

T. C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA DENEYSEL ALZHEİMER TİPİ DEMANS  
MODELİNDE YENİ BİR NÖROTROFİK MOLEKÜL OLAN  
NÖRİTİNİN ROLÜ**

ALPASLAN ÖZKÜRKÇÜLER

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Selim KUTLU

KONYA 2022

T. C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı

**SIÇANLARDA DENEYSEL ALZHEİMER TİPİ DEMANS MODELİNDE  
YENİ BİR NÖROTROFİK MOLEKÜL OLAN NÖRİTİNİN ROLÜ**

**Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Selim KUTLU

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 161418007 proje numarası ile desteklenmiştir.

**KONYA 2022**

## Tez Onay Sayfası

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi **Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER**'in “**Sıçanlarda Deneysel Alzheimer Tipi Demans Modelinde Yeni Bir Nörotrofik Molekül Olan Nöritinin Rolü**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya / 14.10.2022

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Selim KUTLU Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	İmza
Üye	Prof. Dr. Sinan CANPOLAT Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	İmza
Üye	Prof. Dr. Ercan KURAR Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	İmza
Üye	Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	İmza
Üye	Doç. Dr. Zafer ŞAHİN Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	İmza

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 19/10/2022 tarih ve 22/07 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

İmza

## **Beyanat**

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

14.10.2022

Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER

## Benzerlik Raporu

**Tezin Tam Adı** : Sıçanlarda Deneysel Alzheimer Tipi Demans Modelinde  
Yeni Bir Nörotrofik Molekül Olan Nöritinin Rolü  
**Öğrencinin Adı Soyadı** : Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER  
**Dosyanın Toplam Sayfa** : 62  
**Sayısı**

### SIÇANLARDA DENEYSEL ALZHEİMER TİPİ DEMANS MODELİNDE YENİ BİR NÖROTROFİK MOLEKÜL OLAN NÖRİTİNİN ROLÜ - Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER

#### ORJİNALLİK RAPORU

% <b>7</b>	% <b>6</b>	% <b>2</b>	% <b>3</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<a href="http://acikbilim.yok.gov.tr">acikbilim.yok.gov.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>2</b>	Submitted to Hacettepe University Öğrenci Ödevi	% <b>1</b>
<b>3</b>	<a href="http://abis-files.marmara.edu.tr">abis-files.marmara.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>4</b>	Submitted to Anadolu University Öğrenci Ödevi	% <b>1</b>
<b>5</b>	<a href="http://acikerisim.erbakan.edu.tr">acikerisim.erbakan.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>6</b>	<a href="http://docplayer.biz.tr">docplayer.biz.tr</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>7</b>	<a href="http://openaccess.bezmialem.edu.tr">openaccess.bezmialem.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>8</b>	<a href="http://dergipark.org.tr">dergipark.org.tr</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>

**Danışman Öğretim Üyesinin Adı SOYADI:** Prof. Dr. Selim KUTLU

## **Teşekkür**

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini her zaman paylaşan, daima cesaret verici ve yol gösterici olan, beni hep destekleyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Selim KUTLU'ya;

Eğitimimiz için tüm gayretiyle uğraşan, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, farklı bakış açıları edinmemizi sağlayan, hoşgörüsünü her durumda hissettiğim, her zaman destekleyici olan kıymetli hocam Doç. Dr. Z. Işık Solak GÖRMÜŞ'e;

Değerli Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Dr. Öğr. Üyesi Faik ÖZDENGÜL'e

Tez izleme sürecinde her zaman destek veren kıymetli hocam Prof. Dr. Ercan KURAR'a

Doktora eğitimim süresince katkılarını ve yardımlarını esirgemeyen Sağlık Bilimleri Enstitüsü müdürü değerli hocam Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK'A;

Çalışmalarımın moleküler düzeyde incelenmesinden istatistiksel analizlerine kadar kıymetli desteğini hiç esirgemeyen Doç. Dr. Zafer ŞAHİN'e;

Deneyisel çalışmalarım esnasında sabır ve özveriyle yardımlarını esirgemeyen Mustafa AYAN'a, Mevlüt KARAKAYA'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Rahim KOCABAŞ'a;

Destekleriyle zorlukları kolaylaştıran, varlıklarıyla hayatıma anlam katan, her zaman yanımda olan geniş aileme, mutluluk kaynağım olan en büyük destekçilerim kıymetli eşime ve çocuklarıma, her şeyin üzerinde varlık sebebim olan rahmetli anneme ve babama teşekkürlerimi borç bilirim.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrenci işlerine ve tezimi 161418007 proje numarasıyla destekleyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER

Konya, 2022

## İÇİNDEKİLER

Tez Kapağı ve İç Kapak.....	i
Tez Onay Sayfası.....	ii
Tez Beyan Sayfası.....	iii
Benzerlik Raporu.....	iv
Önsöz ve Teşekkür.....	v
İçindekiler.....	vi
Kısaltmalar ve Simgeler Listesi.....	ix
Şekiller Listesi.....	x
Resimler Listesi.....	xi
Tablolar Listesi.....	xii
Grafikler Listesi.....	xiii
<b>ÖZET.....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xv</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>2</b>
2.1. Demans Kavramı ve Tarihçesi.....	2
2.2. Alzheimer Hastalığı.....	4
2.2.1. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri.....	4
2.2.2. Patofizyoloji.....	6
2.2.2.1. Nörofibriler Yumaklar.....	9
2.2.2.2. Amiloit Plaklar.....	9
2.3. AH ve Kolinerjik Sistem.....	11
2.3.1. Kolinerjik Sistem.....	11
2.3.2. ACh Sentezi.....	12
2.3.3. ACh Depolanması.....	14
2.3.4. ACh Salınımı ve İnaktivasyonu.....	14

2.3.5. Kolin Geri Alımı.....	14
2.4. Beyindeki Kolinerjik Nöronlar.....	14
2.5. ACh Reseptörleri.....	15
2.5.1. Nikotinik ACh Reseptörleri.....	15
2.5.2. Muskarinik ACh Reseptörleri.....	17
2.6. AH ve Kolinerjik Sistem İlişkisi.....	18
2.7. AH ve Nörotrofik Faktörler.....	20
2.7.1. Nörotrofik Faktörlerin Sınıflandırılması.....	20
2.7.2. Nöritin (NRN).....	23
2.7.2.1. Dağılımı ve Ekspresyonu.....	23
2.7.2.2. Gen Regülasyonu.....	25
2.7.3. Nörotrofik Faktörler ve Hormonlar.....	25
2.7.4. Sinaptik Aktivite, Kalmodulin Bağlı Protein Kinaz (Camk) ve Mitojen Aktive Protein Kinaz (Mapk) Aktivasyonu, Nöbet ve Duyusal Deneyim.....	26
2.7.5. Sinir Sistemindeki Etkileri.....	26
2.7.5.1. Nöronal Uzantıların (Nöritlerin) Desteklenmesi.....	27
2.7.5.2. Nöronal Sağ Kalım ve Nörit Büyümesinin Desteklenmesi.....	28
2.7.5.3. Nöronal Farklılaşma Sürecinde Nörit Büyümesinin Düzenlenmesi.....	28
2.7.5.4. Motor Nöron Aksonlarının Korunması.....	29
2.7.5.5. Dendritik Büyümenin Artırılması.....	29
2.7.5.6. Hedef Nöronların Dendritik Ağının Presinaptik Biçimlendirmesi.....	30
2.7.5.7. Sinaptik Plastisiteye Aracılık Etme.....	30
2.7.5.8. Dendritik Filizlenmede Aktif Sinapsların Sabitlenmesi.....	31
2.7.5.9. Sinaptik Maturasyonunun Gelişmesi.....	31
2.7.5.10. Nöron Göçünün Artması.....	31
2.7.5.11. Proliferatif Nöron Apoptozunun Düzenlenmesi.....	32
2.7.5.12. Priferik Sinir Rejenerasyonunun Uyarılması.....	32

2.7.5.13. Spinal Kord Hasarı Sonrası Aksonal Rejenerasyonun Güçlendirilmesi....	33
2.7.5.14. Travmatik Beyin Hasarı Sonrası Nöron Rejenerasyonunun Artması.....	34
2.7.5.15. Serebral İskeminin İyileşmesi.....	34
2.8. AH Deneysel Hayvan Modelleri.....	35
2.9. Deneysel AH’de Kullanılan Öğrenme ve Bellek Testleri.....	36
2.9.1. Konumsal Öğrenme ve Hafıza.....	36
2.9.2. Kemirgenlerde Konumsal Hafızayı Değerlendirme.....	37
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>41</b>
3.1. Deney Hayvanları ve Bakım Şartları.....	41
3.2. Ozmotik Pompalar.....	41
3.3. Beyin İnfüzyon Kitlerinin ve Ozmotik Pompaların Yerleştirilmesi.....	42
3.4. Davranış Testleri.....	45
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>48</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>62</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>65</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>66</b>
<b>8. EKLER.....</b>	<b>76</b>
<b>9. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>77</b>

## KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

<b>ACh</b>	Asetilkolin
<b>AChE</b>	Asetilkolinesteraz
<b>AH</b>	Alzheimer Hastalığı
<b>APOE</b>	Apolipoprotein E
<b>APP</b>	Amiloid Prekürsör Protein
<b>A<math>\beta</math></b>	Amiloid Beta
<b>BDNF</b>	Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör
<b>BOS</b>	Beyin Omurilik Sıvısı
<b>ChAT</b>	Kolin Asetil Transferaz
<b>CPG 15</b>	Aday Plastisite Geni 15
<b>ER</b>	Endoplazmik Retikulum
<b>GPI</b>	Glikozil Fosfatidil İnozitol
<b>İSV</b>	İntraserebroventriküler
<b>MR</b>	Muskarinik Reseptör
<b>MRG</b>	Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>mRNA</b>	Haberci RNA
<b>MSS</b>	Merkezi Sinir Sistemi
<b>MST</b>	Morris Su Labirenti Testi
<b>NFY</b>	Nörofibriler Yumaklar
<b>NGF</b>	Nöron Büyüme Faktörü
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartat
<b>NR</b>	Nikotinik Reseptör
<b>NRN</b>	Nöritin
<b>NTF</b>	Nörotrofik Faktörler
<b>PET</b>	Pozitron Emisyon Tomografi
<b>RNA</b>	Ribonükleik Asit

## **Şekiller Listesi**

<b><u>Sekil No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Şekil 2.1.</b> Amiloid Hipotezi ve AH'ye Yol Açan Başlıca Patojenik Olaylar.....	8
<b>Şekil 2.2.</b> APP ve AH.....	10
<b>Şekil 2.3.</b> Kolinerjik Sistem.....	13
<b>Şekil.2.4.</b> Alzheimer Hastalığında Nörotrofik Faktörlerin Katılımı.....	22
<b>Şekil 2.5.</b> NRN Ekspresyonunun Regülasyonuna Etki Eden Faktörler.....	25
<b>Şekil 2.6.</b> NRN'nin Sinir Sistemi Fizyolojisi ve Patolojisi Üzerine Etkileri.....	27

## **Resimler Listesi**

<b><u>Resim No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Resim 3.1.</b> Ozmotik Pompanın Yapısı ve Yerleştirilme Koordinatları.....	43
<b>Resim 3.2.</b> Ozmotik Pompaların Yerleştirilmesi ve İSV Enjeksiyon Aşamaları.....	44
<b>Resim 3.3.</b> MST ve Davranış Test Yazılımı Ara Yüzü.....	46

## **Tablolar Listesi**

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 2.4.</b> AH Tedavisinde Nörotrofik Faktörlerin Terapötik Potansiyeli.....	21
<b>Tablo 4.1.</b> Gruplara Göre 1. Gün Platforma Ulaşma Süreleri.....	48
<b>Tablo 4.2.</b> Gruplara Göre 2. Gün Platforma Ulaşma Süreleri.....	49
<b>Tablo 4.3.</b> Gruplara Göre 3. Gün Platforma Ulaşma Süreleri.....	50
<b>Tablo 4.4.</b> Gruplara Göre 4. Gün Platforma Ulaşma Süreleri.....	51
<b>Tablo 4.5.</b> Gruplara Göre 5. Gün Platforma Ulaşma Süreleri.....	52
<b>Tablo 4.6.</b> Gruplara Göre 6. Gün Hedef Kadranda Bulunma Süreleri.....	53
<b>Tablo 4.7.</b> Gruplara Göre 6. Gün Hedef Kadrandan Geçiş Sayıları.....	54
<b>Tablo 4.8.</b> Gruplara Göre 6. Gün Hedef Çeyreğe İlk Ulaşma Süreleri.....	55
<b>Tablo 4.9.</b> Gruplara Göre 6. Gün Platforma Ulaşmak İçin Kat Edilen Mesafeler..	56
<b>Tablo 4.10.</b> Gruplara Göre 6. Gün Platforma Ulaşmak İçin Yüzme Hızı Tablosu.	57
<b>Tablo 4.11.</b> Gruplara Göre Hipokampal ChAT Aktivitesi.....	58
<b>Tablo 4.12.</b> Gruplara Göre Striatum ChAT Aktivitesi.....	59
<b>Tablo 4.13.</b> Gruplara Göre Hipokampal AChE Aktivitesi.....	60
<b>Tablo 4.14.</b> Gruplara Göre Striatum AChE Aktivitesi.....	61

## **Grafikler Listesi**

<b><u>Grafik No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Grafik 4.1.</b> Gruplara Göre 1. Gün Platforma Ulaşma Süreleri.....	74
<b>Grafik 4.2.</b> Gruplara Göre 2. Gün Platforma Ulaşma Süreleri.....	75
<b>Grafik 4.3.</b> Gruplara Göre 3. Gün Platforma Ulaşma Süreleri.....	76
<b>Grafik 4.4.</b> Gruplara Göre 4. Gün Platforma Ulaşma Süreleri.....	77
<b>Grafik 4.5.</b> Gruplara Göre 5. Gün Platforma Ulaşma Süreleri.....	78
<b>Grafik 4.6.</b> Gruplara Göre 6. Gün Hedef Kadranda Bulunma Süreleri.....	79
<b>Grafik 4.7.</b> Gruplara Göre 6. Gün Hedef Kadrandan Geçiş Sayısı.....	80
<b>Grafik 4.8.</b> Gruplara Göre 6. Gün Hedef Çeyreğe İlk Ulaşma Süreleri .....	81
<b>Grafik 4.9.</b> Gruplara Göre 6. Gün Platforma Ulaşmak İçin Kat Edilen Mesafeler...	82
<b>Grafik 4.10.</b> Gruplara Göre 6. Gün Platforma Ulaşmak İçin Yüzme Hızı Tablosu..	83
<b>Grafik 4.11.</b> Gruplara Göre Hipokampal ChAT Aktivitesi.....	84
<b>Grafik 4.12.</b> Gruplara Göre Striatum ChAT Aktivitesi.....	85
<b>Grafik 4.13.</b> Gruplara Göre Hipokampal AChE Aktivitesi.....	86
<b>Grafik 4.14.</b> Gruplara Göre Striatum AChE Aktivitesi.....	87

# ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Sıçanlarda Deneysel Alzheimer Tipi Demans Modelinde**

**Yeni Bir Nörotrofik Molekül Olan Nöritinin Rolü**

Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER

Fizyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi / Konya – 2022

Alzheimer hastalığı (AH), günlük yaşamsal aktivitelerde azalma ve bilişsel yeteneklerde bozulma ile karakterize, nöropsikiyatrik semptomların ve davranış değişikliklerinin eşlik ettiği nörodejeneratif bir hastalıktır. AH demansın en sık görülen tipi olup prevalansı gün geçtikçe artmaktadır. Fizyopatolojisinde oluşan anormal amiloit prekursor proteinler (APP), hücre içinde nörofibril yumakları (NFY) ve senil plaklar (SP) birikmesi, sinir hücrelerinde sinaptik iletimin kaybına ve özellikle hipokampus ve serebral korteksteki nöronların ölümüne yol açmaktadır.

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

Plastisite geni 15 (CPG 15) olarak da bilinen nöritin, aktivite ile indüklenen glikozilfosfatidilinozitol bağımlı bir aksonal protein olup çoğunlukla merkezi sinir sisteminde eksprese edilir. İlk olarak ratların dentat girusunda, daha sonra insanda tespit edilmiştir. Nöritinin hafızayı etkileyen nörodejeneratif ve nöropsikolojik hastalıklarda da rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Sinirsel gelişim ve sinaptik plastisitedeki çok yönlü rolleriyle nöritin, MSS'nin nöronal bağlantılarının yeniden oluşmasında katkı sağlar.

Deneysel AH modelleri birçok araştırmada AH etiyofizyopatolojisinin anlaşılması ve potansiyel tedavi seçeneklerinin etkinliğinin belirlenmesine yönelik olarak son yıllarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu bağlamda MSS'de eksprese edilen yeni bir molekül olan nöritin (NRN), nörodejeneratif hastalıklarda araştırılan ümit verici bir peptittir. AH süreçlerinde NRN etkisini konu alan oldukça sınırlı sayıda araştırma bulgusu yer almaktadır. Nöritinin sıçanlardaki olası etkinliğinin davranış modelleri ve nöronal moleküler belirteçler düzeyinde etkisi ise araştırılmamıştır. Bu nedenle mevcut çalışmamızda yeni bir nörotrofik molekül olan NRN'nin AH'deki olası nöroprotektif etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada 40 adet erkek sıçan Kontrol, demans, nöritin, demans + nöritin grupları olarak 4 gruba ayrılmıştır. Tüm hayvanlara anestezi altında stereotaksik cihaz ile ozmotik minipompa yerleştirilmiştir. Demans gruplarına streptozotosin intraserebroventriküler (İSV) yolla enjekte edilmiştir. Nöritin ve çözücüsü İSV yolla 7 gün boyunca infüze edilmiştir. 8. günde sıçanlara davranış testleri uygulanmıştır. Morris'in su labirenti testinde (MST) her bir hayvanın performansı kaydedilerek davranış parametreleri değerlendirilmiştir. Tüm sıçanlardan elde edilen serum ve beyin dokuları toplanmış ve ELISA yöntemiyle hipokampal kolinerjik aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir.

MST bulgularında NRN uygulanan gruplarda demans gruplarına kıyasla platformu bulma süresi, platforma yüzmeye mesafesi ve hızı açısından istatistiksel olarak olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Moleküler analiz sonuçları istatistiksel olarak anlamlı olmasa da tedavi grubunda ChAT aktivitesinde artış tespit edilmiştir.

Çalışma bulgularımız, NRN'nin AH tedavisi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı derinlemesine çalışmaların, AH için yeni bir tedavi seçeneği olarak NRN'nin etkinliği konusunda yeni ufuklar açacağını düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Alzheimer hastalığı, nöritin, öğrenme ve bellek

## ABSTRACT

REPUBLIC OF TÜRKİYE

NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

### **Role of Neuritin (A Novel Neurotrophic Molecule) on Alzheimer's Type Dementia Model in Rats**

Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER

Department of Physiology

PhD Thesis / Konya – 2022

Alzheimer's disease (AD) has a degenerative view from the part of training, neuropsychiatric education and training with use and equipment in daily life use. AD is the most common manifestation of dementia and its prevalence is increasing day by day. Neurofibrillary tangles (NFT) and senile plaques (SP) within a cell formed in its physiopathology are considered to be acquired pathways and are detached from targets in the cerebral cortex.

Acetylcholine (ACh) is the neurotransmitter that connects the hippocampus to the cerebral cortex. Acetyl choline is formed by the enzyme 'acetyl transferase' from choline and acetyl coA. The primary deficit in AD is the disruption of the cholinergic system in the brain, especially in regions related to learning and memory.

Neuritin, also known as plasticity gene 15 (CPG 15), is an activity-induced glycosylphosphatidylinositol-dependent axonal protein and is mostly expressed in the central nervous system. It was first detected in the dentate gyrus of rats and later in humans. It has been suggested that neuritin may also play a role in neurodegenerative and neuropsychological diseases that affect memory. With its versatile roles in neural development and synaptic plasticity, neuritin contributes to the regeneration of neuronal connections of the CNS.

Experimental AD models have been used extensively in many studies in recent years to understand the etiopathology of AD and to determine the effectiveness of potential treatment options. In this context, neuritin (NRN), a new molecule expressed in the CNS, is a promising peptide investigated in neurodegenerative diseases. There are very limited research findings on the effect of NRN in AD processes. The possible effect of neuritin in rats at the level of behavioral patterns and neuronal molecular markers has not been investigated. Therefore, in our current study, it was aimed to investigate the possible neuroprotective activity of NRN, a new neurotrophic molecule, in AD.

In the study, 40 male rats were divided into 4 groups as control, dementia, neuritin, dementia + neuritin groups. All animals were placed under anesthesia with a stereotaxic device and an osmotic minipump. Streptozotocin was injected intracerebroventricularly (ICV) to dementia groups. Neuritin and its solvent were infused by ISV for 7 days. Behavioral tests were applied to the rats on the 8th day. In Morris' water maze test (MWM), the performance of each animal was recorded and behavioral parameters were evaluated. Serum and brain tissues obtained from all rats were collected and hippocampal cholinergic activity analyzes were performed by ELISA method.

In the MST findings, statistically positive results were obtained in terms of time to find the platform, swimming distance to the platform and speed in the NRN applied groups compared to the dementia groups. Although the results of the molecular analysis were not statistically significant, an increase in ChAT activity was detected in the treatment group.

Our study findings suggest that in-depth studies investigating the effects of NRN on the treatment of AD will open new horizons for the effectiveness of NRN as a new treatment option for AD.

**Keywords:** Alzheimer's disease, neuritin, learning and memory

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Beyindeki fiziksel değişikliklerden kaynaklanan demans belirli bir hastalık olmayıp, kişinin günlük aktivitelerini gerçekleştirme kabiliyetini azaltan, semptomatik olarak hafıza veya diğer düşünme becerilerinde ciddi bir düşüşle karakterize, hafıza kaybı ve günlük yaşama müdahale edebilecek kadar şiddetli diğer zihinsel yetenek kaybı için kullanılan genel bir terimdir.

Dünya Sağlık Örgütü'nün Zihinsel ve Davranışsal Hastalıklar Sınıflandırmasına (WHO ICD-10, 2016) göre demans, kronik ve progresif tabiata sahip beyin hastalıkları sonucu ortaya çıkan bir sendrom olarak tanımlanmaktadır. Hafıza, düşünme, anlama, hesaplama, öğrenme, dil ve yargı gibi yüksek kortikal fonksiyonların zamanla bozulmasına bağlı kişinin eski haline göre performansında ve gündelik hayati fonksiyonlarında aksaklıklar meydana getirmesi bu sendromun klinik tanısı açısından olmazsa olmaz patolojik değişimlerdir. Bu bozukluklar genellikle duygusal kontrol, sosyal davranış veya motivasyondaki değişikliklerle birlikte ortaya çıkar.

Alzheimer hastalığı (AH) en yaygın demans türü olmakla birlikte demansın birçok çeşidi vardır. AH'nin nedenleri tam olarak anlaşılmasına rağmen sonuç her zaman beyindeki yapısal ve kimyasal değişikliklerdir ve bu da nöronal kayıplara ve beyin hacminin küçülmesine yol açar. Demansa neden olan diğer nörodejeneratif hastalıklarla benzer fizyopatolojiye sahip olan AH'de mikroskobik olarak senil plakların (SP) ve nörofibriler yumakların (NFY) varlığı ile birlikte nörotransmitter biyokimyasında bozulmalar ve buna bağlı nöronal transmisyonunda aksama ve bozulmalar meydana gelir. Son noktada meydana gelen nöronal kayıplar sonucu makroskopik olarak kortikal ve hipokampal atrofi belirgin hale gelir.

Streptozotosin (STZ), periferik enjeksiyonla pankreatik  $\beta$  hücrelerine seçici olarak zarar veren bir ilaçtır ve bu nedenle diyabet araştırmalarında deneysel hayvan modeli oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Plaschke ve Hoyer 1993, Lester-Coll ve ark. 2006). Ayrıca STZ'nin kemirgenlerin beynine intraserebroventriküler (İSV) enjeksiyonunun AH benzeri patolojiyi indüklediğini gösterilmiştir. İSV yolla STZ enjeksiyonu, hipokampusta ilerleyici nöroinflamasyon, oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyonun yanı sıra belirgin A $\beta$  birikimi ve tau hiperfosforilasyonunu indükleyerek önemli öğrenme ve bilişsel bozukluklarla neden

olur (Hoyer ve Lannert 1999, Salkovic-Petrisic ve Hoyer 2007, Grünblatt ve ark. 2007). Hayvanlarda İSV STZ enjeksiyonunun etkilerindeki patofizyolojik benzerlik ve AH hastalarında gözlemlenen patoloji, bu modelin sporadik AH çalışması için kemirgen deneysel modeli olarak yaygın olarak kullanılmasına yol açmıştır (Agrawal ve ark. 2009, Santos ve ark. 2015).

Nörotrofik faktörler isminden de anlaşılabilirdiği üzere gelişmiş ve gelişmekte olan sinir sistemlerinde nöronların hayatta kalmasını, farklılaşmasını ve işlevselliğini destekleyen ve düzenleyen büyüme faktörleridir. Aynı şekilde nöronal sağlığın ve fonksiyonelliğin korunması için hayati öneme sahiptirler.

1993 yılında keşfedilen nöritin (NRN) (Nedivi ve ark. 1993), nörit büyümesini teşvik etme işleviyle adlandırılan, aktiviteye bağlı bir nörotrofik faktördür. NRN mRNA, ağırlıklı olarak sinir sisteminde eksprese edilir, ancak diğer organlarda da minör ekspresyon saptanabilir (Naeve ve ark. 1997). NRN'nin ergenlik ve yetişkinlik döneminde insan vücudunun birçok organında ifade edildiği, en yüksek ekspresyon seviyelerinin sırasıyla beyin, karaciğer, akciğer, kalp ve iskelet kasları olduğu keşfedilmiştir (Naeve ve ark. 1997). NRN ile ilgili çalışmalar öncelikle nöroproteksiyon ve rejenerasyondaki düzenlenmesi ve işlevlerine odaklanmış olsa da anjiyogenez, tümörjenez ve immünomodülasyondaki rolleri içeren diğer işlevler de bildirilmiştir (Le Jan ve ark. 2006, Bosserhoff ve ark. 2017, Yuan ve ark. 2015). Yapılan sınırlı sayıda çalışma (Zhou ve Zhou 2014, Shimada ve ark. 2013) sinir ve sinir dışı dokuda NRN'nin fizyolojik ve patolojik işlevlerini tartışmış olsa da NRN'nin birincil mekanizmaları, bir reseptör aracılığıyla etki edip etmediği veya bağlanmanın ardından hangi aşağı akış sinyallerinin aktive edilebileceği dahil, tam olarak anlaşılamamıştır.

Bu çalışmada İSV STZ enjeksiyonu ile indüklenen deneysel AH modelinde santral yolla uygulanan NRN'nin kognitif davranışlar üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Demans Kavramı ve Tarihçesi

Türkçe karşılığı halk arasında bunama olarak bilinen demans (*dementia*) kavramı ilk kez Fransız psikiyatr Philippe Pinel tarafından 1801 yılında ortaya atılmıştır. Pinel progresif zihinsel bozukluklar gösteren 34 yaşındaki bir hastasının post-mortem otopsisinde makroskopik olarak beyinde su oranının arttığını ve beyin küçüldüğünü tespit etti. Bu tespit 25 Kasım 1901 yılında Alman psikiyatr Alois Alzheimer'ın 50'li yaşların başındaki Auguste Deter isimli kadın hastasında teşhis ettiği "*presenil demans*" kavramının temelini teşkil etmiştir. Alzheimer, Nisan 1906'da ölen Deter'in otopsisinde Pinel'in makroskopik bulgularına ilaveten mikroskopik olarak "*senil plaklar*" ve "*nörofibriler yumaklar*"ın varlığını tespit etti. Böylece Hipokrat'ın "*beyin sulanması*"ndan Pinel'in "*dementia*"ine ve Alzheimer'ın kendi ismiyle anılan hastalığına doğru özelleşen bilgi birikimi elde edildi. Pinel ve Alzheimer'ın vakalarında dikkat çeken önemli bir nokta ise her iki vakanın da genç denilebilecek yaşlarda olmalarıdır. Özellikle Deter, presenilite örneği bir vaka olarak kabul edilerek literatüre de bu şekilde geçmiştir. Bu gelişmelere kadarki olan süreçte bunama, yaşlılık için doğal bir durum olarak kabul edilirken Alzheimer vakasıyla sadece senil değil, presenil grupta da hastalık olarak ortaya çıktığı anlaşılmıştır (Emre, 2013).

Günlük hayati aktiviteleri olumsuz etkilemeye yetecek kadar sonradan edinilmiş ilerleyici bilişsel bozukluk olan demans, bağımlılık halinin, engellilik durumunun ve ölümün önemli bir nedenidir. Günümüzde dünya çapında 55 milyon insanın demans ile yaşadığı ve her yıl yaklaşık 10 milyon yeni vakanın meydana geldiği tahmin edilmektedir (WHO, 2022).

Son araştırmalar, özellikle erkeklerde demans insidansının batı ülkelerinde azalmakta olabileceğini düşündürmektedir. Demansın hangi nedenlerinin azaldığı belirsiz olmasına rağmen bunun vasküler risklerin daha iyi yönetilmesinden dolayı olduğu düşünülmektedir (Wu ve ark. 2016, Matthews ve ark. 2016). AH tek başına %60-80'lik bir oranla en büyük ve en önemli demans nedenidir ve esas olarak daha sonraki yaşamın bir koşuludur. AH prevalansı 65 yaşından sonra her 5 yılda bir neredeyse ikiye katlanır (Prince ve ark. 2014). Türkiye'de de dünyaya paralel olarak demansın en önemli nedeni olan AH'den ölen yaşlı oranında artış meydana geldiği rapor edilmiştir (TÜİK, 2018).

## **2.2. Alzheimer Hastalığı**

Alzheimer hastalığının (AH), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından halk sağlığı adına küresel bir önceliğe sahip olduğu kabul edilmektedir. Alois Alzheimer tarafından (Alzheimer 1907) ilk vakanın bildirilmesinden bu yana AH patogenezi ve hastalığın kavramsal boyutu adına büyük kazanımlara rağmen, hastalığın tedavisi adına halen kesin bir sonuç elde edilememiştir.

### **2.2.1. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri**

AH gelişiminde birçok risk faktörü rol oynar. Bunlardan önlenebilir risk faktörleri arasında tip-2 diyabet, hipertansiyon, sigara kullanımı, yerleşik (sedanter) yaşam tarzı, obezite ve kafa travması sayılabilir. Yaş ve genetik yapı ise önlenemeyen risk faktörleridir.

AH, dünya genelinde en sık rastlanan nörodejeneratif hastalıkların başında gelir ve ileri yaşın AH oluşumuyla sıkı ilişkisi tespit edilmiştir. 65 yaşın altındaki bireylerde nadir olarak görülen AH, 65 – 70 yaş arasında %5, her beş yıllık periyotla ikiye katlanarak 85 yaş üzerinde %35 sıklığa ulaşır. AH prevalansı ülkemizde ise 70 yaş üzerinde %10'dur (Gürvit ve ark. 2008). Popülasyondaki tüm bireylerin hayat boyu AH'ye yakalanma riski ise %10 dur.

Cinsiyet bazında değerlendirildiğinde kadınlarda AH prevalansı erkeklerden biraz daha yüksektir fakat insidansları benzer seviyelerdedir. Bu farklılık hastalığa yakalanan kadınların daha uzun yaşamasıyla açıklanmaktadır.

İleri yaş en önemli AH risk faktörüdür fakat ileri yaşta olan her bireyin AH olacağı söylenemez. Ciddi kafa travma hikayesi olan bireyler dışında AH'nin ortaya çıkması için önemli bir çevresel risk faktörü tespit edilememiştir. Yüksek tansiyon ve kolesterol ağırlıklı beslenmenin AH riskini artırma yönünde etkisi olabileceği düşünülmektedir. Zihinsel ve fiziksel olarak düzenli aktivite, yüksek eğitim seviyesi, Akdeniz tipi beslenme ve evlilik (tek eşlilik) hastalık riskini azaltan faktörlerdir.

Epidemiyolojik kanıtlar, eğitim ve fiziksel egzersizin AH'ye karşı koruma sağlayabileceğini, orta yaş hipertansiyonu ve diyabetin ise AH riskini olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir (Xu ve ark. 2015). Obezite uzun zamandır demans ve AH için bir risk olarak kabul edildi, ancak bu son zamanlarda sorgulanmaktadır (Qizilbash ve ark 2015). Vasküler risk faktörlerinin AH'yi etkileyebileceği mekanizmalar, en azından birkaç epidemiyolojik çalışmada patolojik tanı

doğrulaması olduğu için belirsizliğini korumaktadır. Vasküler hasar tek başına AH patolojisinin gelişimini doğrudan etkilediği gibi, vasküler risk faktörleri, üst üste binen serebrovasküler hasar ile birlikte klinik AH riskini ikiye katlayabilir.

AH genetik olarak aileden gelen yatkınlık ve monogenik AH olarak bölümlendirilebilir. Akrabalarında birinci derecede AH bulunan bireylerin AH riskinin normalden 2-3 kat daha fazla artması, aileden gelen yatkınlıkla açıklanmaktadır. Bu bireylerin hayat boyu AH'ye yakalanma riski %20'ye kadar çıkmaktadır.

AH büyük oranda sporadik bir temelde ortaya çıkarken, bugüne kadar mutasyona uğradığında AH'ye neden olan üç farklı gen tespit edilmiştir. Bunlar 1. kromozom üzerindeki Presenilin-2, 14. kromozom üzerindeki Presenilin-1 ve 21. kromozom üzerindeki APP'dir. Bunların tamamı farklı ekspresyonlara sahip otozomal dominant geçişli genlerdir. Bu üç gendeki mutasyonlar nadiren (<%0,5) bir ailesel AH formuna (fAH) neden olur. fAH formunda semptomlar sporadik AH'den daha erken, tipik olarak 30 ila 50 yaş arasında gelişir (Bateman ve ark. 2010).

Tipik geç başlangıçlı AH'nin, genetik ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık bir etkileşim tarafından yönlendirilmesi muhtemeldir. Artık AH riskinin yaklaşık %70'inin genetik faktörlere atfedilebileceği düşünülmektedir (Vergheze ve ark. 2011).

Bu genlerin dışında bir de AH'ye yatkınlık oluşturan genlerden söz edilebilir. Lipitlerin kanda taşınmasını sağlayan ve üç farklı formu bulunan (tip 2, 3 ve 4) APOE bu genlerden biridir. Bu genin allelini heterozigot taşıyan bireylerde geç başlangıçlı AH riski üç katına, homozigot olarak taşıyan bireylerde ise yedi katına çıkmaktadır ve bu anlamda en önemli risk faktörüdür (Ballard ve ark. 2011).

APOE, kandaki lipoproteinlerde mevcut olan önemli apolipoproteinlerden biridir. Yüksek trigliserite sahip lipoproteinlerin (LDL, VLDL, şilomikronlar ve bazı HDL alt gruplarının) rutin katabolizması için gereklidir. Bu nedenle APOE, karaciğere ve diğer organlara lipoproteinlerin alımında aracılık eden APOE ve LDL reseptörleri için bir ligant vazifesi görür. Başlangıçta sadece kalp hastalıklarında ve lipit metabolizmasında rol oynadığı düşünülen APOE'nin, yakın zamanlarda lipoprotein metabolizmasıyla direk ilgisi olmadığı düşünülen AH süreçleriyle de ilişkisi olduğu gösterilmiştir. ε2, ε3 ve ε4 olmak üzere üç varyantı olan APOE geni,

sporadik AH için en büyük tek risktir.  $\epsilon 4$  olmayan taşıyıcılarla karşılaştırıldığında,  $\epsilon 4$  heterozigotların ~3 kat, homozigotların ~12 kat AH riski taşıdıkları görülmüştür (Verghese ve ark. 2011). Binlerce örnek kullanılarak yapılan genom çapında ilişkilendirme çalışmaları, inflamatuvar, kolesterol metabolizması ve endozomal vezikül geri dönüşüm yollarını içeren 20'den fazla genetik risk faktörünü tanımlamıştır (Karch ve Goate 2015). Özellikle, amiloit birikimine yanıt olarak mikrogliyal aktivasyonun, AH patogenezinde anahtar bir rol oynadığı artık kabul edilmektedir. Ayrıca mitokondri dış membran proteinlerinden birini kodlayan TOMM-40 geni de AH'ye yatkınlık oluşturan bir başka genidir. AH'ye neden olabilecek daha az yaygın genler ve ailesel eğilimler vardır. Genel olarak, 20'den fazla genetik lokus AH riski ile ilişkilendirilmiştir (Scheltens ve ark. 2016)

Yaygın risk genlerinin her biri, yalnızca çok küçük bir risk artışı sağlarken birçok genin risk oranı birleştirildiklerinde, vaka tahminini neredeyse ikiye katlayabilir (Escott-Price ve ark. 2015). Odaklanmış genetik yaklaşımlar ve yeni nesil sekanslar kullanan çalışmalar, aynı zamanda AH için nispeten yüksek risk veren bir dizi başka düşük frekanslı gen ortaya çıkarmış ve bunlar da patogenezi hakkında bilgi sağlamaktadır.

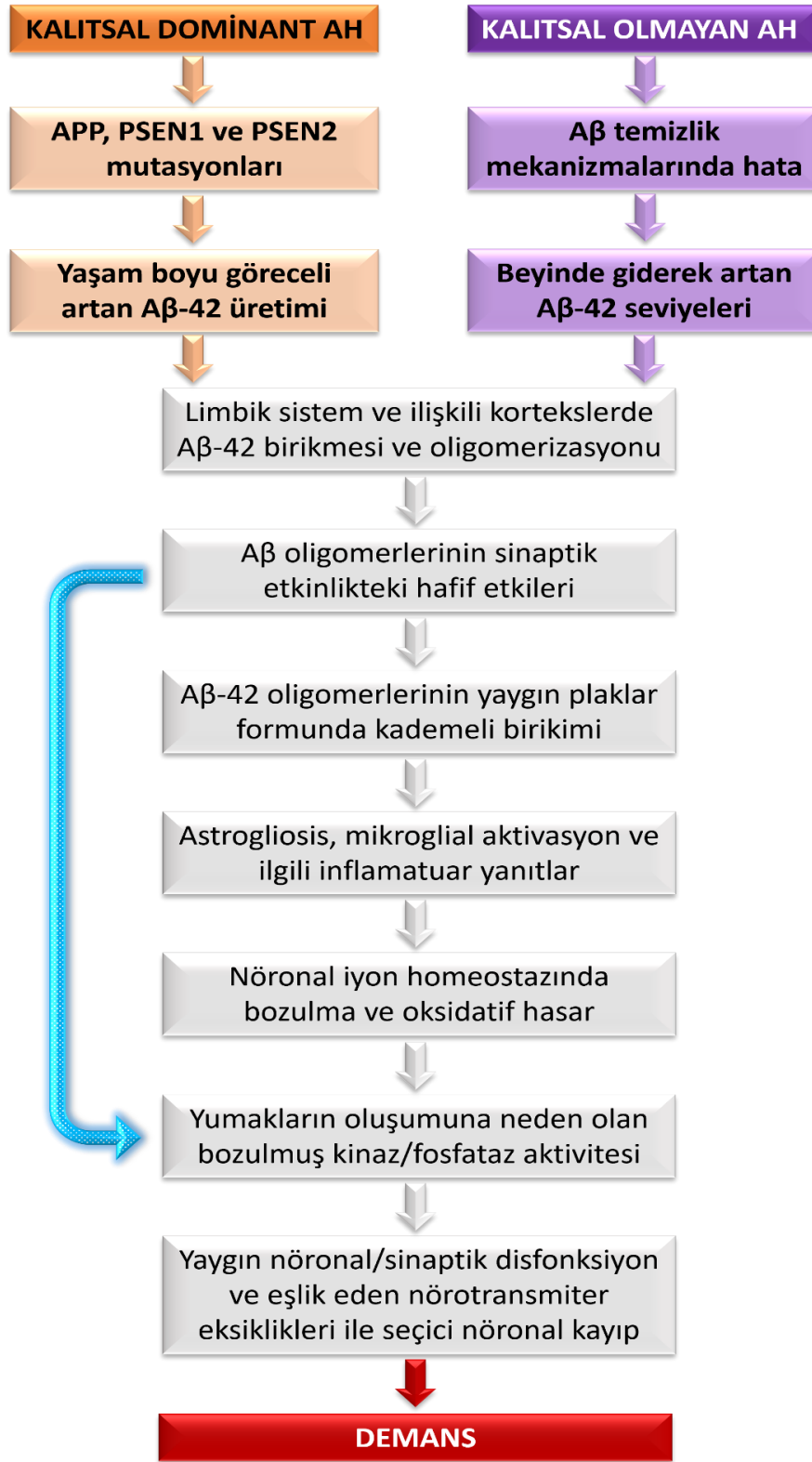
### **2.2.2. Patofizyoloji**

Nörofibriler yumaklar (NFY) ve senil plaklar (SP) ile birlikte çoğunlukla distal dendritlerdeki anormal yapılar, AH için üç ana morfolojik özelliği meydana getirir. Hipokampus, amigdala ve neokortekste SP varlığı en önemli histopatolojik bulgu olmakla beraber normal yaşlılık ve bazı nörodejeneratif hastalıklarda da görülmesi nedeniyle SP ve NFY görülmesi kesin teşhis için yeterli değildir. Bu nedenle söz konusu patolojilerin nöroanatomik dağılımı ve miktarı önemlidir (Gürvit 2004)

AH patogenezinin yaygın teorisi olan amiloit hipotezi (Şekil 2.1.), beyindeki  $\beta$ - ve  $\gamma$ -sekretaz enzimleri tarafından APP'nin ardışık bölünmesiyle üretilen patolojik A $\beta$  formlarının birikiminin, A $\beta$  üretimi ve klirensi arasındaki bir dengesizlikten kaynaklanan birincil patolojik süreç olduğunu öne sürer. NFY'lerin oluşumu ve müteakip nöronal disfonksiyon ve belki de enflamasyon aracılığıyla gerçekleşen nörodejenerasyonun aşağı akış süreçleri olduğu düşünülmektedir (Hardy ve Selkoe 2002). Tüm fAH mutasyonlar, A $\beta$  oluşumunda veya işlenmesinde yer alır ve toksik

$\beta$ -amiloit formlarının göreceli olarak aşırı üretimi ile sonuçlanır. Tersine, bir APP hatalı mutasyonu (A673T),  $\beta$ -sekretaz tarafından APP bölünmesinde ömür boyu azalma ile sonuçlanır ve bu da klinik olarak AH riskini azaltır (Jonsson ve ark. 2012). Sporadik AH'de APOE, diğer birçok risk geninde olduğu gibi amiloit klirensinde yer alır.

Başlangıçta yoğun çekirdekli plaklar içindeki fibriler amiloitin AH gelişimi için kritik olduğu düşünülürken, son zamanlarda çözünebilen A $\beta$  oligomerlerinin en patolojik formlar olabileceği düşünülmektedir. AH'li beyinlerden saflaştırılan ve in vitro nöronlara uygulanan oligomerler, uzun süreli sinaps güçlenmesini (Long-Term Potentiation ya da LTP) engeller, sinaptik işlev bozukluğuna neden olur, dendritik dikenlere zarar verir ve nöronal ölüme neden olur. (Forloni ve ark. 2016, Shankar ve ark. 2008). İnsan oligomerleri ayrıca AH ile ilgili epitoplarda tau'nun hiperfosforilasyonunu indükler ve kültürlenmiş nöronlarda nöritik distrofiye neden olur (Jin ve ark. 2011). Bu nedenle plaklar, amiloit oligomerlerinin yaygın olduğu bir rezervuar görevi görebilir veya fizyolojik bir doyma noktasına ulaşana kadar toksik A $\beta$  serilerini sekestre eden koruyucu bir mekanizma olarak bile hareket edebilirler. (Selkoe ve Hardy 2016).



Şekil 2.1. Amiloid hipotezi ve AH'ye yol açan başlıca patojenik olaylar. Mavi ok, Aβ oligomerlerinin doğrudan sinaptik ve nöritik hasara neden olabileceğini ve tau hiperfosforilasyonunu indükleyebileceğini, ayrıca zararlı inflamatuvar süreçleri aktive ettiğini gösterir. (Hardy ve Selkoe 2016'dan değiştirilerek alınmıştır).

### 2.2.2.1. Nörofibriler Yumaklar

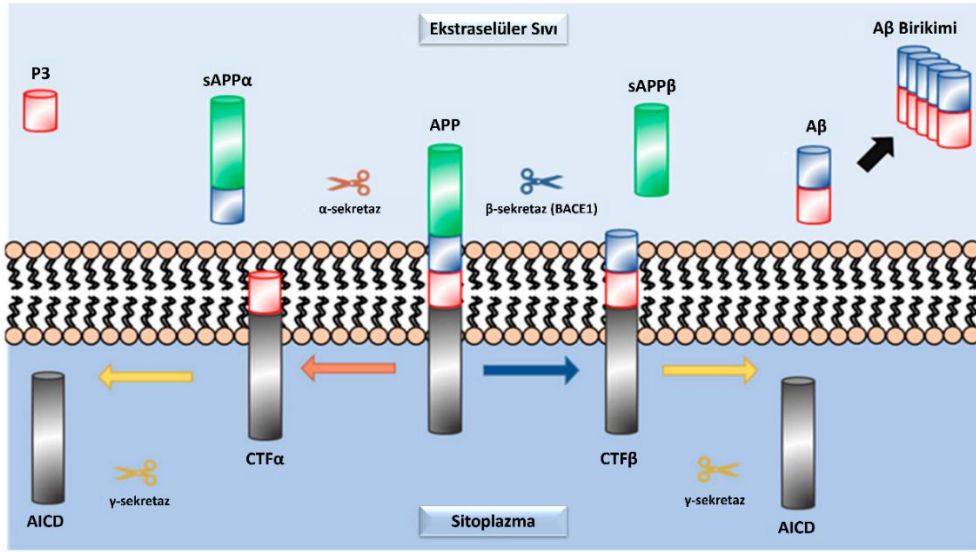
Tau proteini 17. kromozom tarafından kodlanan, hücre iskeleti ve mikrotübül stabilizasyonu ile aksonal transport gibi önemli görevleri olan mikrotübül aracılı proteinler (MAP) ailesinden bir proteindir. Yüksek aktiviteli kinazlar ve/veya düşük aktiviteli fosfatazlar tarafından aşırı olarak fosforilize edilen tau proteininin çift sarmallı ve çözünemeyen bir forma fosforile olması sonucu mikrotübüllere olan affinitesini kaybederek yumak benzeri agregatlar oluşturur. Nöropil iplik ya da nörofibriler yumak (NFY) adı verilen bu formun Alzheimer hastalığında görülen bilişsel bozulmada büyük rolü olduğu öne sürülmüştür. Uzun yıllar sürecinde intranöral birikim gösteren bu NFY'ler nörotoksik etki göstererek hücrenin stabil yapısının ve aksonal transportun bozulmasına, sonuçta da nöron ölümüne neden olurlar. Tau patolojisi birçok nörodejeneratif hastalıkta mevcut olmasına rağmen sadece AH'de amiloit- $\beta$  ile birlikte bulunur (Bennett ve ark. 2004).

### 2.2.2.2. Amiloit Plaklar

AH'nin temel nöropatolojisinde primer olarak intranöral NFY depozitlerinden başka sekonder olarak amiloit plakların oluşumu dikkat çeker. Plakların morfolojileri farklı olmasına rağmen temel bileşenleri 19. kromozom tarafından kodlanan ve 40-42 aminoasitten oluşan büyük bir transmembran protein olan A $\beta$ 'dir (Masters ve ark. 1984). APP proteolizi sonucu metabolit olarak ortaya çıkan A $\beta$ 'nin işlevi tam anlamıyla anlaşılamamış olup, APP geninden yoksun transgenik farelerle yapılan çalışmalarda hastalığa yakalanma ya da ölüm oranlarında anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (Bird ve Miller 2005).

Diğer transmembran proteinlere yapısal benzerlik gösteren APP'nin hücre membranı dışında amino ucu, membran boyunca seyreden 28 aminoasite sahip orta segmenti ve intraselüler karboksi ucu mevcuttur.  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  sekretaz adı verilen proteolitik enzimlerle farklı noktalardan kesilen APP, kesim noktasına göre farklı sonuçlar ortaya çıkaran metabolitlere ayrılır (Şekil 2.2.). APP'yi yaklaşık ortadan kesen  $\alpha$ -sekretaz sAPP denilen ve nörotrofik etkisi olan APP'nin çözülebilen metabolitlerini ortaya çıkarır. APP'yi hücre dışı amino ucundan kesen  $\beta$ -sekretaz (diğer adıyla BACE1) veya hücre içi karboksi ucundan kesen  $\gamma$ -sekretaz proteazları, 40 veya 42 aminoasitlik çözünebilir Amiloit  $\beta$  zincirlerini oluştururlar. İlk olarak daha amiloidojenik formu olan A $\beta$ -42 diffüz plaklar oluşturacak şekilde agrege

olarak nöratik plaklar halinde çöker. Serebral arteriollerde biriken bu çökteliler serebral loblarda kanamaya sebep olan amiloit anjiyopatiye neden olurlar (Iwatsubo ve ark. 1994, Naslund ve ark. 2000)



Şekil 2.2. APP ve AH. Şeklin sol ve sağ tarafları sırasıyla APP'nin (ortada) amiloidojenik olmayan ve amiloidojenik işlenmesini gösterir. APP,  $\alpha$ - ve  $\gamma$ -sekretazlar tarafından bölünerek sAPP $\alpha$ , P3 ve AICD (APP İntraselüler Domain) (sol taraf) ürünlerini oluşturur. Ek olarak APP,  $\beta$ - (BACE1) ve  $\gamma$ -sekretazlar tarafından bölünerek sAPP $\beta$ , AICD (APP İntraselüler Domain) ve A $\beta$  (sağ taraf) ürünlerini oluşturur. AH semptomları, A $\beta$ 'lerin aşırı toplanması nedeniyle ortaya çıkar (sağda). (Lee ve ark. 2021'den düzenlenmiştir)

Buna ek olarak distrofik nörinler ve bununla ilişkili astroglıyosis ve mikroglıyal aktivasyon görülür. Ayrıca serebral amiloit anjiyopati sıklıkla bu patolojiye dahil olur (Serrano-Pozo ve ark. 2011). Bu patolojik süreçler, sinaptik ve nöronal kayıpla birlikte nörodejenerasyona bağılı makroskopik atrofiye neden olur. Özellikle yaşlı bireylerde sıklıkla karışık patoloji görülür ve vasküler hastalık ve Lewy cisimciklerini içerir (Schneider ve ark. 2009). fAH vakalarında bile Lewy cisim patolojisi sıklıkla bir arada bulunur ve bunun mekanizması anlaşılammıştır (Revesz ve ark. 1997). Ayrıca amyotrofik lateral skleroz (ALS) patolojisine de dahil olan TDP-43 protein agregatları ise giderek artan bir şekilde önemli bir eşlik eden patoloji olarak kabul edilmektedir (James ve ark. 2016).

Amiloit plaklar, esas olarak APP metabolizmasının iki yan ürünü olan 40 veya 42 amino asitli (A $\beta$ -40 ve A $\beta$ -42) anormal şekilde katlanmış A $\beta$ 'dan oluşan hücre dışı birikimlerdir. A $\beta$ -42, yüksek fibrilizasyon ve çözünmezlik oranı nedeniyle plaklarda A $\beta$ -40'tan daha boldur. Amiloit birikimi her zaman stereotipik bir ilerleme paternini izlemez, ancak genel olarak amiloit plakları geliştirir veya NFY 'ler düşük özgüllük veya duyarlılıkla sınırlanmıştır (Geddes ve ark. 1997).

## **2.3. AH ve Kolinerjik Sistem**

### **2.3.1. Kolinerjik Sistem**

Merkezi ve periferik sinir sistemlerinde çok önemli rolü olan ve tüm kolinerjik nöronların kullandığı Asetilkolin (ACh), tanımlanan ilk nörotransmitterdir. ACh, tüm pre-ganglionik ve post-ganglionik parasempatik nöronlar ile tüm pre-ganglionik sempatik nöronlar tarafından nörotransmitter olarak kullanır. Sadece bir kısım post-ganglionik nöronlar nörotransmitter olarak ACh kullanır.

Merkezi sinir sisteminde (MSS), kolinerjik nöronlar geniş çapta dağılmışken (Armstrong ve ark. 1983) esas olarak omurilik, arka beyin, medial habenula, mezopontin bölgesi, bazal ön beyin, striatum, olfaktor tüberkül ve Cajella kompleksi adalarında bulunurlar (Houser ve ark. 1983). Beynin hemen hemen tüm bölgeleri kolinerjik nöronlar tarafından innerve edilir (Woolf ve ark. 2011).

Beyindeki yaygın dağılımı göz önüne alındığında, kolinerjik nörotransmisyonun önemli nöral fonksiyonları modüle etmekten sorumlu olduğu kesindir. Kolinerjik sistem, dikkat, öğrenme, hafıza, stres tepkisi, uyanıklık ve uyku ve duysal bilgi gibi kritik fizyolojik süreçlerde görev yapar. İnsan olmayan primatları ve kemirgenleri kullanan deneysel veriler, korteksi innerve eden bazal ön beyin kolinerjik nöronlarına verilen hasarın dikkat eksikliğine yol açtığını göstermiştir (Bucci ve ark. 1998). Öte yandan, kolinesteraz inhibitörleri kullanılarak kolinerjik iletimin kolaylaştırılması insanlarda dikkati artırabilir (Pepeu ve ark. 2013, Bracco ve ark. 2014).

Kolinerjik sistemin öğrenme ve bellek süreçlerinde rol oynadığı, endojen ACh'nin hafıza (Blokland ve ark. 1992), kodlama (Winters ve ark. 2005), konsolidasyon (Power ve ark. 2003), yeniden konsolidasyon (Boccia ve ark. 2004), yok olma (Boccia ve ark. 2009) ve hafızanın geri kazanımının (Boccia ve ark. 2003) modülasyonunda önemli görevleri olduğunu gösterilmiştir. AH'de Meynert'in bazal nükleusundan gelen kolinerjik nöronların spesifik dejenerasyonunun varlığı saptanmıştır.

Stres, ön beyindeki ACh salınımını düzenleyebilen başka bir faktördür ve hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) sistemi üzerindeki işlevi biyolojik ve duysal sonuçları düzenleyebilir. Strese yanıtı aracılık etmede kolinerjik sistemin işlevini değerlendiren bir çalışmada, sıçanların nikotinic reseptör antagonisti mekamilamin

ile tedavisinin, bir stres etkenine yanıt olarak HPA ekseninin aktivasyonunu azalttığı bulunmuştur (Newman ve ark. 2001). Benzer şekilde nikotin, nikotinik reseptörleri aktive ederek HPA eksenini üzerindeki ACh etkilerini taklit edebilir (Matta ve ark. 1998).

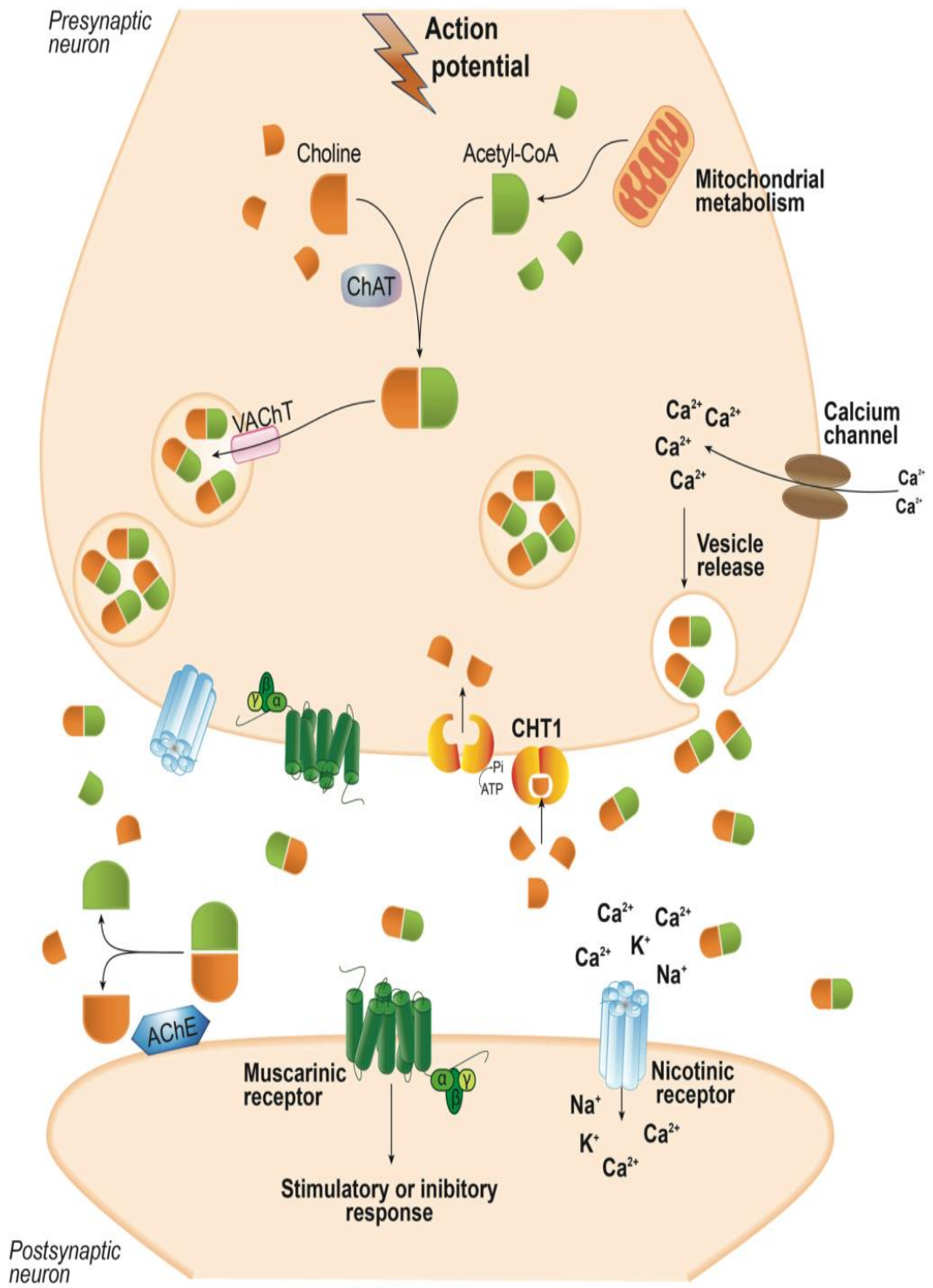
Kolinerjik sistemin bir diğer önemli işlevi de uyku döngüsünü düzenlemektir. Beyin sapının belirli bölgelerindeki kolinerjik nöronların uyarılmasının doza bağlı olarak REM (hızlı göz hareketi) uykusunu destekleyebildiği gösterilmiştir. Ayrıca ACh'nin duyuusal kortekste birçok modülatör işlevi vardır. ACh, talamo-kortikal iletişimi kolaylaştırarak işitsel sinaptik ilettime katkıda bulunur. Ek olarak, ACh'nin organizasyonda ve görsel kortekste nöronal yanıtta işlevi vardır. Son kanıtlar ayrıca ACh'nin erişkin nörogenezinde rol oynadığını düşündürmektedir (Paez-Gonzalez ve ark. 2014).

### **2.3.2. ACh Sentezi**

Kolinerjik sinir iletimi, nörotransmitter olarak ACh'nin sentezi, depolanması, taşınması ve yıkımında rol oynayan proteinlere dayanır (Şekil 2.3.). ACh sentezi kolinerjik nöronların sitoplazmasında gerçekleşir. Kolin asetiltransferaz (ChAT) enzimi, kolin ve asetil-koenzim A'dan (asetil-CoA) ACh'yi sentezleyebilir. Bunu takiben, nörotransmitter veziküller ACh taşıyıcı (VAChT) tarafından sitozolden sinaptik veziküllere taşınır. Asetil-CoA, mitokondri tarafından sağlanır ve kolinin çoğu diyetten gelir. Kolinerjik nöronlar kolini sentezleyebilmelerine rağmen ACh'nin novo-sentezi için gerekli olan toplam kolinin sadece çok küçük bir kısmı ile katkıda bulunur (Zeisel ve ark. 1991).

ChAT, esas olarak kolinerjik sinir uçlarının sitoplazmasında lokalize olan 69 kDa'lık bir enzimdir. ChAT'ı kodlayan gen, alternatif ekleme yoluyla çoklu mRNA'lar üretebilir. İnsanlarda 69 kDa ChAT'e ek olarak ChAT proteininin iki uzun formu (74 ve 82 kDa) da tespit edilmiştir (Misawa ve ark. 1997).

ChAT aktivitesi, nöronal depolarizasyon,  $Ca^{2+}$  akışı ve enzimin çok çeşitli protein kinazlar tarafından fosforilasyonu ile düzenlenir (Dobransky ve ark. 2000). ChAT'nin ACh sentezinde hayati bir işlevi olmasına rağmen, ChAT'nin kinetik fazlalıkta mevcut olması nedeniyle enzimin ACh sentezi için sınırlayıcı adım olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 2.3. Kolinergic sistem (Ferreira-Vieira T.H. ve ark. 2016)

### **2.3.3. ACh Depolanması**

Kolinerjik nöronların sitoplazmasında sentezlenen ACh, sinaptik vezikül zarında bulunan VAcHT tarafından sinaptik veziküllere taşınır (Şekil 2.3.). VAcHT tarafından taşınan her bir kolin molekülü, iki veziküler proton ile değiş tokuş edilir, bu da sinaptik veziküllerin nörotransmitter ile doldurulmasını sağlar. Veziküler transport aktivitesi, non-kompetitif bir inhibitör olan vesamikol tarafından bloke edilebilir (Bahr ve Parsons 1986).

### **2.3.4. ACh Salınımı ve İnaktivasyonu**

Kolinerjik nöronlar depolarize olduğunda, ACh sinaptik veziküllerden ekzositoz edilir ve hem muskarinik hem de nikotinik reseptörleri aktive edebileceği sinaptik yarığa salınır. Sinaptik yarığta bulunan ACh, asetilkolinesteraz (AChE) enzimi tarafından hızla inaktive edilir ve kolin ve asetat açığa çıkar. ACh dışındaki nörotransmitterler normal olarak presinaptik nörona geri alınır ve daha sonra spesifik enzimler tarafından inaktive edilir. Bu nedenle, ACh inaktivasyon mekanizması benzersizdir. AChE'nin her bir molekülü saniyede 5000 ACh molekülünü hidrolize edebilir, bu da AChE'yi bilinen en kinetik etkili enzimlerden biri yapar.

### **2.3.5. Kolin Geri Alımı**

Sinaptik yarığta ACh hidrolizi sonucu ortaya çıkan kolin, aktif bir taşıma sistemi tarafından sürekli olarak presinaptik kolinerjik nörona geri alınır (Şekil 2.3.). Kolinin geri alımı, çoğu durumda ACh sentez hızı için sınırlayıcı adımdır. Ayrıca, kolin taşıyıcı (CHT1) gen ekspresyonunda bir bozulma sergileyen fareler, doğumdan sonraki bir saat içinde ACh eksikliği ve kaçınılmaz ölümle ilgili semptomlar sergiler (Ferguson ve ark. 2004).

## **2.4. Beyindeki Kolinerjik Nöronlar**

Beyindeki kolinerjik nöronların tespiti, anti-ChAT antikoru kullanılarak mümkün olmuştur (Levey ve ark. 1983). MSS'de yerel devrelerin (internöronlar) bir parçası olan bazı kolinerjik nöronlar ve beynin farklı alanlarını birbirine bağlayan projeksiyon nöronları olan diğer nöronlar vardır. Kolinerjik internöronlar, kaudat-putamen nükleus, nükleus akumbens, olfaktör tüberkül ile önemli modülatör etkilere sahip oldukları Calleja Adaları kompleksi dahil olmak üzere çeşitli beyin substratlarında bulunur. Örneğin, kaudat-putamende bulunan büyük boyutlu aspine

kolinerjik internöronlar, bazal ganglionlardan gelen nöronal çıktının modüle edilmesinden sorumludur.

Beynin farklı alanlarını birbirine bağlayan projeksiyon kolinerjik nöronlar hem periferik hem de MSS'de iki veya daha fazla bölgeyi birbirine bağlar. MSS'de, iyi tanımlanmış bir dizi kolinerjik nöron kümesi vardır. Bazal ön beyinde bulunan kolinerjik nöronlar, MSS kolinerjik kümelerinin en iyi bilinenleridir (Mesulam 2004). Bazal ön beyindeki substantia innominatada, korteks ve amigdala boyunca çıkıntı yapan nöronlar ile Meynert'in bazal çekirdeği bulunur. Septumda bulunan kolinerjik nöronlar ve diyagonal bandın dikey bağlantıları esas olarak hipokampusa uzanır. Ek olarak, diyagonal bant çekirdeğinin yatay uzantılarının yan kısmında yer alan nöronlar olfaktör bulbusa projeksiyon yaparlar. Bazal ön beyinden gelen kolinerjik nöronal projeksiyonlar, çok çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda benzersiz rollere sahiptir ve kortikal fonksiyonlar üzerinde genel bir modülatör etkiye sahiptir (Weinberger 2003, Jones 2004). Önemli olarak, Meynert'in bazal nükleusunu oluşturan nöronlar, AH'de kapsamlı dejenerasyona uğrar. Beyin sapındaki pedunculopontinus çekirdeğinde ve laterodorsal tegmental çekirdekte bulunan nöronlar talamusa doğru ilerler. Hem kortekse hem de omuriliğe yansıyan bu nöronlar, uyku/uyanıklık döngüsünün modülasyonu dahil olmak üzere birçok önemli fizyolojik role sahiptir.

## **2.5. ACh Reseptörleri**

MSS'de modülatör fonksiyonlara sahip bir nörotransmitter olan ACh, reseptörlerinin tipine ve nöronal lokalizasyonuna bağlı olarak stimülasyon veya inhibisyonu meydana getirir. ACh reseptörleri, agonist seçiciliğine ve farmakolojisine göre muskarinik (MR) veya nikotinik (NR) reseptörler olarak sınıflandırılır.

### **2.5.1. Nikotinik ACh Reseptörleri**

Nikotinik ACh reseptörleri, katyonlar ( $K^+$ ,  $Na^+$  ve  $Ca^{2+}$ ) için seçici olan iyon kapılı reseptör kanallarıdır. NR aktivasyonunu takiben hızlı bir hücreyel yanıt üretilir. Şimdiye kadar, dokuz NR tespit edilmiştir. Belirgin tipte NR'ler, MSS, ganglionlar ve kaslar dahil olmak üzere çeşitli yapılarda bulunmaktadır. NR  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  ve  $\gamma$  (fetal) veya  $\epsilon$  (yetişkin) olmak üzere beş farklı alt birimden oluşur (Cooper ve ark. 1991). Bu tür alt birimlerin farklı kombinasyonları, çeşitli NR türlerini oluşturur. Kas ve

gangliyonlarda eksprese edilen kolinerjik NR'ler, iki  $\alpha$  alt birimi artı diğer üçünün her birinden oluşur. Öte yandan, nöronal NR, sadece iki tip alt birimin ( $\alpha$ 2-10 ve  $\beta$ 2-4) kombinasyonu ile oluşturulur (Nai ve ark 2003). Ayrıca, MSS'de en yaygın olarak ifade edilen nikotinik alt birim  $\alpha$ 7'dir (Seguela ve ark. 1993). Bu farklı alt birimlerin birleştirilmesiyle çok sayıda farklı NR türü oluşturulabilir. Sonuç olarak, her bir NR tipi farklı özelliklere ve işlevlere sahip olabilir.

Periferik sinir sisteminde, NR aktivasyonu, hızlı sinaptik iletme yol açarken MSS'de uyarım veya inhibisyondan ziyade modülatör bir etki gösterir. Periferik ve MSS NR'ler arasında birtakım farklılıklar vardır. Örneğin, MSS'de eksprese edilen NR'ler, nikotinik reseptörlerin uzun süreli modülatör etkileriyle ilgili önemli bir sinyal molekülü olan  $Ca^{2+}$ 'ya yüksek oranda geçirgendir (Role ve Berg 1996). MSS'de, çoğu NR presinaptik nöronal membranda eksprese edilir ve bunların ana rolü nörotransmitterlerin salınımını düzenlemektir. Periferde ise NR'ler esas olarak post-sinaptik bölgede bulunur. MSS'de presinaptik nöronal membranda bulunan NR stimülasyonu, ACh'de olduğu şekliyle glutamat, GABA, dopamin, serotonin ve norepinefrin gibi nörotransmitterin salınımını kolaylaştırabilen presinaptik  $Ca^{2+}$  konsantrasyonunda artışa yol açar (Radcliffe ve Dani 1998). Böylece ACh, çeşitli sinapsların gücünü ve aslına uygunluğunu etkileyebilir ve genel MSS iletimini modüle edebilir (Wonnacott 1997). NR agonistleri bilişsel performansı artırırken, antagonistleri bilişsel performansı bozar (Levin ve Simon 1998). ACh'nin öğrenme ve hafızadaki rolünün, glutamaterjik nörotransmisyonun düzenlenmesi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, kolinerjik ve glutamaterjik sistemlerin etkileşimi, NR agonistlerinin  $Ca^{2+}$  bağımlı ve glutamaterjik sistemi içeren bir mekanizmada nöro-protektif olduğu gösterildiğinden, sadece bilişsel süreçler için değil, aynı zamanda nöroproteksiyon için de önemli görünmektedir (O'Neill ve ark. 2002).

NR aktivitesi, protein kinaz A, protein kinaz C ve tirozin kinaz fosforilasyonu tarafından düzenlenir (Charpentier ve ark. 2005). Ayrıca nikotinik reseptörler  $Ca^{2+}$  tarafından allosterik olarak da düzenlenebilir.  $Ca^{2+}$  iyonları, hücre dışı olan NR'lerin amino terminal bölgesine bağlanabilir ve voltaja duyarsız bir şekilde ACh'ye bağlı gerilimi potansiye edebilir. Öte yandan,  $Ca^{2+}$  reseptörün hücre içi bölgelerine bağlandığında, iletkenlikte voltaja bağlı bir azalma meydana gelir (Glushakov ve ark. 1999).

Sadece nikotin değil, aynı zamanda DMPP (1,1-Dimetil-4-fenilpiperazinyum) ve sistin de nikotik reseptör agonistleri olarak işlev görebilir. Kürar, NR için en iyi bilinen antagonisttir, ancak bu ilaç merkezi NR'leri bloke etme yeteneğine sahip değildir. Geliştirilmiş olan çok sayıda NR antagonistine rağmen, farklı MSS NR tipleri için özgüllük halen sağlanamamıştır (Mogg ve ark. 2002).

### 2.5.2. Muskarinik ACh Reseptörleri

Muskarinik reseptörler (MR), çok çeşitli iyon kanallarını modüle edebilen G-protein bağımlı reseptörlerdir (Nathanson 2000). Şimdiye kadar muskarinik reseptörlerin beş izoformu (M1-5) için gen tanımlanmıştır (Kubo ve ark. 1986). M1, M3 ve M5, G $\alpha_q$ 'ya bağlanırken M2 ve M4, G $\alpha_i$ 'ye bağlanır. G $\alpha_q$ 'ya bağlı muskarinik reseptörlerin uyarılması, fosfolipaz-C aktivasyonuna ve K<sup>+</sup> kanallarının kapanmasını sağlayan inositolfosfatların ve diğer ikinci habercilerin oluşumuna yol açarak hücre uyarılabilirliğini kolaylaştırır. G $\alpha_i$  kenetli muskarinik reseptörlerin aktivasyonu, adenilil siklazın inhibisyonuna ve siklik adenozin monofosfat (cAMP) seviyelerinin azalmasına yol açarak voltaj kapılı Ca<sup>2+</sup> kanallarının inhibisyonunu destekler ve böylece hücre uyarılabilirliğini azaltır (Caulfield ve Birdsall 1998). Bununla birlikte, muskarinik reseptör sinyali, diğer çeşitli reseptörlerle çapraz iletişime neden olarak nihai sonucu çok daha karmaşık hale getirir (Nathanson 2000). Sonuç olarak, ACh muskarinik reseptörlerin uyarılması Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> veya Cl<sup>-</sup> kanallarının açılmasını veya kapanmasını teşvik edebilir, bu reseptörlerin eksprese edildiği hücre tipine bağlı olarak depolarizasyon veya hiperpolarizasyonu kolaylaştırabilir (Kudo ve ark. 1998). Sinaptik lokalizasyon açısından, M1/M3 reseptörleri esas olarak postsinaptik (Porter 2002), M2/M4 reseptörleri genellikle presinaptik olarak konumlanmıştır. M2/M4 otoreseptörler olarak görev yapar ve ACh salınımını negatif yönde düzenler (Douglas ve ark. 2001) ve/veya Ca<sup>2+</sup> kanal aktivitesini düzenleyerek sinaptik iletimi modüle eden heteroreseptörler olarak görev yapar (Van der Zee ve Luiten 1999).

MR uyarılması, uyarılma veya inhibisyona yol açabilir. Ancak, bu reseptörlerin aktivasyonu daha yaygın olarak özellikle kortekste uyarım yapar. Muskarinik aracılı uyarımın altında yatan birçok mekanizma vardır. Normalde, bu reseptörler aracılığıyla uyarım, postsinaptik bölgelerdeki K<sup>+</sup> akımlarının baskılanmasını içerir. Muskarinik reseptörlerin aktivasyonu, voltaj kapılı K<sup>+</sup> kanalını inhibe ederek çeşitli K<sup>+</sup> akımlarını bloke edebilir (Madison ve ark. 1987). Azalan K<sup>+</sup> akımlarına ek olarak, presinaptik bölgede bulunan muskarinik reseptörler de

GABAerjik sinir iletimini inhibe edebilir. Öte yandan, Gaa eşleştirilmiş muskarinik reseptörlerin uyarılması, N-metil-D-aspartat (NMDA) akımlarını kolaylaştırabilen hücre içi ikinci haberciler üretir (Markram ve ark. 1992). GABAerjik'in inhibisyonu ve glutamaterjik sinir iletiminin stimülasyonu uyarıma neden olmaktadır.

Genel olarak, MR aktivasyonunun ürettiği inhibitör etkiler, MSS'nin çoğu bölgesinde yaygın değildir. Korteks ve beyin sapının belirli bölgelerinde ACh'nin inhibisyon yaptığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, muskarinik aracılı inhibisyonun doğrudan olup olmadığı tartışmalıdır. Önerilen hipotez, muskarinik aracılı inhibisyonun  $K^+$  akımlarındaki bir artış, glutamaterjik uyarıcı post-sinaptik potansiyellerin (EPSP'ler) inhibisyonu ve  $Ca^{2+}$  akımlarının azalması yoluyla gerçekleştiğidir (Gahwiler ve Brown 1987).

Muskarinik reseptörler için tanımlanan ilk seçici agonist, muskarindi ve şimdiye kadar, muskarinik reseptörün belirli bir alt tipi için spesifik seçiciliğe sahip hiçbir agonist mevcut değildi. En iyi bilinen iki muskarinik reseptör antagonisti, tüm muskarinik reseptörleri bloke eden atropin ve kinuklidinil benzilattır. Bununla birlikte, daha yakın zamanlarda, muskarinik reseptörler için birkaç alt tip spesifik antagonist geliştirilmiştir (Adem ve Karlsson 1997).

## **2.6. AH ve Kolinerjik Sistem İlişkisi**

Kolinerjik nörotransmisyonun bazı hastalıklarla bağlantılı olduğu öne sürülmüştür. ACh bilişsel süreçlerde önemli bir role sahip olduğundan, kolinerjik sistem, AH dahil olmak üzere birçok demans formunda önemli bir faktör olarak gösterilmektedir (Muir 1997). Kolinerjik iletimdeki eksiklikler, kortikal ve hipokampal süreçler dahil olmak üzere biliş ve davranışın tüm yönlerini potansiyel olarak etkileyebilir (Bartus 2000). Kortekse kolinerjik girdilerin bozulması, dikkat ve karar verme mekanizmalarında gerekli olan ipuçlarının değerlendirilmesini bozabilir (Muir ve ark. 1992). Ayrıca, CA3 kolinerjik reseptörlerini bloke etmenin bilgi ve hafızanın kodlanmasını bozduğu gösterilmiştir (Rogers ark. 2004). Bilişsel değişikliklere ek olarak AH'de apati ve depresyon gibi psikiyatrik belirtiler sıklıkla gözlenir. Kolinerjik nöronların kaybının ve bunun sonucunda dopaminerjik iletimdeki bozulmanın, AH ile ilişkili psikiyatrik semptomların altında yatan ana faktörler olabileceği öne sürülmüştür (Rosenberg ve ark. 2015). Bu hipotezi doğrulayarak, M4 nakavt farelerin nükleus akumbensinde dopamin akışının arttığı

gösterilmiştir (Jeon ve ark. 2010). Bu bulgular için olası bir açıklama, laterodorsal tegmental çekirdek ve pedunculopontinus çekirdeğinden nükleus akumbens'e kolinerjik nöronal projeksiyonların, M4 otoreseptörleri yoluyla dopamin salınımını düzenleyebilmesidir (Sarter ve ark. 2014). İlginç bir şekilde, nükleus akumbens, nükleus bazalise yansıyabilir ve kolinerjik sinir iletimini kontrol edebilir. Ayrıca yalnızca AH'de değil, Parkinson hastalığı, Down sendromu, amyotrofik lateral skleroz, ilerleyici supranükleer felç ve olivopontoserebellar atrofide özellikle bazal ön beyinde kolinerjik nöron kaybı meydana gelir. Ayrıca, Huntington hastalığı, azalmış ChAT aktivitesi ile ilişkili görünmektedir.

Kolinerjik sinapsların özellikle A $\beta$  oligomerlerinin erken nörotoksitesinden etkilendiği ve sinaptik kaybın bilişsel bozulmanın ana nedeni olduğu gösterilmiştir (Selkoe 2002). Aslında, AH sergileyen hastalarda gözlenen hafıza eksikliği ve nöropatolojinin şiddeti, hipokampal sinaptik iletimdeki değişikliklerle, özellikle bir presinaptik vezikül proteini olan sinaptofizin ekspresyonundaki değişikliklerle yüksek oranda ilişkilidir (Counts ve ark. 2006). Mutant APP farelerinin hipokampusünden alınan elektrofizyolojik kayıtlar da bazal sinaptik iletimde önemli eksiklikler (%40 kayıp) göstermektedir (Fitzjohn ve ark. 2001). Meynert'in nükleus bazalisinde yer alan kolinerjik nöronlar, AH'den bariz şekilde etkilenen ana nöronlardır (Bell ve ark. 2006). Diğer kolinerjik nöronlarda ise ChAT transkripsiyonunun ciddi şekilde azaldığı, bunun da ChAT aktivitesinin azalmasına ve demansın ilerlemesine yol açtığı gösterilmiştir (Strada ve ark. 1992). AH'de meydana gelen tüm bu kolinerjik değişiklikler, hastalarda gözlenen bozulmuş dikkat ve hafıza ile yakından ilişkilidir. Ayrıca, bazı kanıtlar AH'nin patogenezinde AChE'nin rol oynadığını da düşündürmektedir (Lahiri ve ark. 2002). Bir moleküler modelleme çalışmasında AChE'nin A $\beta$  peptidi ile etkileşime girdiği ve amiloit fibril oluşumunu desteklediği tespit edilmiştir. Bu çalışmadaki kinetik analizler, AChE'deki 35 adet peptitten oluşan hidrofobik bir dizinin, amiloit oluşumunu ve büyüyen A $\beta$  fibrillerine dahil edilmesini teşvik edebildiğini ortaya çıkarmıştır (De Ferrari ve ark. 2001). Diğer yandan yaşlı transgenik Tg2576 farelerinin neokorteks ve hipokampusündeki A $\beta$  plaklarının çevresinde, kolinerjik liflerin lokal bozulmasıyla birlikte AChE için güçlü bir boyanma tespit edildi. Ek olarak, nicel otoradyografi analizi, bu hayvanların hipokampusunda kolin alımının azaldığını ve muskarinik ve nikotinik kolinerjik reseptörlerin ekspresyonunun azaldığını ortaya

koymuştur (Apelt ve ark. 2002). Bu ve diğer kanıtlara ışığında AH'yi göreceli de olsa başarıyla tedavi etmek için u farklı kolinesteraz inhibitörü olan donepezil, galantamin ve rivastigmin kullanılmıştır (Raina ve ark. 2008).

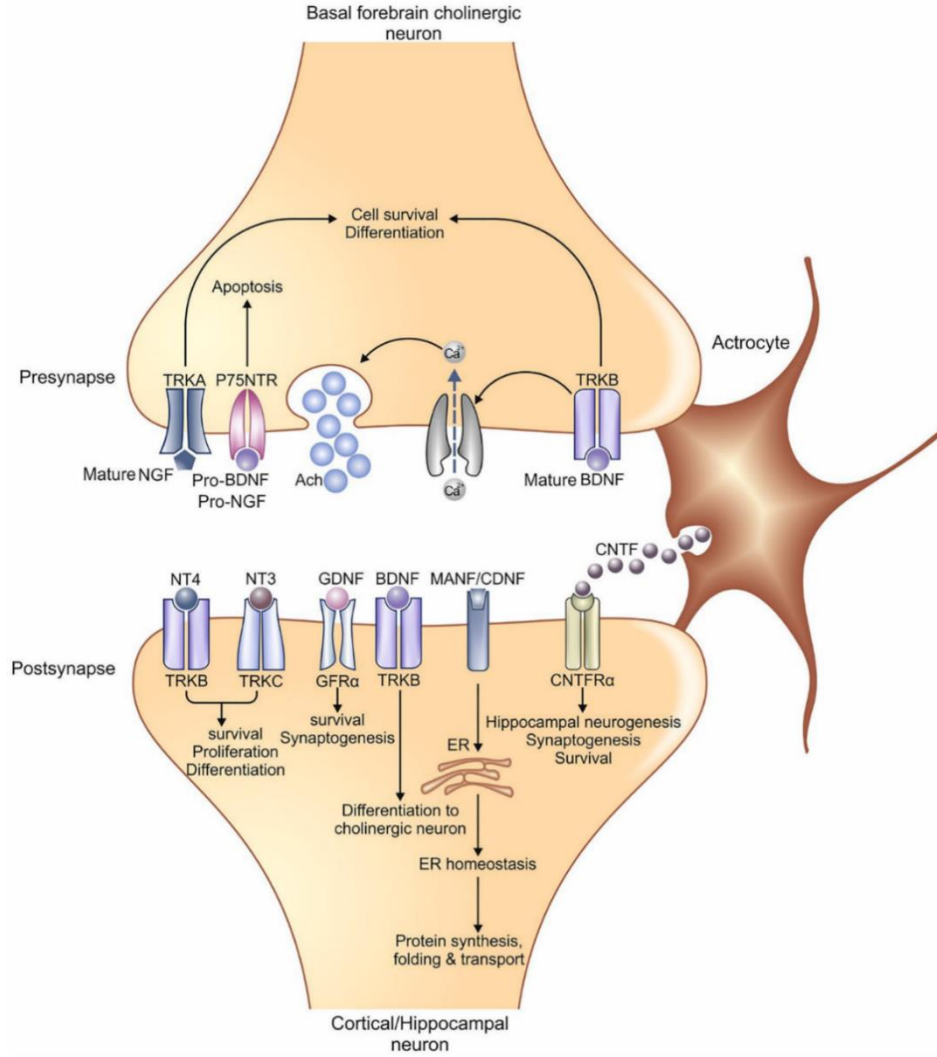
## **2.7. AH ve Nörotrofik Faktörler**

### **2.7.1. Nörotrofik Faktörlerin Sınıflandırılması**

NTF'ler gelişmiş ve gelişmekte olan sinir sistemlerinde nöronların hayatta kalmasını, farklılaşmasını ve işlevselliğini destekleyen ve düzenleyen büyüme faktörleridir. Aynı Şekilde nöronal sağlığın ve fonksiyonelliğin korunması için hayati öneme sahiptirler. Bu proteinler, hücresel mekanizmalarındaki farklılıklara göre nörotrofinler, nropoietik sitokinler (nrokinler), gliyal hücre hattı kökenli NTF (GDNF) ailesi ligantları (GFL'ler), evrimsel olarak korunmuş bir serebral dopamin nörotrofik faktör-mezenşefalik astrosit kökenli nörotrofik faktör ailesi (CDNF/MANF) olarak dört gruba ayrılır (Şekil 2.4.).

**Tablo 2.4.** AH tedavisinde nörotrofik faktörlerin terapötik potansiyeli (Nasrolahi ve ark. 2021'den düzenlenmiştir).

<b>Nörotrofik Faktörler</b>	<b>Alzheimer Hastalığı Üzerine Etkileri</b>
NGF	Bazal ön beyin kolinerjik nöronlarının hayatta kalmasını ve farklılaşmasını destekler, oksidatif stresi bastırır ve bilişsel işlevi geliştirir.
BDNF	Kortikal nöronal kök hücrelerinin (NSC) kolinerjik nöronlara farklılaşmasını indükler, kolinerjik nöronların hayatta kalmasını ve farklılaşmasını destekler, ACh salınımını uyarır, hücrel homeostazı korur, nörogenezi destekler, sinaptik büyümeyi artırır, hipokampal uzun vadeli güçlenmeyi indükler ve bilişsel işlevi geliştirir.
NT-3 ve NT4/5	NT-4/5, hipokampal, noradrenerjik ve dopaminerjik nöronların hayatta kalmasını ve farklılaşmasını destekler, NT-3 nörogenezi düzenler ve hipokampal plastisiteyi kolaylaştırır, hafıza fonksiyonunu iyileştirir.
CNTF	Serebral duyusal ve motor nöronların, parasempatik nöronların ve hipokampal nöronların hayatta kalmasını ve farklılaşmasını indükler, yetişkin nörogenezini geliştirir, bilişsel gerilemeyi iyileştirir.
CT-1	Motor nöron dejenerasyonunu geciktirir ve motor fonksiyonunu iyileştirir, bilişsel eksiklikleri iyileştirir.
GDNF	Lokus seruleus noradrenerjik nöronlarının dejenerasyonunu inhibe eder, dopaminerjik nöronları korur, kolinerjik iletimi modüle eder ve nörodejeneratif bozukluklarda bilişsel bozukluklara karşı korur.
CDNF ve MANF	ER stres aracılı hücre ölümünü engeller, A $\beta$ kaynaklı nöronal hücre ölümüne karşı korur.



Şekil 2.4. Alzheimer hastalığında nörotrofik faktörlerin (NTF'ler) katılımının şematik gösterimi. Sinir büyüme faktörü (NGF) ve BDNF, iki tirozin kinaz reseptörü ailesine (TRKA ve TRKB) bağlanır. Pro-NGF, p75NTR ile etkileşime girerek apoptoza aracılık eder. Olgun NGF, kolinerjik nöronlar üzerinde nöroprotektif etkilere sahiptir ve bunların hayatta kalmasını sağlar. Pro-BDNF, özel olarak p75NTR'ye bağlanır ve hücre ölümüne aracılık eder, olgun BDNF ise kolinerjik nöronların hayatta kalmasını ve farklılaşmasını destekler, kolinerjik nöronlarda ACh salınımını uyarır ve kortikal nöral kök hücrelerinin (NSC'ler) kolinerjik nöronlara farklılaşmasını indükler. Nörotrofin-3 (NT-3) TRKC'ye, nörotrofin-4/5 (NT-4/5) TRKB'ye bağlanır ve nöral hücrelerin hayatta kalmasını destekler. Gliyal hücre kökenli nörotrofik faktörün (GDNF) GDNF $\alpha$  reseptörüne ve tirozin kinaz RET reseptörüne bağlanması, hücrenin hayatta kalmasına yol açar ve atrofiye karşı sinir hücreleri üzerinde nöroprotektif etkiyi indükler. Siliyer nörotrofik faktör (CNTF) astrositler tarafından salgılanarak CNTFR $\alpha$  ile birlikte onun astrositlerden ve nöronlardan salgılanan iki alt birimi olan ve gp130 ve lösemi inhibitör faktöre (LIFR $\beta$ ) bağlanır. Serebral duyuşal ve motor nöronlar ile hipokampal nöronlar üzerinde hayatta kalma ve farklılaşmaya neden olan etkileri vardır. CDNF/MANF ailesi, endoplazmik retikulum (ER) stresini baskılayarak ve protein sentezini ve katlanmasını modüle ederek A $\beta$  kaynaklı nöronal hücre ölümüne karşı nöroprotektif etkiler gösterebilir (Nasrolahi ve ark. 2021'den düzenlenmiştir).

## 2.7.2. Nöritin (NRN)

Nörotrofik faktörler ailesinin nörotrofik bir üyesi olan NRN (ayrıca aday plastisite geni 15 (CPG 15) olarak da bilinir), 6. kromozomun 6p24-p25 aralığında yerleşmiş olan nörotrofik bir faktördür. İlk olarak ratların dentat girusunda daha sonra insanlarda tespit edilmiştir (Naeve ve ark. 1997). NRN hücre membranına bir GPI bağıyla güçlü bir şekilde bağlanmış küçük bir protein olup, görme korteksinin ışık aktivasyonu gibi fizyolojik uyaranlara hassastır (Nedivi ve ark. 1996). Sinirsel gelişim ve sinaptik plastisitedeki çok yönlü rolleriyle NRN, MSS'nin travmatik hasarını takiben nöronal bağlantıların yeniden oluşmasına katkı sağlar. Bu yapılanma birkaç nörotrofik ve nörorejeneratif faktörün kontrolü ile sağlanır. NRN'nin merkezi ve periferik yaralanmalara olan yanıtı katkısı ve farklı nörotrofik ve nöroterapötik ajanların molekül ya da etkilerin oluşmasında yaygın bir etkisinin olması, sinir sistemi yaralanmalarının klinik yönetimi için önemli bir hedef olduğunu ortaya koymaktadır.

### 2.7.2.1. Dağılımı ve Ekspresyonu

NRN mRNA ve proteini ilk olarak xenopus spinal kordunda tespit edilmiştir (Hallbook ve ark. 1991). NRN retinada sadece retinal ganglion hücrelerinde eksprese olur ve NRN proteini retinal aksonlar da dahil olmak üzere akson alanlarında yoğun olarak bulunur (Nedivi ve ark. 2001). Ayrıca NRN mRNA schwann primer hücre kültürlerinde de eksprese olur ve beyinde yüksek ekspresyon seviyelerine sahiptir (Min ve ark. 2012; Tablo 2.5.).

Doğum sonrası gelişim sürecinde ratların görme korteksindeki NRN ekspresyonunun artışı, gözlerin açılma dönemine denk gelen postnatal 28. günde pik yapar. Karanlıkta yetiştirme, yetişkin dönem kritik evresinde görme korteksindeki NRN mRNA ekspresyon pikini etkiler fakat lateral genikulat nükleusu ya da süperiyor kollikulusu etkilemez. Postnatal 28. günde görme korteksi NRN ekspresyon seviyeleri, kontrol gruplarına oranla karanlık yetiştirme yapılan ratlarda daha düşüktür. Karanlıkta yetiştirilen hayvanlarda NRN mRNA seviyeleri sabit kalır ve erişkinlikle birlikte azalma meydana gelmez (Lee ve Nedivi 2002). Normal ve tek gözü kapalı sıçanların görme korteksindeki NRN'nin gelişimsel ekspresyonu görme durumuna göre değişir (Chen ve ark. 2011).

NRN aksonun içinde ve yüzeyinde dağılır ve membran depolarize olduğunda aksonal trafiği kontrol eder. Bir ekliptik pHluorin-NRN füzyon proteini, optik tektal doku kültürlerinde ve xenopus kurbağa yavrularının retinal gangliyon hücrelerinde eksprese edilerek in vivo NRN trafiği incelenmiştir. KCl artışıyla meydana gelen depolarizasyon sonucu aksonlarda ekliptik pHluorin-NRN floresan vermiştir. İntraoküler kainik asit enjeksiyonu sonucu retinotektal aksonların hücre yüzeylerinde ekliptik pHluorin-NRNde hızlı bir artış meydana gelmektedir. Fakat kainik asit ile birlikte tetrodotoksin enjeksiyonu geçişi bloke etmektedir. NRN hücre içinde presinaptik terminallerin veziküllerinde ve endozomlarında, sinaptik vezikül proteinleri ile birlikte depolanır (Cantalops ve Cline 2008). Bu bulgular, NRN'nin akson yüzeyindeki dağılımının, aktivite bağımlı mekanizmalar tarafından çok kısa bir zaman diliminde in vivo olarak düzenlendiğini göstermektedir.

Tablo 2.5. NRN'nin Sinir Sistemindeki Dağılımı, Ekspresyonu ve Fonksiyonları

Bölge	Dağılım / Ekspresyon	Fonksiyon
Beyin	Duyusal alanlarda eksprese edilir (görme, duyma, olfaktör sistemleri). Dentat girus, hipokampüs, serebral korteks ve serebellumda bulunur.	/
Kortikal 2/3 ve 4. Tabakadaki Nöronlar	Görsel uyarım ile primer upregülasyon ve en az 48 saat süreyle yükseliş.	/
Görme Korteksi, Lateral Genikulat Nükleus ve Üst Kollikulus	Doğum sonrası 28. güne kadar retinanın sürekli aksiyon potansiyeline bağlı ekspresyon artar fakat erken ekspresyondan bağımsızdır.	/
Tek Göze Sahip Ratların Görme Korteksi	Protein ekspresyonu daha düşüktür ve ters dikişlenen ratlarda upregüle olur (6, 12, 24, 48 saat ve 1 hafta)	Yapısal model değişikliğini ve sinaptik olgunlaşmayı güçlendirir ve görsel gelişim plastisitesinde rol alır.
Tek Göze Sahip Ratların Görme Korteksi	Görsel deneyim ve yaş faktörüyle ilişkilidir ve kritik periyottaki (doğum sonrası 21, 28 ve 45. gün) yüksek ekspresyonu tek göz tarafından etkilenir.	Yapısal model değişikliğini ve sinaptik olgunlaşmayı güçlendirir ve görsel gelişim plastisitesinde rol alır.
Schwann Hücre Primer Kültürü	mRNA ve protein ekspresyonu meydana gelir ve yüksek glukoz konsantrasyonu altında downregüle olur.	Downregülasyondan dolayı Schwann hücrelerinin apoptozu.

### 2.7.2.2. NRN Gen Regülasyonu

NRN, dendritik ve aksonal büyüme ve hipokampal ve kortikal nöronlarda aksonal dallanmayı destekler. Ayrıca *in vivo* olarak sinaptik maturasyonu sağlar. NRN mRNA ekspresyonunun uyarımındaki yoğunluk hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda değişkenlik gösterir.



Şekil 2.5. NRN ekspresyonunun regülasyonuna etki eden faktörler (Zhou ve Zhou 2014'ten değiştirilerek alınmıştır).

### 2.7.3. Nörotrofik Faktörler ve Hormonlar

Testosteron, pelvik otonom nöronlar için nörotrofik bir faktördür. Diyabetik hastalarda ve ratlarda serum testosteron seviyeleri düşer. NRN, streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetik ratların duyuşal nöronlarında artarken, NGF sağaltımı sonucu azalır (Karamoysoyli ve ark. 2008). Bu durum diyabetik duyuşal nöropati etiolojisi olarak karşımıza çıkar. 10 ve 12 haftalık ratların kavernoöz ve seminal vezikül ağırlıklarında azalma sonucu serum testosteron seviyelerinde bir azalma meydana gelir. Çünkü serum testosteron seviyeleri bu dokular tarafından ayarlanır. 10 haftalık diyabetik ratların pelvik gangliyonlarında, tirozin hidroksilaz (sempatik) pozitif nöron somasında ve nitrik oksit sentaz (parasempatik) pozitif alanlarda azalma meydana gelir fakat 12 haftalık diyabetik ratların pelvik gangliyonlarında

NRN mRNA seviyeleri sabit kalır. NRN mRNA seviyeleri duyuşal nöron kültürlerinde NGF ile artarken pelvik gangliyon nöron kültürlerinde testosteron ile artar (Lee ve Purves-Tyson 2009). Akson uzamasına bağlı NRN oluşumu, diyabette pelvik otonom nöronların korunması ya da dejenerasyonunun tersine çevrilmesinde potansiyel hedefdir. BDNF ve gliyal hücre hattı kökenli nörotrofik faktör de NRN mRNA'nın nöronal seviyelerini artırır (Pahnke ve ark. 2004).

Motonöron hasarından 2 gün sonra NRN mRNA ekspresyonu, gonadal steroidler tarafından belirgin şekilde uyarılır. İlginç bir şekilde steroid sağaltımına bağlı olmaksızın erken postaksotomi evrede, hasarı takiben NRN başlangıçta azalır (Tetzlaff ve ark. 2006). NRN mRNA ekspresyonu, androjenlerle in vivo ve in vitro olarak artar (Fargo ve ark. 2008).

#### **2.7.4. Sinaptik Aktivite, Kalmodulin Bağlı Protein Kinaz (CaMK) ve Mitojen Aktive Protein Kinaz (MAPK) Aktivasyonu, Nöbet ve Duyusal Deneyim**

Sinaptik aktiviteyle NRN mRNA ekspresyonu uyarılır ve onun sentezlenen proteini nöral fonksiyonlarda etkili olabilir (Yamagata ve ark. 1998). Transkripsiyonel aktivasyon, nöronal aktivite ile uzun dönem sinaptik plastisite arasında anahtar bir bağlantıdır. NRN, NMDA reseptörleri ve L-tipi voltaj kapılı kalsiyum kanallarına doğru Ca akışı ile hızlı erken (immediate-early) genler tarafından indüklenir. NRN ekspresyonu, Ca/CaMK ve MAPK yolaklarının aynı yönde aktivasyonunu gerektirir. Aktiviteye bağlı ekspresyon için protein kinaz A'nın aktivasyonu gerekli olmamasına rağmen NRN, aktif nöronlardaki cAMP tarafından indüklenir. cAMP bağımlı element bağlayıcı protein, in vivo olarak NRN öncü proteinini bağlar ve onun aktivasyonuna bağımlı ekspresyonu kısmen düzenler (Fujino ve ark. 2003).

Akut ve kronik elektrokonvulzif nöbet terapisinden sonra NRN, hipokampüste upregüle edilir. NRN ayrıca granül hücre tabakası ve kronik elektrokonvulzif nöbet terapisine üzerine dentat girus CA1 piramidal hücrelerinde de upregüle edilir. NRN mRNA, elektrokonvulsif nöbet terapisine koroit pleksusta da zenginleşir ve düzenlenir. NRN'nin düzenlenmesi, büyüme faktörü ve anjiyojenik endotelial sinyalleşme ile de ilgilidir (Newton ve ark. 2003).

## 2.7.5. Sinir Sistemindeki Etkileri

Sinir sisteminin gelişimini etkileyen birçok ligant, karmaşık nöron devrelerinin oluşumunu sağlamak için birlikte çalışan gen ailesinin üyeleridir. Mevcut kanıtlar NRN'nin esas etkilerini farklı hayvanların sinir sisteminde ve hücre kültürlerinde gösterdiğini ortaya koymuştur (Şekil 2.6.). Bunun sebebi NRN reseptörlerinin tanımlanamaması, NRN'nin fizyolojik fonksiyonlarını ortaya koyan reseptörlerin ve onunla ilişkili intraselüler sinyal taşıma mekanizmalarının net olarak anlaşılabilmesidir.

### 2.7.5.1. Nöronal Uzantıların (Nöritlerin) Desteklenmesi

Nöral aktivite ve nörotrofin tarafından uyarılan sinaptik yeniden yapılanma kısmen gen ekspresyonundaki değişimlere bağlıdır. NRN, gelişmekte olan sinir sisteminin farklılaşan nöronlarında mitoz sonrası dönemde ve yetişkinlerde plastisite ile ilişkili nöronal yapılarda eksprese edilir. NRN'nin cDNA'sı, GPI bağlı bir protein kodlar. Bu, nöronal aktivite tarafından uyarılan hipokampal genler için görüntüleme ile ayırt edilir. NRN mRNA nöronal aktivite ile BDNF ve NT-3 tarafından uyarılır. Rekombinant NRN, nöron uzantılarını ve primer embriyonik hipokampal ve kortikal hücre kültürlerinde sinir dallanmalarını destekler (Naeve ve ark. 1997).



Şekil 2.6. NRN'nin sinir sistemi fizyolojisi ve patolojisi üzerine etkileri (Zhou ve Zhou 2014'ten değiştirilerek alınmıştır).

*Xenopus laevis* kurbağa yavrularının işaretlenmiş presinaptik vezikül kümeleri ve postsinaptik ACh reseptörleri ile kombine edilen yeşil floresan protein ile işaretlenen tekli motor nöron aksonlarının hızlandırılmış iki foton görüntülemesi, in vivo motor akson dallanma gelişimi sürecinde tekli akson dallanmasının yeniden düzenlenmesini tespit etmek için kullanılmıştır. Motor nöron akson dallanmasının detaylandırılması ve sinaptogenez eş zamanlı ve tekrarlayıcıdır. NRN, motor akson dallanma gelişimi süresince salgılanır. Nöromusküler sinaptogenez ile ve yeni akson dallarının eklenmesiyle oluşan motor nöron akson dallanmasının gelişiminde NRN ekspresyonu artar (Javaherian ve Cline 2005).

### **2.7.5.2. Nöronal Sağ Kalım ve Nörit Büyümesinin Desteklenmesi**

NRN 2 fare ve insan genomlarındaki NRN'nin tek paraloğudur. NRN ve NRN 2 çoğunlukla sinir sisteminden salınır. NRN 2 ekspresyonu kainik asit (kainat) tarafından indüklenen nöbetlerde iki kat, 24 saat ışığa maruziyeti takip eden karanlık adaptasyonu cevabında ise görme korteksinde neredeyse dört kat artar. NRN ve NRN 2 salgılanma konumu ve temporal ekspresyon profillerine göre birbirlerinden ayrılırlar. NRN'nin aksine NRN 2 mRNA, retina ve olfaktör bulbusta çok fazla miktarda salgılanır. NRN ise serebral korteks ve hipokampüste çok miktarda salgılanır. NRN retinal gangliyon hücrelerinde, NRN 2 bipolar hücrelerde eksprese edilir. NRN 2'nin ekspresyon başlangıcı, NRN'ninkinden daha yavaştır. NRN 2 hücre membranına GPI bağı ile bağlıdır ve NRNe kıyasla çözünebilir zayıf etkili formda salgılanır. NRN ve NRN 2 birbirlerinin yapısal homodimerleri ve heterodimerleridir. NRN ve NRN 2 hipokampal doku kültürlerinde ve ayrışık kültürlerde nöron hayatietini desteklemektedir (Fujino ve ark. 2008). Bu bulgular NRN ve NRN 2'nin benzer hücresel fonksiyonlar ortaya koyduğunu fakat kendi hücre tiplerinde ve doku spesifik transkripsiyonel düzenlenmelerinde in vivo olarak belirgin rol oynayabileceklerini ortaya koymaktadır. Her iki membran bağı ve çözünebilir proteinin gen ekspresyonlarının düzenlenmesi ve fizyolojik fonksiyonlarındaki benzerlik ve farklılıkların araştırılabilmesi için farklı deneylerin yapılmasına ihtiyaç vardır.

### **2.7.5.3. Nöronal Farklılaşma Sürecinde Nörit Büyümesinin Düzenlenmesi**

PC12 hücreleri nöritik büyümede NRN'nin etki mekanizmalarının araştırılması için değerli bir modeldir. 5 gün süreyle NGF ile muamele edilen PC12

hücreleri, genler tarafından düzenlenen nöral plastisitede, hücre iskeleti organizasyonunda ve lipit metabolizmasında (NRN, PDZ protein, Mrt1, lipoprotein lipaz, tropomodulin 1 ve rhoB) değişiklikler gösterdi (Lee ve ark. 2005). Nöritik büyümenin dikkat çekici seviyede olmasından saatler önce, PC12 hücrelerinde NRN mRNA seviyeleri NGF tarafından upregüle edildi. NRN salgılayan bir plazmitle transfekte edilen PC12 hücreleri, NGF'ye daha yüksek bir cevap verdi. Aksonal süreçler için marker olan SMI312 pozitif fosforile nörofilament protein seviyeleri ve tirozin hidroksilaz, nörit taşıyan hücrelerin yüzdesini ve nöritlerin ortalama uzunluğunu artırdı. NRN yıkımı, nörit büyümesini azalttı. NRN, PC12 hücrelerinin NGF uyarımlı farklılaşmasını güçlendirmekte fakat tirozin kinaz ve epidermal büyüme faktörü reseptör gen ekspresyonununa etkisi olmamaktadır. S-metil izotioüre, uyarılabilir nitrik oksit sentaz için güçlü bir inhibitör olup NGF aracılı NRN indüksiyonunu kısmen baskılar. Bu, PC12 hücrelerinde nitrik oksit tarafından tetiklenen sinyal yolları vasıtasıyla gerçekleştirilen NRN ekspresyonunun NGF tarafından düzenlendiğini ortaya koymaktadır (Cappelletti ve ark. 2007). Bu bulgular, PC12 hücrelerinin NGF tarafından uyarılan farklılaşma sürecinde nörit gelişiminin düzenlenmesinde bir role sahip olduğunu göstermektedir.

#### **2.7.5.4. Motor Nöron Aksonlarının Korunması**

Yaşamsal motor nöron 1 (SMN-1) geninin çıkarılması spinal kas atrofisine neden olur. HuD yeni bir nöronal SMN-etkileşimli proteindir. SMN ve HuD spinal motor aksonlarında bir kompleks oluştururlar ve her ikisi de nöronlarda NRN mRNA ile ilişki içerisindedirler. NRN, gelişmekte olan ventral spinal kordda bol miktarda salgılanır ve motor akson dallanmasını ve nöromüsküler sinaps oluşumunu uyararak motor aksonların ve nöromüsküler kavşakların gelişimde hayati bir rol oynar. NRN mRNA aksonal süreçlerde belirginleşir. SMN geninin çıkarılması nöronlarda NRN mRNA seviyelerini azaltır ve SMN-defisit fenotipe sahip zebra balığında NRN'nin aşırı ekspresyonunu zebra balığının fenotipini kısmen düzeltir (Akten ve ark 2011). Böylece NRN mRNA ile birlikte SMN ve HuD proteinlerinin etkileşimi motor nöronlardaki aksonal bozuklukları giderir.

#### **2.7.5.5. Dendritik Büyümenin Artırılması**

Aktivite bağımlı ve aktiviteden bağımsız mekanizmalar, nöronal büyüme ve sinaptik bağlantıların doğru bir şekilde oluşturulması için uyumlu bir şekilde

çalışırlar. NRN, in vivo bir hücre yüzeyi büyüme destekleyicisi olarak çalışır. *Xenopus laevis* türünde NRN, projeksiyon yaptığı nöronlarda (nöronlar arasında etkisi olmaksızın) dendrit ağının büyümesini artırır. NRN, kendisine ait GPI bağlantıları yoluyla hücre içi sinyalleşme mekanizmaları tarafından komşu nöronların büyümesini kolaylaştırır (Nedivi ve ark. 1998). NRN aktivite düzenleyici, membran bağlantılı, büyüme destekleyici yeni bir sınıf protein olarak gösterilebilir.

#### **2.7.5.6. Hedef Nöronların Dendritik Ağının Presinaptik Biçimlendirilmesi**

NRN, kedilerin görme sisteminin lateral genikulat nükleusunda yüksek seviyelerde eksprese edilir fakat onun sinaptik sonlanmalarının bulunduğu görme korteksinin 4. katmanında çok düşük seviyededir. Prenatal olarak, lateral genikulat nükleusta NRN mRNA çok miktarda eksprese olduğunda tetrodotoksin ile oluşturulan aksiyon potansiyeli blokajına duyarsızdır. Postnatal olarak NRN, görme korteksinde görme etkisi altındaki kolonlardaki gelişmeye eş zamanlı olarak lateral genikulat nükleusta artış gösterir. NRN postnatal görme korteksinin 2/3 ve 5/6'lık katmanlarında tespit edilebilir ve 2/3'lük katmandaki ekspresyonu, bu katmanlardaki aktivite bağımlı plastisitenin aktivite süreçli bilinen peryotları tarafından düzenlenir (Corriveau ve ark 1999). Hem gelişim hem de erişkin evrede NRN ekspresyonunun görme sistemindeki lokalizasyonu ve düzenlenmesi, aktivite bağımlı sinaptik yeniden düzenleme sürecindeki hedef nöronların dendritik ağlarının şekillenmesinde NRN için presinaptik bir rol oynaması ile eş zamanlı olarak gerçekleşir.

#### **2.7.5.7. Sinaptik Plastisiteye Aracılık Etme**

Bir efektör gen olan NRN, sinaptik plastisiteye aracılık eden sinyal taşıma yolları için bir hedefdir. Bu nedenle aktivite tarafından düzenlenen ve sinaptik bağlantılardaki uzun dönem değişiklikleri yönlendiren transkripsiyonel bir süreçte doğrudan rol oynayabilir (Harwell ve ark. 2005). Kokainle muamele ya da nöbetle uyarımda, beyin ve dallanmış olan nöronların farklı bölgelerindeki NRN proteini kodlayan nöronal mRNA'lar kadar HuR, HuD ve p-glikojen sentaz kinaz 3 protein seviyelerinde de artış meydana gelir (Tiruchinapalli ve ark. 2008a). NRN gibi nöronal mRNA'ların transkripsiyon sonrası düzenlenmesinde protein sentezine bağlı sinaptik plastisite değişimlerine, RNA bağlayan HuD proteini tarafından aracılık edilir (Tiruchinapalli ve ark. 2008b).

#### **2.7.5.8. Dendritik Filizlenmede Aktif Sinapsların Sabitlenmesi**

Farelerde NRN'nin ortadan kaldırılmasının aksonal ve dendritik dallanmanın gelişimsel olgunlaşmasını geciktirdiği anterograd izleme ve diolistik etiketleme ile ortaya konulmuştur. Ayrıca sinaptik maturasyonda da gecikme ve dendrit filizlerinin birçoğunda başlangıçta fonksiyonel sinaptik bağlantı yetersizliği görülmüştür. Devreler zamanla gelişmesine rağmen *in vivo* görüntülemeler, filizlerin devamlılığının yetişkinlerde azaldığı ve bunun sürgün sayısında kademeli bir azalmaya neden olduğunu ortaya koymuştur. NRN'nin eksikliği aynı zamanda öğrenme yetersizliğine de neden olmaktadır. NRN nakavt farelerde öğrenmek için daha çok deneme yapılması gerekirken hafıza takip eden öğrenmelerde kalıcı olmaktadır (Fujino ve ark. 2011). Bu veriler ışığında, NRN'nin dendrit filizlerinde aktif sinapsları sağlamlaştırdığı, sonuç olarak selektif olarak filiz ve/ya da ağ sağlamlığı ve sinaptik olgunlaşması ve bu sağlamlığa bağlı verimli öğrenmeye NRN tarafından aracılık edildiği anlaşılmaktadır.

#### **2.7.5.9. Sinaptik Maturasyonunun Gelişmesi**

Dallanmadaki azalma oranında gerileme sonucu retinal aksonların presinaptik detaylandırılması esnasında tektal hücrelerin NRN ekspresyonu artar. NRN ekspresyonu, sinapslara fonksiyonel AMPA reseptörlerinin toplanmasını artırarak retinotektal sinaps olgunlaşmasını güçlendirir. GPI bağ yetersizliği olan trunkat NRN ekspresyonu, akson ağının gelişmesini uyarmaz ve sinaptik olgunlaşmayı bloke eder (Cantalops ve ark. 2000). Bu bulgular, presinaptik ve postsinaptik yapıların gelişmesinin ve sinaptik bağlantıların sayı ve bağlantı gücünün NRNle koordine olarak arttığını göstermektedir.

#### **2.7.5.10. Nöron Göçünün Artması**

İmmortalize fare hücreleri (GN11) kullanılarak oluşturulan bir nöron göçü modelinde fazla miktarda NRN salgılanmıştır fakat göçün olmadığı bir fare nöron modelinde (GT1-7) bu salgılanma gerçekleşmemiştir. GN-11 hücre göçü NRN aşırı ekspresyonu ile artarken susturulmuş NRN tarafından azalmıştır. Nöron göçü üzerine NRN'nin etkileri, rat kortikal internöronları ve akut embriyonik beyin kesitlerinde *ex vivo* olarak doğrulanmıştır. NRN seviyelerindeki değişimden etkilenen GN11 hücre morfolojisi ve NRN tarafından uyarılan  $\alpha$ -tubulin translasyonu sonrası aynı doğrultuda morfolik değişimlerin varlığı, mikrotubul stabilitesinin iyi bir

tanımlayıcıdır (Zito ve ark. 2011). Bu veriler nöron hücre göçünün NRN'nin tarafından artırıldığını ve NRN seviyesinin mikrotubul stabilitesini etkilediğini kanıtlamaktadır.

#### **2.7.5.11. Proliferatif Nöron Apoptozunun Düzenlenmesi**

Farklılaşmamış kortikal progenitörlerin hayatiyeti için endojen NRN in vivo ve in vitro olarak gereklidir. İn vivo NRN aşırı ekspresyonu, apoptozu önleyerek progenitör havuzunu genişlemesine, bu da genişlemiş, girintili kortikal plakaya ve ventriküler bölge içinde hücrel heterotopilere yol açmaktadır. Benzeri bir durum çok yüksek oranda ön beyin progenitörlerine sahip olan mutant farelerin fenotiplerine de yansır (Putz ve ark. 2005). Memeli ön beyin gelişim sürecinde NRN ekspresyonu, spesifik nöroblast alt populasyonlarındaki apoptozu önleyerek nöron sayısında denge oluşmasına yardımcı olabilir. Böylece beynin son büyüklüğüne ve şekline etki eder.

#### **2.7.5.12. Periferik Sinir Rejenerasyonunun Uyarılması**

Diyabetik nöropatide akson rejenerasyonu yetersizdir. Bu yetersizlik ekstremitelerde akson kaybına ve nöronal disfonksiyona neden olur. Dorsal kök gangliyonlarındaki küçük çaplı nöronlar tarafından salgılanan NRN, in vivo olarak siyatik sinir boyunca taşınır. Duyusal nöronlarda MAPK ya da fosfatidil inozitol 3 kinaz (PI3K) aracılı aktivasyon sonucu meydana gelen NRN ekspresyonu, in vitro olarak NGF'yi upregüle eder. NRN'nin baskılanması NGF aracılı neurit büyümesini engeller. NRN seviyeleri, diyabetik ratların dorsal kök gangliyonlarında ve siyatik sinirlerinde azalır ve bu azalma NGF tedavisiyle düzeltilir (Karamoysoylu ve ark. 2008). Sıçan fasiyal sinir ezilme aksotomi modelinin fasiyal motor çekirdeğinde, proksimal sinir kökünün elektriksel stimülasyonu ve testosteron propiyonat uygulamasının, BDNF ve NRN dahil olmak üzere aday genlerin ekspresyonu üzerinde farklı etkileri tespit edilmiştir (Sharma ve ark. 2010).

İmmortalize motor nöronlarda bazal şartlarda NRN mRNA eksprese edilir ve NSC34/ fare androjen reseptör hücreler tarafından selektif olarak upregüle edilir. NRN'nin baskılanması, neurit büyümesindeki androjenik etkiyi bloke eder. Suriye hamsterlerindeki yüz siniri ezilmesine bağlı hasar sonrası yapılan androjen tedavisi, aksonal yenilenme oranını yükseltmekte ve hasar sonrası ikinci günde NRN mRNA seviyesini üç kat artırmaktadır. Hasarın önlenmesi için bir androjen reseptör blokörü

olan flutamid eş zamanlı kullanılarak sağaltım gerçekleştirilir. Bir androjen olan dihidrotestosteron, androjen reseptörleriyle transfekte edilmiş motonöron/nöroblastoma hücrelerinde yaklaşık bir kat artırarak NRN mRNA ekspresyonunu upregüle ederken, androjen reseptörü eksik olan hücrelerde bu etkisi gözlemlenmemiştir (Fargo ve ark. 2008). Mevcut bulgular NRN'nin androjenlerin kontrolü altında olduğunu ve perifer nöron rejenerasyonunun hasar sonrası gelişiminde önemli bir androjen efektörü olarak NRN'nin görev yaptığını ortaya koymuştur.

#### **2.7.5.13. Spinal Kord Hasarı Sonrası Aksonal Rejenerasyonun Güçlendirilmesi**

Spinal kort hasarı sonrası fonksiyonel iyileşme, kısmen akson uzaması ve moleküler seviyede eş zamanlı değişiklikler ile akson uzamasıyla ilişkili plastisiteyle sonuçlanır. Tanımlanan diziler içerisinde NRN, atraktin, mikrotübül aracılı protein 1a (MAP1A) ve miyelin oligodendrosit protein (MOG) geni mevcuttur. Spinal kort hasarı sonrası 24'üncü saat içinde hem ventral hem de dorsal boynuz sinirlerinde mRNA dizileri deprese olur. 24 saatten sonraki 2 haftalık süreçte fonksiyonel iyileşmeye bağlı güçlü bir şekilde uyarılır. Spinal kort dokusunda ve tekil nöronlardaki gen dizisinin mRNA ve protein ekspresyonunun, aksonal plastisitede bir rol oynadığı gösterilmiştir. Gen dizisi üyeleri, primer dorsal kök gangliyon hücrelerinde nörit büyümesini güçlendirmek için sinerjik olarak çalışırlar (Di Giovanni ve ark. 2005).

Basso, Beattie ve Bresnahan lokomotor skalasına göre operasyon sonrası süreçte ratların NRN ve His protein skorlarında artış gözlenmiştir (3, 7, 14 ve 28. gün). NRN artış skoru, 14. günde His proteinine göre belirgin şekilde artar fakat her ikisi de sham grubu ratların operasyon sonrası farklı zaman noktalarından daha düşük skor göstermiştir. Operasyon sonrası 7. günde NRN tedavisi alan ratlarda, His protein tedavisi alan ratlara kıyasla Nissl cisimciklerinde yoğun boyanma, fizaliferöz hücrelerde azalma ve daha fazla sinir sinapsı oluşumu gözlemlendi. Spinal kortta NRN ve His proteinleri operasyon sonrası 7. günde artmaya başlar. Nörofilament 200 ve 43KD büyüme aracılı protein ekspresyonu, sham opere ratların aynı zaman dilimlerine göre daha fazla eksprese edilir ve NRN etkileri His proteinine göre daha belirgindir (Xi ve ark. 2009). Söz konusu bulgular, ratların spinal kord akut hasarından sonra yapılan eksojen NRN'nin lokal uygulamasının aksonal yenilenmeyi

ve arka ekstremite lokomotor fonksiyonlarının geri kazanımını güçlendirdiğini ortaya koymaktadır.

#### **2.7.5.14. Travmatik Beyin Hasarı Sonrası Nöron Rejenerasyonunun Artması**

Travmatik beyin hasarlı olan ratlardaki NRN pozitif nöronlar, frontal lob koronal kesitlerinde 1. gün mevcutken, 14. günde en yüksek seviyelerine ulaşır ve bu seviyeyi 21. güne kadar sürdürür. NRN protein ve mRNA seviyeleri temporal örneklerde de benzeri şekildedir. Bununla birlikte sham grubu ratlarda NRN seviyeleri tespit edilemeyecek kadar düşük seviyede kalmıştır (He ve ark. 2013). Frontal korteksteki NRN ekspresyon artışı, travmatik beyin hasarını müteakip rejeneratif ve reperatif süreçlerde NRN'nin rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır.

#### **2.7.5.15. Serebral İskeminin İyileşmesi**

Hızlı erken genler, iskemi ve iskemik beynin serebral korteks ve hipokampusünde etkilenen alanlarda gen ekspresyonunun ilk dalgasını oluştururlar. Bu genlerin bir alt grubu olan BDNF ve NRN, sinaptik plastisitede efektör olarak bilinen genlerdir. Orta serebral arterin 2 saatlik oklüzyonunu sonrasındaki 24 saatlik reperfüzyon sürecinde NRN, frontal singulat kortekste sürekli artış göstermiştir. Dentat girusta reperfüzyonunun 0-6. saatinde NRN, 0-9. saatinde BDNF aktive olur (Rickhag ve ark. 2007). Bu veriler sıçanlarda iskemik hasarı müteakip belirli beyin alanlarında bu genlerin çabuk ve uzun süreli bir dengeleme etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. Efektör gen aktivasyonu, iskemik beyin dokusunun uzun dönem sinaptik cevabının bir parçası olabilir.

Sonuç olarak NRN, nörotrofik faktör ailesinin yeni bir üyesi olup ağırlıklı olarak beyinde eksprese edilir. NRN ekspresyonu nörotrofik faktörler ve sinaptik aktivite gibi bazı uyaranlar tarafından düzenlenir. NRN, görme korteksi nöronlarında nöyrit büyümesi, dendritik büyüme, nöron göçü ve sinaptik maturasyonu güçlendirir. Ayrıca periferik sinirlerde ve spinal aksonal rejenerasyonda sinaptik plastisite ve proliferatif nöron apoptozunu düzenler. Buna ilaveten serebral iskemiye takiben iyileşmeyi güçlendirir. Şizofreni ve depresyonda kognitif fonksiyonlarda etkilidir. NRN spesifik reseptörü tespit edilemediği için moleküler ve hücrel dinamiklerin ve fizyolojik etkilerinin anlaşılmasına çalışılması daha çok çalışma yapılmasına bağlıdır. MSS'deki bazal aktivite ilişkili değişiklikler, özellikle hipokampus ve neokortekste sinaptik geçişin NRN aracılı modifikasyonuna bağlı olduğunu düşündürmektedir.

NRN ilişkili aşırı sinaptik plastisite, serebral iskemi ve depresyon oluşumunu olumsuz yönde etkileyebilir. Halbuki NRN'nin trofik özelliklerinin uygulaması, nörodejeneratif hastalıklarda ve muhtemelen nöropsikiyatrik rahatsızlıklarda bile yeni terapötik seçenekler bulunmasına öncülük edebilir.

## **2.8. 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 etiyolojisi 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 amiloit peptit patolojik yollarını yeniden taklit etme girişimine dayanmaktadır. Kliniklerde belgelenen bir veya birkaç patolojik özelliği geliştirmesi için sıçan beynine bir tür amiloit peptidi enjekte etmek şeklinde yapılırken başka şekilde AH tetikleme

yapılabileceği keşfedilmiştir. A $\beta$ 1-40 (Stephan ve ark. 2001) ve A $\beta$ 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 amiloit 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 2006). Daha sonra pankreatik  $\beta$  hücreleri için toksik olan bir glukozamin nitrozoüre olan STZ'nin sıçan beynine enjekte edilmesinin de aynı modelle sonuçlanacağı varsayıldı. STZ uygulaması, tau proteininin fosforilasyonunu, amiloit birikimlerini, kognitif bozukluğu, insülin duyarsızlaşmasını ve nöron ölümünü indüklemiştir (Grunblatt ve ark. 2004).

## **2.9. Deneysel AH'de Kullanılan Öğrenme ve Bellek Testleri**

### **2.9.1. Konumsal Öğrenme ve Hafıza**

Neredeyse tüm türler 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 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.

### **2.9.2. Kemirgenlerde Konumsal Hafızayı Değerlendirme**

Allosentrik navigasyonu değerlendirmek için birçok test düzeneği geliştirilmiştir. Richard Morris (Morris 1981) tarafından geliştirilen Morris'in Su Labirenti Testi (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 De Deyn 2001).

MST, bilinen anlamda bir labirent olmayıp daha ziyade, yaklaşık yarısı su ile doldurulmuş, açık dairesel bir havuzdur. 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 kadrandan bağımsız olarak genellikle merkez ve duvar arasında ortada bir yerde konumlandırılır (Maurer ve Derivaz 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 aralık 10-15 saniye ile 5-15 dakika arasında değişebilir. Araştırmacının tercihinine 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 ayırım 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 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 Derivaz 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

#### 3.1. Deneysel Hayvanları ve Bakım Şartları

Tez projemiz Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Yerel Etik Kurulu'nun 27.05.2016 tarih ve 2016-034 numaralı kararı ile onaylanmış, Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü tarafından 161418007 proje numarası ile desteklenmiştir.

Deneyde kullanılan deney hayvanları KONÜDAM'dan temin edilmiş ve deneysel aşamaların tamamı yine aynı merkezin laboratuvarlarında deney hayvanlarına ilişkin ulusal ve uluslararası yasa ve politikalara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Deneylerde toplam 40 adet 2-5 aylık 300-350 gram ağırlığında wistar albino ırkı erkek sıçan kullanılmıştır. Deney süresince hayvanlar  $22\pm 1$  °C oda sıcaklığında ve 12 saat aydınlık karanlık döngüde barındırılmıştır. Ayrıca temiz musluk suyu ve standart pelet fare yemi ad libitum olarak verilmiştir. Günaşırı altlık değiştirilerek temizliği yapılan kafeslerde aynı gruba ait hayvanlar birlikte barındırılmıştır.

Sıçanlar rastgele olarak aşağıdaki şekilde çalışma gruplarına ayrılmıştır.

**Kontrol** (n=10): Bu gruptaki sıçanlara 1 hafta boyunca İSV olarak yapay BOS (12 µl/gün) ozmotik mini pompalar yoluyla infüze edilerek sonrasında davranış testleri yapılmıştır.

**Demans** (n=10): Bu gruptaki sıçanlara İSV olarak 3 mg/kg dozunda STZ uygulanarak, 1 hafta süreyle BOS (12 µl/gün) ozmotik mini pompalar yoluyla infüze edilerek sonrasında davranış testleri yapılmıştır.

**NRN** (n=10): Bu gruptaki sıçanlara İSV olarak yapay BOS içerisinde 7 gün boyunca 90 ng/gün dozda NRN (8), ozmotik mini pompalar yoluyla verilerek sonrasında davranış testleri yapılmıştır.

**Demans + NRN** (n=10): Bu gruptaki sıçanlara ilk olarak 3 mg/kg dozunda İSV STZ uygulanarak, ardından 7 gün boyunca 90 ng/gün dozda NRN, ozmotik mini pompalar yoluyla verildi ve sonrasında davranış testleri yapılmıştır.

### **3.2. Ozmotik Pompalar**

Deneyde Alzet 1007D model, 100 µl rezervuar hacmine sahip saatte 0,5 µl hızda 7 gün boyunca salınım yapabilen mikro ozmotik pompalar Alzet Tip – 2 beyin infüzyon kitleriyle birlikte kullanıldı. Mikro ozmotik pompalar dış kısımda yarı geçirgen bir membran, orta kısımda ozmotik bir katman ve iç kısımda ise infüze edilmek istenen solüsyonun içine konulduğu geçirgen olmayan bir hazneden oluşur.

Pompa, vücut içine yerleştirildiği zaman ortamdan konsantrasyon farkına bağlı sıvı çekerek genişleyen ozmotik katmanın, infüze edilmek istenen test solüsyonuyla dolu olan iç katmanı sıkıştırarak akış moderatörü yoluyla infüzyonu gerçekleştirmesi prensibine dayalı olarak çalışır. Solüsyon, akış moderatörüne bağlı olan katater vasıtasıyla daha önce kafatasına sabitlenmiş olan beyin infüzyon kitine ulaştırılır. Neticede pompa interselüler sıvıyı difüzyon yoluyla aldıkça lümeninde bulunan sıvının yavaş bir şekilde kontrollü olarak İSV infüzyonunu sağlar.

### **3.3. Beyin İnfüzyon Kitlerinin ve Ozmotik Pompaların Yerleştirilmesi**

Ketamin / ksilazin kombinasyonu (20 / 80 mg / kg) anestezi altına alınan her bir sıçanın, cerrahi prosedürler gerçekleştirilirken kornealarının kuruyarak zarar görmemesi için gözlerine antibiyotikli pomad (Thiocilline, Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş.) sürüldü. Ayak sıkıştırma refleksi kontrol edilerek derin anesteziye girdiği teyit edilen sıçanlar stereotaksik cihaz (RWD Life Science, USA) üzerine yerleştirildi.

Anesteziadaki hayvanın baş-vücut düzlemini stabilize etmek ve termal konforunu sağlamak için karın altı bölgesine 2 santimetre kalınlığında polietilen köpük yerleştirildi. Ayrıca postoperatif hipotermiyi önlemek için medikal amaçlı ısıtmalı battaniyeler kullanıldı. Hayvanların kafa derisi tıraşlanarak antiseptisi sağlandıktan sonra bregma bölgesine ulaşmak için kafatası derisi orta hattına bir ensizyon 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.

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. Dura matere zarar verilmeden diŝi turu yardımı ile belirtilen noktada delik açıldı.

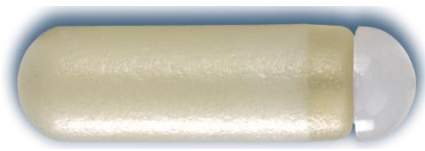
Demans oluşturulmak istenen gruplarda, kafatasına açılan bu delikten sağ lateral ventriküle stereotaksik cihazın manuel mikroenjeksiyon holderine (RWD-68606) yerleştirilen mikroenjektör (Hamilton Company-Cat. No: 701) yardımıyla girilerek yapay BOS'ta çözdürülen STZ (3 mg/kg) enjeksiyonu, ventriküllerin adaptasyonu göz önüne alınarak yavaşça ve uzun süre zarfında yapıldı.

Ozmotik pompalar (ALZET 1007D 100 µl Osmotic Pumps, DURECT Corporation, California) ve beyin infüzyon kitlerinin (ALZET Tıp – 2) pompa ile kataterleri, sham grubu için geçit maddesi olarak kullanılan yapay BOS ile, tedavi grupları için NRN çözeltisiyle hava kabarcığı kalmayacak şekilde tamamen doldurularak pompa ile bağlantısı yapılan kataterlerin açık uçları kapatıldı. Bu işlemden sonra kanül holderine (RWD, Cat. No: 68217) yerleştirilen beyin infüzyon kitleri belirlenen koordinatlara göre dikkatlice sağ ventriküle yerleştirildi ve dental tutkal yardımıyla parietal kemiğe sabitlendi.

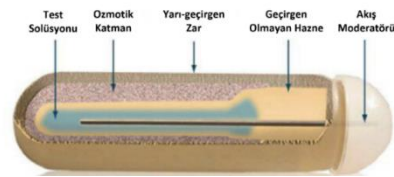
Beyin infüzyon kitinin yapışma sağamlığı kontrol edildikten sonra bir ucu pompaya bağlı olan kataterlerin kapalı olan diğer uçları kesilerek hava kabarcığı bırakılmadan beyin infüzyon kitiyle ilişkilendirildi.

Ozmotik mini pompaların interscapular bölgeye subcutan yerleŝtirilmesinin ardından ensizyon hattı kapatılarak (3/0 18 mm keskin ipek sütur) yara antisepsisi iyotlu çözeltilerle sağlandı ve böylece infüzyon süreci baŝlatıldı.

a. Mini ozmotik pompa



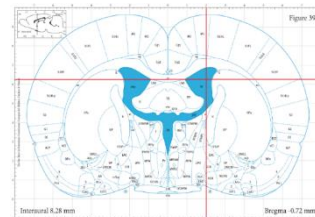
b. Mini ozmotik pompanın iç yapısı.



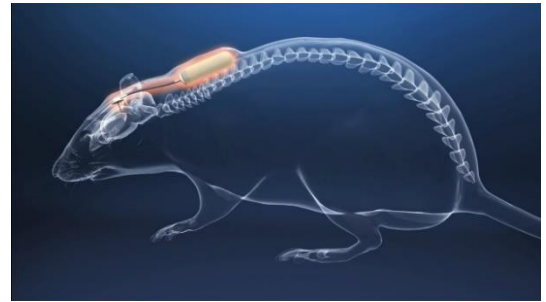
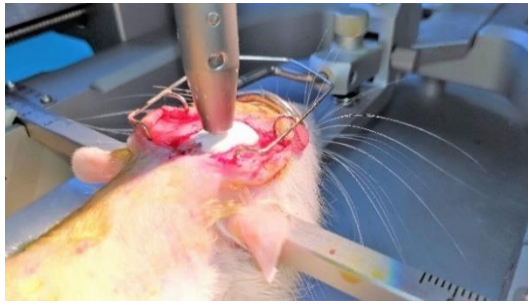
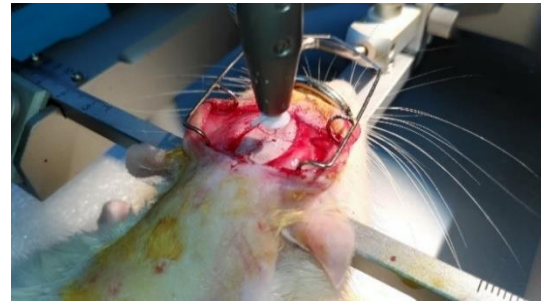
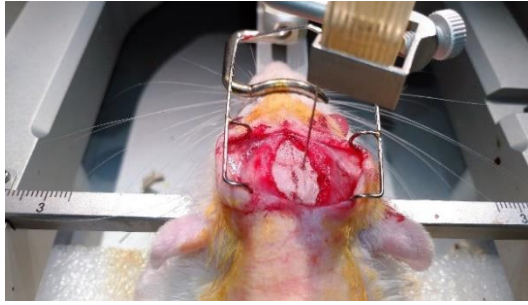
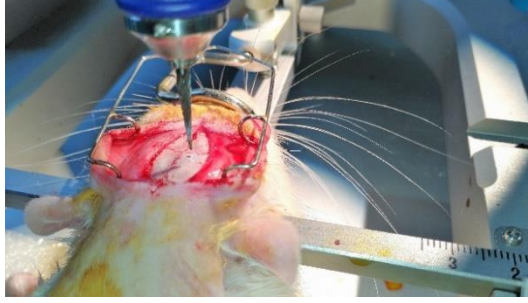
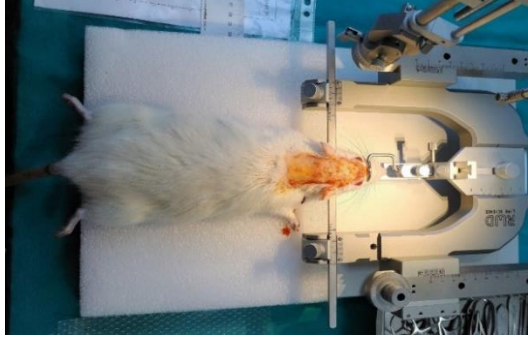
c. Mini ozmotik pompa ve infüzyon kiti



d. İSV enjeksiyon koordinatları



Resim 3.1. Ozmotik pompanın yapısı ve yerleştirilme koordinatları.



Resim 3.2. Ozmotik pompaların yerleştirilmesi ve İSV enjeksiyon aşamaları.

### 3.4. Davranış Testleri

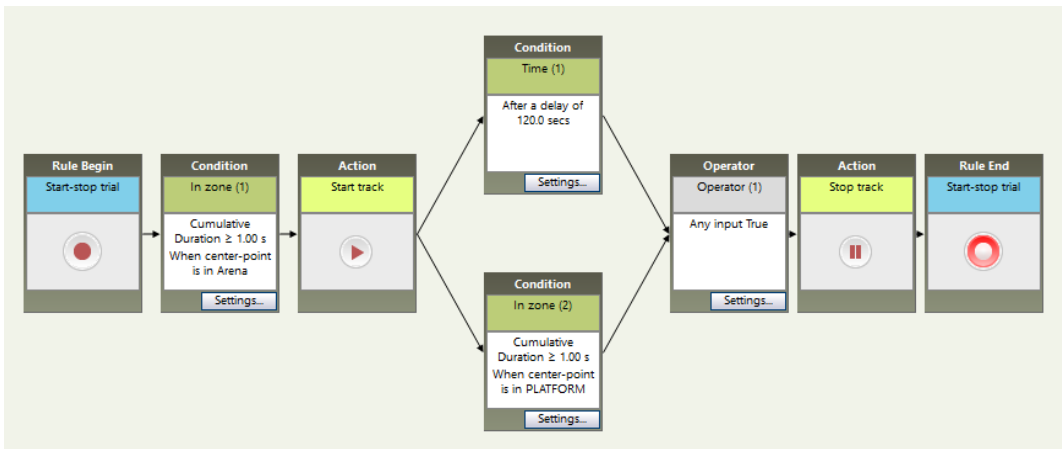
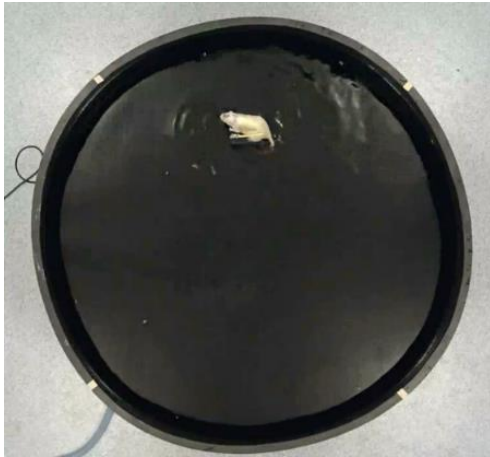
Hayvanların AH tipi demans davranışları ve konumsal öğrenmenin değerlendirilmesi amacıyla Morris Su Labirenti (MST) testi kullanıldı. Tüm davranış testleri ozmotik pompaların infüzyona başlamasından 7 gün sonra ve ardışık günlerde sabah saatlerinde ve aynı saatte gerçekleştirildi (Resim 3.3.).

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  $23\pm 1$  derece 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 alıştırmaya 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 ileştirilmiş 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.



Resim 3.3. MST ve davranış test yazılımı ara yüzü.

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

Biyokimyasal analizlerin gerçekleştirileceği gün derin dondurucudan çıkarılan beyin parçaları homojenatlar haline getirilerek asetil kolin esteraz (Rat Acetylcholinesterase cat.no: MBS725468, Sens.: 1 pg/mL, % CV: <10, MyBioSource, San Diego, CA, USA) ve kolin asetil transferaz (Rat Choline Acetyltransferase catalog no: MBS161266, Sens.: 0,01 ng/mL, % CV: <10, MyBioSource, San Diego, CA, USA) seviyeleri üretici talimatlarına uygun olarak çift antikor sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Bütün değerler; ortalama ve standart hata ( $AO \pm SH$ ) olarak ifade edildi. İstatistiksel analizler ve grafikler sırasıyla; SPSS 22.0 ve Origin 8.0 programları kullanılarak yapıldı. Verilerin değerlendirilmesi ve gruplar arası farklılıklar için one-way ANOVA ve post-hoc Tukey testi kullanılmıştır. Tüm analizlerde  $p < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

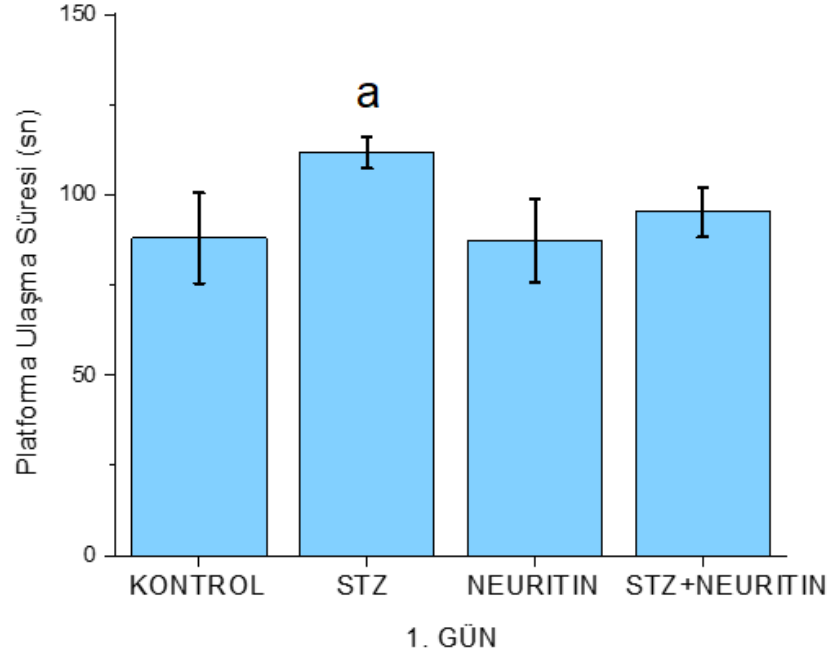
#### 4. BULGULAR

Hayvanların 1. gün platforma ulaşma süreleri Tablo 4.1. ve Grafik 4.1.'de sunulmuştur. Kontrol grubuna göre STZ grubunun platforma ulaşma süresinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha uzun olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ). NRN grubunda 1. gün platforma ulaşma süresi değerinin kontrol grubuyla aynı seviyede olduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da STZ+NRN grubu platforma ulaşma süresinin kontrol grubu değerine göre daha uzun olduğu tespit edildi (Tablo 4.1., Grafik 4.1).

Tablo 4.1. Gruplara göre 1. gün platforma ulaşma süreleri

GRUPLAR	1. gün platforma ulaşma süresi (sn)
KONTROL	87,99±12,54
STZ	111,66±4,35a
NRN	87,18±11,59
STZ+NRN	95,22±6,99

a:  $p<0.05$ , kontrol grubuna kıyasla



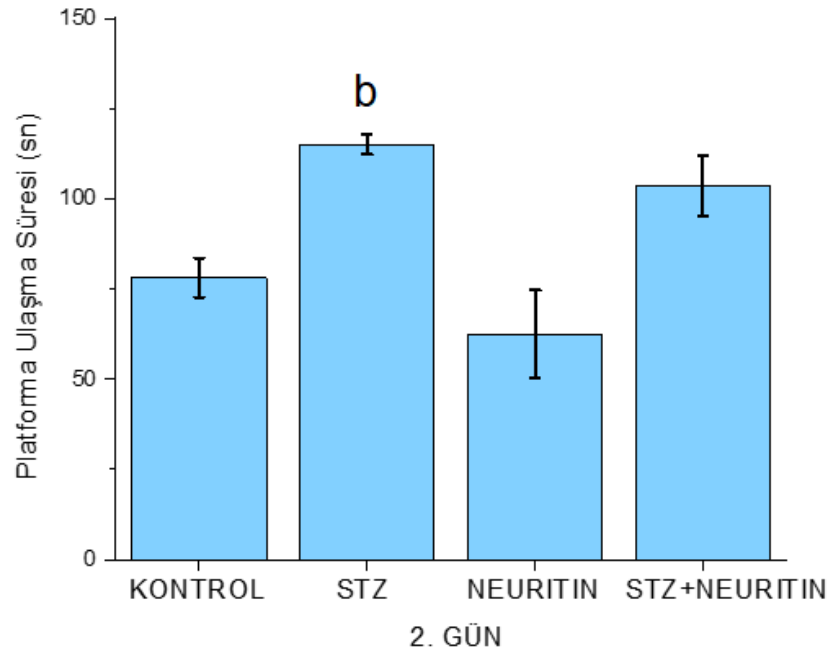
Grafik 4.1. Gruplara göre 1. gün platforma ulaşma süreleri

Hayvanların 2. gün platforma ulaşma süreleri Tablo 4.2. ve Grafik 4.2.'de sunulmuştur. Kontrol grubuna göre STZ grubunun platforma ulaşma süresinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha uzun olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ). İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da NRN grubunda 2. gün platforma ulaşma süresinin kontrol değerinden daha kısa, STZ+NRN grubunun ise daha uzun olduğu görüldü (Tablo 4.2., Grafik 4.2).

Tablo 4.2. Gruplara göre 2. gün platforma ulaşma süreleri

GRUPLAR	2. gün platforma ulaşma süresi (sn)
KONTROL	78,19±5,43
STZ	115,06±2,82b
NRN	62,55±12,07
STZ+NRN	103,63±8,36

b:  $p<0.01$ , kontrol grubuna kıyasla



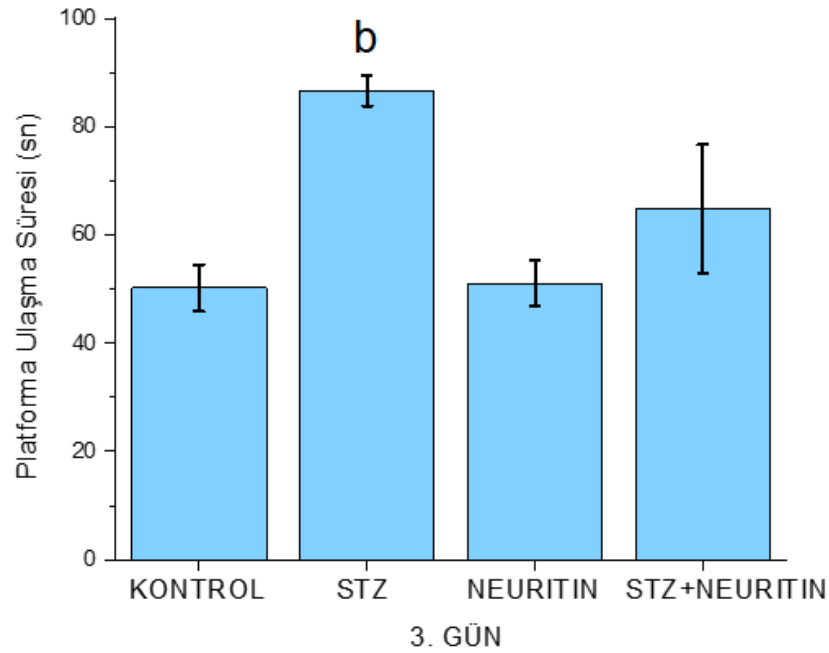
Grafik 4.2. Gruplara göre 2. gün platforma ulaşma süreleri

Hayvanların 3. gün platforma ulaşma süreleri Tablo 4.3. ve Grafik 4.3.'de sunulmuştur. Kontrol grubuna göre STZ grubunun platforma ulaşma süresinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha uzun olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ). NRN grubunda 3. gün platforma ulaşma süresi değerinin kontrol grubuyla aynı seviyede olduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da STZ+NRN grubu platforma ulaşma süresinin kontrol grubu değerine göre daha uzun olduğu tespit edildi (Tablo 4.3., Grafik 4.3).

Tablo 4.3. Gruplara göre 3. gün platforma ulaşma süreleri

GRUPLAR	3. gün platforma ulaşma süresi (sn)
<b>KONTROL</b>	50,19±4,26
<b>STZ</b>	86,66±5,62b
<b>NRN</b>	51,06±4,21
<b>STZ+NRN</b>	64,81±11,79

b:  $p<0.01$ , kontrol grubuna kıyasla



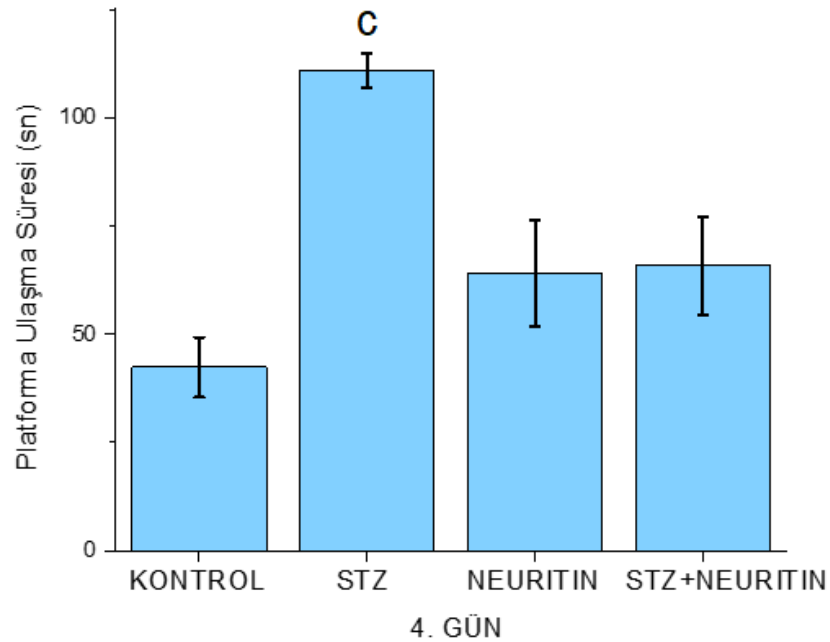
Grafik 4.3. Gruplara göre 3. gün platforma ulaşma süreleri

Hayvanların 4. gün platforma ulaşma süreleri Tablo 4.4. ve Grafik 4.4.'de sunulmuştur. Kontrol grubuna göre STZ grubunun platforma ulaşma süresinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha uzun olduğu belirlendi ( $p<0.001$ ). NRN grubunda ve STZ+NRN grubunda 4. gün platforma ulaşma süresi değerlerinde anlamlı bir değişiklik tespit edilmedi (Tablo 4.4., Grafik 4.4.).

Tablo 4.4. Gruplara göre 4. gün platforma ulaşma süreleri

GRUPLAR	4. gün platforma ulaşma süresi (sn)
KONTROL	42,34±6,94
STZ	110,88±4,02c
NRN	64,03±12,15
STZ+NRN	65,80±11,34

c:  $p<0.001$ , kontrol grubuna kıyasla



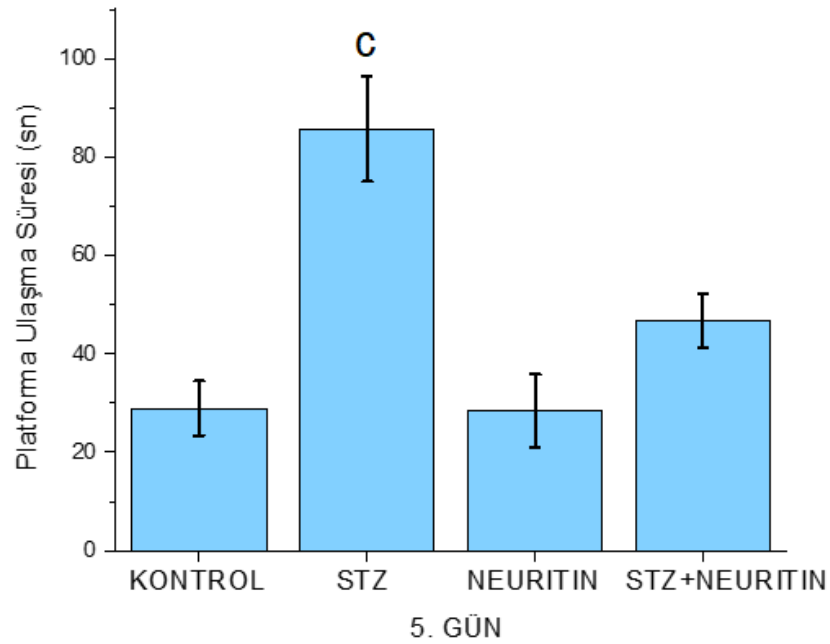
Grafik 4.4. Gruplara göre 4. gün platforma ulaşma süreleri

Hayvanların 5. gün platforma ulaşma süreleri Tablo 4.5. ve Grafik 4.5.'de sunulmuştur. Kontrol grubuna göre STZ grubunun platforma ulaşma süresinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha uzun olduğu belirlendi ( $p<0.001$ ). NRN grubunda 5. gün platforma ulaşma süresi değerinin kontrol grubuyla aynı seviyede olduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da STZ+NRN grubu platforma ulaşma süresinin kontrol grubu değerine göre daha uzun olduğu tespit edildi (Tablo 4.5., Grafik 4.5).

Tablo 4.5. Gruplara göre 5. gün platforma ulaşma süreleri

GRUPLAR	5. gün platforma ulaşma süresi (sn)
<b>KONTROL</b>	28,90±5,58
<b>STZ</b>	85,67±10,67c
<b>NRN</b>	28,34±7,43
<b>STZ+NRN</b>	46,72±5,48

c:  $p<0.001$ , kontrol grubuna kıyasla



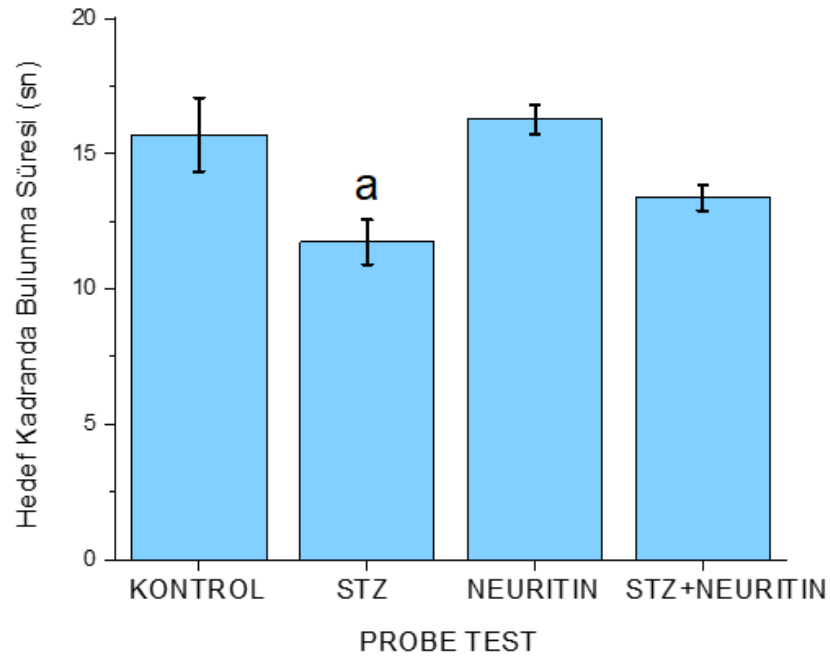
Grafik 4.5. Gruplara göre 5. gün platforma ulaşma süreleri

Hayvanların prob test süreleri Tablo 4.6. ve Grafik 4.6.'da sunulmuştur. Kontrol grubuna göre STZ grubunun prob test skorunun istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ). NRN grubunda prob test skorunun kontrol grubuyla aynı seviyede olduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da STZ+NRN grubu prob test skorunun kontrol grubu değerine göre daha düşük olduğu tespit edildi (Tablo 4.6., Grafik 4.6).

Tablo 4.6. Gruplara göre 6. gün hedef kadranda bulunma süreleri

GRUPLAR	PROB Test: Hedef Kadranda Bulunma Süresi (sn)
KONTROL	15,7±1,37
STZ	11,73±0,82a
NRN	16,26±0,54
STZ+NRN	13,37±0,47

a:  $p<0.05$ , kontrol grubuna kıyasla



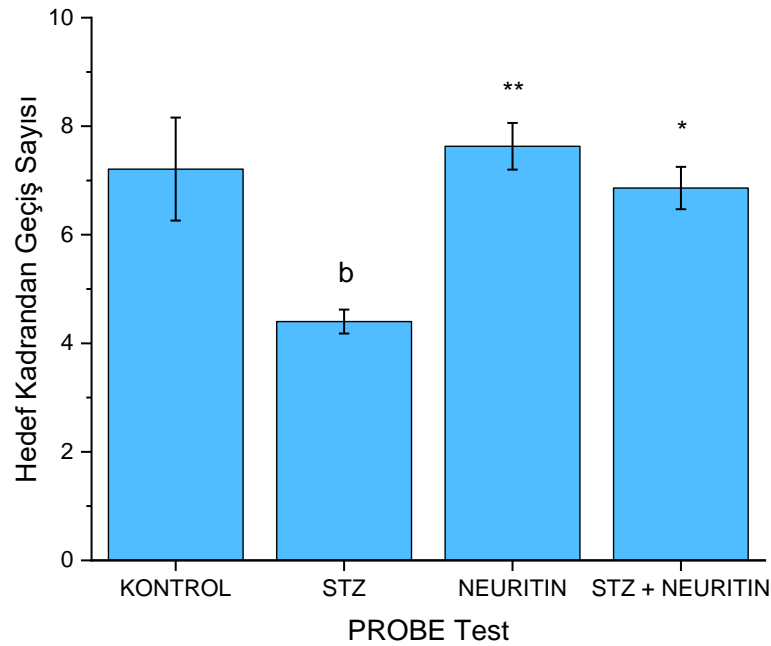
Grafik 4.6. Gruplara göre 6. gün hedef kadranda bulunma süreleri

Hayvanların prob test: hedef kadrandan geçiş sayıları Tablo 4.7. ve Grafik 4.7.'de sunulmuştur. Kontrol grubuna göre STZ grubunun hedef kadrandan geçiş süresinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ). NRN ve STZ+NRN gruplarının prob test: hedef kadrandan geçiş süresi skorlarının kontrol grubuyla aynı seviyede olduğu görüldü. STZ grubuyla kıyaslandığında ise NRN ve STZ+NRN gruplarının hedef kadrandan geçiş sürelerinin İstatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu belirlendi (sırasıyla  $p<0.01$  ve  $p<0.05$ ) (Tablo 4.7., Grafik 4.7).

Tablo 4.7. Gruplara göre 6. gün hedef kadrandan geçiş sayıları

GRUPLAR	PROB Test: Hedef Kadrandan Geçiş Sayısı
KONTROL	7,21±0,95
STZ	4,40±0,22 b
NRN	7,63±0,43 **
STZ+NRN	6,86±0,39 *

b: $p<0.01$ , kontrol grubuna kıyasla, \*: $p<0.05$ , \*\*: $p<0.01$ , STZ grubuna kıyasla



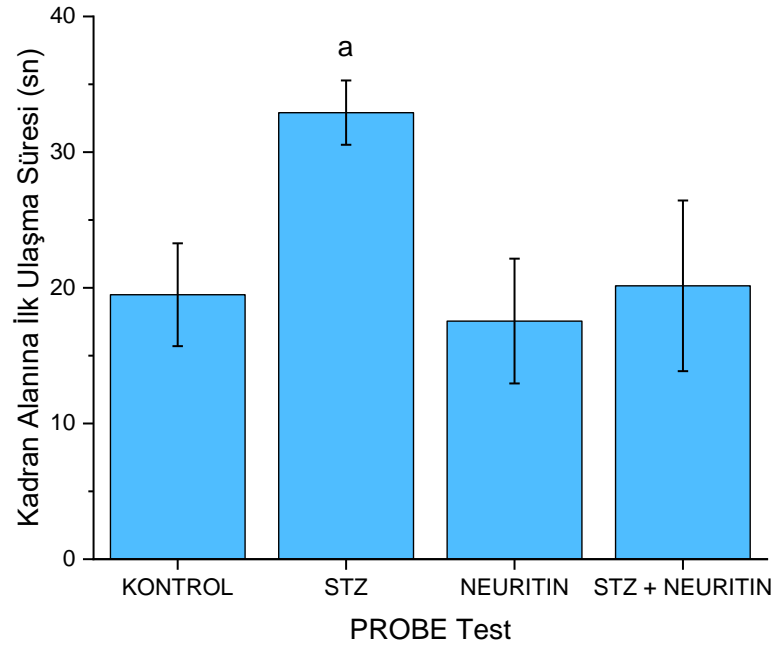
Grafik 4.7. Gruplara göre 6. gün hedef kadrandan geçiş sayısı

Hayvanların prob test: hedef çeyreğe ilk ulaşma süreleri Tablo 4.8. ve Grafik 4.8.'de sunulmuştur. Kontrol grubuna göre STZ grubunun hedef kadrana ilk ulaşma süresinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ). STZ grubunda hedef kadrana ilk ulaşma süresinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha uzun olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). NRN ve STZ+NRN gruplarının prob test: hedef kadrana ilk ulaşma süre skorlarının kontrol grubuyla aynı seviyede olduğu görüldü (Tablo 4.8., Grafik 4.8).

Tablo 4.8. Gruplara göre 6. gün hedef çeyreğe ilk ulaşma süreleri

GRUPLAR	PROB Test: Hedef Çeyreğe İlk Ulaşma Süresi (sn)
<b>KONTROL</b>	19,49±3,79
<b>STZ</b>	32,91±2,37 a
<b>NRN</b>	17,55±4,60
<b>STZ+NRN</b>	20,15±6,29

a:  $p<0.05$ , kontrol grubuna kıyasla



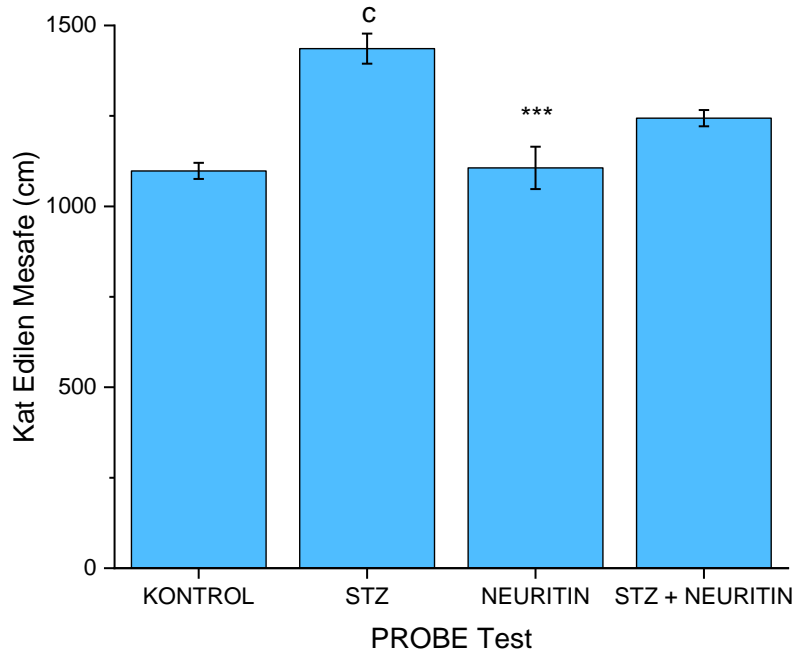
Grafik 4.8. Gruplara göre 6. gün hedef çeyreğe ilk ulaşma süreleri

Hayvanların prob test: kat edilen mesafe (cm) skorları Tablo 4.9. ve Grafik 4.9.'da sunulmuştur. Kontrol grubuna göre, STZ grubunda kat edilen mesafe skorunun istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha uzun olduğu görüldü ( $p<0.001$ ). NRN grubunda kat edilen mesafe skorunun kontrol grubuyla aynı seviyede olduğu belirlendi. STZ grubuna kıyasla, STZ+ NRN grubunda kat edilen mesafe skorunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu belirlendi ( $p<0.001$ ) (Tablo 4.9., Grafik 4.9).

Tablo 4.9. Gruplara göre 6. gün platforma ulaşmak için kat edilen mesafeler

GRUPLAR	PROB Test: Kat Edilen Mesafe (cm)
<b>KONTROL</b>	1098,05±22,14
<b>STZ</b>	1436,03±41,52 c
<b>NRN</b>	1106,50±58,56 ***
<b>STZ+NRN</b>	1243,83±22,36

c: $p<0.001$ , kontrol grubuna kıyasla, \*\*\*: $p<0.001$ , STZ grubuna kıyasla



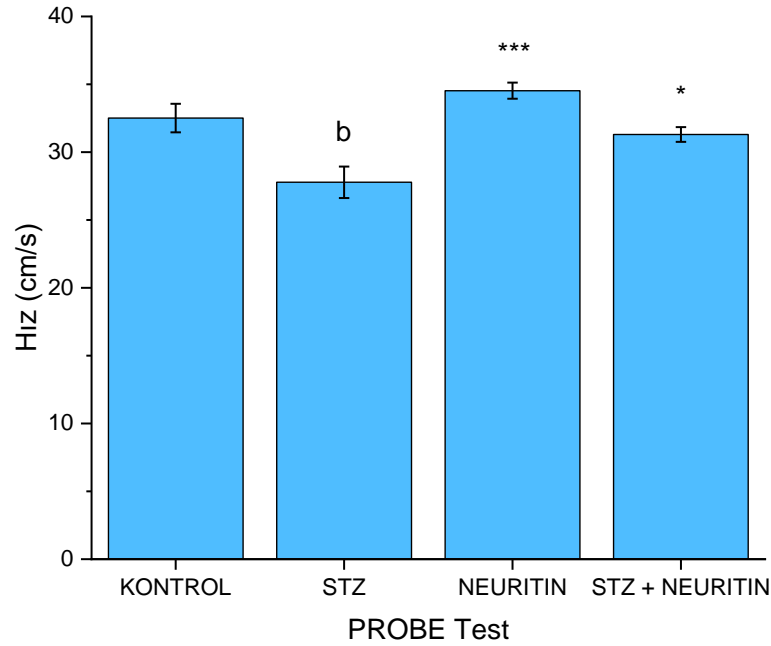
Grafik 4.9. Gruplara göre 6. gün platforma ulaşmak için kat edilen mesafeler

Hayvanların prob testte ortalama hız (cm/s) skorları Tablo 4.10. ve Grafik 4.10.'da sunulmuştur. Kontrol grubuna göre, STZ grubunda ortalama hız skorunun istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ). NRN ve STZ+NRN gruplarının ortalama hız skorlarının kontrol grubuyla aynı seviyede olduğu görüldü. STZ grubuna kıyasla, NRN ve STZ+NRN gruplarında ortalama hız skorlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla  $p<0.001$  ve  $p<0.05$ ) (Tablo 4.10., Grafik 4.10).

Tablo 4.10. Gruplara göre 6. gün platforma ulaşmak için yüzme hızları tablosu

GRUPLAR	PROB TEST: Hız (cm/s)
<b>Kontrol</b>	32,51±1,05
<b>STZ</b>	27,78±1,16 b
<b>NRN</b>	34,53±0,59 ***
<b>STZ+NRN</b>	31,30±0,54 *

b: $p<0.01$ , kontrol grubuna kıyasla, \*:  $p<0.05$  ve \*\*\*: $p<0.001$ , STZ grubuna kıyasla



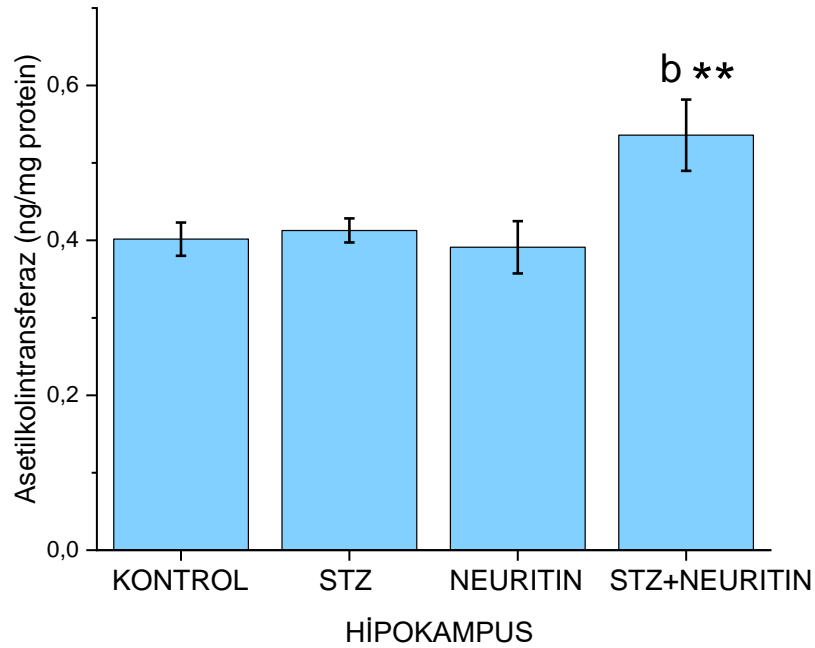
Grafik 4.10. Gruplara göre 6. gün platforma ulaşmak için yüzme hızları tablosu

Hipokampus ChAT aktivitesi Tablo 4.11. ve Grafik 4.11.'de sunulmuştur. Kontrol grubuna kıyasla STZ, NRN ve STZ+NRN gruplarının ChAT aktivite değerlerinde önemli bir farklılık söz konusu değildi. Bununla birlikte, STZ grubuna kıyasla STZ+NRN grubu ChAT aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ) (Tablo 4.11., Grafik 4.11).

Tablo 4.11. Gruplara göre hipokampal ChAT aktivitesi (ng/mg protein)

HİPOKAMPUS	ChAT Aktivitesi (ng/mg protein)
KONTROL	0,4016±0,02149
STZ	0,4128±0,01555
NRN	0,3911±0,03371
STZ+NRN	0,5358±0,04595b,**

\*\* :  $p<0.01$ , STZ grubuna kıyasla

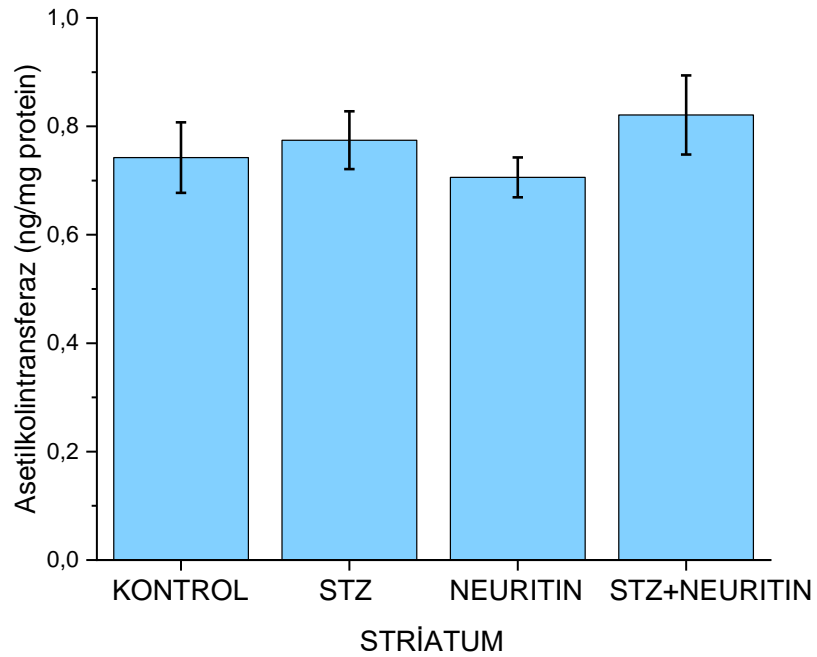


Grafik 4.11. Gruplara göre hipokampal ChAT aktivitesi (ng/mg protein)

Striatum ChAT aktivitesi Tablo 4.12. ve Grafik 4.12.'de sunulmuştur. Striatum ChAT aktivitesinde kontrol grubuna göre STZ, NRN ve STZ+NRN gruplarında önemli bir farklılık olmadığı belirlendi (Tablo 4.12., Grafik 4.12).

Tablo 4.12. Gruplara göre striatum ChAT aktivitesi (ng/mg protein)

<b>STRIATUM</b>	<b>ChAT Aktivitesi (ng/mg protein)</b>
<b>KONTROL</b>	0,7423±0,06502
<b>STZ</b>	0,7744±0,05324
<b>NRN</b>	0,7059±0,03685
<b>STZ+NRN</b>	0,8209±0,07292



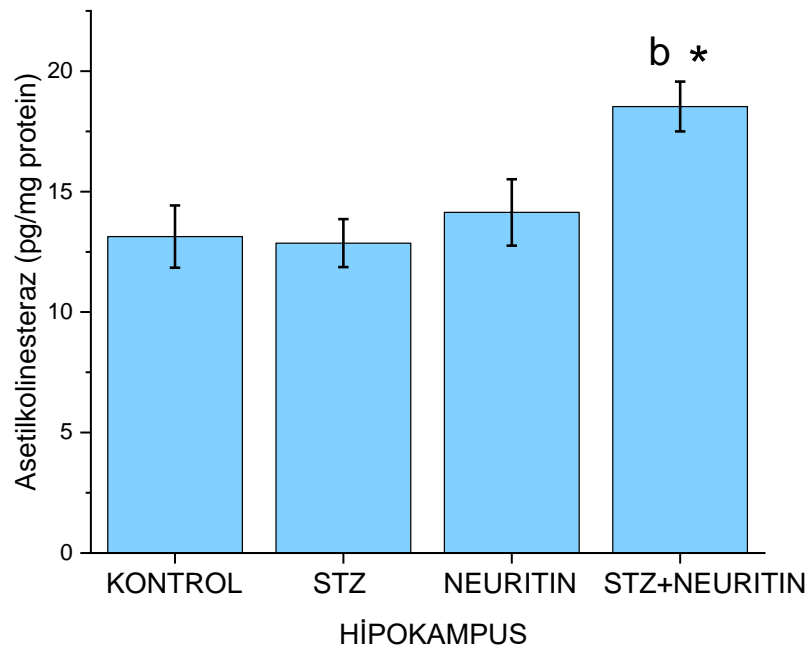
Grafik 4.12. Gruplara göre striatum ChAT aktivitesi (ng/mg protein)

Hipokampus AChE aktivitesi Tablo 4.13. ve Grafik 4.13.'de sunulmuştur. Kontrol grubuna kıyasla STZ ve NRN gruplarının AChE aktivite değerlerinde önemli bir farklılık söz konusu değildi. Bununla birlikte, STZ+NRN grubunda AChE aktivitesi anlamlı şekilde daha yüksekti ( $p<0.01$ ). Ayrıca STZ grubuna kıyasla STZ+NRN grubu AChE aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.13., Grafik 4.13).

Tablo 4.13. Gruplara göre hipokampal AChE aktivitesi (pg/mg protein)

HİPOKAMPUS	AChE Aktivitesi (pg/mg protein)
<b>KONTROL</b>	13,1316±1,29278
<b>STZ</b>	12,8622±0,99809
<b>NRN</b>	14,1382±1,37752
<b>STZ+NRN</b>	18,5322±1,03319b,*

b:  $p<0.01$ , kontrol grubuna kıyasla. \*:  $p<0.05$  STZ grubuna kıyasla



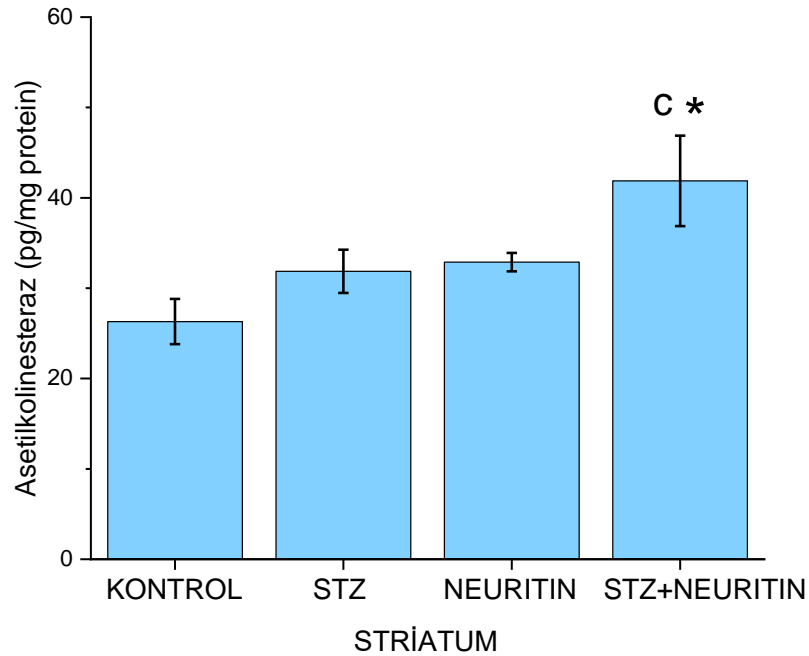
Grafik 4.13. Gruplara göre hipokampal AChE aktivitesi (pg/mg protein)

Striatum AChE aktivitesi Tablo 4.14. ve Grafik 4.14.'de sunulmuştur. Kontrol grubuna kıyasla STZ ve NRN gruplarının AChE aktivite değerlerinde önemli bir farklılık söz konusu değildi. Bununla birlikte, STZ+NRN grubunda AChE aktivitesi anlamlı şekilde daha yüksekti ( $p<0.001$ ). Ayrıca STZ grubuna kıyasla STZ+NRN grubu AChE aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.14., Grafik 4.14).

Tablo 4.14. Gruplara göre striatum AChE aktivitesi (pg/mg protein)

STRIATUM	AChE Aktivitesi (pg/mg protein)
KONTROL	26,3065±2,49776
STZ	31,8730±2,39104
NRN	32,8839±1,01220
STZ+NRN	41,8798±5,00713c,*

c:  $p<0.01$ , kontrol grubuna kıyasla. \*:  $p<0.05$  STZ grubuna kıyasla



Grafik 4.14. Gruplara göre striatum AChE Aktivitesi (pg/mg protein)

## 5. TARTIŞMA

AH, nöronal kayıp ve buna bağı kolinerjik sistem bozukluğuyla karakterize bir hastalıktır. Bu bozukluk bazal ön beyin nöronlarının önemli ölçüde azalması, ChAT aktivitesindeki bozukluklara bağı ACh sentezinde aksama, azalan kolin geri alımı, hipokampal ve kortikal bölgelere projeksiyon yapan kolinerjik nöron ölümlerine bağı meydana gelmektedir (Mesulam 2004)

NTF'ler sinir sisteminde nöronların hayatta kalmasını, farklılaşmasını ve işlevselliğini destekleyen ve düzenleyen büyüme faktörleridir. Ayrıca nöron sağ kalımının ve fonksiyonelliğın korunması için hayati öneme sahiptirler (Nasrolahi ve ark. 2021).

CPG 15 olarak da bilinen NTF ailesinin nörotrofik bir üyesi olan NRN, sinirsel gelişim ve aktiviteye bağı sinaptik plastisitedeki çok yönlü rolleriyle, MSS'nin travmatik hasarını takiben nöronal bağlantıların yeniden oluşmasına katkı sağlayan, fizyolojik uyarılara duyarlı küçük bir proteindir (Nedivi ve ark. 1996).

Nöronal uzantıların (nöritlerin) oluşumu, büyümesi, organizasyonu ve desteklenmesinde önemli fonksiyonu olduğu için ismini bu etkilerinden dolayı alan nöritin, ayrıca nöronal sağ kalım, nöron farklılaşması, motor nöron aksonlarının korunması, dendritik büyüme ve filizlenmenin desteklenmesi, sinaptik plastisiteye aracılık etmesi, sinaptik maturasyonun gelişmesi, nöron göçünün artması, proliferatif nöron apoptozunun düzenlenmesi, spinal kort ve travmatik beyin hasarı sonrası akson ve nöron rejenerasyonu ve serebral iskemide iyileşmenin sağlanması gibi önemli görevli olan bir nörotrofik bir faktördür.

Beyinde geniş ekspresyona sahip olan NRN, STZ ile indüklenen diyabetik ratların duyuşal nöronlarında daha yüksek düzeyde ifade edilmektedir. (Karamoysoyli ve ark. 2008). Buna karşılık AH'li bireylerde NRN ekspresyonundaki azalan regülasyon, postmortem hipokampal ve kortikal dokularda immunohistokimyasal yöntemlerle ortaya konmuştur. Ancak NRN'nin bağlayıcı reseptör(ler)i ve aşağı akış sinyal efektörleri belirsizliğini korumaktadır (Choi ve ark. 2014).

Bu çalışmada İSV yolla STZ enjeksiyonuyla indüklenen deneysel AH modelinde yine aynı yolla mini ozmotik pompalarla NRN infuzyonunun nöronal

hasarda oluşturduğu olası geri dönüşün bir konumsal hafıza testi olan MST yardımıyla etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda konumsal hafızanın değerlendirilmesi amacıyla MST kullanılmıştır. MST üzerinde değerlendirme kriteri olarak ratların platforma ilk ulaşma süreleri, platforma ulaşmak için kat ettikleri mesafe ve yüzme hızları ile platformun bulunduğu hedef çeyrek bölgede kalma süreleri ve bu bölgeden geçiş frekansları incelenmiştir.

MST uygulaması, ilk günden beşinci güne kadar platforma ulaşma süreleri göz önüne alındığında demans grubunda kontrol grubuna kıyasla bariz bir artış gözlenmiştir. Bu durum, uygulanan demans türü Alzheimer modelinin davranışsal parametrelerle konfirme edildiğini göstermektedir.

MST uygulamalarının beşinci gününden sonra (6. gün), prob test aşamasında deneysel AH oluşturulan sıçanların hedef kadrana ilk ulaşma sürelerinin genel olarak diğer gruplara (özellikle de kontrol grubuna kıyasla) daha uzun olduğu görüldü. Ayrıca platformu bulmak için yüzme hızlarının daha yavaş, hedef kadrandan geçiş sayılarının ve platformun bulunduğu çeyrekte geçirdikleri sürenin ise daha az olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar ışığında STZ ile deneysel AH indüksiyonunun başarılı olduğu daha ileri düzeyde desteklenmiştir.

Bu çalışmanın bulguları, nöritinin Alzheimer tipi demans modelinde davranışsal parametrelerde önemli bir düzelmeye neden olduğunu göstermektedir. Nöritin bu çalışmada bir hafta süreyle subkronik olarak santral yolla uygulanmıştır. Demans grubunda ortaya çıkan davranışsal olumsuzluğun, nispeten kısa sayılabilecek bir süre uygulanan nöritinle düzelmiş olması, molekülün potent bir etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir.

Hipokampal ChAT aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla diğer gruplarda belirgin bir farklılık olmamasına rağmen demans ve tedavi grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olması, eksojen NRN uygulamasının demanslı hayvanlarda asetil kolin sentezini artırdığını göstermektedir. Bunun yanında striatumda benzeri bir etki ortaya çıkmamıştır.

Hipokampus ve striatum AChE aktivitelerinde kontrol grubuna göre diğer gruplarda belirgin bir farklılık oluşmamakla birlikte her iki dokuda da demans grubuna göre tedavi grubunda belirgin artışlar tespit edilmiştir.

Kolinerjik sistemin ana yapıları olan ChAT ve AChE enzimlerinin moleküler analizlerine ait kontrol ve demans gruplarındaki bulgular istatistiksel açıdan anlamlı değildi. Kolinerjik sistemdeki enzim aktiviteleri, Alzheimer modelimizde önemli bir değişiklik göstermemiştir. NRN uygulanması ise sadece demans temelinde bir etkiyle enzim aktivitelerini artırmıştır. Bu durum, NRN'nin Alzheimer süreçlerinde kolinerjik enzim aktivitelerini kısmen etkiyebileceğini düşündürmektedir. Bu durumun AH'li hastalarda NRN'nin kortikal ve hipokampal down-regülasyonu (Choi ve ark. 2014) ve NRN'nin halen reseptörlerinin ve buna bağlı etki mekanizmalarının tam olarak anlaşılabilmesinden kaynaklandığını düşünülmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünya nüfusu yaş ortalamasının giderek yükselmesi başta, Alzheimer olmak üzere demansa neden olan birçok hastalığın görülme frekansını artırmaktadır. Hastaların hayat konforunun progresif bir şekilde bozulmasının yanı sıra ciddi sosyoekonomik sorunlara ve büyük ölçekte tedavi giderlerine neden olan AH'nin tanı, tedavi ve önleme metotlarını belirlemek için deneysel hayvan modelleri çok değerli bir seçenek haline gelmiştir. Fiziopatolojinin daha iyi anlaşılabilmesi ve yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilebilmesi için uzun zamandır kullanılmakta olan farklı öğrenme ve bellek testleri, insan üzerinde etkileri henüz bilinmeyen tedavi ajanlarının hayvanlar üzerinde güvenli bir şekilde kullanılmasına imkan sağlamaktadır.

Mevcut tez projesinde deneysel AH oluşturma prosedürlerinin başarılı olduğunu ve konumsal hafızayı değerlendirmek için kullanılan MST test sonuçları demansı geri döndürmede NRN'nin olumlu etkisinin olabileceğini göstermiştir. Tedavi grubunda her ne kadar AChE aktivitesinde bir düşüş tespit edilmese de ChAT aktivitesinde artış ve MST değerlerinde hipotezimizle uyumlu olarak olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Kolinerjik aktivitedeki söz konusu çelişkinin aydınlatılabilmesi için ileri daha düzeyde araştırmalar yapılması gerekmektedir.

AH ve yaşlılık için karakteristik hale gelmiş olan demansın fiziopatolojisinin net bir şekilde ortaya konması için yapılacak olan bilimsel araştırmalar tedavi seçeneklerinin geliştirilmesinde önemli katkılar sağlayacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

- Adem, A.; Karlsson, E. Muscarinic receptor subtype selective toxins. *Life Sci.*, 1997, 60, 1069-76.
- Agrawal R, Tyagi E, Shukla R, Nath C. A study of brain insulin receptors, AChE activity and oxidative stress in rat model of ICV STZ induced dementia. *Neuropharmacology*. 2009; 56:779–87.
- Akten, B.; Kye, M.J.; Hao le, T.; Wertz, M.H.; Singh, S. et al. Interaction of survival of motor neuron (SMN) and HuD proteins with mRNA cpg15 rescues motor neuron axonal deficits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011, 108(25), 10337-42.
- Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011; 7: 270–9
- Alzheimer A. Uber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allg Zeitschrift Psychiatr* 1907; 64: 146–8.
- Alzheimer Hastalığının Fizyopatolojisi Klinik Gelişim Dergisi Cilt 22 No 3 2009 - Klinik Fizyopatoloji
- Apelt, J.; Kumar, A.; Schliebs, R. Impairment of cholinergic neurotransmission in adult and aged transgenic Tg2576 mouse brain expressing the Swedish mutation of human beta-amyloid precursor protein. *Brain Res.*, 2002, 953, 17-30.
- Armstrong, D.M.; Saper, C.B.; Levey, A.I.; Wainer, B. h.; Terry, R.D. Distribution of cholinergic neurons in rat brain: demonstrated by the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase. *J. Comp. Neurol.*, 1983, 216, 53-68.
- Baghdoyan, H.A.; Rodrigo-Angulo, M.L.; McCarley, R.W.; Hobson, J.A. Site-specific enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem regions. *Brain Res.*, 1984, 306, 39-52.
- Bahr, B.A.; Parsons, S.M. Demonstration of a receptor in Torpedo synaptic vesicles for the acetylcholine storage blocker L-trans-2-(4- phenyl[3, 4-3H]-piperidino) cyclohexanol. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1986, 83, 2267-70.
- Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, et al. Alzheimer's disease. *Lancet* 2011; 377:1019–31.
- Bartus, R.T. On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis. *Exp. Neurol.*, 2000, 163, 495-529.
- Bateman RJ, Aisen PS, De Strooper B, et al. Autosomal-dominant Alzheimer's disease: a review and proposal for the prevention of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2010; 3: 1.
- Bell, K.F.; Ducatenzeiler, A.; Ribeiro-da-Silva, A.; Duff, K.; Bennett, D.A. et al. The amyloid pathology progresses in a neurotransmitter-specific manner. *Neurobiol. Aging*, 2006, 27, 1644-57.
- Bennett DA, Schneider JA, Wilson RS, et al. Neurofibrillary tangles mediate the association of amyloid load with clinical Alzheimer disease and level of cognitive function. *Arch Neurol* 2004; 61: 378.

- Bird TD, Miller BL. Alzheimer's disease and other dementias. In: Kaspar DL et al.; eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th ed. McGraw-Hill; 2005:2393-406.
- Blokland, A.; Honig, W.; Raaijmakers, W.G. Effects of intrahippocampal scopolamine injections in a repeated spatial acquisition task in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*, 1992, 109, 373-6.
- Boccia, M.M.; Acosta, G.B.; Blake, M.G.; Baratti, C.M. Memory consolidation and reconsolidation of an inhibitory avoidance response in mice: effects of i.c.v. injections of hemicholinium-3. *Neuroscience*, 2004, 124, 735-41.
- Boccia, M.M.; Blake, M.G.; Acosta, G.B.; Baratti, C.M. Atropine, an anticholinergic drug, impairs memory retrieval of a high consolidated avoidance response in mice. *Neurosci. Lett.*, 2003,
- Boccia, M.M.; Blake, M.G.; Baratti, C.M.; McGaugh, J.L. Involvement of the basolateral amygdala in muscarinic cholinergic modulation of extinction memory consolidation. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 2009, 91, 93-7.
- Bosserhoff AK, Schneider N, Ellmann L, Heinzerling L, Kuphal S. The neurotrophin Neuritin1 (cpg15) is involved in melanoma migration, attachment independent growth, and vascular mimicry. *Oncotarget* 2017; 8: 1117–31
- Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991; 82: 239-59.
- Bracco, L.; Bessi, V.; Padiglioni, S.; Marini, S.; Pepeu, G. Do cholinesterase inhibitors act primarily on attention deficit? A naturalistic study in Alzheimer's disease patients. *J. Alzheimers Dis.*, 2014, 40, 737-42.
- Bucci, D.J.; Holland, P.C.; Gallagher, M. Removal of cholinergic input to rat posterior parietal cortex disrupts incremental processing of conditioned stimuli. *J. Neurosci.*, 1998, 18, 8038-46.
- Cantalops, I.; Cline, H.T. Rapid activity-dependent delivery of the neurotrophic protein CPG15 to the axon surface of neurons in intact *Xenopus* tadpoles. *Dev. Neurobiol.*, 2008, 68(6), 744-59.
- Cantalops, I.; Haas, K.; Cline, H.T. Postsynaptic CPG15 promotes synaptic maturation and presynaptic axon arbor elaboration in vivo. *Nat. Neurosci.*, 2000, 3(10), 1004-11.
- Cappelletti, G.; Galbiati, M.; Ronchi, C.; Maggioni, M.G.; Onesto, E.; et al. Neuritin (cpg15) enhances the differentiating effect of NGF on neuronal PC12 cells. *J. Neurosci. Res.*, 2007, 85(12), 2702-13.
- Caulfield, M.P.; Birdsall, N.J. International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol. Rev.*, 1998, 50, 279-90
- Charpantier, E.; Wiesner, A.; Huh, K. h., Ogier, R., Hoda, J.C., et al. Alpha7 neuronal nicotinic acetylcholine receptors are negatively regulated by tyrosine phosphorylation and Src-family kinases. *J. Neurosci.*, 2005, 25, 9836-49.
- Chen, X.; Tian, C.H.; Chen, J.; Wang, Y.C.; Lin, J.Y. The expression of neuritin protein in the visual cortex of monocular form deprived adult rats. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*, 2011, 47(9), 829-33.
- Choi Y, Lee K, Ryu J, Kim HG, Jeong AY, et al. (2014) Neuritin Attenuates Cognitive Function Impairments in Tg2576 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *PLoS ONE* 9(8): e104121.
- Cooper, E.; Couturier, S.; Ballivet, M. Pentameric structure and subunit stoichiometry of a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Nature*, 1991, 350, 235-8.

- Corriveau, R.A.; Shatz, C.J.; Nedivi, E. Dynamic regulation of cpg15 during activity-dependent synaptic development in the mammalian visual system. *J. Neurosci.*, 1999, 19(18), 7999-8008.
- Counts, S.E.; Nadeem, M.; Lad, S.P.; Wu, J.; Mufson, E.J. Differential expression of synaptic proteins in the frontal and temporal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 2006, 65, 592-601.
- D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Rev* 2001;36:60–90.
- De Ferrari, G.V.; Canales, M.A.; Shin, I., Weiner, L.M., Silman, I., et al. A structural motif of acetylcholinesterase that promotes amyloid beta-peptide fibril formation. *Biochemistry*, 2001, 40, 10447-57.
- Di Giovanni, S.; Faden, A.I.; Yakovlev, A.; Duke-Cohan, J.S.; Finn, T. et al. Neuronal plasticity after spinal cord injury: identification of a gene cluster driving neurite outgrowth. *FASEB J.*, 2005, 19(1), 153-4.
- Dobransky, T.; Davis, W.L.; Xiao, G. h.; Rylett, R.J. Expression, purification and characterization of recombinant human choline acetyltransferase: phosphorylation of the enzyme regulates catalytic activity. *Biochem. J.*, 2000, 349, 141-51.
- Douglas, C.L.; Baghdoyan, H.A.; Lydic, R. M2 muscarinic autoreceptors modulate acetylcholine release in prefrontal cortex of C57BL/6J mouse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, 299, 960-6.
- Ehlert, F.J.; Delen, F.M.; Yun, S. h.; Tran, P. Differential coupling of subtypes of the muscarinic receptor to signaling mechanisms in brain and peripheral tissues. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1991, 287, 301- 12.
- Escott-Price V, Sims R, Bannister C, et al. Common polygenic variation enhances risk prediction for Alzheimer's disease. *Brain* 2015; 138: 3673–84.
- Etienne AS. Navigation of a small mammal by dead reckoning and local cues. *Curr Dir Psychol Sci* 1992;1:48–52.
- Fargo, K.N.; Alexander, T.D.; Tanzer, L.; Poletti, A.; Jones, K.J. Androgen regulates neuritin mRNA levels in an in vivo model of steroid-enhanced peripheral nerve regeneration. *J. Neurotrauma*, 2008, 25(5), 561-6.
- Ferguson, S.M.; Bazalakova, M., Savchenko, V., Tapia, J.C., Wright, J. et al. Lethal impairment of cholinergic neurotransmission in hemicholinium-3-sensitive choline transporter knockout mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2004, 101, 8762- 7.
- Fitzjohn, S.M.; Morton, R.A.; Kuenzi, F., Rosahl, T.W., Shearman, M. et al. Age-related impairment of synaptic transmission but normal long-term potentiation in transgenic mice that overexpress the human APP695SWE mutant form of amyloid precursor protein. *J. Neurosci.*, 2001, 21, 4691-8.
- Forloni G, Artuso V, La Vitola P, Balducci C. Oligomeropathies and pathogenesis of Alzheimer and Parkinson's diseases. *Mov Disord* 2016; 31: 771–81.
- Fujino, T.; Lee, W.C.; Nedivi, E. Regulation of cpg15 by signaling pathways that mediate synaptic plasticity. *Mol. Cell. Neurosci.*, 2003, 24(3), 538-54.
- Fujino, T.; Leslie, J.H.; Eavri, R.; Chen, J.L.; Lin, W.C. et al. CPG15 regulates synapse stability in the developing and adult brain. *Genes Dev.*, 2011, 25(24), 2674-85.

- Fujino, T.; Wu, Z.; Lin, W.C.; Phillips, M.A.; Nedivi, E. cpg15 and cpg15-2 constitute a family of activity-regulated ligands expressed differentially in the nervous system to promote neurite growth and neuronal survival. *J. Comp. Neurol.*, 2008, 507(5), 1831-45.
- Gahwiler, B. h.; Brown, D.A. Muscarine affects calcium-currents in rat hippocampal pyramidal cells in vitro. *Neurosci. Lett.*, 1987, 76, 301-6.
- Geddes JW, Tekirian TL, Soultanian NS, Ashford JW, Davis DG, et al. Comparison of neuropathologic criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1997; 18: S99–S105.
- Glushakov, A.V.; Glushakova, H.Y.; Skok, V.I. Modulation of nicotinic acetylcholine receptor activity in submucous neurons by intracellular messengers. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 1999, 75, 16-22.
- Grober E, Dickson D, Sliwinski MJ, et al. Memory and mental status correlates of modified Braak staging. *Neurobiol Aging* 1999; 20: 573.
- Grunblatt E, Hoyer S, Riederer P: Gene expression profile in streptozotocin rat model for sporadic Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 2004, 111:367-86.
- Grünblatt E, Salkovic-Petrisic M, Osmanovic J, Riederer P, Hoyer S. Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. *J Neurochem.* 2007; 101:757–70.
- Gürvit H, Emre M, Tinaz S, ve ark. The prevalence of dementia in an urban Turkish population. *Am J Alzheimers Dis Other Demen.* 2008; 23(1): 67-76.
- Gürvit H. Sinir Sisteminin Dejeneratif Hastalıkları. Demans Sendromu, Alzheimer Hastalığı ve Alzheimer dışı demanslar. In: Öge AE; eds. *Nöroloji*. İstanbul: Nobel Matbaacılık; 2004: 367-415
- Hallbook, F.; Ibanez, C.F.; Persson, H. Evolutionary studies of the nerve growth factor family reveal a novel member abundantly expressed in *Xenopus* ovary. *Neuron*, 1991, 6(5), 845-58.
- Harwell, C.; Burbach, B.; Svoboda, K.; Nedivi, E. Regulation of cpg15 expression during single whisker experience in the barrel cortex of adult mice. *J. Neurobiol.*, 2005, 65(1), 85-96.
- He, Y.; Yang, G.; Wang, Y.; Ren, Y.; He, X. et al. Expression of candidate plasticity-related gene 15 is increased following traumatic brain injury. *Neurol. Res.*, 2013, 35(2), 174-180.
- Houser, C.R.; Crawford, G.D.; Barber, R.P.; Salvaterra, P.M.; Vaughn, J.E. Organization and morphological characteristics of cholinergic neurons: an immunocytochemical study with a monoclonal antibody to choline acetyltransferase. *Brain Res.*, 1983, 266, 97-119.
- Hoyer S, Lannert H. Inhibition of the neuronal insulin receptor causes Alzheimer-like disturbances in oxidative/energy brain metabolism and in behavior in adult rats. *Ann N Y Acad Sci.* 1999; 893:301-3.
- Iwatsubo T, Odaka A, Suzuki N, et al. Visualization of A beta 42(43) and A beta 40 in senile plaques with end-specific A beta monoclonals: evidence that an initially deposited species is A beta 42(43). *Neuron* 1994; 13: 45-53.
- James BD, Wilson RS, Boyle PA, Trojanowski JQ, Bennett DA, et al. TDP-43 stage, mixed pathologies, and clinical Alzheimer's-type dementia. *Brain* 2016; 139: 2983-93.
- Javaherian, A.; Cline, H.T. Coordinated motor neuron axon growth and neuromuscular synaptogenesis are promoted by CPG15 in vivo. *Neuron*, 2005, 45(4), 505-12.

- Jeon, J.; Dencker, D.; Wortwein, G.; Woldbye, D.P.; Cui, Y. et al. A subpopulation of neuronal M4 muscarinic acetylcholine receptors plays a critical role in modulating dopamine-dependent behaviors. *J. Neurosci.*, 2010, 30, 2396-405.
- Jin M, Shepardson N, Yang T, Chen G, Walsh D, et al. Soluble amyloid-protein dimers isolated from Alzheimer cortex directly induce tau hyperphosphorylation and neuritic degeneration. *Proc Natl Acad Sci* 2011; 108: 5819–24
- Jones, B.E. Activity, modulation and role of basal forebrain cholinergic neurons innervating the cerebral cortex. *Prog. Brain Res.*, 2004, 145, 157-69.
- Jonsson T, Atwal JK, Steinberg S, et al. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature* 2012; 488: 96–9.
- Karamoysoyli, E.; Burnand, R.C.; Tomlinson, D.R.; Gardiner, N.J. Neuritin mediates nerve growth factor-induced axonal regeneration and is deficient in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes*, 2008, 57(1), 181-89.
- Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry* 2015; 77: 43–51.
- Kim JJ, Lee HJ, Han JS, Packard MG. Amygdala is critical for stress-induced modulation of hippocampal long-term potentiation and learning. *J Neurosci* 2001;21:5222–8.
- Kubo, T.; Maeda, A.; Sugimoto, K.; Akiba, I.; Mikami, et al. Primary structure of porcine cardiac muscarinic acetylcholine receptor deduced from the cDNA sequence. *FEBS Lett.*, 1986, 209, 367-72.
- Kudo, Y.; Ogura, A.; Iijima, T. Stimulation of muscarinic receptor in hippocampal neuron induces characteristic increase in cytosolic free Ca<sup>2+</sup> concentration. *Neurosci. Lett.*, 1988, 85, 345-50.
- Lahiri, D.K.; Utsuki, T.; Chen, D.; Farlow, M.R.; Shoaib, M., et al. Nicotine reduces the secretion of Alzheimer's beta-amyloid precursor protein containing betaamyloid peptide in the rat without altering synaptic proteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2002, 965, 364-72.
- Le Jan S, Le Meur N, Cazes A, Philippe J, Le Cunff M, Leger J, et al. Characterization of the expression of the hypoxia-induced genes neuritin, TXNIP and IGFBP3 in cancer. *FEBS Lett* 2006; 580: 3395-400.
- Lecanu L, Greeson J, Papadopoulos V: Beta-amyloid and oxidative stress jointly induce neuronal death, amyloid deposits, gliosis, and memory impairment in the rat brain. *Pharmacology* 2006, 76:19-33.
- Lee, G.; Purves-Tyson, T. Neuritin message is increased by testosterone in cultured rat pelvic autonomic neurons but is unchanged in pelvic ganglia in experimental diabetes. *Auton. Neurosci.*, 2009, 149(1-2), 104-5.
- Lee, J.-H.; Ahn, N.-H.; Choi, S.-B.; Kwon, Y.; Yang, S.-H. Natural Products Targeting Amyloid Beta in Alzheimer's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 2341.
- Lee, K.H.; Ryu, C.J.; Hong, H.J.; Kim, J.; Lee, E.H. CDNA microarray analysis of nerve growth factor-regulated gene expression profile in rat PC12 cells. *Neurochem. Res.*, 2005, 30(4), 533-40.
- Lee, W.C.; Nedivi, E. Extended plasticity of visual cortex in darkreared animals may result from prolonged expression of cpg15-like genes. *J. Neurosci.*, 2002, 22(5), 1807-15.

- Lester-Coll N, Rivera EJ, Soscia SJ, Doiron K, Wands JR, de la Monte SM. Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: Relevance to sporadic Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2006; 9:13–33.
- Levey, A.I.; Armstrong, D.M.; Atweh, S.F.; Terry, R.D.; Wainer, B. h. Monoclonal antibodies to choline acetyltransferase: production, specificity, and immune histochemistry. *J. Neurosci.*, 1983, 3, 1-9.
- Levin, E.D.; Simon, B.B. Nicotinic acetylcholine involvement in cognitive function in animals. *Psychopharmacology (Berl)*, 1998, 138, 217-30.
- Lewis J, Dickson DW, Lin WL, Chisholm L, Corral A, et al. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science* 2001, 293:1487-91.
- Madison, D.V.; Lancaster, B.; Nicoll, R.A. Voltage clamp analysis of cholinergic action in the hippocampus. *J. Neurosci.*, 1987, 7, 733-41.
- Markram, H.; Segal, M. The inositol 1, 4, 5-trisphosphate pathway mediates cholinergic potentiation of rat hippocampal neuronal responses to NMDA. *J. Physiol.*, 1992, 447, 513-33.
- Masters CL, Simms G, Weinman NA, et al. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82: 4245-9.
- Matta, S.G.; Fu, Y.; Valentine, J.D.; Sharp, B.M. Response of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis to nicotine. *Psychoneuroendocrinology*, 1998, 23, 103-13.
- Matthews FE, Stephan BCM, Robinson L, et al. A two decade dementia incidence comparison from the Cognitive Function and Ageing Studies I and II. *Nat Commun* 2016; 7: 11398.
- Maurer R, Derivaz V. Rats in a transparent morris water maze use elemental and configural geometry of landmarks as well as distance to the pool wall. *Spatial Cogn Comput* 2000;2:135–56.
- McShane R, Areosa Sastre A, Minakaran N. Memantine for dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 2: CD003154.
- Mesulam, M.M. The cholinergic innervation of the human cerebral cortex. *Prog. Brain Res.*, 2004, 145, 67-78.
- Mesulam, M.M.; Mufson, E.J.; Levey, A.I.; Wainer, B. h. Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata), and hypothalamus in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.*, 1983, 214, 170-97.
- Min, S.; Jian-Bo, L.; Hong-Man, Z.; Ling-Fei, Y.; Min, X.; et al. Neuritin is expressed in Schwann cells and down-regulated in apoptotic Schwann cells under hyperglycemia. *Nutr. Neurosci.*, 2012
- Misawa, H.; Matsuura, J.; Oda, Y.; Takahashi, R.; Deguchi, T. Human choline acetyltransferase mRNAs with different 5'-region produce a 69-kDa major translation product. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 1997, 44, 323-33.
- Mogg, A.J.; Whiteaker, P.; McIntosh, J.M., et al. Methyllycaconitine is a potent antagonist of alpha-conotoxin-MII-sensitive presynaptic nicotinic acetylcholine receptors in rat striatum. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2002, 302, 197-204.
- Morris RGM, Davis S, Butcher SP. Hippocampal synaptic plasticity and NMDA receptors: A role in information storage? *Phil Trans R Soc Lond* 1990;329:187–204.

- Muir, J.L. Acetylcholine, aging, and Alzheimer's disease. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1997, 56, 687-96.
- Muir, J.L.; Dunnett, S.B.; Robbins, T.W.; Everitt, B.J. Attentional functions of the forebrain cholinergic systems: effects of intraventricular hemicholinium, physostigmine, basal forebrain lesions and intracortical grafts on a multiple-choice serial reaction time task. *Exp. Brain Res.*, 1992, 89, 611-22.
- Naeve, G.S.; Ramakrishnan, M.; Kramer, R.; Hevroni, D.; Citri, Y.; et al. Neuritin: a gene induced by neural activity and neurotrophins that promotes neuritogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94(6), 2648-53.
- Nai, Q.; McIntosh, J.M.; Margiotta, J.F. Relating neuronal nicotinic acetylcholine receptor subtypes defined by subunit composition and channel function. *Mol. Pharmacol.*, 2003, 63, 311-24.
- Nakamura S, Murayama N, Noshita T, Annoura H, Ohno T: Progressive brain dysfunction following intracerebroventricular infusion of beta (1-42)- amyloid peptide. *Brain Res* 2001, 912:128-36.
- Naslund J, Haroutunian V, Mohs R, et al. Correlation between elevated levels of amyloid beta-peptide in the brain and cognitive decline. *JAMA* 2000; 283: 1571
- Nathanson, N.M. A multiplicity of muscarinic mechanisms: enough signaling pathways to take your breath away. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2000, 97, 6245-7.
- Nedivi E, Hevroni D, Naot D, Israeli D, Citri Y. Numerous candidate plasticity-related genes revealed by differential cDNA cloning. *Nature* 1993; 363: 718–22
- Nedivi, E.; Fieldust, S.; Theill, L.E.; Hevron, D. A set of genes expressed in response to light in the adult cerebral cortex and regulated during development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93(5), 2048-53.
- Nedivi, E.; Javaherian, A.; Cantalops, I.; Cline, H.T. Developmental regulation of CPG15 expression in *Xenopus*. *J. Comp. Neurol.*, 2001, 435(4), 464-43.
- Nedivi, E.; Wu, G.Y.; Cline, H.T. Promotion of dendritic growth by CPG15, an activity-induced signaling molecule. *Science*, 1998, 281(5384), 1863-6.
- Newman, M.B.; Nazian, S.J.; Sanberg, P.R.; Diamond, D.M.; Shytle, R.D. Corticosterone-attenuating and anxiolytic properties of mecamylamine in the rat. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2001, 25, 609-20.
- Newton, S.S.; Collier, E.F.; Hunsberger, J.; Adams, D.; Terwilliger, et al. Gene profile of electroconvulsive seizures: induction of neurotrophic and angiogenic factors. *J. Neurosci.*, 2003, 23(34), 10841-51.
- O'Neill, M.J.; Murray, T.K.; Lakics, V.; Visanji, N.P.; Duty, S. The role of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in acute and chronic neurodegeneration. *Curr. Drug Targets. CNS. Neurol. Disord.*, 2002, 1, 399-411.
- Paez-Gonzalez, P.; Asrican, B.; Rodriguez, E.; Kuo, C.T. Identification of distinct ChAT(+) neurons and activity-dependent control of postnatal SVZ neurogenesis. *Nat. Neurosci.*, 2014, 17, 934-42.
- Pahnke, J.; Mix, E.; Knoblich, R.; Muller, J.; Zschiesche, M.; et al. Overexpression of glial cell line-derived neurotrophic factor induces genes regulating migration and differentiation of neuronal progenitor cells. *Exp. Cell Res.*, 2004, 297(2), 484-94.

- Pepeu, G.; Giovannini, M.G.; Bracco, L. Effect of cholinesterase inhibitors on attention. *Chem. Biol. Interact.*, 2013, 203, 361-4.
- Pilcher H: Alzheimer's disease could be "type 3 diabetes". *Lancet Neurol* 2006, 5:388-9.
- Plaschke K, Hoyer S. Action of the diabetogenic drug streptozotocin on glycolytic and glycogenolytic metabolism in adult rat brain cortex and hippocampus. *Int J Dev Neurosci.* 1993; 11:477-83.
- Porter, A.C.; Bymaster, F.P.; DeLapp, N.W., Yamada, M., Wess, J., et al. M1 muscarinic receptor signaling in mouse hippocampus and cortex. *Brain Res.*, 2002, 944, 82-9.
- Power, A.E.; Vazdarjanova, A.; McGaugh, J.L. Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem.*, 2003, 80, 178-93.
- Prince M, Albanese E, Guerchet M, et al. *World Alzheimer Report 2014: Dementia and Risk Reduction an Analysis of Protective and Modifiable Factors*, 2014.
- Putz, U.; Harwell, C.; Nedivi, E. Soluble CPG15 expressed during early development rescues cortical progenitors from apoptosis. *Nat. Neurosci.*, 2005, 8(3), 322-31.
- Qizilbash N, Gregson J, Johnson M, et al. BMI and risk of dementia in two million people over two decades: a retrospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2015; 3: 431-6.
- Radcliffe, K.A.; Dani, J.A. Nicotinic stimulation produces multiple forms of increased glutamatergic synaptic transmission. *J. Neurosci.*, 1998, 18, 7075-83.
- Raina, P.; Santaguada, P.; Ismaila, A., Patterson, C., Cowan, D., et al. Effectiveness of cholinesterase inhibitors and memantine for treating dementia: evidence review for a clinical practice guideline. *Ann. Intern. Med.*, 2008, 148, 379- 97.
- Revesz T, McLaughlin JL, Rossor MN, Lantos PL. Pathology of familial Alzheimer's disease with Lewy bodies. *J Neural Transm Suppl* 1997; 51: 121-35.
- Rickhag, M.; Teilmann, M.; Wieloch, T. Rapid and long-term induction of effector immediate early genes (BDNF, Neurtin and Arc) in peri-infarct cortex and dentate gyrus after ischemic injury in rat brain. *Brain Res.*, 2007, 1151, 203-10.
- Rogers, J.L.; Kesner, R.P. Cholinergic modulation of the hippocampus during encoding and retrieval of tone/shock-induced fear conditioning. *Learn Mem.*, 2004, 11, 102-7.
- Role, L.W.; Berg, D.K. Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapses. *Neuron*, 1996, 16, 1077-85.
- Rosenberg, P.B.; Nowrangi, M.A.; Lyketsos, C.G. Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: What might be associated brain circuits? *Mol. Aspects Med.*, 2015.
- Salkovic-Petrisic M, Hoyer S. Central insulin resistance as a trigger for sporadic Alzheimer-like pathology: An experimental approach. *J Neural Transm Suppl.* 2007; 72:217-33
- Santos DB, Colle D, Moreira EL, Peres KC, Ribeiro RP, et al. Probenecol mitigates streptozotocin-induced cognitive and biochemical changes in mice. *Neuroscience.* 2015; 284:590-600.
- Sarter, M.; Lustig, C.; Howe, W.M.; Gritton, H.; Berry, A.S. Deterministic functions of cortical acetylcholine. *Eur. J. Neurosci.*, 2014, 39, 1912-20.
- Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, et al. Alzheimer's disease. *Lancet.* 2016;388(10043):505-17.

- Schneider JA, Arvanitakis Z, Leurgans SE, Bennett DA. The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Ann Neurol* 2009; 66: 200– 8.
- Seguela, P.; Wadiche, J.; Dineley-Miller, K.; Dani, J.A.; Patrick, J.W. Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain alpha 7: a nicotinic cation channel highly permeable to calcium. *J. Neurosci.*, 1993, 13, 596-604.
- Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med* 2016; 8: 595–608.
- Selkoe, D.J. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science*, 2002, 298, 789-91.
- Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2011; 1: a006189.
- Shankar GM, Li S, Mehta TH, et al. Amyloid- $\beta$  protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med* 2008; 14: 837– 42.
- Sharma, N.; Marzo, S.J.; Jones, K.J.; Foecking, E.M. Electrical stimulation and testosterone differentially enhance expression of regeneration-associated genes. *Exp. Neurol.*, 2010, 223(1), 183- 91.
- Shimada T, Sugiura H, Yamagata K. Neuritin: A therapeutic candidate for promoting axonal regeneration. *World J Neurol* 2013; 3: 6.
- Stephan A, Laroche S, Davis S: Generation of aggregated beta-amyloid in the rat hippocampus impairs synaptic transmission and plasticity and causes memory deficits. *J Neurosci* 2001, 21:5703-14.
- Strada, O.; Vyas, S.; Hirsch, E.C., Ruberg, M., Brice, A., et al. Decreased choline acetyltransferase mRNA expression in the nucleus basalis of Meynert in Alzheimer disease: an in situ hybridization study. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1992, 89, 9549-53.
- Sutherland RJ, Chew GL, Baker JC, Lingard RC. Some limitations on the use of distal cues in place navigation by rats. *Psychobiology* 1987;15:48–57.
- Tetzlaff, J.E.; Huppenbauer, C.B.; Tanzer, L.; Alexander, T.D.; Jones, K.J. Motoneuron injury and repair: New perspectives on gonadal steroids as neurotherapeutics. *J. Mol. Neurosci.*, 2006, 28(1), 53-64.
- Tiruchinapalli, D.M.; Caron, M.G.; Keene, J.D. Activity-dependent expression of ELAV/Hu RBPs and neuronal mRNAs in seizure and cocaine brain. *J. Neurochem.*, 2008, 107(6), 1529-43.
- Tiruchinapalli, D.M.; Ehlers, M.D.; Keene, J.D. Activity-dependent expression of RNA binding protein HuD and its association with mRNAs in neurons. *RNA Biol.* ,2008, 5(3), 157-68.
- Van der Zee, E.A.; Luiten, P.G. Muscarinic acetylcholine receptors in the hippocampus, neocortex and amygdala: a review of immunocytochemical localization in relation to learning and memory. *Prog. Neurobiol.*, 1999, 58, 409-71.
- Verghese PB, Castellano JM, Holtzman DM (2011) Roles of apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurology*. 10, 3, 241-52.
- Weinberger, N.M. The nucleus basalis and memory codes: auditory cortical plasticity and the induction of specific, associative behavioral memory. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 2003, 80, 268-84.

- Winters, B.D.; Bussey, T.J. Removal of cholinergic input to perirhinal cortex disrupts object recognition but not spatial working memory in the rat. *Eur. J. Neurosci.*, 2005, 21, 2263-70.
- Wonnacott, S. Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends Neurosci.*, 1997, 20, 92-8.
- Woolf, N.J.; Butcher, L.L. Cholinergic systems mediate action from movement to higher consciousness. *Behav. Brain Res.*, 2011, 221, 488-98.
- Wu Y-T, Fratiglioni L, Matthews FE, et al. Dementia in western Europe: epidemiological evidence and implications for policy making. *Lancet Neurol* 2016; 15: 116–24.
- Xi, S.; Liu, W.; Zhang, H.; Gao, R.; Huang, J. Effect of Neuritin protein on axonal regeneration after acute spinal cord injury in rats. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2009, 23(10), 1219-23.
- Xu W, Tan L, Wang H-F, et al. Meta-analysis of modifiable risk factors for Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015; 86: 1299–306.
- Yamagata, K.; Sugiura, H.; Suzuki, K. Structure and function of neural plasticity-related gene products. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, 1998, 18(4), 133-6.
- Yuan M, Li Y, Zhong C, Li Y, Niu J, Gong J. Overexpression of neuritin in gastric cancer. *Oncol Lett* 2015; 10: 3832–6.
- Zeisel, S. h.; Da Costa, K.A.; Franklin, P.D.; Alexander, E.A.; Lamont, J.T.; Sheard, N.F.; Beiser, A. Choline, an essential nutrient for humans. *FASEB J*, 1991, 5, 2093-8.
- Zhou S, Zhou J. Neuritin, a neurotrophic factor in nervous system physiology. *Curr Med Chem* 2014; 21: 1212–9.
- Zito, A.; Cartelli, D.; Cappelletti, G.; Cariboni, A.; Andrews, W.; et al. Neuritin 1 promotes neuronal migration. *Brain Struct. Funct.*, 2012

## 8. EKLER

### Etik Kurul Onayı



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



Karar Sayısı: 2016 – 034

Karar Tarihi: 27.05.2016

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D'den Prof.Dr.Selim KUTLU, Yrd.Doç.Dr.Z.İşık SOLAK GÖRMÜŞ ve Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER tarafından sunulan "**Sıçanlarda Deneysel Alzheimer Tipi Demans Modelinde Yeni Bir Nörotrofik Molekül Olan Nöritinin Rolü**" başlıklı tez projesi 7 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede 4 grupta toplam 40 adet sıçan kullanılacağı ve sıçanların derin anestezi altında dekapitasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin, Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ndeki ilgili maddeler gereğince "Etik Kurallara Uygunluk Esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ndeki 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.Selim KUTLU  
Başkan-Katılmadı

Prof.Dr.Lema TAVLI  
Üye

Prof.Dr.Ayşe Saide  
ŞAHİN  
Üye

Prof.Dr.Mehmet GÜL  
Üye

Doç.Dr.Ercan KURAR  
Üye

Doç.Dr.Tevfik  
KÜÇÜKKARTALLAR  
Üye

Yrd.Doç.Dr.Hasan  
Hüseyin KOZAK  
Üye

Yrd.Doç.Dr.Ömer  
TANYELİ  
Üye

Vet.Hek.Halil Aydın  
ŞİMŞEK  
Üye-Katılmadı

Vet.Hek.Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER  
Üye-Katılmadı

Mustafa ŞİRİN  
Üye-Katılmadı

**Adres** : Meram Tıp Fakültesi Kampüsü 42080 Akyokuş – Meram / KONYA  
**Tel** : +90 332 223 71 11  
**Faks** : +90 332 223 71 24  
**e-posta** : [konudam@konya.edu.tr](mailto:konudam@konya.edu.tr)  
**Elektronik Ağı** : <http://www.konya.edu.tr/merkezler/konudam>

## 9. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı Soyadı</b>	Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER
<b>Uyruğu</b>	T.C.
<b>Doğum Tarihi ve Yeri</b>	
<b>Medeni Durum</b>	
<b>E-mail</b>	
<b>Tel</b>	
<b>Yazışma Adresi</b>	

<b>Eğitim Düzeyi</b>	<b>Mezun Olduğu Kurumun Adı</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Yüksek Lisans</b>	S.Ü. Veteriner Fakültesi Zootečni AD	2002 – 2004
<b>Lisans</b>	S.Ü. Veteriner Fakültesi	1995 – 2001
<b>Lise</b>	Konya Veteriner Sağlık Meslek Lisesi	1992 – 1995

<b>İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)</b>		
<b>Görevi</b>	<b>Kurum / Görev</b>	<b>Süre (Yıl-Yıl)</b>
<b>1.- Veteriner Hekimi</b>	N.E.Ü. KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi	2013 – Halen
<b>2.- Veteriner Hekimi</b>	S.Ü. Veteriner Fakültesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi	2002 – 2013
<b>3.- Vet. Sağlık Teknisyeni</b>	S.Ü. Veteriner Fakültesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi	1997 – 2002
<b>4.- Vet. Sağlık Teknisyeni</b>	Tarım ve Orman Bakanlığı Bingöl Genç Tarım İlçe Müdürlüğü	1996 – 1997

<b>Yabancı Dil</b>	İngilizce (YÖKDİL Mart 2018)	81,25
--------------------	------------------------------	-------

### Yayımları / Tebliğleri / Sertifikaları / Ödülleri

\*Yüksek lisans veya doktora tezinden üretilen yayınlar için parantez içinde (yüksek lisans tezinden yapılmıştır) veya (doktora tezinden yapılmıştır) şeklinde açıkça belirtilmelidir.

2017 - Evaluation of Effects of Three Distinct Stress Protocols on Depression and/or Anxiety-like Behaviors in Female Rats

2017 - Comparison of Effect of Two Immobilization Stress Protocols on Depression/Anxiety Behavior in Male Rats

2019 - An Evaluation of the Effects of Two Chronic Immobilization Stress Protocols on Depression/Anxiety-Related Behavior in Male Rats

2019 - Comparison of Effects of Three Distinct Stress Models on Anxiety- and Depression-Related Behaviors in Female Rats

2019 - Comparison of the Effects of Immobilization Stress and Chronic Mild Stress Models on Depression-Related Behaviors in Female Rats: An Assessment of a 10-Day Stress Period

2019 - Long-term metabolic cage housing increases anxiety/depression-related behaviours in adult male rats

2020 - Effect of Apelin on Anxiety Like Behaviour in Male Rats

2020 - Biochemical Evaluation of the Effects of Quercetin On Experimental Acute Methanol Intoxication in Rats

2020 - Investigation of Effects of Two Chronic Stress Protocols on Depression-Like Behaviors and Brain Mineral Levels in Female Rats: an Evaluation of 7-Day Immobilization Stress

2021 - Acute and subacute effects of thymoquinone on acute methanol intoxication: An assessment based on serum TBARS and BDNF levels in rat model

2021 - Effect of Morphine Dependency on Apelinergic System in Rat Hippocampus

2022 - Evaluation of effects of long-term intracerebroventricular neuritin infusion on androgenic activity and testicular bax and bcl-2 immunoreactivity in male rats  
**(Doktora tezinden yapılmıştır)**