid prekürsör protein); 14. kromozom üzerindeki *Presenilin 1 (PS1)*; ve 1. kromozom üzerinde yer alan *Presenilin 2 (PS2)* genleri bilinirken; ileri yaşlarda görülen Alzheimer Hastalığından sorumlu bir risk faktörü olan ve 19. Kromozom üzerinde yer alan *APOE ε4* alleli tanımlanmıştır (39). Alzheimer ile ilişkisi bilinen genler ve özellikleri Tablo 2.3'te verilmiştir (41).

Tablo 2.3. Alzheimer Hastalığı ile ilişkisi bilinen genler ve özellikleri (41).

Gen Sembolü	Kromozomal Lokus	Protein	Kalıtım Tipi	Yaş	Kalıtılma Oranı
<i>APP</i>	21q21.2	Amiloid Beta A4	Otozomal dominant	40-60	≤ %5
<i>PSEN1</i>	14q24.3	Presenilin-1	Otozomal dominant	30-58	≥ %50-75
<i>PSEN2</i>	1q31-q42	Presenilin-2	Otozomal dominant	45-88	≤ %1
<i>APOE</i>	19q13.2	Apolipoprotein E	Risk Faktörü	40-90	Risk Faktörü

Birçok nörodejeneratif hastalıkta olduğu gibi, Alzheimer Hastalığında da ailesel geçiş, hastalığın altında yatan moleküler genetik ve biyokimyasal özelliklerin bilinmesinden yıllar önce belirgin bir şekilde fark edilmiştir (42). Nitekim, moleküler biyologların ilgisini çeşitli hastalıkların gelişiminde önemli olarak kabul edilen bazı proteinlere ve yollara yönlendiren ve daha önce bilinmeyen genlerdeki spesifik mutasyonların tanımlanmasıyla hastalıkların birçok farklı disiplinin bir araya gelerek değerlendirilmesi mümkün hale gelmiştir. Bu mutasyona uğramış proteinler arasında Alzheimer Hastalığına neden olan amiloid β proteini, Parkinson Hastalığına neden olan α -synuclein veya Parkinsonizm ile frontotemporal demanstan sorumlu olan mikrotübül-ilişkili bir protein olan tau'daki mutasyonlar gösterilebilir. Alzheimer Hastalığında ve başka ortak nörodejeneratif hastalıklarda gözlenen diğer bir bulgu ise hastalıkların ailesel (nadir, Mendelyen kalıtımı takip eden) ve ailesel olmayan (sık, Mendelyen olmayan kalıtımı takip eden) formlar olmak üzere iki farklı biçimde görülmesidir. Bunlar, sporadik vakaların çoğunlukla genetik faktörler tarafından etkilendiğini belirlemek için “sporadik” ve “idiyopatik” formlar olarak tanımlanırlar (15).

Alzheimer Hastalığı ile ilgili olarak ikiz çalışmaları da literatüre tanımlanmıştır. Ancak bu çalışmalarda gözlenen bireylerin geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığına sahip olması sebebiyle ve uzun süreli takip gerektirmesi bakımından çalışmanın gerçekleştirilmesi diğer tiplere göre daha zor olmuştur. Ancak bu çalışmalarda monozygotik ikizlerde %40-50 oranında konkordans bulunurken, dizigotik ikizlerde bu uyumun %10-50 civarında seyrettiği kaydedilmiştir (35).

Moleküler genetiğin gelişmesiyle Alzheimer Hastalığının otozomal dominant tipinden sorumlu olan genlerin araştırılması için genetik bağlantı çalışmalarına ağırlıklı olarak yer verilmeye başlanmıştır. Daha sonraları ise Down sendromlu bireylerde gözlenen nöropatolojik değişiklikler Alzheimer tipi demans olduğu bildirilmiş ve bu da dikkatlerin 21. kromozom üzerine odaklanmasını sağlamıştır (43).

2.5.2.1. Alzheimer Hastalığı için yeni genlerin araştırılması

Her ne kadar daha önceki çalışmalarla moleküler ve analitik tekniklerde büyük çapta ilerlemeler katedilmiş olsa da Alzheimer Hastalığı için gerçek risk faktörlerinin tanımlanması komplikedir. İlk olarak Alzheimer Hastalığının kesin tanısı için

nöropatolojik muayenenin yapılmasının yanı sıra birtakım tanı kriterleri daha önerilmiş ve revize edilmiştir. Alzheimer Hastalığı için otopsi, klinik kesinliği artıran bir kriter olup, otopsi olmaksızın yapılan tanımlar ancak “olası” bir Alzheimer Hastalığını gösterebilir. Bu yüzden böyle bir örneğin aslında ağırlıklı olarak Alzheimer Hastalığının birleşimi olmasının yanında Lewy-body demansı veya frontotemporal demans gibi diğer demans formlarının farklı tiplerini de yansıtmaları mümkündür (15).

İkinci ve ilgili bir sorun ise Alzheimer Hastalığının çoğunlukla 60-70 yaş gibi ileri yaşlarda ortaya çıkmasıdır. Bu da genetik analizler için önceden gerekli olan güvenilir aile öykülerinin değerlendirilmesini zorlaştıran bir husus olarak karşımıza çıkmaktadır. Çünkü bu durumda hastalığın ortaya çıktığı yaşta birlikte yaşamamış olabilir veya bireyler ilgili fenotipi maskeleyen başka bir durumla karşı karşıya olabilmektedir (15).

Üçüncü olarak ise Alzheimer Hastalığı yüksek derecede genetik ve fenotipik heterojenite sergiler. Yalnız aynı gendeki ya da alleldeki modifikasyonların aynı fenotipik etkiyle sonuçlanacağı anlamına gelmez. Aynı gendeki mutasyon ya da polimorfizmler klinik olarak farklı sendromlara da yol açabilir. Diğer yandan, genetik ve genetik olmayan risk faktörleri de hastalığın belirli coğrafyalarda ve birtakım etnik gruplarda hastalık geliştirme riskini artırmaktadır (15).

Bütün bu faktörlerin bir araya getirilmesi Alzheimer Hastalığı ile ilgili yatkınlık genlerinin ve çevresel risk faktörlerinin değerlendirilmesine olanak tanımıştır. Bugüne kadar bu genlerin ve risk faktörlerin önemini açıklayan önemli sayıda bilimsel çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu durum, masif paralel genotipleme tekniklerinin (günümüzde daha çok masif paralel sekanslama olarak geçmekte) gelişmesinden bu yana farklı derecelerdeki rezolüsyonlarda birçok genomun araştırılmasına imkân tanımıştır. Son zamanlarda 1 milyon genetik belirtecin simultane bir şekilde genotiplendiği, buna bağlı olarak hastalık riski ve diğer fenotipik çeşitliliklerle olan potansiyel korelasyonu ortaya koyan en popüler yaklaşım olan genom çaplı ilişkilendirme çalışmalarına (GWAS-Genome-wide association studies) sıklıkla yer verilmektedir. 2005 yılından beri genetik camiası GWAS ile birçok gen tanımlamış ve bunların üzerinde yoğunlaşmıştır. Tablo 2.4’te Alzheimer Hastalığına ilişkin genlerin GWAS verileri verilmiştir. Çalışmadaki başarı oranı çalışmadan çalışmaya fark ediyor

olsa da iyi replike olan lokuslar ortaya çıkarılmış ve gelecekte de yeni projelerle bu sayının artırılacağı düşünülmektedir (15)

Bütün başarılarla rağmen GWAS yaklaşımı genetik varyasyon veya polimorfizm tipleriyle, yani genel popülasyonda %1'in üzerinde bir frekansla görülenlerle sınırlı kalmaktadır. Bununla birlikte genel poligenik bozuklukların altında yatan genetik riskin önemli bir bölümünün genel popülasyonda %1'den daha az frekansta ortaya çıkan nadir dizi varyantları tarafından verileceği de muhtemeldir. Bu nadir varyantların *de novo* olarak tanımlanması, yeni yüksek verimli masif paralel sekanslama teknolojilerinin kullanılarak etkilenen hastalarda yeniden dizilenmesini gerektirir. Bu teknoloji sayesinde bilimsel tarihte ilk defa tüm genomların her bir baz-çifti rezolüsyonunda incelenmesine olanak tanınmış ve böylece yaygın veya nadir olarak görülen herhangi bir dizi değişikliğinin güvenilir bir şekilde saptanması sağlanmıştır. Bu yaklaşım 2009 ve 2010 yıllarında çığır açan bir keşif olarak nitelendirilmiş olup, 2020 yılına kadar insan genetiği araştırmalarının ana dayanağı haline gelmesi beklenmektedir. Mevcut olan bütün bu zorluk ve kısıtlamalara rağmen, genetik analizler Alzheimer Hastalığı ve diğer nörodejeneratif bozukluklarda nörodejenerasyon ve demansa katkıda bulunan çok çeşitli patolojik mekanizmaları anlamının temelini oluşturmuştur (15, 44, 45).

Tablo 2.4. Alzheimer Hastalığında yayınlanan genom-çaplı ilişkilendirme araştırmalarına genel bakış (15).

GWAS	Çalışma Dizaynı	Popülasyon	SNP Sayısı	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	Öne çıkan genler
Grupe (2007)	Olgu kontrol	ABD, Birleşik Krallık	17,343	380	396	<i>APOE*</i> , <i>ACAN</i> , <i>BCR</i> , <i>CTSS</i> , <i>EBF3</i> , <i>FAM63A**</i> , <i>GALP</i> , <i>GWA_14q32.13</i> , <i>GWA_7p15.2</i> , <i>LMNA</i> , <i>LOC651924</i> ,

Tablo 2.4. Alzheimer Hastalığında yayınlanan genom-çaplı ilişkilendirme araştırmalarına genel bakış (15).

GWAS	Çalışma Dizaynı	Popülasyon	SNP Sayısı	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	Öne çıkan genler
						<i>MYH13, PCK1, PGBD1, TNK1, TRAK2, UBD</i>
Coon (2007)	Olgu kontrol	ABD, Hollanda	502,627	446	290	<i>APOE*</i> , <i>GAB2</i>
Li (2008)	Olgu kontrol	Kanada, Birleşik Krallık	469,438	753	736	<i>APOE*</i> , <i>GOLM1</i> , <i>GWA_15q21.2</i> , <i>GWA_9p24.3</i>
Beecham (2009)	Olgu kontrol	ABD	532,000	492	496	<i>APOE*</i> , <i>FAM113B</i>
Carrasquillo (2009)	Olgu kontrol	ABD	313,504	844	1255	<i>APOE*</i> , <i>PCDH11X</i>
Lambert (2009)	Olgu kontrol	Avrupa	~540,000	2035	5328	<i>APOE*</i> , <i>CLU</i> (<i>APOJ</i>), <i>CR1</i>
Seshadri (2010)	Olgu kontrol	Avrupa, ABD	~2,540,000	3006	22,604	<i>APOE*</i> , <i>BIN1</i> , <i>CLU</i> (<i>APOJ</i>), <i>EXOC3L2</i> , <i>PICALM</i>
Naj (2010)	Olgu kontrol	ABD, Avrupa	483,399	931	1104	<i>APOE*</i> , <i>MTHFD1L</i>
Wijsman (2011)	Olgu kontrol	ABD	565,336	1848	1991	<i>APOE</i> , <i>CELF2</i>
Sherva (2011)	Olgu kontrol	İsrail	2,540,000	124	142	<i>AGPAT1</i> , <i>ATP6V0A4</i> , <i>GLOD4</i> , <i>RGS6</i> , <i>TMEM132C</i>

2.5.3. Erken Başlangıçlı Otozomal Dominant Ailesel Alzheimer Hastalığı

Alzheimer Hastalığı vakalarının yalnızca %5'lik kısmı erken başlangıçlı olarak nitelendirilebilir. Nadir görülüyor olmasına rağmen Alzheimer Hastalığının bu formuyla yapılan genetik çalışmalar ve geniş multijenerasyonel pedigrilerin değerlendirilmesiyle genetik bağlantı analizleri yapmak mümkün hale gelmiştir. Ortaya çıkış yaşının ileri olması ve ailedeki bireylerin hastalıktan geç farkına varmalarından dolayı geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığında bunları saptamak daha zordur. Masif paralel sekanslama teknolojilerinin gelişmesi ile tek bir deneyde tüm genomun dizilenmesi mümkün hale gelebilmiş, böylece hastalıktan sorumlu olan mutasyonlar rahatlıkla teşhis edilebilmektedir (46). Hastalıktan sorumlu olan Amiloid β proteini ($A\beta$)'nin β -sekretaz ve γ -sekretaz adlı iki endoproteinazın ardışık aktiviteleri sonucunda üretildiği bilinmektedir (15).

2.5.3.1. Erken Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı ile İlişkili Genler

2.5.3.1.1. APP (Amiloid Prekürsör Protein)

APP, 1984 yılında Glenner ve Wong tarafından Alzheimer Hastalığı ile ilişkili amiloid plaklardan ve serebrovasküler amiloidaz fibrillerinden izole edilmiş olan ve 4.2 kDa ağırlığında bir integral membran proteindir (35). 21. Kromozomun uzun kolu üzerinde (21q21) yer alan ve primer transkripti 18 ekzondan oluşan APP'nin tam fonksiyonu bilinmemekle birlikte nöronal göçte ve sinaptik formasyonda işlevi olduğu düşünülmektedir. Genin 21. kromozom üzerinde yer alması ve ekstra kromozom kopyasının APP ekspresyon düzeyinde artmaya yol açması bakımından, Down Sendromlu hastaların 40'lı yaşlara geldiği zaman beyinlerinde amiloid birikimler ($A\beta$) gibi nöropatolojik bulgulara rastlanmaktadır (43).

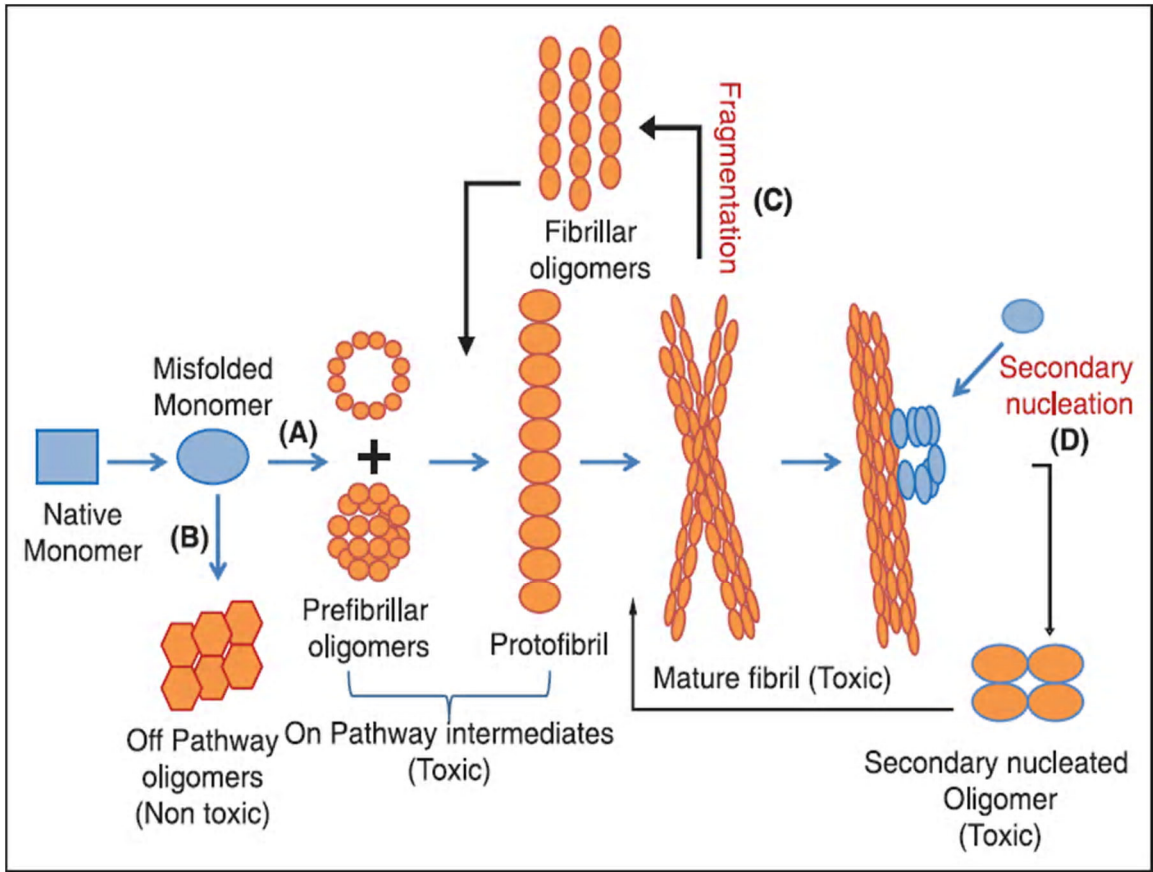
1987 yılında genin ilk defa klonlanmasıyla $A\beta$ peptidinin büyük bir prekürsör protein (β -amiloid prekürsör protein ya da APP) şeklinde sentezlendiği ortaya çıkarılmış; 1991 yılında ise Goate ve ark. Alzheimer Hastalığı olan ailelerde APP genindeki yanlış anlamlı bir mutasyonun segregasyona yol açtığını bildirmişlerdir (47).

APP proteininin alternatif kesimi sonucu, büyüklüğü 365-770 aminoasit arasında değişen en az 10 farklı izoformu oluşmaktadır. APP'nin β -sekretaz ve γ -sekretaz tarafından proteolitik yıkımı sonucunda oluşan β amiloid ($A\beta$), hastalığın patogenezi ile

ilişkili olmakla birlikte, hastalıkla ilişkili 40-42 aminoasit uzunluğunda amiloid beta ($A\beta$) peptitleri tanımlanmıştır. APP ile ilgili olarak ise 30'dan fazla mutasyon tanımlanmış olup bunlardan en az 25 patojenik olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca bunların büyük bir kısmı $A\beta$ domaininde ya da $A\beta$ domaininin yakınında yer alır (1).

APP mutasyonlarının çoğu γ -sekretaz bölgesindeki 714-717. amino asitler arasında meydana gelir. Bunun yanında yabancı-tip protein düzeyini artırarak Alzheimer Hastalığına neden olan iki ek APP varyantı daha tanımlanmıştır. İlk varyantta APP-içeren kromozomal segmentte duplikasyon varlığı ve bunun sonucu olarak serebral amiloid anjiyopati ile Alzheimer Hastalığına yol açtığı gösterilmiştir. İkinci varyant ise APP mRNA düzeylerini artırdığı düşünülen promotör mutasyonlarıdır. Her iki varyant da otozomal dominant kalıtım paterniyle uyuşmakta olup varyantların genel olarak nasıl dağıldığını tahmin edebilmek için ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (48, 49).

Erken başlangıçlı Alzheimer Hastalığına sahip hastaların %13-16'sının APP mutasyonuna sahip olduğu bulunmuş ve bu hastalarda APP sekans varyasyonundan dolayı önemli oranda fenotipik heterojenite gözlenmiştir. Mutasyonlar tipik bir şekilde $A\beta$ domaininden önce, $A\beta$ domaininde veya $A\beta$ domaininden sonra olacak şekilde 3 sınıf altında gruplandırılır. Meydana gelen mutasyona bağlı olarak $A\beta$ 42 seviyesinin, ya da hem $A\beta$ 40 hem de $A\beta$ 42 seviyelerinin artması görülebilirken; toplam $A\beta$ seviyesinin azalması da görülenler arasındadır. APP'nin en popüler varyant tipleri arasında İsveç, Artrik ve Londra mutasyonu olarak isimlendirilen varyantlar gösterilebilir. Bu varyantlar farklı APP domainlerinde yer alırlar ve çeşitli hücre içi yolların da aktive olması ile Erken Başlangıçlı Alzheimer Hastalığına sebep olurlar. Artrik mutasyonunun başlangıç yaşı ortalama 57'dir ve dominant olarak kalıtılır. Bu durumda $A\beta$ 40 ve $A\beta$ 42 toplam seviyeleri azalarak protofibril formasyonuna sebep olur. Protofibril yapısı hücre içi dengeyi ve sinaptik fonksiyonu bozarak sinir hücrelerinin ölümüne neden olmaktadır. Protofibril yapısının oluşum mekanizması Şekil 2.7'de verilmiştir (50). İsveç ve Londra mutasyonları ise Artrik mutasyonunun aksine $A\beta$ domaininin yakınında yer almaktadır. İsveç mutasyonunda $A\beta$ üretimini ve hücreler arası lokalizasyonunu değiştiren, $A\beta$ domaininden önce 2 mutasyon meydana gelirken; Londra mutasyonu ise, $A\beta$ domaininden sonra meydana gelerek $A\beta$ seviyesinde artışa yol açmaktadır (1, 41).



Şekil 2.7. Amiloid bozukluklarda protein agregasyonunun şematik gösterimi (50).

APP geninde hastalığa neden olduğu bilinen iki resesif mutasyon daha mevcuttur. Bunlar, kısmen azalmış A β 40 ve A β 42 düzeyleriyle bir Japon ailede tanımlanmış ve E693 Δ trinükleotid delesyonunu (Osaka mutasyonu) içermektedir. Bu mutasyonu barındıran hastalarda amiloid plak oluşumu gözlenmez ancak transfekte edilen hücrelerde ve transgenik farelerde yürütülen çalışmalarda yaygın intranöronal A β birikintilerine rastlanmıştır (51).

İzlanda'da yapılan bir başka çalışmada *APP* genindeki A673T mutasyonunun Alzheimer Hastalığına ve yaşa bağlı bilişsel azalmaya karşı koruyucu etkisi olduğu saptanmıştır. Bu mutasyon Alzheimer Hastası grubuna göre yaşlı kontrol grubunda daha anlamlı bulunmuştur. Bu yer değiştirme *APP* proteinindeki aspartil proteaz β -bölgesine bağlı olup, *in vitro*'da amiloidojenik peptid oluşumunda %40 azalmayla sonuçlanmıştır. Ve bu sonuç *APP*'deki β -yıkımının azalmasının hastalığa karşı koruyucu etkisi olduğunu savunan bir kanıt niteliğindedir (52).

2.5.3.1.2. *PSEN 1* (Presenilin 1)

İlk *APP* mutasyonunun tanımlanmasından 1 yıl sonra Alzheimer Hastalığı ile ilişkin ikinci bir bağlantı bölgesinin 14q24 üzerinde yer aldığı birbirinden bağımsız çalışan dört laboratuvarında yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (53, 54). Ancak hastalıktan sorumlu olan *PSEN 1* geninin klonlanması ve hastalığa yol açan ilk mutasyonların tanımlanması 3 yıl daha sürmüştür. Günümüzde *PSEN1*'in *APP*'nin A β oluşumunda γ -sekretaz işleme sürecinde ve intramembranöz yerleşimde temel rol oynadığı ve yüksek derecede korunmuş bir polipeptik membran proteini olan Presenilin 1 (PS1)'i kodladığı bilinmektedir. *PSEN1*, γ -sekretaz kompleksinin katalitik çekirdeğini oluşturmaktadır; γ -sekretaz ise hücre yüzeyinde bulunan bir integral membran proteini olup; golgi, endoplazmik retikulum ve mitokondride bulunmaktadır. 12 ekzondan oluşan ve 467 amino asitlik proteini kodlayan *PSEN1* geninin farklı izoformları mevcuttur (55). Presenilin 1'in şematik gösterimi Şekil 2.8'de verilmiştir (56).

Alzheimer Hastalığında gözlemlenen *PSEN1* geni ile ilgili en az 185 farklı mutasyon tanımlanmıştır. Otozomal dominant olarak kalıtılan Erken Başlangıçlı Alzheimer Hastalığına sebep olan *PSEN1* mutasyonları tek başına hastalık sebebi olarak kabul edilmez. Ancak erken başlangıçlı Alzheimer Hastalığı olgularının %18-50'sinde *PSEN1* mutasyonu bulunduğu rapor edilmiştir. Hastalığın ortaya çıkış yaşındaki farklılıklar hastalığın gelişimini ve hastalık şiddetini değiştiren ölçütler arasındadır. *PSEN1*'de görülen bazı varyasyonlar spesifik mutasyonlara karşılık gelmektedir (1, 41).

PSEN1 genindeki mutasyonlar çoğunlukla tam penetrans göstererek hastalığın 30 yaş gibi erken bir yaşta ortaya çıkmasına ve ağır bir şekilde seyretmesine neden olur. Ancak bazı durumlarda eksik penetrans varlığı da gösterilmiştir. Hastalığın klinik seyri başta ilerleyici demans ve parkinsonizm ile karakterize olmakla birlikte, *PSEN1* ilişkili dil bozukluğu, miyoklonus, yürüme disfonksiyonu ve refleks değişiklikleri de hastalardaki diğer fenotipik değişiklikler arasında yer almaktadır. Bazı hastalarda spastik paraparezi ve ataksi gibi atipik Alzheimer Hastalığı semptomları gelişirken, diğer olgularda ise epilepsi ve frontotemporal atrofi ile birlikte Geç Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı gelişmektedir (35, 57).

PSEN1 geninde görülen bir başka mutasyon tipi olan L166P mutasyonu alışılmadık bir şekilde adölesan döneminde ortaya çıkmaktadır. *In vitro* çalışmalar bu mutasyonun hem Notch sinyal yolağında bozulmaya yol açtığını hem de A β 42 üretiminin son derece yüksek düzeylerde olduğunu ortaya çıkarmıştır (58).

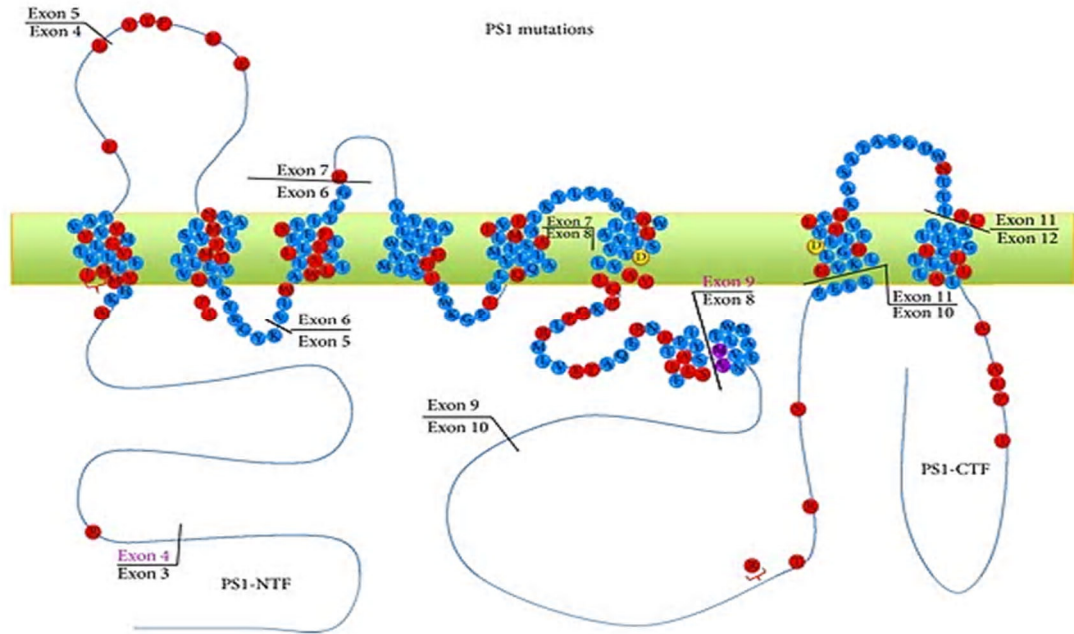
2.5.3.1.3. *PSEN2* (Presenilin 2)

PSEN1'in keşfinden kısa bir süre sonra 1995 yılında mevcut veritabanlarını arayarak presenilin ailesinden ikinci bir üye tespit edilmiştir. *PSEN1* ile yüksek oranda homoloji gösteren bu gen *PSEN2* olarak isimlendirilmiştir (59, 60).

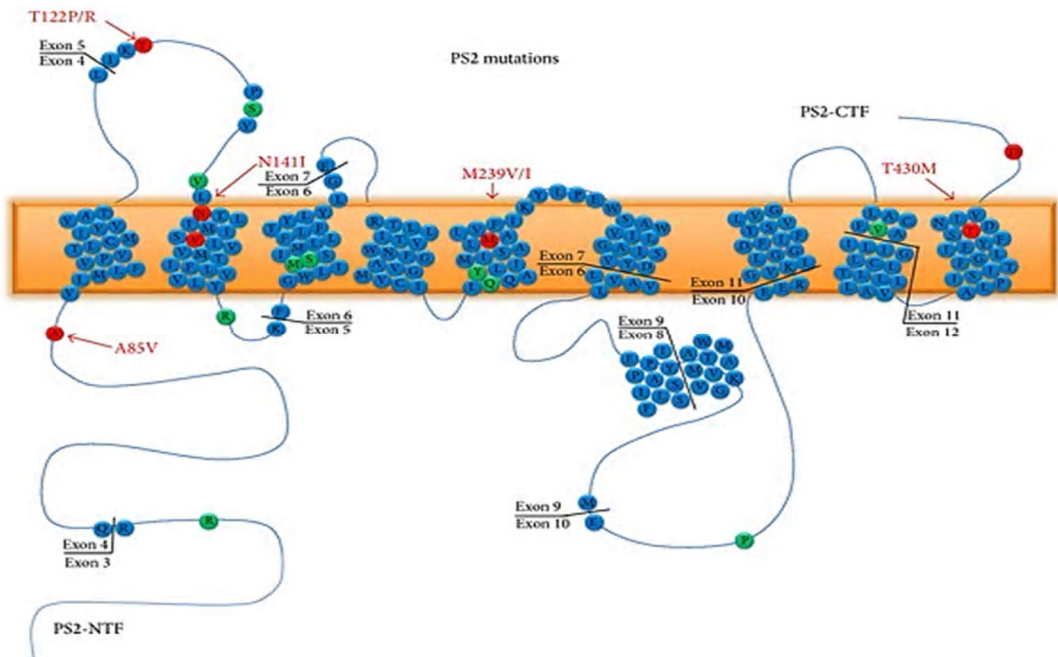
1 numaralı kromozomun uzun kolunda bulunan *PSEN2* lokusundaki yanlış anlamalı mutasyonların Erken Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı için nadir bir sebep olduğu ortaya çıkarılmıştır. *PSEN2* mutasyonuna sahip ailelerde hastalığın başladığı yaş aralığı 45-88 olarak bildirilmiş ve *PSEN1* mutasyonu taşıyan ailelerle kıyaslandığında hastalığın ortaya çıkış yaşının daha yüksek olduğu bulunmuştur (39). Ayrıca aynı ailedeki farklı bireyler arasında da *PSEN2* mutasyonu taşıyan bireylerde hastalığın başlangıç yaşının oldukça farklılık gösterdiği de görülmüştür. Ancak *PSEN1* mutasyonu taşıyan aynı ailedeki etkilenen bireylere bakıldığında, başlangıç yaşının birbirine yakın olduğu görülmüştür. *PSEN2* genindeki yanlış anlamalı mutasyonlar, *PSEN1* genine göre daha düşük penetransta olup meydana getirdiği klinik tablo da değişkenlik gösterebilmektedir (61, 62).

PSEN2, 12 ekzondan oluşur ve 448 aminoasitlik bir proteini kodlamaktadır. Proteinin 9 transmembran domaininden oluştuğu, 6. ve 7. domainler arasında loop yapısı bulunduğu ve doku spesifik alternatif splayzing ile meydana geldiği düşünülmektedir. Şekil 2.9'da Presenilin 2'nin şematik gösterimi verilmiştir (35, 39, 56).

PSEN2 γ -sekretaz denilen atipik bir aspartil proteazın komponentidir ve A β 'nin kesiminden sorumludur. İnsanlarda ve farelerde yapılan çalışmalarda, *PSEN2* mutasyonlarının A β 40 ve A β 42 oranlarını arttırdığı rapor edilmiş olup, APP'nin γ -sekretaz ile işlendiği bölgenin, spesifik presenilin mutasyonları tarafından farklı şekillerde etkilendiği bulunmuştur (63).



Şekil 2.8. Presenilin 1'in şematik gösterimi (56).



Şekil 2.9. Presenilin 2'nin şematik gösterimi (56).

Alzheimer Hastalarının beyinlerindeki A β oluşumunu artıran *PSEN2* ekspresyonunun mekanizması tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Yapılan bir çalışmada araştırmacılar, mutant Presenilin 2'nin hücre dışı sinyalleri düzenleyen kinazın reaktif oksijen türlerine bağımlı aktivasyonu yoluyla sekretaz aktivitesini arttırdığını bulmuşlardır (64).

Ailesel Alzheimer Hastalığının nedenleri olan *APP*, *PSEN1* ve *PSEN2* genlerindeki mutasyonların tanımlanması, transgenik modeller geliştirmek için gerekli genetik lezyonları sağlamıştır. Ancak yine de farklı organizmalarda Alzheimer Hastalığının modellenmesi için farklı stratejiler kullanılmalıdır. Hastalığa neden olan mutasyonlar keşfedildikten sonra, Alzheimer Hastalığının moleküler patogenezi üzerine çalışmalara izin veren transgenik fare modelleri geliştirilmiştir (65).

Geliştirilen buy hayvan modellerinin birçoğu nörotik plaklar, mikrogial aktivasyon, astrositoz, oksidatif hasar ve tau da dahil olmak üzere nöronal hücre iskeleti proteinlerinde değişiklikler geliştirir. Bu farelerde belirgin nöronal kayıp veya tipik nörofibriler yumrular gelişmez, ancak A β birikimi ilerledikçe ve bu A β plaklarını çevreleyen hipokampus ile neokortekste gelişen önemli fonksiyonel sinaptik anormalliklere sahip oldukları gösterilmiştir (66).

Özetle, Erken Başlangıçlı Alzheimer Hastalığına neden olan mutasyonlar üç farklı kromozom üzerinde bulunan üç farklı gende ortaya çıkmaktadır. Ve bunların hepsi A β 42 üretiminin artışına yol açan ortak bir biyokimyasal yolağı paylaşmaktadır. Sonuç olarak hastada nöronal hücre ölümü ve bunu takiben demans gelişmekte olup; ayrıca otopsi uygulanan Alzheimer Hastalarının beyinlerinde gözlenen ve uzun zamandır bilinen ailesel agregasyon ile A β üretimindeki artış arasındaki bağlantıyı sağlayarak Alzheimer Hastalığının amiloid kaskad hipotezi ortaya çıkarılmıştır (35).

2.5.4. Geç Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı

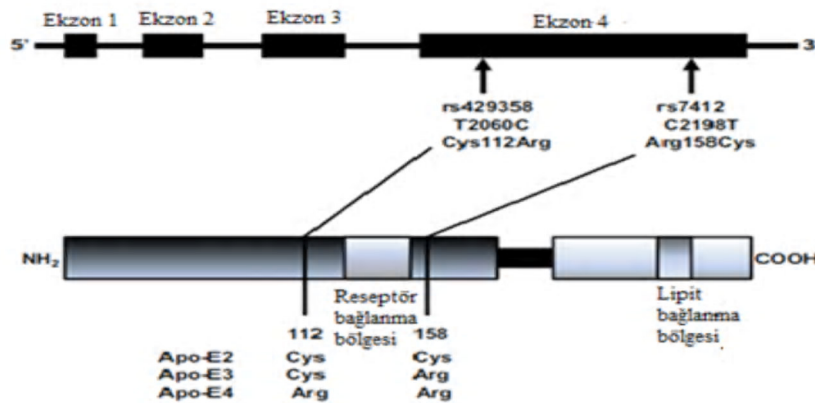
Geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığının genetiği erken başlangıçlı Alzheimer Hastalığına göre çok daha karmaşık olup, hastalığa neden olduğu düşünülen birçok genin ve bu genlerin birbirleriyle olan etkileşimi ile birlikte hastalığın etiyolojisi belirlenmektedir. Geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı ileri yaşlarda başlayıp (65 yaş ve

sonrası) olgularının çoğu ailesel geçiş göstermekten ziyade sporadik olarak gözlenmektedir (35).

Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda ortak olarak bulunan ve geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığında risk faktörü olarak tanımlanan en önemli gen Apolipoprotein E (*APOE*) geninin $\epsilon 4$ allelidir. 1993 yılında *APOE*'nin A β amiloid'e katılmada yüksek afiniteye sahip olduğu ve geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı olan bireylerde $\epsilon 4$ allelinin sıklığının yüksek olduğu bulunmuştur (67-69).

APOE, en çok karaciğerde ve beyinde olmak üzere birçok organda eksprese edilen 229 amino asitten oluşan bir lipoproteindir (70). Lipid metabolizmasını lipid aktarım ve lipoliz ile ilişkili *APOE* reseptörleri ve proteinleri vasıtasıyla bir doku veya hücre tipinden diğerine nakledip dağıtmak suretiyle lipoprotein komplekslerinde bulunan anahtar lipoproteinlerden biri olan *APOE*, esasen astrositler tarafından ve daha az ölçüde mikroglia ve belirli koşullar altındaki nöronlar tarafından üretilir (68).

19. kromozomun uzun kolu (19q13.32) üzerinde lokalize olan *APOE* geninin 299 amino asit kodlayan 4 ekzonu ve 3 intronu mevcuttur. Üç protein izoformu olan E2, E3 ve E4'ü kodlayan üç *APOE* alleli olan $\epsilon 1$, $\epsilon 2$ ve $\epsilon 3$ iki tek nükleotid polimorfizmi (T2060C ve C2198T) tarafından tanımlanır. En sık görülen *APOE* izoformu, amino asit pozisyonu 112 ve 158'de sırasıyla Sistein ve Arjinin içeren *APOE3*'tür. Buna karşılık olarak bu pozisyonlar *APOE2* yalnızca Sistein kalıntıları, *APOE4* ise sadece bir Arjinin kalıntısı içerir. *APOE* genindeki polimorfizmler ve oluşan alleller Şekil 2.10'da gösterilmiştir (41, 71).



Şekil 2.10. *APOE* genindeki polimorfizmler ve oluşan alleller (41).

APOE ε3 alleli tüm popülasyonun %50-90'ında bulunurken, buna karşılık *APOE* ε3/ε4 alleli popülasyonun %3,35'inde, *APOE* ε2 alleli ise %1-5'inde bulunur. Geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı için *APOE* ε4 allelinin bir risk faktörü olduğu yapılan çalışmalarla doğrulanmış, ayrıca farklı popülasyonlarda ailesel otozomal dominant Alzheimer Hastalığı ile de bağlantılı olduğu kanıtlanmıştır. Yine *APOE* ε4 alleli geç başlangıçlı Alzheimer hastalarının yaklaşık %50'sinde, kontrol grubunun ise %20-25'inde bulunmuştur. Geç Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı riskinin *APOE* ε4 allelinden 1 kopya bulunması halinde 3 kat, 2 kopya bulunması halinde ise 12 kat arttığı yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır. Aynı zamanda *APOE* ε4 allelini taşıyan kişilerin, bu alleli bulundurmayanlara göre yaklaşık 10-20 yıl önce bu hastalığa yakalandıkları da görülmüştür (35).

Diğer yandan Kolombiya popülasyonunda yapılan bir çalışmaya göre, *APOE* ε4 allelini taşıyan ailelerde aynı anda *APP* ve *PSEN1* geni mutasyonlarının da olması halinde, demansın daha erken yaşlarda başladığı tespit edilmiştir. *APOE* ε2 alleli taşıyan bireylerde, *APOE* ε4 allelinin tam tersine geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı *APOE* ε2 allelini taşıyan bireylerde Geç Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı geliştirme riskinin azaldığı bildirilmiştir (72).

Ayrıca *APOE* ε4 allelinin frekansı farklı etnik gruplar arasında farklılık göstermektedir. *APOE* ε4, Alzheimer Hastalığının ortaya çıkmasında tek başına yeterli bir etken olmadığı için hastalığın teşhis edilmesinde *APOE* polimorfizmleri tanı kriteri olarak kullanılmamaktadır (35).

Yapılan bir başka araştırmada, bilişsel olarak normal bireylerin 50'li yaşların başından itibaren yaşla ilişkili hafıza azalışının, taşıyıcı olmayanlara kıyasla *APOE* ε4 alleli taşıyıcılarında daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu durum da Alzheimer Hastalığındaki patolojik değişikliklerin etkilerinin yaşamın altıncı dekadına kadar ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir (73).

APOE ε4 allelinin yaygınlığı ile ilgili olarak 1 Ocak 1985 – 31 Mayıs 2010 tarihleri arasında yapılmış yayınların sistematik incelemesi yapılmış ve bir meta-analiz sonucu elde edilmiştir. Bunun sonucunda ε4/ε4 prevalansının en yüksek görüldüğü yer olarak

Kuzey Avrupa; en düşük görüldüğü yer olarak ise Asya ve Güney Avrupa olduğu görülmüştür. Bu prevalansların heterojenitesi de göz önünde bulundurulmuştur. Bir başka olgu-kontrol çalışmasında da *APOE* $\epsilon 4$ allelinin, geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı için Meksika popülasyonunda da risk faktörü olduğu onaylanmıştır (74).

2.5.4.1. *APOE* İzoformlarının Etkisi ve Mekanizması

APOE izoformlarının Alzheimer Hastalığı riskini nasıl etkilediğinin mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak *APOE* izoformlarının amiloid- β metabolizmasını ve birikimini farklı şekilde modüle ettiğine dair güçlü kanıtlar mevcuttur. *In vitro*'da ve deney hayvanlarında yapılan *in vivo* çalışmalarda, *APOE*'nin amiloid β 'nin monomerik, toksik olmayan oligomerler ve fibriller gibi yüksek molekül ağırlıklı formlara nasıl ve ne zaman dönüştüğünü belirlemede önemli bir role sahip olduğu ortaya konmuştur. Ancak yine de bunun bazı formlarının toksik etkilere aracılık ettiği düşünülmektedir (75, 76).

Çalışmalarda *APOE* $\epsilon 4$ için homozigot olan Alzheimer hastalarında senil ve nöritik plaklarda *APOE* $\epsilon 3$ için homozigot olanlara kıyasla artış olduğunu bildirilmiştir. *APOE* $\epsilon 4/\epsilon 3$ genotipindeki hastalarda allel taşımayan *APOE* $\epsilon 4$ genotipindeki hastalara göre daha fazla plak görüldüğü de not edilmiştir (77).

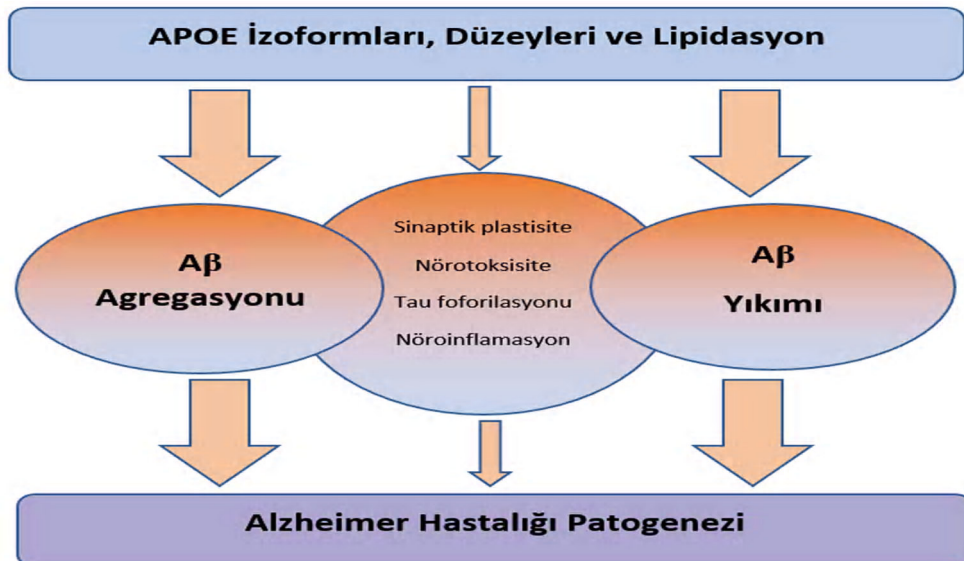
APOE'nin Alzheimer Hastalığının ilerlemesinde mekanik bir rol oynayıp oynamayacağını anlamak gelecekte ele alınması gereken önemli bir sorundur ve bu da Alzheimer Hastalığındaki patofizyolojik rolü hakkında daha fazla bilgi sağlayacaktır. Buna ek olarak, $\epsilon 4$ allel durumuna dayanan hastalık ilerlemesinin daha doğru bir tahmini, daha iyi klinik denemelerin tasarımı ile sağlanabilir. Eğer $\epsilon 4$ alleli, tedaviye olan yanıtı ve tedavinin ilerlemesini farklı şekilde etkiliyorsa, *APOE* genotipine göre bilişsel düşüş hızını ayrı ayrı analiz etmek ve konu gruplarını alt bölümlere ayırmak bu değerlendirme için kritik bir rol üstlenecektir (67).

Her ne kadar Alzheimer Hastalığı geliştirme riski üzerinde *APOE*'nin izoform spesifik etkileri var olsa da son kanıtlar *APOE*'nin $A\beta$ ile fiziksel etkileşiminin hastalık patogenezinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. *APOE* ile beyindeki $A\beta$ arasındaki güçlü ilişkiyi baz alarak, *APOE*'nin $A\beta$ 'nin patolojik β -kıvrımlı

konformasyonuna olan değişimini indüklemeye görev üstlendiği hipotezi ortaya atılmıştır (76).

Amiloid plaklar ile *APOE* izoformları arasındaki ilişkiyi araştıran ilk histopatolojik çalışmalar plak yoğunluğu ve *APOE* $\epsilon 4$ allel dozu arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur (78). Ancak daha sonraki birkaç çalışma bu konuda çelişkili bulgular çıkarmış olsa da başka çalışmalar *APOE* alleli dozajının Alzheimer Hastalığında artmış nörotik plaklar ile ilişkili olduğunu şiddetle önermektedir. Burada önemli olarak eğer *APOE4*'ün genel etkisi, A β birikiminin amiloid plaklara dönmesini hızlandırmak ise, *APOE4*'ün, bilişsel açıdan normal olan ancak ileride hastalık geliştirme riski olan kişilerde geç orta yaş döneminde beyin amiloid birikimi üzerinde en büyük etkisini görmek beklenebilir (67).

APOE izoformlarının Alzheimer Hastalığı patogenezi üzerindeki farklı etkilerini anlamak için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Kanıtlar, *APOE* izoformlarının hastalık geliştirme riski üzerindeki majör etkisinin, A β agregasyon ve yıkım üzerindeki etkisi yoluyla A β depolanmasının başlangıcını etkilediğini düşündürmektedir. Sinaptik fonksiyon, nörotoksisite, tau hiperfosforilasyonu ve nöroinflamasyon gibi *APOE* izoform etkileri de dahil olmak üzere diğer mekanizmalar da hastalık sürecine katkıda bulunabilir (Şekil 2.11). *APOE* genotipinden bağımsız olarak, *APOE* düzeyleri ve lipidasyon durumundaki farklılıklar, hastalık patogenezinde rol alan süreçlere aracılık edebilir (67).

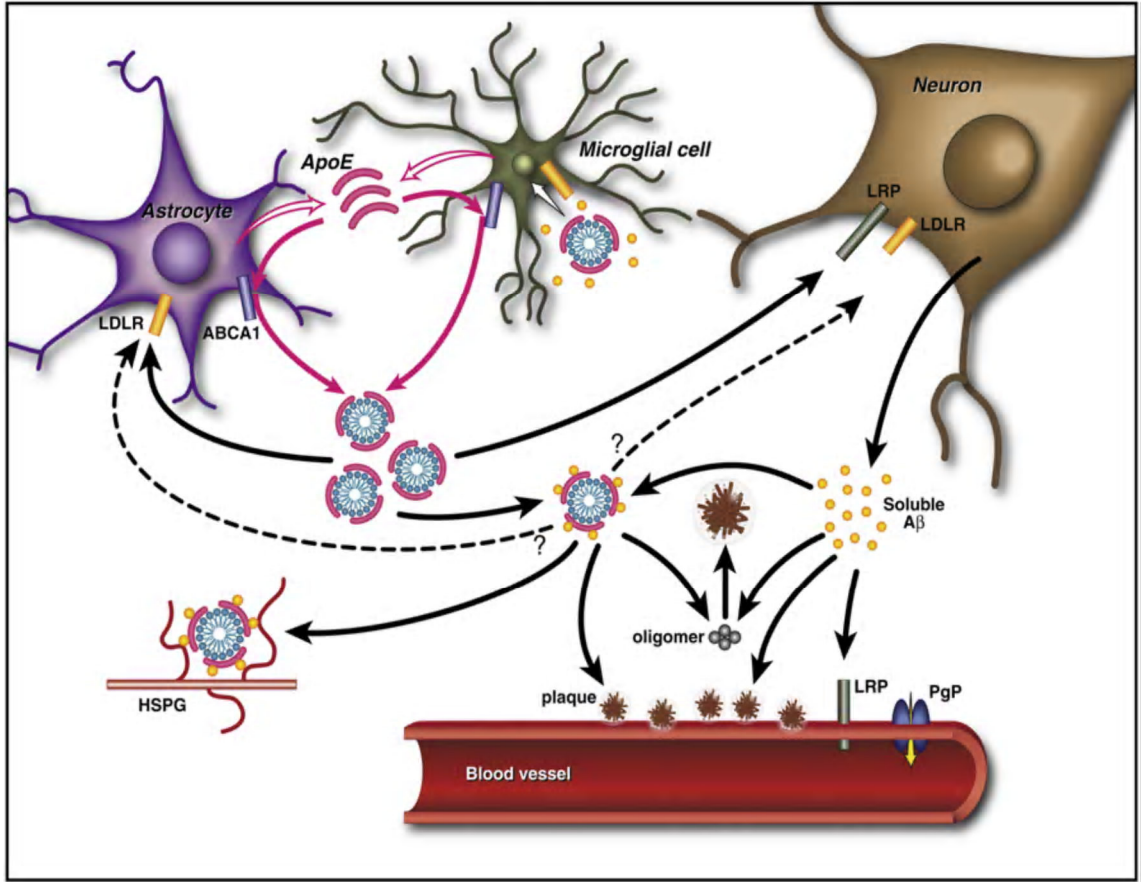


Şekil 2.11. Alzheimer Hastalığında *APOE*'nin patojenik mekanizması (67).

2.5.4.2. *APOE*'nin A β Yıkımı Üzerine Olan Etkisi

Fibrilogenез üzerindeki etkilere ek olarak, *APOE*'nin beyindeki A β 'nin taşınmasını ve metabolizmasını değiştirdiğine dair kanıtlar vardır. *APOE* izoformlarının APP işleme ve A β üretimine olan etkileri, hücre kültürü sistemlerinde araştırılmıştır. A β üretimindeki etkisine bakılmaksızın, *APOE* A β 'nin çeşitli mekanizmalar yoluyla temizlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. *APOE* içeren lipoprotein parçacıkları, A β 'yı sınımsız tutabilir ve bir APOE-A β kompleksinin reseptör aracılı endositoz ile hücre alımı modüle edebilir. Alternatif olarak, *APOE*, kan-beyin bariyeri üzerinden taşınmayı sağlayarak beyinden sistemik dolaşıma olan A β yıkımını modüle edebilir. Bununla ilgili yapılan çeşitli *in vitro* çalışmalar, insan *APOE*'sinin, çeşitli nöronal hücreler tarafından çözünür A β 'nin bağlanmasını kolaylaştırdığını göstermiştir (67).

APOE hem astrositler hem de mikroglia tarafından üretilerek lipoprotein parçacıkları oluşturmak için ABCA1 ile lipidlenmektedir. Ekstrasellüler boşlukta lipidlenen APOE, çözünür A β 'nin izoform-bağımlı paternlerine (E1, E2, E3) bağlanır ve parankimal plak oluşumu mekanizması ile A β 'nin merkezi sinir sistemi üzerinde taşınması üzerine etki eder. APOE daha sonra, LDL reseptör ailesinin farklı üyeleri olan LDLR (low-density lipoprotein receptor) ve LRP1(LDL-Related Protein 1) tarafından beyindeki çeşitli hücre tiplerine endositozla alınır. APOE ayrıca A β 'ya bağlanmış bir APOE içeren lipoprotein partikülleri kompleksinin endositozu yoluyla, A β 'nin hücre alımını izoformlara ve lipidasyon seviyesine bağlı olacak şekilde kolaylaştırabilir. Ayrıca, APOE'nin hem mikroglial hücrelerdeki A β 'nin degradasyonunu hem de astrositlerin diffüz A β birikimlerini temizleme kabiliyetini doğrudan arttırdığı da gösterilmiştir. APOE içeren lipoprotein partikülleri ile bağlantılı A β , ekstrasellüler boşlukta bulunan heparin sülfat proteoglikan (HSPG) parçalarına bağlanarak MSS içinde tutulabilir. Kan-Beyin Bariyeri (KBB)'nde çözünür A β çoğunlukla interstisyel sıvıdan LRP1 ve P-glikoprotein aracılığıyla kan dolaşımına taşınır. Ayrıca, APOE4'ün, APOE3'e kıyasla vasküler plakların miktarını arttırdığı ve oluşturulan bir APP-transgenik fare modelinde Serebral Amiloid Anjiyopati (SAA) patogenezini etkilediği gösterilmiştir. Şekil 2.12'de APOE'nin A β metabolizması üzerine olan etkisi gösterilmiştir (67).



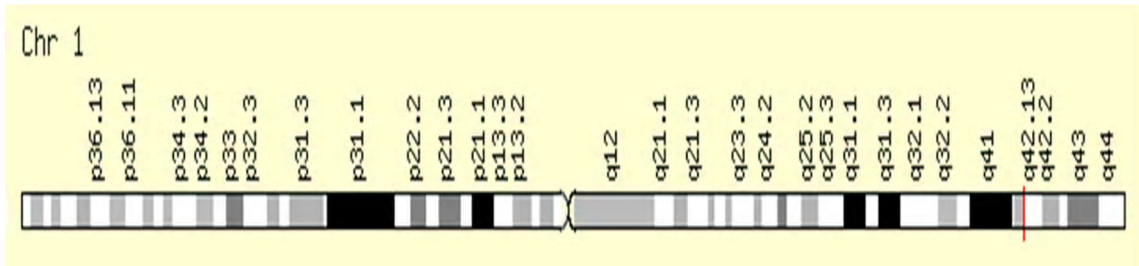
Şekil 2.8. APOE'nin A β metabolizması ve birikmesi üzerine olan etkisi (67).

2.6. PARP1 GEN YAPISI

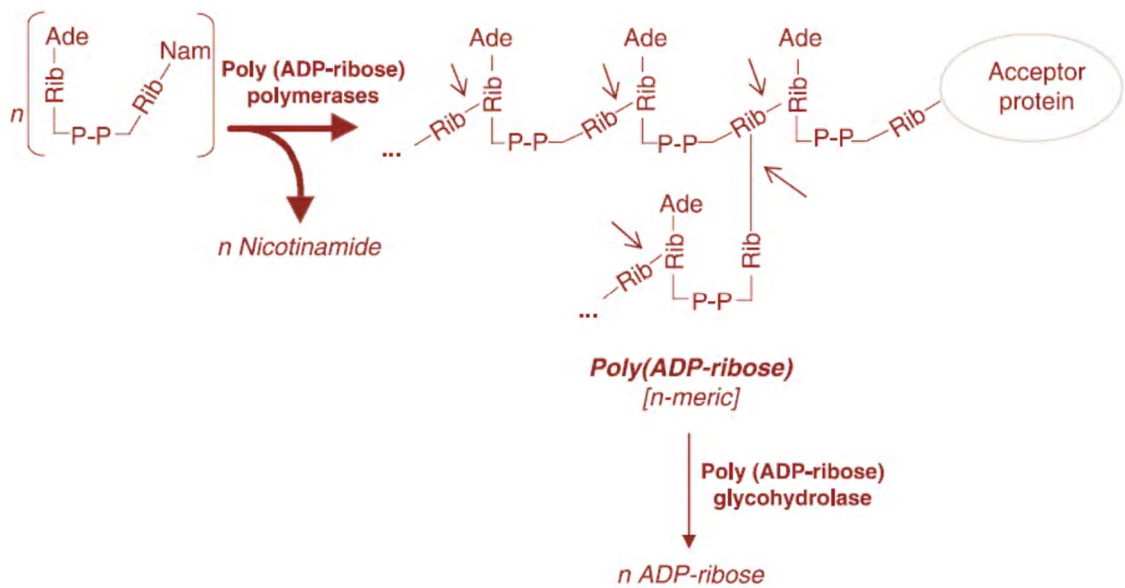
Poli(ADP-Riboz) Polimeraz 1 olarak bilinen *PARP1* geni 1. kromozomun uzun kolunda (1q42.12'de) lokalize olan ve protein kodlayan bir gendir (Şekil 2.13). *PARP1* geni kromatin ilişkili bir enzim olan poly(ADP-ribosyl) transferase'ı kodlar ve poly(ADP-ribosil)asyon denilen post-translasyonel bir modifikasyon ile çeşitli nükleer proteinleri modifiye eder. Bu modifikasyon DNA-bağımlı olup; diferensiyasyon, proliferasyon ve tümör transformasyonu gibi önemli hücrel proseslerin regülasyonlarını içerir ve hücreyi DNA hasarına karşı korur (79, 80).

Poly(ADP-ribosyl)ation olayı ilk defa 1960'larda tanımlanmış olup proteinlerin post-translasyonel modifikasyonlarıdır. Maya hariç birçok ökaryotik türde bulunmuş olan bu modifikasyon hücre içinde poly (ADP-Riboz) polimerazlar (PARPs) tarafından gerçekleştirilmektedir. Birçok hücrel koşullarda poly (ADP-ribosil)asyon genellikle PARP ailesinin bir üyesi olan 113 kD ağırlığındaki PARP1 isimli polipeptid tarafından

katalizlenir. PARP1, DNA'daki tek ya da çift zincir kırıklarına yüksek afiniteyle bağlanmaya aracılık eden DNA-bağlanma domaini (DBD)'ni içinde bulundurarak iki çinko parmak modelini meydana getirir. Reaksiyonun substratı NAD^+ olup, nikotinamid'in parçalanmasıyla ADP-ribozil parçası hedef ("alıcı") proteinin glutamat ya da aspartat yan zincirlerine transfer olur. *Poly*(ADP-ribozil)asyon için ana hedef protein PARP1'in kendisidir; ancak polimer aynı zamanda hücredeki histonları ve topoizomerazları içeren birtakım ek proteinlere de bağlı durumdadır (Şekil 2.14). *Poly*(ADP-Riboz) zincirleri hızlıca *poly*(ADP-riboz) glikohidrolaz (PARG) tarafından degrade olur ve DNA hasarı karşısında ADP-riboz polimerinin ömrünün yarılanmasıyla sonuçlanır. Bütün bu sayılanlardan hareketle hücre nükleusunda *poly* (ADP-riboz) varlığının DNA zincir kırıkları durumunda sıkıca kısıtlanmış olduğu sonucuna varılabilir (79, 81).



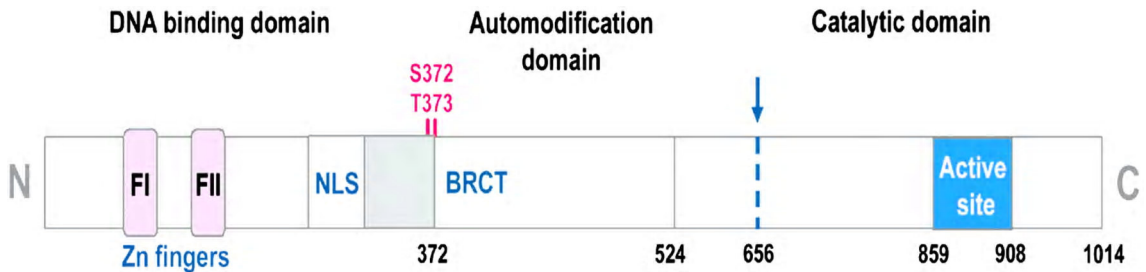
Şekil 2.9. *PARP1* geninin kromozomal lokalizasyonu (100).



Şekil 2.14. *Poly* (ADP-Ribose)'un yapısı ve *poly*(ADP-ribozil)asyon mekanizması (81).

2.6.1. Poly (ADP-Riboz) Polimeraz'ın Fonksiyonu

Poly (ADP-riboz) polimeraz-1 (PARP-1), çok hücreli ökaryot organizmalarının tüm nükleus hücrelerinde bol miktarda bulunan bir nükleer protein olup, bir N-terminal DNA-bağlayan domaininden, bir otomodifikasyon domaininden ve bir de C-terminal katalitik domaini olmak üzere 3 ana domainden oluşur (Şekil 2.15) (82). PARP-1 DNA iplikçisindeki kırıklar veya kıvrımlar vasıtasıyla katalitik olarak aktif duruma geçer. Aktive olan enzim, DNA ligazları, DNA polimerazları, histonları ve PARP-1'i içeren nükleer alıcı proteinler üzerinde dallanmış ADP-riboz polimerleri oluşturmak üzere nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD^+) tüketir. Histonların poli (ADP-ribosil)asyonu kromatin gevşemesine neden olur ve bu nedenle DNA onarımı ve transkripsiyonel düzenlenmeyi kolaylaştırmaktadır. Böylece DNA tamirinde rol alan proteinler arasındaki ilişkileri koordine ettiği düşünülmektedir. Poly (ADP-riboz) polimerleri poly (ADP-riboz) glikohidrolaz enzimleri ile degrade olmaktadır. PARP-1 maksimum hücresel PARP aktivitesinin en az %85'ini oluşturur. Geri kalan aktivite ise fizyolojik fonksiyonlarının daha az karakterize olduğu diğer PARP türlerinden kaynaklanmaktadır (82).

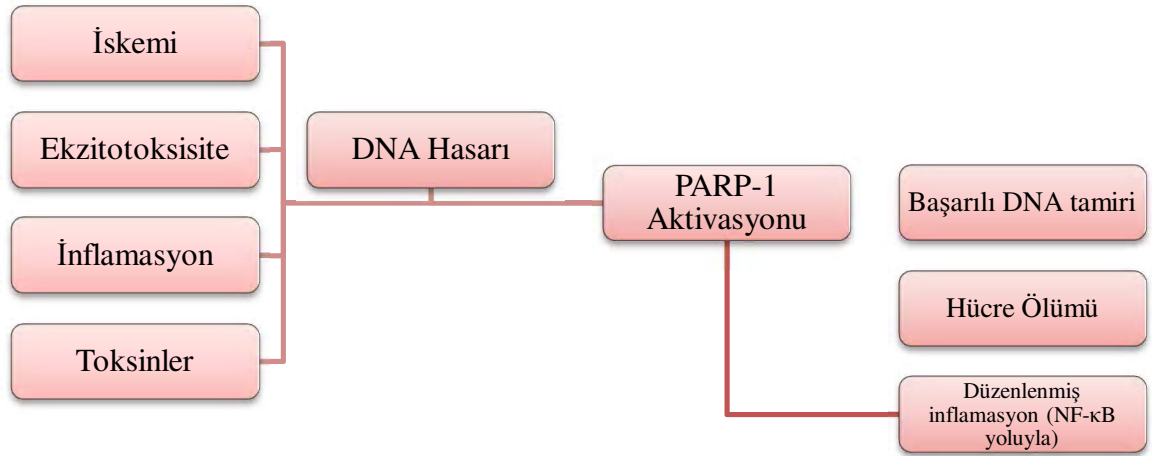


Şekil 2.10. PARP-1 protein yapısı ve katalitik domainleri (82).

Son zamanlarda yüksek potansiyele sahip birkaç PARP inhibitörü geliştirilmiş ve bunların bazıları kemoterapi duyarlaştırıcı madde olarak ve akut kardiyak iskeminin tedavisinde kullanılarak klinik araştırmalara girmiştir. PARP inhibitörleri, normal bir PARP substratı olan NAD^+ gibi bir aromatik halkaya tutturulmuş bir karboksamit grubunu veya bir poliaromatik heterosiklik iskelette yerleşik bir karbamoil grubunu paylaşırlar. Ancak bu ajanlardan bazılarının hedef dışı etkilerinin olduğu da görülmüştür. Örneğin 3-aminobenzamit, 1,5-dihidroksisokinolin ve 1,11b-dihidro-[2H] benzopirano[4,3,2-de]izokuinolin-3-on (GPI 6150) serbest radikal temizleyicileri olarak görev alabilmektedir. Ancak bu etki yalnızca milimolar konsantrasyonlarda

gösterilebilmektedir. Ayrıca GPI 6150 belirsiz bir mekanizma ile hipotermiye de neden olmaktadır (82).

Oksidatif DNA hasarı, aerobik organizmalarda sürekli ve normal bir olay olup, sürekli genomik sürveyansı ve onarımı gerektirmektedir. Oksidatif stres ve DNA hasarı, iske-mi-reperfüzyon, eksitotoksisite, inflamasyon ve rotenon ve 1-metil 4-fenil 1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) toksinlerine maruz kalma gibi çeşitli hastalık durumlarında belirgin şekilde artmaktadır. PARP-1 aktivitesi, bu koşullar altında giderek artmakla birlikte bu artışın merkezi sinir sistemi hastalıklarıyla ilişkin; kolaylaştırılmış DNA onarımı, hücre ölümü ve inflamasyon gibi en az üç etkiye sahip olduğu görülebilir (Şekil 2.16) (82).



Şekil 2.11. PARP-1 aktivasyonunun hiyerarşik sonuçları (82).

2.6.2. DNA Hasarı Karşısında PARP-1

Bazal koşullar altında PARP-1'in primer fonksiyonu DNA hasarının saptanması ve kromatid değişiminin önlenmesidir. *PARP1* gen eksikliği durumunda sitogenetik olarak ring/disentrik kromozom, Robertson tipi translokasyonlar gibi çeşitli kromozomal anomalileri tespit edilmiştir (83). Histonların poly(ADP-ribozil)asyonu, kromatin yapısının bölgesel olarak gevşemesine neden olur; bu da onarımda rol üstlenen proteinlerin hasarlı DNA'ya girmesini kolaylaştırır. Bunun haricinde, p53, p21, DNA-

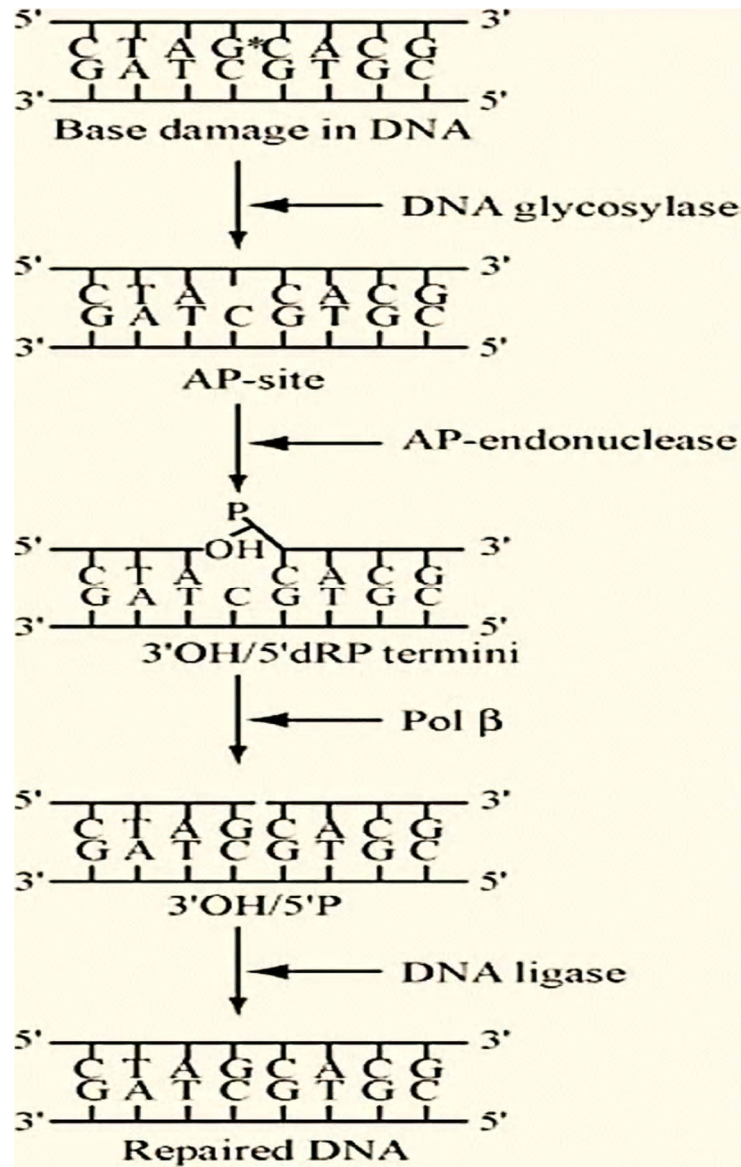
PK, XPA, XRCC1, DNA ligaz III ve DNA polimeraz epsilon gibi diğer proteinlerin de poly(ADP-riboz) için bağlayıcı domainlere sahip olduğu saptanmıştır. Bu bağlayıcı domainlerin, bu proteinlerin DNA hasar bölgelerine girmesini kolaylaştırabileceği öne sürülmüş olmakla birlikte, pratikte bu husus henüz tespit edilmemiştir (82).

DNA kırıklarının varlığında PARP-1, (i) başlatma, (ii) uzama ve (iii) dallanma gibi PARP-1'in farklı enzimatik aktiviteleri ile sentezlenen PAR'ların oluşumunu katalize eder. Enzimatik reaksiyon, NAD^+ 'nin nikotinamid ve ADP-riboza bölünmesi ve sonuçta ester bağları vasıtasıyla PARP-1 kendisi ve histonları gibi hedef proteinler üzerindeki glutamat veya aspartat kalıntılarına ADP-riboz birimleri eklenmesinden oluşur. PAR polimerindeki ADP-riboz birimleri, uzun bir doğrusal zincir oluşturmak için glikozidik riboz-riboz $1' \rightarrow 2'$ bağları ile bağlanır ve her 20-50 kalıntıda bir, PAR polimerlerin dallanması için $2 \rightarrow 1$ glikozidik bağ yoluyla oluşur. Tek bir fosfat grubu yerine pirofosfat, riboz şekerleri arasındaki bağlantı kurulmasını ve hücre sinyal yolağında özel bir ek rolü olan PAR köprüsüne özel hacim sağlar (84).

2.6.3. Baz Ekzisyon Tamiri ve *PARP*'lerin İlgisi

BER mekanizmasının ilk adımları (i) spesifik DNA glikozilazlarla hasarlı bazların tanınması, (ii) baz ile deoksiriboz arasında glikozidik bağın hidrolizi ve (iii) etkilenen DNA zincirinin AP endonükleaz ile kesilmesi ile DNA tek-zincir kırığı oluşumu olarak sıralanabilir. PARP-1 ve PARP-2'nin her ikisinin de DNA zincir kırıklarıyla aktive olduğu bilinmektedir. *Parp-1* ve *Parp-2* knock-out edilmiş farelerde iyonize radyasyon ve alkilasyon muamelesi sonucunda duyarlılığın arttığı ve DNA onarımında ağır hasarlar olduğu görülmüştür. *Poly*(ADP-ribozil)asyon mekanizmasına çok benzer olarak BER, histonların hem kovalent modifikasyonu ile lokal kromatin gevşemesini hem de non-kovalent etkileşimlerle PARP-1 ve PARP-2'nin modifiye olmasını sağlar. Sonuç olarak BER ve diğer tamir yollarında hücre PARP-1 aktivitesinin kaldırılması hücreyi γ ışınları veya alkilleyici ajanlarla indüklenen DNA hasarına karşı duyarlı hale getirmektedir. Ancak şu da unutulmamalıdır ki; ağır DNA hasarı altındaki bir hücrede PARP-1'in over-aktivasyonu ağır NAD^+ tüketimine yol açacak ve nihayetinde NAD^+ ile ATP azalacak, bunu müteakiben de hücre ölüme gidecektir (81, 85, 86).

DNA hasar tamiri aktivitesinde dört enzim görev almaktadır. Bunlar; DNA glikozilaz, AP-endonükleaz I (APE1), DNA Polimeraz β (POL β) ve DNA Ligaz'dır (Şekil 2.17) (86). Hasarlı bazın DNA glikozilaz tarafından çıkarılmasından sonra (örneğin; 8-okzoguanin (G*)'in 8-okzoguanin-DNA glikozilaz (OGG) tarafından çıkartılır) ortaya çıkan AP bölgesi, 3' OH ve 5' deoksiriboz fosfat (dRP) üretmek üzere APE ile bölünür. POL β , DNA polimeraz aktivitesinin yanı sıra intrinsek bir dRPaz aktivitesine de sahiptir ve bu dRPaz aktivitesi, 3'-OH ve 5'-P ile bir nükleotid boşluğu oluşturan dRP kalıntısını keser. POL β daha sonra tek nükleotid boşluğunu doldurur ve son olarak DNA zinciri üzerinde oluşan kesik de DNA ligaz tarafından kapatılır (86).



Şekil 2.12. Memeli hücrelerinde DNA baz ekzisyon tamirinin temel adımlarının şematik gösterimi (86).

2.6.4. Nörodejenerasyonda Mitokondriyal Disfonksiyonların Etkisi

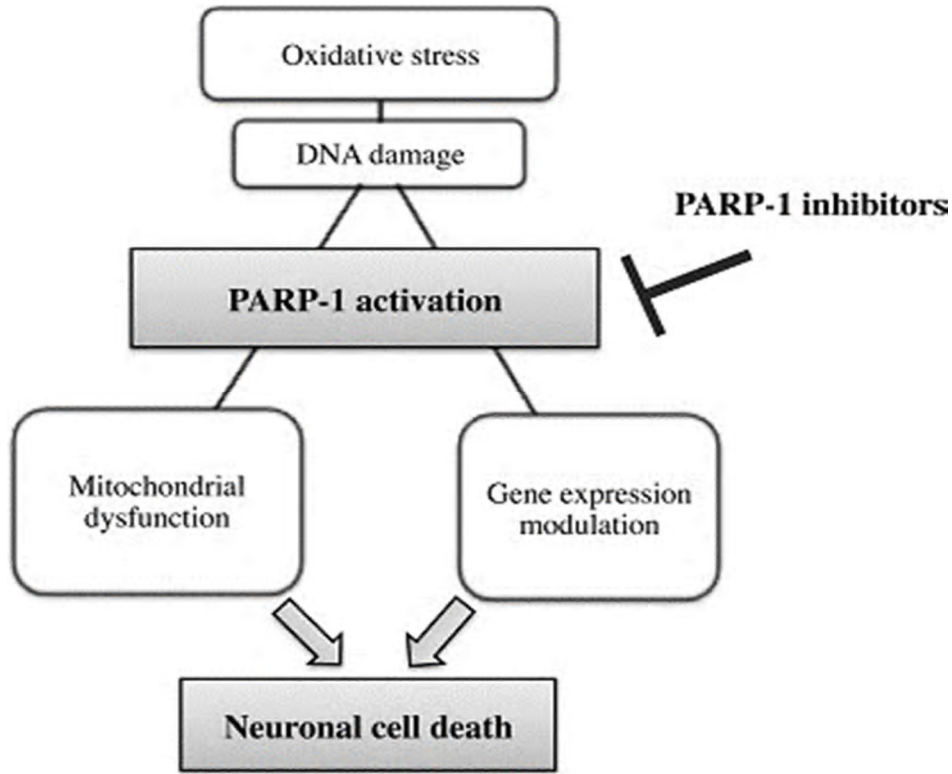
Mitokondri, hücrel enerji ve metabolik talepleri karşılamak için fizyolojik ve çevresel değişikliklere tepki veren, hücrede bulunan en karmaşık ve metabolik olarak oldukça aktif olan bir organeldir. Çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda yanlış katlanan proteinlerin mitokondri üzerinde birikmesi ve birtakım biyoenerjetik kusurlar, apoptoz veya otofaji ile bu organellerin fonksiyonel gerilemesine neden olduğu iyi bilinmektedir (87).

Birçok çalışma, mitokondriyal disfonksiyonun Alzheimer Hastalığının başlangıcında ve ilerlemesinde önemli bir faktör olduğunu öne sürmüştür. Nitekim, “mitokondriyal kaskad hipotezi”ne göre, mitokondriyal disfonksiyon Alzheimer Hastalığı patogeneğinde primer bir olaydır. Ailesel Alzheimer Hastalığı (*APP* İsveç, *MAPT* P301L ve *PSEN1* M146V) ile ilişkili üç mutasyonu taşıyan 3xTG transgenik fare modelinde, daha düşük sitokrom C oksidaz ve piruvat dehidrogenaz aktivitesi olduğu gösterilmiştir. *APP* ve / veya presenilin (*PSEN*)’in ailesel Alzheimer Hastalığının mutant formlarını overeksprese eden transgenik Alzheimer fare modellerinde, özellikle sinaptik ve hipokampal bölgelerde ciddi mitokondriyal disfonksiyon ile karakterize olduğu tespit edilmiştir. Yapılan proteomik çalışmalarda, üçlü transgenik farelerde birtakım proteinlerin down-regüle olduğu ve bunun 1/3’ünün solunum zinciri kompleksleriyle ilgili olduğu gösterilmiştir (88).

Son yayınlar, birçok patolojide ortak bir mekanizmanın altında yatan biyoenerjetik metabolizmanın kontrolünde *PARP1*’in kilit rol üstlendiğini göstermiştir. Burada *PARP1* susturulmuş hücrelerin başlangıçta ve oksidatif stres koşullarında belirgin şekilde artmış bir hücre metabolik fenotipi sergilediği gösterilmiştir (89).

Ayrıca, metabolik homeostazda *PARP1*’in rolünü daha iyi araştırmak için *PARP1* knock-out fare modelleri geliştirilmiştir. *PARP1*^{-/-} fareler (C57BL/6J) azaltılmış yağ birikimi ve yüksek enerji harcaması ile ilişkili olarak artan gıda alımı gibi çeşitli metabolik sonuçlar alır. Buna ek olarak, bu fareler, yabanıl tip farelere göre, kahverengi yağ dokusunda gen ifadesine bağlı olarak yükseltgenmiş oksidasyon ve solunum ile zengin mitokondriyal içeriğe sahiptir (90).

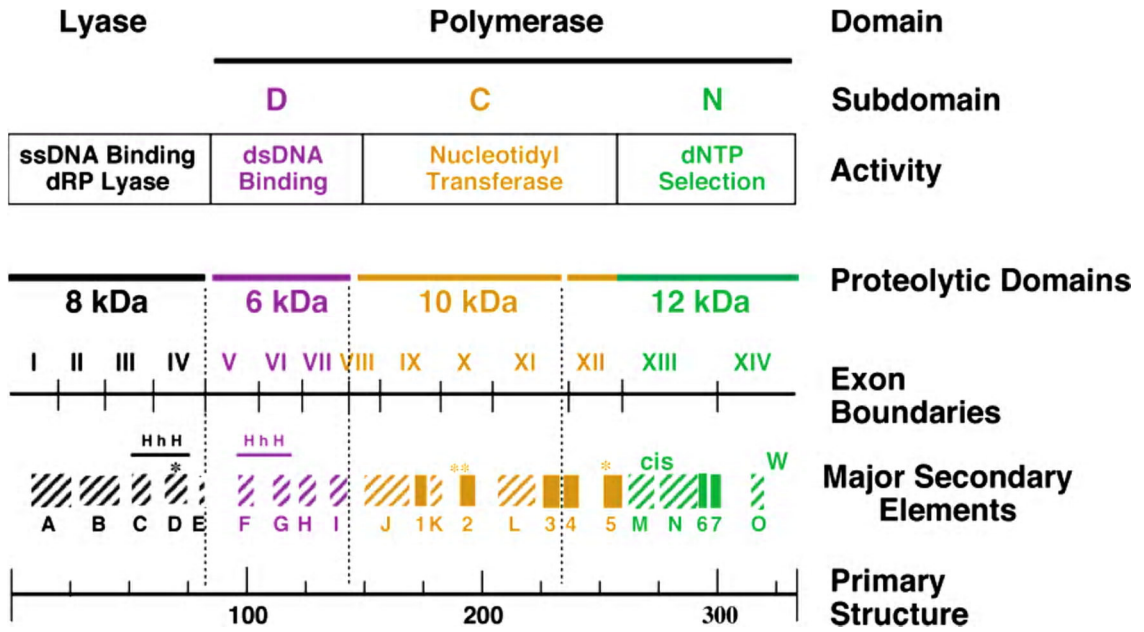
PARP1 aktivasyonu mitokondriyal yetmezlik ve gen ekspresyon modülasyonu yoluyla hücre ölümüne yol açar. Bu nedenle, *PARP1* inhibitörleri, nöronal hücre ölümünü inhibe edebilir ve oksidatif stresle ilişkili hastalıklarda terapötik ajanlar olarak görev yapabilmektedir (Şekil 2.18) (84).



Şekil 2.13. *PARP1* aktivasyonunun hücre içinde neden olduğu olaylar (84).

2.7. DNA POL β GEN YAPISI

DNA Polimeraz β geni, 8. kromozomun kısa kolunda (8p11.2) lokalize olan ve protein kodlayan bir gendir. Bu gen tarafından kodlanan protein olan DNA Polimeraz, baz ekzisyonu ve tamirinde yer alır ve boşluk dolduran enzim olarak bilinir. Kodlanan bu protein normalde sitoplazmada bulunur ve bir monomer olarak davranırken, DNA hasarı durumunda nükleusa transloke olarak fonksiyonunu gerçekleştirir. POL β , 39 kDa ağırlığında olup 335 amino asit uzunluğundadır ve 2 domainden meydana gelmektedir. Bunlar; dRP (deoxyribosephosphate) lyase domaini (8 kDa) ve polimeraz domaini (31 kDa)'dır. Bu iki domain dRP liyaz ve polimeraz aktivitesine karşılık gelmekle birlikte şeker fosfat grubunun koparılmasından ve ardından yeni deoksiribonükleotidlerin birleştirilmesinden sorumludur (Şekil 2.19) (90).



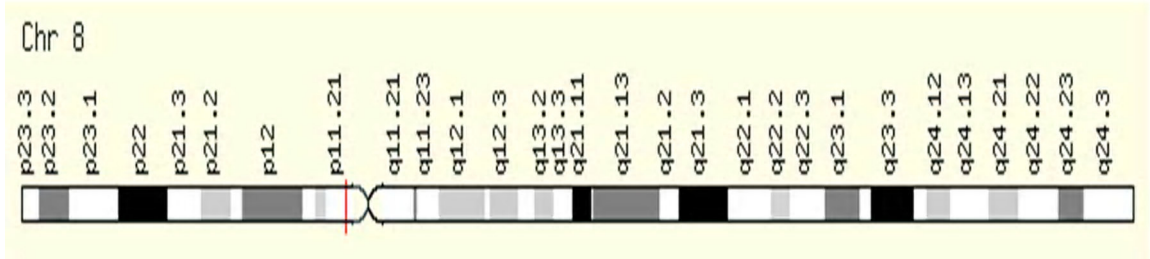
Şekil 2.14. *DNA Polimeraz β*'nin gen ve protein yapıları arasındaki ilişki (90).

POL β'nin domainleri kristalografik yapılarına göre avuç içi ve başparmak alt domainleri olmak üzere iki kısımda incelenebilir. Bu alt domainler dsDNA'nın bağlanmasından nükleotidil transferaz ve dNTP seleksiyonu gibi farklı görevleri üstlenmektedirler (91, 92).

Buna ek olarak *POL β* APE1, PCNA ve FEN1 gibi birçok proteinle etkileşime girebilir. Bu etkileşimler DNA onarım bölgesinde resiprokal olarak enzim aktivitelerini stimüle ederek son derece düzenli bir şekilde BER kimyasal reaksiyonlarını koordine eder. *POL β* eksikliği BER mekanizmasının verimliliğini bozarak alkilleyici ve oksidatif ajanlara karşı olan duyarlılığı artırır (93).

DNA POL β'nin Alzheimer Hastalığı patogenezindeki rolü, üretilen transgenik hayvan modellerinde gösterilmiştir. Kritik DNA baz ekzisyon tamir enzimi olan *DNA Polimeraz β* için heterozigot olan bir farede, bu enzimin baskılanması sonucu nörodejenerasyon gözlenmiş ve nöronal disfonksiyon, hücre ölümü, hafızada zayıflama ve sinaptik plastisite gibi Alzheimer Hastalığı'na ait özellikler görülmüştür (93).

Şekil 2.20'de *DNA POL β* geninin kromozomal lokalizasyonu verilmiştir.



Şekil 2.20. *DNA POL β* geninin kromozomal lokalizasyonu (101).

2.7.1. *DNA POL β*'nin Fonksiyonları

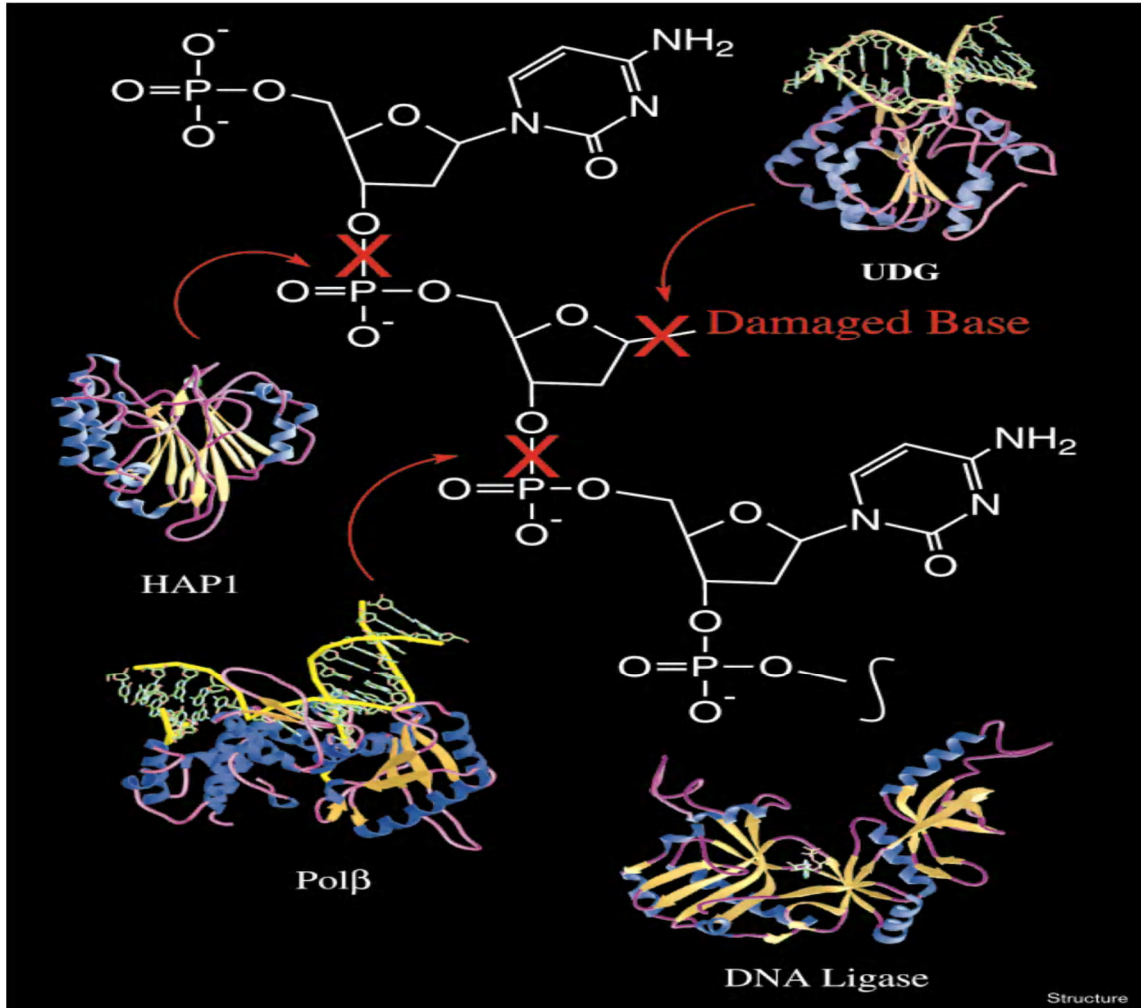
DNA POL β'nin DNA onarımında öncelikli olarak yer aldığı gösterilmiştir. Memeli hücrelerinde BER'in iki biyokimyasal yolu vardır. Bunlar; kısa yama (tek nükleotid değişimi) ve uzun yama BER (çoklu nükleotid değişimi) olarak incelenir. Deneyisel kanıtlar *DNA POL β*'nin kısa aralıklı BER'de rol oynadığını göstermiştir. Buna ek olarak, *DNA POL δ* veya *DNA POL ε*'nin muhtemelen 2-13 nükleotid boşlukları olan PCNA'ya bağımlı olarak BER'de rol oynadığı bilinmektedir. Bu yolakta boşluk doldurma işlemi sırasında kalıp iplikçik yer değiştirmesi tarafından üretilen bir reaksiyon ara maddesini parçalamak için flap endonükleaz 1 (Fen1) denilen bir enzime ihtiyaç duyulmaktadır (94).

Memeli hücrelerinde, 2-6 nükleotid boşluk uzunluğuna sahip uzun yamalı BER yolağının bir varyasyonu da ayrıca karakterize edilmiştir. Bu Fen1 ve PCNA'ya bağımlı olan yolak, *DNA POL δ* ve *DNA pol ε* ile yeniden oluşturulabilir. Ancak bununla birlikte, *DNA POL β* eksikliği olan hücrelerde veya nötralize edici antikör varlığında, *DNA POL β* eksikliği DNA onarım aktivitesinde bir azalmaya neden olur. Yapılan *in vivo* çalışmalarda da *DNA POL β*'nin bu yolakta aktif bir rol oynadığı ispatlanmıştır (95).

DNA POL β'nin bir başka görevi, mayoz bölünme ve çift zincir kırıklarının tamirinde yer almasıdır. Bu hususta *DNA POL β*, sinapsis ve rekombinasyon ile ilişkili mayotik olaylarla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, 67 kDa ağırlığındaki ve memelilerdeki *DNA POL β*'nin homoloğu olan *POL4* geninin de *S. cerevisiae*'de son zamanlarda homolog olmayan bir uç birleştirme mekanizması yoluyla çift zincir kırıklarının tamirinde rol aldığı gösterilmiştir (91, 96).

2.7.2. DNA POL β ve BER İlişkisi

Son yıllardaki araştırmalarda memeli hücrelerindeki AP bölgelerinde DNA POL β 'nın aktif bir şekilde rol aldığı kanıtlanmıştır. DNA üzerinde hasar gören baz ve deoksiriboza birbirine bağlayan glikozidik bağ kendiliğinden ya da bir DNA glikozilaz aktivitesi ile bölünerek uygun olmayan baz çıkarılır ve çift sarmallı DNA'da bir abazik bölge veya AP bölgesi oluşturur. AP bölgesinin fosfodiester omurgası AP endonükleaz tarafından 5' şeker parçasına bölünür. Bunun sonucunda 5' ucunda 3'-OH grubu ve deoksiriboz fosfat grubu kalır. Daha sonra, deoksiriboz fosfat grubunun eksizyonu, 2-deoksiriboz-5-fosfat liyaz tarafından, DNA POL β 'nın amino ucuna intrinsik olan bir etkinlikle katalize edilir. Oluşan boşluk DNA POL β tarafından doldurulur, DNA ligaz ise DNA zinciri üzerinde oluşan çentiği kapatır (Şekil 2.21) (97).



Şekil 2.15. DNA Baz Ekzision tamir mekanizmasında rol alan enzimler (97).

DRlyase katalitik fonksiyonuna ek olarak, enzimin 8 kDa ağırlığındaki N-ucu, tek zincirli DNA'ya bağlanma aktivitesi de taşır. DNA'ya bağlanma spesifisitesi, enzimi boşluğun kenarında bir 5'-fosfat grubuna sahip kısa boşluklara yönlendirir. 5'-fosfat grubunu içeren boşluk 1-6 nükleotid içeriyor ise, enzim bağlanarak DNA sentezini başlatır ve boşluğu tamamen dolduracak şekilde süreci proaktif bir biçimde yerine getirir. Boşluğun 6 nükleotidden büyük olduğu durumlarda ise enzim yine 5'-fosfat grubuna bağlanır ancak bu sefer DNA sentezini başlatmaz. Bu yüzden, ilerleyici DNA sentezi 6 polinükleotidlik veya daha az boşluklar için *DNA POL β* 'nın 8 kDa'lık domaini ile koordine edilir (91).

Birçok çalışma, *DNA POL β* 'nın DNA ligaz ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. *POL β* / DNA Ligaz etkileşiminin hidrofobik etkileşimlerle kurulduğu ve bu ilişkinin iyonik kuvvetlere karşı son derece hassas olduğu bildirilmiştir. Son olarak, XRCC1 ile *DNA POL β* ilişkilendirmesi, DNA Ligaz-III'ün DNA Ligaz-I'in işlevlerini değiştirmesini sağlar gibi görünmektedir (91).

Özetle, *DNA POL β* baz ekzisyon tamirlerindeki rolü nedeniyle oldukça önemli bir gendir. Bunlar; 1) kısa boşluklarda DNA sentezinin spesifisitesi; 2) dRliyaz aktivitesiyle olan ilişkisi; ve 3) DNA Ligaz-I, AP endonükleaz ve XRCC1-DNA Ligaz-III gibi diğer BER enzimleri ile olan ilişkisi olarak sayılabilir (91).

2.8. REAL-TİME (GERÇEK-ZAMANLI) POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (RT-PCR)

Geleneksel Polimeraz Zincir Reaksiyonunda, amplifiye DNA ürünü veya ampikon, bir uç nokta analizinde tespit edilir. Ancak gerçek-zamanlı PCR'da, amplifikasyon ürününün birikimi, reaksiyonun her bir döngüden sonra ürün kantifikasyonu ile birlikte reaksiyon ilerledikçe eş zamanlı olarak ölçülmektedir (102).

PCR ürünlerinin gerçek zamanlı olarak saptanması, her reaksiyon kuyucuğunda, artan miktarda ürün DNA'sı ile birlikte artan floresans veren bir floresan raportör molekülün eklenmesi ile sağlanır. Bu amaçla kullanılan floresan kimyasallar arasında DNA'ya bağlanan boyalar ve floresan işaretli diziye özgü primerler veya probalar sayılabilir. Burada amplifikasyon olduğu zaman floresan sinyalini izlemek için floresans algılama

modülleri ile donatılmış gelişmiş termal cyclerlar kullanılmaktadır. Ölçülen floresans, amplikonun toplam miktarı ile orantılı olup, floresanstaki zaman içindeki değişim, her döngüde üretilen amplikon miktarını hesaplamak için kullanılmaktadır (102).

Gerçek-zamanlı PCR'in en büyük avantajı, geniş bir dinamik aralığında yüksek hassasiyet ile kalıp DNA'nın başlangıç kopyasının (amplifikasyon hedef dizisi) belirlenmesine izin vermesidir. Gerçek-zamanlı PCR sonuçları niteliksel (bir dizinin varlığı ya da yokluğu) ya da niceliksel (kopya numarası) olarak iki parametrede değerlendirilebilir. Kantitatif gerçek zamanlı PCR bu nedenle qPCR analizi olarak da bilinmektedir (102).

Gerçek-zamanlı qPCR'in en önemli avantajlarından bir diğeri ise jel elektroforezine ihtiyaç duyulmadan değerlendirmeye imkan vermesidir. Böylece zamandan tasarruf edilerek çalışmalardan daha yüksek verim almak mümkün hale gelmektedir. Ayrıca qPCR reaksiyonları kapalı bir sistem içerisinde gerçekleştiği için kontaminasyon riski minimum seviyeye indirgenebilmekte ve post-amplifikasyon manipülasyonlarına olan ihtiyaç ortadan kalkmaktadır (102).

2.8.1. Real-Time PCR'in Uygulama Alanları

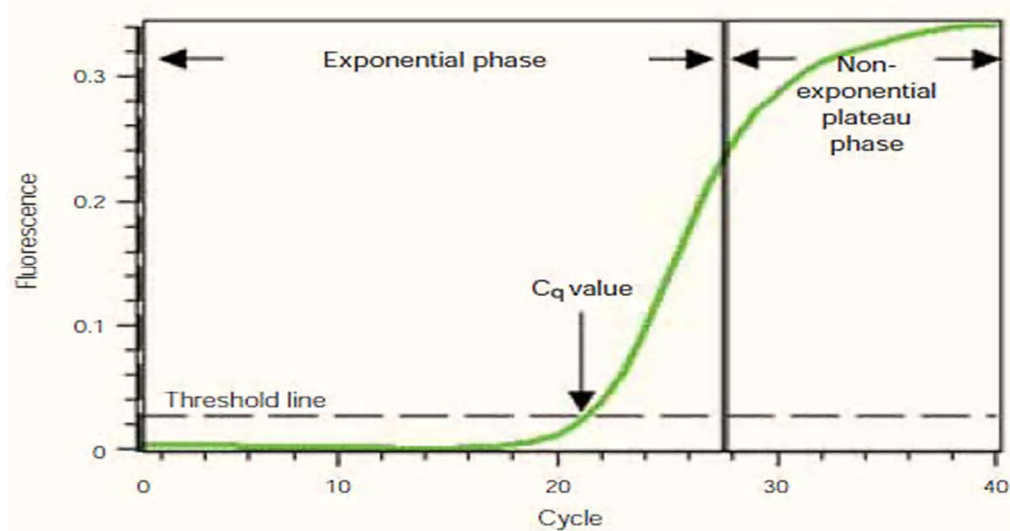
Gerçek zamanlı PCR / qPCR assayleri, çeşitli biyolojik numunelerde nükleik asidin hızlı ve hassas tespiti ve nicelendirilmesi için, gen ekspresyon analizinde, gıdada genetiği değiştirilmiş organizmaların saptanması ve kanser fenotiplendirme gibi çeşitli uygulamalarla tercih edilen bir araç haline gelmiştir (102).

Araştırma laboratuvarlarında, qPCR uygulamaları, transformasyona uğratılmış hücre hatlarındaki gen kopya sayısının (gen dozajının) nicel olarak ölçülmesi veya mutant genlerin varlığı için yaygın olarak kullanılmaktadır. Reverse transkripsiyon PCR (RT-PCR) ile birlikte, qPCR assayleri gen ekspresyonundaki değişiklikleri tam olarak ölçmek için de kullanılabilir. Örneğin, hücresel mRNA düzeylerindeki değişimler ölçülerek farklı çevresel koşullara veya ilaç tedavisine yanıt olarak ekspresyonda meydana gelen artış veya azalmalar tespit edilebilmektedir (102).

2.8.2. Real-Time PCR'in Çalışma Mekanizması

Gerçek-zamanlı PCR'da hedef genlerin miktarını belirlemek için internal ve eksternal standart olmak üzere iki farklı standart metod kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi bütün dokularda eksprese olan housekeeping genlerin transkriptlerinin kullanılmasına dayanan rölatif kantitasyondur. *β-aktin*, *tübülin* ve *GAPDH* gibi genler housekeeping genlerdir. Rölatif kantitasyonda referans gen hedef genle birlikte transkript miktarına göre analiz edilir. İkinci metod olan eksternal standart metodunda bilinen konsantrasyondaki hedef genlerin sekans klonlarının kullanılmasıyla elde edilen mutlak kantitasyondur. Mutlak kantitasyonda hedef genin dilüsyon aralığının adlandırılmasıyla birlikte, genellikle standart eğrideki PCR sinyalleriyle bağlantılı olarak kopya numara sayılarının girilmesiyle tespit edilir (98).

Gerçek-zamanlı PCR'ın nasıl çalıştığını anlamak için, tipik bir amplifikasyon grafiğini kullanarak qPCR analizini göstermek mümkündür (Şekil 2.22). Bu grafikte PCR döngülerinin sayısı x ekseninde gösterilir ve çoğaltılmış ürünün miktarı ile orantılı olan amplifikasyon reaksiyonundaki flüoresan miktarı ise y ekseninde gösterilir. Amplifikasyon grafiği, bir üstel faz ve bunu takiben üstel olmayan plato fazı olmak üzere iki fazla gösterilir. Üstel fazda, PCR ürününün miktarı her döngüde yaklaşık iki katına çıkar. Ancak reaksiyon ilerledikçe, reaksiyon bileşenleri tükenir ve nihai olarak bileşenlerin bir veya daha fazlası sınırlayıcı hale gelmeye başlar. Bu noktada reaksiyon yavaşlar ve artık plato fazına girer (102).



Şekil 2.16. Real-Time PCR'in amplifikasyon eğrisi ve reaksiyondaki fazlar (100).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın tipi

Araştırma deneysel (*in vitro*) bir çalışmadır.

3.2. Araştırmanın yeri ve zamanı

Bu araştırma Ekim 2016-Haziran 2017 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Erciyes Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalının ortak çalışması ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya ait deney işlemleri Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalının laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.3. Araştırmada kullanılan materyal

Bu çalışmada biri kontrol olmak üzere iki grup kullanılmıştır.

3.3.1 Hasta grubu

Çalışmaya dahil edilen bireyler Erciyes Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalı'na başvurmuş, gerekli nörolojik muayeneleri yapıldıktan sonra Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na yönlendirilmiştir. Çalışmaya MMSE (Mini Mental State Examination – Mini Mental Durum Muayenesi) testi ve diğer nörolojik yardımcı testlerle Alzheimer Hastalığı tanısı alan hastalar dahil edilmiştir.

Çalışmaya 17 hasta dahil edilmiştir. Hastaların hepsi analizlere dahil edilerek çalışma tamamlanmıştır.

3.3.2. Kontrol grubu

Kontrol grubuna, 65 yaş üzerinde, herhangi bir demans hastalığı olmayan, bunun yanında psikiyatrik, nörolojik ve diğer dahili oksidatif stresin yol açtığı hastalığı olmayan bireyler dahil edilmiştir.

Yapılan nörolojik muayeneler sonucu, Alzheimer Hastalığı tanısı almamış 65 yaş üzeri 22 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Bu bireylerden periferik kan örnekleri alınmış ve analiz edilmiştir.

3.4. Veri Toplama Araçları

3.4.1. Demirbaş Malzemeler

- Santrifüj Cihazı Mikro 22 & Mikro 200R (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Germany)
- Vorteks (IKA Vortex Genius 3)
- Isıtıcı Blok (HLC)
- NanoDrop 2000-Mikro-Hacim UV-Vis Spektrofotometre Cihazı (ThermoScientific, USA)
- Thermal Cycler (LabCycler SensoQuest, Göttingen, Germany)
- LightCycler 480 II (Roche, USA)
- Plate Perfect Spin (Peqlab, Erlangen, Germany)
- Mikropipetler; 1-10 µl'lik, 10-100 µl'lik, 100-1000 µl'lik (Nichipet Ex, HTL)
- 10'luk, 100'lük, 1000'lik pipet uçları (Greiner Bio-One, Axygen)
- -20°C Buzdolabı (Vestel)
- -80°C Buzdolabı (CFC FREE)
- +4°C Buzdolabı (Profilo)

3.4.2. Sarf Malzemeler

3.4.2.1. Ekspresyon analizi için gerekli sarf malzemeler

1. Trizol (TriPure Isolation Reagent, Roche)
2. cDNA sentez kiti (Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit, Roche)

3. İlgili genlere göre dizayn edilmiş primerler ve problar (Real Time ready Catalog Assays, Roche; Real Time ready Designer Assays, Roche)
4. Real-Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu için Prob Master Miks (Light Cycler 480 Probes Master)
5. Light Cycler 480 cihazı ile uyumlu plate (Light Cycler 480 Multiwell Plate 96 (1x10 plate))

3.5. YÖNTEMLER

3.5.1. Uygulama Prosedürleri

3.5.1.1. Kan Örneklerinden Lökosit İzolasyonu

Hasta ve kontrol gruplarından EDTA'lı tüp içine alınan 9-10 cc periferik kan örneklerinden Trizol reagent metoduna göre lökosit izolasyonu, ardından da total RNA izolasyonu yapılmıştır.

1. 50 ml'lik falkon tüplere 30 ml soğuk Red Cell Lisis çözeltisi eklendi.
2. Kan numuneleri falkon tüplere aktarıldı.
3. 20 dakika +4°C'de bekletildi.
4. 10 dakika 2000 RPM'de santrifüj edildi.
5. Süpernatant uzaklaştırıldı.
6. Pellet üzerine 20 ml soğuk Red Cell Lisis çözeltisi eklendi ve homojenize edildi.
7. 10 dakika +4°C'de bekletildi.
8. 10 dakika 2000 RPM'de santrifüj edildi.
9. Süpernatant uzaklaştırıldı, pellet çevresindeki eritrositler 1000'lik pipet ucuyla temizlendi.
10. Pellet üzerine 1 ml Trizol eklenip 2 ml'lik enjektörle homojenize edildi.
11. Örnekler 1,5 ml'lik eppendorf tüplere aktarıldı.
12. -20°C'ye kaldırıldı.

3.5.1.2. Lökositlerden Total RNA İzolasyonu

1. -20°C'ye kaldırılan örnekler erimesi için bir süre oda sıcaklığında bırakıldı.
2. Erimesi tamamlandıktan sonra tüpler 2-3 dakika 37°C'de inkübasyona tabi tutuldu ve homojenize edildi.

3. Tüplere 200 µl kloroform eklenerek 30-40 saniye vortekslendi.
4. Oda sıcaklığında 2 dakika bekletildi.
5. 15 dakika 12.000 g'de santrifüj edildi. Bu aşamadan sonra -20°C soğuk blokla çalışıldı.
6. Santrifüj sonrası oluşan aköz faz pipetle dikkatlice temiz bir eppendorf tüpe aktarıldı.
7. Tüplere 600 – 650 µl saf izopropanol eklendi ve resüspanse edildi.
8. 30 dakika -20°C'de bekletildi.
9. 10 dakika 12.000 g'de santrifüj edildi.
10. Süpernatant dikkatlice alınıp uzaklaştırıldı, pellet üzerine 1000 µl %70'lik etanol eklendi ve resüspanse edildi.
11. 5 dakika 7500 g'de santrifüj edildi.
12. Süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldı.
13. Tüpün çeperindeki etanolleri toplamak için 5-10 saniye santrifüj edildi ve kalan etanol 100'lük pipetle toplandı.
14. Etanolün tamamen uçması için tüpler 37°C'de ağzı açık bir şekilde 2 – 3 dakika inkübe edildi.
15. Pellette yer alan RNA miktarına göre nükleaz içermeyen su eklendi.
16. RNA konsantrasyonları ve saflıkları nanodropta ölçülerek, örnekler -80°C'ye kaldırıldı.

3.5.1.3. cDNA Sentezi

- Çalışmada cDNA sentezi, Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit (Roche) kullanılarak yapılmıştır.
- Her bir hasta için RNA konsantrasyonları 500 – 700 ng/µl olacak şekilde dilüe edildi ve RNA miktarları ayrı ayrı belirlendi.
- Belirlenen miktarlar reaksiyon tüplerine aktarıldı.
- Kit içeriğindeki ürünler (Reverse transkriptaz ve RNaz inhibitör hariç) soğuk blok üzerinde çözülmeye bırakıldı. Vortekslenip kısa santrifüj yapıldı.
- Reverse transkriptaz ve RNaz inhibitörün kullanılacağı zaman soğuk blok üzerine çıkarılmasına dikkat edildi.
- Dilüe edilen RNA'lar, 0,2 ml'lik reaksiyon tüplerine 5 µl olacak şekilde aktarıldı.
- Tablo 3.1'deki miktarlara göre 1. karışım hazırlandı.

Tablo 3.1. cDNA reaksiyonu için 1. Karışım (ÖS: Örnek sayısı).

	Bir örnek için eklenecek miktar (µl)	Toplam
OligodT primer, 500 µM	1	1 x (ÖS+1)
Random hekzamer primer, 600 µM	1	1 x (ÖS+1)
dH₂O	4,4	4,4 x (ÖS+1)
Toplam	6,4	6,4 x (ÖS+1)

- Dilüe edilen her bir RNA örneğine 6,4 µl 1. Karışımından eklendi.
- RNA üzerindeki sekonder katlanmaların denatürasyonu için, RNA örnekleri 65°C’de 5 dakika beklemek üzere thermal cycler cihazına konuldu.
- Tablo 3.2’deki miktarlara göre 2. Karışım hazırlandı.

Tablo 3.2. cDNA reaksiyonu için 2. Karışım (ÖS: Örnek Sayısı).

	Her bir örnek başına eklenecek miktar (µl)	Tüm örnekler için eklenecek miktar (µl)
5X Reaksiyon Tamponu	4	4 x (ÖS+1)
dNTP, 10mM	2	2 x (ÖS+1)
RNaz İnhibitör, 40 U/µl	0,5	0,5 x (ÖS+1)
DTT	1	1 x (ÖS+1)
Revers transkriptaz	1,1	1,1 x (ÖS+1)
TOPLAM	8,6	8,6 x (ÖS+1)

- Hazırlanan 2. karışım thermal cycler’den alınan örneklerden her birine 8,6 µl olacak şekilde dağıtıldı. Her bir reaksiyon tüpündeki son hacim 20 µl’dir.
- cDNA sentezi için hazırlanan reaksiyon tüpleri Tablo 3.3’te belirtilen süre ve sıcaklıklara göre thermal cycler’da bekletildi.

Tablo 3.3. cDNA sentezi için thermal cycler cihazındaki sıcaklık ve süre döngüsü.

Sıcaklık (°C)	Süre (Dakika)
55	30
85	5
4	∞

- Elde edilen cDNA ürünleri -20°C 'de muhafaza edildi.

3.5.1.4. Preamplifikasyon aşaması

Çalışmada Real Time ready cDNA Pre-Amplifikasyon kiti kullanılarak, düşük düzeyde eksprese olan genlerin ekspresyon seviyelerinin yükseltilmesi için pre-amplifikasyon aşamasına ihtiyaç duyulmuştur.

Bunun için sırasıyla aşağıdaki adımlar izlenmiştir:

1. 3 adet 0,5 ml'lik tüplere 90 μl PCR grade dH_2O ve 10 μl prob konulup her gen (*PARP1* ve *DNA POL β* ve *GAPDH*) için 1/10 oranında ayrı ayrı dilüsyon yapıldı.
2. Tablo 3.4'te belirtildiği gibi bir karışım hazırlandı ve 0,2 ml'lik tüplere dağıtıldı.
3. Hazırlanan pre-amplifikasyon karışımı üzerine 5 μl cDNA eklendi. Her bir reaksiyon tüpünde son hacim 25 μl 'dir.

Tablo 3.4. Pre-amplifikasyon aşaması için reaksiyon karışımı (ÖS: Örnek Sayısı).

Ürün	Bir örnek için eklenecek miktar (μl)	Toplam (μl)
Pre-amplifikasyon mix	5	5 x (ÖS+1)
Prob (1/10)		
<i>PARP1</i>	1,4	1,4 x (ÖS+1)
<i>DNA POL β</i>	1,4	1,4 x (ÖS+1)
<i>GAPDH</i>	1,4	1,4 x (ÖS+1)
dH_2O	10,8	10,8 x (ÖS+1)

- Pre-amplifikasyon işlemi için örnekler thermal cycler cihazına konuldu ve Tablo 3.5'te belirtilen programdaki döngüye göre başlatıldı.

Tablo 3.5. Pre-amplifikasyon için thermal cycler cihazındaki sıcaklık, süre ve döngü sayısı.

Sıcaklık (°C)	Süre (Saniye)	Döngü Sayısı
95	60	1
95	15	13
60	240	13
4	∞	1

3.5.1.5. Ekspresyon analizi

- Bu çalışmanın ekspresyon analizleri LightCycler 480 II (Roche Diagnostics Ltd. Rotkreuz, Switzerland) cihazı ile yapılmıştır. Analizler ise LightCycler 480 Software (release 1.5.0 SP4) programı ile yapılmıştır.
 - Her hasta duplike (iki kere) olarak çalışılmıştır. Ve her çalışmada iki adet negatif kontrol ve kalibratör kullanılmıştır.
 - Ürünler aşağıda belirtilen protokole göre hazırlanıp cihaza yüklenmiştir:
1. Elde edilen cDNA'lar üzerine 25 µl distile su eklenerek dilüe edildi.
 2. Dilüe edilen cDNA'lardan 5 µl alındı ve plate'e aktarıldı.
 3. Her gen için Tablo 3.6'da belirtildiği gibi ayrı bir karışım hazırlandı. House-keeping gen olarak *GAPDH* kullanıldı.
 4. Plate üzerindeki her kuyucuğa ürünlerden 15'er µl dağıtıldı.
 5. Plate'in üzeri sealing bant ile kapatıldı.
 6. Plate perfect spin ile kısaca santrifüj edildi ve Roche Light Cycler 480 II cihazına yüklendi.
 7. Bilgisayar üzerinden Roche LightCycler 480 yazılımı açılarak, Tablo 3.7'de belirtilen programdaki döngüye göre çalışma başlatıldı.

Tablo 3.6. Ekspresyon analizi için reaksiyon karışımı (1 örnek için).

Ürün	Her bir kuyucuğa eklenecek miktar (µl)
Prob Mastermix (LightCycler 480 Probes Master)	10
PCR grade dH₂O	4
Prob (Real Time ready Catalog Assays, Roche; Real Time ready Designer Assays, Roche) <i>PARP1</i> (Assay ID: 111143) <i>DNA POL β</i> (Assay ID: 147200) <i>GAPDH</i> (Assay ID: 141139)	1
Toplam Miktar	15

Tablo 3.7. LightCycler 480 II yazılımında ekspresyon için ayarlanan sıcaklık ve süreler.

	Döngü sayısı	Sıcaklık (°C)	Sıcaklık artış / azalış hızı (°C)	Süre (Saniye)
Pre-inkübasyon	1	95	4,4	600
Amplifikasyon	45	95	4,4	10
		60	2,2	30
		72	4,4	1
Soğutma	1	40	2,2	30

3.5.1.6. İstatistiksel analiz

Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp. Released 2013) yazılımı ile yapılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun değerlendirilmesinde histogram, q-q grafikleri ve Shapiro-Wilk testleri kullanıldı. Verilerin dağılımının normal olduğu durumda bağımsız t testi ve normal dağılımın gözlenmediği durumda ise non-parametrik Mann Whitney U testi kullanıldı.

Özet istatistik olarak birim sayısı (n), yüzde (%), ortalama ve standart sapma değerleri verildi. $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada orta seviye Alzheimer Hastalığı tanısı konmuş hastalarda *PARP1* ve *DNA POL β* gen ekspresyonlarının korelasyonu ve bu genlerin hastalığın patogenezindeki olası rolleri araştırılmıştır. Bu amaçla çalışmanın hasta grubu 17, kontrol grubu ise 22 bireyden oluşturulmuştur. Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki genlerin mRNA ekspresyonları arasındaki farklılıklar kıyaslanmıştır.

Çalışmaya Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Bölümü tarafından yapılan nörolojik muayeneler sonucunda Alzheimer Hastalığı tanısı almış bireyler dahil edilmiştir. Kontrol grubunda ise yine Nöroloji Bölümü tarafından yapılan mental durum değerlendirme testleri sonucunda Alzheimer Hastalığı tipi demansı tespit edilmeyen sağlıklı bireyler dahil edilmiştir. Her iki çalışma grubu için de 65 yaş üzerindeki bireyler değerlendirmeye alınmıştır.

Hasta grubundaki bireylerin 14'ü erkek (%82,4), 3'ü kadındır (%17,6). Kontrol grubundaki bireylerin ise 12'si erkek (%54,5), 10'u kadındır (%45,5). Her iki grup için de toplanan numunelerin tamamı periferik kandan oluşmaktadır (Tablo 4.1).

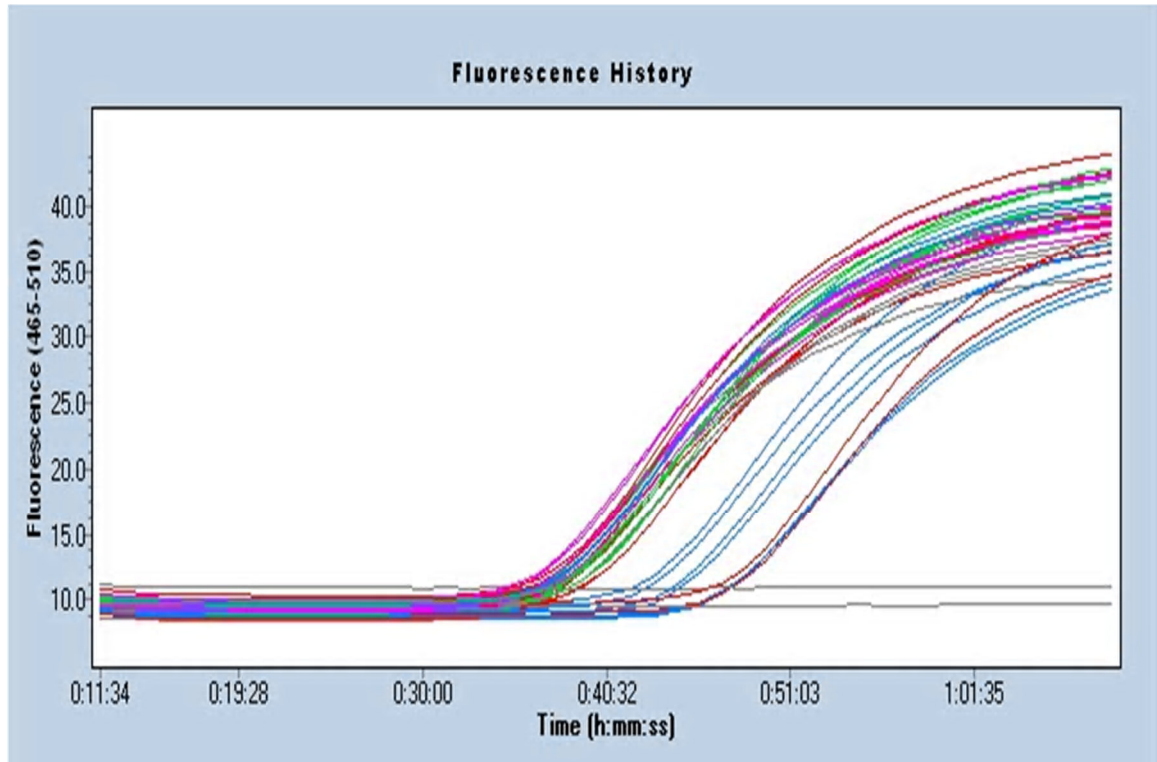
Hasta grubunun yaş sınırı 65-83, yaş ortalaması 72,17; kontrol grubunun yaş sınırı 65-74, yaş ortalaması ise 68,86 şeklindedir. İstatistiksel olarak yaş ve cinsiyet faktörlerinde anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

RT-PCR, Lightcycler 480 II cihazında gerçekleştirilmiş olup hasta ve kontrol grubundaki her bir örnek "Lightcycler 480 release 1.5.0 SP4 software" programında değerlendirilmiştir. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin tamamında hedef genler ile referans genlerin eksprese olduğu gözlenmiştir.

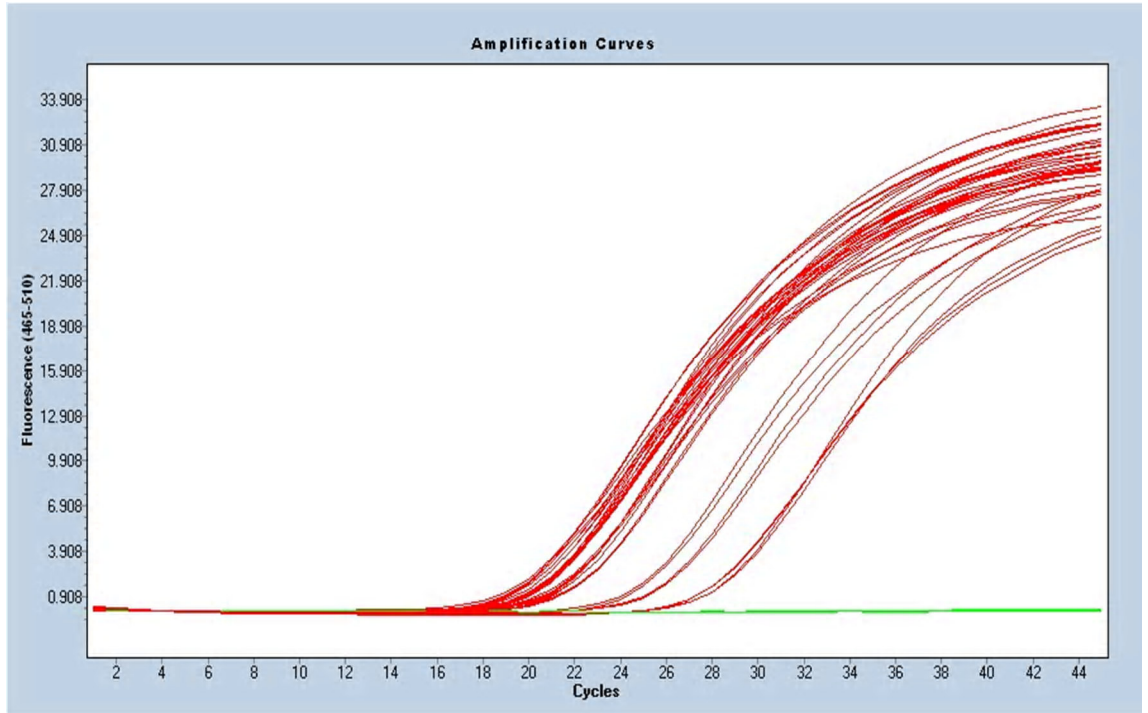
Yapılan istatistiksel analizler sonucunda hasta grubundaki *PARP1* geninin ekspresyon seviyesi kontrol grubundaki *PARP1* geninin ekspresyon seviyesiyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Ancak *DNA POL β* geninin hasta grubundaki ekspresyon seviyesi ile kontrol grubundaki ekspresyon seviyesi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grubunda cinsiyet, yaş, birey sayısı ve yüzdelik dağılımları

	Cinsiyet	Yaş	Birey sayısı (n)	Yüzdelik Dağılım (%)
Hasta Grubu	Erkek	>65	14	82,4
	Kadın	>65	3	17,6
Kontrol Grubu	Erkek	>65	12	54,5
	Kadın	>65	10	45,5

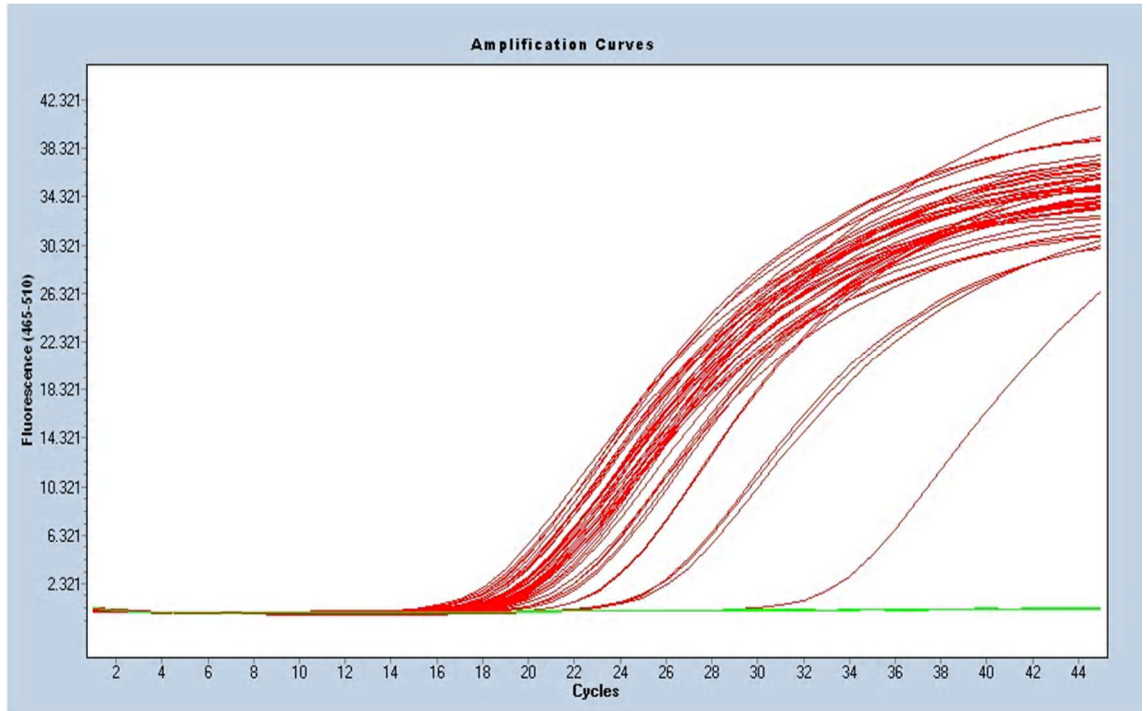


Şekil 4.1. Light Cycler 480 II cihazında gerçekleşen RT-PCR amplifikasyon eğrisi.



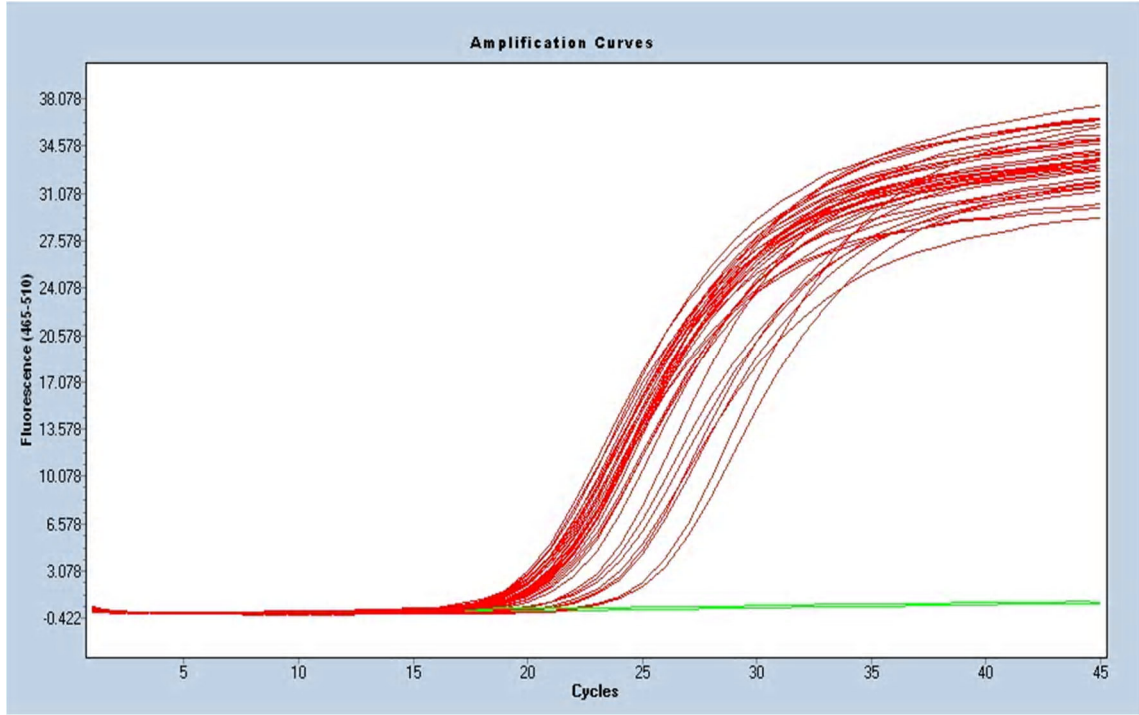
Şekil 4.2. Hasta grubundaki 17 bireyin *PARP1* geni için amplifikasyon eğrileri.

Ct değerleri: 19,75-28,58.

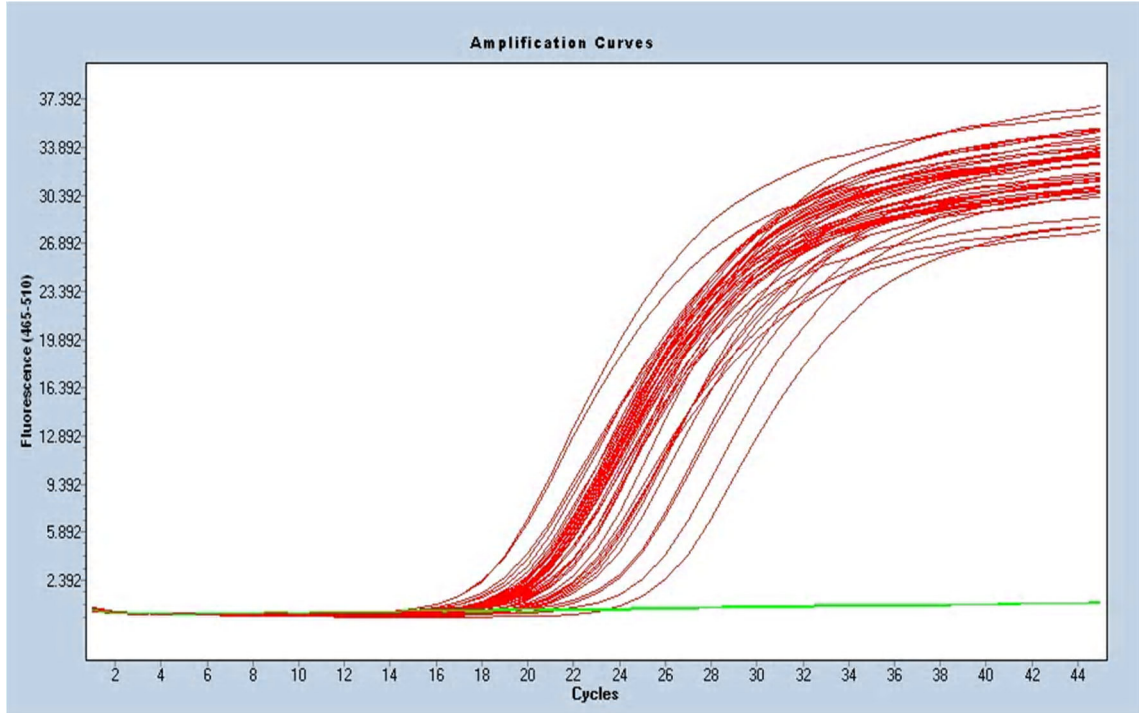


Şekil 4.3. Kontrol grubundaki 22 bireyin *PARP1* geni için amplifikasyon eğrileri.

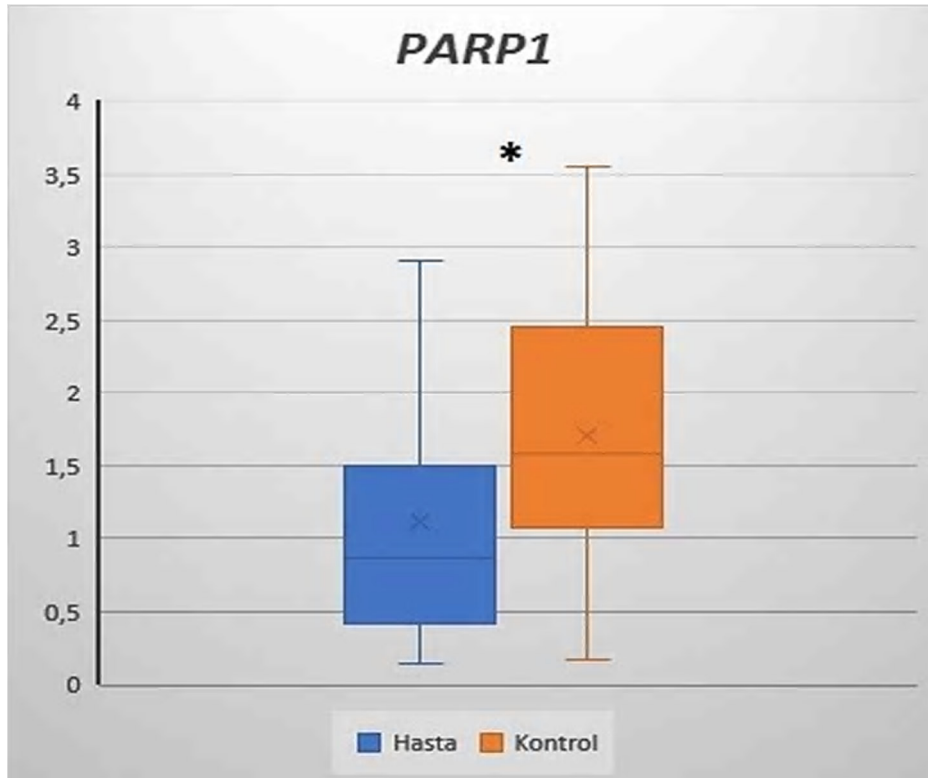
Ct değerleri: 18,15-29,76.



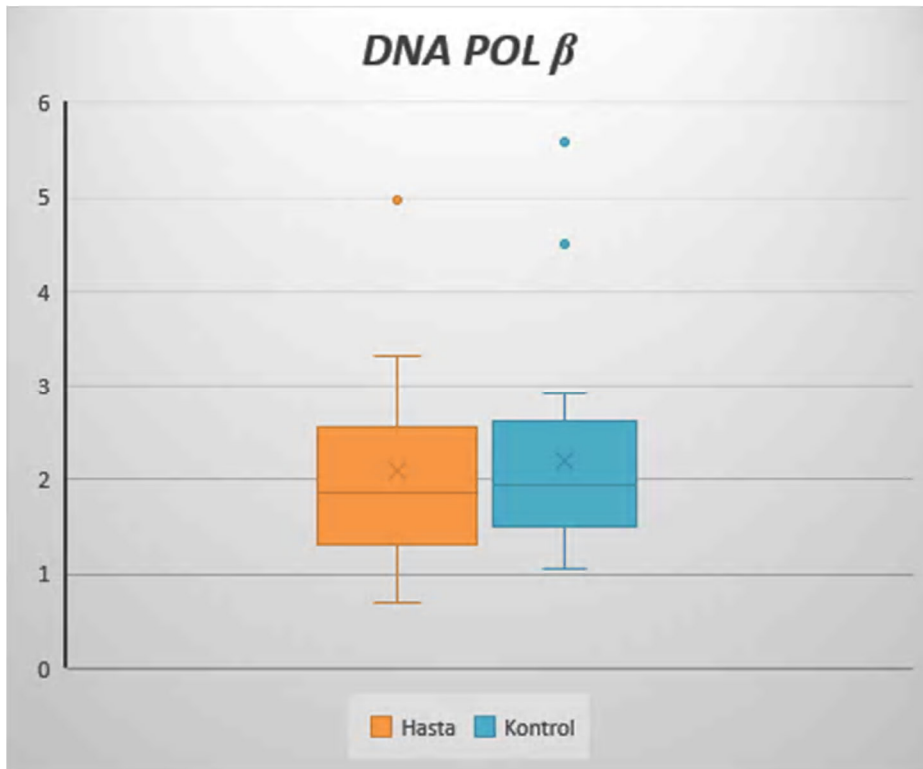
Şekil 4.4. Hasta grubundaki 17 bireyin *DNA POL β* geni için amplifikasyon eğrileri.
Ct değerleri: 20,06-25,44.



Şekil 4.5. Kontrol grubundaki 22 bireyin *DNA POL β* geni için amplifikasyon eğrileri.
Ct değerleri: 18,14-25,33.



Şekil 4.6. *PARP1* geninin hasta ve kontrol grubundaki ekspresyon değerleri. * $p < 0,05$



Şekil 4.7. *DNA POL β* geninin hasta ve kontrol grubundaki ekspresyon değerleri

Tablo 4.2. *PARP1* ve *DNA POL β* genleri için çalışma gruplarının ortalama, standart sapma ve p değerleri.

Genler	Çalışma Grubu	Ortalama ve Standart Sapma	p Değeri
<i>PARP1</i>	Hasta Grubu	1,11 $\pm$ 0,79	0,04
	Kontrol Grubu	1,7 $\pm$ 0,9	
<i>DNA POL β</i>	Hasta Grubu	2,09 $\pm$ 1,03	0,75
	Kontrol Grubu	2,2 $\pm$ 1,08	

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Birçok nörodejeneratif hastalıkta olduğu gibi Alzheimer Hastalığında da hastalığın etiyolojisinde rol oynayan etmenler oldukça komplikedir. Her ne kadar nörodejeneratif hastalıklardan sorumlu olan genlerin birçoğu ve karakteristik inklüzyonlar belirlenmiş olsa da nöronal dejenerasyona neden olan moleküler mekanizmalar tam olarak aydınlatılabilmiş değildir.

Hastalıkların sınıflandırma kriterlerinde yapılan deneysel çalışmalarla, nörodejeneratif hastalıkların, mitokondriyal disfonksiyon, sinaptik yeniden düzenlenmeler ve değişmiş protein ifadesi gibi karmaşık patojenik olaylarda ortak yollarını paylaştığı görülmüştür.

DNA hasarına yol açan iskemi, ekzitotoksisite, inflamasyon ve toksinler gibi biyolojik olaylar sonucunda PARP-1 aktive olabilmektedir. Bu aktivasyon sonucunda ise merkezi sinir sistemi hastalıklarıyla ilişkin; kolaylaştırılmış DNA onarımı, hücre ölümü ve inflamasyon gibi farklı etkilerin ortaya çıktığı görülmüştür. Baz ekzisyon tamiri ve diğer DNA onarım yollarındaki hücresel PARP-1 aktivitesinin kaldırılması ile hücrenin γ ışınları veya diğer alkilleyici ajanlarla indüklenen DNA hasarına karşı duyarlı hale geldiği daha önceki yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Ancak buna zıt olarak ağır DNA hasarı altındaki bir hücrede *PARP1* geninin over-aktivasyonunun hücrede ağır NAD^+ tüketimine yol açtığı, buna paralel olarak da NAD^+ ile ATP'nin azaldığı görülmüştür. Tüm bu proseslerin sonucunda ise hücre ölümünün gözlenmesi kaçınılmaz olmaktadır.

Literatürde *DNA Polimeraz β* eksikliğinin nörodejenerasyona neden olduğu ve Alzheimer Hastalığı fenotipinde şiddetli klinik bulgulara neden olduğu rapor edilmiştir. Bunun dışında *DNA POL β* 'nin mayoz bölünme ve DNA'daki çift zincir kırıklarının

tamirinde yer alması da önemli bir özelliktir. Bu hususta *DNA POL β* , sinapsis ve rekombinasyon ile ilişkili mayotik olaylarla ilişkilendirilmiştir (99).

Yapmış olduğumuz çalışmada *PARP1* geninin ekspresyon düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük seviyede bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda ise anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Hasta grubunda *PARP1* geninin ekspresyon seviyesinin düşük bulunmasının nedeni olarak; *PARP1*'in DNA tamirinde önemli bir role sahip olması ve nörodejeneratif hastalıkların gelişmesinde bu genin işlevsellik durumunun kaybı sonucunda hasta grubunda *PARP1* geninin ekspresyon seviyesinin düşük bulunması da oluşturduğumuz hipotezle ve literatürle uyumludur. Ancak sadece ekspresyon düzeylerine bakılarak bireylerde Alzheimer Hastalığı geliştirme riskinin olduğunu söylemek doğru olmayabilir. Bunun yanında DNA dizileme tekniklerinin kullanılmasıyla hastalarda oluşan delesyon/insersiyon gibi mutasyonlarının varlığını tespit etmek de alternatif metodlardandır. Ancak bu deneyler çalışmamızdaki bütçe sınırı nedeni ile yapılamamıştır.

Farklı dokulardaki mRNA ekspresyon profillerine bakıldığında kan ve beyin dokusunda ekspresyon seviyelerindeki fark göze çarpmaktadır. Çalışmamızda topladığımız materyal periferik kan örneği olduğu için; post-mortem beyin doku örnekleriyle çalışmak da bu aşamalarda uygun olmadığı için çalışmada birtakım kısıtlamalar mevcuttur.

Somatik veya germ-line mutasyonların incelenmesine ek olarak protein düzeyinde çalışma yapılması da daha net sonuçlar ortaya konmasına yol açabilir. Ancak çalışmadaki bütçe sınırı nedeni ile protein düzeyinde çalışmalar yapılamamıştır.

Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmiş olsa da örneklem sayısının genişletilmesiyle daha net sonuçlar ortaya konulması mümkündür.

DNA POL β geni için mRNA ekspresyon seviyesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya konamamıştır. En başta örneklem sayısının az olması (hasta

grubu 17, kontrol grubu 22 bireyden oluşmaktaydı) istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmesine engel olduğu düşünülebilir.

Her iki genin de Alzheimer Hastalığının patogenezinde etkin rol aldığı bilinmekle birlikte, gen ekspresyon profillerinin belirlenmesinin yanında sekans analizlerinin yapılması somatik ve germ-line mutasyonların tespit edilmesinde önemli fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Ayrıca yanlış anlamlı (missense) bir mutasyon sonucu kodlanan proteinin hastalık patogenezinde rolü olmakla birlikte, proteinin geçirdiği post-translasyonel modifikasyonlar da bu süreçte önem teşkil etmektedir. Çünkü proteinin işlevselliğinde proteinin geçirdiği konformasyonel değişimler proteinin hücre içindeki aktivasyonlarını etkilemektedir. Buna paralel olarak farklı sinyal yollarının aktive olmasıyla hastalığın patogenezi farklı bir şekil alabilmektedir.

Gelecekte Alzheimer Hastalığı ile ilişkisi olan diğer genlerin de tespit edilerek ve gerek *in vitro* gerek *in vivo*'da geniş çaplı araştırmaların yapılmasıyla Alzheimer Hastalarının tedavisinde yeni adımlar atılmasının mümkün hale geleceği öngörülmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Ridge PG, Ebbert MT, Kauwe JS. Genetics of Alzheimer's disease. *Biomed Res Int* 2013; 2013:1-12.
2. Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2010; 362(4): 329-344.
3. Hirtz D, Thurman DJ, Gwinn-Hardy K, et al. How common are the "common" neurologic disorders? *Neurology* 2007; 68(5):326-337.
4. den Dunnen WF, Brouwer WH, Bijlard E, et al. No disease in the brain of a 115-year-old woman. *Neurobiol Aging* 2008; 29(8):1127-1132.
5. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet* 2006; 368(9533):387-403.
6. Patterson C, Feightner JW, Garcia A, et al. Diagnosis and treatment of dementia: 1. Risk assessment and primary prevention of Alzheimer disease. *CMAJ* 2008; 178(5):548-556.
7. Bertram L, McQueen MB, Mullin K, et al. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. *Nat Genet* 2007; 39(1):17-23.
8. Liu CC, Liu CC, Kanekiyo T, et al. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat Rev Neurol* 2013; 9(2):106-118.
9. Boutajangout A, Boom A, Leroy K, Brion JP. Expression of tau mRNA and soluble tau isoforms in affected and non-affected brain areas in Alzheimer's disease. *FEBS Lett* 2004; 576(1-2):183-189.
10. Medina M, Hernandez F, Avila J. New Features about Tau Function and Dysfunction. *Biomolecules* 2016; 6(2):1-12.

11. Li S, Cui Z, Meng X. Knockdown of PARP-1 Inhibits Proliferation and ERK Signals, Increasing Drug Sensitivity in Osteosarcoma U2OS Cells. *Oncol Res* 2016; 24(4):279-286.
12. Kraus WL, Hottiger MO. PARP-1 and gene regulation: progress and puzzles. *Mol Aspects Med* 2013; 34(6):1109-1123.
13. Langelier MF, Pascal JM. PARP-1 mechanism for coupling DNA damage detection to poly(ADP-ribose) synthesis. *Curr Opin Struct Biol* 2013; 23(1): 134-143.
14. Zhou T, Pan F, Cao Y, Han Y, et al. R152C DNA Pol beta mutation impairs base excision repair and induces cellular transformation. *Oncotarget* 2016; 7(6): 6902-6915.
15. Teplow DB. Molecular Biology of Neurodegenerative Diseases. 2012: Elsevier Science, 2012: p101-113.
16. Wada K. Neurodegenerative Disorders as Systemic Diseases. 2015: Springer Japan. 2015: p117-129.
17. Montie HL, Durcan TM. The cell and molecular biology of neurodegenerative diseases: an overview. *Front Neurol* 2013; 4:194.
18. Kerrigan TL, Randall AD. A new player in the "synaptopathy" of Alzheimer's disease - arc/arg 3.1. *Front Neurol* 2013; 4:9.
19. Kovacs GG. Molecular Pathological Classification of Neurodegenerative Diseases: Turning towards Precision Medicine. *Int J Mol Sci* 2016; 17(2).
20. Kovacs GG. Neuropathology of Neurodegenerative Diseases Book and Online. 2014: Cambridge University Press.
21. Carrell RW, Lomas DA. Conformational disease. *Lancet* 1997; 350(9071):134-138.
22. Kuusisto E, Kauppinen T, Alafuzoff I. Use of p62/SQSTM1 antibodies for neuropathological diagnosis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2008; 34(2):169-180.
23. Lim KL, Zhang CW. Molecular events underlying Parkinson's disease - an interwoven tapestry. *Front Neurol* 2013; 4:33.
24. Keskin AO, Uncu G, Tanburoğlu A, Adapınar DÖ. Yaşlanma ve Yaşlılıkla İlgili Nörolojik Hastalıklar/Aging and Senility Related Neurologic Diseases. *Osmangazi Journal Of Medicine* 2016; 38:75-82.
25. Karan MA. Yaşlanma ve Yaşlı, in *Nöroloji Temel Kitabı*. 2013.

26. Gurvit H, Emre M, Tinaz S, et al. The prevalence of dementia in an urban Turkish population. *Am J Alzheimers Dis Other Dement* 2008; 23(1):67-76.
27. Barrett JJ, Haley WE, Harrell LE, Powers RE. Knowledge about Alzheimer disease among primary care physicians, psychologists, nurses, and social workers. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1997; 11(2):99-106.
28. Carr DB, Gray S, Baty J, Morris JC. The value of informant versus individual's complaints of memory impairment in early dementia. *Neurology* 2000; 55(11): 1724-1726.
29. Tsoi KK, Chan JY, Hirai HW, et al. Cognitive Tests to Detect Dementia: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Intern Med* 2015; 175(9):1450-1458.
30. Crum RM, Anthony JC, Bassett SS, Folstein MF. Population-based norms for the Mini-Mental State Examination by age and educational level. *JAMA* 1993; 269(18):2386-2391.
31. Royall DR, Cordes JA, Polk M. CLOX: an executive clock drawing task. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64(5):588-594.
32. Farrer LA, Brin MF, Elsas L, et al. Statement on use of apolipoprotein e testing for alzheimer disease. *JAMA* 1995; 274(20):1627-1629.
33. Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, et al. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2001; 56(9): 1143-1153.
34. Humpel C. Identifying and validating biomarkers for Alzheimer's disease. *Trends Biotechnol* 2011; 29(1):26-32.
35. Alonso Vilatela ME, Lopez-Lopez M, Yescas-Gomez P. Genetics of Alzheimer's disease. *Arch Med Res* 2012; 43(8):622-631.
36. Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's disease. *Science* 2006; 314(5800):777-781.
37. Hanoğlu L, Arpacı B. Alzheimer Hastalığının Klinik Tanısı. *Düşünen Adam Dergisi* 1992;58-60.
38. Hebert LE, Scherr PA, Bienias JL, et al. Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 census. *Arch Neurol* 2003; 60(8):1119-1122.

39. Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Tsuang DW. Genetics of Alzheimer disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 2010; 23(4):213-227.
40. Battaloğlu E, Başak AN. Kompleks hastalık genetiği: Güncel kavramlar ve nörolojik hastalıkların tanısında kullanılan genomik yöntemler. *Klinik Gelişim Dergisi* 2010; 23:128-133.
41. Özpak L, Pazarbaşı A, Keser N. Alzheimer hastalığının genetiği ve epigenetiği. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2017; 26(1):34-49.
42. Bertram L, Tanzi RE. The genetic epidemiology of neurodegenerative disease. *J Clin Invest* 2005; 115(6):1449-1457.
43. Wisniewski KE, Wisniewski HM, Wen GY. Occurrence of neuropathological changes and dementia of Alzheimer's disease in Down's syndrome. *Ann Neurol* 1985; 17(3):278-282.
44. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 2009; 461(7265):747-753.
45. McClellan J, King MC. Genetic heterogeneity in human disease. *Cell* 2010; 141(2): 210-217.
46. Tucker T, Marra M, Friedman JM. Massively parallel sequencing: the next big thing in genetic medicine. *Am J Hum Genet* 2009; 85(2):142-154.
47. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 1991; 349(6311):704-706.
48. Brouwers N, Sleegers K, Engelborghs S, et al. Genetic risk and transcriptional variability of amyloid precursor protein in Alzheimer's disease. *Brain* 2006; 129(Pt 11): 2984-2991.
49. Rovelet-Lecrux A, Hannequin D, Raux G, et al. APP locus duplication causes autosomal dominant early-onset Alzheimer disease with cerebral amyloid angiopathy. *Nat Genet* 2006; 38(1):24-26.
50. Verma M, Vats A, Taneja V. Toxic species in amyloid disorders: Oligomers or mature fibrils. *Ann Indian Acad Neurol* 2015; 18(2):138-145.
51. Poduslo JF, Howell KG, Olson NC, et al. Alzheimer's disease amyloid beta-protein mutations and deletions that define neuronal binding/internalization as early stage nonfibrillar/fibrillar aggregates and late stage fibrils. *Biochemistry* 2012; 51(19):3993-4003.

52. Jonsson T, Atwal JK, Steinberg S, et al. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature* 2012; 488(7409): 96-99.
53. Van Broeckhoven C, Backhovens H, Cruts M, et al. Mapping of a gene predisposing to early-onset Alzheimer's disease to chromosome 14q24.3. *Nat Genet* 1992; 2(4):335-339.
54. Mullan M, Houlden H, Windelspecht M, et al. A locus for familial early-onset Alzheimer's disease on the long arm of chromosome 14, proximal to the alpha 1-antichymotrypsin gene. *Nat Genet* 1992; 2(4):340-342.
55. Steiner H, Fluhner R, Haass C. Intramembrane proteolysis by gamma-secretase. *J Biol Chem* 2008; 283(44):29627-29631.
56. Meraz-Rios MA, Franco-Bocanegra D, Toral Rios D, Campos-Pena V. Early onset Alzheimer's disease and oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev* 2014; 2014:1-14.
57. Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, et al. Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum. *Am J Hum Genet* 1999; 65(3):664-670.
58. Moehlmann T, Winkler E, Xia X, et al. Presenilin-1 mutations of leucine 166 equally affect the generation of the Notch and APP intracellular domains independent of their effect on Abeta 42 production. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(12):8025-8030.
59. Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995; 269(5226):973-977.
60. Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, et al. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* 1995; 376(6543):775-778.
61. Binetti G, Signorini S, Squitti R, et al. Atypical dementia associated with a novel presenilin-2 mutation. *Ann Neurol* 2003; 54(6):832-836.
62. Cruts M, van Duijn CM, Backhovens H, et al. Estimation of the Genetic Contribution of Presenilin-1 and -2 Mutations in a Population-Based Study of Presenile Alzheimer Disease. *Human Molecular Genetics* 1998; 7(1):43-51.
63. Baulac S, LaVoie MJ, Kimberly WT, et al. Functional gamma-secretase complex assembly in Golgi/trans-Golgi network: interactions among presenilin,

- nicastrin, Aph1, Pen-2, and gamma-secretase substrates. *Neurobiol Dis* 2003; 14(2):194-204.
64. Park MH, Choi DY, Jin HW, et al. Mutant Presenilin 2 Increases β -Secretase Activity Through Reactive Oxygen Species–Dependent Activation of Extracellular Signal–Regulated Kinase. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 2012; 71(2):130-139.
 65. Gama Sosa MA, De Gasperi R, Elder GA. Modeling human neurodegenerative diseases in transgenic systems. *Hum Genet* 2012; 131(4):535-563.
 66. Busche MA, Chen X, Henning HA, et al. Critical role of soluble amyloid-beta for early hippocampal hyperactivity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(22):8740-8745.
 67. Kim J, Basak JM, Holtzman DM. The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron* 2009; 63(3):287-303.
 68. Corder E, Saunders A, Strittmatter W, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993; 261(5123):921-923.
 69. Strittmatter WJ, Weisgraber KH, Huang DY, et al. Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid beta peptide: isoform-specific effects and implications for late-onset Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1993; 90(17):8098-8102.
 70. Mahley RW, Rall SC, Jr. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2000; 1:507-537.
 71. Mastroeni D, Grover A, Delvaux E, et al. Epigenetic mechanisms in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2011; 32(7):1161-1180.
 72. Pastor P, Roe CM, Villegas A, et al. Apolipoprotein Eepsilon4 modifies Alzheimer's disease onset in an E280A PS1 kindred. *Ann Neurol* 2003; 54(2): 163-169.
 73. Caselli RJ, Dueck AC, Osborne D, et al. Longitudinal modeling of age-related memory decline and the APOE epsilon4 effect. *N Engl J Med* 2009; 361(3): 255-263.
 74. Ward A, Crean S, Mercaldi CJ, et al. Prevalence of apolipoprotein E4 genotype and homozygotes (APOE e4/e4) among patients diagnosed with Alzheimer's

- disease: a systematic review and meta-analysis. *Neuroepidemiology* 2012; 38(1): 1-17.
75. Castano EM, Prelli F, Wisniewski T, et al. Fibrillogenesis in Alzheimer's disease of amyloid beta peptides and apolipoprotein E. *Biochem J* 1995; 306 (Pt 2): 599-604.
 76. Wisniewski T, Castano EM, Golabek A, et al. Acceleration of Alzheimer's fibril formation by apolipoprotein E in vitro. *Am J Pathol* 1994; 145(5):1030-1035.
 77. Rebeck GW, Cheung BS, Growdon WB, et al. Lack of independent associations of apolipoprotein E promoter and intron 1 polymorphisms with Alzheimer's disease. *Neuroscience letters* 1999; 272(3):155-158.
 78. Rebeck GW, Reiter JS, Strickland DK, Hyman BT. Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: allelic variation and receptor interactions. *Neuron* 1993; 11(4):575-580.
 79. Burkle A. Poly(ADP-ribose). The most elaborate metabolite of NAD⁺. *FEBS J* 2005; 272(18):4576-4589.
 80. Ame JC, Spenlehauer C, de Murcia G. The PARP superfamily. *Bioessays* 2004; 26(8):882-893.
 81. Burkle A, DNA repair and PARP in aging. *Free Radic Res* 2006; 40(12): 1295-1302.
 82. Kauppinen TM, Swanson RA. The role of poly(ADP-ribose) polymerase-1 in CNS disease. *Neuroscience* 2007; 145(4):1267-1272.
 83. d'Adda di Fagagna F, Hande MP, Tong WM, et al. Effects of DNA nonhomologous end-joining factors on telomere length and chromosomal stability in mammalian cells. *Curr Biol* 2001; 11(15):1192-1196.
 84. Martire S, Mosca L, d'Erme M. PARP-1 involvement in neurodegeneration: A focus on Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Mech Ageing Dev* 2015; 146-148:53-64.
 85. Virág L, Szabó C, The Therapeutic Potential of Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitors. *Pharmacological Reviews* 2002; 54(3):375-429.
 86. Mitra S, Boldogh I, Izumi T, Hazra TK. Complexities of the DNA base excision repair pathway for repair of oxidative DNA damage. *Environ Mol Mutagen* 2001; 38(2-3):180-190.

87. Ghavami S, Shojaei S, Yeganeh B, et al. Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders. *Prog Neurobiol* 2014; 112:24-49.
88. Rhein V, Song X, Wiesner A, et al. Amyloid-beta and tau synergistically impair the oxidative phosphorylation system in triple transgenic Alzheimer's disease mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(47):20057-20062.
89. Modis K, Gero D, Erdelyi K, et al., Cellular bioenergetics is regulated by PARP1 under resting conditions and during oxidative stress. *Biochem Pharmacol* 2012; 83(5):633-643.
90. Beard WA, Wilson SH. Structure and mechanism of DNA polymerase Beta. *Chem Rev* 2006; 106(2):361-382.
91. Idriss HT, Al-Assar O, Wilson SH. DNA polymerase β . *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2002; 34(4):321-324.
92. Goellner EM, Svilar D, Almeida KH, Sobol RW. Targeting DNA polymerase β for therapeutic intervention. *Curr Mol Pharmacol* 2012; 5(1):68-87.
93. Sobol RW, Wilson SH, Mammalian DNA β -polymerase in base excision repair of alkylation damage. *Progress In Nucleic Acid Research and Molecular Biology* 2001; 68:57-74.
94. Steitz TA. DNA polymerases: structural diversity and common mechanisms. *Journal of Biological Chemistry* 1999; 274(25):17395-17398.
95. Dianov GL, Prasad R, Wilson SH, Bohr VA. Role of DNA polymerase β in the excision step of long patch mammalian base excision repair. *Journal of Biological Chemistry* 1999; 274(20):13741-13743.
96. Plug AW, Clairmont CA, Sapi E, et al. Evidence for a role for DNA polymerase beta in mammalian meiosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(4):1327-1331.
97. Parikh SS, Mol CD, Tainer JA. Base excision repair enzyme family portrait: integrating the structure and chemistry of an entire DNA repair pathway. *Structure* 1997; 5(12):1543-1550.
98. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25(4):402-408.
99. Sykora P, Misiak M, Wang Y, et al. DNA polymerase beta deficiency leads to neurodegeneration and exacerbates Alzheimer disease phenotypes. *Nucleic Acids Res* 2015; 43(2):943-959.

100. WEB_1. (2017). Genecard. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PARP1&keywords=PARP1#expression> (24.06.2017).
101. WEB_2. (2017). Genecard. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=POLB&keywords=DNA,POLB> (27.06.2017).
102. WEB_3. (2017). Bio-Rad. <http://www.bio-rad.com/en-tr/applications-technologies/what-real-time-pcr-qpcr> (30.06.2017).

EKLER

ETİK KURUL KARARI

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Alzheimer hastalığı'nda PARP1 ve DNA Pol β m RNA ekspresyonlarının araştırılması		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU				
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	ERCIYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
	AÇIK ADRES	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı/Melikgazi/KAYSERİ		
	TELEFON	0 352 437 49 10 - 11		
	FAKS	0 352 437 52 55		
	E-POSTA	byancar@erciyes.edu.tr		
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI / ADI / SOYADI	Prof.Dr.Münir Dündar		
	KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Genetik		
	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Kayseri		
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ ADI SOYADI			
	DESTEKLEYİCİ			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TUBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMCİLCİSİ			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐	
		FAZ 2	☐	
		FAZ 3	☐	
FAZ 4		☐		
Gözetimsel ilaç çalışması		☐		
Tıbbi cihaz klinik araştırması		☐		
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐		
İlaç dışı klinik araştırma		☒		
Diğer ise belirtiniz	Yüksek Lisans Tezi			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEKMERKEZ ☒	ÇOKMERKEZ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanının
Ünvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ruhan DÜŞÜNSEL
İmza:

[Signature]

ASLI GİBİDİR



[Signature]

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Alzheimer hastalığı'nda PARP1 ve DNA Pol β m RNA ekspresyonlarının araştırılması					
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU							
DEĞERLEN DİRLEN BELGELER	BELGE ADI	Tarihi	Version Numarası	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	BELGE ADI	Açıklama					
	SİGORTA	☐					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐					
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐					
	İLAN	☐					
	YILLIK BİLDİRİM	☐					
	SONUÇ RAPORU	☐					
	GÜVENLİK BİLDİRİMLERİ	☐					
DİĞER	☐						
KARAR BİLGİLERİ	Karar No :	2016/433	Tarih :	29.07.2016			
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gereği, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ruhan DÜŞÜNSEL

Unvanı / Adı Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti	Araştırma ile İlişki	Katılım (*)	İmza
Prof. Dr. Ruhan DÜŞÜNSEL	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Sami AYDOĞAN	Fizyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Salih KUK	Tıbbi Parazitoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Prof. Dr. Kemal DENİZ	Patoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Musa KARAKÜKÇÜ	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Aydın ÜNAL	İç Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Güven KAHRİMAN	Radyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Kemal ÖZYURT	Dermatoloji	Kayseri Eğitim Hast.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Emin Murat CANGER	Ağır, Diş ve Çene Radyolojisi	E.Ü. Diş Hek. Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Cihangir BİÇER	Anest. ve Rean.	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yard. Doç. Dr. Zafer SEZER	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yard. Doç. Dr. Gökmen ZARARSIZ	Biyoistatistik	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Av. Serhat ÜSTÜNEL	Avukat	Hukuk Müşaviri	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Ecz. Şükran TERZİ	Eczacı	Serbest Eczacı	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Serkan KARACA	Sivil Üye	Öğretmen	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	

* Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ruhan DÜŞÜNSEL
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır

Tez

ORIGINALITY REPORT

8%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	dergipark.ulakbim.gov.tr Internet	833 words — 6%
2	acikerisim.deu.edu.tr Internet	35 words — < 1%
3	www.itfnoroloji.org Internet	33 words — < 1%
4	Alonso Vilatela, María Elisa, Marisol López-López, and Petra Yescas-Gómez. "Genetics of Alzheimer's Disease", Archives of Medical Research, 2012. Crossref	32 words — < 1%
5	Gatz, Margaret, Jung Yun Jang, Ida K. Karlsson, and Nancy L. Pedersen. "Dementia: Genes, Environments, Interactions", Behavior Genetics of Cognition Across the Lifespan, 2014. Crossref	22 words — < 1%
6	bilimcelli.blogspot.com Internet	19 words — < 1%

BİLGİLENDİRİLMİŞ HASTA GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)

BİLGİLENDİRME

“Alzheimer Hastalığı’nda *PARP1* ve *DNA Pol β* mRNA ekspresyonlarının araştırılması” isimli çalışmamız bir araştırma çalışmasıdır. Araştırmamızın amacı Alzheimer Hastalığı etiopatogenezinde rol oynayabilecek *PARP1* ve *DNA Pol β* genlerinin ekspresyonunun ilişkisi araştırmaktır. Araştırmaya Alzheimer (bunama) Hastalığı olan ve olmayan toplam 60 gönüllü dahil edilecektir. Siz **hasta** grubuna dahil edilmektesiniz. Araştırmaya katılmayı kabul eden gönüllülerden, klinik muayene sonrasında periferik kandan yaklaşık olarak 10 ml kan örneği alınacaktır. Elde edilen kan örneklerinden Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda genetik analizler yapılacak ve veriler analiz edilerek bu hastalarda hedef gendeki genetik değişiklikler belirlenecektir. Araştırma size zarar verebilecek herhangi bir risk içermemekte, yapılacak olan testlerin insan sağlığına zararlı bir etkisi bulunmamaktadır. Araştırmaya katılım tamamen isteğe bağlı olmakla birlikte gönüllüler istediği zaman, bir cezaya ya da yaptırıma maruz kalmadan, hiçbir hakkını kaybetmeksizin, araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çıkabilir. Gönüllülerin kimliğini ortaya koyacak kayıtlar gizli tutulacak, araştırmanın sonuçlarının yayımlanması halinde bile gönüllünün kimliği gizli kalacaktır. Bu işlemlerin hiçbir aşamasında sizden ücret talep edilmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Çalışma boyunca size herhangi bir başka girişimsel işlem yapılmayacaktır. Ancak yeterli DNA ve mRNA kalitesine ve miktarına ulaşamadığı durumlarda sizden izniniz doğrultusunda tekrar kan vermeniz istenebilir.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. Düşük ihtimalle de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski bulunmaktadır.

Genetik testlerin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalması için alınan materyaller Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda muhafaza edilecektir. Materyaller üzerinde kimliğinizi açığa çıkaracak herhangi bir bilgi yazılmayacaktır. Materyaller üzerine nümerik kodlama yapılarak

etiketlendirme yapılacaktır. Ancak yapılan testler sonucunda sizin veya ailenizin fertlerinden birisinin ilerde bu hastalıktan etkilenebileceği ortaya çıkabilir. Bu bilginin ortaya çıkması sizi ekonomik ve sosyal yönden olumsuz etkileyebileceği gibi hastalık durumu sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Araştırma sonucundaki bilgileri sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izniniz doğrultusunda olacaktır. Genetik testlerin bir diğer önemli riski de anne ya da babanın biyolojik kimliğinin saptanmasıdır. Bu durumlarda da gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

Belirtilen durumlar araştırmada yaşanabilecek potansiyel riskleri içermektedir. Bu risklerden etkilenmemeniz için çalışma süresince alınan materyalleriniz kilit altında ve bilgileriniz şifrelenmiş dosya ve bilgisayarlarda muhafaza edilecektir. Çalışma sonrasında sizden alınan materyal imha edilecektir.

Araştırma süresince 24 saat ulaşabileceğiniz araştırmacı:

Sercan Kenanoğlu

Telefon:0543 765 9534

GÖNÜLLÜ OLURU

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana ve yakınıma, konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama, aşağıda adı belirtilen kişi tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli ve ya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Bu formun bir nüshası araştırmacı tarafından bana verilmiştir.

“Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum”.

**Gönüllünün
(Yakınının)**

Adı Soyadı:
İmzası:
Tarih:

Gerekiyorsa Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin

Adı Soyadı:
İmzası:
Tarih:

Açıklamaları Yapan Kişinin

Adı Soyadı:
İmzası:
Tarih:

Gerekiyorsa Yasal Temsilcinin

Adı Soyadı:
İmzası:
Tarih:

BİLGİLENDİRİLMİŞ SAĞLIKLI GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)

BİLGİLENDİRME

“Alzheimer Hastalığı’nda *PARP1* ve *DNA Pol β* mRNA ekspresyonlarının araştırılması” isimli çalışmamız bir araştırma çalışmasıdır. Araştırmamızın amacı Alzheimer hastalığı etiyopatogenezinde rol oynayabilecek *PARP1* ve *DNA Pol β* genlerinin ekspresyonunun ilişkisi araştırmaktır. Araştırmaya Alzheimer (bunama) hastalığı olan ve olmayan toplam 60 gönüllü dahil edilecektir. Siz **sağlıklı kontrol** grubuna dahil edilmektesiniz. Araştırmaya katılmayı kabul eden gönüllülerden, klinik muayene sonrasında periferik kandan yaklaşık olarak 10 ml kan örneği alınacaktır. Elde edilen kan örneklerinden Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda genetik analizler yapılacak ve veriler analiz edilerek bu hastalarda hedef gendeki genetik değişiklikler belirlenecektir. Araştırma size zarar verebilecek herhangi bir risk içermemekte, yapılacak olan testlerin insan sağlığına zararlı bir etkisi bulunmamaktadır. Araştırmaya katılım tamamen isteğe bağlı olmakla birlikte gönüllüler istediği zaman, bir cezaya ya da yaptırıma maruz kalmadan, hiçbir hakkını kaybetmeksizin, araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çıkabilir. Gönüllülerin kimliğini ortaya koyacak kayıtlar gizli tutulacak, araştırmanın sonuçlarının yayımlanması halinde bile gönüllünün kimliği gizli kalacaktır. Bu işlemlerin hiçbir aşamasında sizden ücret talep edilmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Çalışma boyunca size herhangi bir başka girişimsel işlem yapılmayacaktır. Ancak yeterli DNA ve mRNA kalitesine ve miktarına ulaşılamadığı durumlarda sizden izniniz doğrultusunda tekrar kan vermeniz istenebilir.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. Düşük ihtimalle de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski bulunmaktadır.

Genetik testlerin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalması için alınan materyaller Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda muhafaza edilecektir. Materyaller üzerinde kimliğinizi açığa çıkaracak

herhangi bir bilgi yazılmayacaktır. Materyaller üzerine nümerik kodlama yapılarak etiketlendirme yapılacaktır. Ancak yapılan testler sonucunda sizin veya ailenizin fertlerinden birisinin ilerde bu hastalıktan etkilenebileceği ortaya çıkabilir. Bu bilginin ortaya çıkması sizi ekonomik ve sosyal yönden olumsuz etkileyebileceği gibi hastalık durumu sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Araştırma sonucundaki bilgileri sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izniniz doğrultusunda olacaktır. Genetik testlerin bir diğer önemli riski de anne ya da babanın biyolojik kimliğinin saptanmasıdır. Bu durumlarda da gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

Belirtilen durumlar araştırmada yaşanabilecek potansiyel riskleri içermektedir. Bu risklerden etkilenmemeniz için çalışma süresince alınan materyalleriniz kilit altında ve bilgileriniz şifrelenmiş dosya ve bilgisayarlarda muhafaza edilecektir. Çalışma sonrasında sizden alınan materyal imha edilecektir.

Araştırma süresince 24 saat ulaşabileceğiniz araştırmacı:

Sercan Kenanoğlu

Telefon:0543 765 9534

GÖNÜLLÜ OLURU

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana ve yakınıma, konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama, aşağıda adı belirtilen kişi tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli ve ya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Bu formun bir nüshası araştırmacı tarafından bana verilmiştir.

“Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum”.

**Gönüllünün
(Yakınının)**

Adı Soyadı:
İmzası:
Tarih:

Gerekiyorsa Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin

Adı Soyadı:
İmzası:
Tarih:

Açıklamaları Yapan Kişinin

Adı Soyadı:
İmzası:
Tarih:

Gerekiyorsa Yasal Temsilcinin

Adı Soyadı:
İmzası:
Tarih:

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Sercan KENANOĞLU

Uyruğu: Türkiye (T.C.)

Doğum Tarihi ve Yeri: 10 Aralık 1992, Kocasinan

Medeni Durumu: Bekâr

Tel: +90 543 765 95 34

E-mail: sercankenan@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	ERÜ Sağlık Bilimleri Estitüsü Tıbbi Genetik AD	2015 –
Lisans	Haliç Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik	2014
Lise	TED Kayseri Koleji Vakfı Özel Lisesi	2010

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
07–08/2012	Kayseri Acıbadem Hastanesi Biyokimya ve Mikrobiyoloji Laboratuvarı	Stajyer Öğrenci
07–08/2013	İstanbul Acıbadem Genetik Tanı Merkezi	Stajyer Öğrenci
2015 – 2016	Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Laboratuvarı	Öğrenci Personel
2016 – halen	Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)	Bursiyer Öğrenci

YABANCI DİL

İngilizce