



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Fizyoloji Anabilimdalı
Fizyoloji

[Doktora Tezi]

**ALZHEİMER HASTALIĞININ YENİ BİR ADİPOKİN OLAN ASPROSİN İLE
İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mehmet Akif YAZAR
ORCID: 0000-0002-3415-1363

Danışman
Prof. Dr. Selim KUTLU
ORCID: 0000-0001-9257-4797

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 211418003 proje numarası ile desteklenmiştir.

Konya – 2025



ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanma sürecinde, bilgi ve deneyimleriyle her aşamada yanımda olan, akademik rehberliği ve özverili desteğiyle bu çalışmanın hayata geçirilmesini sağlayan kıymetli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Selim KUTLU'ya en derin şükranlarımı sunarım. Serum ve doku numunelerinin analizinde bana yol gösteren ve değerli katkılarıyla çalışmamı zenginleştiren Sayın Prof. Dr. Ercan KURAR ve Sayın Doç. Dr. Canan EROĞLU GÜNEŞ'e teşekkürü bir borç bilirim. Deney hayvanları çalışmalarında bilgisi, ilgisi ve emeğiyle bana destek olan Sayın Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER'e ve bu süreçteki desteklerinden dolayı KONÜDAM Müdürlüğüne içten teşekkürlerimi iletmek isterim.

Fizyoloji Anabilim Dalı'ndaki eğitim sürecim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle beni destekleyen, vizyon ve ilhamlarıyla akademik yolculuğuma rehberlik eden Sayın Prof. Dr. Zülfikare IŞIK SOLAK GÖRMÜŞ'e, Sayın Doç. Dr. Faik ÖZDENGÜL'e, Sayın Öğr. Gör. Dr. Ayşe ÖZDEMİR'e ve Sayın Öğr. Gör. Dr. Raviye ÖZEN KOCA'ya teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca, tezimin insan araştırmaları sürecinde bana değerli desteklerini sunan Sayın Doç. Dr. Hüseyin KURKU ve Sayın Doç. Dr. Faruk Ömer ODABAŞ'a gönülden teşekkür ederim.

Bu zorlu ve yoğun süreçte manevi desteğiyle her zaman yanımda olan, sabrı ve sevgisiyle bana güç veren kıymetli eşim Uzm. Dr. Güzide YAZAR'a en içten şükranlarımı sunarım. Aynı şekilde, bana her zaman neşe ve umut kaynağı olan sevgili kızlarım Zeynep, Hale ve Esmâ YAZAR'a, çalışmalarım sırasında göstermiş oldukları anlayış ve sevgiden dolayı sonsuz teşekkür ediyorum.

Bu çalışmanın ortaya çıkmasında emeği geçen herkese, destekleri ve katkılarıyla akademik yolculuğumda bir iz bırakan tüm değerli hocalarıma, meslektaşlarıma ve aileme sonsuz minnettarım.

Mehmet Akif YAZAR
Ocak 2025

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TEZ ONAY SAYFASI	vi
TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU	vii
BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ	viii
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Demans.....	3
2.2. Alzheimer Hastalığı.....	3
2.2.1. Alzheimer hastalığının patofizyolojisi	4
2.2.2. Alzheimer hastalığının klinik seyri	4
2.3. Alzheimer Hastalığının Bazı Hormon ve Nörotransmitterler ile İlişkisi	5
2.4. Asprosin	6
2.5. Deneysel AH Modelleri	7
2.5.1. Deneysel AH'de kullanılan öğrenme ve bellek testleri.....	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM	13
3.1. Hayvan Modellemesi.....	13
3.1.1. Çalışma dizaynı	13
3.1.2. Alzheimer modelinin oluşturulması	14
3.1.3. Morris su labirenti deneyinin (davranış testinin) uygulanışı.....	17
3.1.4. Asprosin ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi.....	18
3.2. İnsan Deney Modellemesi	20
3.2.1. Çalışma dizaynı	20
3.2.2. Ölçümler.....	21
3.3. İstatistiksel Analizler.....	22
4. BULGULAR	23
4.1. Hayvan Davranış Test Sonuçları.....	23
4.1.1. Altıncı gün hedef kadranda bulunma süreleri	24
4.1.2. Altıncı gün hedef kadrandan geçiş sayısı	24
4.1.3. Altıncı gün hedef kadrana ulaşma süresi.....	25
4.1.4. Altıncı gün hedef kadrana ulaşmak için kat edilen mesafe	25
4.1.5. Altıncı gün hedef kadrana ulaşmak için yüzme hızı	26
4.2. Hayvanların Serum ve Doku Sonuçları.....	27

4.2.1. Serum asprosin seviyeleri.....	27
4.2.2. Hipokampus Asprosin mRNA Düzeyinde Ekspresyonu	27
4.2.3. Frontal Korteks Asprosin mRNA Ekspresyonu	27
4.3. İnsan Deneklerin Sonuçları	28
4.3.1. Demografik veriler	29
4.3.2. Metabolik ve biyokimyasal sonuçlar.....	30
4.3.3. Serum asprosin ölçümleri.....	31
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	35
6.1. Sonuç.....	35
6.2. Öneriler.....	35
7. KAYNAKLAR.....	36
8. EKLER.....	41
8. 1. EK 1 Hayvan Deneyleri Etik Kurul Kararı	41
8.2. EK 2 İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Tıbbi Etik Kurul Kararı	42

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans/Doktora Öğrencisi **Mehmet Akif YAZAR**'nın "**Alzheimer Hastalığının Yeni Bir Adipokin Olan Asprosin ile İlişkinin Araştırılması**" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya /13/01/2025

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Selim KUTLU NEÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Zülfikare IŞIK SOLAK GÖRMÜŞ NEÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Ercan KURAR NEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Bahriye HORASANLI KTO Karatay Üniversitesi Tıp fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Mehmet ÖZ Aksaray Ün. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 15/01/2025 tarih ve 02/13 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasibe VURAL
Enstitü Müdürü

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Alzheimer Hastalığının Yeni Bir Adipokin Olan Asprosin ile İlişkisinin Araştırılması başlıklı tez çalışmamın toplam **26** sayfalık kısmına ilişkin, 16.01.2025 tarihinde tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **%3** olarak belirlenmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Tez kabul sayfası hariç
2. Tez çalışması orijinallik raporu sayfası hariç
3. Bilimsel etik beyannamesi sayfası hariç
4. Ön söz hariç
5. İçindekiler hariç
6. Simgeler ve kısaltmalar hariç
7. Materyal ve metot hariç
8. Kaynaklar hariç
9. Alıntılar dahil
10. 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tez Çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve tez çalışmamın, bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranının (%20) altında olduğunu ve intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

16/01/2025

Mehmet Akif YAZAR

Danışman Prof. Dr. Selim KUTLU

BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini, tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez hazırlama kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını ve bu kaynakların kaynaklar listesine eklendiğini beyan ederim.

13/01/2025

Mehmet Akif YAZAR

KISALTMALAR

AH	: Alzheimer Hastalığı
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AKŞ	: Açlık Kan Şekeri
BDNF	: Beyin Türevli Nörotrofik Faktör
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
BUN	: Kan Üre Azotu
Cr	: Kreatinin
DKB	: Diyastolik Kan Basıncı
ELISA	: Enzim Bağlantılı İmmunosorbent Test
FBN1	: Fibrillin 1
HOMA-IR	: Homeostatik Model Değerlendirmesi-İnsülin Direnci
İSV	: İntraserebroventriküler
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Miyeloperoksidaz
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
POMC	: Proopiomelanokortin
STZ	: Streptozotosin
SKB	: Sistolik Kan Basıncı
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi

TABLULAR LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: qPZR analizlerinde kullanılan genlerin primer dizileri.....	19
Tablo 2: NINCDS-ARDRA - Muhtemel Alzheimer hastalığı kriterleri	22
Tablo 3: Grupların günlere göre platforma ulaşma süreleri	23
Tablo 4: Altıncı gün hedef kadranda bulunma süreleri	24
Tablo 5: Altıncı gün hedef kadrandan geçiş sayısı	24
Tablo 6: Altıncı gün hedef kadrana ulaşma süresi	25
Tablo 7: Altıncı gün hedef kadrana ulaşmak için kat edilen mesafe	26
Tablo 8: Altıncı gün hedef kadrana ulaşmak için yüzme hızı	26
Tablo 9: Hastalara ait demografik veriler	29
Tablo 10: Metabolik ve Biyokimyasal Sonuçlar	30
Tablo 11: Serum asprosin düzeyleri	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: Hayvanların kafa derisinin açılıp bregmanın görünür hale getirilmesi	15
Şekil 2: Sağ lateral ventrikül koordinatları belirlemek için kullanılan atlas	16
Şekil 3: Koordinatların belirlenmesi ve belirlenen noktadan delik açılması	16
Şekil 4: Mikroenjektör yardımıyla enjeksiyonların yapılması ve cildin kapatılması	16
Şekil 5: Morris su labirenti	17
Şekil 6: Grupların günlere göre platforma ulaşma süreleri	23
Şekil 7: Altıncı gün hedef kadranda bulunma süreleri	24
Şekil 8: Altıncı gün hedef kadrandan geçiş sayısı.....	25
Şekil 9: Altıncı gün hedef kadrana ulaşma süresi	25
Şekil 10: Altıncı gün hedef kadrana ulaşmak için kat edilen mesafe	26
Şekil 11: Altıncı gün hedef kadrana ulaşmak için yüzme hızı	27
Şekil 12: Frontal korteks asprosin mRNA ekspresyon seviyeleri	28
Şekil 13: İnsan deneklerde araştırmanın akış şeması	28
Şekil 14: İnsan deneklerde serum asprosin düzeyleri.....	31

ÖZET

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Fizyoloji Anabilim Dalı
Fizyoloji
[Doktora Tezi]

ALZHEİMER HASTALIĞININ YENİ BİR ADİPOKİN OLAN ASPROSİN İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Mehmet Akif YAZAR

Konya-2025

Alzheimer hastalığı (AH), bellek, öğrenme ve bilişsel işlevlerde bozulmalara yol açan ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır. Asprosin ise enerji metabolizmasını düzenleyen, beyaz yağ dokusundan salınan bir hormondur ve metabolik süreçlerdeki rolü son yıllarda giderek daha fazla dikkat çekmektedir. Bu çalışma, Alzheimer hastalığı ile yeni bir adipokin olan asprosin arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmada, hem deneysel hayvan modelleri hem de insan denekler üzerinde asprosinin AH ile olan bağlantısı değerlendirilmiştir.

Hayvan modellemesinde, streptozotosin (STZ) kullanılarak Alzheimer hastalığı modeli oluşturulan sıçanlarda öğrenme ve bellek performansı Morris Su Labirenti testi ile değerlendirilmiştir. Hipokampus ve frontal korteks dokularında mRNA düzeyinde asprosin seviyesi qPZR ile değerlendirilmiştir. Serum ve hipokampus ve frontal korteks dokularındaki asprosin seviyeleri ölçülmüştür. İnsan deneklerde ise AH tanısı konmuş hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasında serum asprosin seviyeleri ile metabolik parametreler karşılaştırılmıştır. Doku ve serum asprosin seviyeleri ELISA yöntemiyle ölçülmüş ve istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir.

Araştırma bulgularına göre, Alzheimer modeli sıçanlarda serum asprosin seviyeleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuş, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Hipokampus ve frontal korteks dokularında asprosin mRNA ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. İnsan deneklerde, Alzheimer hastalarında serum asprosin seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu ve bu grupta insülin direnci ile vücut kitle indeksinin de daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular, asprosinin metabolik süreçlerde önemli bir role sahip olabileceğini ve insülin metabolizmasıyla ilişkili olabileceğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma, asprosinin Alzheimer hastalığındaki metabolik süreçlerle ilişkisine dair önemli veriler sağlamaktadır. Çalışma, asprosinin Alzheimer hastalığı için potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini öne sürmekte ve ileri çalışmalar için bir temel sunmaktadır. Daha geniş örneklem büyüklükleri ve uzun süreli araştırmalar, asprosinin Alzheimer hastalığındaki kesin rolünü daha ayrıntılı şekilde ortaya koyacaktır.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, asprosin, insülin direnci, metabolik süreçler.

ABSTRACT

Necmettin Erbakan University, Graduate School of Health Sciences
Department of Physiology
Physiology
[Doctoral Thesis]

INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP OF ALZHEIMER'S DISEASE WITH ASPROSIN, A NEW ADIPOKINE

Mehmet Akif YAZAR

Konya-2025

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder that leads to impairments in memory, learning, and cognitive functions. Asprosin, a hormone secreted from white adipose tissue, plays a role in regulating energy metabolism and has recently gained attention in metabolic research. This study aimed to investigate the relationship between Alzheimer's disease and asprosin, a novel adipokine. The study evaluated the association of asprosin with AD using both experimental animal models and human participants.

In the animal modeling study, learning and memory performance in rats with Alzheimer's disease model induced by streptozotocin (STZ) was evaluated using the Morris Water Maze test. The asprosin level in the hippocampus and frontal cortex tissues at the mRNA level was assessed by qPCR. Asprosin levels in serum, hippocampus, and frontal cortex tissues were measured. In human subjects, serum asprosin levels and metabolic parameters were compared between patients diagnosed with Alzheimer's disease and a healthy control group. Tissue and serum asprosin levels were measured using the ELISA method, and statistical analyses were performed.

The findings showed that serum asprosin levels in Alzheimer model rats were lower than those in the control group, although the difference was not statistically significant. Asprosin mRNA expression in the hippocampus and frontal cortex tissues was higher in the Alzheimer model group compared to the control group. Among human participants, serum asprosin levels were significantly higher in Alzheimer patients compared to the control group. Additionally, the AD group exhibited higher insulin resistance and body mass index. These results suggest that asprosin may play an important role in metabolic processes and could be linked to insulin metabolism.

In conclusion, this study provides important insights into the association of asprosin with metabolic processes in Alzheimer's disease. The findings suggest that asprosin may serve as a potential biomarker for AD and offer a foundation for further research. Larger sample sizes and long-term studies are needed to better elucidate the exact role of asprosin in Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer's disease, asprosin, insulin resistance, metabolic processes.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nörodejeneratif bir hastalık olarak bilinen Alzheimer Hastalığı (AH), tüm demans olgularının yaklaşık üçte ikisini oluşturmaktadır (Helmer ve ark., 2001). Özellikle korteks ve hipokampüste irreversible nöron kaybı ile giden AH, öğrenme, hafıza, karar verme, fiziki çevre oryantasyonu ve konuşmada progresif bir bozulma ile karakterizedir. AH'nın tanısı nörolojik muayene ve demansa neden olan diğer nedenlerin dışlanması ile konulur. Kesin tanı, otopside nöronal kayıp ve amyloid- β içeren ekstraselüler senil plaklar ve nörofibriler yumakların varlığı ile konur. AH'nın yaygınlığı, kullanılan tanı kriterlerine, nüfusun yaşına, coğrafi ve etnik kökeni gibi diğer faktörlere bağlı olarak farklılık gösterebilir. AH, 65-69 yaşları arasında yaklaşık %1'lik bir prevalansa sahipken yaş ilerledikçe bu oran hızla ilerler ve 95 yaş ve üstü kişilerde %40-50'ye yükselir (Hy ve ark., 2000). Erken başlangıçlı vakaların %7'si otozomal dominant gösteren bir kalıtıma sahiptir. Güncel tedavide, öğrenme ve hafıza ile ilişkili beyin alanlarında asetilkolin gibi kolinerjik sistemin presinaptik markerlerinin kaybına yönelik olarak asetilkolinesteraz aktivitesini inhibe eden ilaçlar kullanılmaktadır. Bu tedaviler sadece AH'nın semptomlarına yönelik olup hastalığı önleme veya geciktirme yöntemlerine odaklanan moleküler çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Asprosin, esas olarak açlık sırasında beyaz yağ dokusu tarafından sentezlenen ve salınan yeni bir glukojenik adipokindir. Fibrillin-1 (FBN1) geninin iki ekzonu (ekzon 65 ve ekzon 66) tarafından kodlanır. İlk oluşturulan proprotein, C terminal bölgesinde aktive edilmiş proteaz furin tarafından bölünür, böylece olgun fibrillin-1 ve 140-amino asit uzunluğunda olan asprosin molekülü sentezlenir. İnsülin direnci olan insanlar ve fareler, patolojik olarak yüksek plazma asprosin düzeylerine sahiptirler ve immünolojik veya genetik yollarla işlev kaybı, karaciğer glukoz salınımının azalmasına ikincil olarak derin bir glukoz ve insülin düşürücü etkiye sahiptir (Romere ve ark., 2016). Dolaşımdaki asprosin, kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçer ve oreksijenik AgRP + nöronlarını cAMP'ye bağlı bir yolla doğrudan aktive eder. Bu sinyalleşme, GABA'ya bağımlı anoreksijenik proopiomelanokortin (POMC)-pozitif nöronların inhibisyonuna neden olur. Bu inhibisyon daha sonra iştah uyarılmasına yol açar (Duerrschmid ve ark., 2017). Ayrıca asprosinin bilinmeyen bir G protein bağlı reseptör (GPCR) aracılığıyla cAMP sinyal yolunu aktive ederek hipotalamusta iştahı uyardığı ve karaciğerde glukoz üretimini tetiklediği bilinmektedir (Romere ve ark., 2016). Olfaktör reseptör (OLFR734) asprosinin bir reseptörü olarak hepatik glukoz üretimini düzenler. Kocaman ve ark, streptozosin ile oluşturulmuş diabet mellitus modellemesinde, hem kontrol grubunda hem de diabetik

ratlarda beynin kortikal yapılarda asprosin immünoreaktivitesi tespit etmişlerdir (Kocaman ve ark., 2020).

Deneyisel Alzheimer modelleri birçok araştırmada Alzheimer hastalığının etiyo-fizyopatolojisinin anlaşılması ve potansiyel tedavi seçeneklerinin etkinliğinin belirlenmesine yönelik olarak son yıllarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu bağlamda merkezi sinir sisteminde eksprese edilen yeni bazı moleküllerin olası etkinlikleri araştırılmaktadır. Leptin, insülin, seratonin, ghrelin veya asprosin gibi hormonlar veya nörotransmitterler, hipotalamusta arkuat nükleusta bulunan pro-opiomelanokortin (POMC) ve agouti ilişkili protein (AgRP) nöronları üzerine etki ederek beslenme davranışlarını düzenlerler (Yang ve ark., 2020). Leptin, insülin ve seratonin anoreksijenik etki ile POMC nöronlarını aktive ederken, AGRP nöronlarını inhibe ederler. Bunun aksine ghrelin ve asprosin ise POMC nöronlarını inhibe ederken baskılayarak AgRP nöronlarını aktive ederek oreksijenik bir etki gösterir (Duerrschmid ve ark., 2017). Beslenme davranışlarını düzenleyen birçok hormon ve onların kandaki düzeyleri, beynin belirli bölgelerindeki sinaptik ve yapısal plastisiteyi etkiler. Oreksijenik bir hormon olan ghrelin kan beyin bariyerini kolaylıkla geçer ve kognitif fonksiyonlarda önemli bir yere sahip olan hipokampus üzerinde GHS-R reseptörü yoluyla pozitif nörokognitif etkilere yol açar (Seminara ve ark., 2018). Benzer şekilde kas dokusundan sentezlenen irisin, yağ dokusu dolaşımına katılarak enerji metabolizmasını regüle eder (Grygiel-Górniak ve ark., 2017). Bazı çalışmalar egzersiz sonrası sekrete salınan edilen irisinin beyin fonksiyonlarında ve AH gibi nörodejeneratif hastalıklarda iyileştirici özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Okonkwo ve ark., 2014). Son çalışmalar özellikle irisin-BDNF aksının öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını güçlendirdiğini kanıtlamışlardır (do Nascimento ve ark., 2015).

Gastrointestinal sistem ile santral sinir sistemi arasındaki iletişimde belirli peptid hormonların nörokognitif fonksiyonları etkilediği bilinmesine rağmen, asprosinin kognitif fonksiyonlar veya nöroprotektivite ile olan ilişkisi hala bilinmemektedir. Literatürde şuana kadar AH ile ilgili asprosinin etkisini konu alan herhangi bir araştırma yer almamaktadır. Bu araştırmada AH olan denekler ile onların serumlarındaki asprosin konsantrasyonları arasındaki ilişkinin incelenmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Demans

Demans; öğrenme, bellek, dil, yürütücü işlevler, dikkat, yargılama, sosyal beceriler, duyuşsal ve motor fonksiyonlar gibi bir veya daha fazla bilişsel işlevde azalma ile karakterize, mevcut bilişsel düzeyden kötüye gidişini yansıtan bir beyin hastalığıdır (American Psychiatric Association, 2013).

Demans dünya her yıl tahmini olarak 4,6 milyon yeni vaka ile epidemik oranlara ulaşan, yetişkin ve yaşlı nüfusu etkileyen (Smith ve ark., 2008), klinik bir durumdur. Yaşlılarda demansın en sık nedeni AH olup tüm demans vakalarının %60-80'ini oluşturmaktadır (Hebert ve ark., 2003). Sıklık sırasına göre demansın diğer nedenleri ise; vasküler demans, Lewy cisimcikli demans, frontotemporal demans, Pick hastalığı, normal basınçlı hidrosefali, alkole bağı demans, ilaçlara bağı demans ile sifiliz ve HIV gibi enfeksiyonlarla ilişkili demanslar ve Parkinson hastalığıdır.

Altmış beş yaş üstü bireylerdeki demans tiplerinden en fazla rastlanan tipi AH'dir (Jack ve ark., 2010). Demansın ileri yaşlarda birden fazla patolojik durumu yansıttığı, nöropatolojik çalışmalarda açık bir şekilde görülmektedir (Kovacs ve ark., 2008). Lewy cisimli demans (LCD), AH'den sonra dejeneratif demansın ikinci en sık görülen tipidir. LCD, klinik ve patolojik olarak Parkinson Hastalığı ve demansı ile ilişkilidir. Yine Parkinson Hastalığı demansı ve LCD'nin klinik özellikleri benzerlik göstermektedir (Donaghy ve ark., 2014). Parkinson Hastalığı demansı ve LCD, α -sinüklein içeren Lewy cisimleri ve Lewy nöritlerinin varlığı ile karakterizedir. Ancak her iki demans da AH patolojisinin çeşitli aşamalarında, özellikle yüksek bilişsel fonksiyonlarla ilişkili korteks bölgelerinde ortaya çıkarlar (Howlett ve ark., 2015). Ayrıca Lewy cisimleri sıklıkla Geç-Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı (GBAH) patolojisine eşlik ederler (Chung ve ark., 2015). Vasküler demans ise serebrovasküler hastalık veya kardiyovasküler patoloji nedeniyle ortaya çıkan iskemik veya hemorajik beyin lezyonlarından kaynaklanan bilişsel işlev kaybı olarak tanımlanmaktadır (Servello ve ark., 2014).

2.2. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı beyinde atrofik değişiklikler nedeniyle bellek ve bilişsel işlevlerde günlük yaşam aktivitelerini kısıtlayacak derecede bozulmaların olduğu, davranışsal ve psikolojik bozukluklar ve demans ile sonuçlanan ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır. AH,

demansın ilerleyici bir formudur. AH; hafıza, muhakeme, karar verme, fiziksel çevreye uyum ve dilde ilerleyici bozukluklara yol açan, özellikle hipokampus ve kortekste geri dönüşümsüz nöronal kayıp ile karakterize en yaygın nörodejeneratif bir hastalıktır (Nussbaum ve ark., 2003). İlk olarak 1907 yılında Alois Alzheimer tarafından tarif edilen ve nörodejeneratif bir hastalık olan AH, yüzyılımızın önemli sağlık sorunlarından biridir. Altmış beş yaş üzeri insanlar arasında en yaygın ölüm nedenleri arasında dördüncü sırada bulunmaktadır (Sonkusare ve ark., 2005). AH ve diğer demansların, yaşlanan dünya popülasyonu ile 2030 yılına kadar 66 milyona; 2050 yılına kadar ise 115 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (Wortmann ve ark., 2012).

2.2.1. Alzheimer hastalığının patofizyolojisi

Beyin dokusunda 60 yaşından sonra senil plaklar ve nörofibriler yumaklar (NFY) görülebilir ancak NFY'lerin neokortekste, A β plaklarının limbik sistemde görülmesi AH için yüksek duyarlılık ve özgüllük gösterir (Mathis ve ark., 2012). AH'de, ilerleyici nöron ve sinaps kaybı ile karakterize edilen (Kim ve ark., 2012), NFY'ler hiperfosforile tau proteinlerinin kümelenmesi iken amiloid protein (AP)'ler ise A β peptidlerin birikimine verilen isimdir (Lehmann ve ark., 2013).

Patolojik olarak, A β peptidlerin ekstrasellüler, hiperfosforile tau proteinlerin ise intrasellüler birikimi ve nöronal ölüm şeklinde tanımlanmaktadır (Bertram ve ark., 2010; Aly ve ark., 2011). A β peptidlerin birikmesinin ve aşırı üretiminin, AH'deki nöronal hücre fonksiyon bozukluğu ve ölüme yol açan patolojik akışı başlattığına dair önemli kanıtlar mevcuttur (Huang ve ark., 2012). AH'de AP ve NFY özellikle frontal, temporal ve pariyetal korteks, hipokampus ve bazal ön beyin kolinerjik çekirdekleri gibi beyindeki birçok bölgede gözlemlenmektedir (Allen ve ark., 2011). Öncelikle transentorhinal kortekste oluşurlar ve daha sonra sırasıyla entorhinal kortekse, hipokampus bölgelerine ve daha sonra da serebral kortekse yayılırlar (DeKosky ve ark., 1990). AH'de hem neokorteks hem de hipokampüsteki sinaptik bağlantılarda kayıp mevcuttur (Scheff ve ark., 2006).

2.2.2. Alzheimer hastalığının klinik seyri

AH klinik olarak üç aşamadan meydana gelmektedir. Pre-semptomatik fazda kişiler bilişsel olarak normal olup AH'ye ait bazı patolojik değişiklikler gözlemlenir. Bu kişilerin bazıları hiç klinik belirtiler göstermeden öldüklerinden bu kişileri "AH'nin presemptomatik fazında" şeklinde isimlendirmek, gerçek bir ifadeden ziyade daha çok bir hipotezdir (Jack ve ark., 2010). Yaygın olarak hafif bilişsel bozukluk olarak anılan prodromal faz (hafif bilişsel bozukluk), demans kriterlerine uymayan, erken bilişsel semptomların başlamasıyla

karakterizedir. Prodromal fazda bilişsel bozukluğun şiddeti, bellek bozukluğunun erken ortaya çıkmasından diğer bilişsel alanlardaki daha yaygın fonksiyon bozukluğuna kadar değişim gösterir. Son faz demans ise oldukça ciddi fonksiyon kaybına yol açan çoklu alanlardaki bozukluklar olarak tanımlanır (Price ve ark., 1999). AH, Erken-Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı (EBAH) ve GBAH olarak 2 alt tipe kategorize edilebilir (Sakamoto ve ark., 2002). AH vakalarının yaklaşık %1-5'inde EBAH mevcuttur ve EBAH bulunan bu hastalardaki başlangıç yaşı 65 yaş öncesi, 40'lı yaşların sonu ya da 50'li yaşların başlangıcı şeklinde değişirken, 65 yaşından sonra hastalık gelişen hastaların %95'inden fazlasında ise GBAH görülmektedir (Reitz ve ark., 2011). Pozitif AH aile öyküsü olan kişilerde hem EBAH hem de GBAH ortaya çıkabilir. EBAH vakalarının yaklaşık %60'ının ailelerinde birden fazla Alzheimer olgusuna rastlandığı rapor edilmiştir (Brickell ve ark., 2006).

2.3. Alzheimer Hastalığının Bazı Hormon ve Nörotransmitterler ile İlişkisi

Son yıllarda nöroprotektif etkileri olduğu düşünülen birçok hormon ve nörotransmitterin hafıza ve öğrenme üzerine etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bunlardan ilk olarak ghrelinin ilk araştırmalarda beyin dokusundaki içeriğinin düşük oranda olduğu gösterilmiştir. Oysa ghrelin, parakrin/otokrin faktör olarak hareket edebildiği beyin de dahil olmak üzere çok çeşitli dokularda üretilen çok işlevli 28 amino asitli bir hormon olduğu anlaşılmıştır (Kojima ve ark., 2005). Ghrelin başlangıçta growth hormon salınımını uyarma yeteneğine göre tanımlanmıştır. Bununla birlikte, kısa bir süre sonra, ghrelin sisteminin, gıda alımının düzenlenmesi, vücut ağırlığı artışı, insülin salınımı ve β -hücresinin hayatta kalması, adipozite ve enerji homeostazının kontrolü gibi bir dizi farklı işlevde yer aldığı gösterilmiştir. Spesifik olarak, ghrelin sadece hipotalamusta değil, aynı zamanda diğer beyin bölgelerinde de bilişsel süreçleri modüle ettiği ve AH ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Gahete ve ark., 2011; Tian ve ark., 2023).

Leptin 16-kDA ağırlığında adipositlerden sentezlenen ve salgılanan bir peptid hormondur. Sentezlendikten sonra dolaşıma katılan leptin, proteinlere bağlanır ve özellikle hipotalamusta merkezi sinir ağında etkilidir. Hipotalamusta reseptörlere bağlanmasıyla tokluk faktörü gibi hareket ettiği kabul edilen leptin, besin alımını inhibe ederek enerji harcamasını uyarır (Ahima ve ark., 1996). Dahası AH olan transgenik hayvan modelinde leptinin kognitif fonksiyonları iyileştirdiği gösterilmiştir (Greco ve ark., 2010). Aynı şekilde 112 aminoasitlik glikozile edilmiş bir protein-hormon olan irisin, BDNF üretimini artırarak ödülle ilgili öğrenme ve motivasyonun artmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Zsuga ve ark., 2011). Bu yolla

beyindeki irisin-BDNF ekseninin uyarılması AH tedavisi için umut verici bir konu olabileceği düşünülmüştür (Kim ve ark., 2018).

2.4. Asprosin

2016 yılında ABD’de Romere C. ve çalışma grubu tarafından FBN1 gen mutasyonu ile karakterize NPS (konjenital parsiyel lipodistrofi, fasiyal dismorfizm, yüz ve ekstremiteler anomalileri) hastalarında tespit edilen ve açlıkla indüklenen, hepatik glukoz çıkışını sağlayan bir hormon bulunmuştur. Bu hormon FBN1 tarafından kodlanan profibrilin proteininin C-terminal klivaj ürünüdür. Beyaz adipoz dokudan salgılandığı için bu hormona Yunanca ‘beyaz’ anlamına gelen ‘asprosin’ adı verilmiştir (Romere ve ark., 2016).

NPS hastaları arasında iki tanesinin diğer NPS hastalarından farklı olduğu dikkati çekmiştir. Hem parsiyel hem jeneralize lipodistrofilerde sıklıkla insülin direnci olmasına rağmen bu hastaların diğerlerine göre iki kat daha düşük açlık insülin düzeylerine sahip olduğu ve genetik analizler sonucunda her iki hastada da FBN1 geninde heterozigot mutasyon olduğu görülmüştür. Mutasyonu bulunmayan NPS hastalarında dolaşımdaki asprosin düzeyleri belirgin olarak düşük gözlenmiştir. Gün içinde asprosin düzeylerinin dalgalanması incelendiğinde; asprosinin sirkadiyen ritmi olduğu, beslenme sonrası hızla azaldığı ve gece boyu açlık sonrası insanlarda, farelerde ve sıçanlarda dolaşım seviyelerinin azaldığı görülmüştür. Tüm dokularda FBN1 mRNA profili incelendiğinde beyaz adipoz dokunun en yüksek seviyede FBN1 mRNA ekspresyonu sergilediği görülmüştür. Adipositlerin asprosin ekspresyonunun uyarabilme edebilme yeteneği hücre kültürlerinde gösterilmiştir. Havyan deneylerinde hem dışardan verilen rekombinat asprosinin hem de endojen olarak adenovirüs kaynaklı artmış asprosin seviyesi kan glukozu ve insülin düzeylerini yeterli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Farelerde tek doz asprosin enjeksiyonu sonrası 30. dakikada glukoz piki saptanmıştır. Kompansatuar hiperinsülineminin devreye girmesi ile 60. dakikada kan glukozu normale gelmiştir. Artmış plazma asprosin seviyeleri artmış hepatik glukoz çıkışına neden olmakla birlikte insüline yanıt olarak periferel dokuların glukoz alımı üzerinde bir etkisi gözlenmemiştir (Romere ve ark., 2016).

Asprosin primer etki yeri olan karaciğerde hepatosit yüzeyinde bulunan reseptörlerine bağlanarak doz bağımlı glukoz çıkışını artırmaktadır. Hücre içi etkisini hem in vivo hem de in vitro G protein-cAMP-Protein Kinaz A yolağı üzerinden gerçekleştirmektedir. Benzer hücre içi sinyal yollarını kullanan diğer mediatörlerin asprosinin etkisi üzerindeki rolü araştırıldığında glukagon veya epinefrin blokajının asprosin ilişkili hepatik glukoz çıkışını etkilemediği,

insülinin ise artırdığı gösterilmiştir. Plazma glukoz düzeyi asprosin üretimini negatif geri bildirim yoluyla inhibe etmektedir. İnsülin direnci olan obez insan ve hayvan modellerinde asprosin seviyeleri patolojik olarak artmıştır. İnsülin direnci ile birlikte artan asprosinin kaynağını bulmak için homozigot leptin eksikliği olan ve normal farelerin çeşitli dokularındaki FBN1 mRNA profili araştırılmıştır. Yapılan çalışmada en fazla beyaz adipoz dokuda olmak üzere kahverengi adipoz doku ve iskelet kasında kuvvetli değişim görülmüştür. Bu üç organ aynı zamanda insülin direnci patogenezi ile sıklıkla ilişkilendirilen organlardır. Adipoz doku ve iskelet kasında görülen artmış FBN1 mRNA aracılığı ile plazma asprosin düzeyinin artışı insülin direnci patogenezi için temel mekanizma olarak düşünülmektedir, çünkü diğer organlarda ne açlıkta ne de streptozotosin uygulaması sonucu kan glukozu yükselmesiyle FBN1 mRNA düzeyinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır (Romere ve ark., 2016).

Asprosin aynı zamanda santral etkili oreksijenik bir hormondur. Dolaşımında bulunan asprosinin kan beyin bariyerini geçerek direkt olarak oreksijenik AgRP nöronlarını cAMP bağımlı mekanizma ile aktive etmektedir. Bu aktivasyon sonucunda anoreksijenik GABA-bağımlı POMC nöronları inhibe olarak açlık uyarılmakta bunun sonucunda adipozite ile vücut ağırlığı artışı olmaktadır (Kocaman ve ark., 2020). Yapılan çalışmalarda Tip 2 diabetes, polikistik over sendromu ve obezite gibi metabolik hastalıklarda asprosin düzeylerinin arttığı saptanmıştır (Zhang ve ark., 2019). Asprosin düzeyinde cinsiyetler arası fark olup olmadığı literatürde tartışmalı bir konudur. Erişkinlerde yapılan çalışmalarda kadın ve erkeklerde asprosin düzeyleri açısından fark gözlenmemiştir (Wang ve ark., 2018).

2.5. Deneysel AH Modelleri

Halen kesin tedavisi keşfedilememiş olan AH, yaşlılarda en sık görülen demans şeklidir. Bilim camiasının muazzam çabalarına rağmen, AH ilaç geliştirme çabaları son derece sınırlı kalmaktadır. Hayvan hastalık modelleri, herhangi bir ilaç geliştirme programının temel taşıdır. Hastalığı birebir taklit etme konusunda deneysel hayvan modeli ne kadar başarılı ise doğru tedavi için terapötik ajan geliştirme çalışmaları da aynı oranda başarılı olabilir. AH için ilaç geliştirmede son yıllarda sıklıkla kullanılan transgenik modeller AH'nin moleküler mekanizmalarının anlaşılmasına büyük katkı sağlamıştır. Genel olarak transgenik modellerde hastalıklar tam olarak modellenemediği gibi AH'de de tedavi girişimleri açısından birçok başarısızlığa sebep olmaktadır. Bu nedenle sporadik AH hayvan modelleri tedavi girişimleri için oransal olarak halen en iyi seçenektir. İlk AH hayvan modelleri hastalığın etiyolojik değerlendirmelerine dayanıyordu. APP kodlayan gendeki ilk mutasyonun ve bunun AH'nin

ailesel formundaki merkezi rolünün keşfinden yaklaşık on yıl sonra, AH'nin ilk transgenik fare modellerinin ortaya çıktığı görüldü. İnsan APP geninin mutasyona uğramış bir formunu taşıyan bu modellerin yetersiz olduğu görülerek kronolojik olarak çift transgenik (APP/PS1 veya APP/tau) daha sonra üçlü transgenik (APP/PS1/tau) fareler geliştirildi (Lewis ve ark., 2001). Böylece AH etiyojisi ile ilgilenmeye gerek kalmadan sporadik form da dahil olmak üzere doğrudan AH patolojisi taklit edilebilmiş oldu. Bu gelişme, tau kodlayan genin AH'de görülmeyen ancak kromozom 17'ye bağlı Parkinsonizm'li frontotemporal demansla ilgili bir mutasyonu olan transgenik tauP301L'nin kullanımını haklı çıkardı. Günümüzde AH modellemesinde ağırlıklı olarak sıçan tercih edilmektedir. Geliştirilen sıçan modellerinin çoğunun amiloidojenik basamaklar ve ilgili amiloid peptit patolojik yollarını yeniden taklit etme girişimine dayanmaktadır. Kliniklerde belgelenen bir veya birkaç patolojik özelliği geliştirmesi için sıçan beynine amiloid peptidi enjeksiyonu ile farklı AH tetikleme yapılabileceği keşfedilmiştir. A β 1-40 (Stephan ve ark., 2001) ve A β 1-42 (Lecanu ve ark., 2006) formlarının intraserebroventriküler (İSV) infüzyon ya da intrahipokampal akut enjeksiyonu veya kronik infüzyonu gerçekleştirildi (Nakamura ve ark., 2001). AH hastalarında görülenlere benzer histolojik değişiklikler modellerin çoğunda tutarlı bir şekilde bulunurken, bilişsel performans düşüşünün taklit edilmesi büyük ölçüde deneysel protokole bağlı olup amiloid peptit infüzyon bölgesi ve kullanılan yöntemden etkilenmektedir. Son on yılda geliştirilen başka bir strateji ise AH'nin tip 3 diyabet olabileceği hipotezine dayanıyordu. Bu hipotez, insülin, insülin benzeri büyüme faktörü ve bunlara karşılık gelen reseptörlerin ekspresyonunda tutarlı bir azalma gösteren AH hastalarının beyinlerinin ölüm sonrası histolojik gözlemlerine dayanıyordu (Pilcher ve ark., 2006). Daha sonra pankreatik β hücreleri için toksik olan bir glukozamin nitrozoüre olan STZ'nin sıçan beynine enjekte edilmesinin de aynı modelle sonuçlanacağı varsayıldı. STZ uygulaması, tau proteininin fosforilasyonunu, amiloid birikimlerini, kognitif bozukluğu, insülin duyarsızlaşmasını ve nöron ölümünü indüklemiştir (Grünblatt ve ark., 2004).

2.5.1. Deneysel AH'de kullanılan öğrenme ve bellek testleri

Konumsal öğrenme ve hafıza

Neredeyse tüm canlılar yer değiştirme anında güvenli bir şekilde manevra yaparak hayatta kalmaya çalışır. Bunu yapabilme yeteneği, yerleri öğrenmeye ve hatırlamaya bağlıdır. Bu kapasite beyinde iki sistem tarafından kodlanmıştır. İlki allosentrik navigasyon olarak isimlendirilen organizmanın dışındaki ipuçları (uzak ipuçları), diğeri egosentrik navigasyon olarak isimlendirilen organizmanın içsel ipuçlarını kullanarak yön bulmasıdır. Allosentrik

navigasyon hipokampus, entorinal korteks ve çevreleyen yapıları içerir. İnsanlarda bu sistem allosentrik, semantik ve epizodik hafızayı kodlar. Bu bellek biçimi, laboratuvar hayvanlarında birçok yönden değerlendirilir, ancak baskın değerlendirme biçimi Morris su labirenti testidir (MST). Egosentrik navigasyon ise dorsal striatum ve bağlantılı yapıları içerir. İnsanlarda bu sistem ana güzergahı ve bununla bağlantılı olan yan yolları kodlar ve tekrarlayan öğrenmelerde prosedürel hafıza haline gelir. MST avantajları (az eğitim gerekli, gıda yoksunluğu yok, test kolaylığı, hızlı ve güvenilir öğrenme, vücut ağırlığı ve iştahdaki farklılıklara karşı duyarsızlık, performans göstermeyenlerin olmaması, proksimal ipucu öğrenme için kontrol yöntemleri ve performans etkileri) ve dezavantajlar (stres endişesi), belki de çalışan bellek için hassas değildir) tartışılmaktadır. Kanıta dayalı tasarım iyileştirmeleri ve test yöntemleri hem sıçanlar hem de fareler için gözden geçirilmiştir. Genel olarak uzamsal navigasyona ve özel olarak MST'ye uygulanan deneysel faktörler göz önünde bulundurulur. Dengede, MST'nin dezavantajlardan daha fazla avantaja sahip olduğu ve diğer tahsisli navigasyon görevleriyle olumlu şekilde karşılaştırıldığı sonucuna varılmıştır.

Navigasyon, organizmaların, konumlar ve rotalar için hafıza gerektiren, kaybolmadan çevrede yollarını bulmayı öğrenme yeteneğidir. Tüm organizmalar, yiyecek aramak, su bulmak, yırtıcılardan kaçınmak, eş bulmak ve başladıkları yere güvenli bir şekilde geri dönmek için yuvalarını veya evlerini terk edebilmeli ve çevrede hareket edebilmelidir. Bu yetenek olmadan hiçbir organizma hayatta kalamayacağı için konumsal öğrenme hemen hemen tüm türlerde gelişmiştir. Navigasyon hayatta kalmak için o kadar hayattır ki karıncalar, arılar, kuşlar, balıklar, yarasalar dahil olmak üzere böcekler ve tüm karasal memelilerde mevcuttur (Etienne ve ark., 1992). Kuşlarda, yarasalarda, balıklarda ve deniz memelilerinde navigasyon, bu hayvanların iki yerine üç boyutlu olarak yön bulabilecekleri ölçüde gelişmiştir.

Uzaysal navigasyon olarak da adlandırılan allosentrik yön bulma, uzak ipuçlarını, yani organizmanın dışında ve belirli bir mesafede bulunan ipuçları ve yer işaretlerini kullanarak gezinme yeteneği ile karakterize edilir. Egosentrik yön bulma ise içsel ipuçlarını kullanarak yön bulma yeteneğidir. Hareket hızı, yön, dönüşler ve dönüşlerin sırası için ekstremite hareketlerinden geri bildirim ile organizma çevreleyen nesnelere ve işaret direklerini geçerken optokinetik akışın varlığıyla karakterize edilir.

Kemirgenlerde konumsal hafızanın değerlendirilmesi

Allosentrik navigasyonu değerlendirmek için birçok test düzeneği geliştirilmiştir. Richard Morris (Morris, 1981) tarafından geliştirilen MST, en yaygın olarak kullanılan ve en

fazla verinin elde edildiği konumsal öğrenme test düzeneğidir. MST, kemirgenler için açık bir yüzme arenasının çevresindeki başlangıç konumlarından bırakıldıktan sonra batık bir kaçış platformunu bulmak için uzak ipuçlarına dayanan konumsal bir öğrenme testidir. Bu testte konumsal öğrenme, tekrarlanan denemeler boyunca değerlendirilir ve referans belleği platform yerinde olmadığına platform alanı tercihinin göre belirlenir. Platformun konumunda yapılacak olan yer değiştirme denemeleri mekansal bozuklukların tespitini geliştirir. MST'nin, hipokampal sinaptik plastisite ve NMDA reseptör işlevi ile güçlü bir şekilde ilişkili olan sağlam ve güvenilir bir test olduğu kanıtlanmıştır. MST testinde sonuçlar her bir hayvandan 6 gün gibi kısa bir sürede alınabildiği için avantajlıdır.

MST ile öğrenme ve hafızayı değerlendirmede kemirgenlerin MST'deki performansı ölçülerek, nörotransmitter sistemleri ile ilaçlar arasındaki etkileşimler test edilmektedir. MST performansı, kalıcı öğrenme olarak da adlandırılan uzun dönem potansiyasyon (LTP) ve NMDA reseptör işlevi ile ilişkilendirilmiştir. Bu da onu hipokampal devrelerin araştırılmasında önemli bir teknik haline getirmektedir. Ayrıca entorinal ve peririnal kortekslerde olduğu gibi prefrontal korteks, singulat korteks, neostriatum ve hatta belki daha sınırlı bir şekilde serebellum tutulumu olduğu gösterilmiştir (D'Hooge ve ark., 2001).

MST, bilinen anlamda bir labirent olmayıp daha ziyade, yaklaşık yarısı su ile doldurulmuş, açık dairesel bir tank havuzudur. İç kısımda mümkün olduğunca hayvanın kafasını karıştırabilecek yapıların bulunmadığı bir yüzme alanıdır. Hayvanın su yüzeyinin altına batmış ve sabit bir yere yerleştirilmiş nispeten küçük bir hedefi (gizli bir platform) bulmak için araması gerektiği anlamında bir labirenttir. Platform ya suya opaklaştırıcı maddeler katarak ya da şeffaf malzemeden imal edilerek kamufle edilir.

Birbirine dik iki eksen vasıtasıyla labirent hayali olarak 4 eşit parçaya bölünür. Bu bölünme sonucu elde edilen eşit kadrantlar deneyi gerçekleştirilen pozisyonuna göre yön isimleriyle (kuzey, doğu, güney, batı şeklinde) isimlendirilir. Platform, kadrantlardan birinin ortasına yerleştirilir. Tüm denemeler için platformun yeri sabit bırakılarak deneme hayvanının başlangıç yüzme noktası değiştirilir. Platform, seçilen kadrantdan bağımsız olarak genellikle merkez ve duvar arasında ortada bir yerde konumlandırılır (Maurer ve ark., 2000).

Test protokolleri gerçekleştirilirken yer veya mekansal öğrenme, en temel MST prosedürüdür. Bunun arkasındaki konsept hayvanın, tankın çevresinde farklı ve rastgele konumlardan başlatıldığında, gizli platforma giden doğrudan bir yolda yüzmesi için uzak

ipuçlarını kullanmayı öğrenmesi gerektiğidir. Yakın ipuçları yoksa, uzak ipuçlarının kullanılması bunu başarmak için en etkili stratejiyi sağlar. Çoğu protokol dört başlangıç konumu (K, D, G, B) kullanır. Hayvanlara çoğunlukla dört konumun her birinden her gün bir deneme yapılması şeklinde yüzdürme denemeleri yapılır. Birkaç araştırmacı sekiz başlangıç konumu kullanır (Kim ve ark., 2001). Hayvanın her gün dört başlangıç pozisyonunun her birini kullanarak platformu bulması için günde 4 deneme olmak üzere 5 gün boyunca öğrenme denemeleri yürütülmektedir. Denemeler arasındaki süre 10-15 saniye ile 5-15 dakika arasında değişebilir. Araştırmacının tercihine göre bir hayvan ayrılan süre içinde platformu bulamazsa sudan alınarak platforma yerleştirilir. Ancak çoğunlukla sudan alınmadan hedefe nasıl gidileceğini öğrenmesi açısından hafif el yönlendirmeleriyle platformu bulması sağlanır ve yaklaşık 15 saniye boyunca platformda bırakılarak konumsal hafızanın oluşturulması ve pekiştirilmesi hedeflenir (Sutherland ve ark., 1987).

Öğrenme sonunda referans belleği değerlendirmek için bir deneme gerçekleştirilir. En yaygın yöntem son öğrenme denemesinden 24 saat sonra bir prob denemesi uygulamaktır. Bazı prosedürlerde bu deneme, son öğrenme denemesinden hemen sonra uygulanır. Ancak bu uygulama en son antrenman seansının hafızasını yansıtabileceğinden, kısa ve uzun süreli hafıza arasında ayrım yapamaz. Referans hafızası, son eğitim seansının hafızasından bağımsız olarak belirlenecekse, son eğitim denemesi ile yoklama denemesi arasında uzun bir aralık gereklidir.

Özetle MVM, konumsal haritalama için kullanılan çalışan belleğin değerlendirilmesini sağlayan yaygın kullanıma sahip bir uygulamadır. Bu değerlendirmede kullanılan radyal kollu labirent, pasif kaçınma, T-labirentler ve varyasyonları gibi daha önceki test düzeneklerinden sonra ortaya çıkmasına rağmen MVM, yaklaşık kırk yıldır çok çeşitli varyasyonlarla kullanılan baskın bir yöntem haline gelmiştir. Tüm yöntemlerde olduğu gibi, MST'nin de güçlü ve zayıf yönleri olmasına rağmen söz konusu zayıflıkların çoğu çok küçük labirentlerin kullanımından, öğrenmeyi yeterince değerlendirmeyen protokollerden, referans belleği değerlendirmek için eğitim ve araştırma denemeleri arasında uygun bir aralığın sağlanamamasından veya konumsal olmayan faktörleri değerlendirmek için kontrol prosedürlerinin eksikliğinden kaynaklanmaktadır. Bu sebepler dışında MST'nin kullanımının artması, tedaviden sonra MST performansı üzerindeki etkilerin, diğer herhangi bir öğrenme görevinde gözlemlenen etkilerden daha yaygın olarak tekrarlanmasından ve MST'nin kurulumunun nispeten basit olmasından kaynaklanmaktadır. MST'nin NMDA reseptörleri, sinaptik plastisite ve öğrenme (Morris ve ark., 1990) arasındaki ilişkinin anlaşılmasına önemli ölçüde katkı sağladığına şüphe yoktur ve

diğer öğrenme türlerinin değerlendirilmesi için yeni uygulamalarda kullanılmaya devam etmektedir. MST'nin kullanımı arttıkça faydasını genişleten metodolojik varyasyonların sayısı da artmaktadır. Bu varyasyonlar ile yapılan ayrıntılı analizler, hayvanların tank duvarından açısız ayrılma ve mesafeyi içeren minimum bir dizi ipucu kullanarak görevi çözebileceğini göstermiştir (Maurer ve ark., 2000). Bu tür veriler, uygun kontrol prosedürlerinin dahil edilmesiyle, uygun şekilde yapılandırıldığında ve kullanıldığında, MST'nin konumsal haritalamayı değerlendirmek için güçlü bir teknik olduğunu göstermektedir. Temel protokolün uygun şekilde değiştirilmesi, onu mekânsal öğrenmeyi daha derinlemesine araştırmak veya diğer öğrenme ve hafıza biçimlerini değerlendirmek için uygulanabilen esnek bir araç haline getirmektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Alzheimer Hastalığı ile asprosin arasındaki ilişkinin tespit edilmesi amacıyla iki kategoride yapılmıştır. İlk bölümde deneysel Alzheimer hastalığı modeli oluşturulan sıçanların serum ve hipokampus ve frontal korteks dokularında asprosin düzeyleri incelenmiştir. Araştırmanın ikinci bölümünde ise Alzheimer tanısı konan insan deneklerden alınan kan örneklerinde asprosin düzeyleri değerlendirilmiştir.

3.1. Hayvan Modellemesi

3.1.1. Çalışma dizaynı

Hayvan araştırmaları için Necmettin Erbakan Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 16.07.2021 tarih ve 2021/041 karar no ile etik onayı alınmış ve çalışmadaki tüm uygulamalar etik kurul protokolünde belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü tarafından (Proje no: 211418003) desteklenmiştir. Çalışma süresince deney hayvanlarının beslenme ve bakımı Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada ortalama 220-280 gr ağırlığında toplam 25 adet Wistar albino ırkı erkek sıçan kullanılmıştır. Deney süresince $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve 12 saat ışık/karanlık periyoduna sahip ortamda tutulan hayvanlar, normal musluk suyu ve pellet halindeki standart sıçan yemi ile *ad libitum* olarak beslenmiştir.

Çalışmada grup dağılımı aşağıdaki gibi dizayn edilmiştir:

Kontrol grubu (Grup K) (n=12): Bu gruptaki sıçanlara intraserebroventriküler (İSV) olarak 3 mg/kg yapay BOS uygulanmış ve 1 hafta sonrasında davranış testleri yapılmıştır.

Alzheimer grubu (Grup A) (n=13): Bu gruptaki sıçanlara İSV enjeksiyon olarak 3 mg/kg dozunda streptozotosin (STZ) uygulanmış ve 1 hafta sonra davranış testleri yapılmıştır.

Bir haftanın sonunda hayvanların öğrenme ve bellek performansları “Morris Su Labirent Testi” kullanılarak değerlendirilmiştir. Davranış testinin tamamlanmasını müteakip hayvanlar ketamin ve ksilazin (sırasıyla, 80 mg/kg, i.p. ve 20 mg/kg, i.p.) anestezisi altında dekapite edilmiş ve çıkartılan beyinlerden hipokampus ve frontal korteks eksizyonu gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Alzheimer modelinin oluşturulması

Yapay beyin omurilik sıvısı ve STZ çözeltilisinin hazırlanması

Hem çözücü olarak doğrudan uygulamak için hem de STZ'yi çözmek amacıyla 147 mM NaCl; 2,9 mM KCl; 1,6 mM MgCl₂; 1,7 mM CaCl₂; ve 2,2 mM dekstrozu kullanarak yapay BOS hazırlandı (Sodhi ve ark., 2013).

Hayvanlara İSV yolla enjekte edilecek olan STZ, biyolojik emniyet kabini steril şartlarda taze olarak hazırlandı ve hazırlanan steril yapay BOS içerisinde çözdürülerek 3 mg/kg dozuna ayarlandı (Agrawal ve ark., 2011).

Stereotaksik işlem ve İSV STZ enjeksiyonu

Sıçanlar, i.p. olarak 70 mg/kg ketamin (Richter Pharma AG, Avustralya) ve 8 mg/kg xylazine (Bioveta PLC, Çek Cumhuriyeti) ile anestezi altına alındı. Sıçanların anesteziye girip girmediklerine parmak kıstırma ve fizyolojik yanıtların izlenmesi sonunda karar verildi. Anesteziye giren sıçanların kafa derisi traş edilerek kafatası dış kulak yolundan stereotaksik cihaza yerleştirildi (RWD Life Science, USA).

Anestezideki hayvanın baş-vücut düzlemini stabilize etmek ve termal konforunu sağlamak için karın altı bölgesine 2 santimetre kalınlığında polietilen köpük yerleştirildi. Hayvanların kafa derisi traşlanarak antiseptisi sağlandıktan sonra bregma bölgesine ulaşmak için kafatası derisi orta hattına bir insizyon yapılarak yara dudakları ekartörle (RWD Company, Cat. No: R22029-03) genişletildi. Periost bistüri yardımıyla iki yana sıyrıldı ve kılcal kanamalar soğuk kompres ile durduruldu. Kemik yüzeyi temizlenerek bregmanın açık bir şekilde görülmesi sağlandı (Şekil 1).



Şekil 1. Hayvanların kafa derisinin açılıp bregmanın görünür hale getirilmesi

Sıçan beyin atlasına (Paxinos ve Watson, 2007) göre bregma alanı referans noktası olarak alındı ve sağ lateral ventrikül koordinatları (-0.72 mm arka, 2 mm lateral ve 3,7 mm dikey) belirlendi (Şekil 2). Duramatere zarar verilmeden dişçi turu yardımı ile belirtilen noktada delik açıldı (Şekil 3). AH oluşturulmak istenen gruplarda, kafatasına açılan bu delikten sağ lateral ventriküle stereotaksik cihazın manuel mikroenjeksiyon holderine (RWD-68606) yerleştirilen mikroenjektör (Hamilton Company, Cat. No: 701) yardımıyla girilerek yapay BOS'ta çözdürülen STZ (3 mg/kg) enjeksiyonu, ventriküllerin adaptasyonu göz önüne alınarak yavaşça ve uzun süre zarfında yapıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara ise İSV olarak 3 mg/kg yapay BOS uygulandı. Enjeksiyon sonrasında cilt ensizyon hattı kapatılarak (3/0 18 mm keskin ipek suture) yara antisepsisi iyotlu çözelti ile sağlandı (Şekil 4).

3.1.3. Morris su labirenti deneyinin (davranış testinin) uygulanışı

Sıçanların öğrenme ve bellek performansları Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinde MST ile değerlendirilmiştir. Tüm davranış testleri ozmotik pompaların infüzyona başlamasından 7 gün sonra ve ardışık günlerde sabah saatlerinde ve aynı saatte gerçekleştirildi. Morris su labirentini ve labirentin yönleri Şekil 1. de görülmektedir.



Şekil 5. Morris su labirenti

Toplam 350 cm kenar uzunluğuna sahip kare şeklinde bir odanın ortasına konumlandırılan 180 cm çapında ve 60 cm derinliğinde siyah renkli pleksiglas malzemeden üretilmiş olan havuz yaklaşık, 40 cm kadar şebeke suyuyla dolduruldu. Odanın duvarlarına sadece görsel ipuçları görünecek şekilde siyah kaplama yapılarak odanın her bir köşesinden indirek aydınlatma yapıldı. Ayrıca 23 ± 1 °C sabit ısıda tutulan suya toksik olmayan siyah toz boya karıştırılarak hayvanın görsel ipuçları ve kaçış platformundan başka bir işareti görmemesi sağlandı. Hedef çeyreğe yerleştirilen kaçış platformu alıştırma ve trial denemeleri boyunca sürekli olarak aynı yerde sabit bırakıldı. Son deneme günü olan prob denemesinde ise platform havuzdan çıkarıldı.

Davranış değerlendirmeleri için test düzeneğini ortalayacak şekilde tavana kamera yerleştirilerek davranış yazılımının bulunduğu bilgisayar ile ilişkilendirildi ve tüm denemelerin video kaydı gerçekleştirildi (Noldus EthoVision XT 11, Hollanda). 6 günden oluşan yüzme denemelerinin ilk gününde hayvanlar havuza bırakılarak test düzeneğine alışmaları sağlandı. Her hayvanın 60 saniye boyunca yüzerek su yüzeyinin yaklaşık 1 cm üzerinde görünen ve üzerine görsel olarak bayrak iliştirilmiş olan kaçış platformunu bulmaları beklendi. 60 saniye

boyunca platformu bulamayan hayvanlar sudan çıkarılmadan hafif el yönlendirmeleriyle platforma doğru yönlendirildi ve platforma çıkan sıçanlara 15-20 saniye boyunca konumlarını tespit etmelerine izin verildi. Bu denemeden 24 saat sonraki 4 gün boyunca hayvanlar farklı çeyreklerden suya bırakılarak 60 saniye süreyle platformun yerini bulmaları beklendi. Trial denemesi olan bu denemelerde platformun yeri değiştirilmeden su yüzeyinin hemen altına konumlandırıldı ve yüzeyden bakılınca görünmeyecek şekilde hayvanın görüş açısından gizlendi. Bu durumda platformu bulan hayvanların 15-20 saniye boyunca platformun üzerinde kalmaları sağlandı. 6. gün prob denemesinde ise platform havuzdan tamamen çıkarılarak sıçanların konumsal hafızaları değerlendirildi. Trial değerlendirmelerinde hayvanın suya bırakıldı noktadan platforma kadar olan yüzme süresi, yüzme hızı ve kat ettiği yol davranış yazılımı yardımıyla tespit edildi. Prob denemesinde ise bunlara ilaveten hayvanın platformun bulunduğu hedef çeyrekte geçirdiği süre ve platformun yüzey bölgesinden geçiş sayısı değerlendirildi.

Davranış denemeleri sonunda hayvanlardan anestezi altında kardiyak eksanguinasyon ile biyokimya tüplerine kan örnekleri alınarak dekapite edildi. Alınan kanlar örnekleri soğutmali santrifüj yardımıyla 4000 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüje edilerek serum numuneleri toplandı. Ayrıca kuru buz üzerinde beyin parçaları (hipokampus ve frontal korteks) çıkarılarak biyokimyasal analizler gerçekleştirilinceye kadar -80 °C derin dondurucuda serumlarla birlikte saklandı.

3.1.4. Asprosin ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi

Çalışma sonunda anestezi altında tüm sıçanlardan kan ve beyin örnekleri alındı. Kan alımını takiben sıçanların beyin dokusu hızlıca çıkarılarak buz üzerinde hipokampus ve frontal korteks dokuları ayrıldı. Hipokampus ve frontal korteks dokusundan moleküler analiz yöntemleriyle asprosin mRNA ekspresyon seviyeleri değerlendirildi.

Doku örneklerinin toplanması

Kontrol (K; n=12) ve AH (n=13) gruplarına ait sıçanların hipokampus ve frontal korteks bölgeleri disekte edilmiş ve sıvı azotta hemen dondurularak gen ekspresyon analizleri için -80 °C'de saklanmıştır.

Doku örneklerinden total RNA izolasyonu

Hipokampus ve frontal korteks dokularından TRIzol yöntemi ile RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Doku örnekleri 1000 µl TRIzol içerisinde homojenizasyon sonrası oda sıcaklığında 5 dk inkübasyona bırakılmış, 200 µl kloroform eklenerek tekrar oda sıcaklığında 15 dk inkübe edilmiştir. Örnekler 12000 g'de 15 dk +4 °C'de santrifüj sonrası süpernatant üzerlerine 500 µl izopropanol eklenmiş ve 10 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Örnekler 12000 g'de +4 °C'de 10 dk santrifüj sonrası RNA peleti peletin üzerine 1 ml % 75 etanol ile yıkanmıştır. RNA peleti 5-10 dk oda sıcaklığında kurutulduktan sonra 50 µl nükleaz free su ile çözdürülmüştür. Total RNA örneklerinin konsantrasyonu ve kalitesinin tayini spektrofotometrik ve agoroz jel elektroforez yöntemi ile kontrol edilmiştir. Elde edilen RNA örnekleri kullanılıncaya kadar -80 °C'de saklanmıştır.

Olası gDNA kontaminasyonunun giderilmesi amacıyla DNase-I (BioLabs) enzim reaksiyonu üretici firmanın talimatlarına göre uygulanmıştır. Bu protokole göre 10 µg total RNA üzerine 2 U DNase-I enzimi konularak 37 °C'de 10 dk bekletilmiştir. Reaksiyon durdurulması amacıyla 1 µl 0,5 M EDTA ilave edilerek 75 °C 10 dakika inkübe edilmiştir.

Primer dizayn

Kantitatif Gerçek zamanlı PZR (qRT-PZR) analizinde kullanılan asprosin ile referans (PGK1, RPL13A ve SDH1) genlerine ait primerler (Tablo 1) literatürden alınmıştır (Eroglu Gunes ve ark., 2020). Bu çalışmada kullanılan referans genlerin AH modelinde normalizasyon amacıyla en uygun genler olduğu Seçer Çelik ve ark. tarafından tanımlanmıştır (Seçer Çelik ve ark., 2020)

Tablo 1. qPZR analizlerinde kullanılan genlerin primer dizileri

Gen	Primer dizisi (5'→3')	PZR ürünü
Asprosin	TTTCTGGAATGGGCATGGG CCGTTTCCTGCCTCGTTT	131
SDHA	TGAACGGGAAGCTCACTGG AGCAAGCTCTATGGAGACCT	200
PGK1	ATGCAAAGACTGGCCAAGCTAC AGCCACAGCCTCAGCATATTTC	104
RPL13A	TATCTGCACTGCCAAGACTGAGTG CTGGTACTTCCACCCGACCTC	132

Reverze Transkriptaz (RT) reaksiyonu

Kalite kontrolü yapılmış ve olası genomik DNA kontaminasyonları temizlenmiş RNA örneklerinden üretici firmanın protokolü kullanılarak cDNA sentezlenmiştir. Kısaca, 2 µg/20µl total RNA örneğine 1 µl Oligo dT ve 1µl Random heksamer ilave edilerek +70°C 5 dakika bekletilmiştir. Sonra 8 µl 5X cDNA reaksiyon karışımı, 2 µl RNase inhibitörü, 4µl dNTP ilave edilerek +25°C su banyosunda 5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 2 µl Reverse Transkriptaz enzimi ilave edilerek önce +25°C 10 dakika sonra +37°C 60 dakika su banyosunda inkübe edilmiştir. Reaksiyon +70°C su banyosunda 10 dakika bekletilerek durdurulmuştur. Elde edilen cDNA örnekleri daha sonra kullanılmak üzere -20 °C’de saklanmıştır.

Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qPZR)

Hedef ve referans genlerin ekspresyon düzeyleri gerçek zamanlı PZR cihazı (Bio-Rad CFX Connect Gerçek Zamanlı PZR Sistemi) kullanılarak yapılmıştır. Reaksiyon için 2X SyberGreen master miskten 10 µl, forward primerden 5 pmol, reverse primerden 5 pmol (Tablo 1), 2 µl cDNA ve toplam hacim 20 µl olacak şekilde ddH₂O ile tamamlanarak PZR gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonun ısı profili, +95 °C 10 dk, 40 döngü (95 °C 30 sn, 60 °C 30 sn, 72 °C 30 sn) olacak şekilde kullanılmıştır. Melting curve (erime eğrisi) analizi için 95 °C 1 dakika ısıtılıp, 55 °C’ye düşürülen ısı 95 °C’ye kadar tekrar kademeli olarak gerçekleştirilmiştir. q PZR cihazından elde edilen Ct (eşik döngüsü) değerleri kayıt edilmiştir.

Asprosin ekspresyon düzeylerine ait Ct değerleri referans genlerin (PGK1, RPL13A ve SDH1) Ct değerleri ile normalize edilerek $2(-\Delta Ct)$ değerleri tespit edilmiştir. Kontrol ve deneme grupları arasında gen ekspresyonu farklılıkları ile için $2(-\Delta\Delta Ct)$ yöntemi ile tespit edilmiştir. Kontrol ve deneme grupları arasında gen ifadesinde gözlenen farklılıklar kat artışı olarak “RT² Profiler™ Pcr Array Data Analysis” olarak isimli web tabanlı program (<http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php>) kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2. İnsan Deney Modellemesi

3.2.1. Çalışma dizaynı

Araştırma için gerekli etik onay Necmettin Erbakan Üniversitesi Etik Kurulundan alındı (Tarih:16 Eylül 2022/Karar no: 2022/3966). Araştırma öncesi çalışmaya dahil edilecek hastalardan bilgilendirilmiş onay alındı. Araştırmaya 65 yaş üzeri hastalar dahil edildi. Araştırmaya dahil edilen hastalar Grup K (N=30) (kontrol grubu) ve Grup AH (N=30)

(Alzheimer hastası olanlar) olarak iki gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki hastalar AH tanısı almamış ve hariç tutma kriterleri dışında kalan sağlıklı hastalardan oluşmakta idi. AH tanısı için NINCDS-ADRDA (Amerika Ulusal Nörolojik ve İletişimsel Bozukluklar ve İnme Enstitüsü ve Alzheimer Hastalığı ve İlişkili Bozukluklar Derneği) tarafından ilk kez 1984’de belirlenen ve 2011’de güncellenen AH tanı kriterleri kullanıldı (Tablo 2). Hipertansiyon, kardiyovasküler hastalığı, serebrovasküler hastalığı, kronik karaciğer veya böbrek hastalığı, psikiyatrik hastalığı ve diabetes mellitus, obezite (VKI >30) gibi endokrin bozukluğu olduğu bilinen hastalar araştırma dışında tutuldu.

Tablo 2. NINCDS-ARDRA - Muhtemel Alzheimer Hastalığı Kriterleri

1	Muayene ile gösterilen ve objektif testlerle dokümente edilen demans
2	Bellek ve diğer kognitif fonksiyonlarda ilerleyici kötüleşme
3	Birden fazla bilişsel alanda bozukluk
4	Bilinç bozukluğu yok.
5	Başlangıç 40 ve 90 yaşları arasında
6	Bilişsel işlevlerde ilerleyici bozukluğa yol açabilecek sistemik hastalıklar veya diğer beyin hastalıklarının bulunmaması.
7	Aşağıdakilerle tanının desteklenmesi: Afazi, apraksi, agnozi Günlük yaşam aktivitelerinde bir bozulma ve davranış tarzlarında değişiklik Benzer bozukluklara ilişkin aile öyküsü Uyumlu laboratuvar bulguları (serebral atrofi gibi)

(Cankurtaran ve ark., 2005)

3.2.2. Ölçümler

Hastaların demografik verilerine ek olarak (yaş, cinsiyet, VKI), kan basıncı ölçümleri (asprosin için serum örnekleri alınmadan bir önceki güne ait 4 saat aralıklarla kaydedilmiş 2 sistolik ve diastolik kan basıncının aritmetik ortalama değerleri) not edildi. Ayrıca açlık kan şekeri değerleri, HOMA-IR (insülin direncinin homeostatik modeli değerlendirmesi), HgA1c, trigliserit, HDL, LDL, AST, ALT, üre ve kreatinin değerleri de kaydedildi. Serum asprosin konsantrasyonları ise bir ELISA kiti kullanılarak ölçüldü. Rutin tetkikleri yapılırken alınan numunelerden artan serumlar laboratuvarında toplandı ve toplanan bu serumlar -80 °C saklandı.

Yeterli katılımcı sayısına ulaşıldıktan sonra, tüm örneklerden aynı gün serum asprosin düzeyi çalışıldı.

3.3. İstatistiksel Analizler

Hayvan Alzheimer modellemesinde, tüm değerler; ortalama ve standart hata ($AO \pm SH$) olarak ifade edildi. Verilerin değerlendirilmesi ve iki grup arası farklılıklar için bağımsız t-testi kullanılmıştır.

İnsan deneklerden elde edilen veriler üzerinde, değişkenler, ortalama \pm SD veya medyan (çeyrekler arası aralık) olarak ifade edildi. Grup AH ve Grup K arasındaki değişken farklarını karşılaştırmak için unpaired t testi veya Mann-Whitney U testi kullanıldı. AH ile ilişkili önemli bağımsız faktörleri belirlemek için lojistik regresyon analizi yapıldı. Serum asprosin ile hastalık şiddeti arasındaki korelasyonu hesaplamak için Pearson korelasyon analizi kullanıldı. Serum asprosin ile diğer parametreler arasındaki korelasyon, basit ve çoklu doğrusal regresyon analizi kullanılarak analiz edildi.

Hem insan hem de hayvan çalışmalarından elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için IBM SPSS Statistics version 22.0 for Windows paket programı kullanıldı. Tüm analizlerde $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Hayvan sayısının hesaplanmasında referans çalışmalar göz önüne alınarak bu çalışmada toplamda Kontrol grubu için 12, Alzheimer grubu için 13 olmak üzere toplamda 28 sıçan kullanılması uygun görüldü. Bu örnek büyüklüğü, çalışmanın istatistiksel gücünü artırmak, sonuçların güvenilirliğini sağlamak ve gereksiz hayvan kullanımını önlemek amacıyla optimize edildi.

İnsan deneklerinin örneklem büyüklüğünün hesaplanmasında; G power yazılımı ile $\alpha=0.05$, tek taraflı güven aralığı ve %95 güç kullanılarak bir power analiz gerçekleştirilmiş ve toplam 72 hastanın çalışmaya dahil edilmesi gerektiği hesaplandı.

4. BULGULAR

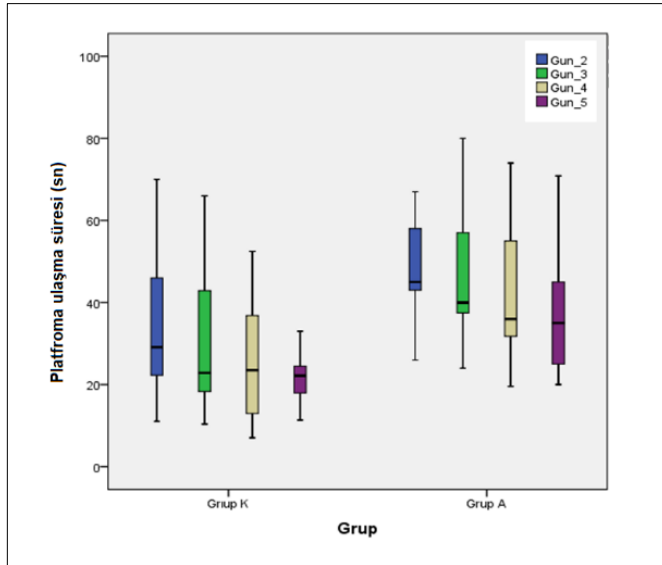
4.1. Hayvan Davranış Test Sonuçları

Hayvanların günlere göre hedef platforma ulaşma süreleri (escape latency) Tablo 3. ve Şekil 6. de gösterilmiştir. 5. güne doğru hayvanların hem Grup K’de hem de Grup AH’da platforma ulaşma sürelerinin kısaldığı gözlemlenmiştir. Grup K’ye göre Grup AH’da platforma ulaşma süresinin 2., 3., 4. ve 5. günlerde istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha uzun olduğu görüldü (sırasıyla $p < 0,025$, $p < 0,023$, $p < 0,017$ ve $p < 0,005$).

Tablo 3. Grupların Günlere Göre Platforma Ulaşma Süreleri

	Grup K (N=12) Ortalama±SS	Grup AH (N=13) Ortalama±SS	<i>p</i>
2. Gün (sn)	32,67±17,16	50,73±20,28	0,025*
3. Gün (sn)	29,45±16,71	45,48±16,26	0,023*
4. Gün (sn)	25,53±15,24	42,22±16,89	0,017*
5. Gün (sn)	22,65±7,22	37,30±14,94	0,005*

* $p < 0,05$



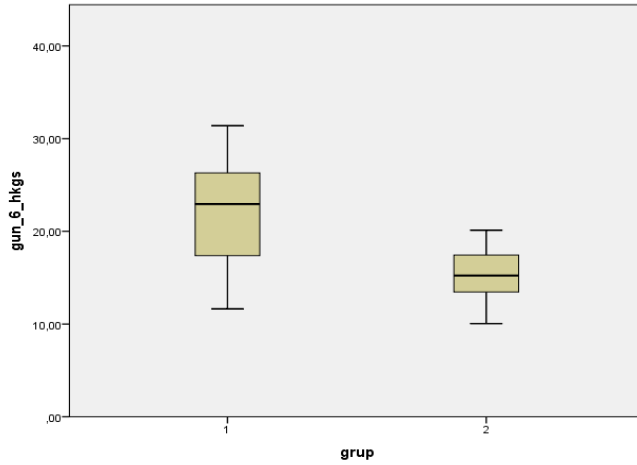
Şekil 6. Grupların günlere göre platforma ulaşma süreleri

4.1.1. Altıncı gün hedef kadranda bulunma süreleri

Hayvanların 6. gün hedef kadranda bulunma süreleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde Grup AH'da Grup K'ya göre daha kısa idi ($p < 0,002$), (Tablo 4, Şekil 7).

Tablo 4. Altıncı Gün Hedef Kadranda Bulunma Süreleri

	Grup K (N=12) Ortalama±SS	Grup AH (N=13) Ortalama±SS	<i>p</i>
6. gün (sn)	21,95±5,99	15,45±2,99	0,002*



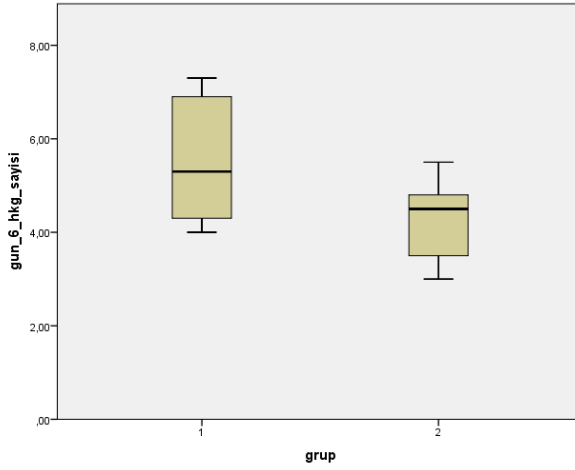
Şekil 7. Altıncı gün hedef kadranda bulunma süreleri

4.1.2. Altıncı gün hedef kadrandan geçiş sayısı

Hayvanların 6. gün hedef kadrandan geçiş sayıları istatistiksel olarak anlamlı şekilde Grup AH'da Grup K'ye göre daha az idi ($p < 0,016$), (Tablo 5, Şekil 8).

Tablo 5. Altıncı Gün Hedef Kadrandan Geçiş Sayısı

	Grup K (N=12) Ortalama±SS	Grup AH (N=13) Ortalama±SS	<i>p</i>
6. gün	5,45±1,31	4,30±0,87	0,016*



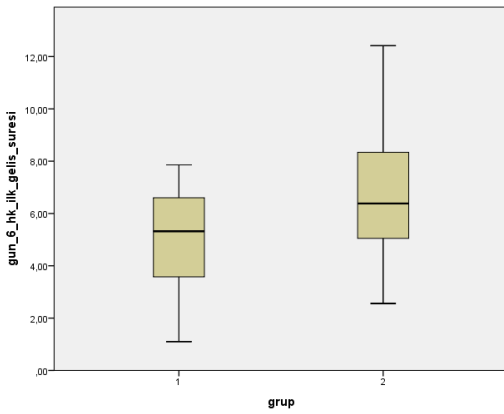
Şekil 8. Altıncı gün hedef kadrandan geçiş sayısı

4.1.3. Altıncı gün hedef kadrana ulaşma süresi

Hayvanların 6. Gün hedef kadrana ilk ulaşma süresi Grup AH'da Grup K'ye göre daha uzun idi ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p < 0,087$), (Tablo 6, Şekil 9).

Tablo 6. Altıncı Gün Hedef Kadrana Ulaşma Süresi

	Grup K (N=12) Ortalama±SS	Grup AH (N=13) Ortalama±SS	<i>p</i>
6. gün (sn)	4,98±2,06	6,84±3,02	0,087



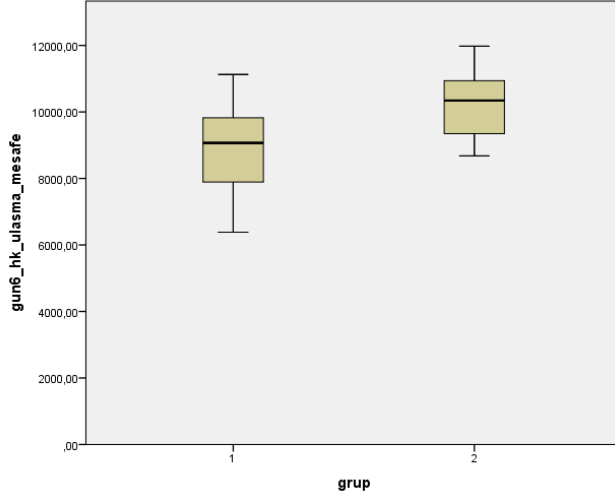
Şekil 9. Altıncı gün hedef kadrana ulaşma süresi

4.1.4. Altıncı gün hedef kadrana ulaşmak için kat edilen mesafe

Hayvanların 6. Gün test süresince kaydedilen toplam platform mesafesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde Grup AH'da Grup K'ye göre daha uzun idi ($p < 0,014$), (Tablo 7, Şekil 10).

Tablo 7. Altıncı Gün Hedef Kadrana Ulaşmak İçin Kat Edilen Mesafe

	Grup K (N=12) Ortalama±SS	Grup AH (N=13) Ortalama±SS	p
6. gün (cm)	8950,40±1440,50	10262,83±1012,28	0,014*



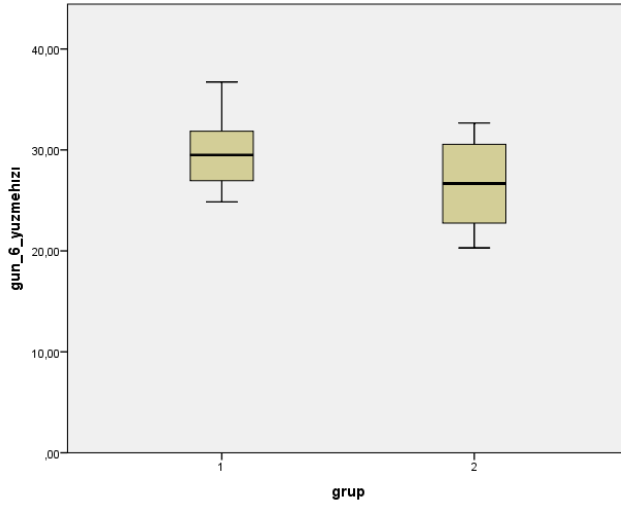
Şekil 10. Altıncı gün hedef kadrana ulaşmak için kat edilen mesafe

4.1.5. Altıncı gün hedef kadrana ulaşmak için yüzme hızı

Hayvanların 6. Gün hedef kadrana ulaşmak için yüzme hızı, Grup A'da Grup K'ye göre daha yavaş idi ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p < 0,089$), Tablo 8, Şekil 11.

Tablo 8. Altıncı Gün Hedef Kadrana Ulaşmak İçin Yüzme Hızı

	Grup K (N=12) Ortalama±SS	Grup AH (N=13) Ortalama±SS	p
6. gün (cm/s)	29,74±3,60	26,90±4,33	0,089



Şekil 11. Altıncı gün hedef kadrana ulaşmak için yüzme hızı

4.2. Hayvanların Serum ve Doku Sonuçları

4.2.1. Serum asprosin seviyeleri

Kontrol grubu sıçanlarının serum asprosin seviyeleri (2.17 ± 0.08 ng/mL), Alzheimer modeli oluşturulan grup sıçanlarına (2.01 ± 0.12 ng/mL) göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.32$).

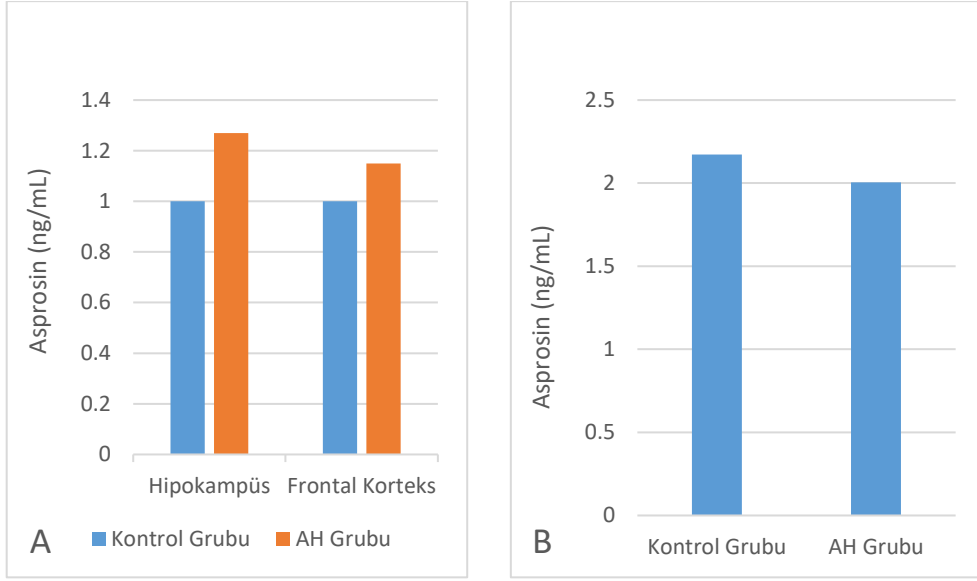
4.2.2. Hipokampus Asprosin mRNA Düzeyinde Ekspresyonu

Alzheimer modeli oluşturulan grup sıçanlarının hipokampus dokusundaki asprosin mRNA ekspresyon seviyeleri (1.27 ± 0.09), kontrol grubundaki sıçanlara (1.00 ± 0.00) kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.53$).

4.2.3. Frontal Korteks Asprosin mRNA Ekspresyonu

Alzheimer modeli oluşturulan grup sıçanlarının frontal korteks dokusundaki asprosin mRNA ekspresyon seviyeleri, kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla (1.15 ± 0.07) kat daha yüksek bulunmuştur. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.2445$).

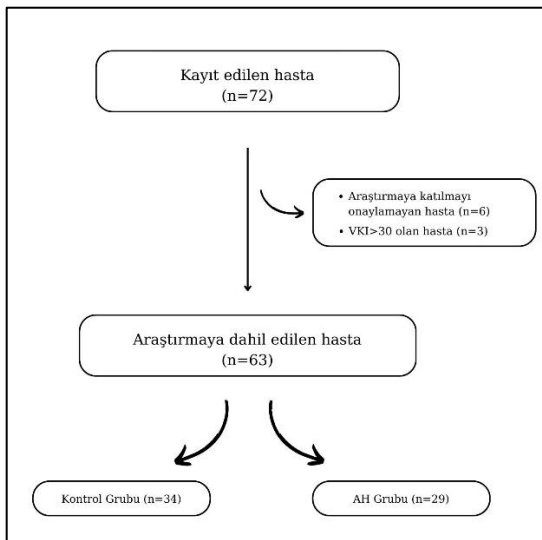
Serum ve doku sonuçlarını gösteren bir grafik Şekil 12’de gösterilmiştir.



Şekil 12. A: Hipokampüs ve Frontal Korteks Aspirin mRNA Ekspresyon seviyeleri (AH Grubu: Alzheimer grubu). B: Serum örneklerindeki Aspirin mRNA Ekspresyon seviyeleri

4.3. İnsan Deneklerin Sonuçları

Araştırmaya 35 alzheimer hastası, 37 kontrol hasta kayıt edildi. Ancak 6 hasta araştırmaya katılmayı kabul etmedi ve 3 hasta sonradan fark edilen dışlama kriterleri nedeniyle değerlendirilemedi. Sonuç olarak Kontrol grubundan 34 hastanın, AH grubundan da 29 hastanın serum örnekleri değerlendirmeye alındı. Deneklerine ait hasta kayıt akış şeması Şekil 13’de gösterilmiştir.



Şekil 13. İnsan deneklerde araştırmanın akış şeması

4.3.1. Demografik veriler

Grup K'da erkek oranı %70.59 (n=24), kadın oranı %29.41 (n=10) iken, Grup AH'de erkek oranı %48.28 (n=14), kadın oranı %51.72 (n=15) olarak bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.12). Grup K'nın ortalama yaşı 77, Grup AH'nin ise 74 olarak hesaplandı; fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.21). Grup K'nın ortalama kilosu 70.68 kg, Grup AH'nin ise 72.17 kg olarak belirlendi, (p=0.49). Grup K'nın ortalama boyu 1.65 m, Grup AH'nin ise 1.63 m olarak ölçüldü, (p=0.30). Grup K'nın ortalaması 25.88 kg/m², Grup AH'nin ise 27.26 kg/m² olarak bulundu; bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.02). Grup K'da ortalama 126.85 mmHg, Grup AH'de 128.79 mmHg olarak ölçüldü; fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.20). Grup K'da ortalama 71.85 mmHg, Grup AH'de 73.07 mmHg olarak belirlendi; fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.46). Grup K'da ortalama 89.97 mmHg, Grup AH'de 91.48 mmHg olarak hesaplandı; fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.27), (Tablo 9).

Tablo 9. Hastalara Ait Demografik Veriler

Özellikler	Grup K (n=34)	Grup AH (n=29)	p
Cinsiyet			
Erkek	24 (%70.59)	14 (%48.28)	0.12
Kadın	10 (%29.41)	15 (%51.72)	0.12
Yaş (yıl)	77.06	74.55	0.21
Kilo (kg)	70.68	72.17	0.49
Boy (m)	1.65	1.63	0.30
VKİ (kg/m ²)	25.88	27.26	0.02*
SKB (mmHg)	126.85	128.79	0.20
DKB (mmHg)	71.85	73.07	0.46
OKB (mmHg)	89.97	91.48	0.27

VKİ: Vücut kitle indeksi, SKB: sistolik kan basıncı, DKB: diyastolik kan basıncı, OKB: ortalama kan basıncı

4.3.2. Metabolik ve biyokimyasal sonuçlar

Grup K için ortalama AKŞ değeri 109.56 mg/dL, Grup AH için 114 idi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0.617$). Grup K için ortalama insülin değeri 12.46 μ IU/mL, Grup AH için 19.69 μ IU/mL'dir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0.0012$). Grup K için ortalama HOMA-IR değeri 3.43, Grup AH için 5.94'tür. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0.015$). Grup K için ortalama HbA1c % değeri 5.93, Grup AH için 5.96'dır. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0.885$). Grup K için ortalama HbA1C değeri 41.44, Grup AH için 41.69'dur. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0.898$). Metabolik ve biyokimyasal sonuçlar Tablo 10. da gösterilmiştir.

Tablo 10. Metabolik ve Biyokimyasal Sonuçlar

Özellikler	Grup K (n=34)	Grup AH (n=29)	<i>p</i>
AKŞ mg/dL	109.56	114.00	0.62
İnsülin (μ IU/mL)	12.46	19.69	0.001*
HOMA-IR	3.44	5.94	0.02*
HbA1C %	5.93	5.96	0.89
HbA1C (mmol/mol)	41.44	41.69	0.90
Cr (mg/dL)	0.89	0.88	0.85
BUN (mg/dL)	19	19	0.89
AST (U/L)	18	18	0.99
ALT (U/L)	14	15	0.73
LDL (mg/dL)	131	126	0.65
HDL (mg/dL)	45	47	0.31
Trigliserit (mg/dL)	141	124	0.19

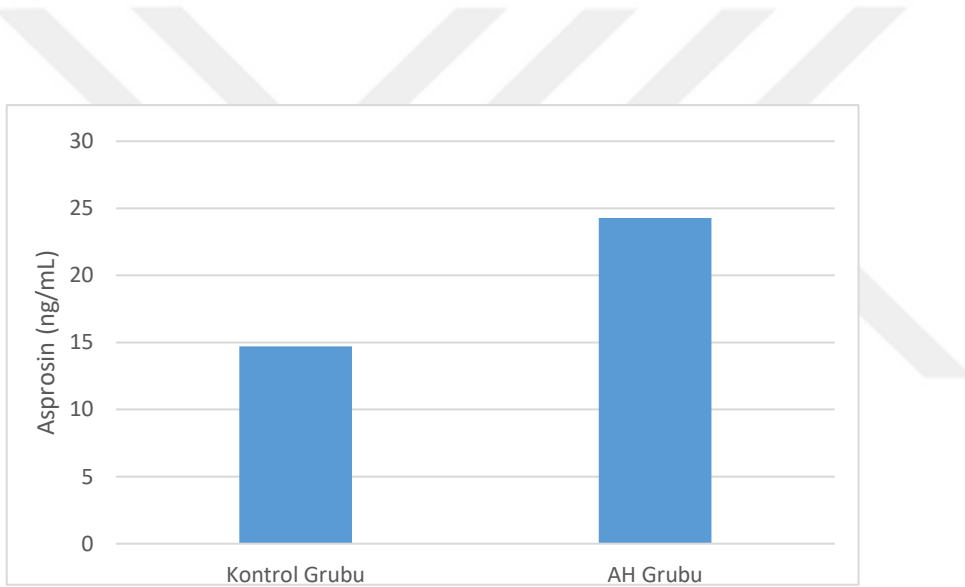
AKŞ: Açlık kan şekeri, HOMA-IR: insülin direç testi, HbA1C: hemogloblin A1C, Cr: kreatinin, BUN: kan üre nitrojeni, AST: aspartat aminotransferaz, ALT: alanin aminotransferaz, LDL:düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein.

4.3.3. Serum asprosin ölçümleri

Asprosin düzeyleri karşılaştırıldığında, Grup K'da (n=34) ortalama değer 14.71 ng/mL iken, Grup AH'da (n=29) bu değer 24.28 ng/mL olarak ölçülmüştür. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup, p 0.02 olarak tespit edilmiştir (Tablo 11), (Şekil 14).

Tablo 11. Serum Asprosin Düzeyleri

	Grup K (N=12) Ortalama±SS	Grup AH (N=13) Ortalama±SS	<i>p</i>
Asprosin (ng/mL)	14.71	24.28	0.02



Şekil 14. İnsan deneklerde serum asprosin düzeyleri

5. TARTIŞMA

Bu çalışma, Alzheimer hastalığı ile asprosin düzeyleri ve metabolik parametreler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla tasarlanmıştır. Bu amaçla hem hayvan modellerinde hem de insan deneklerde Alzheimer hastalığındaki asprosin seviyeleri detaylı bir şekilde incelenmiştir. Elde edilen bulgular, Alzheimer hastalığı ile metabolik değişiklikler ve asprosin düzeyleri arasında anlamlı ilişkiler olduğunu ortaya koymaktadır.

Hayvan modelleri, Alzheimer hastalığının mekanizmalarını anlamak ve potansiyel tedavi yöntemlerini test etmek için sıkça kullanılan önemli araçlardır. STZ ile oluşturulan Alzheimer modeli, nörodejenerasyon ve bilişsel bozukluk süreçlerini simüle ederek, hastalığın patofizyolojisini incelemek için etkili bir yöntem sunmaktadır. Bu modelde, streptozotosinin serebral etkileri hipokampus ve korteks bölgelerinde belirginleşir ve bu bölgelerdeki yapısal ve işlevsel değişiklikler bilişsel bozukluklarla ilişkilendirilir (Morrone ve ark., 2018; Hussain ve ark., 2022). Bizim araştırmamızda, Morris su labirenti davranış testi sonuçları, Alzheimer grubu hayvanlarda öğrenme ve hafıza performansının kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde düşük olduğunu göstermiştir. Alzheimer grubu hayvanların platforma ulaşma süresinin daha uzun ve hedef kadranda geçirdikleri sürenin daha kısa olması, bilişsel işlevlerin bozulduğunu ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, Alzheimer hastalığı modeli oluşturulan hayvanlarda bilişsel fonksiyonlardaki bozulmayı doğrulayan literatürle uyumludur.

Asprosinin Alzheimer hastalığındaki rolü tam olarak netleşmemiştir. Mevcut literatür, asprosinin metabolik süreçlerdeki rolü üzerine yoğunlaşmakta ve enerji homeostazı, insülin duyarlılığı ve inflamasyon üzerindeki etkileriyle ilişkilendirilmektedir (Wang ve ark., 2013; Mirr ve ark., 2023). Ancak asprosinin nörodejeneratif hastalıklardaki potansiyel etkileri hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Bazı çalışmalar, asprosinin nöroprotektif bir ajan olabileceğini öne sürerken, diğerleri inflamatuvar ve metabolik stres süreçlerine katkıda bulunabileceğini savunmaktadır (Tanbek ve ark., 2024). Alzheimer hastalığında ise asprosin düzeylerinin bu bağlamda artış gösterip göstermediği ve bu artışın hastalık patofizyolojisine olan etkileri halen tartışmalıdır.

Bizim çalışmamızda, Alzheimer modeli oluşturulan sıçanların serum asprosin seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla düşük bulunmuş, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Bu durum, asprosin'in Alzheimer hastalığındaki metabolik süreçler üzerindeki etkisinin sınırlı olabileceğini veya hastalık ilerleyişine bağlı olarak farklı roller

üstlenebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, hipokampus ve frontal korteks dokularındaki asprosin mRNA ekspresyonu, Alzheimer modeli sıçanlarda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Her ne kadar bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, Alzheimer hastalığı ile ilişkilendirilen nöroinflamasyon ve metabolik stres süreçlerinin asprosin ekspresyonunu artırabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular, asprosin'in Alzheimer patofizyolojisine olası bir katkıda bulunabileceğini işaret etmekle birlikte, bu ilişkinin daha detaylı mekanizmalarla ve daha büyük örneklem büyüklükleriyle araştırılması gerektiğini göstermektedir.

Asprosin'in insülin metabolizması üzerindeki etkileri, bu hormonun Alzheimer hastalığı ile ilişkisini anlamada önemli bir temel sunmaktadır. Literatüre göre, asprosin, adipoz dokudan salınan bir hormon olup, enerji homeostazı ve glikoz metabolizması üzerinde etkili bir rol oynar (Muthu ve ark., 2020). Özellikle karaciğerde glikoz salınımını artırarak hiperglisemik bir etki gösterir ve insülin sekresyonunu uyarır (Wang ve ark., 2018). Ancak, uzun süreli ve kronik olarak yüksek asprosin seviyelerinin insülin direncini artırabileceği ve sistemik inflamasyon süreçlerini tetikleyebileceği bildirilmiştir (Lee ve ark., 2019). İnsan deneklerde Alzheimer hastalığı olan grupta insülin düzeylerinin ve HOMA-IR skorunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olması, insülin direnci ve Alzheimer hastalığı arasında bir ilişki olabileceğini göstermektedir (Wang ve ark., 2020). Ayrıca, Alzheimer grubunda VKİ'nin anlamlı derecede yüksek bulunması, obezite ile Alzheimer hastalığı arasında bilinen ilişkiyi desteklemektedir (Shabir ve ark., 2021). Bu bağlamda, çalışmamızdaki Alzheimer hastalarında insülin düzeylerinin ve insülin direncini yansıtan HOMA-IR skorlarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olması, asprosin düzeylerinin artışı ile ilişkilendirilebilir. Asprosin, enerji metabolizmasını düzenleme kapasitesine sahip bir hormon olarak, insülin direnci gibi metabolik bozukluklarda önemli bir role sahiptir. Alzheimer hastalarında gözlenen asprosin yüksekliği, insülin direncinin artışıyla uyumlu bir şekilde yorumlanabilir.

Bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle, asprosin yeni tanımlanmış bir molekül olduğundan, nörokognitif etkileri ve Alzheimer hastalığı ile ilişkisi üzerine literatürde yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Bu durum, elde edilen bulguların daha geniş bir literatür çerçevesinde değerlendirilmesini zorlaştırmıştır. Gelecekte yapılacak ileri çalışmalar, asprosinin Alzheimer patofizyolojisindeki rolünü daha iyi anlamamıza katkı sağlayacaktır. Çalışmamızda hayvan modeli ve insan denek gruplarındaki sınırlı örneklem büyüklüğü, elde edilen bulguların genelleştirilmesini sınırlayan bir başka önemli faktördür. Asprosinin Alzheimer üzerindeki etkilerini daha net anlayabilmek ve daha anlamlı sonuçlara

ulaşabilmek için, daha geniş örneklem büyüklüğüne sahip çalışmaların yapılması gerekmektedir. Özellikle farklı yaş grupları, cinsiyetler ve metabolik özellikler dikkate alınarak yapılacak çalışmalar, bu konuda daha kapsamlı bilgiler sunabilecektir. Alzheimer modeli üzerinde asprosinin etkinliğini doğrudan gözlemlemek için, asprosin molekülünün dışarıdan uygulanmasını içeren bir araştırma planlanabilirdi. Ancak, bu çalışmada öncelikli olarak hastalığın doğal seyri sırasında asprosin düzeylerinin incelenmesine odaklanılmıştır. Bu nedenle, asprosin molekülünün doğrudan uygulanmasını içeren bir tasarım çalışmanın kapsamı dışında bırakılmıştır. Bu tür bir araştırma, gelecekte asprosinin Alzheimer zerindeki potansiyel terapötik etkilerinin değerlendirilmesine olanak sağlayabilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuç

Bu çalışma, Alzheimer hastalığı ile asprosin düzeyleri arasındaki ilişkiyi hem hayvan modellerinde hem de insan deneklerde incelemiş ve elde edilen bulgular, asprosinin nörodejeneratif süreçlerdeki potansiyel rolüne ışık tutmuştur. Alzheimer modeli sıçanlarda, serum asprosin seviyelerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, hipokampus ve frontal korteks dokularındaki asprosin mRNA ekspresyonunun Alzheimer modeli hayvanlarda daha yüksek olduğu gözlenmiştir. İnsan deneklerde ise, Alzheimer hastalarının serum asprosin seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu, ayrıca insülin düzeyleri ve HOMA-IR skorlarının da belirgin şekilde yüksek olduğu saptanmıştır.

6.2. Öneriler

Asprosinin Alzheimer hastalığındaki rolünü daha net bir şekilde ortaya koyabilmek için geniş örneklem büyüklüğüne sahip ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Özellikle, nörodejeneratif süreçlerle ilişkili metabolik mekanizmaların ayrıntılı olarak incelenmesi, asprosinin olası biyobelirteç ve tedavi hedefi olarak değerlendirilmesine olanak sağlayabilir. Bu kapsamda, farklı hasta gruplarında yapılacak uzun süreli çalışmalar ile asprosinin nörolojik ve metabolik süreçlere etkisi daha iyi anlaşılabilir. Aynı zamanda, asprosinin insülin direnciyle bağlantısını ele alan araştırmalar, Alzheimer hastalığı ve metabolik bozukluklar arasındaki karmaşık ilişkiyi çözümlenmeye katkıda bulunabilir.

7. KAYNAKLAR

- Agrawal, R., Tyagi, E., Shukla, R., & Nath, C. (2011). Insulin receptor signaling in rat hippocampus: A study in STZ (ICV) induced memory deficit model. *European Neuropsychopharmacology*, 21(3), 261–273. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2010.11.003>
- Ahima, R. S., Prabakaran, D., Mantzoros, C., Qu, D., Lowell, B., Maratos-Flier, E., et al. (1996). Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*, 382(6588), 250–252. <https://doi.org/10.1038/382250a0>
- Allen, S. J., Watson, J. J., & Dawbarn, D. (2011). The neurotrophins and their role in Alzheimer's disease. *Current Neuropharmacology*, 9(4), 559–573. <https://doi.org/10.2174/157015911798376239>
- Aly, H., Metwally, F., & Ahmed, H. (2011). Neuroprotective effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) in rat model of Alzheimer's disease. *Acta Biochimica Polonica*, 58(4), 513–520.
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.)*. American Psychiatric Association. <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>
- Bertram, L., Lill, C. M., & Tanzi, R. E. (2010). The genetics of Alzheimer disease: Back to the future. *Neuron*, 68(2), 270–281. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.10.013>
- Brickell, K. L., Steinbart, E. J., Rumbaugh, M., Payami, H., Schellenberg, G. D., Van Deerlin, V., et al. (2006). Early-onset Alzheimer disease in families with late-onset Alzheimer disease: A potential important subtype of familial Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 63(9), 1307–1311. <https://doi.org/10.1001/archneur.63.9.1307>
- Cankurtaran, M., & Arıoğul, S. (2005). Demans ve alzheimer hastalığı. *Misem*, 11(12), 22–57.
- Chung, E. J., Babulal, G. M., Monsell, S. E., Cairns, N. J., Roe, C. M., & Morris, J. C. (2015). Clinical features of Alzheimer disease with and without Lewy bodies. *JAMA Neurology*, 72(7), 789–796. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.0606>
- D'Hooge, R., & De Deyn, P. P. (2001). Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews*, 36(1), 60–90. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(01\)00067-4](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(01)00067-4)
- DeKosky, S. T., & Scheff, S. W. (1990). Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer's disease: Correlation with cognitive severity. *Annals of Neurology*, 27(5), 457–464. <https://doi.org/10.1002/ana.410270502>
- do Nascimento, K. K. F., Silva, K. P., Malloy-Diniz, L. F., Butters, M. A., & Diniz, B. S. (2015). Plasma and cerebrospinal fluid amyloid- β levels in late-life depression: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Psychiatric Research*, 69, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2015.07.005>
- Donaghy, P. C., & McKeith, I. G. (2014). The clinical characteristics of dementia with Lewy bodies and a consideration of prodromal diagnosis. *Alzheimer's Research & Therapy*, 6(4), 1–12. <https://doi.org/10.1186/alzrt274>
- Duerrschmid, C., He, Y., Wang, C., Li, C., Bournat, J. C., Romere, C., et al. (2017). Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nature Medicine*, 23(12), 1444–1453.
- Eroglu Gunes C, Cimen YA, Yildiz I, E. Kurar, Kutlu S. Hippocampal and hypothalamic FBN1 expression in an experimental opioid addiction rat model. 4th International Congress of Turkish Neuroendocrinology Society. 26-28 November 2020. Istanbul, Turkey.
- Etienne, A. S. (1992). Navigation of a small mammal by dead reckoning and local cues. *Current Directions in Psychological Science*, 1(2), 48–52. <https://doi.org/10.1111/1467-8721.ep10768603>
- Gahete, M. D., Córdoba-Chacón, J., Kineman, R. D., Luque, R. M., & Castaño, J. P. (2011). Role of ghrelin system in neuroprotection and cognitive functions: Implications in Alzheimer's disease. *Peptides*, 32(11), 2225–2238. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2011.09.015>

- Greco, S. J., Bryan, K. J., Sarkar, S., Zhu, X., Smith, M. A., Ashford, J. W., et al. (2010). Leptin reduces pathology and improves memory in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 19(4), 1155–1167. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1334>
- Grünblatt, E., Hoyer, S., & Riederer, P. (2004). Gene expression profile in streptozotocin rat model for sporadic Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, 111(3), 367–386. <https://doi.org/10.1007/s00702-003-0105-6>
- Grygiel-Górniak, B., & Puszczewicz, M. (2017). A review on irisin, a new protagonist that mediates muscle-adipose-bone-neuron connectivity. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21(20), 4687–4693.
- Hebert, L. E., Scherr, P. A., Bienias, J. L., Bennett, D. A., & Evans, D. A. (2003). Alzheimer disease in the US population: Prevalence estimates using the 2000 census. *Archives of Neurology*, 60(8), 1119–1122. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.8.1119>
- Helmer, C., Joly, P., Letenneur, L., Commenges, D., & Dartigues, J. (2001). Mortality with dementia: Results from a French prospective community-based cohort. *American Journal of Epidemiology*, 154(7), 642–648.
- Howlett, D. R., Whitfield, D., Johnson, M., Attems, J., O'Brien, J. T., Aarsland, D., et al. (2015). Regional multiple pathology scores are associated with cognitive decline in Lewy body dementias. *Brain Pathology*, 25(4), 401–408. <https://doi.org/10.1111/bpa.12254>
- Huang, X., Chen, Y., Zhang, H., Ma, Q., Zhang, Y. W., & Xu, H. (2012). Salubrinal attenuates β -amyloid-induced neuronal death and microglial activation by inhibition of the NF- κ B pathway. *Neurobiology of Aging*, 33(5), 1007.e9–1007.e17. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.08.013>
- Hussain, S. M., et al. (2022). Cognition enhancing effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in lab animal studies: A systematic review and meta-analysis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 55, e11593. <https://doi.org/10.1590/1414-431X2021e11593>
- Hy, L. X., & Keller, D. M. (2000). Prevalence of AD among whites: A summary by levels of severity. *Neurology*, 55(2), 198–204.
- Jack, C. R., Knopman, D. S., Jagust, W. J., Shaw, L. M., Aisen, P. S., Weiner, M. W., et al. (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *The Lancet Neurology*, 9(1), 119–128. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70299-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70299-6)
- Kim, D. H., Huh, J. W., Jang, M., Suh, J. H., Kim, T. W., Park, J. S., et al. (2012). Sitagliptin increases tau phosphorylation in the hippocampus of rats with type 2 diabetes and in primary neuron cultures. *Neurobiology of Disease*, 46(1), 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.12.028>
- Kim, J. J., Lee, H. J., Han, J. S., & Packard, M. G. (2001). Amygdala is critical for stress-induced modulation of hippocampal long-term potentiation and learning. *Journal of Neuroscience*, 21(14), 5222–5228. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-14-05222.2001>
- Kim, O. Y., & Song, J. (2018). The role of irisin in Alzheimer's disease. *Journal of Clinical Medicine*, 7(11), 407. <https://doi.org/10.3390/jcm7110407>
- Kocaman, N., & Kuloğlu, T. (2020). Expression of asprosin in rat hepatic, renal, heart, gastric, testicular, and brain tissues and its changes in a streptozotocin-induced diabetes mellitus model. *Tissue and Cell*, 66, 101397. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2020.101397>
- Kojima, M., & Kangawa, K. (2005). Ghrelin: Structure and function. *Physiological Reviews*, 85(2), 495–522. <https://doi.org/10.1152/physrev.00012.2004>
- Kovacs, G. G., Alafuzoff, I., Al-Sarraj, S., Arzberger, T., Bogdanovic, N., Capellari, S., et al. (2008). Mixed brain pathologies in dementia: The BrainNet Europe consortium experience. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 26(4), 343–350. <https://doi.org/10.1159/000161674>

- Lecanu, L., Greeson, J., & Papadopoulos, V. (2006). Beta-amyloid and oxidative stress jointly induce neuronal death, amyloid deposits, gliosis, and memory impairment in the rat brain. *Pharmacology*, 76(1), 19–33. <https://doi.org/10.1159/000091230>
- Lee, T., et al. (2019). Asprosin impairs insulin secretion in response to glucose and viability through TLR4/JNK-mediated inflammation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 486, 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.03.018>
- Lehmann, S., Delaby, C., Touchon, J., Hirtz, C., & Gabelle, A. (2013). Biomarkers of Alzheimer's disease: The present and the future. *Revue Neurologique*, 169(10), 719–723. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2013.07.016>
- Lewis, J., Dickson, D. W., Lin, W.-L., Chisholm, L., Corral, A., Jones, G., et al. (2001). Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science*, 293(5534), 1487–1491. <https://doi.org/10.1126/science.1058189>
- Mathis, C., Wang, Y., & Klunk, W. (2004). Imaging β -amyloid plaques and neurofibrillary tangles in the aging human brain. *Current Pharmaceutical Design*, 10(13), 1469–1492. <https://doi.org/10.2174/1381612043383657>
- Maurer, R., & Derivaz, V. (2000). Rats in a transparent Morris water maze use elemental and configural geometry of landmarks as well as distance to the pool wall. *Spatial Cognition and Computation*, 2, 135–156. <https://doi.org/10.1023/A:1015532504745>
- Mirr, M., et al. (2023). Serum asprosin correlates with indirect insulin resistance indices. *Biomedicines*, 11(6), 1568. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11061568>
- Morris, R. G. M. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*, 12(2), 239–260. [https://doi.org/10.1016/0023-9690\(81\)90020-5](https://doi.org/10.1016/0023-9690(81)90020-5)
- Morris, R. G. M., Davis, S., & Butcher, S. P. (1990). Hippocampal synaptic plasticity and NMDA receptors: A role in information storage? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 329(1253), 187–204. <https://doi.org/10.1098/rstb.1990.0169>
- Morroni, F., et al. (2018). Neuroprotective effect of caffeic acid phenethyl ester in a mouse model of Alzheimer's disease involves Nrf2/HO-1 pathway. *Aging and Disease*, 9(4), 605–617. <https://doi.org/10.14336/AD.2017.1122>
- Muthu, M. L., & Reinhardt, D. P. (2020). Fibrillin-1 and fibrillin-1-derived asprosin in adipose tissue function and metabolic disorders. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 14(2), 159–173. <https://doi.org/10.1007/s12079-020-00548-4>
- Nakamura, S., Murayama, N., Noshita, T., Annoura, H., & Ohno, T. (2001). Progressive brain dysfunction following intracerebroventricular infusion of beta1–42-amyloid peptide. *Brain Research*, 912(2), 128–136. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)02758-5](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)02758-5)
- Nussbaum, R. L., & Ellis, C. E. (2003). Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *The New England Journal of Medicine*, 348(14), 1356–1364. <https://doi.org/10.1056/NEJMra020527>
- Okonkwo, O. C., Xu, G., Oh, J. M., Dowling, N. M., Carlsson, C. M., Gallagher, C. L., et al. (2014). Cerebral blood flow is diminished in asymptomatic middle-aged adults with maternal history of Alzheimer's disease. *Cerebral Cortex*, 24(4), 978–988. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs389>
- Pilcher, H. (2006). Alzheimer's disease could be “type 3 diabetes.” *The Lancet Neurology*, 5(5), 388–389. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70441-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70441-1)
- Price, J. L., & Morris, J. C. (1999). Tangles and plaques in nondemented aging and “preclinical” Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, 45(3), 358–368. <https://doi.org/10.1002/ana.410450308>
- Reitz, C., Brayne, C., & Mayeux, R. (2011). Epidemiology of Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, 7(3), 137–152. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2011.2>

- Romere, C., Duerrschmid, C., Bournat, J., Constable, P., Jain, M., Xia, F., et al. (2016). Asprosin, a fasting-induced glucogenic protein hormone. *Cell*, 165(3), 566–579.
- Sakamoto, S., Ishii, K., Sasaki, M., Hosaka, K., Mori, T., Matsui, M., et al. (2002). Differences in cerebral metabolic impairment between early and late onset types of Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences*, 200(1-2), 27–32. [https://doi.org/10.1016/S0022-510X\(02\)00123-1](https://doi.org/10.1016/S0022-510X(02)00123-1)
- Scheff, S. W., Price, D. A., Schmitt, F. A., & Mufson, E. J. (2006). Hippocampal synaptic loss in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiology of Aging*, 27(10), 1372–1384. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2005.09.012>
- Secer Çelik F, Ozen Koca R, Solak H, Solak Gormus ZI, Kutlu S, E. Kurar. Selection of housekeeping genes for rat hippocampus expression studies: Alzheimer's disease model. 4th International Congress of Turkish Neuroendocrinology Society. 26-28 November 2020. Istanbul, Turkey. (Oral communication).
- Seminara, R. S., Jeet, C., Biswas, S., Kanwal, B., Iftikhar, W., Sakibuzzaman, M., et al. (2018). The neurocognitive effects of ghrelin-induced signaling on the hippocampus: A promising approach to Alzheimer's disease. *Cureus*, 10(9). <https://doi.org/10.7759/cureus.3332>
- Servello, A., Andreozzi, P., Bechini, F., De Angelis, R., Pontecorvo, M., & Vulcano, A. (2014). Effect of AChE and BuChE inhibition by rivastigmine in a group of old-old elderly patients with cerebrovascular impairment (SIVD type). *Minerva Medica*, 105(2), 167–174.
- Shabir, K., et al. (2021). Asprosin, a novel pleiotropic adipokine implicated in fasting and obesity-related cardio-metabolic disease: Comprehensive review of preclinical and clinical evidence. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 60, 120–132. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2021.02.004>
- Smith, A. D. (2008). The worldwide challenge of the dementias: A role for B vitamins and homocysteine? *Food and Nutrition Bulletin*, 29(2_suppl1), S143–S172. <https://doi.org/10.1177/15648265080292S208>
- Sodhi, R. K., & Singh, N. (2013). All-trans retinoic acid rescues memory deficits and neuropathological changes in a mouse model of streptozotocin-induced dementia of Alzheimer's type. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 40, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.pnpb.2012.09.013>
- Sonkusare, S. K., Kaul, C. L., & Ramarao, P. (2005). Dementia of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders—Memantine, a new hope. *Pharmacological Research*, 51(1), 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2004.06.010>
- Stephan, A., Laroche, S., & Davis, S. (2001). Generation of aggregated β -amyloid in the rat hippocampus impairs synaptic transmission and plasticity and causes memory deficits. *Journal of Neuroscience*, 21(15), 5703–5714. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-15-05703.2001>
- Sutherland, R. J., Chew, G. L., Baker, J., & Linggard, R. C. (1987). Some limitations on the use of distal cues in place navigation by rats. *Psychobiology*, 15(1), 48–57. <https://doi.org/10.3758/BF03332958>
- Tanbek, K., et al. (2024). Asprosin improved neuronal survival by suppressing apoptosis and enhancing the activity of the autophagy pathway in the MCAO model in rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 28(5).
- Tian, J., Wang, T., & Du, H. (2023). Ghrelin system in Alzheimer's disease. *Current Opinion in Neurobiology*, 78, 102655. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2023.102655>
- Wang, M., et al. (2020). Serum asprosin concentrations are increased and associated with insulin resistance in children with obesity. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 75(4), 205–212. <https://doi.org/10.1159/000509537>
- Wang, Y., et al. (2018). Plasma asprosin concentrations are increased in individuals with glucose dysregulation and correlated with insulin resistance and first-phase insulin secretion. *Mediators of Inflammation*, 2018, 9471583. <https://doi.org/10.1155/2018/9471583>

- Wang, Y., Qu, H., Xiong, X., Qiu, Y., Liao, Y., Chen, Y., et al. (2018). Plasma asprosin concentrations are increased in individuals with glucose dysregulation and correlated with insulin resistance and first-phase insulin secretion. *Mediators of Inflammation*, 2018, 9471583. <https://doi.org/10.1155/2018/9471583>
- Wortmann, M. (2012). Dementia: A global health priority—Highlights from an ADI and World Health Organization report. *Alzheimer's Research & Therapy*, 4, 1–3. <https://doi.org/10.1186/alzrt143>
- Yang, B., Luo, G., Zhang, C., Feng, L., Luo, X., & Gan, L. (2020). Curcumin protects rat hippocampal neurons against pseudorabies virus by regulating the BDNF/TrkB pathway. *Scientific Reports*, 10(1), 22204. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79144-7>
- Zhang, L., Chen, C., Zhou, N., Fu, Y., & Cheng, X. (2019). Circulating asprosin concentrations are increased in type 2 diabetes mellitus and independently associated with fasting glucose and triglyceride. *Clinica Chimica Acta*, 489, 183–188. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.11.019>
- Zsuga, J., Tajti, G., Papp, C., Juhasz, B., & Gesztelyi, R. (2016). FNDC5/irisin, a molecular target for boosting reward-related learning and motivation. *Medical Hypotheses*, 90, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2016.03.014>



8. EKLER

8. 1. EK 1 Hayvan Deneyleri Etik Kurul Kararı



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2021 – 041

Karar Tarihi: 16.07.2021

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD'den Prof. Dr. Selim KUTLU, Uzm. Dr. Mehmet Akif YAZAR' ın sunduğu **“Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Yeni Bir Adipokin Olan Asprosinin Etkileri”** başlıklı tez projesi 11 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede 4 grupta toplam 48 adet sıçan kullanılacağı ve anestezi altında dekapite edileceği bildirilmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından **“Uygun”** olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Tuğrul YILMAZ
Başkan

8.2. EK 2 İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Tıbbi Etik Kurul Kararı

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ DIŞI ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Toplantı Sayısı: 160

Toplantı Tarihi: 16 Eylül 2022

Karar Sayısı: 2022/3966:(11166)N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Selim KUTLU'nun "**Alzheimer Hastalığının Yeni Bir Adipokin Olan Asprosin ile İlişisinin Araştırılması**" başlıklı doktora tez çalışması ile ilgili 01.09.2022 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü, Doç. Dr. Mehmet Akif YAZAR'ın doktora tez çalışmasının N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Selim KUTLU'nun sorumluluğunda yürütülmesinin uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Not: Çalışma ile ilgili gerekli izinlerin alınması ve yasal sorumluluk araştırmacılara aittir.

Sorumlu Araştırmacı: Prof. Dr. Selim KUTLU

Yardımcı Araştırmacılar: Doç. Dr. Mehmet Akif YAZAR, Doç. Dr. Hüseyin KURKU, Doç. Dr. Faruk Ömer ODABAŞ

ASLI GİBİDİR
16.09.2022

Prof. Dr. Saim AÇIKGÖZOĞLU
İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurul Başkanı