



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE AGMATİNİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

MÜGE ŞİRVANCI YALABIK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
PSİKOFARMAKOLOJİ PROGRAMI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

İSTANBUL-2009

BEYAN

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

01.12.2009

Müge ŞİRVANCI YALABIK

I. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda desteğini esirgemeyen, bilgi ve önerilerinden yararlandığım, öğrencisi olmaktan onur ve mutluluk duyduğum değerli hocam ve tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU'na, ve tezimin biyokimyasal parametrelerinin değerlendirilmesine olan katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Ahmet Özer ŞEHİRLİ'ye çok teşekkür ederim.

II. İÇİNDEKİLER

I. TEŞEKKÜR	iii
II. İÇİNDEKİLER	iv
III. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	vi
IV. ŞEKİL VE TABLOLARIN LİSTESİ	vii

1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Alzheimer Hastalığı	5
4.1.1. Tarihçe	6
4.1.2. Epidemiyoloji	6
4.1.3. Risk faktörleri	6
4.1.4. Genetik	7
4.2. Alzheimer Hastalığında Anatomik ve Patolojik Değişiklikler	8
4.2.1. Amiloid beta agregasyonu ve plak oluşumu	9
4.2.2. Tau hiperfosforilasyonu ile nörofibriler yumak oluşumu	12
4.2.3. Oksidatif Stres	13
4.2.4. Enflamasyon	15
4.2.5. Nitrik oksit	16
4.2.6. Nörovasküler disfonksiyon	18
4.2.7. Mitokondriyal disfonksiyon	18
4.2.8. Sinaptik disfonksiyon ve sinaps kaybı	19
4.2.9. Kolinerjik innervasyon kaybı ve diğer nörotransmitter sistemler	19
4.3. Alzheimer Hastalığında Semptomatik Tedavi ve Diğer Yaklaşımlar	26
4.4. Deneysel Araştırmalara Yönelik Hayvan Modelleri	34
4.5. Agmatin	41

5. GEREÇ ve YÖNTEM	50
5.1. Kimyasal Maddeler	50
5.2. Deney Hayvanları	50
5.3. Kullanılan Modeller	50
5.4. İlaç Gruplarının Oluşturulması	54
5.5. Davranış Deneyleri	54
5.5.1. Pasif sakınma testi	54
5.5.2. Morris'in su tankı testi	55
5.6. Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi	56
5.6.1. Kan glukoz seviyesinin ölçümü	56
5.6.2. Oksidatif hasarın değerlendirilmesi	56
6. BULGULAR	62
6.1. Davranış Deneylerinin Sonuçları	62
6.1.1. Pasif sakınma testinin sonuçları	62
6.1.2. Morris'in su tankı testinin sonuçları	62
6.2. Biyokimyasal Değerlendirmelerin Sonuçları	65
6.2.1. Kan glukoz düzeylerinin değerlendirilmesinin sonuçları	65
6.2.2. Oksidatif hasar değerlendirilmesinin sonuçları	66
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	69
8. KAYNAKLAR	75
9. ÖZGEÇMİŞ	94
10. ETİK KURUL ONAY BELGESİ	95

III. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

Aβ	Amiloid beta protein
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
Agm	Agmatin
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amiloid prekürsör protein
ChAT	Kolin asetiltransferaz
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
GSH	Glutasyon
i.c.v	İntraserebroventriküler
i.p.	İntraperitoneal
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
LPS	Lipopolisakkarit
LTP	Uzun süreli potansiyalizasyon
MDA	Malondialdehit
MPO	Myeloperoksidaz
NBM	Meynert'in bazal çekirdeği
NFY	Nörofibriler yumaklar
NGF	Sinir büyüme faktörü
NMDA	N-metil-D- aspartat
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
PSEN1	Presenilin 1
PSEN2	Presenilin 2
ROS	Reaktif oksijen türleri
STZ	Streptozotosin
TNF-α	Tümör nekrozan faktör alfa

IV. ŞEKİL, TABLO ve RESİMLERİN LİSTESİ

İ) ŞEKİLLERİN LİSTESİ

- Şekil 1.** Sağlıklı bir bireyin ve Alzheimerli hastanın beyin kesitleri
- Şekil 2.** Amiloidojenik yolakta APP metabolizması
- Şekil 3.** Amiloid β üretimiyle yıkımı arasındaki dengesizliğin başlattığı amiloid kaskad hipotezi
- Şekil 4.** Alzheimer hastalığında tau proteini
- Şekil 5.** Sıçan beyinde *septo-hipokampal* sistemin 3 boyutlu yerleşimi
- Şekil 6.** Agmatin ve ilişkili bileşiklerin metabolik yolağı
- Şekil 7.** Pasif sakınma testinde 1.ve 2.gün sonuçları
- Şekil 8.** Morris'in su tankı testinde 1.gün ortalamaları
- Şekil 9.** Morris'in su tankı testinde 2.gün ortalamaları
- Şekil 10.** Morris'in su tankı testinde 3.gün ortalamaları
- Şekil 11.** Morris'in su tankı testinde 4.gün ortalamaları
- Şekil 12.** Morris'in su tankı testinde 5.gün ortalamaları
- Şekil 13.** Beyin dokusunda GSH düzeyleri
- Şekil 14.** Beyin dokusunda MDA düzeyleri
- Şekil 15.** Beyin dokusunda MPO aktivitesi

İİ) RESİMLERİN LİSTESİ

- Resim 1.** (A) Amiloid β plakların ve (B) NFY'lerin mikroskopik incelemede görünümü
- Resim 2.** (A) Stereotaksi aleti ve (B) stereotaksi aletine yerleştirilmiş deney hayvanı
- Resim 3.** Kafatası derisinin kesilip üzerindeki periostun sıyrılması
- Resim 4.** Kanülün yerleştirilmesi
- Resim 5.** Yüzeyin akrilik ile kaplanması
- Resim 6.** Akrilik kuruduktan sonra kanül kapaklarının yerleştirilmesi
- Resim 7.** Pasif sakınma cihazı
- Resim 8.** Su tankı ve bulunduğu oda

iii) TABLOLARIN LİSTESİ

Tablo 1. Alzheimer hastalığında sorumlu genler

Tablo 2. Glutamat reseptörleri ve alttipleri

Tablo 3. Kan glukoz değerleri

1. ÖZET

Alzheimer geri dönüşümsüz ve ilerleyici hafıza kaybını takiben tam demansla karakterize nörodejeneratif bir bozukluktur. Yaşlanmayla insanlarda en sık görülen demans formudur.

Bu çalışmada sıçanlarda intraserebroventriküler (i.c.v) streptozotosin (STZ) ile oluşturulmuş Alzheimer modelinde agmatinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarına etkisi ve bu etkinin oksidatif hasar açısından mekanizması araştırılmıştır. Çalışmamızda Sprague-Dawley erkek sıçanlar kullanılmış, kontrol, sham opere, STZ ve STZ+Agmatin olmak üzere 4 gruba ayrılmışlardır. Alzheimer modeli oluşturmak için stereotaksik yöntem ile sıçanlara i.c.v olarak bilateral STZ 3 mg/kg dozda 48 saat arayla 2 defa uygulanmış ve ilk uygulamayı takiben 14 gün beklenmiştir. On beşinci günde sırasıyla pasif sakınma ve Morris'in su tankı testleri ile öğrenme ve bellek fonksiyonları değerlendirilmiştir. Öğrenmesinin bozulduğu gösterilen sıçanlara 7 gün boyunca günde 2 defa 40mg/kg dozda agmatin intraperitoneal (i.p.) olarak uygulanmış ve takiben aynı testler tekrarlanmıştır. Tüm gruplar davranış testleri bittikten sonra (21. günde) dekapite edilerek beyin dokuları toplanmış ve oksidatif hasarı değerlendirmek için malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) seviyeleri ve myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümleri yapılmıştır.

İntraserebroventriküler STZ ile oluşturulmuş Alzheimer modelinde öğrenme ve bellek fonksiyonlarında belirgin bozulma olduğu ve bu bozulmaya oksidatif hasarın eşlik ettiği gösterilmiştir. Agmatin tedavisi ile hem kognitif fonksiyon testlerinde hem de paralel olarak oksidatif hasarda azalma gösterilmiştir. Bu bulgulara dayanarak agmatinin Alzheimer etyopatogenezinde önemli bir düzenleyici olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: Agmatin, Alzheimer hastalığı, intraserebroventriküler streptozotosin, oksidatif hasar, öğrenme ve bellek

2. SUMMARY

Effects of Agmatine in Experimental Alzheimer Model

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disorder characterized by progressive loss of memory followed by complete dementia. Furthermore it is the commonest form of dementia affecting older people.

In this study we investigated the effect of agmatine on learning and memory functions and on the mechanism of this effect against oxidative damage in intracerebroventricular (i.c.v) streptozotocin (STZ) model of Alzheimer's disease in rats. We used Sprague-Dawley male rats and divided them into 4 groups: naive control, sham operated, STZ and STZ+Agmatine. Rats were injected twice bilaterally i.c.v STZ (3mg/kg) on day 1 and 3 stereotaxically to induce experimental Alzheimer's disease. After 14 days from 1st STZ injection, learning and memory impairment of rats were observed in passive avoidance and Morris water maze tests. Rats that showed learning impairment were administered agmatine intraperitoneal (i.p.) 40mg/kg twice daily for 7 days and they were again subjected to those behavioral tests after this treatment. On the 21st day after 1st STZ injection all groups were sacrificed by decapitation and brain tissues were collected for oxidative damage measurement. Malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) levels and myeloperoxidase (MPO) activity were measured for estimation of oxidative damage.

Our study showed that there's a significant impairment in learning and memory accompanied by oxidative damage in i.c.v STZ model of Alzheimer's disease. Furthermore we demonstrated the effectiveness of agmatine in preventing the cognitive deficits as well as the oxidative damage. Based on these findings it is thought that agmatine can play an important role as a regulator in etiopathogenesis of Alzheimer' disease.

Keywords: Agmatine, Alzheimer's disease, intracerebroventricular streptozotocin, learning and memory, oxidative damage

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Ülkemiz gibi yaşlı nüfusun arttığı ülkelerde demans önemli bir sağlık problemidir. Alzheimer hastalığı, 65 yaşın üzerindeki insanlarda görülen en yaygın demans nedenidir (137). Şu anda tahmin edilen Alzheimerli hasta sayısı 26 milyondan fazla iken 2050 yılında bu sayının 100 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (60). Nörodejeneratif bir hastalık olan Alzheimer geri dönüşsüz ve ilerleyicidir. Hafıza kaybı, kognitif fonksiyonlarda zayıflama, günlük aktivite performanslarında, konuşmada ve görsel-uzaysal algılamada bozukluklarla seyreder (137). Amiloid beta (A β) plak ve nörofibriler yumaklar (NFY) hastalığın en önemli patolojik bulguları olarak kabul edilir (53). Ayrıca oksidatif stres (21, 105), enflamasyon (122) ve glutamat eksitotoksitesisi (63) gibi faktörlerinde bu nörodejenerasyona katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Günümüzde hastalığın nöropatolojisi hala tam olarak aydınlatılamamıştır ve tedavisinde beklenen sonuçlar alınamamaktadır. Dolayısıyla Alzheimer patolojisinde rolü olabileceği düşünülen tüm mekanizmalara yönelik yeni tedavi arayışları sürmektedir. Bu kapsamda son yıllarda çok araştırılan moleküllerden biri de nitrik oksit'dir (NO). Nitrik oksit sentazın (NOS) inhibitörleri ile yapılan çalışmalardan ümit verici sonuçlar alınmaktadır. Benzer şekilde eksitotoksiteyi engellemeye yönelik olarak glutamerjik sistem aktivitesinin baskılanmasına yönelik çalışmalarda özellikle N-metil-D-aspartat (NMDA) antagonistleri ile alınan sonuçlar dikkat çekicidir.

Agmatin hem NOS inhibitörü hem de NMDA antagonistidir ve güçlü antienflamatuvar etki potansiyeline sahiptir (6). Ayrıca iskemide ve eksitotoksitede nöron kaybını azalttığı (41, 42, 73, 107), endojen agmatin üretiminin iskemik hasarından sonra 20 kat arttığı gösterilmiştir (37). Agmatinin iskemik hasar üzerindeki etkisini araştıran çalışmalarda, primer *kortikal* nöronlardan hazırlanan hücre kültüründe oksijen ve glikoz mahrumiyeti ile oluşturulan hasarı önlediği gösterilmiştir (156). Ayrıca agmatinin, kalsiyum ile ortaya çıkan hücre ölümünde koruyucu etki göstermezken NMDA ile ortaya çıkan eksitotoksik etkiyi önlediği de gösterilmiştir (166).

Agmatinin öğrenme ve bellek fonksiyonları için önemli olabileceğini düşündüren çalışmalar yayınlanmıştır. Bir tür şartlı uyaran testinde agmatinin öğrenme belleği olumsuz yönde etkileyebileceğini, hatta amnezi oluşturduğunu göstermişlerdir (141). Uzaysal hafızanın değerlendirilmesinde kullanılan Morris'in su tankı kullanılarak da benzer sonuçlar elde edilmiştir (95). İnhibitör sakınma testi kullanılarak agmatinin daha önce iddia edileninin aksine hatırlamayı kolaylaştırdığı bu etkiyi alfa 2 (α_2) adrenoseptörler, imidazolin ve/veya NMDA reseptörleri ve NO inhibisyonu gibi farklı mekanizmalar üzerinden yapabileceği ileri sürülmüştür (8). Yaşlanmaya bağlı olarak *hipokampal CA1*, *CA2/3* ve *dentat girus* bölgelerinde agmatin düzeyleri incelenmiş ve yaşa bağlı olarak *CA1* bölgesinde azalırken, *CA2/3* ve *dentat girus* bölgelerinde arttığı gösterilmiştir (86). Su tankı, zorunlu yüzme testi (forced swimming test) ve kafeste tutma modeli kullanılarak agmatinin etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada ekzojen olarak verilen agmatinin uzaysal hafıza üzerine etkisi araştırılmıştır. Beynin 10 farklı bölgesinde (*Hipokampal CA1*, *CA2/3*, *dentat girus*, *serebellum*, *vestibüler nükleus*, *prefrontal*, *entorhinal*, *perirhinal*, *postrinal* ve *temporal korteks*) agmatin düzeyleri incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre su tankı yöntemi gibi hayvanın uzaysal hafızasına ihtiyaç duyduğu testlerin uygulanmasından sonra özellikle *hipokampus (CA1 ve dentat girus)*, *entorhinal korteks* ve *vestibüler nükleusta* agmatin düzeylerinin anlamlı bir biçimde arttığı, bu artışın zorunlu yüzmeye tabi tutulmak veya kafeste bekletilmek ile elde edilmediği gösterilmiştir. Buna göre agmatin düzeyleri uzaysal hafıza ile ilişkili bölgelerde arttığını böylece agmatinin uzaysal öğrenme ve bellek proseseleri açısından önemli olduğunu söylemişlerdir (88). Bir diğer çalışmada i.c.v olarak infüze edilen agmatin ile su tankı, yükseltilmiş artı labirent ve açık alan testleri yapılmış (85), agmatin uygulamasının referans hafıza üzerine bir etkisi olmadan hafızayı güçlendirdiği (working memory) gösterilmiştir (87).

Günümüze dek yapılmış tüm bu çalışmalar agmatinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarının düzenlenmesi açısından önemli olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle agmatinin Alzheimer modelinde kognitif fonksiyonlara etkisinin araştırılması planlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Alzheimer Hastalığı

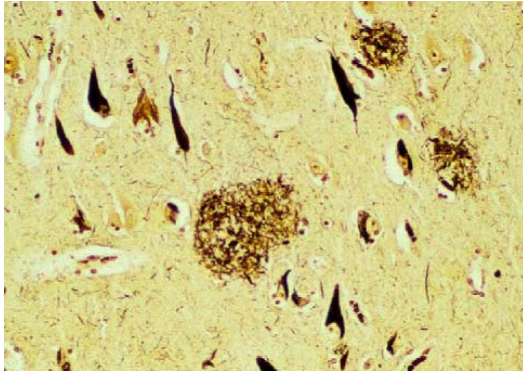
Demans ülkemiz gibi ileri yaş popülasyonun genel nüfus içindeki oranının giderek arttığı ülkelerde gün geçtikçe sıklığı artan önemli bir toplum sağlığı sorunu haline gelmiştir Demans kelimesi latince zihin anlamına gelen "mens" kelimesinden türemiştir ve zihnin yitirilmesi anlamına gelir. Demans kavramı bir sendroma karşılık gelir ve bilinç bulanıklığı olmaksızın başta bellek olmak üzere birden fazla kognitif işlevin günlük yaşam aktivitelerini etkileyecek derecede bozulması olarak tanımlanmaktadır (33). Demansa neden olan hastalıklar başlıca iki ana grupta toplanabilir. İlk grubu oluşturan hastalıklar beyinde ilerleyici hücre hasarına ve ölümüne neden olan nörodejeneratif hastalıklardır. Alzheimer hastalığı primer demanslar olarak tanımlanan bu grupta yer alır. Bu grupta ayrıca demans tablosunun yanında hareketlerde yavaşlama ve yürüme bozukluğu gibi Parkinson hastalığı belirtileri ile ortaya çıkan Lewy cisimcikli demans ve davranışsal bulguların ön planda olduğu frontotemporal demanslar yer alır. Sistemik, nörolojik ya da psikiyatrik bir hastalığa bağlı olarak ikincil nedenlerle gelişen demanslar ise sekonder demanslar altında sınıflanır. Sekonder demansların en yaygın nedeni vasküler demanstır (52).

Alzheimer hastalığı 65 yaş üzeri bireylerde görülen tüm demans vakalarının % 60-65'ini oluşturur ve 4. ölüm sebebidir (137). Hastalığın 5-8 yıla yayılan kognitif ve işlevsel fonksiyonlarda azalmanın görüldüğü hafif-orta-ağır(şiddetli) 3 klinik evresi vardır. İlk evre yakın dönem hafıza bozukluğu ile karakterizedir (39). Hafıza kaybını takiben kognitif fonksiyonlarda zayıflama, günlük aktivitede, konuşmada ve görsel-uzaysal algılamada bozukluklarla seyreder (137). Patolojisinde ise Aβ plaklar, NFY'ler ve nöron kaybı görülmektedir (53). Hastalığın ayırıcı tanısı zordur ve ancak otopsi yapıldığında beyin morfoloji ve histolojisindeki karakteristik patolojik değişikliklerle hastalığın tanısı doğrulanabilmektedir (137).

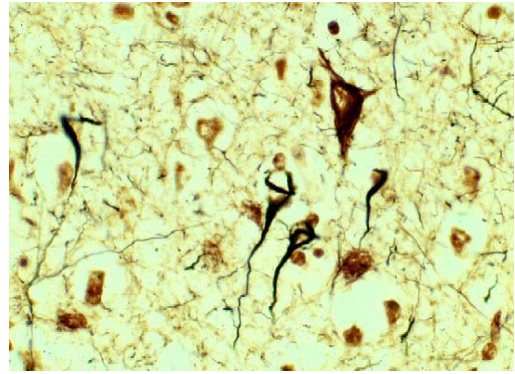
4.1.1. Tarihçe

Alzheimer, hastalığının patolojik karakteristikleri olarak kabul edilen A β plakları ve NFY'yi ilk defa 1906 yılında Alois Alzheimer postmortem beyinde tanımlamıştır (Resim 1a, 1b). Öldüğünde 51 yaşında olan hastasında 5 yıl boyunca progresif hafıza kaybı, halüsinasyon, delüzyon, konuşma ve davranış bozuklukları gözlemlemiştir (68). Bu hastalığın 1960'lara kadar çok nadir bir hastalık olduğu ve sadece presenil yaş grubunda görüldüğü düşünülmüştür (66).

(A)



(B)



Resim 1. (A) Amiloid β plakların ve (B) NFY'lerin mikroskopik incelemede görünümü (21)

4.1.2. Epidemiyoloji

Hastalığın 65 yaşından sonra yaşa paralel artış gösterdiği ve her 5 yılda bir bu riskin ikiye katlandığı gösterilmiştir. Avrupa ülkeleri çapında yapılan EURODERM projesi kapsamında standardize tanı kriterleri ve epidemiyolojik yöntemler kullanılarak Alzheimer hastalığına ait prevalans sonuçları elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre; 60-69 yaşları arasında % 0.3, 70-79 yaşları arasında % 3 ve 80-89 yaşları arasında % 20'dir (33). Günümüzde tüm dünyada 26 milyondan fazla insanın Alzheimer hastası olduğu, 2050 yılında bu sayının 100 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (60).

4.1.3. Risk faktörleri

Risk faktörleri arasında yaşlanma, yüksek miktarda doymuş yağ tüketimi, diabetes mellitus, hipertansiyon, inme, konjestif kalp yetmezliği, kafa travması, atrial

fibrilasyon, menapoz, hiperhomosistinemi, alkolizm, aşırı kilo, beyaz madde lezyonları, ateroskleroz, depresyon, sigara, sedanter yaşam tarzı ve düşük eğitim sayılabilir (60).

4.1.4. Genetik

Genetik açıdan bakıldığında Alzheimer hastalığı ailesel ve sporadik formları olan heterojen bir hastalıktır (110) (Tablo 1). Alzheimer hastalığının ailesel formu otozomal dominanttır. İlk mutasyon 21. kromozomdaki amiloid prekürsör protein (APP) geninde saptanmış ve birçok başka mutasyonu bulunmuştur. Bu mutasyonlar tüm Alzheimer vakalarının % 0.1'den azını oluşturmaktadır. Ailesel vakaların çoğundan 14.kromozomdaki presenilin 1 (PSEN1) ve 1.kromozomdaki presenilin 2 (PSEN2) gen mutasyonların sorumludur. Presenilin mutasyonu görülen bireylerde hastalığın başlama yaşı 40 ile 60 arasında değişmektedir (128). Sporadik Alzheimer hastalığında ailesel formun tersine başlangıç yaşı daha geçtir. On dokuzuncu kromozomdaki apolipoprotein E (ApoE) geni ailesel form için risk faktörü olduğu gösterilmiştir (110).

Tablo 1. Alzheimer hastalığında sorumlu genler (110).

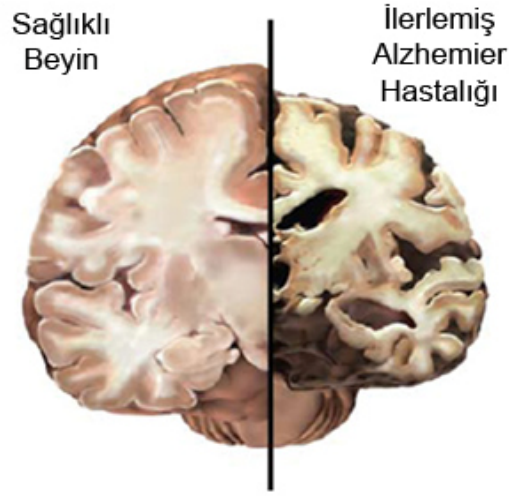
Kromozom	Gen	Fenotip/patoloji
Ailesel form (yaş<65)		
21	APP	A β üretiminde $\uparrow$
14	PSEN1	A β 42 üretiminde $\uparrow$
1	PSEN2	A β 42 üretiminde $\uparrow$
Sporadik form (yaş$\geq$65)		
19	ApoE ϵ 4 alleli	Hastalık için risk faktörü, A β üretiminde $\uparrow$

Meta-analiz çalışmaları ApoE ε4 allelinin hastalık riskini heterozigotlarda 3 kat homozigotlarda 15 kat arttığını göstermiştir. Ancak hala ApoE ε4 allelinin hastalığın patogeneziindeki rolü tam aydınlatılamamıştır. Apolipoprotein E'nin Aβ fibrilizasyonu ve plak oluşumunu yönettiği düşünülmektedir (16). Yeni araştırmalara göre ApoE ε4 allelinin butirilcholinesteraz (BuChE) polimorfizmi ile sinerjik etki göstererek hastalık riskini arttırdığı düşünülmektedir (24).

4.2. Alzheimer Hastalığında Anatomik ve Patolojik Değişiklikler

Alzheimer hastalığında nörodejeneratif süreç *entorinal korteksin* 2. tabakasında başlar, *hipokampus*, *temporal korteks*, *frontoparietal kortekse* yayılır ve en son olarak da *subkortikal çekirdeğe* gider. Bu dejenerasyondan dolayı *entorinal korteksle hipokampal dentat girus* arasındaki bağlantı zayıflar ve zamanlarla *hipokampusun CA1, CA3 ve subikulum* bölgelerinde nöronal bağlantı bozulur. Dejenerasyon daha sonra *neokortekse* yayılır (110). *Entorinal korteks* ve *hipokampus* hafıza işlevinin altyapısını oluşturdıklarından ilk bozulan hafıza işlevi olur. Nörodejenerasyon *temporal kortekse* ulaştığında görsel-uzaysal algılama bozuklukları, *frontoparietal kortekse* ulaştığında ise dikkat ve yönetici işlevler bozulur. Meydana gelen bu değişiklikler Alzheimer hastalığının seyriyle uyum göstermektedir (127).

Alzheimerli beyinde yapılan otopsi atrofi dahil olmak üzere geniş alana yayılmış birçok değişiklik görülmesini sağlamıştır. *Girusların* büzüldüğü, *sulkusların* ve *ventriküllerin* farkedilebilir ölçüde genişlediği gösterilmiştir. Yaşlanma sırasında beyin kütleinde küçük bir kayıp gözlenirken Alzheimerli beyinde özellikle *neokortekste* olmak üzere sinir hücrelerinin, sinapsların ve dendritlerin belirgin kaybından dolayı kütleinin 1/3'ünü kaybettiği gözlenmiştir (72) (Şekil 1).



Şekil 1. Sağlıklı bir bireyin ve Alzheimerli hastanın beyin kesitleri (72)

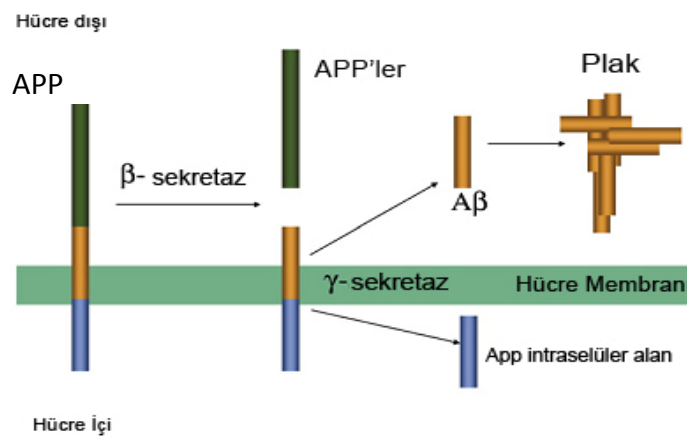
Alzheimer'de serebral glukoz metabolizmasının *hipokampus*, *singulat girus*, superior ve orta *temporal girus*larda azaldığı, *frontal lob*da ise arttığı gösterilmiştir. Bu bulgunun *hipokampal* atrofi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Hastalığın şiddeti ile serebral glukoz metabolizmasının değişebileceği gösterilmiştir (157).

Alzheimer hastalığının patolojisinde A β agregasyonu ve plak oluşumu, tau hiperfosforilasyonu ile yumak oluşumu, oksidatif stres, enflamasyon, nörovasküler, mitokondriyal ve sinaptik disfonksiyon, sinaps kaybı, kolinerjik innervasyon kaybı gibi çeşitli mekanizmalar sorumlu tutulmaktadır (16, 21, 22, 53, 84, 122).

4.2.1. Amiloid β agregasyonu ve plak oluşumu

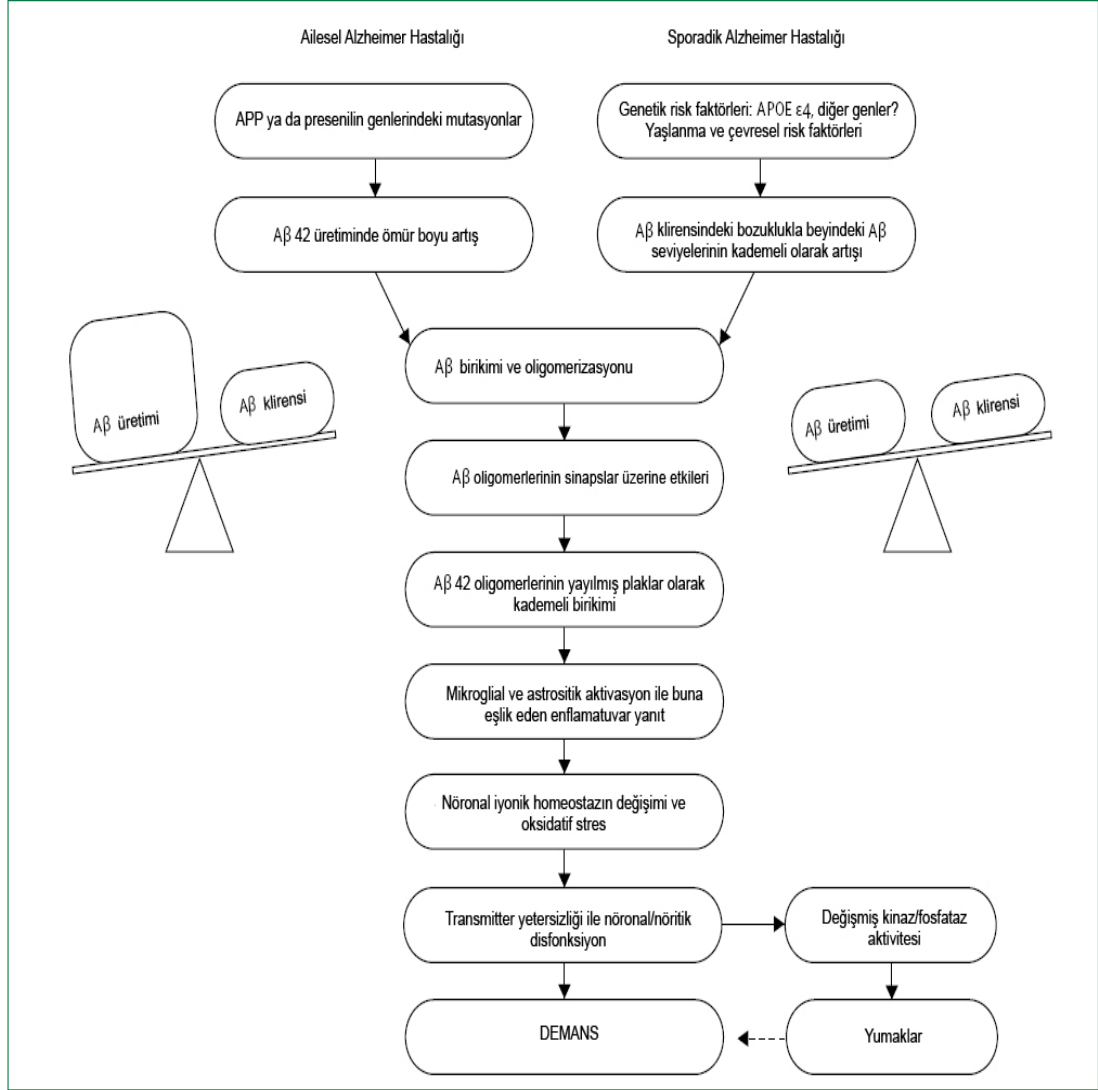
Amiloid β plak amiloid agregatlarının oluşturduğu bir çekirdek, ölü nöronlar, mikroglia ve ApoE'den oluşmaktadır (137). Amiloid β 'ların asosiyatif *kortikal alan*larda kümелendiği gösterilmiştir (126). Plak sayısı ile demansın şiddeti arasında bir korelasyon bulunması hastalığın patojenezinde plakların rolüne dikkat çekmiştir. Plakların çözünür olmamasından dolayı 1980'lerin ortalarına kadar protein bileşimi tespit edilememiştir. Araştırmacılar plak çekirdeklerini saflaştırmayı başarmışlar, ana plak bileşeni A β 'nın aminoasit dizisini tespit etmişler ve takiben APP genini klonlamışlardır (16). Amiloid prekürsör protein nöronlar ve glial hücreler tarafından üretilen bir transmembranal glikoproteindir (149) ve metabolizması 2 farklı yoldan

gerçekleşir. Amiloidojenik olmayan yolda α sekretaz enzimi, amiloidojenik yolda ise β ve gamma (γ) sekretazlar yer alır. Amiloid prekürsör proteinin çoğu α -sekretazla, kalan kısım ise β -sekretazla ayrılır ve β -sekretazla ayrılmanın sonucu oluşan C-terminal parçacıklar ise γ -sekretazla ayrılır. Alfa-sekretazla ayrılmanın ürünleri herhangi bir beyin patolojisine sebep olmaz iken β - ve γ -sekretazlarla farklı aminoasit uzunluklarına sahip $A\beta$ 'lar oluşmaktadır (Şekil 2). Amiloid β_{40} ve $A\beta_{42}$ en yaygın görülen formdur. Her iki formda toksik olmasına rağmen $A\beta_{42}$ 'nin çözünmediği ve amiloid plaklarda biriktiği ve böylece nöronal sitotoksosite nedeniyle beyinde nörodejenerasyona yol açtığı kabul edilmektedir. Amiloid β_{42} , 2 farklı konformasyonel formda kümelenebilir, bunlardan biri β tabakası yapısında ve fibriller halde olmayan form, diğeri ise β tabakası yapısında fibriller formdur. Bu β tabakası yapısında olan fibriller form sitotoksiktir ve plaklarda depolanır. Amiloid β_{42} başlangıçta monomer halde bulunmaktadır, monomerlerin oligomerizasyonu sırasında oligomer, protofibril ve fibril gibi daha büyük formlara oligomerize olmaktadır. Oligomerizasyon sırasında bu elementleri β tabakası yapısında fibriller forma dönüştüren konformasyonel değişiklikler meydana gelmektedir. Amiloid β nın ara ürünleri (oligomer ve protofibril) ve olgun fibrillerin hepsi nörotoksiktir (99). Amiloid β plaklardan $A\beta_{40}$ ve $A\beta_{42}$ 'nin protofibril ve oligomerlerinin erken dendritik ve sinaptik hasara dolayısıyla da nöronal disfonksiyona katkıda bulunduğunu gösterilmiştir (154).



Şekil 2. Amiloidojenik yolda APP metabolizması (99)

Alzheimer hastalığının sebebi için en önemli kabul edilen hipotez amiloid kaskad hipotezidir ve beyinde A β 'nın üretimiyle yıkımı arasındaki dengesizlik bu olayı başlatır (Şekil 3).



Şekil 3. Amiloid β üretimiyle yıkımı arasındaki dengesizliğin başlattığı amiloid kaskad hipotezi (16)

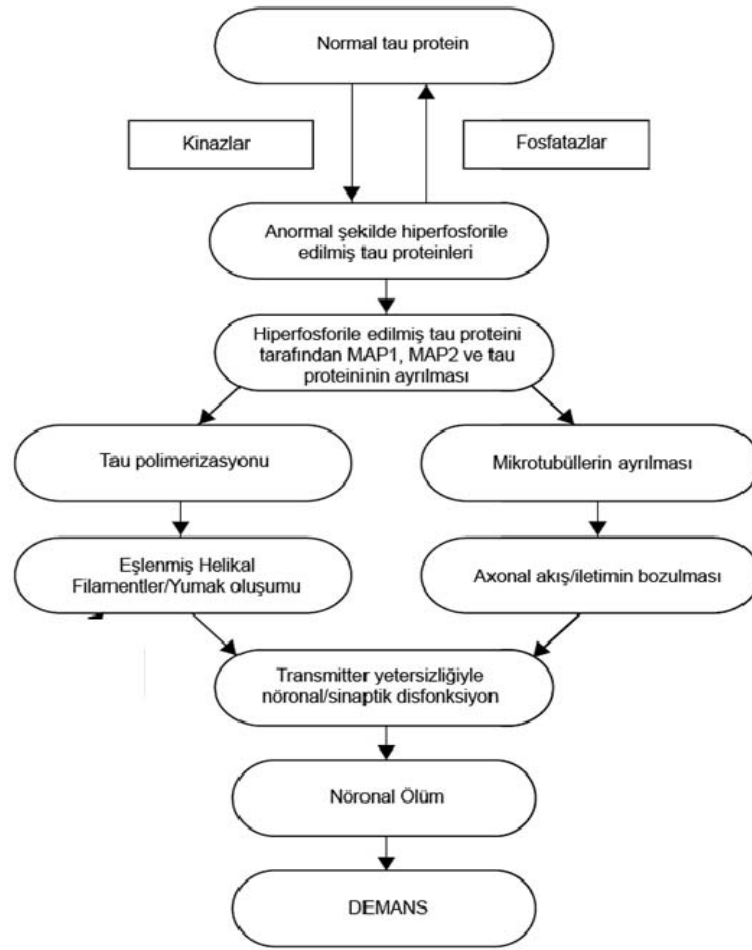
Hastalığın ailesel formunda A β üretimi artmıştır, sporadik formunda ise A β klirensi azalmıştır. Amiloid β oligomerleri direk olarak *hipokampusta* öğrenme ve bellek için temel mekanizma kabul edilen uzun süreli potansiyalizasyonu (long term potentiation, LTP) inhibe edebilir ve sinaptik fonksiyonu bozabilir. Ayrıca A β

agregatlarının birikimi enflamasyona ve oksidatif strese yol açar. Dolayısıyla nöronal ve sinaptik fonksiyon bozulmasına bağlı olarak kognitif bozukluklar gelişir (16).

Amiloid β 'nin Alzheimer hastalığının patogeneğinde anahtar rol oynadığı düşünülse de A β plakların hastalığın sebebi olduğu kesinlik kazanmamıştır. Bu şüpheler A β plak yüküyle Alzheimer hastalığında demansın ilerlemesi ve şiddeti arasında zayıf korelasyon bulunmasıyla artmıştır. Nörofibriler yumakların gelişimi kognitif yeteneklerin düşüşüyle daha iyi korelasyon göstermektedir (19, 154).

4.2.2. Tau hiperfosforilasyonu ile NFY oluşumu

Tau patolojisi Alzheimer hastağının erken döneminde *transentorinal bölgedeki* nöronlarda başlar, *hipokampus* ve *amigdalaya* yayılır ve sonra da *neokortikal asosiyasyon alanlarına* gider. Tau hiperfosforilasyonu ve yumak oluşumunun hastalığının sebebi mi yoksa sonucu mu olduğu bilinmemektedir Plaklardaki A β 'nin tanımlanmasına paralel olarak NFY'ların anormal olarak hiperfosforile olmuş tau proteinlerinden oluştuğu gösterilmiştir (16). Mikrotübül ilişkili protein (microtubule associated protein, MAP) tau, normalde diğer 2 MAP (MAP1 ve MAP2) gibi mikrotübüllere bağlanarak mikrotübüllerin düzenine ve stabilitesine katkıda bulunur. Tau fosforilasyonu çoklu kinazlar ve fosfatlar arasındaki dengeyle düzenlenir. Alzheimer hastalığında tau hiperfosforilasyonu hücre içinde başlar ve çiftli helikal filament formunda kümeleşirler. Taunun hiperfosforilasyonu, normal tau ve diğer MAP'ların mikrotübüllere bağlanmasına engel olarak mikrotübüllerin birbirlerinden ayrılmasına neden olur. Dolayısıyla aksonal transport bozulması nöronal ve sinaptik fonksiyonlar tehlikeye atar (65) (Şekil 4).



Şekil 4. Alzheimer hastalığında tau proteini (16)

4.2.3. Oksidatif stres

Oksidatif stres, superoksit radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species, ROS) tarafından biyolojik moleküllerin aşırı oksidasyonudur. Normalde ROS'lar hücresel metabolizmanın yan ürünlerdir ancak belirli koşullar altında oluşumları ve detoksifikasyonları arasındaki denge bozulur. Bu durum oksidatif stres ve hücre hasarına sebep olur. Oksijen kullanımının fazla olması nedeniyle beynin oksidatif strese duyarlılığı diğer organlara göre fazladır. Nöronların metabolik hızı diğer beyin hücrelerinden yaklaşık 5 kat fazla olduğundan özellikle oksidatif strese karşı savunmasızdır. Ayrıca nöronlar yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asitleri içerirler. Bu yağ asitleri ROS'la etkileşerek lipid peroksidasyonuna ve moleküler yıkıma neden olur. Ayrıca

nöronlarda sitozolik peroksitlerin eliminasyonundan sorumlu olan major antioksidan kabul edilen glutatyon miktarı düşüktür (92).

Alzheimer hastalığının başlangıcında ve ilerlemesinde oksidatif stresin önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Hastalığını ilerlemesi sırasında lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA oksidasyonu görülür (21). Bir çalışmada APP'nin aşırı eksprese edildiği farelerde beyin A β kümelerinin oksidatif stres biyomarkörleriyle (hem oksijenaz-1, demir, hidroksinonenal, pentosidin) kolokolize olduğu bulunmuştur (134). Bu bulgular oksidatif stres ile A β birikimi arasında yakın bir ilişkini olduğunu düşündürmektedir (21).

Oksidatif stres A β oluşumunu ya APP seviyesini arttırarak ya da dolaylı yoldan β - ve γ -sekretaz seviyesini, aktivitesini değiştirerek etkileyebilir. Amiloid β 'nin kendisinin de oksidan etkisi vardır (105). Amiloid β agregatları hücre içine girerek mitokondri hasarına neden olur. Böylece mitokondriyal elektron transport sisteminden elektron sızıntısına ve hücre içi serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar. Bu serbest radikaller membranda lipid peroksidasyonu ile nöron membranlarının bütünlüğünü bozarlar. Serbest radikal oluşumuna paralel olarak kalsiyum eksitotoksitesi artar ve bu her iki faktör sinerjistik davranarak nöron ölümüne neden olur. Bu yüzden hücre membranını geçebilen antioksidanların tedavide faydalı olabileceği düşünülmektedir (137). Ayrıca A β , ROS oluşumuna ve nöronlarda oksidatif toksisiteye metal iyonlarını indirgemesiyle sebep olabilir (21). Alzheimer hastalığından sorumlu çevresel faktörlerden biri olan alüminyum biyolojik sistemlerde oksidatif strese sebep olur. Bunun dışında alüminyum bileşikleri oksidatif stresin sebep olduğu hücresel hasarda lipid peroksidasyonunu arttırır. Bu nedenden alüminyum ve alüminyum bileşikleri Alzheimer hastalığındaki nörodejenarasyona katkıda bulunduğu düşünülmektedir (18). Oksidatif strese monoamin katabolizmasının da katkıda bulunabileceğini gösteren çalışmalar vardır. Otopside Alzheimerli hastalardan alınan *prefrontal korteks* dokusunda monoamin B aktivitesinin anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir. Ancak ne kognitif fonksiyon ne de plak ve NFY'lerle korelasyon göstermiştir (71). Bir diğer bulgu da Alzheimer hastalığı sırasında oksidatif stres sonucu oluşan hücresel hasara bozulmuş hücresel onarma mekanizmalarının da katkısının olmasıdır. Alzheimerli hastaların beyin

omurilik sıvısında (BOS) DNA'daki oksidatif hasar göstergesi olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin seviyesinin anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir. Bu bulgu Alzheimerli hastalarda DNA düzeyinde bir bozulma olabileceğini düşündürmüştür (21).

4.2.4. Enflamasyon

Alzheimer hastalığının patojenezinde enflamasyonun yer aldığına dair bir görüş birliği vardır. Buna rağmen patojenik süreçteki rolü hala tartışmalıdır. Yüz yıl önce insan *korteks*inde biriktiği gösterilen, bugün A β peptid olduğunu bildiğimiz madde lokal enflamatuvar reaksiyonun en iyi bilinen indükleyicilerindendir. Günümüzde bu görüş güncelliğini korumakla birlikte nöronların dejenerasyonuna ve ölümüne yanıt olarak gelişebileceği düşünülmektedir (122). Daha önceleri nöronların pasif olduğu düşünülse de günümüzde enflamatuvar mediyatörlerin üretiminde önemli rolleri olduğu, enflamatuvar reaksiyonları şiddetlendirebildikleri ve Alzheimer hastalığına katkıda bulundukları kabul edilebilmektedir (55).

Post mortem beyin incelemelerinde proinflamatuvar sitokinler ve kompleman aktivasyon ürünleri gibi enflamasyon mediyatörlerinin bol miktarda bulunduğu gösterilmiştir (122). Alzheimer hastalığı ile ilişkili bulunan sitokinler dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF- β), tümör nekrozan faktör α (TNF- α), interlekin-1, 2, 6, 10 ve 12'dir (97). Histopatoloji aktif mikroglia ve astrosit hücrelerinin sayısının arttığını gösterilmiştir (122). Mikroglialar santral sinir sisteminin primer immün efektör hücreleridir. Mikroglia hücreleri sağlıklı durumda dinlenme fazındadır. Alzheimer hastalığı gibi patolojik koşullarda aktive olur ve nörotoksositeye katkıda bulunan olan NO, ROS ve TNF- α gibi sitokinleri salgılar. Astrositler santral sinir sisteminin infeksiyöz ve otoimmün hastalıklarında rol oynarlar ve mikroglia gibi siyokin salınımında rol alır. Her iki hücre tipinin hem tahrip edici hem de koruyucu rolleri vardır (97). Astrosit ve mikroglia hücreleri A β tarafından aktive edilir. Dolayısıyla A β 'daki artış enflamasyonun güçlenmesine hücre ölümünün artmasına katkıda bulunur Bu nedenle Alzheimer hastalığının patogenezinde sitokinlerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bu görüş birçok sitokinin hafıza oluşumu için anahtar rol

oynayan hipokampal LTP'yi baskılayabildiklerinin gösterilmesiyle de desteklenir (55).

4.2.5. Nitrik oksit

Nitrik oksit L-argininin L-sitruline dönüştüğü yolla NOS aracılığıyla ara ürün olarak oluşmaktadır. Yarılanma ömrü çok kısa olan bir gazdır, biyolojik membranlardan kolaylıkla geçer ve hücreler arası mesajcı olarak görev yapar. Nitrik oksit düşük (fizyolojik) konsantrasyonlarda stabilitesini koruyarak fizyolojik işlevlerini yerine getirirken, yüksek konsantrasyonlarda patolojik olaylarda yer alır (91). Patolojik olaylardaki yeri çiftlenmemiş elektron taşıması sebebiyle serbest radikal gibi davranmasındandır. Supeksit anyonları ile birleşerek sitotoksik peroksinitrit üretimine neden olur. Organizmada peroksinitrit, hidroksil radikali gibi davranan hidroksinitrite dönüşür. Peroksinitritin parçalanmasıyla yüksek konsantrasyonlarda nitrojen dioksit oluşur. Bu reaktif nitrojen bileşikler karbonhidratlar, amino asitler, lipidler ve metallerle reaksiyona girerek enzim fonksiyonlarını bozar, membran bütünlüğüne zarar vererek hasar oluşturur (32). Nitrik oksit, L-argininden NOS enzimi aracılığıyla sentezlenir. Nöronal dokularda bulunan nöronal NOS (nNOS) ve endotelial hücrelerde eksprese edilen endotelial NOS (eNOS) yapısal ve aktivasyonları kalsiyuma bağımlıdır. İndüklenebilir NOS (iNOS) ise pro-enflamatuvar sitokinler ve endotoksinler tarafından indüklenerek oluşur. Alzheimer hastalığında bu 3 izoformun da arttığı gösterilmiştir. Bu bulgu NO'nun Alzheimer hastalığının patogeneğinde önemli bir rol oynadığını gösterir (165).

Astrositlerde iNOS ve eNOS'un ekspresyonunun artmasının A β plaklarının varlığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (51). Birçok çalışmada A β 'nin mikrogliya ve astrosit hücrelerinde NO üretimini uyardığı gösterilmiştir. Alzheimer hastalığında mikrogliaların A β plaklarının çevresinde kümelenmesi beraberinde yardımcı T (CD4 T) hücrelerinin aktive olduğu, interferon γ (IFN- γ) dahil birçok sitokin üretilmesinin arttığı gösterilmiştir. Böylece aktive olan mikrogliya hücreleri iNOS aracılı NO salınımının artmasına ve buna bağlı olarak TNF- α üretilmesine neden olur. Sitokinlerin astrositlerde ya doğrudan ya da A β aracılığıyla iNOS ekspresyonunu indükleyebilir. Bu değişik araçlarla NO üretiminin artması sonucu büyük ihtimalle

serbest radikal oluşumuna ve hücre ölümüne sebebiyet verecektir. Alzheimer hastalarının beyinlerinde hem NO hem de peroksinitrit aracılı nöronal hasar gösterilmiştir. Alzheimer hastalarının beyinlerinde oksidatif stresin arttığı dolayısıyla lipid, protein ve DNA oksidasyonun arttığı gösterilmiştir. Bu hasardan tek sorumlu NO değildir. Nitrik oksit sentaz ekspresyonunun artması ve ona bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin ve mitokondriyal hasarın oluştuğu bilinmektedir. Bunların dışında NO enflamasyona siklooksijenaz (COX) enziminin indüklenebilir olduğu kabul edilen alt tipinin (COX-2) aktivitesini artırarak da katkıda bulunur. Alzheimer’de COX-2 ekspresyonunun up regüle olduğu gösterilmiştir (79).

Amiloid β ’nın dışında reaktif astrositlerin hümelendiği gösterilmiştir. Alzheimer hastalarında nöron kaybının olduğu bölgelerde özellikle *entorinal korteksin* 2. tabakasında ve *hipokampusun CA4* bölgesinde olmak üzere *CA1*, *subikulumda* A β plakların yanında nNOS pozitif reaktif astrositler birlikte bulunur. Ayrıca sadece A β değil aynı zamanda NFY’lerin yoğun bulunduğu *entorinal korteks* ve *hipokampusta* nNOS ekspresyonunun arttığını gösteren çalışmalar vardır Alzheimer hastalığının patogenezinde astrositik nNOS dikkati çekmektedir (51). Nitrik oksidin reaktif oksidatif özelliklerine bağlı olarak hücre hasarı oluşturması temel nörotoksik mekanizmasıdır. Nitrik oksidin aşırı üretimine yol açan bir uyarının varlığı, nöron hasarına sebep olur. Özellikle nNOS aracılığıyla NO oluşumuna glutamat aracılık eder. N-metil-D-aspartat tipi glutamat reseptörlerinin uyarılması hücre içine giren kalsiyum miktarını artırır. Bu hücredeki tüm enzimleri beraberinde de NOS’u aktive eder. Dolayısıyla glutamerjik aktivitenin artması nNOS’un da aktive olmasına neden olur. Artan NO ve ona bağlı olarak meydana gelen hasara A β ’nın oluşturduğu oksidatif hasar da eşlik eder. Bu şekilde Alzheimer hastalığının patojenezinde glutamat eksitotoksitesi, A β ve NO aracılı toksisite birbirlerinin etkinliğini güçlendirir.

Bazal ön beyin çekirdeğinde kolinerjik nöronlarla NOS-pozitif nöronların kolokelize bulunduğu gösterilmiştir. Nitrik oksidin asetilkolinin (ACh) salıverilmesini ayarladığı çalışmalarla gösterilmiştir. Ama bunun Alzheimer hastalığının patolojisine etkisi hala bilinmemektedir (79).

4.2.6. Nörovasküler disfonksiyon

Serebrovasküler ve A β plak patolojisi arasında dönüştürücü patojenik mekanizmalar olabileceğine dair bazı kanıtlar vardır. Çeşitli çalışmalarda Alzheimer ve serebrovasküler hastalığın eş zamanlı olabileceği göstermiştir. Nörovasküler hipoteze göre kan damarlarında fonksiyonel bozukluk nöronların besin alımını bozarak ve beyinden A β klirensini azaltarak kognitif fonksiyon kaybına katkıda bulunabilir. Bu tip serebrovasküler değişiklikler vasküler farklılaşma geni ME0X-2' nin down regülasyonu ile başlatılabilir. Serebral mikrodamarların kaybı, beyin kan akımının azalması ve A β 'nin beyinden dışarı atılmasının azalması ile sonuçlanır. Ek olarak vasküler endotelial büyüme faktör geni özellikle de genin promotör bölgesindeki polimorfizm hastalığın sporadik formuyla ilişkili bulunmuştur. Hem insan hem de deneysel çalışmalar iskemi ile oluşan serebral patolojinin, APP ekspresyonunun upregülasyonu ve A β depolanması ile sonuçlandığını göstermiştir. Ancak, karışık bulgular hastalığın sürecinden bağımsız olarak eş zamanlı vasküler patolojinin ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir (16).

4.2.7. Mitokondriyal disfonksiyon

Mitokondriyal disfonksiyonun Alzheimer hastalığının patolojisinde önemli bir yeri olabileceği düşünülmektedir. Alzheimerli beyinde glukoz metabolizmasının değişmesiyle uyumlu olarak mitokondri fonksiyonunun bozulduğu gösterilmiştir. Benzer durum postmortem beyin örneklerinde mitokondriyal trikarboksilik asit döngüsü enzimlerinin aktivitesinin büyük oranda değişmesiyle de gösterilmiştir. Elektron mikroskopik çalışmalar Alzheimerli beyinde hastalıktan etkilenen alanlarda mitokondriyal morfolojinin değiştiğini ve etkilenen nöronlarda mitokondri sayısının azaldığını göstermiştir. Ayrıca NFY'lerin oluşumundan önce nöronlarda mitokondriyal DNA ve COX enzimi seviyelerinin değiştiği de gösterilmiştir. Bu sebeple mitokondri anormallikleri Alzheimer hastalığında en erken sitopatolojik değişken olarak kabul edilir (22).

Mitokondriyal disfonksiyona A β 'nin direk etkisi olduğu düşüncesi, transgenik farelerde A β 'nin mitokondriyal DNA ve proteinleri etkileyebildiğinin gösterildiği çalışmalarla desteklenmiştir (17). Yapılan bir çalışmada A β mitokondriye girdiğinde

amiloid bağlayıcı alkol dehidrojenaz (amiloid binding alcohol dehydrogenase, ABAD) ile birleştiği ve Alzheimerli beyinde bu bileşiğin varlığı gösterilmiştir (140). Transgenik farelerde ABAD'ın aşırı ekspresyonu gösterilmiştir. Amiloid β ile bu enzimin bağlanması ise nöronal stresi arttırdığı, öğrenme ve bellek fonksiyonlarını bozduğu gösterilmiştir (163).

4.2.8. Sinaptik disfonksiyon ve sinaps kaybı

Alzheimer hastalığında sinaptik disfonksiyon hastalığın erken dönemlerinde ortaya çıkmaktadır. Hastalığın ilerlemesine bağlı hafıza yetersizlikleri yeni anıların oluşumu için kritik öneme sahip *entorinal korteks* ve *hipokampustaki* patolojik değişiklikler sonucu olduğu düşünülmektedir. Alzheimer hastalarının beyinlerinde sinaps yoğunluğu anlamlı olarak azalmıştır ve bu azalma kognitif yetersizlik ile plak ya da NFY'lerden daha uyumludur. Sinaptik bütünlük ve plastisiteki değişiklikler Alzheimer hastalığının patogenezinde erken fenotipik belirtidir. Özellikle A β sinaptik fonksiyonlardaki değişikliklerin sebebidir. Deneysel Alzheimer modellerinde A β plak oluşumundan önce *hipokampusta* LTP ve/veya bazal sinaptik iletim yetersizliği olduğu gösterilmiştir (84). Ayrıca orta şiddetli Alzheimer hastalarında neokortikal plastisitede yetersizlik bunun da NMDA aracılığıyla olduğu gösterilmiştir (11).

4.2.9. Kolinerjik innervasyon kaybı ve diğer nörotransmitter sistemler

Bazal ve rostral ön beyin kolinerjik yollarının, bilinçli farkındalık, dikkat, çalışan bellek ve ek olarak birçok öğrenme ve bellek aktivitesinde önemli fonksiyonel rolleri vardır. Alzheimer hastalığında bu yollardan özellikle *bazal ön beyin* kolinerjik yolağında kognitif zayıflamayla uyumlu hasar ya da anormallikler vardır. Yapılan çalışmalardan yüksek afiniteli kolin geri alımı, bozulmuş ACh salınımı, muskarinik ve nikotinik reseptör ekspresyonunda yetersizlik ve disfonksiyonel nörotrofin desteği bulguları elde edilmiştir (149).

Kolinerjik yetersizlik Alzheimer hastalığının nöropsikiyatrik tablosuna katkıda bulunur (9). Kolin asetiltransferaz (ChAT), kolin ile asetilkoenzim A arasındaki reaksiyonu katalizleyerek ACh oluşumunu sağlar. Kolin asetiltransferaz aktivitesi

kolinerjik nöronların markörü olarak kullanılmaktadır (43). Alzheimerli beyinlerde *temporal lobta, parietel ve frontal kortikal alanlarda* ChAT aktivitesinde % 30'tan 90'a varan kayıplar ve ChAT mRNA seviyesinde yaklaşık % 50 azalma gösterilmiştir. Kolin asetiltransferaz aktivitesindeki kayıp *Meynert'in bazal çekirdeğindeki* (NBM) kolinerjik nöronların özellikle *Ch4* alt bölümlerinde sayısal azalmayla paralellik gösterir. Postmortem çalışmaların çoğunda birçok kortikal alanda ChAT aktivitesiyle A β plakların yoğunluğu arasında belirgin fakat değişken negatif bir korelasyon bulunmuştur. Bununla birlikte ACh sentezi için ChAT hız kısıtlayıcı olmadığından ChAT aktivitesindeki azalma Alzheimer hastalığındaki kognitif semptomların nedeni değil, bazal ön beyin kolinerjik nöronlarının kaybı sonucu olduğu düşünülmektedir (9).

Asetilkolinesteraz (AChE), kolinerjik sinir terminallerinde ACh'yi parçalayan ana enzimdir ve Alzheimer hastalığında AChE aktiviteleri *korteks, hipokampus ve amigdalada* azalmıştır. Asetilkolinesteraz enziminin beyinde dağılımı belirgin olarak değişmiş, aksonlarda kısmen daha az miktarda kalmıştır. Enzim aktivitesi A β plak ve NFY'de yoğundur. Plak ve yumakların büyük çoğunluğunda hem AChE hem de BuChE varlığı gösterilmiştir (109). Hastalık ilerledikçe AChE aktivitesi azalırken BuChE aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (23). Butirilkolinesterazın rolü ise hala tam anlaşılamamıştır (151).

Kolinerjik yetersizliğin Alzheimer hastalığının erken veya geç döneminde ortaya çıktığını savunan 2 farklı görüş vardır (120). Bazı araştırmacılar son dönem Alzheimer hastalarının *hipokampus ve kortekslerinde* ChAT aktivitesinin azalmış olduğunu savunurken hafif şiddetli Alzheimer hastalığı ya da hafif kognitif yetersizlikte bu alanlarda ChAT aktivitesinde değişiklik olmadığını bulmuşlardır. Bu veri ciddi ChAT eksikliğinin çoğunlukla Alzheimer hastalığının geç evresinde görüldüğünü düşündürmektedir (9). Bu görüşü destekleyen bir başka bulgu *NBM*'de ChAT ve veziküler ACh taşıyıcısı içeren nöronların, hafif kognitif bozukluğu olan hastalarda ve erken evre Alzheimer hastalarında kısmen korunduğunun gösterilmesidir. Bir grup araştırmacı kortikal kolinerjik deaferentasyonun yaşlanmaya eşlik ettiğini ve bunun Alzheimer hastalığının prelinik semptomu olarak düşünülebileceğini savunmaktadır. Kortikal kolinerjik yetersizliğin orta

yaşlarda başladığını ve A β seviyesindeki artışı yakından takip ettiğini de savunurlar. Yetmiş yaşındaki insanların üçte ikisinde *kortikal* A β birikintileri varken 90'lı yaşlarda bu oran % 90'a çıkar (120).

Asetikolin 2 farklı reseptör alttipine bağlanır; nikotinik ve muskarinik. Postmortem çalışmalar muskarinik asetilkolin reseptör (mAChR) yoğunluğunun azaldığını göstermektedir. Kognisyonda yer alan mAChR ana alttipleri ACh'nin etkilerine aracılık eden postsinaptik muskarinik (M) 1 reseptörleri ve ACh salınımını inhibe eden presinaptik M2 reseptörleridir. Alzheimer hastalığında M1 reseptör yoğunluğu değişmezken hastalık şiddetlendiğinde M1 reseptörlerinin G proteinleri ile kenetlenmesinin anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir. M1 reseptör/G protein kenetlenmesinde kaybın büyüklüğü Alzheimer ile ilişkilidir. Hastaların *frontal korteks*lerinde protein kinaz aktivitesi ve NMDA reseptör yoğunluğundaki azalmayla da korelasyon gösterir (100).

Alzheimer hastalarının beyinlerinde *neokortikal* ve *hipokampal alan*larda nikotinik ACh reseptör (nAChR) bağlanmasında belirgin azalma gösterilmiştir. nAChR'lerin $\alpha 7$ ve $\alpha 4\beta 2$ alttiplerinde (76, 93, 153) ve presinaptik terminallerdeki kayıp ile progresif kognitif azalma ilişkili bulunmuştur. Nikotinik ACh reseptörleri psikomotor stimülasyon, pekiştirme ve sinaptik potansiyalizasyon gibi çeşitli kognitif ve gelişimsel süreçlerde rol alır Alzheimer hastalığında A β peptitlerin progresif birikiminin nAChR fonksiyonunu bilinmeyen bir mekanizma ile bozduğu gösterilmiştir (93).

Hayvan çalışmaları sinir büyüme faktörü (nerve growth factor, NGF) ile kolinerjik nöronların kaybı arasında ilişki olduğu ve bellek kaybına katkıda bulunabileceğini göstermiştir. Sinir büyüme faktörü *bazal ön beyin* kolinerjik nöronları için en önemli trofik faktördür. İn vivo çalışmalar endojen NGF'nin *bazal ön beyin* kolinerjik nöronlarının gelişimi, sağkalımı ve fonksiyonları için önemli olduğunu, ChAT aktivitesi, yüksek afiniteli kolin geri alımı, ACh salımı ve somata boyunu etkileyebileceğini göstermiştir. Dahası NGF ile *bazal ön beyin* kolinerjik nöronları arasındaki etkileşimin öğrenme ve bellek fonksiyonları için kritik öneme sahip olduğu da gösterilmiştir. Alzheimer hastalığında NGF'nin hedef bölgelerden

retrograd transportunun bozulduğu düşünülmektedir. Postmortem çalışmalarda *bazal ön beyin* kolinerjik nöronlarında NGF'nin reseptörü olan tirozin kinaz A'nın (Trk A) hem ekspresyonunun hem de immünoreaktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Bu durum *bazal ön beyin*deki NGF içeriğinin azalmasına katkıda bulunabilir. Hastalıkta TrkA azalmasının kolinerjik yetersizliğe NGF aracılığıyla katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (9).

Kolinerjik sistem ve Alzheimer hastalığının patolojik markörleri arasında çeşitli etkileşimler vardır. AChE potent bir amiloid-arttırıcı faktör gibi çalışırken (120) ACh ise bilinmeyen bir mekanizma ile APP kolaylaştırır ve tau fosforilasyonunu azaltır. Bu nedenle Alzheimer hastalığında azalmış NGF sinyalinin eşlik ettiği azalmış ACh salınımı A β plak ve NFY benzeri yapılar gelişimini kolaylaştırabilir. Kolinerjik, NGF ya da APP aktivitesindeki aksaklıklar Alzheimer hastalığının patolojik kaskadına katkıda bulunan nöronal iletimin disregülasyonuna neden olabilir (9).

Glutamat

Glutamat memeli santral sinir sisteminin ana nörotransmitteridir. Beyinde oldukça yüksek konsantrasyonlarda bulunur, sinir terminallerindeki sinaptik geçişi yönlendirir ve nöron içine iyon geçişini kontrol ederler. Nöronal yaşam, sinaptogenesis, nöronal plastisite, öğrenme ve hafıza üzerinde etkilidir. Ayrıca nörotoksisitenin de potansiyel kaynağıdır. Glutamatın anormal düşüklüğü normal eksitasyonun bozulmasına, aşırı yükselmesi ise kalsiyum homeostazını bozarak eksitotoksiteye ve hücre ölümüne neden olabilir. Bu nedenle normal şartlarda sinaptik aralıktaki glutamat seviyelerini düzenleyen hassas bir mekanizma mevcuttur. Bununla beraber sistemin yetersizliğine yol açabilen veya çok yüksek glutamat salınımına neden olan patolojik durumlar eksitotoksisiteyle sonuçlanır (48).

Glutamat, presinaptik nöronlarda glutaminaz enzimi aracılığıyla glutamin'den oluşur. Sinaptik aralığa geçtiğinde postsinaptik bölgede yer alan reseptörleri ile etkileşime geçer. Bu reseptörler, iyonotropik alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolepropionik asit (AMPA), kainat ve NMDA reseptörleri ve metabotropik reseptörleri (mGluR) olarak 2'ye ayrılır (Tablo 2). Bu reseptörlerin aktivasyonu sonucu hücre içine kalsiyum girişi olur. Sinaptik aralıktan glutamatın

uzaklaştırılması aktif bir işlemdir ve çoğu glial hücrelerdeki taşıyıcıları (eksitator aminoasid taşıyıcıları 1 ve 2, EAAT1 ve 2) tarafından gerçekleştirilir. Bu taşıyıcıların bir kısmı da (EAAT3) nöronlarda bulunmaktadır. Bu taşıyıcılarla glutamatin presinaptik nörona geri alınmasıyla glutamin-glutamat döngüsü yeniden başlar. Alzheimer hastalığında glutamat-glutamin döngüsündeki aksaklığın nörodejenerasyona katkıda bulunduğu düşünülmektedir (155). Alzheimer hastalarında EAAT1 ekspresyonunun ve glutamat geri alınımının aynı yaştaki kontrollere göre anlamlı olarak azaldığı plateletlerde ve fibroblast kültürlerinde gösterilmiştir. Plateletlerde yapılan çalışmada bu azalma ile demans şiddeti arasında bir korelasyon bulunmazken, fibroblast kültürleri ile yapılan çalışmada EAAT1 ekspresyonunun azalması ile demansın şiddetinin korelasyonu gösterilmiştir (170, 171).

Tablo 2. Glutamat reseptörleri ve alttipleri (28, 147)

İyonotropik reseptörler	AMPA	Kainat	NMDA	Metabotropik reseptörler	1.grup	2.grup	3.grup
Alt tipleri	GluR1	GluR5	NR1		mGluR1	mGluR2	mGluR4
	GluR2	GluR6	NR2A		mGluR5	mGluR3	mGluR6
	GluR3	GluR7	NR2B				mGluR7
	GluR4	KA-1	NR2C				mGluR8
		KA-2	NR2D				
			NR3A				

Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolepropionik asit reseptörleri:

Bu reseptörler LTP ve tersi olarak düşünülen uzun süreli depresyon (long term depression, LTD) gibi sinaptik plastisite için esansiyeldir. Uzun süreli potansiyalizasyon postsinaptik membrana fazladan AMPA reseptörlerinin eklenmesiyle, LTD ise bu reseptörlerinin sayıca azalması ile ilişkilidir. Alzheimer’de sinaptik plastisitede değişiklikler gösterildiğinden AMPA reseptörlerinin hastalığın patolojisinde rolü olabileceği düşünülmüştür ancak bu rol hala aydınlatılamamıştır.

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda Alzheimer hastalığının erken döneminde AMPA reseptörlerinin down regüle olduğu gösterilmiştir. Bunun A β ile ilişkili olduğu, A β 'nın peptitleri seçici enzimatik degradasyonu kolaylaştırabileceği ve AMPA reseptörleri üzerine direk etki gösterdiği düşünülmektedir (101).

Amiloid β 42, *CA1* nöronlarına uygulandığında AMPA aracılığıyla ile oluşan nöronal aktiviteyi zayıflattığı, NMDA aracılığıyla oluşan aktiviteyi ise potansiyalize ettiği gösterilmiştir (148). Amiloid β 42 ve 40 mikromolar konsantrasyonlarda uygulandığında sadece A β 42'nin AMPA reseptör fonksiyonunu azalttığı gösterilmiştir (102) Başka bir çalışmada ise A β 'nın postsinaptik membrana AMPA reseptörlerinin katılımına ve stabilizasyonuna aracılık eden proteini (PSD-95) etkilediği gösterilmiştir (118).

N-metil-D-aspartat reseptörleri:

Yüksek kalsiyum geçirgenliğine sahip olmalarından dolayı bu reseptörlerin aktivasyonu glutamat aracılı nöronal hasarın ilk basamağını oluşturur. Sinaptik mikroçevrede aşırı glutamat ve NMDA reseptörlerinden kalsiyumun sürekli içeri akışı ile gerçekleşen eksitotoksositeye bağlı nöron ölümünün Alzheimer hastalığındaki nöron dejenerasyonun temel sebeplerinden biri olduğu düşünülmektedir. Bu görüş NMDA reseptör antagonistlerinin nöronal kaybı azalttığını gösteren çeşitli çalışmalarla desteklenmiştir. Bu reseptörlerin A β aracılı nörotoksitede rolü vardır (101). Sıçan *magnoselüler bazal çekirdekte* ve A β 25-35'aracılı nörotoksitede NMDA reseptör antagonisti MK-801 ile azaltılmıştır (54). *Hipokampus*a A β 40 enjeksiyonunun *CA1* alanında nöron kaybına neden olduğu ve NMDA reseptör antagonisti memantinin ise bunu azalttığı gösterilmiştir (96). NMDA reseptör aktivasyonunun A β 'nın sentezinin artmasına APP proteolizini α -sekretaz yolağından toksik fragmentlerin olduğu β yolağına çevirerek katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (81).

A β 'nın NMDA reseptörlerini azaltabileceği ve NMDA reseptör fonksiyonunu bozarak sinaptik glutamerjik iletimi de baskılayabileceği de düşünülmektedir. *Hipokampal* kültürlerde A β 25-35 ve A β 40 kümelerini çevreleyen piramidal nöronlarda NMDA reseptörlerinin immünoreaktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (69).

Kortikal nöron kültürlerine A β 42 uygulanması ise NMDA reseptörlerinin endositozunu arttırmıştır. Bu bulguyu destekleyen başka bir çalışmada ise aşırı A β 42 üreten farelerde NMDA reseptörler seviyelerinin azaldığının gösterilmesidir (135). Alzheimerli beyinde hipokampus ve entorinal kortekste NMDA reseptör NR2A ve NR2B alttiplerinin ekspresyonun azaldığı, NR1'in azalmadığı gösterilmiştir (15). Tüm bu bulgular doğrultusunda A β 'nin NMDA reseptörlerini azaltmasının ile glutamerjik iletimin ve NMDA reseptör aracılı LTP azalması ile sonuçlandığı ve kognitif yetersizliklerde sebep olan plastisite sürecini başlatığı düşünülmektedir (101).

Metabotropik glutamat reseptörleri:

Bu reseptörler presinaptik membranda lokalizedir ve glutamat salınımı regüle, sinaptik transmisyonu optimize ederler. *Prefrontal korteks* kognitif kontrolde yer alan temel beyin bölgelerindendir ve GABAerjik iletim çalışan bellek gibi kognitif operasyonlar sırasında bilginin temporal akışını şekillendirerek anahtar rol oynar. Amiloid β 42 ve A β 25-35 uygulanması *prefrontal kortekste*ki mGluR5 aracılığıyla GABAerjik iletimin potansiyelizasyonunu engellediği ve A β 42 uygulanmasının ise mGluR2 ve 3 aracılığıyla NMDA reseptör potansiyelizasyonu bozduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla NMDA reseptörleri ve GABAerjik iletimdeki bu değişikliklerin kognitif yetersizliklere sebep olabileceği düşünülmektedir (101).

Alzheimerli beyinde frontal kortekste mGluR1 ekspresyonun azaldığı ve bu azalmanın hastalığın evreleriyle korele olduğu gösterilmiştir (1). Başka bir çalışmada ise post sinaptik yoğunlukta % 40'lara varan mGluR2 kaybı bildirilmiştir (44).

Serotonin (5-HT)

Neokortekse giden serotonerjik afferentlerin çoğu *dorsal rafe çekirdeğinden* çıkar. Bu çekirdek Alzheimer'de NFY, A β plak oluşumu ve hücre kaybı gibi tipik nöropatolojik değişiklikler görülür. *Rafedeki* bu patolojiyle tutarlı olarak *kortikal* serotonerjik akson terminallerinde 5-HT'nin salınımı ve geri alınımı bozulmuştur. Özellikle *temporal* ve *parietal kortekste* 5-HT ve metaboliti 5-hidroksiindolasetikasit seviyeleri azalmıştır, diğer *kortikal alanlar* daha az etkilenmiştir. Kontrole göre

kortikal serotonin değerleri % 70 azalabilir ve hastalığın erken döneminde ortaya çıkar (30). Alzheimer’de serotonerjik kayıpla depresyon ve saldırgan davranışın korelasyonu gösterilmiştir (52).

Noradrenalin (NA)

Santral NAjik sistemin *ventrolateral tegmental* noradrenerjik hücrelerden ve *lokus seruleustan (locus ceruleus, LC)* çıkan 2 farklı projeksiyonu vardır. *Lokus seruleustan* çıkan projeksiyonlar kognitif fonksiyonlarla ilişkilidir (36). Alzheimer hastalığının erken döneminde *LC*’de nöronal hücre ölümü olduğu gösterilmiştir ve bu kayıp en fazla *LC*’nin merkez ve dorsal kısmındadır. Bu nöronal kayıp ve takiben NAjik aksonların dejenerasyonu, *LC* projeksiyon alanlarında NA seviyesinin düşmesine neden olur. *Korteks* (özellikle *frontal* ve *temporal*) ve *hipokampusu* da içeren ön beyin alanlarında NA ve dopamin beta hidroksilaz seviyelerinin azalmış olduğu gösterilmiştir. (30).

Lokus seruleustaki bu kayıp ve NA seviyesindeki azalma enflamatuvar mekanizmaları da tetikler. Noradrenalinin mikroglia da TNF- α ’nın sentezini, astrositlerde enflamatuvar moleküllerin oluşumunu ve salımını baskıladığı gösterilmiştir. Ayrıca NA’nın astrosit ve mikroglia hücrelerindeki β -adrenerjik reseptörleri aktive ederek lipopolisakkarit (LPS) veya sitokinler aracılığıyla artırılmış iNOS ekspresyonunu inhibe edilebileceği gösterilmiştir (55).

Depresyonu olan Alzheimer hastalarında olmayanlara göre daha fazla *LC*’de kayıp olduğunun gösterildiği çalışmalar olsa da NAjik sistem ile Alzheimer hastalığının davranışsal semptomları arasındaki ilişki hala kesinlik kazanmamıştır (77).

4.3.Alzheimer Hastalığının Semptomatik Tedavisi ve Diğer Yaklaşımlar

Günümüzde tedavide kullanılan ilaçlar AChE inhibitörleri ve NMDA reseptör antagonisti memantindir. Bu ilaçlarla tedavi kognitif bozuklukları hafifletmeye yöneliktir.

Asetilkolinesteraz inhibitörleri: Alzheimer hastalığında kolinerjik hipotez *bazal ön beyin çekirdeğinde* kolinerjik nöronların dejenerasyonunun *hipokampus* ve *neokortekste*ki presinaptik kolinerjik terminallerde bozukluğa sebebiyet vermesi üzerine kurulmuştur. Bu nedenle terapötik yaklaşımlardan biri kolinerjik iletimin etkinliğini arttırmaktadır. Bunun için sinaptik aralıkta ACh'yi parçalayan AChE'yi inhibe etmek amaçlanır. ACh inhibitörleri olan donapezil, rivastigmin, galantamin Alzheimer hastalığında hafif-orta evre için klinik kullanımı onaylanan ilaçlardır. Donapezil ve galantamin selektif AChE inhibitörleridir. Rivastigmin AChE ve BuChE'yi benzer afiniteyle inhibe eder. Galantamin ayrıca allosterik olarak presinaptik nikotinik reseptörleri module eder. Sistemik derlemeler ve meta analiz çalışmaları değerlendirildiğinde etkinlik açısından AChE inhibitörleri arasında bir fark bulunamamıştır (137). Asetilkolinesteraz inhibitörlerinin etki mekanizmasını göz önüne alındığında Alzheimer hastalığının doğal gidişatını değiştirmesi beklenmez, bazı semptomları geçici olarak hafifletir. Bazı çalışmalar 2 yıla kadar etkili olabileceklerini göstermiştir (16).

Memantin: Memantin yarışmasız NMDA-reseptör antagonistidir ve bu reseptörlere düşük-orta derceli afinite gösterir. Düşük-orta afinite göstermesi yüksek afinite gösteren ketamin, amantadin gibi diğer antagonistlerin nöropsikiyatrik yan etkileri olmasından dolayı önemlidir. (117). Memantin glutamat aracılı eksitotoksisteden nöronları koruyacağı bunu yaparken de kognitif fonksiyon için gerekli fizyolojik NMDA reseptör aktivasyonunu önlemediği düşünülmektedir (16). Diğer antagonistler gibi yüksek dozlarında sinaptik plastisiteyi inhibe edebilir (117). Nörotrofik faktörlerden nöron sağkalımı için esansiyel olan beyin kaynaklı nörotrofik faktör (brain derived neurotrophic factor, BDNF) sinaptik plastisiteyi düzenleyerek öğrenme ve bellek fonksiyonlarında rol oynar. Memantin sıçanlarda BDNF ve reseptörü TrkB seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir. Hastalığa bağlı ikincil olarak gelişen demanslardan vasküler demans ve Wernicke-korsakoff hastalığında da yararlı olduğu düşünülmektedir (16). Asetilkolinesteraz inhibitörleri ile karşılaştırıldığında memantin sadece hafif-orta demanslarda değil şiddetli evrede de yararlı olabileceği düşünülmektedir (115).

Diğer tedavi yaklaşımları

Non-steroidal antienflamatuvar ilaçlar (NSAİİ): Alzheimer hastalığındaki temel bulgulardan olan amiloid plaklara lokal enflamasyonun eşlik ettiği gösterilmesinden sonra NSAİİ ile tedavinin hastalık riskini azaltıp azaltmayacağı araştırılmaya başlanmıştır. Ancak enflamasyonun mu nörotoksik etkilere katkıda bulunduğu yoksa A β depolanmasına ikincil olarak mı geliştiği hala belirsizdir. Deneysel çalışmalarda özellikle transgenik farelerle yapılan çalışmalarda NSAİİ'nin beyin A β yükünü azalttığı gösterilmiştir. Bu etkiyi ya COX inhibisyonuyla ya da γ -sekretaz üzerine direk etkisiyle yaptığı düşünülmüştür. Selektif COX-2 inhibitörleri selekoksib ve rofekoksib gibi antienflamatuvar ilaçlarla yapılan klinik çalışmalarda bu ilaçların Alzheimer hastalığında kognisyon üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir. İlk geniş ölçekli klinik çalışmada selektif COX-2 inhibitörlerinden beklenen sonuçlar ne yazık ki elde edilememiştir. Bu durum ilaçların orta yaşta alınırса koruyucu olabileceği, patoloji geliştikten sonra dejeneratif süreci tersine çeviremedikleri şeklinde açıklanmıştır. Prednizon, hidroklorokinon gibi steroid antienflamatuvarlarla da klinik çalışmalar yapılmış ama NSAİİ'de olduğu gibi sonuç alınamamıştır (16). Antienflamatuvar aktivitenin mikrogial aktivasyon ve nörotoksinlerin salınımı üzerinde ne düzeyde etki sağladığı hala tartışmalıdır (137).

Kolesterol azaltıcı ilaçlar: Alzheimer hastalığı ve kolesterol arasında bir bağlantı olabileceğini düşündüren çalışma yüksek kolesterol diyetiyle beslenen tavşanlarda A β birikimi olduğunu gösterilmesidir. Ancak benzer çalışma transgenik farelerde yapıldığında beyinde hem artmış hem de azalmış A β yükü gösterilmiştir. Aynı transgenik hayvanlar kolesterol düşürücü ilaçlarla tedavi edildiğinde ise beyin A β yükünü azalttığı ileri sürülmüştür (16). Statinlerin IFN- γ aracılı T hücre aktivasyonunu engellediği ve bu şekilde enflamasyonu azaltarak nöroprotektif etki yaptığı gösterilmiştir (137). Retrospektif çalışmalar statinlerle tedavinin hastalığın insidansını azaltabileceği, bunu izleyen prospektif çalışmalarda ise statin kullanımıyla hastalık riskinin azalması arasında bir bağlantı bulunmadığı gösterilmiştir (16). Yapılan klinik çalışmalarda atorvastatin hem tek başına hem de donepezile yardımcı olarak Alzheimer'de etkisiz bulunmuştur. Atorvastatin gibi simvastatinin de tek başına kullanımı etkisizdir (119).

Östrojenler: Epidemiyolojik çalışmalar postmenapozal östrojen desteğinin demans riskini azaltabileceğini düşündürmüştür. Hayvan çalışmaları da nöronal fonksiyonlar üzerine etkileri ile bu öngörüğü desteklemiştir. Ancak geniş randomize kontrollü çalışmalarda östrojenlerin hastalığın riskini azaltmadığı bulunmuştur (16). Östrojenlerin oksidatif stres ve eksitotoksisteye bağlı nöron ölümünü önlediği, kolinerik ve monoaminerjik nörotransmitter iletim sistemini up regüle ettiği düşünülmektedir. Bu bulgulardan hareketle yapılan kontrollü çalışmalarda östrojen yerine koyma tedavisinin verbal hafızayı koruduğu gösterilmiştir (137). Kadınlarda menapoz sonrası görülen osteoporozun önlenmesi ve tedavisi için onaylı selektif östrojen reseptör modölatörü raloksifenin hafif kognitif bozukluk riskini azalttığı gösterilmiş ve Alzheimer tedavisinde faydalı olabileceği düşünülerek araştırmalara başlanmıştır (119).

Antioksidanlar: Alzheimer'de önemli bir yere sahip olan oksidatif hasarın varlığı antioksidanların tedavide faydalı olabileceğini düşündürmüştür. E ve C vitaminleri, idebenon, selenyum, selejilin, lipoik asit, trans resveratrol ve melatonin tedavide etkileri araştırılan antioksidanlardır. Geniş gözlemsel çalışmalar antioksidanların diyetle alınımının hastalığın riskini azalttığını ileri sürerken yapılan klinik çalışmaların sonuçları bu görüşü desteklememiştir (16). İn vitro çalışmalar E vitamininin Aβ'nın neden olduğu lipid peroksidasyonunu ve oksidatif stresi azalttığını ve bu sırada meydana gelen enflamatuvar sinyal kaskadını baskıladığını göstermiştir. C vitaminin ise nitratları azaltarak nitrozaminlerin oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (57). E ve C vitaminlerinin Alzheimer hastalığının riskini azalttığına dair yapılan klinik çalışmaların sonuçları ise tutarsızdır (67). Son zamanlarda yapılan çalışmalar yüksek doz E vitamini (≥ 400 IU/d) desteği ile ölüm oranının artabileceğinin, bu nedenle E vitamini kullanımında dikkatli olunması gerektiğini düşündürmüştür. Koenzim Q10'nun sentetik analogu olan idebenon ile yapılan klinik çalışmada Alzheimer hastalığındaki kognitif bozulmayı yavaşlatmadığı gösterilmiştir (57). Bunun dışında faydalı olabileceği düşünülen antioksidanlardan selenyum, l-carnitin (50) ve monoaminoksidaz-B inhibitörü olan selejilin (121) klinik çalışmalarda etki gösterememişlerdir. Deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre lipoik asit, trans resveratrol ve melatoninin tedavide yararlı olabileceği düşünülmektedir (132, 134, 135).

Ginkgo biloba: İçeriğindeki flavonoidler aracılığıyla antioksidan, terpenoidlerle de antienflamatuvar etki yaptığı düşünölmektedir (152). Ginkgo biloba hafıza ve kognisyon üzerine olası etkilerinden dolayı geniş kullanım alanı bulmuştur. Plaseboyla karşılaştırmalı 8 yıllık çalışmada ginkgo biloba (günde iki kez 120 mg) demans ya da Alzheimer insidans oranını sağlıklı veya hafif kognitif bozukluğu olan yaşlı bireylerde değiştirmemiştir (26).

Huperzin A: Huperzia serrata adlı bir in bitkisinden elde edilen bir alkoloidtir. Hayvan ve hücre költür çalışmalarında potent AChE inhibitörü olduğu, glutamat eksitotoksitesinden nöronları koruduğu gösterilmiştir (46). Ayrıca nöronları Aβ25–35 toksitesinden koruduğu, apoptoziste rol alan kaspaz 3 aktivitesini inhibe ettiği ve ROS oluşumunu da engellediği gösterilmiştir (161). Faz II çalışmasında 400μg huperzin A'nın ilk sonlanım noktasında kognitif fonksiyonları güçlendirdiği gösterilmiş fakat 2. sonlanım noktasında aynı etki görölmemiştir. Bunun dışında iyi tolere edildiği gözlemlenmiştir (119).

Omega-3: Birçok klinik çalışma omega 3 yağ asitlerinden dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenik asitlerin (EPA) yüksek miktarlarda alımının Alzheimer hastalığının kardiyovasvasküler disfonksiyon, insölin direnci ve sistemik enflamasyon risk faktörlerine karşı koruyucu olduğunu göstermiştir. Transgenik fareler DHA açısından zengin diyetle beslendiklerinde kontrollere göre total Aβ seviyesinin *hipokampus* ve *parietal kortekste* doza bağımlı olarak % 70 daha az olduğu gösterilmiştir. Omega 3 (DHA+EPA) tedavisi için çift kör prospektif randomize kontrollü tek çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmada kognitif disfonksiyona göre alt gruplar oluşturulmuş ve omega 3 tedavisi sadece kognitif disfonksiyonun hafif olduğu alt grupta yararlı bulunmuştur (72).

Aşılama ve immünizasyon: Amiloid prekürsör protein mutasyonu olan transgenik farelerde Aβ ile immünizasyonun amiloid plak yoğunluğunu azalttığı ve kognitif fonksiyon testlerinden alınan sonuçları iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu bulgu üzerine Alzheimer hastalarında Aβ peptit AN1972 ile aktif immünizasyon yapılan randomize çift-kör plasebo kontrollü bir klinik çalışma başlatılmış fakat hastaların çoğunda meningoensefalit gelişmesi üzerine durdurulmuştur (121). Pasif

immünizasyon yaklaşımlarından bapineuzumab faz III çalışmasına kadar gelebilen tek ilaçtır. Faz II çalışmasından etkinlik ile ilgili yeterli bilgi elde edilememiştir. Bu çalışmada görülen en ciddi yan etki ise vasojenik ödemdir. Bu yaklaşımlar dışında intravenöz immunglobulin (IVIg) tedavisinin yararlı olabileceğini gösteren çalışmalar vardır (119).

Beta-sekretaz inhibitörleri: Beta-sekretaz inhibitörü KMI-429, APP mutasyonlu transgenik farenin *hipokampusuna* enjekte edilmiş ve A β üretiminin anlamlı olarak azaltılabileceği gösterilmiştir. Beta-sekretaz inhibitörlerinin kullanımı tedaviye yeni bir yaklaşım getirmekle birlikte terapötik potansiyeli etki mekanizması nedeniyle meydana gelen toksisiteden dolayı kısıtlıdır. (121).

Gamma-sekretaz inhibitörleri: Gamma-sekretaz inhibitörleri (DAPT, LY450139 dihidrat ve BMS-299897) ile tedavi edilen kemirgenlerde beyin, BOS ve plazma A β seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir. DAPT'ın akut uygulanmasının transgenik farelerde kognitif fonksiyon bozukluğunu azalttığı ve bu etkinin A β seviyesinin azalmasına bağlı olduğu gösterilmiştir. Bir klinik çalışmada LY450139 dihidrat ile 6 haftalık tedavi sonrası plazma A β 40'ın % 38 oranında azaldığı fakat BOS seviyesinde bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarla γ -sekretaz inhibitörleri ile tedavinin iyi tolere edildiği gösterilmiştir. Ancak yüksek dozlarında kullanılması durumunda A β konsantrasyonunu nasıl etkileyeceği bilinmemektedir (121). LY450139'dan daha selektif olan BMS708163'ün faz II çalışması sürmektedir.

(<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00810147?term=BMS708163&rank=2>,

Erişim tarihi: 29 Kasım 2009).

Gamma-sekretaz modulatörleri: Tarenflurbil'in (flurbiprofenin R-enantiyomeri) γ -sekretazı module ederek A β 'nın özellikle toksik olmayan formunun üretimini arttırdığı gösterilmiştir. Ancak 12 ay süren bir faz II çalışmada tarenflurbil ile tedavi sonrasında hiçbir yarar gözlenmemiştir. (121). Potansiyel kullanımı test etmek için faz III çalışması yapılmış ve etkinlik görülünceye kadar bu ilaçla ilgili çalışmalar durdurulmuştur (119).

Antifibrilizasyon ajanları: Proteoglikanlar amiloid depolarının önemli bir bileşenidir ve amiloid fibrillerin oluşumunda rol oynarlar. A β 'nın nörotoksitesinin sebebi sarmal yapısından, oligomerik forma (β -katlanmış) geçmesidir. Sülfatlanmış glikozaminoglikanlar bu forma geçişi kolaylaştırır ve fibriler proteini parçalanmaktan korurlar (40).

Tramiprosatin (NC-531) sülfatlanmış glikozaminoglikanların A β 'ya bağlanmasını taklit eden bir maddedir. Bu özelliği nedeniyle nöron kültüründe A β 'nın fibrilize olmasını ve hücre ölümünü azalttığı gösterilmiştir. Benzer bulgular transgenik hayvan çalışmalarıyla desteklenmiştir. Az sayıda klinik çalışma yapılmıştır. Bunlardan biri 3 ay süre ile tramiprosat tedavisinin sonucu olarak BOS'ta A β 42 düzeylerini doza bağımlı olarak azalttığını göstermiştir (121). Yapılan faz III çalışması ile fayda sağlamadığı görülmüştür (119).

Tau ile ilişkili yaklaşımlar: Tau proteinlerinin fosforilasyonu NFY oluşumu için kritik öneme sahiptir ve glikojen sentaz kinaz 3 beta (GSK 3 β) gibi hücre içi kinazlara bağlıdır. Bu mekanizmayı lityum ve valproik asit kullanmaktadır. Lityumun hücre kültüründe ve transgenik farelerde GSK 3 β 'yı inhibe ederek tau proteinlerinin hiperfosforilasyonunu azaltabileceği gösterilmiştir. Ayrıca aşırı APP üreten farelerin beyinlerinde A β birikimini de bloke edebileceği gösterilmiştir. Ancak lityumun terapötik penceresinin dar olması nedeniyle özellikle yaşlılarda toksik etkisi nedeniyle kullanımı tartışmalıdır (121). Valproik asidin de hafif-orta şiddetli Alzheimer hastalığındaki etkinliği ile ilgili çalışmalar halen sürmektedir (<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00071721?term=valproic+acid+alzheimer&rank=1>, Erişim tarihi: 29 Kasım 2009).

Metal şelatörleri: Çinko, bakır ve demir gibi şelat oluşturan iyonlar temel olarak *neokortekste* bulunurlar. Çinko çözünür A β 'yı çözünmez agregatları halinde çöktürür. Bakır ve demir ise asidik pH'ta A β agregasyonunu indüklerler. Bu biyometallerin miktarının ileri derece azalması ise A β depolarının çözünmesine sebep olur. Ayrıca metal iyonları A β aracılığıyla hidrojen peroksit üretimini katalizler. Metal şelatörlerinden clioquinol ile transgenik farelerde yapılan bir

çalışmada maddenin metal iyonlarının A β 'ya bağlanmasını ve A β depolanmasını önlediği gösterilmiştir (137). Pilot bir faz II klinik çalışmada kliokinolün A β agregasyonu inhibe edebileceği ve A β kaynaklı oksidatif stresi azaltabileceği sonucuna varılmıştır (121). Oral kullanımı subakut myelo-optik nöropati ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (116). Lipofilik metal şelatörü, molekül-XH1'in insan hücrelerinde APP protein ekspresyonunu azalttığı, gösterilmiştir. Transgenik farelerde yapılan çalışmalarda ise molekül XH1'in ve DP-109'un amiloid plak yükünü anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir (121). Bakır ve çinko şelatörü PBT2, faz II çalışmasında santral sinir sisteminde A β 42 seviyelerini doza bağımlı azalttığı gösterilmiştir. Ciddi bir yan etki bildirilmemiştir (119).

Sinir büyüme faktörü gen terapisi (CERE-110): Eksojen NGF uygulanması sıçanlarda eksitotoksik *neokorteks* lezyon sonrası *bazal çekirdek*te nöron kaybını azalttığı ve atrofiyi düzelttiği gösterilmiştir (20). Bu gen terapisi anestezi altında stereotaksik bilateral cerrahi işlemle *bazal ön beyine* uygulanmaktadır. Faz II çalışması devam etmektedir

(<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT00087789?term=cere+110&rank=1>, Erişim tarihi: 29 Kasım 2009).

AZD3480: Nikotinik Ach reseptörlerinin α 4 β 2 alttipinin selektif agonistidir. Fare ve sıçanlarda hafızayı güçlendirdiği gösterilmiştir. Sıçan hipokampal nöron kültürlerinde oksijen ve glukoz deprivasyonu ile oluşturulan hasarı önlediği gösterilmiştir (38). Yaşlanmaya bağlı bellek fonksiyon yetresizlikleri olan sağlıklı bireylerde dikkat ve epizodik belleği güçlendirici etki göstermiştir (31). Alzheimer'deki etkisi araştırılmaktadır

(<http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=azd3480+alzheimer>, Erişim tarihi: 29 Kasım 2009).

Dimebon: Rusya'da 1983'te antihistaminik olarak onaylanan bir ilaçtır. İn vitro nöronları A β toksisitesinden koruduğu, AChE ve BuChE aktivitesini ve NMDA reseptörlerini inhibe ettiği gösterilmiştir (10, 49). Rusya'da yapılmış bir klinik çalışmada kognitif fonksiyonlarda iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Yan etki olarak

en sık ağız kuruğu ve depresyon görülmüştür (29). Alzheimer tedavisinde etkinlik ve güvenilirlik araştırmaları devam etmektedir

(<http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=dimebon+alzheimer>, Erişim tarihi: 29 Kasım 2009).

4.4. Deneysel Araştırmalara Yönelik Hayvan Modelleri

Alzheimer hastalığında gözlenen kognitif, davranışsal, biyokimyasal ve histopatolojik anormallikleri tam olarak taklit edebilen bir hayvan modeli geliştirilememiştir. Bununla beraber, Alzheimer hastalığının nöropatolojisi ve hastalıkta gözlemlenen kognitif bozukluklar farmakolojik ve genetik yaklaşımlarla modellenebilmektedir (162).

- Kolinerjik fonksiyon bozulmasına bağlı modeller
- Transgenik fare modelleri
- Amiloid β peptid ile ilişkili transgenik olmayan modeller
- Nörofibriller yumak ile ilişkili modeller
- Lokal glukoz metabolizması, serebral kan akımı ve sitokrom oksidaz aktivitesinin azaltılması esasına dayanan modeller
- Aluminyum toksisitesi modeli

Kolinerjik fonksiyon bozulmasına bağlı modeller:

Alzheimer hastalığının gelişiminde *bazal ön beyin* dejenerasyonu erken evrede ortaya çıkmaktadır (162). *Bazal ön beyin* özellikle *NBM kortikal* ve *hipokampal* kolinerjik innervasyonun temel kaynağıdır ve dejenerasyonu kognitif bozuklukla ilişkilidir (104). Buradan yola çıkılarak kognitif fonksiyonlardaki kolinerjik sistemin rolünü araştırmak için kolinerjik lezyon modeli kullanılmıştır (162). Lezyon oluşturmak için elektrolitik (90), mekanik (*fimbria/forniks* çapraz kesisi) ve kimyasal (nonspesifik eksitotoksinler veya kolinotoksin ve AF64 gibi kolinerjik sisteme spesifik toksinlerin uygulanması) yöntemler kullanılmıştır.(94)

Elektrolitik lezyon yöntemi bir prob yardımıyla beynin seçilen bölgesine belli bir frekansta akım uygulayarak lezyon oluşturmaya dayanır (90).

Fimbria/forniks, medyal septal alandan hipokampusa primer olarak kolinerjik iletimin sağlandığı yolaktır. Ancak kolinerjik olmayan yollar (NA,5-HT, GABA, vs.) da etkilendiğinden *fimbria/forniks* çapraz kesisi yönteminin kullanımı kısıtlıdır (62, 94).

Spesifik olmayan eksitotoksinler ibotenik asit, NMDA, AMPA, kainat ve kuiskuolik asit gibi glutamat analoglarıdır. Bu eksitotoksinlerin uygulanan dokudaki selektifliklerine göre lezyonun boyutu değişir. Kolinerjik lezyon ile ilişkili öğrenme ve bellek bozulması amaçlanmış olmasına rağmen başka sistemlerin de katkısı gösterilmiştir. Birçok çalışma kuiskuolik asidin ibotenik asitten daha fazla kolinerjik yetersizlik yaparken ibotenik asidin daha fazla öğrenme ve bellek bozukluklarını bozduğunu göstermiştir (94). Bilinen tek endojen eksitotoksin olan kinolik asidin (NMDA agonist) icv infüzyonuyla Alzheimer hastalığı dahil olmak üzere birçok nörodejeneratif hastalığı taklit eden kronik bir hayvan modeli oluşturulmuştur (162).

Nöronal lezyon oluşturmak için yeni yaklaşımlardan bir tanesi spesifik olmayan bir sitotoksinle immunohedefleme yapılmasıdır. *Bazal ön beyinde* kolinerjik nöronlarda yüksek yoğunlukta NGF'in düşük afinite gösterdiği reseptörü p75NGF bulunmaktadır. Bu p75NGF reseptörünün monoklonal antikoruna (192 klgG) sitotoksik saporine bağlanır. Bu bağlanma sonucu sıçan *ön beyinde* p75NGF reseptörü için için selektif bir immunotoksin oluşur. 192 IgG saporin *bazal ön beyin neokortikal ve hipokampal* projeksiyon alanlarında ChAT aktivitesinde belirgin olarak azalmaya ve Morris'in su tankı testinde fonksiyon kaybına neden olmuştur. NGF ile ilişkili kolinerjik nöronların selektif lezyonları anti-NGF antikorlarının icv infüzyonu ya da *septuma* direk intraseptal infüzyonuyla oluşturulabilmektedir. Anti-NGF antikorunun intraseptal infüzyonu sonucunda bellek bozukluğu, ChAT aktivitesinde düşüş gözlenmiştir (162).

Kolinin aziridinyum analogu olan AF64a spesifik bir kolinotoksindir. Lateral ventriküle enjeksiyonu kolinerjik *septohipokampal* yolda uzun süreli yetersizlik oluşturur. Kolinerjik yetersizlikle beraber kognitif fonksiyonlarda bozulma görülür. Bu kolinotoksinin apoptozis mekanizmalarını aktive ederek hücre ölümüne neden olduğu gösterilen bir çalışma vardır (62).

Bu hayvan modellerinin hiçbirisi Alzheimer hastalarının beyinde var olan A β plak ve NFY gibi hastalığa ait nöropatolojik karakteristikleri sahip değildir (162). Alzheimer hastalığı kronik bir seyir gösterir. Bu modeller ise semptomatik olarak düşünülmelidir çünkü kolinerjik hipofonksiyon ve kognitif bozuklukta progresif bir kötüleşme gözlenmez hatta bazı iyileşmeler gösterilmiştir (139). Bu modeller kolinerjik ve nootropik ilaçlara, glutamat reseptör antagonistleri ve NGF'yi uyarıcı nitelikteki ilaçların Alzheimer hastalığının tedavisindeki etkinliklerinin değerlendirilmesinde kullanılmışlardır (162).

Transgenik fare modelleri:

- APP ve tau mutasyonu
- Presenilinlerin mutasyonu
- APP mutasyonu
- Tau mutasyonu esasına dayalı transgenik fare modelleri;

İnsan APP isveç mutasyonu ve P301L tau mutasyonundan elde edilen cDNA'yı insan PSEN1 Alzheimerli knock in mutasyonlu homozigot fareden alınan embriyoya mikroenjeksiyon yöntemiyle aktarılmasıyla üçlü transgenik model oluşturmuşlardır. Daha sonraki araştırmalarla bu farelerin beyinde Alzheimer hastalığıyla ilişkili bölgelerde NFY ve A β plak varlığını göstermiştir. Aynı araştırmacılar bu fareleri 4 ay izlemiş ve olduklarında uzun dönem hafıza bozukluğu olduğunu da göstermişlerdir.

PSEN1 ve PSEN2 genleri silinmiş olan erişkin fareden yapılan çalışmalar, presenilin aktivitesinin kaybı ön beyin dejenerasyonu, belirgin hacim kaybı, lateral ve 3. ventriküllerde genişlemeye sebep olduğunu göstermiştir. Bunlar ileri Alzheimerli hastaların beyinlerinde bulunan hastalıkla ilgili karakteristik özelliklerdendir. Ayrıca bu farelerde nöronal atrofi, astrogliosis, apoptozis ve tau hiperfosforilasyonu gibi hücresel bozukluklar da mevcuttur. Bu farelerden elde edilen bilgilerle presenilinlerin kortikal yapı ve fonksiyonlarının devamlılığında rol oynadığı sonucunu doğrulamıştır.

Bu yeni fare modellerine ek olarak APP mutasyonlarına dayanan ortalama 20 suş transgenik fare modeli vardır. Bu farelerin çoğunda özellikle de Tg2576 (İsveç APP mutasyonuna sahip) fare modelinde Alzheimer patolojisinde önemli yere sahip olan NFY'ler mevcut değildir. Bununla beraber bu farelerde bellek kaybı vardır ve hastalığın latent fazını taklit etmektedir.

Tau eksprese eden transgenik farelerde NFY gelişmekte, belirgin nöronal kayıp gözlenmektedir ve Alzheimer hastalığı ile ilişkili nörodejenerasyonun diğer bulguları mevcuttur. R406W tau mutasyonu olan yaşlı transgenik farelerde gözlemlenen duyu-motor bozukluğu olmadan bellek bozukluğu vardır (99).

Amiloid β peptid ile ilişkili transgenik olmayan modeller:

Amiloid β 'nın beyine akut enjeksiyonu ya da devamlı infüzyonu öğrenme-bellek bozulmasına ve nörodejenerasyona neden olan bir fonksiyon bozukluğu oluşturur. Ayrıca Alzheimerli hastaların beyinlerindeki nöropatolojik değişikliklere benzer şekilde mikrogial aktivasyon ve enflamatuvar yanıt gösterilmiştir. Amiloid β 40'ın nöron kaybı, nöron ve nöritlerin dejenerasyonunu da kapsayan nörodejenaratif etkileri değerlendirmek için kullanılan in vivo ilk model beyninde amiloid çekirdek alınıp sıçan beynine enjekte edildiğinde nörotoksik etkiler oluşturduğu görülmüştür. Alzheimer hastalığının yavaş gelişimini taklit etmek için miniosmatik pompa yardımıyla A β 40'ın devamlı icv infüzyonu tekniği kullanılmıştır. Su tankı ve pasif sakınma testinde öğrenme-belleğin bozulduğu gösterilmiştir. Ayrıca *hipokampusta* ChAT aktivesinde azalma gözlenmiştir. 14 günlük infüzyonu takiben yapılan immünohistokimya çalışmalarında *hipokampus* ve *serebral kortekste* A β 40 birikimi gösterilmiştir. Amiloid β infüzyonunun kesilmesinden 2 hafta sonra sıçanların bellek bozukluğunun düzelmiş fakat ChAT aktivitesindeki azalma ve glial fibriler asidik protein (GFAP) immünoaktivitesindeki artışın düzelmediği gösterilmiştir. Sonrasında birbirini takip eden çalışmalarla fibriller A β fragmentlerinin nörotoksitesi kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmalarda da A β 40, A β 42 ve A β 25-35 gibi farklı A β fragmentlerinin sıçan ve farelerde öğrenme ve belleği bozduğu nörotoksik etkileri olduğu gösterilmiştir. A β fragmentlerinin nörotoksitesinin yaşa bağlı ve büyük oranda türe spesifik olduğu da bildirilmiştir (162).

Nörofibriler yumak ile ilişkili modeller:

Kinaz aktivitesini potansiyelize ederek ya da fosfataz aktivitesini inhibe ederek in vitro olarak hiperfosforile tau proteini indüklenebilir. Fosfataz 1/2A inhibitörü olan okadaik asidin sıçanlarda kronik olarak intraserebroventriküler infüzyonu belirgin bir bellek bozulması ile ilişkili tau hiperfosforilasyonu, APP ekspresyonu ve A β çökmesi ile sonuçlanmıştır (162).

Lokal glukoz metabolizması, serebral kan akımı ve sitokrom oksidaz aktivitesinin azaltılması esasına dayanan modeller:

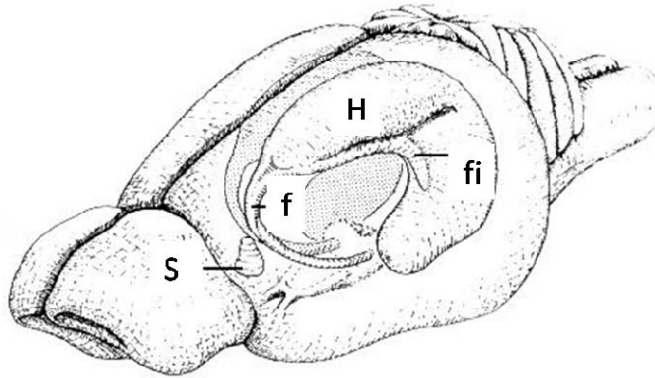
- İntraserebroventriküler STZ enjeksiyonu
- Kalıcı bilateral karotid arter oklüzyonu
- Sodyum azidle beyin mitokondriyal sitokrom oksidaz inhibisyonu

Intraserebroventriküler STZ enjeksiyonu:

Periferde glukozun hücrelere girişi ve metabolizması insülin tarafından kontrol edilir. Kolinerjik nöronlar tarafından innerve edilen insülin benzeri reseptörlerin beyindeki keşfinden yola çıkılarak sıçanların beyinlerinde glukoz kullanımını bozmak amacıyla lateral ventriküllere STZ enjekte etmişlerdir. STZ DNA hasarı yapan alkileyici bir ajandır. Parenteral yolla uygulandığında pankreasın β hücrelerinde hasar oluşturarak diabete sebebiyet verir. Ayrıca büyük olasılıkla oksidatif stresi içeren bir mekanizmayla miyelinli sinirlerde harabiyet oluşturur. STZ mikrogliya hücrelerini aktive ederek reaktif oksijen bileşiklerinin oluşumuna neden olur. STZ'nin oksidatif stresi indüklediği beyinde MDA artışı ve GSH düşüşünün gösterilmesiyle dolaylı yoldan kanıtlanmıştır. MDA lipid peroksidasyon ürünüdür ve serbest radikal oluşumunun indikatörü olarak kullanılır. Glutasyon ise endojen bir antioksidan ve oksidatif hasara karşı koruma sağlar. Aynı yaştaki kontrollerle karşılaştırıldığında Alzheimerli hastaların beyinlerinde insülin bağlanma bölgelerinin sayısında bir fark olmamasına rağmen, Alzheimerli hastaların beyinlerinde serebral glukoz metabolizması *temporoparietal alanlarda* % 40'tan fazla, *frontal kortekslerinde* % 25'ten fazla azalmıştır. *Kortikal* ve *hippokampal* glukoz metabolizmasındaki azalmaya ek olarak Alzheimer hastalığının patolojik

özelliklerinden reaktif mikroglia tarafından başlatılan inflamatuvar süreç, oksidatif stres ve miyelin hasarı i.c.v STZ uygulanan sıçanların beyinlerinde gösterilmiştir (160).

Forniks STZ'nin enjeksiyon yerine yakındır ve *septum*dan *hipokampus*a giden aksonlar içerir. Uzamsal hafızadaki bozulma *hipokampus*taki glukoz kullanımının ve ChAT aktivitesindeki azalma *forniks* ve *septo-hipokampal* yoldaki hasardan dolayıdır (160) (Şekil 5). Bu düşünce ChAT aktivitesinde, NGF ve mikroglia'daki değişikliklerle destek bulmuştur. Sıçanlarda icv STZ enjeksiyonunun *septum*un ağırlığının % 30-50 sini kaybetmesine neden olduğu ve bunun *hipokampus*taki ChAT aktivitesinin kaybının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. STZ enjeksiyonu sonrası NGF'nin *hipokampus*tan *septuma* transportu azalmıştır. Bununla beraber beyin homojenatlarında gliosis göstergesi olan GFAP'ın artmış olduğu gözlenmiştir. Bu astrogial aktivasyonu ve nöronal hasarı gösterir. Aynı durum Alzheimerli hastaların beyinlerinde de mevcuttur. STZ'nin glukoz metabolizmasını değiştirmesi ve belleği bozması kortikal reseptörlerle insülinin etkileşmesinin engellenmesinden çok böyle bir hasar sonucu oluşmaktadır (160).



Şekil 5. Sıçan beyinde *septo-hipokampal* sistemin 3 boyutlu yerleşimi. *Hipokampus* C şeklindeki yapıdır. (S: *septum*, f: *forniks*, fi: *fimbria*, H: *hipokampus*) (64)

İntraserebroventriküler STZ uygulanan sıçanlarda beyinde GSK-3 β düzeylerinin değiştiği ve bununda insülin reseptör sinyal kaskadı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Değişiklikler *frontoparietal korteks* ve *hipokampus* arasında gösterilmiştir ve değişikliklerin icv tedavi sonrası geçen süreye bağlı olduğu bulunmuştur. Ayrıca STZ enjeksiyonunun *hipokampusta* toplam ve fosforile tau protein ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. *Meningeal kapillerde* A β birikiminin bazı belirteçleri de bulunmuştur. Bu bilgiler ışığı altında bu modelin insanlarda görülen sporadik Alzheimer hastalığının deneysel modeli olduğudur (123). Bu konuda yapılan çalışmalar gözden geçirildiğinde morfolojik değişiklikler ve bellek bozukluğunun yaşla ilişkili olmadığı gösterilmiştir (160).

Kalıcı bilateral karotid arter oklüzyonu:

Başlangıçta vasküler demans için önerilmiş bir model olmakla beraber Alzheimer hastalığında yavaş gelişen serebral kan akımı azalması nedeniyle Alzheimer hastalığı için de uygun olabileceği düşünülmüştür. Bu modelde bir subklavyen arterle birlikte ya da sadece her iki karotid arterin ligasyonu ile kronik serebral hipoperfüzyon oluşturulur. Yaşlı sıçanlarda gençlere göre subklavyen arterle birlikte yapıldığında uzamsal hafızada daha fazla bozulma gözlemlenmiştir. Yaşlı sıçanlarda ayrıca *hipokampusun CA1 bölgesindeki* piramidal hücrelerde hasar ve yine *hipokampusun oriens katmanında* GFAP-pozitif hücrelerin yaygın hipertrofisi gözlemlenmiştir. Oklüzyondan 1 -2 hafta sonra reperfüzyonla uzamsal hafıza bozukluklarının önlenemediği ve *hipokampal* nöronların kurtulabildiği fakat 3 haftadan sonra geri dönüşün olmadığı gözlemlenmiştir. Bu model yaşlı sıçanlarda (10 aylık) oluşturulduğunda 10 hafta sonra *kortekste* ekstraselüler A β birikimi gözlemlenmiştir. Bu bulgu serebral kan akımındaki azalmanın A β oluşumuna katkıda bulunabileceğini göstermiştir. Vasküler ve karışık tip demanslı hastalarda olduğu gibi Alzheimerli hastalarda da beyaz madde lezyonları ve kan beyin bariyeri bozuklukları görülür. Bilateral karotid arter oklüzyonunun 1-3 gün sonrası kan beyin bariyerinin geçirgenliğinde artışa neden olur. Bu model STZ gibi mikrogliozise neden olarak miyelinli yollarda hasar oluşturur. Bu modelde hafıza bozukluğu açısından gençlerle yaşlılar arasında belirgin bir fark olmamasına rağmen gençlerde nöronal hasar daha geç oluşmaktadır (160).

Sodyum azidle beyin mitokondriyal sitokrom oksidaz inhibisyonu:

Alzheimerli hastalardaki oksidatif stres ve nörodejenarasyon mitokondriyal elektron sistemindeki bozuklukla özellikle sitokrom oksidazdaki bozuklukla ilişkilidir. Sıçanlara selektif sitokrom oksidaz inhibitörü olan sodyum azid osmatik minipompa yardımıyla uygulandığında uzamsal hafızanın bozulduğu Morris'in su tankı testinde gösterilmiştir. Sodyum azidin nöronal hasar yapıp yapmadığı ve kolinerjik transmisyonu azaltıp azaltmadığı ise araştırılmamıştır (160).

Aluminyum toksisitesi modeli:

Aluminyum modeli aluminyuma aşırı maruz kalmanın demans için bir risk faktörü olabileceği hipotezine dayanmaktadır. Hayvanlarda aluminyumla indüklenen yumaklar Alzheimer hastalığında insanlarda bulunan yumaklardan yapısal olarak farklı olduğu gösterilmiştir (139).

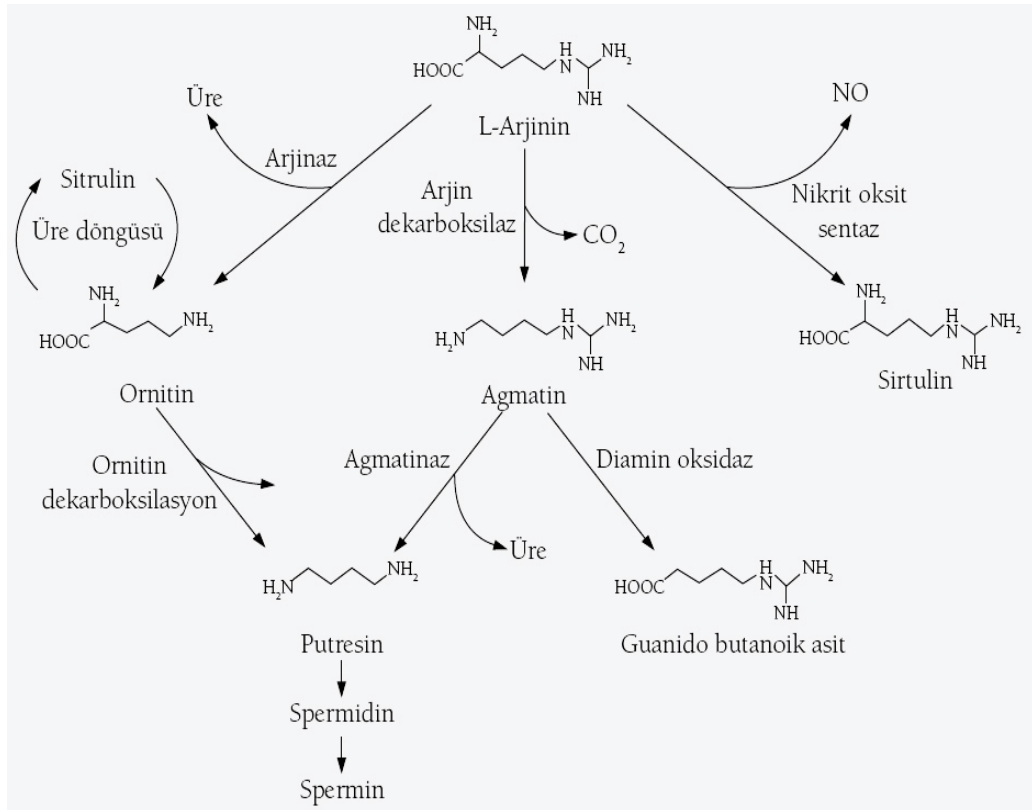
4.5. Agmatin

Agmatin L-argininden arjinin dekarboksilaz (arginine decarboxylase, ADC) enzimi aracılığıyla sentezlenen endojen bir amindir. İlk defa 1910'da ringa balığının sperminde varlığı gösterilmiştir. Bunu takiben bakteri, bitki, böcek ve omurgasızlarda, 1994'te ise memeli beyinde varlığı gösterilmiştir (108). Agmatin çeşitli organlarda, dokularda ve serumda yaygın ve düzensiz bir dağılım gösterir. Sırasıyla en fazla mide, aorta, ince bağırsak, kalın bağırsak, adrenal bez, kalp, beyin ve plazmada bulunduğu gösterilmiştir (2).

Beyindeki konsantrasyonu midedeki konsantrasyonun yaklaşık % 10'u kadardır ve klasik nörotransmitterlerle kıyaslanabilecek düzeydedir. Agmatin içeren nöronlar *serebral kortekste* yaygındır, *lamina VI* ve *V*'te toplanmıştır. İmmunoreaktif nöronlar en fazla *hipotalamus*, *rostral orta beyin* ve *laterodorsal çekirdek*, *loqus serelous*, *dorsal rafe çekirdeği*, *periakuaduktal gri madde* gibi periventriküler alanlarda bulunur. Alt beyin sapında ise *visceral relay nuclei*, *nükleus traktus solitari* and *the pontine parabrachial komplekste* lokalize olmuştur (114).

Sıçan hipokampal piramidal hücrelerdeki elektron mikroskobu çalışmalarında perikarya, dendritler, akson ve akson terminallerinde dağılım gösterdiği saptanmıştır. *Hipokampusta* agmatinin presinaptik terminallerde bulunduğu ve eksitator sinapslar yaptığı gösterilmiştir. *Hipokampus*daki sinapsların büyük çoğunluğu glutamaterjik olduğundan hipokampal nöronlardaki sinaptik veziküllerde agmatinin glutamatla birlikte depolandığı ve beraber salınabileceği bildirilmiştir (114).

Organizmada L-arginin 3 farklı enzimle çeşitli ürünlere dönüştürülür. Bunlardan en eski bilinenler NOS aracılığıyla NO ve sitruline, bir diğeri arjinaz aracılığıyla ornitine oradan da poliaminlere (putresin, spermin, spermidin) dönüşmesidir. Agmatin sentezi ise bu senteze özel kabul edilen ADC aracılığıyla olur. Yıkımından iki farklı enzim sorumludur; agmatinaz ve diamin oksidaz. Bu şekilde hem poliaminlere hem de guanidobutanoik aside dönüşür (2) (Şekil 6). Agmatinin önemli bir özelliği aynı yolda oluşan bir metabolit olan NO'un sentezini NOS'un tüm izoformlarını (iNOS, nNOS ve eNOS) inhibe ederek kontrol etmesidir (37).



Şekil 6. Agmatin ve ilişkili bileşiklerin metabolik yolağı (114).

Agmatin çok sayıda reseptörle etkileşir. İmidazolin reseptörlerinin tüm alt tiplerine bağlandığı ve bu reseptörlerin endojen ligantı olduğu düşünülmektedir (82). Ayrıca hem pre- hem de post-sinaptik adrenerjik α_2 reseptörlerine bağlanır. NMDA, nikotinik ve serotonerjik 5-HT₃ reseptörleri gibi katyon kanallarını module eden reseptörleri bloke eder (114). Agmatin beyinde sentezlenir, sinaptik veziküllerde depolanır, depolarizasyonla salınır, geri alınıp ve agmatinaz enzimiyle inaktive edilir. Tüm bu özellikler agmatinin bir nörotransmitter olabileceğini düşündürmüştür (113, 114).

Agmatinin birçok etkisi gösterilmiştir. Adrenal medullanın kromafin hücrelerinden adrenalalin ve noradrenalin salınımını, pankreasın adacık hücrelerinden insülin salınımını, hipotalamustan lüteinize hormon salgılatıcı hormon ve gastrin sekresyonunu uyarır, vazopressin salınımını inhibe eder (2). Bunun dışında antidepresan (3,172), anksiyolitik (3,45, 78), antikonvülsan (27, 144) etkisi ve morfin yoksunluk sendromunun tüm semptomlarını baskıladığı gösterilmiştir (7). Akut ağrı modellerinde hem spinal hem de supraspinal düzeyde analjezi sağladığı (4), nöropati gibi ağrı modellerinde termal ve mekanik hiperanaljeziyi azalttığı (4, 34, 70), antienflamatuvar (111, 112) ve ayrıca morfinin oluşturduğu analjezik etkiyi potansiyelize ettiği gösterilmiştir (74). İskemide ve eksitotoksistide nöron kaybını azalttığı (41, 42, 73, 107), öğrenme ve bellekte rolü olduğu gösterilmiştir (85, 86, 87).

Antidepresan etki:

Agmatinin antidepresan etkisi farelerde zorunlu yüzme (3), kuyruktan asma testleri ile gösterilmiştir (172). Bu antidepresan etkide NMDA reseptörleri, L-arginin/NO yolağı ve α_2 -adreneseptörlerle etkileşimin yer aldığı düşünülmektedir (172). Bunun yanında zorunlu yüzme testinde 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, and 5-HT₂ reseptörleri (173), imidazolin 1 ve 2 reseptörleri (164) ve en azından bir kısımdan kappa ve mü-opioid reseptörleriyle (174) etkileşim gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada *PC12* hücrelerinde norepinefrin, 5-HT, epinefrin ve dopamininin yüksek konsantrasyonda NMDA ile indüklü azalmaları gösterilmiştir. Bu değişiklik depresif

hastaların beyinlerindeki değişikliklerle tutarlıdır ve agmatin antidepresan etkisini destekler şekilde bu değişiklikleri düzeltmiştir (83).

Anksiyolitik etki:

Agmatinin anksiyolitik etkisi yükseltilmiş artı labirent testi(3, 78), aydınlık/karanlık testi, Vogel zıtlasma testi, sosyal etkileşim testleri (45) ile gösterilmiştir. Agmatinin anksiyolitik etkisini NMDA reseptörlerini bloklayarak gerçekleştirdiği öne sürülmektedir Agmatinin NMDA-kalsiyum-NOS yolağını ve voltaj kapılı kalsiyum kanallarını bloklaması sonucu oluşan 5-HT iletiminin up regülasyonunun anksiyolitik etkinin altında yatan mekanizma olabileceği de öne sürülmektedir (45).

Antikonvülsan etki :

Yapılan bir çalışmada pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan nöbetlerin (klonik nöbet modeli) eşliğini agmatinin doza bağımlı olarak yükselttiği gösterilmiştir. Bu etkide α_2 -adrenoreseptörlerin yeri olduğu ve L-arjinin/NO yolağının da yeri olabileceğini düşünülmektedir (27). Agmatin hem farede hem de sıçanda jeneralize tonik-klonik nöbet modeli olan maksimal elektroşok nöbetlerine karşı anti-nöbet aktivite göstermiştir. Agmatinin antikonvülsan etkisinin NMDA reseptörleri ve sinyal transdüksiyon mekanizmalarının inhibisyonunu bağlı olabileceği de düşünülmektedir (144). Agmatinin PTZ ile oluşturulan nöbetler sırasında hücre dışı glutamat artışını neredeyse tamamen inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu inhibisyonun antikonvülsan etkiye katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (35).

Morfin toleransı ve yoksunluğu üzerine olan etkisi :

Agmatinin sistemik uygulanması morfinin analjezik etkisini potansiyelize ettiği, morfinin analjezik etkisine karşı gelişen toleransı inhibe ettiği (74), alkol ve morfinin yoksunluk sendromlarını azalttığı gösterilmiştir (7). Agmatinin kendisi koşullu yer tercihi, lokomasyon sensitizasyonu ve ilaç diskriminasyon davranışını indüklemeyen morfinin indüklediği koşullu yer tercihi, lokomotor duyarlılaşma ve

ilaç diskriminasyon (ayırt etme) davranışını anlamlı şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (142, 158, 159).

Son yıllarda opioid bağımlılığı ve relapsı sadece opioid reseptör sistemine değil birçok opioid olmayan sisteme de bağlı olduğu gösterilmiştir. Morfinin indüklediği koşullu yer tercihi, lokomotor duyarlılaşma ve ilaç diskriminasyon davranışının agmatin tarafından inhibe edilmesinin opioid olmayan imidazolin reseptör mekanizmaları aracılığıyla olduğu düşünülmektedir. Agmatinin morfin ve etanol yoksunluk sendromlarını inhibe etmesinin NOS aktivitesini inhibe etmesi aracılığıyla olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca NO ve NMDA reseptörleri arasındaki etkileşim gösterilmiş ve bu etkisinin sıçanlarda agmatinin morfin alımı üzerine inhibitör etkisinde önemli olabileceği bildirilmiştir (143). Nöronal NOS knock out farelerde yapılan bir çalışmada agmatin morfinin fiziksel bağımlılığının sadece periferik belirtilerini azaltmış, santral belirtilerini azaltmamıştır. Agmatinin morfinin fiziksel bağımlılığının santral belirtilerini azaltabilmesi için fonksiyonel nNOS un gerekli olduğu ortaya konmuştur (5).

Ağrı ve enflamasyonda rolü:

Agmatin gibi imidazolin ve α_2 adrenoseptörlere bağlanan klonidinin opioidlerin analjezik etkisini potansiyalize ettiği 80'lerin ikinci yarısından beri bilinmektedir (47). Akut ağrı modellerinde agmatinin hem spinal hem de supraspinal düzeyde analjezi sağladığı gösterilmiş ve bu etkinin hem imidazolin hem de α_2 adrenoseptörler aracılığıyla oluştuğu düşünülmüştür (4). Akut ağrı modelleri dışında diyabetik nöropati modelinde, siyatik sinirin bağlanması ile oluşan nöropatik ağrı modellerinde kullanılmış termal ve mekanik hiperaljeziyi azaltarak allodini gelişimini engellediği gösterilmiştir (4, 34, 70).

Agmatinin antienflamatuvar etki potansiyeli olduğunu destekleyen bir başka çalışmada, sıçanlara sistemik olarak LPS verilmiştir. Agmatin tedavisi uygulanan grupta, endotoksemiye bağlı kan basıncı düşüşünün engellenmesi ve sepsise bağlı olarak meydana gelen renal fonksiyon bozukluğunun düzeltilmesi, endotoksik şok modelinde agmatinin koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (125). Sepsise bağlı olarak bütün immün sistem hücreleri aktive olduğu ve çok şiddetli bir

enflamatuvar yanıt kabul edilebilecek bu deneyde agmatinin sistemik enflamatuvar yanıtı anlamlı bir şekilde baskılaması, güçlü bir antienflamatuvar etki potansiyeline sahip olduğunun bir göstergesi olabilir (6). Yapılan çalışmaların sonuçlarına göre agmatinin analjezik/antihiperalezik ve antienflamatuvar etki potansiyeli vardır. Endojen bir madde olarak agmatin akut ağrı, nöropatik ağrı ve enflamasyon gibi durumlarda düzenleyici role sahiptir.

Nöroprotektif etki:

Agmatinin intratekal (i.t.) veya sistemik verilmesi iskemide ve eksitotoksistide nöron kaybını azaltmıştır. Bu etkinin, voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının blokajı, NMDA reseptörlerinin bloke edilmesi ve indüklenabilir NOS (iNOS) oluşumunu inhibe etmesine bağlı olabileceği düşünülmektedir (41, 42, 73, 107). Sıçanlarda iskemik hasarından sonra agmatin miktarının 20 kat arttığı gösterilmiştir (37). Agmatinin iskemik hasar üzerindeki etkisini araştıran bir başka çalışmada, primer *kortikal* nöronlardan hazırlanan hücre kültüründe oksijen ve glikoz mahrumiyeti ile oluşturulan hasarın agmatin ile önlendiği gösterilmiştir. Agmatinin bu koruyucu etkisinin nNOS aracılığıyla olabileceği, orta serebral arter oklüzyonu modeli kullanılarak gösterilmiştir. Bu modelde oklüzyondan önce ve oklüzyon anında verilen agmatinin iskemik hasarı önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Agmatinin bu etkisinde nNOS kadar iNOS’unda rolü olabileceği düşünülmektedir. Agmatin sıçan *hipokampusunda* voltaja bağımlı iyon kanallarında etkisini araştıran bir çalışmada voltaja bağımlı sodyum, potasyum ve kalsiyum kanallarını içeren hücrelerde kayıt yapılmış agmatinin sodyum ve potasyum kanallarında bir değişikliğe yol açmazken voltaja bağımlı kalsiyum kanallarında reversibl blokaj oluşturduğu gösterilmiştir (156). Bir diğer çalışmada neonatal sıçan *korteksi*, NMDA veya staurosporin (protein kinaz inhibitörü) veya kalsimisin (kalsiyum ionofor) ile enkübe edilmiş, agmatinin, protein kinaz blokajı ve kalsiyum ile ortaya çıkan hücre ölümünde koruyucu etki göstermezken NMDA ile ortaya çıkan eksitotoksik etkiyi önlediği gösterilmiştir (166).

Hayvanların hareketsiz bırakılması esasına dayanan bir stres modelinde (restraint stress) kronik stresin (21 gün) *prefrontal korteks* ve *hipokampusta* yapısal

değişikliklere neden olduğu immünühistokimyasal olarak gösterilmiş, paralel olarak endojen agmatin düzeylerinin azaldığı, dışarıdan uygulanan agmatinin (50 mg/kg/gün) ise bu bölgelerdeki nöronları koruduğu gösterilmiştir (167, 168). Travmatik hasar modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada histopatolojik olarak agmatinin beyin hasarını azalttığı benzer bir çalışmada hipoksiye bağlı TNF- α salımını inhibe ederek retinal hücreleri koruduğu gösterilmiştir (75, 129). Retinal gangliyon hücrelerini TNF- α 'ya bağlı apoptozisi baskılayarak engellediği gösterilmiştir (58, 59) İskemik hasar üzerindeki etkisini araştıran bir başka çalışmada, primer *kortikal* nöronlardan hazırlanan hücre kültüründe oksijen glikoz deprivasyonu ile oluşturulan hasarı önlediği gösterilmiştir. İndüklenebilir NOS ekspresyonunun agmatin tedavisi uygulanan grupta belirgin bir şekilde azalması bu düşüncüyü doğrulamaktadır (73). İskemiye bağlı akut böbrek hasarını engellediği, bu etkiyi kısmen α_2 adrenoseptörler kısmen de imidazolin reseptörleri aracılığı ile yaptığı gösterilmiştir (145, 146). Agmatinin retinal gangliyon hücrelerini oksidatif strese karşı koruduğu (89), yine oksijen-glikoz eksikliğine bağlı olarak kortikal astrosit hücrelerinde meydana gelen hasarı engellediği ve bunu özellikle nükleer faktör kappa B üzerinden yaptığı gösterilmiştir (80). İskemi ve reperfüzyona bağlı olarak gelişen hasarda agmatin tedavisinin bu hasarı serbest radikal oluşumunu ve NO miktarlarını azaltarak engellediği gösterilmiştir (12, 25). Glukokortikoidlerin kronik kullanımının (21 gün) beyinde bazı morfolojik değişikliklere neden olabileceğinin gösterildiği bir çalışmada eş zamanlı kullanılan agmatinin (50 mg/kg/gün) bu değişiklikleri engellediği gösterilmiştir. Aynı çalışmada glukokortikoid uygulamasının birçok beyin bölgesinde agmatinin sentezinden sorumlu olan enzim ADC'nin miktarını artırdığını da göstermişlerdir. Bu nedenle agmatinin nöronları korumak üzere sentezinin arttırılmaya çalışıldığı yorumu yapılmıştır (169). Yukarıdaki çalışmalardan elde edilen bulgulara göre agmatin iNOS'u ve/veya nNOS'u inhibe ederek, NMDA reseptörlerini bloke ederek aynı zamanda kalsiyumun hücre içine girişini azaltarak nöroprotektif etki yaptığı, bir hasar söz konusu olduğunda endojen üretiminin hasarı önlemek üzere arttırılmaya çalışıldığı, ekzojen olarak verilmesi durumunda da hasarı önlediği gösterilmiştir.

Öğrenme ve bellekte rolü:

İlk kez 2000 yılında agmatinin öğrenme ve bellek fonksiyonları için önemli olabileceğini düşündüren bir çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmada bir tür şartlı uyaran testi (contextual conditioned stimuli) kullanılarak sistemik olarak uygulanan agmatinin öğrenme belleği olumsuz yönde etkileyebileceğini, hatta amnezi oluşturduğunu göstermişlerdir (141). Daha sonra hem aynı testi hem de uzaysal hafızanın değerlendirilmesinde kullanılan Morris'in su tankı kullanılarak benzer sonuçlar elde edilmiştir (95). Aynı yıl inhibitör sakınma testi (inhibitory avoidance task) kullanılarak agmatinin daha önce idda edileninin aksine hatırlamayı kolaylaştırdığı bu etkiyi α_2 adrenoseptörler, imidazolin ve/veya NMDA reseptörleri ve NO inhibisyonu gibi farklı mekanizmalar üzerinden yapabileceği ileri sürülmüştür (8). Yaşlanmaya bağlı olarak *hipokampal CA1*, *CA2/3* ve *dentat girus* bölgelerinde agmatin düzeyleri incelenmiş ve yaşa bağlı olarak *CA1* bölgesinde azalırken, *CA2/3* ve *dentat girus* bölgelerinde arttığı gösterilmiştir. Agmatinin *entorhinal kortekte* özellikle genç ve orta yaş sıçanlarda, *postrhinal* ve *temporal korteks* de yaşlanmayla arttığı gösterilmiştir. Bu bulgular doğrultusunda agmatin miktarlarının beyin bölgesine ve yaşa bağlı olarak değiştiğini söylemişlerdir (86). Su tankı, zorunlu yüzme testi (forced swimming test) ve kafeste tutma modeli kullanılarak agmatinin etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada ekzojen olarak verilen agmatinin uzaysal hafıza üzerine etkisi araştırılmıştır. Beynin 10 farklı bölgesinde (*Hipokampal CA1*, *CA2/3*, *dentat girus*, *serebellum*, *vestibüler nükleus*, *prefrontal*, *entorhinal*, *perirhinal*, *postrinal* ve *temporal korteks*) agmatin düzeyleri incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre su tankı yöntemi gibi hayvanın uzaysal hafızasına ihtiyaç duyduğu testlerin uygulanmasından sonra özellikle *hipokampusta* (*CA1* ve *dentat girus*), *entorhinal korteks* ve *vestibüler nükleusta* agmatin düzeylerinin anlamlı bir biçimde attığı, bu artışın zorunlu yüzmeye tabi tutulmak veya kafeste bekletilmek ile elde edilmediği gösterilmiştir. Buna göre agmatin düzeyleri uzaysal hafıza ile ilişkili bölgelerde arttığını böylece agmatinin uzaysal öğrenme ve bellek proseseleri açısından önemli olduğunu söylemişlerdir (88). Bir diğer çalışmada i.c.v olarak infüze edilen agmatin ile su tankı, yükseltilmiş artı labirent ve açık alan testleri yapılmış (85), agmatin uygulamasının referans hafıza üzerine bir etkisi olmadan hafızayı güçlendirdiği (working memory) gösterilmiştir (87). Günümüze

dek yapılmış tüm bu çalışmalar agmatinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarının düzenlenmesi açısından önemli olduğunu düşündürmektedir.

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Kimyasal Maddeler:

Agmatin sülfat (Sigma) ve STZ (Sigma) serum fizyolojikte (SF) çözülerek kullanıldı. Agmatin 40 mg/kg i.p., STZ ise 3mg/kg dozda, 10 µl hacimde bilateral ve i.c.v. olarak uygulanmıştır.

5.2. Deney Hayvanları:

Bu çalışmada kullanılan Sprague-Dawley suşu erkek sıçanlar (250-300 g) Marmara Üniversitesi Deney Hayvanı Yetiştirme Ünitesi'nden temin edildi. Deneyler süresince 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık döngü içerisinde yem ve su alımları serbest bırakılarak, sıcaklığı sabit tutulan (21 ± 3 °C) hayvan saklama odasında, her kafeste operasyon öncesi 4 sıçan, operasyon sonrası toparlanma döneminde (4 gün) tek sıçan olacak şekilde barındırıldı. Tüm deneyler günün aydınlık periyodunda, sessiz ve sıcaklığı 22-24°C olan odada gerçekleştirilmiştir. Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Deney Hayvanı Etik Kurulu tarafından 16.04.2009 tarih ve 10.2009 sayı ile onaylanmıştır. (Ek-1).

5.3. Kullanılan Modeller:

Deneyisel Alzheimer modelinin oluşturulması için STZ i.c.v olarak bilateral uygulanmıştır.

Lateral serebral ventriküle kanül yerleştirilmesi

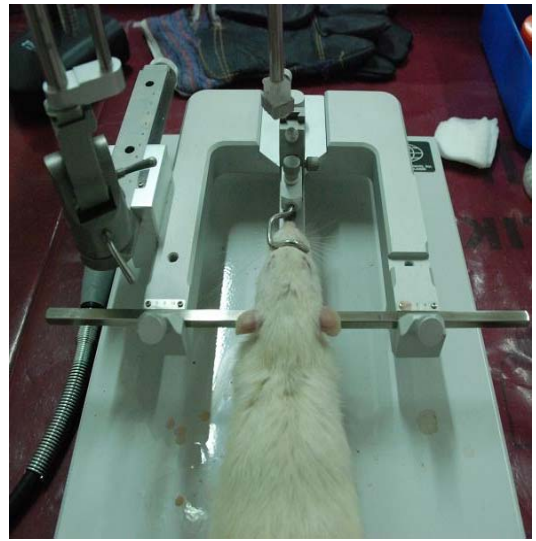
Deneyden en az 3 gün önce sıçanlar ketamin (50 mg/kg, i.p.) + klorpromazin (1.0 mg/kg, i.p.) anestezisi altındaki hayvanların her iki lateral ventrikülüne kanül takılması amacıyla deney hayvanının kafatası dış kulak yolundan stereotaksi aletine (World Precision Instruments) yerleştirildi (Resim 2a, 2b). Kafa derisi gözler hizasından esneye kadar kesilip üzerindeki periost sıyrıldı (Resim 3). Takılacak olan kanülün sağlamlaştırılması amacı ile kafatasına (delinen noktanın yaklaşık 1 cm uzağına) dişçi turu ile kafatası üç noktadan daha delinerek vidalar yerleştirildi

Koordinatlar stereotaksi atlasına bakılarak tespit edildi (103). Buna göre bregmadan 0.8 mm kaudal; sagittal sutturdan 1.5 mm lateral ve kafatası yüzeyinden 3.6 mm olacak şekilde sağ ve sol lateral ventrikülün yeri tespit edilerek bir kanül yerleştirildi (131) (Resim 4). Kanülü sabitlemek için, kanülün çevresi akrilik ile sıvandı (Resim 5). Bu sıvama işlemi kafatası üzerine takılı olan vidaları ve kafatasının bir kısmını kapsayacak şekilde çevreye doğru genişletildi. Akrilik çimento kuruyup sertleşinceye kadar beklendi (Resim 6).

(A)



(B)



Resim 2. (A) Stereotaksi aleti ve (B) stereotaksi aletine yerleştirilmiş deney hayvanı



Resim 3. Kafa derisinin kesilip üzerindeki periostun sıyrılması



Resim 4. Kanülün yerleştirilmesi



Resim 5. Yüzeyin akrilik ile kaplanması



Resim 6. Akrilik kuruduktan sonra kanül kapaklarının yerleştirilmesi

Kanül yerleşiminin her deneyden sonra doğrulandı. Bu amaçla deney sonunda lateral serebral ventriküle 200 µl metilen mavisi verildi. Hayvanlar sakrifiye edildi ve beyinleri çıkarıldı. Yerleşimi uygun olmayanlar çalışmaya dahil edilmedi.

STZ uygulanması

Stereotaksik cerrahi ile kanüllerin yerleştirilmesini takiben sıçanların kendilerini toparlamaları için 3-4 gün beklendi. Bu süre içerisinde serum fizyolojikle sıçanlara sıvı replasman tedavisi uygulandı. Daha sonra her iki lateral ventriküle 3mg/kg STZ 10µl'lik hacimde Hamilton enjektörü aracılığıyla uygulandı. Aynı dozda STZ ilk uygulamadan 48 saat sonra tekrarlandı ve modelin oluşması için 12 gün beklendi (131).

Agmatin uygulaması

İlk STZ uygulamasını takiben 14 gün sonra hayvanlar önce lokomotor aktivite testine tabi tutuldu ve herhangi bir nörolojik defekt gelişmediğinde emin olundu. Daha sonra sırasıyla Morris'in su tankı ve pasif sakınma testlerine alındı. Öğrenmesinin bozulduğu gösterilen sıçanlara 7 gün boyunca günde 2 defa i.p. olarak 40mg/kg agmatin testlerden yarım saat önce olacak şekilde uygulandı. Agmatin uygulamasına davranış testleri süresince de devam edilir.

5.4. İlaç Gruplarının Oluşturulması

Hayvanlar her grupta 7-12 hayvan olacak şekilde kontrol (sham opere), STZ ve STZ+Agmatin grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

Sham opere grup: Stereotaksik yöntemle kanüller yerleştirildikten sonra 1. ve 3. günlerde aynı hacimde SF verildi. İlk uygulamayı takiben 14 gün sonra davranış testlerine başlandı. Deney süresince agmatin yerine SF uygulandı.

STZ grubu: Stereotaksik yöntemle kanüller yerleştirildikten sonra 1.ve 3. günlerde 3mg/kg STZ uygulandı. İlk STZ uygulamasını takiben 14 gün sonra davranış deneylerine başlandı. Deney süresince agmatin yerine SF uygulandı.

STZ+Agmatin grubu: Stereotaksik yöntemle kanüller yerleştirildikten sonra 1.ve 3. günlerde 3mg/kg STZ uygulandı. İlk STZ uygulamasını takiben 14 gün sonra davranış deneylerine başlandı. Davranış testlerinin bitiminde sonra 7 gün süreyle 40mg/kg agmatin günde 2 kez i.p. olarak uygulandı.

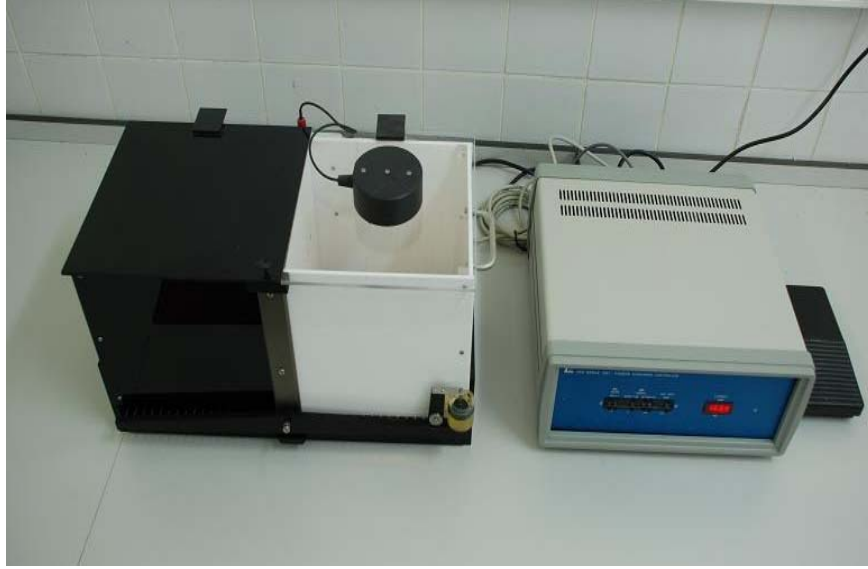
Tüm grupların davranış testleri bittikten sonra (21. gün) hayvanlar dekapite edilerek beyin dokuları toplandı ve kan örnekleri toplandı.

5.5. Davranış Deneyleri

5.5.1. Pasif sakınma testi

Bu testte kullanılan düzenek iki bölmelidir. Bölmelerden biri aydınlık, diğeri karanlıktır ve karanlık bölüm hayvana elektrik şoku uygulanmasına uygun şekilde tasarlanmıştır. Bölmeler otomatik giyotin bir kapı ile birbirinden ayrılmıştır (Ugo Basile, Type-7552, Italy). Sıçan aydınlık bölmeye bırakılır ve bir pedala yardımıyla test başlatılır. Hayvanın ortama alışması için 20 sn lik bir alışma periyodundan sonra giyotin kapı otomatik olarak açılır. Hayvan karanlık tarafa geçtiğinde kapı kapanır ve hayvana 3sn süreyle 0.5 mA ayak şoku verilir. Sıçanın aydınlık olan bölmeden karanlık tarafa geçmesi için geçen süre kaydedilir. Aynı test 24 saat sonra tekrarlanarak hayvanın karanlık bölgeye geçip geçmediğine bakılır. Testin sonlandırılma süresi 300 sn'dir. Bu süre içinde karanlık tarafa geçmezse yani elektrik

şoku almaktan kaçınırsa sıçanın öğrenmesinin bozulmadığı kabul edilir (136) (Resim 7).



Resim 7. Pasif sakınma cihazı

5.5.2. Morris'in su tankı testi

160cm çapında 50cm yüksekliğinde bir tank yaklaşık 30 cm yüksekliğine kadar suyla doldurulur. Suyun sıcaklığı 25 ± 1 °C olacak şekilde ayarlanır. Tank hipotetik olarak 4 eşit parçaya bölünerek kuzey, güney, doğu, batı olmak tanımlanır. Çapı 12cm olan bir platform suyun 1 cm aşağısında kalacak şekilde dörttebirlik kadrantlardan birinin (bu çalışmada güneydoğu çeyreği kullanıldı) merkeze yakın noktasına yerleştirilir. Tankın bulunduğu odada üç farklı yönde duvarlara hayvanın yönünü belirlemesinde kullanabileceği ipuçları (üzerlerinde farklı renkte geometrik şekiller bulunan kartonlar) yerleştirilir. Dördüncü yön belirleyici ise her gün aynı noktada duran araştırmacıdır. Test her sıçana günde 4 yüzdürme yaptırılacak şekilde ardışık 4 gün uygulandı. İlk 4 gün sıçanın tanka hangi yönlerden hangi sırayla bırakılacağı (1.günden başlayarak sırasıyla kuzey-batı-doğu-güney, batı-doğu-güney-kuzey, doğu-güney-kuzey-batı, güney-kuzey-batı-doğu ve batı yönlerinden bırakılarak yüzdürüldü) önceden belirlendi. Her yüzme seansında sıçanların platformu bulmaları için 90 sn verildi. Bu süre içerisinde platformu bulamayan sıçanlar deneyi yapan kişi tarafından platforma yerleştirildi ve platform üzerinde 20 sn kalmalarına izin verildi. Deneyin son günü olan 5. gün ise platform kaldırıldı ve

hayvanlar tek seans olarak 60 sn yüzdürüldü. Bu süre içerisinde daha önce platformun bulunduğu çeyrekte geçirdiği süre kaydedildi. Sıçanlar yüzme seanslarından sonra altlarına kağıt havlu yerleştirilerek elektrikli ısıtıcı karşısında hızlıca kurutuldu (98) (Resim 8).



Resim 8. Su tankı ve bulunduğu oda

5.6. Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

5.6.1. Kan glukoz düzeylerinin değerlendirilmesi

Sıçanların kan glukoz seviyeleri kuyruklarından alınan kandan glukometre (Accu-Chek active) ile ölçülerek değerlendirildi. Deney süresince hayvanların kan glukozları hiçbir işlem uygulanmadan önce yani 0. günde ve STZ ile öğrenmesinin bozulduğu kabul edildiği 14. günde ölçülerek karşılaştırıldı.

5.6.2. Oksidatif hasarın değerlendirilmesi

Glutasyon Tayini:

Dekapitasyondan hemen sonra çıkarılan beyinler serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra filtre kağıdı ile kurutuldu, tartıldı. Homojenizatörde (Ika Werk)

buz üstünde 150 mM KCl çözeltisiyle %10'luk homojenatı hazırlandı. Dokuda GSH tayini Ellman yöntemine göre yapıldı (14).

Gerekli çözeltiler:

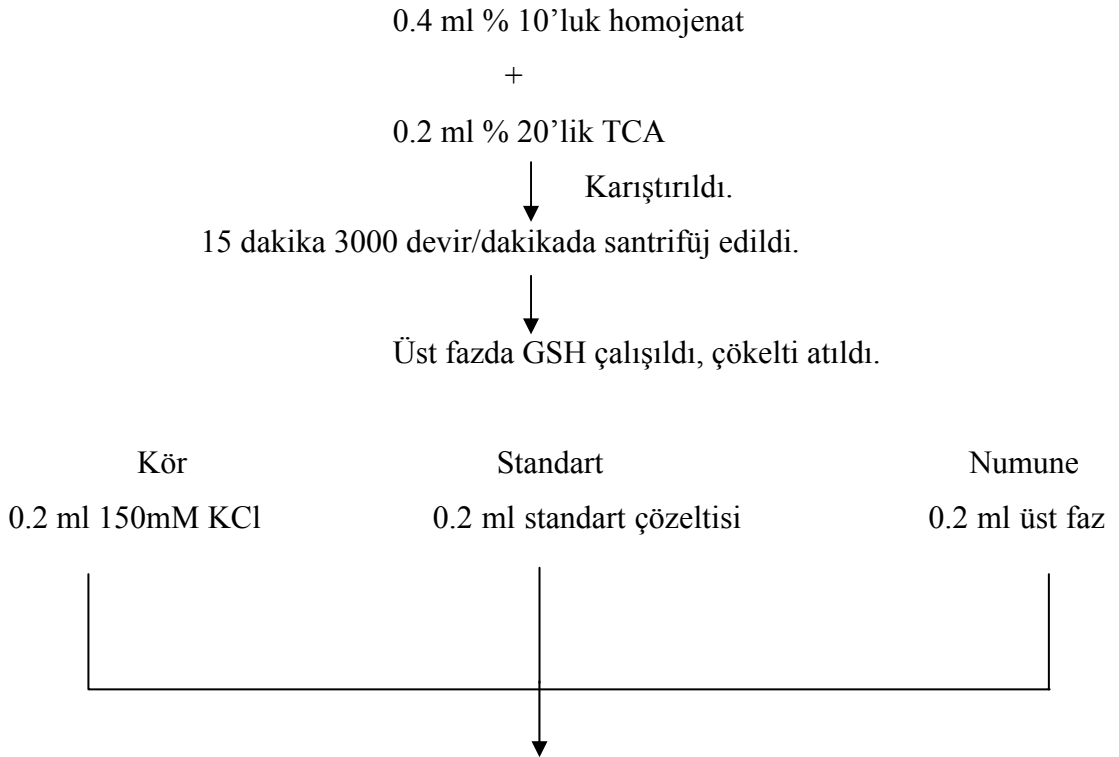
0,3 M Na₂HPO₄

10 mM DTNB (Ditiyo nitro benzen, Ellman): 39.63 mg DTNB % 1'lik sodyum sitrat ile 10 ml'ye tamamlandı.

% 20'lik TCA (Trikloroasetik asit)

Standart çözeltisi: 50 mg glutatyon distile suda çözöldü, 5 ml'ye tamamlandı.

Deneyin yapılışı:



1 ml 0.3 M Na₂HPO₄ + 0.05 ml Ellman çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı, 5 dakika bekletildi ve Oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede 412 nm.de okundu.

Malondialdehit Tayini:

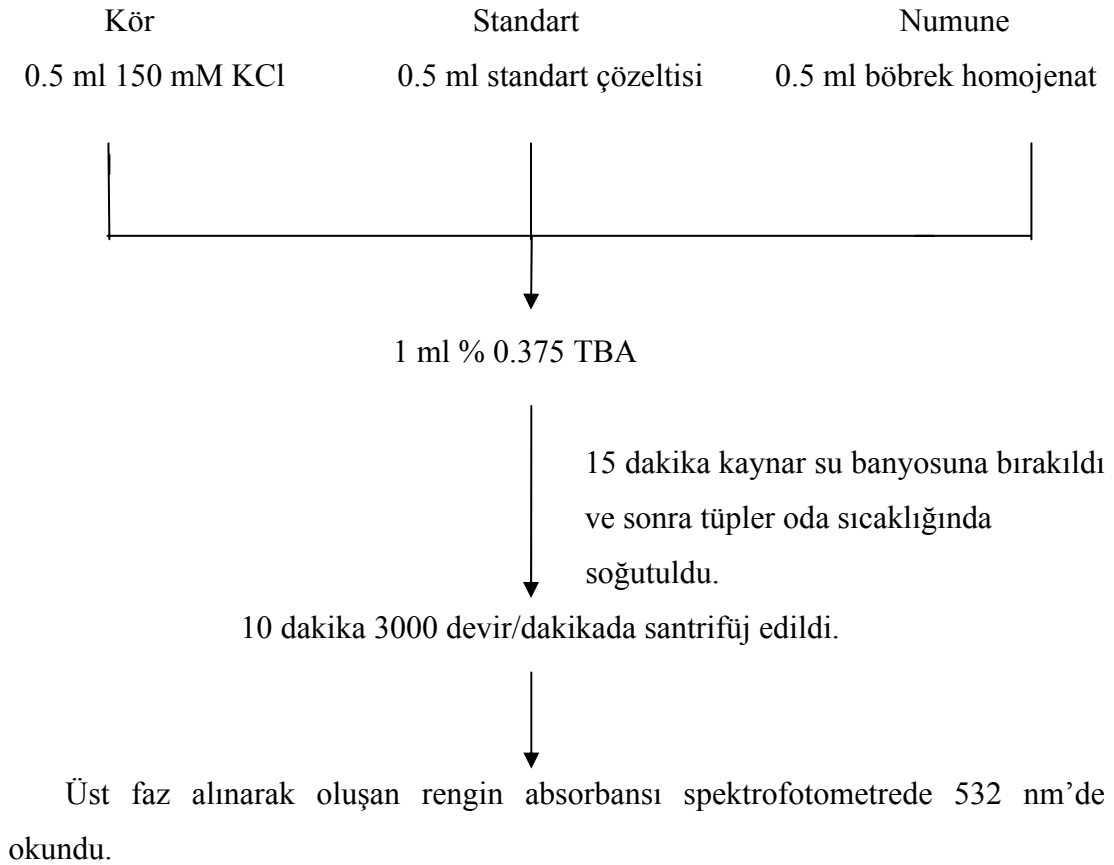
Malondialdehit tayininde GSH tayini için hazırlanan % 10'luk homojenatlar kullanıldı. Dokuda MDA tayini, Beuge yöntemine göre yapıldı (13).

Gerekli çözeltiler:

TBA (Tiyobarbitürik asit) çözeltisi: % 0.375 g TBA ve % 15'lik TCA içeren çözelti, 0.25N HCl ile hazırlandı.

Standart çözeltisi: 1,1,3,3 tetraetoksipropan'ın 10 mM'lık stok çözeltisinden farklı seyreltmeler yapılarak çalışıldı.

Deneyin yapılışı:



Dokuda MPO Aktivitesi Tayini:

Dekapitasyondan hemen sonra çıkarılan beyinler, kan ve çevre artıklarından temizlenmesi için serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra filtre kağıdı ile kurutuldu ve ağırlıkları alındı. Beyin dokusu 50 mM K_2HPO_4 (pH: 6) ile homojenize edildi. % 10luk homojenat hazırlandı. Dokuda MPO tayini Hillegeas yöntemi ile yapıldı (56).

Gerekli çözeltiler:

50 mM K_2HPO_4 (pH : 6)

% 0.5'lik HETAB (Hekzadesiltrimetil-amonyum bromid) : 0.5 g HETAB, 50 mM K_2HPO_4 ile çözüldü. pH 6'ya ayarlandı ve hacmi 50 mM K_2HPO_4 ile 1 lt'ye tamamlandı.

o-Dianizidin-2 HCl: 100 mg o-Dianizidin-2HCl distile suda çözülerek hacmi 5 ml'ye distile su ile tamamlandı.

%2'lik sodyum azid

20 mM H_2O_2 (Hidrojen peroksit)

Deneyin yapılışı:

3 ml % 10 luk böbrek homojenatı



41400 g de 4 °C lik sıcaklıkta 10 dakika santrifüj edildi.

Üst faz atıldı, çökelti + 3 ml % 0.5'lik HETAB



Homojenizasyon

3 kez donduruldu – çözündürüldü – sonike edildi



41400 g de 4 °C lik sıcaklıkta 10 dakika santrifüj edildi.

0.3 ml üst faz ile çalışıldı.

Bu aşamadan sonraki işlemler 37 °C lik su banyosunda yapıldı.

Kör

2.9 ml 50 mM K₂HPO₄ (pH: 6)

0.2 ml 20 mM H₂O₂

0.2 ml o-Dianizidin-2 HCl

0.3 ml 50 mM K₂HPO₄ (pH: 6)

Numune

2.9 ml 50 mM K₂HPO₄ (pH: 6)

0.2 ml 20 mM H₂O₂

0.2 ml o-Dianizidin-2 HCl

0.3 ml üst faz



3 dakika beklendi.

0.2 ml % 2'lik sodyum azid ile renk reaksiyonu durduruldu.

37°C lik su banyosundan alındı, karıştırıldı. Oda sıcaklığında bekletildi. 3000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edildi.



Üst faz alınarak oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede 460 nm de okundu.

İstatistiksel Değerlendirme

Alzheimer ile ortaya çıkan davranış değişikliklerinin değerlendirilmesi ve biyokimyasal deney sonuçları “ortalama $\pm$ standart hata” olarak ifade edildi. Verilerin istatistiksel analizinde gruplar arasındaki farklılık gösterilirken tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Gruplar arası farklılıklar “Post-hoc Dunnett testi” uygulanarak incelendi. Tüm istatistik analizlerinde ve şekil çizimlerinde “Prism 4-Graph Pad” istatistik ve grafik yazılım programı kullanıldı. $P<0,05$ ’den küçük olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

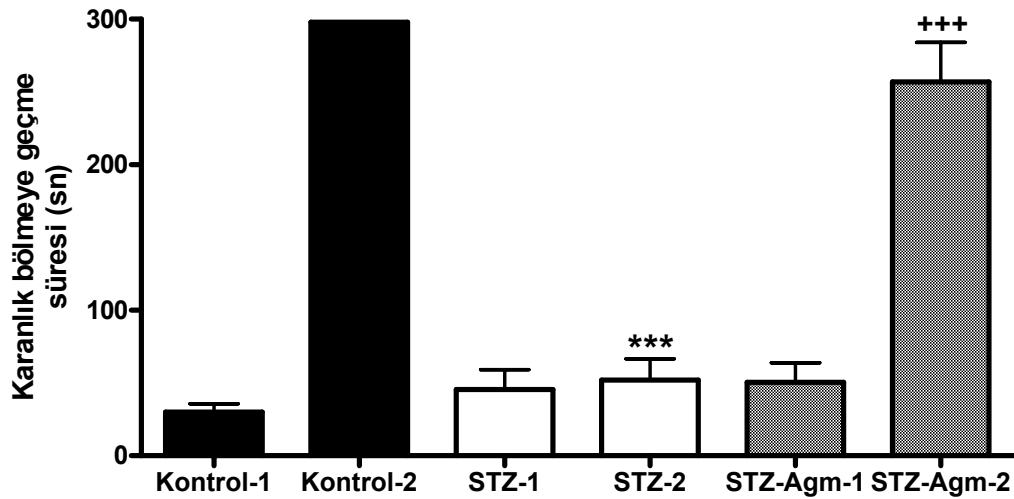
6. BULGULAR

6.1. Davranış Deneylerinin Sonuçları

6.1.1. Pasif sakınma testinin sonuçları

Bu deneyin sonuçları öğrenmenin sağlandığı birinci gün ve 24 saat sonra hem öğrenme hem de kısa süreli belleğin değerlendirildiği ikinci gün sonuçları şeklinde sunulmuştur.

Birinci gün değerleri kontrol için $30,04 \pm 5,778$, STZ grubu için $45,43 \pm 13,73$ ve STZ-Agmatin grubu için $50,43 \pm 13,52$ idi. Asıl değerlendirmenin yapıldığı ikinci gün ise kontrol $298,0 \pm 0,0$, STZ $52,06 \pm 14,54$ ve STZ-Agmatin $256,9 \pm 27,16$ idi (Şekil 7).

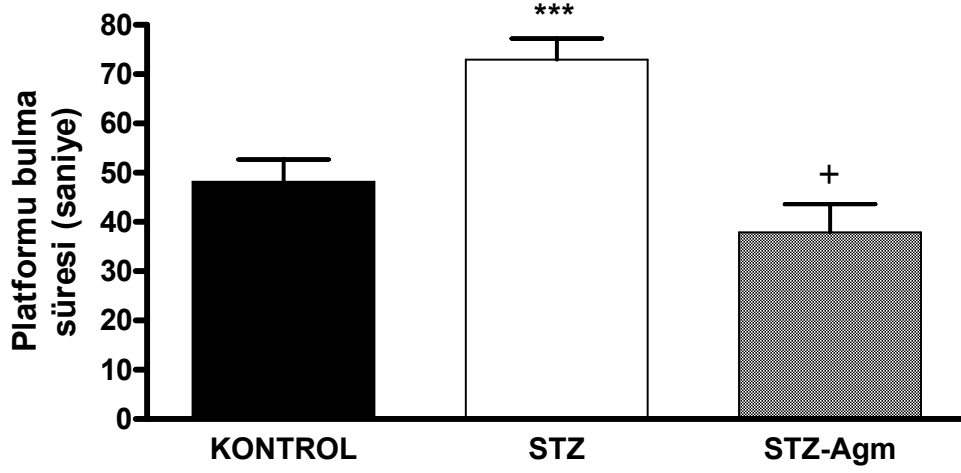


Şekil 7. Pasif sakınma testinde 1.ve 2.gün sonuçları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. *** , $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +++, $p < 0.001$ STZ grubuna göre

6.1.2. Morris'in su tankı testinin sonuçları

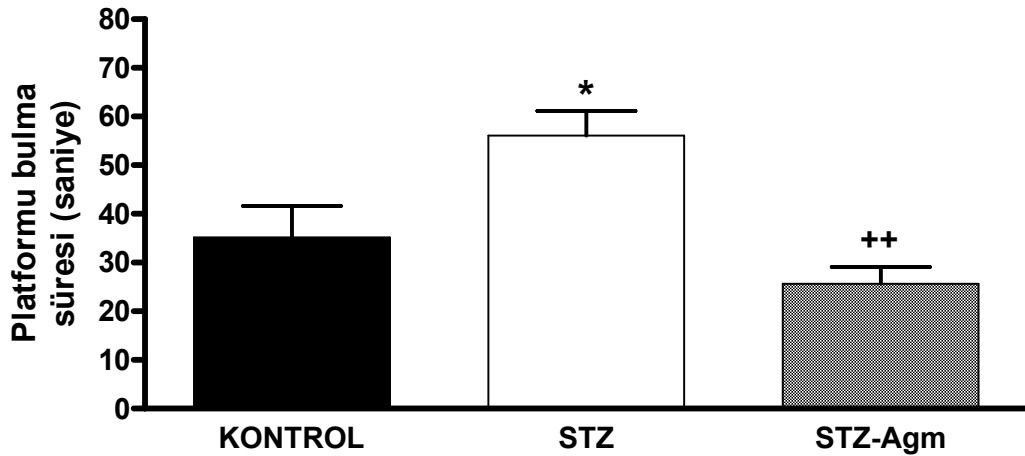
Bu deneyin sonuçları platform varlığında ardışık dört günün sonuçları ve platform olmaksızın yapılan beşinci günün sonuçları şeklinde sunulmuştur.

1.gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin birinci gün ortalaması $48,19 \pm 4,48$, STZ grubunun $75,86 \pm 3,46$ ve STZ-Agmatin grubunda $37,93 \pm 5,695$ 'dir (Şekil 8).



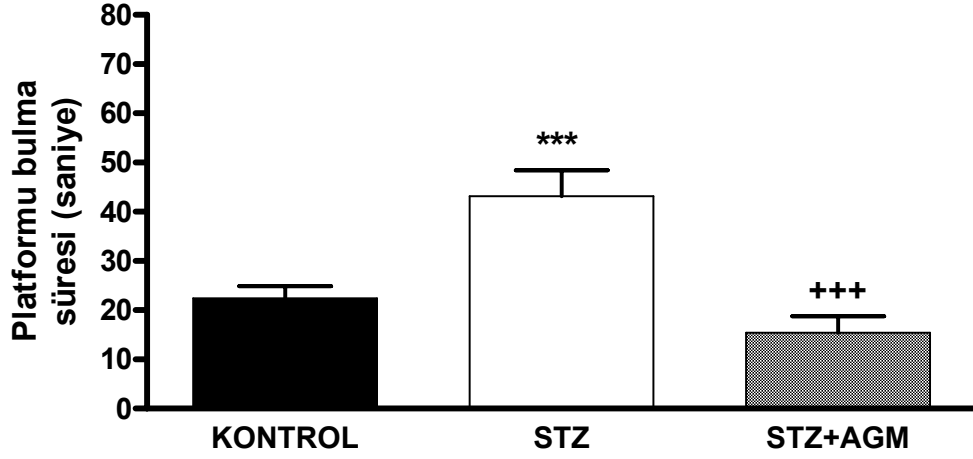
Şekil 8. Morris'in su tankı testinde 1.gün ortalamaları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. *** , $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +, $p < 0.05$ STZ grubuna göre

2.gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin ikinci gün ortalaması $35,14 \pm 6,50$, STZ grubunun $56,12 \pm 5,01$ ve STZ-Agmatin grubunda $25,61 \pm 3,48$ 'dir (Şekil 9).



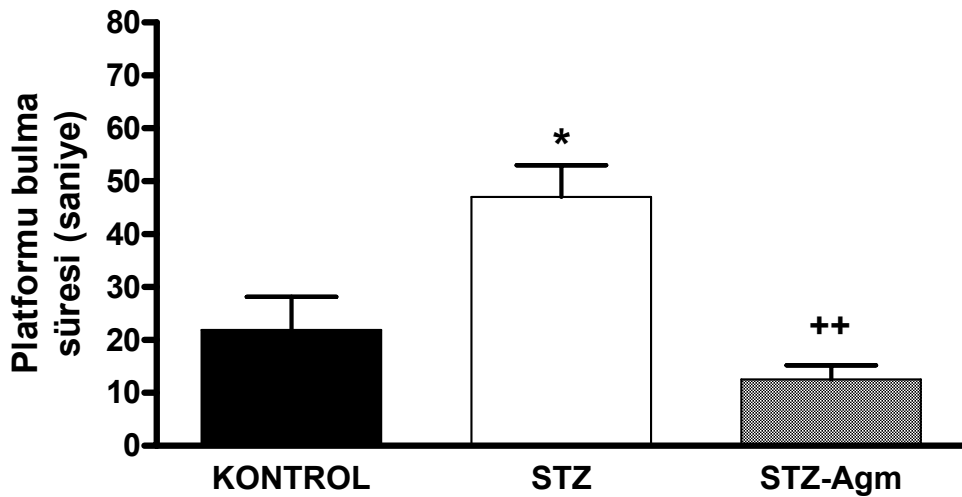
Şekil 9. Morris'in su tankı testinde 2.gün ortalamaları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. * , $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre. ++, $p < 0.01$ STZ grubuna göre

3. gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin üçüncü gün ortalaması $22,44 \pm 2,48$, STZ grubunun $43,19 \pm 5,25$ ve STZ-Agmatin grubunda $15,42 \pm 3,37$ 'dir (Şekil 10).



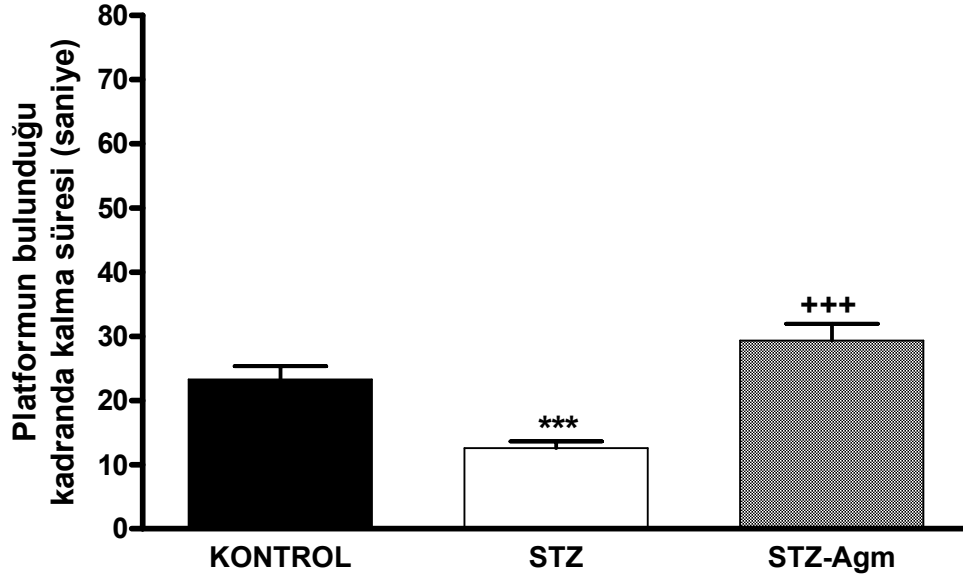
Şekil 10. Morris'in su tankı testinde 3.gün ortalamaları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. *** , $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +++ , $p < 0.001$ STZ grubuna göre

4. gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin dördüncü gün ortalaması $21,93 \pm 6,21$, STZ grubunun $47,01 \pm 5,99$ ve STZ-Agmatin grubunda $12,55 \pm 2,70$ 'dir (Şekil 11).



Şekil 11. Morris'in su tankı testinde 4.gün ortalamaları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. * , $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre. ++ , $p < 0.01$ STZ grubuna göre

5. gün: Kontrol grubunda tek yön beşinci gün ortalaması $23,28 \pm 2,102$, STZ grubunun $12,60 \pm 1,01$ ve STZ-Agmatin grubunda $29,38 \pm 2,58$ 'dir (Şekil 12).



Şekil 12. Morris'in su tankı testinde 5.gün ortalamaları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. *** , $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +++, $p < 0.001$ STZ grubuna göre

6.2. Biyokimyasal Değerlendirmelerin Sonuçları

6.2.1. Kan glukoz düzeylerinin değerlendirilmesinin sonuçları

Kan glukoz düzeyleri hiçbir işlem yapmadan önce ve davranış deneylerinden bir gün önce olmak üzere iki kez ölçülmüştür. Gruplar arası veya zamana bağlı herhangi değişiklik oluşmamıştır (Tablo 3).

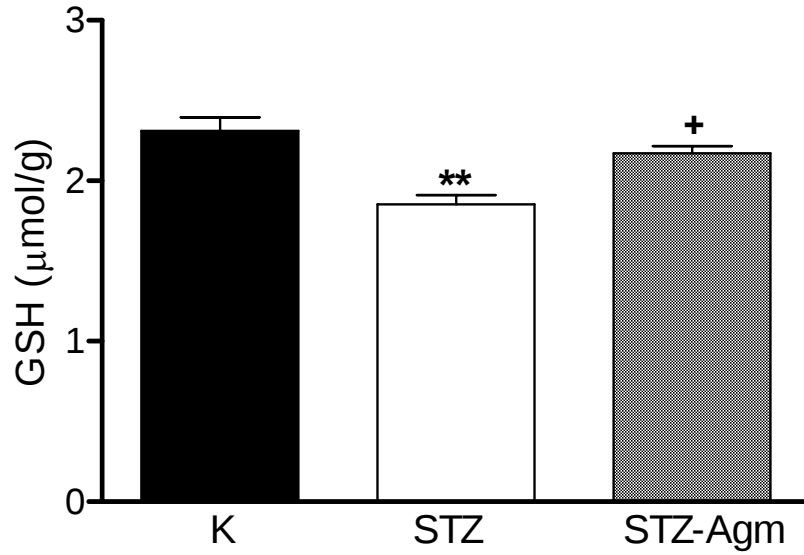
Tablo 3. Kan glukoz değerleri

Gruplar	N	Kan glukoz değerleri (mg/dl)	
		0.gün	14.gün
Kontrol	10	158 ± 10.22	167.56 ± 12.3
STZ	10	138.67 ± 7.27	147.31 ± 10.2
Agmatin 40 mg/kg	10	165.17 ± 13.01	158.30 ± 11.6
STZ-Agmatin 40 mg/kg	10	155.00 ± 6.17	160.10 ± 11.8

6.2.2. Oksidatif hasar değ erlendirilmesinin sonuçları

Glutasyon Sonuçları

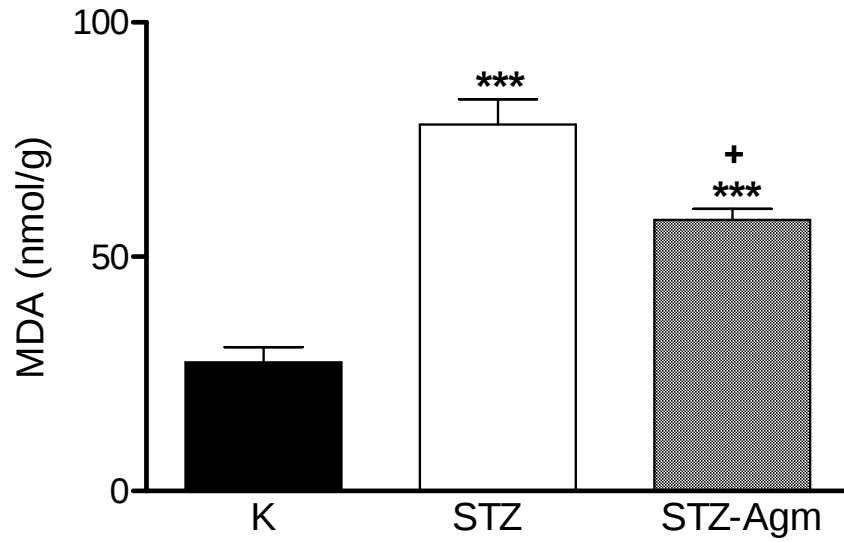
Beyin dokusunda GSH düzeyleri STZ uygulanan grupta 1.86 ± 0.04 , kontrol grubunda 2.31 ± 0.08 idi. Dolayısıyla STZ uygulaması GSH düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde d    m    t  r ($p < 0.01$). Agmatin uygulaması ile GSH düzeyleri 2.17 ± 0.05 'ye gerilemi  tir ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıdır ( ekil 13).



Şekil 13. Beyin dokusunda GSH düzeyleri. Değerler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmi  tir. **, $p < 0.01$ Kontrol grubuna g  re. +, $p < 0.01$ STZ grubuna g  re

Malondialdehit Sonuçları

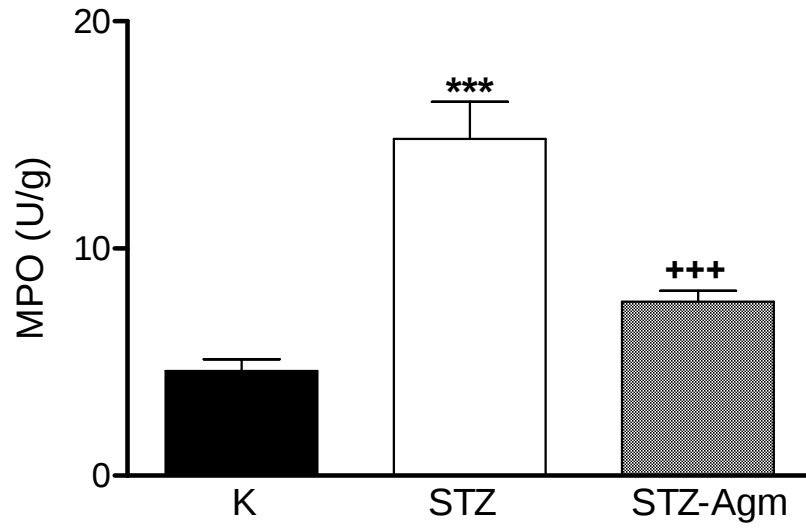
Beyin dokusunda MDA düzeyleri incelendiğinde kontrol grubunda 27.50 ± 3.18 dir. STZ uygulanan grupta bu değer 78.18 ± 5.45 bulunmuştur ve kontrol grubuna göre ileri derecede anlamlıdır ($p < 0,001$). STZ ile oluşan bu artışı agmatin uygulaması ile 57.88 ± 2.35 'e düşmesine neden olmuştur ($p < 0,05$). MDA düzeyindeki bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen kontrol grubuna göre yüksektir (Şekil 14).



Şekil 14. Beyin dokusunda MDA düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. *** , $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +, $p < 0.05$ STZ grubuna göre

Myeloperoksidaz Aktivitesi Sonuçları

MPO aktivitesi kontrol grubunda 4.61 ± 0.51 , STZ uygulanan grupta 14.83 ± 1.63 'dir. STZ uygulanması ile MPO aktivitesi istatistiksel olarak ileri derecede artmış ($p < 0,001$) ve bu agmatin tedavisi ile 7.67 ± 0.48 'e inmiştir. Dolayısıyla agmatin tedavisi STZ'ye bağlı MPO aktivite artışını istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bir biçimde baskılamıştır ($p < 0,001$) (Şekil 15).



Şekil 15. Beyin dokusunda MPO aktivitesi. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. *, $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre. ++, $p < 0.01$ STZ grubuna göre

7. TARTIŞMA

İntraserebroventriküler STZ ile oluşturulmuş Alzheimer modelinde öğrenme ve bellek fonksiyonlarında belirgin bozulma olduğu ve bu bozulmaya oksidatif hasarın eşlik ettiği gösterilmiştir. Agmatin tedavisinin hem kognitif fonksiyon testlerinde hem de paralel olarak oksidatif hasarda azalmaya neden olarak bozulmuş fonksiyonları düzeltebildiği gösterilmiştir.

Aslında agmatinin öğrenme ve bellek fonksiyonları için önemli olabileceğini düşündüren ilk çalışma 2000 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmada bir tür şartlı uyaran testi (contextual conditioned stimuli) kullanılarak sistemik olarak uygulanan agmatinin öğrenme ve belleği olumsuz yönde etkileyebileceğini, hatta amnezi oluşturduğunu göstermişlerdir (141). Daha sonra hem aynı testi hem de uzaysal hafızanın değerlendirilmesinde kullanılan Morris'in su tankı kullanılarak benzer sonuçlar elde edilmiştir (95). Benzer bir çalışmada inhibitör sakınma testi (inhibitory avoidance task) kullanılarak agmatinin daha önce iddia edileninin aksine hatırlamayı kolaylaştırdığı, bu etkiyi α_2 adrenoseptörler, imidazolin ve/veya NMDA reseptörleri ve NO inhibisyonu gibi farklı mekanizmalar üzerinden yapabileceği ileri sürülmüştür (8). Yaşlanmaya bağlı olarak *hipokampal CA1*, *CA2/3* ve *dentat girus* bölgelerinde agmatin düzeyleri incelenmiş ve yaşa bağlı olarak *CA1* bölgesinde azalırken, *CA2/3* ve *dentat girus* bölgelerinde arttığı gösterilmiştir. Agmatinin *entorhinal kortekste* özellikle genç ve orta yaş sıçanlarda, *postrhinal* ve *temporal kortekste* yaşlanmayla arttığı gösterilmiştir. Bu bulgular doğrultusunda agmatin miktarlarının beyin bölgesine ve yaşa bağlı olarak değiştiğini söylemişlerdir (86). Su tankı, zorunlu yüzme testi (forced swimming test) ve kafeste tutma modeli kullanılarak agmatinin etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada ekzojen olarak verilen agmatinin uzaysal hafıza üzerine etkisi araştırılmıştır. Beynin 10 farklı bölgesinde (*Hipokampal CA1*, *CA2/3*, *dentat girus*, *serebellum*, *vestibüler nükleus*, *prefrontal*, *entorhinal*, *perirhinal*, *postrinal* ve *temporal korteks*) agmatin düzeyleri incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre su tankı yöntemi gibi hayvanın uzaysal hafızasına ihtiyaç duyduğu testlerin uygulanmasından sonra özellikle *hipokampusta* (*CA1* ve

dentat girus), *entorhinal korteks* ve *vestibüler nükleusta* agmatin düzeylerinin anlamlı bir biçimde arttığı, bu artışın zorunlu yüzmeye tabi tutulmak veya kafeste bekletilmek ile elde edilmediği gösterilmiştir. Buna göre agmatin düzeylerinin uzaysal hafıza ile ilişkili bölgelerde arttığını böylece agmatinin uzaysal öğrenme ve bellek proseseleri açısından önemli olduğunu söylemişlerdir (88). Bir diğer çalışmada su tankı, yükseltilmiş artı labirent ve açık alan testleri yapılmış ve agmatin i.c.v olarak infüze edilmiştir (85). Bu çalışmanın sonuçları agmatin uygulamasının referans hafıza üzerine bir etkisi olmadan hafızayı güçlendirdiğini (working memory) göstermiştir (87). Bu bulgulara dayanarak biz de Alzheimer modeli kullanarak agmatinin etkisini araştırmayı planlamıştık. Çalışmamızın bulgularına göre su tankı ve pasif sakınma testlerinde i.c.v olarak uygulanan STZ ile öğrenme ve bellek ileri derecede bozulmuş, agmatin tedavisi ile de büyük oranda düzelmiştir. Bizim bulgularımız günümüze dek yapılmış yukarıda sözü edilen diğer çalışmalardaki modellerdeki gibi agmatinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarının düzenlenmesi açısından önemli olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, bu çalışma agmatinin deneysel Alzheimer modelinde etkinliğini araştıran ilk çalışmadır.

Birçok proenflamatuvar sitokin etkilerini iNOS aracılığıyla NO oluşumunu arttırarak yaparlar. Agmatin de iNOS inhibisyonu ile hiperalejiyi engelleyebildiği şeklinde açıklanmıştır. Makrofajlarda imidazolin reseptörleri eksprese olmadığı halde, bazı imidazolinlerin iNOS'u inhibe ettiği, ayrıca agmatinin de iNOS'u baskılayarak NO oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (111). İndüklenebilir NOS ve agmatinaz ekspresyonunu uyaran makrofajlar LPS ile aktive edildiklerinde, arjininin hem transportunu hem de sentezini stimüle ederler. Agmatinin LPS enjeksiyonuna bağlı olarak meydana gelen hipertermiyi baskıladığı, nispeten düşük dozda (20 mg/kg) uygulanan agmatinin artmış vücut sıcaklığını plazma nitrit/nitrat miktarını azalttırarak nitriderjik system aracılığı ile yaptığı gösterilmiştir (6). Agmatin, enflamasyon süresince makrofaj aktivasyonunun düzenlenmesinde rol oynar. Hem sentezinden sorumlu enzim ADC hem de yıkımından sorumlu agmatinaz makrofajlarda sentezlenir. Makrofajlarda bu enzimlerin aktiviteleri LPS ve sitokinler tarafından düzenlenir. İndüklenebilir NOS oluşumunu tetikleyen LPS, doza bağımlı olarak, geri dönüşümlü bir şekilde ADC ve agmatinaz aktivitesini modüle eder. İndüklenebilir NOS ve agmatinaz ekspresyonunu uyaran makrofajlar LPS ile aktive

edildiklerinde, arjininin hem transportunu hem de sentezini stimüle ederler. Buna bağılı olarak intraselüler arjinin ve dolayısıyla NO miktarı artar. Lipopolisakkarit, ADC aktivitesini azaltır. Agmatinaz aktivitesi ise biriken agmatinin hidrolizini gerçekleştirmek için artar. Ayrıca LPS varlığında iNOS inhibitörlerinin hidrolizi stimüle edilir. İnterlökin-10, TGF- β ve IL-4, makrofajların enflamatuvar aktivasyonunu baskılayarak NO üretimini inhibe IL-10 ve TGF- β , stimüle edilemeyen hücrelerde ADC ve agmatinaz aktivasyonunu azaltır. İnterlökin-4 ise ADC aktivitesini değiştirmeksizin, LPS'in agmatinaz üzerindeki etkisini geri çevirebilir (124). Dolayısıyla agmatinin gerek nitriderjik sistem gerekse sitokin oluşumunda rolü vardır. Bu şekilde inflamasyon sürecinin modülasyonunda rolü olduğu bilinen agmatinin Alzheimer etyopatogenezinde önemi bilinen enflamasyon bileşeni üzerine etkili olabileceğini öngördük. Bu nedenle hayvanların beyin dokularında serbest radikal oluşumuna bağılı hasarı değerlendirmek için indirgenmiş GSH, MDA ve MPO aktivitesi ölçtük. Öğrenme ve bellek fonksiyonları bozulmuş olan STZ grubunda beyin dokusunda lipit peroksidasyonunu gösteren yüksek MDA düzeyi, dokuya nötrofil göçünün arttığını gösteren yüksek MPO aktivitesi ve endojen antioksidan GSH düzeyinin azaldığı görüldü. Özellikle STZ uygulamasıyla artan MDA düzeyleri ve MPO aktivitesinin agmatin tedavisiyle anlamlı bir biçimde baskılandığı görülmüştür. Yine STZ uygulamasıyla azalan GSH düzeylerinde agmatin tedavisiyle sınırda fakat anlamlı bir artış görülmüştür. Dolayısıyla bulgularımız agmatinin bozulmuş kognitif fonksiyonlar üzerindeki düzeltici etkisinin serbest radikal oluşumuna bağılı hasarı engelleyerek yaptığı düşünülmüştür.

İntraplantar karregen anjeksiyonundan önce i.t. agmatin tedavisi uygulanan farelerde, agmatinin termal hiperaljeziyi önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (61). Agmatin dışında klonidin gibi α_2 adrenoreseptörlere bağlanan ilaçların da aynı etkiyi göstermesi agmatinin bu etkiyi α_2 adrenoreseptörler aracılığıyla oluşturduğunu düşündürmektedir. Ancak agmatinin α_2 adrenoreseptörler üzerinde agonist etkili olduğunu gösteren bir bulgu olmadığı için, bu etkinin imidazolin reseptörleri aracılığıyla meydana gelmiş olabileceği düşünülmektedir (61). Vücutta endojen olarak bulunan agmatinin, nöropatik ağrı modellerinde koruyucu olduğu, bu etkiyi NOS gibi proenflamatuvar moleküllerin artışının engellenmesine bağılı olabileceği düşünülmüştür. Agmatinin antienflamatuvar etkisinin moleküler temeline ışık tutan

bir çalışmada, makrofajlarda iNOS aktivitesindeki azalmanın imidazolin reseptörleri aracılığı ile meydana gelmediği savunulmuştur. Astrositlerde etkili olan idazoksanın iNOS ekspresyonunu baskılayamaması bu hipotezi doğrular niteliktedir (112). Agmatinin antienflamatuvar etki potansiyeli olduğunu destekleyen bir başka çalışmada, sıçanlara sistemik olarak LPS verilmiştir. Agmatin tedavisi uygulanan grupta, endotoksemiye bağlı kan basıncı düşünün engellenmesi ve sepsise bağlı olarak meydana gelen renal fonksiyon bozukluğunun düzeltilmesi, endotoksik şok modelinde agmatinin koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (125). Sepsise bağlı olarak bütün immün sistem hücrelerinin aktive olduğu ve çok şiddetli bir enflamatuvar yanıt kabul edilebilecek bu deneyde agmatinin sistemik enflamatuvar yanıtı anlamlı bir şekilde baskılaması, güçlü bir antienflamatuvar etki potansiyeline sahip olduğunun bir göstergesi olabilir. Yapılan çalışmaların sonuçlarına göre agmatinin analjezik/antihiperalezik ve antienflamatuvar etki potansiyeli vardır. Endojen bir madde olarak agmatin akut ağrı, nöropatik ağrı ve enflamasyon gibi durumlarda düzenleyici role sahiptir. Bizim çalışmamızın sonuçları da agmatinin Alzheimer gelişimine katkıda bulunan enflamatuvar süreç üzerinde baskılayıcı bir role sahip olduğunu ve bu etkiyi serbest radikal oluşumunu baskılayarak yapabileceğini göstermiştir.

Agmatinin i.t. veya sistemik verilmesi iskemide ve eksitotoksistide nöron kaybını azaltabileceği, bu etkinin, voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının blokajı, NMDA reseptörlerinin bloke edilmesi ve iNOS oluşumunu inhibe etmesine bağlı olabileceği düşünülmüştür (41, 42, 73, 107). Sıçanlarda iskemik hasarıdan sonra agmatin miktarının 20 kat arttığı gösterilmiştir (37). Agmatinin iskemik hasar üzerindeki etkisini araştıran bir başka çalışmada, primer *kortikal* nöronlardan hazırlanan hücre kültüründe oksijen ve glikoz mahrumiyeti ile oluşturulan hasarın agmatin ile önlendiği gösterilmiştir. Agmatinin bu koruyucu etkisinin nNOS aracılığıyla olabileceği, orta serebral arter oklüzyon modeli kullanılarak gösterilmiştir. Bu modelde oklüzyondan önce ve oklüzyon anında verilen agmatinin iskemik hasarı önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Agmatinin bu etkisinde nNOS kadar iNOS’unda rolü olabileceği de düşünülmektedir. Agmatin sıçan *hipokampusunda* voltaja bağımlı iyon kanallarında etkisini araştıran bir çalışmada voltaja bağımlı sodyum, potasyum ve kalsiyum kanallarını içeren hücrelerde kayıt

yapılmış agmatinin sodyum ve potasyum kanallarında bir değişikliğe yol açmazken voltaja bağımlı kalsiyum kanallarında reversibl blokaj oluşturduğu gösterilmiştir (156). Bir diğer çalışmada neonatal sıçan *korteksi*, NMDA veya staurosporin (protein kinaz inhibitörü) veya kalsimisin (kalsiyum ionofor) ile enkübe edilmiş, agmatinin, protein kinaz blokajı ve kalsiyum ile ortaya çıkan hücre ölümünde koruyucu etki göstermezken NMDA ile ortaya çıkan eksitotoksik etkiyi önlediği gösterilmiştir (166). Aslında eksitotoksositeye bağlı nöron kaybı Alzheimer etyopatogenezinde en çok sorumlu tutulan mekanizmalardan bir diğeridir. Büyük olasılıkla bu çalışmada agmatin ile kognitif fonksiyon bozukluğunun tedavi edilebilmesi NMDA reseptörlerini bloke etmesi ve kalsiyumun nörona girişini frenleyerek nöron hasarını azaltmasına bağlıdır.

Hayvanların hareketsiz bırakılması esasına dayanan bir stres modelinde (restraint stress) kronik stresin (21 gün) *prefrontal korteks* ve *hipokampusta* yapısal değişikliklere neden olduğu immünühistokimyasal olarak gösterilmiş, paralel olarak endojen agmatin düzeylerinin azaldığı, agmatinin (50 mg/kg/gün) ise bu bölgelerdeki nöronları koruduğu gösterilmiştir (167, 168). Travmatik hasar modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada histopatolojik olarak agmatinin beyin hasarını azalttığı benzer bir çalışmada hipoksiye bağlı TNF- α salımını inhibe ederek retinal hücreleri koruduğu gösterilmiştir (75, 129). Retinal gangliyon hücrelerini TNF- α 'ya bağlı apoptozisi baskılayarak engellediği gösterilmiştir (58, 59). İskemik hasar üzerindeki etkisini araştıran bir başka çalışmada, primer *kortikal* nöronlardan hazırlanan hücre kültüründe oksijen glikoz deprivasyonu ile oluşturulan hasarı önlediği gösterilmiştir. İndüklenebilir NOS ekspresyonunun agmatin tedavisi uygulanan grupta belirgin bir şekilde azalması bu düşüncüyü doğrulamaktadır (73). İskemiye bağlı akut böbrek hasarını engellediği, bu etkiyi kısmen α_2 adrenoseptörler kısmen de imidazolin reseptörleri aracılığı ile yaptığı gösterilmiştir (145, 146). Agmatinin retinal gangliyon hücrelerini oksidatif strese karşı koruduğu (89), yine oksijen-glikoz eksikliğine bağlı olarak *kortikal* astrosit hücrelerinde meydana gelen hasarı engellediği ve bunu özellikle nükleer faktör kappa B üzerinden yaptığı gösterilmiştir (80). İskemi ve reperfüzyona bağlı olarak gelişen hasarda agmatin tedavisinin bu hasarı serbest radikal oluşumunu ve NO miktarlarını azaltarak engellediği gösterilmiştir (12, 25). Glukokortikoidlerin kronik kullanımının (21 gün) beyinde

bazı morfolojik değişikliklere neden olabileceğinin gösterildiği bir çalışmada eş zamanlı kullanılan agmatinin (50 mg/kg/gün) bu değişiklikleri engellediği gösterilmiştir. Aynı çalışmada glukokortikoid uygulamasının birçok beyin bölgesinde agmatinin sentezinden sorumlu olan enzim ADC'nin miktarını artırdığını da göstermişlerdir. Bu nedenle agmatinin nöronları korumak üzere sentezinin arttırılmaya çalışıldığı yorumu yapılmıştır (169).

Yukarıdaki çalışmalardan elde edilen bulgulara göre agmatin iNOS'u ve/veya nNOS'u inhibe ederek, enflamatuvar sitokinleri baskılayarak, NMDA reseptörlerini bloke ederek dolayısıyla kalsiyumun hücre içine girişini azaltarak nöroprotektif etki yapar. Bu çalışmadan elde edilen bulgular agmatinin bozulmuş öğrenme ve bellek fonksiyonlarını düzeltebildiğini göstermiştir. Elde ettiğimiz sonucun ne yazıkki direkt olarak nöroprotektif etki ile olduğunu söyleyebileceğimiz bir parametremiz olmamakla beraber dokularda serbest radikal oluşumunu baskılayarak oksidan hasarı engellediğini söyleyebiliriz. Gerek Alzheimer modelinde yapılan ilk agmatin çalışması olması gerekse mekanizmaya en azından bir açıdan açıklık getirmesi nedeniyle çalışmanın sonuçları heyecan vericidir. şüphesiz ki endojen bir madde olan agmatinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rolü vardır. Bu konuda çalışmaların devam ettirilmesi hem hastalığın daha iyi anlaşılmasına hem de yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

8. KAYNAKLAR

1. Albasanz JL, Dalfó E, Ferrer I, Martín M. (2005). Impaired metabotropic glutamate receptor/phospholipase C signaling pathway in the cerebral cortex in Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies correlates with stage of Alzheimer's-disease-related changes. *Neurobiol Dis*, 20 (3): 685-693.
2. Arıcıoğlu F. (2008). Sinir sisteminin fonksiyonlarını modüle edebilen yeni bir madde: Agmatin. *RCHP*, 2 (3-4): 27-36.
3. Arıcıoğlu F, Altunbas H. (2003). Is agmatine an endogenous anxiolytic/antidepressant agent? *Ann NY Acad Sci*, 1009: 136–140.
4. Arıcıoğlu F, Körceğiz E, Bozkurt A, Özyalçın S. (2003). Effect of agmatine on acute and mononeuropathic pain. *Ann NY Acad Sci*, 1009: 106-115.
5. Arıcıoğlu F, Paul IA, Regunathan S. (2004). Agmatine reduces only peripheral-related behavioral signs, not the central signs, of morphine withdrawal in nNOS deficient transgenic mice. *Neurosci Lett*, 354 (2): 153-157.
6. Arıcıoğlu F, Regunathan S. (2005). Agmatine attenuates stress-and lipopolysaccharide-induced fever in rats. *Physiol Behav*, 85: 370-375.
7. Arıcıoğlu-Kartal F, Uzbay IT. (1997). Inhibitory effect of agmatine on naloxone precipitated abstinence syndrome in morphine dependent rats. *Life Sci*, 61: 1775-1781.
8. Arteni NS, Lavinsky D, Rodrigues AL, Frison VB, Netto CA. (2002). Agmatine facilitates memory of an inhibitory avoidance task in adult rats. *Neurobiol Learn Mem*, 78 (2): 465-469.
9. Auld DS, Kornecook TJ, Bastianetto S, Quirion R. (2002). Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: Relations to β -amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. *Prog Neurobiol*, 68 (3): 209–245.

10. Bachurin SO. (2003). Mitochondria as a target for neurotoxins and neuroprotective agents. *Ann NY Acad Sci*, 993: 334-344.
11. Battaglia F, Wang HY, Ghilardi MF, Gashi E, Quartarone A, Friedman E, Nixon RA. (2007). Cortical plasticity in Alzheimer's disease in humans and rodents. *Biol Psychiatry*, 62 (12): 1405-1412.
12. Battaglia V, Rossi CA, Colombatto S, Grillo MA, Toninello A. (2007). Different behavior of agmatine in liver mitochondria: inducer of oxidative stress or scavenger of reactive oxygen species? *Biochim Biophys Acta*, 1768 (5): 1147-1153.
13. Beuge JA, Aust SD. (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 52: 302-310.
14. Beutler E. (1975) Glutathione in red blood cell metabolism. *A manual of biochemical methods*, Grune&Stratton, New York, p. 112-114.
15. Bi H, Sze CI. (2002). N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2A and NR2B messenger RNA levels are altered in the hippocampus and entorhinal cortex in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*, 200 (1-2): 11-18.
16. Blennow K, Leon MJ, Zetterberg H. (2006). Alzheimer's disease. *Lancet*, 368 (9533): 387-403.
17. Butterfield DA, Reed T, Newman SF, Sultana R. (2007). Roles of amyloid beta-peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Free Radic Biol Med*, 43 (5): 658-677.
18. Cai ZY, Yan Y. (2007). Pathway and mechanism of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Journal of Medical Colleges of PLA*, 22 (5): 320-324.
19. Castellani RJ, Lee HG, Zhu X, Perry G, Smith MA. (2008). Alzheimer disease pathology as a host response. *J Neuropathol Exp Neurol*, 67 (6): 523-531.

20. Charles V, Mufson EJ, Friden PM., Bartus RT, Kordower JH. (1996). Atrophy of cholinergic basal forebrain neurons following excitotoxic cortical lesions is reversed by intravenous administration of an NGF conjugate. *Brain Res*, 728: 193–203.
21. Chong ZZ, Li F, Maiese K. (2005). Stress in the brain: Novel cellular mechanisms of injury linked to Alzheimer's disease. *Brain Res Rev*, 49 (1): 1–21.
22. Crouch PJ, Harding SME, White AR, Camakaris J, Bush AI, Masters CL. (2008). Mechanisms of A β mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Int J Biochem Cell Bio*, 40 (2): 181–198.
23. Cummings JL. (2004). Alzheimer's Disease. *NEJM*, 351 (1): 56-67.
24. Darreh-Shori T, Modiri N, Nordberg A. (2009). Apolipoprotein E and Butyrylcholinesterase synergistically promote Ab peptides oligomerization. *Alzheimers Dement*, 5 (Suppl 1): p. 225.
25. Dastan A, Kocer I, Erdogan F, Ates O, Kiziltunc A. (2009). Agmatine as retinal protection from ischemia-reperfusion injury in guinea pigs. *Jpn J Ophthalmol*, 53 (3): 219-224.
26. DeKosky ST, Williamson JD, Fitzpatrick AL, Kronmal RA, Ives DG, Saxton JA, Lopez OL, Burke G, Carlson MC, Fried LP, Kuller LH, Robbins JA, Tracy RP, Woolard NF, Dunn L, Snitz BE, Nahin RL, Furberg CD; Ginkgo Evaluation of Memory (GEM) Study Investigators. (2008). Ginkgo biloba for prevention of dementia: a randomized controlled trial. *JAMA*, 300 (19): 2253-2262.
27. Demehri S, Homayoun H, Honar H, Riazi K, Vafaie K, Roushanzamir F, Dehpour AR. (2003). Agmatine exerts anticonvulsant effect in mice: Modulation by alpha 2-adrenoceptors and nitric oxide. *Neuropharmacol*, 45 (4): 534-542.
28. Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF. (1999). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev*, 51 (1): 7-61.

29. Doody RS, Gavrilova SI, Sano M, Thomas RG, Aisen PS, Bachurin SO, Seely L, Hung D; dimebon investigators. (2008). Effect of dimebon on cognition, activities of daily living, behaviour, and global function in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet*, 372 (9634): 207-215.
30. Dringenberg HC. (2000). Alzheimer's disease: More than a 'cholinergic disorder'-evidence that cholinergic-monoaminergic interactions contribute to EEG slowing and dementia. *Behav Brain Res*, 115 (2): 235-249.
31. Dunbar G, Boeijinga PH, Demazières A, Cisterni C, Kuchibhatla R, Wesnes K, Luthringer R. (2007). Effects of TC-1734 (AZD3480), a selective neuronal nicotinic receptor agonist, on cognitive performance and the EEG of young healthy male volunteers. *Psychopharmacol (Berl)*, 191 (4): 919-929.
32. Eiserich JP, Patel RP, O'Donnell VB. (1998). Pathophysiology of nitric oxide and related species: Free radical reactions and modification of biomolecules. *Mol Aspects Med*, 19 (4-5): 21-357.
33. Eker E. (2008). Alzheimer hastalığı. İçinde: *Türkiye'de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar*. Eds: Uğur M, Balcıoğlu İ, Kocabaşoğlu N, s. 85-87.
34. Fairbanks CA, Schreiber KL, Brewer KL, Yu CG, Stone LS, Kitto KF, Nguyen HO, Grocholski BM, Shoeman DW, Kehl LJ, Regunathan S, Reis DJ, Yeziarski RP, Wilcox GL.(2000). Agmatine reverses pain induced by inflammation, neuropathy, and spinal cord injury. *PNAS*, 97 (19): 10584-10589.
35. Feng Y, LeBlanc MH, Regunathan S. (2005). Agmatine reduces extracellular glutamate during pentylenetetrazole-induced seizures in rat brain: A potential mechanism for the anticonvulsive effects. *Neurosci Lett*, 390 (3): 129–133.
36. Friedman JI, Adler DN, Davis KL. (1999). The role of norepinephrine in the pathophysiology of cognitive disorders: Potential applications to the treatment of cognitive dysfunction in schizophrenia and Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*, 46 (9): 1243-1252.

37. Galea E, Regunathan S, Eliopoulos V, Feinstein DL, Reis DJ. (1996). Inhibition of mammalian nitric oxide synthases by agmatine, an endogenous polyamine formed by decarboxylation of arginine. *Biochem J*, 316: 247-249.
38. Gatto GJ, Bohme GA, Caldwell WS, Letchworth SR, Traina VM, Obinu MC, Laville M, Reibaud M, Pradier L, Dunbar G, Bencherif M. (2004). TC-1734: an orally active neuronal nicotinic acetylcholine receptor modulator with antidepressant, neuroprotective and long-lasting cognitive effects. *CNS Drug Rev*, 10 (2): 147-166.
39. Gauthier S. (2002). Advances in the pharmacotherapy of Alzheimer's disease. *CMAJ*, 166 (5): 616-623.
40. Gervais F, Paquette J, Morissette C, Krzywkowski P, Yu M, Azzi M, Lacombe D, Kong X, Aman A, Laurin J, Szarek WA, Tremblay P. (2007). Targeting soluble A β peptide with Tramiprosate for the treatment of brain amyloidosis. *Neurobiol Aging*, 28 (4): 537-547.
41. Gilad GM, Gilad VH. (2000). Accelerated functional recovery and neuroprotection by agmatine after spinal cord ischemia in rats. *Neurosci Lett*, 296: 97-100.
42. Gilad GM, Salame K, Rabey JM, Gilad VH. (1996). Agmatine treatment is neuroprotective in rodent brain injury models. *Life Sci*, 58: 41-46.
43. Gil-Bea FJ, García-Alloza M, Domínguez J, Marcos B, Ramírez MJ. (2005) Evaluation of cholinergic markers in Alzheimer's disease and in a model of cholinergic deficit. *Neurosci Lett*, 375 (1): 37-41.
44. Gong Y, Lippa CF, Zhu J, Lin Q, Rosso AL. (2009). Disruption of glutamate receptors at Shank-postsynaptic platform in Alzheimer's disease. *Brain Res*, 6 (1292): 191-198.
45. Gong ZH, Li YF, Zhao N, Yang HJ, Su RB, Luo ZP. (2006). Anxiolytic effect of agmatine in rats and mice. *Eur J Pharmacol*, 550 (1-3): 112-116.

46. Gordon RK, Nigam SV, Weitz JA, Dave JR, Doctor BP, Ved HS. (2001). The NMDA receptor ion channel: A site for binding of Huperzine A. *J Appl Toxicol*, 21 (Suppl 1): S47-S51.
47. Gossop M. (1988). Clonidine and the treatment of the opiate withdrawal syndrome. *Drug Alcohol Depend*, 21: 253-259.
48. Görgülü A, Kırış T. (2005). Eksitator aminoasidler ve eksitotoksisite. *Türk Nöroşir Derg*, 15 (1): 33-38.
49. Grigorev VV. (2003). Comparative study of action mechanisms of dimebon and memantine on AMPA- and NMDA-subtypes glutamate receptors in rat cerebral neurons. *Bull Exp Biol Med*, 136 (5): 474-477.
50. Grundman M, Delaney P. (2002). Antioxidant strategies for Alzheimer's disease. *Proc Nutr Soc*, 61 (2): 191-202.
51. Guix FX, Uribealago I, Coma M, Muñoz FJ. (2005). The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Prog Neurobiol*, 76 (2): 126-152.
52. Gürvit İH. (2004). Demans sendromu, Alzheimer hastalığı ve Alzheimer dışı demanslar. İçinde: *Nöroloji*. Ed: Öge AE, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, s. 367-415.
53. Haass C, Selkoe DJ. (2007). Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8 (2): 101-112.
54. Harkany T, Abrahám I, Timmerman W, Laskay G, Tóth B, Sasvári M, Kónya C, Sebent JB, Korf J, Nyakas C, Zarándi M, Soós K, Penke B, Luiten PG. (2000). Beta-amyloid neurotoxicity is mediated by a glutamate-triggered excitotoxic cascade in rat nucleus basalis. *Eur J Neurosci*, 12 (8): 2735-2745.
55. Heneka MT, O'Banion MK. (2007). Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neuroimmunol*, 184 (1-2): 69-91.

56. Hillegas LM, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C. (1990). Assesment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J Pharmacol Methods*, 24: 285-295.
57. Hogan DB, Bailey P, Carswell A, Clarke B, Cohen C, Forbes D, Man-Son-Hing M, Lanctôt K, Morgan D, Thorpe L. (2007). Management of mild to moderate Alzheimer's disease and dementia. *Alzheimers Dement*, 3 (4): 355-384.
58. Hong S, Kim CY, Lee JE, Seong GJ. (2009). Agmatine protects cultured retinal ganglion cells from tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis. *Life Sci*, 84 (1-2): 28-32.
59. Hong S, Park K, Kim CY, Seong GJ. (2008). Agmatine inhibits hypoxia-induced TNF-alpha release from cultured retinal ganglion cells. *Biocell*, 32 (2): 201-205.
60. Hooijmans CR, Kiliaan AJ. (2008). Fatty acids, lipid metabolism and Alzheimer pathology. *Eur J Pharmacol*, 585 (1): 176–196.
61. Horvath G, Kekesi G, Dobos I, Szikszay M, Klimscha W, Benedek G. (1999). Effect of agmatine on inflammation-induced thermal hyperalgesia in rats. *Eur J Pharmacol*, 368: 197-204.
62. Hörtnagl H, Hellweg R. (1997). Insights into the role of the cholinergic component of the septohippocampal pathway: What have we learned from experimental lesion studies? *Brain Res Bull*, 43 (3): 245-255.
63. Hynd MR, Scott HL, Dodd PR. (2004). Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochem Int*, 45 (5): 583-595.
64. Ikonen S. (2001). The Role of the Septohippocampal Cholinergic System in Cognitive Functions Kuopio University, Neuroscience and Neurology Department, doctoral thesis, Kuopio, Finland, (Danışman: Assoc. Prof. Dr. Tanila H.).
65. Iqbal K, Alonso Adel C, Chen S, Chohan MO, El-Akkad E, Gong CX, Khatoon S, Li B, Liu F, Rahman A, Tanimukai H, Grundke-Iqbal I. (2005). Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochim Biophys Acta*, 1739 (2-3): 198-210.

66. İçelli İ. (2001). Demans ve komorbid durumları. *Psikiyatri dünyası*, 5: 49-54.
67. Jedrzejewski MK, Lee VM, Trojanowski JQ. (2005). Lowering the risk of Alzheimer's disease: Evidence-based practices emerge from new research. *Alzheimers Dement*, 1 (2): 152-160.
68. Jellinger KA. (2006) .Alzheimer 100--highlights in the history of Alzheimer research. *J Neural Transm*, 113 (11): 1603-1623.
69. Johansson S, Radesäter AC, Cowburn RF, Thyberg J, Luthman J. (2006). Modelling of amyloid beta-peptide induced lesions using roller-drum incubation of hippocampal slice cultures from neonatal rats. *Exp Brain Res*, 168 (1-2): 11-24.
70. Karadağ HC, Ulugöl A, Tamer M, İpçi Y, Dökmeci İ. (2003). Systemic agmatine attenuates tactile allodynia in two experimental neuropathic pain models in rats. *Neurosci Lett*, 339: 88-90.
71. Kennedy BP, Ziegler MG, Alford M, Hansen LA, Thal LJ, Masliah E.(2003). Early and persistent alterations in prefrontal cortex MAO A and B in Alzheimer's disease. *J Neural Transm*, 110: 789–801.
72. Kidd PM. (2008). Alzheimer's disease, amnesic mild cognitive impairment, and age-associated memory impairment: Current understanding and progress toward integrative prevention. *Altern Med Rev*, 13 (2): 85-115.
73. Kim JH, Yenari MA, Giffard RG, Cho SW, Park KA, Lee JE. (2004). Agmatine reduces infarct area in a mouse model of transient focal cerebral ischemia and protects cultured neurons from ischemia-like injury. *Exp. Neurol*, 189: 122-130.
74. Kolesnikov Y, Jain S, Pasternak GW. (1996). Modulation of opioid analgesia by agmatine. *Eur J Pharmacol*, 296: 17-22.
75. Kuo JR, Lo CJ, Chio CC, Chang CP, Lin MT. (2007). Resuscitation from experimental traumatic brain injury by agmatine therapy. *Resuscitation*, 75 (3): 506-514.

76. Lahiri DK, Utsuki T, Chen D, Farlow MR, Shoaib M, Ingram DK, Greig NH. (2002). Nicotine reduces the secretion of Alzheimer's beta-amyloid precursor protein containing beta-amyloid peptide in the rat without altering synaptic proteins. *Ann NY Acad Sci*, 965: 364–372.
77. Lanari A, Amenta F, Silvestrelli G, Tomassoni D, Parnetti L. (2006). Neurotransmitter deficits in behavioural and psychological symptoms of Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev*, 127 (2): 158-165.
78. Lavinsky D, Arteni NS, Netto CA. (2003). Agmatine induces anxiolysis in the elevated plus maze task in adult rats. *Behav Brain Res*, 141 (1): 19–24.
79. Law A, Gauthier S, Quirion R. (2001). Say NO to Alzheimer's disease: the putative links between nitric oxide and dementia of the Alzheimer's type. *Brain Res Rev*, 35 (1):73-96.
80. Lee WT, Hong S, Yoon SH, Kim JH, Park KA, Seong GJ, Lee JE. (2009). Neuroprotective effects of agmatine on oxygen-glucose deprived primary-cultured astrocytes and nuclear translocation of nuclear factor-kappa B *Brain Res*, 1281: 64-70.
81. Lesné S, Ali C, Gabriel C, Croci N, MacKenzie ET, Glabe CG, Plotkine M, Marchand-Verrecchia C, Vivien D, Buisson A. (2005). NMDA receptor activation inhibits alpha-secretase and promotes neuronal amyloid-beta production. *J Neurosci*, 25 (41): 9367-9377.
82. Li G, Regunathan S, Barrow CJ, Eshraghi J, Cooper R, Reis DJ. (1994). Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Science*, 263: 966–969.
83. Li YF, Gong ZH, Cao JB, Wang HL, Luo ZP, Li J. (2003). Antidepressant-like effect of agmatine and its possible mechanism. *Eur J Pharmacol*, 469 (1-3): 81-88.
84. Liu L, Orozco JJ, Planel E, Wen Y, Bretteville A, Krishnamurthy P, Wang L, Herman M, Figueroa H, Yu WH, Arancio O, Duff K. (2008). A transgenic rat that develops Alzheimer's disease-like amyloid pathology, deficits in synaptic plasticity and cognitive impairment. *Neurobiol Dis*, 31 (1): 46-57.

85. Liu P, Bergin DH. (2009). Differential effects of i.c.v. microinfusion of agmatine on spatial working and reference memory in the rat. *Neuroscience*, 159 (3): 951-961.
86. Liu P, Chary S, Devaraj R, Jing Y, Darlington CL, Smith PF, Tucker IG, Zhang H. (2008). Effects of aging on agmatine levels in memory-associated brain structures. *Hippocampus*, 18 (9): 853-856.
87. Liu P, Collie ND. (2009). Behavioral effects of agmatine in naive rats are task- and delay-dependent. *Neurosci*, 122 (3): 557-569.
88. Liu P, Collie ND, Chary S, Jing Y, Zhang H. (2008). Spatial learning results in elevated agmatine levels in the rat brain. *Hippocampus*, 18 (11): 1094-1098.
89. Lizuka Y, Hong S, Kim CY, Kim SK, Seong GJ. (2008). Agmatine pretreatment protects retinal ganglion cells (RGC-5 cell line) from oxidative stress in vitro. *Biocell*, 32 (3): 245-250.
90. Lo Conte G, Bartolini L, Casamenti F, Marconcini-Pepu I, Pepu G. (1982). Lesions of cholinergic forebrain nuclei: Changes in avoidance behavior and scopolamine actions. *Pharmacol Biochem Behav*, 17 (5): 933-937.
91. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. (1994). Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med*, 120: 227-237.
92. Mamelak M. (2007). Alzheimer's disease, oxidative stress and gamma-hydroxybutyrate. *Neurobiol Aging*, 28 (9): 1340-1360.
93. Mattson MP. (2004). Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, 430 (7000): 631-639.
94. McDonald MP, Overmier JB. (1998). Present imperfect: A critical review of animal models of the mnemonic impairments in Alzheimer's disease. *Neurosci Biobehav Rev*, 22 (1): 99-120.

95. McKay BE, Lado WE, Martin LJ, Galic MA, Fournier NM. (2002). Learning and memory in agmatine-treated rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 72 (3): 551-557.
96. Miguel-Hidalgo JJ, Alvarez XA, Cacabelos R, Quack G. (2002). Neuroprotection by memantine against neurodegeneration induced by beta-amyloid(1-40). *Brain Res*, 958 (1): 210-221.
97. Minagar A, Shapshak P, Fujimura R, Ownby R, Heyes M, Eisdorfer C. (2002). The role of macrophage/microglia and astrocytes in the pathogenesis of three neurologic disorders: HIV-associated dementia, Alzheimer disease, and multiple sclerosis. *J Neurol Sci*, 202 (1-2): 13-23.
98. Morris R. (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods*, 11 (1): 47-60.
99. Newman M, Musgrave FI, Lardelli M. (2007). Alzheimer disease: Amyloidogenesis, the presenilins and animal models. *Biochim Biophys Acta*, 1772 (3): 285–297.
100. Pákási M, Kálmán J. (2008) Interactions between the amyloid and cholinergic mechanisms in Alzheimer's disease. *Neurochem Int*, 53 (5): 103-111.
101. Parameshwaran K, Dhanasekaran M, Suppiramaniam V. (2008). Amyloid beta peptides and glutamatergic synaptic dysregulation. *Exp Neurol*, 210 (1): 7-13.
102. Parameshwaran K, Sims C, Kanju P, Vaithianathan T, Shonesy BC, Dhanasekaran M, Bahr BA, Suppiramaniam V. (2007). Amyloid beta-peptide Abeta(1-42) but not Abeta(1-40) attenuates synaptic AMPA receptor function. *Synapse*, 61 (6): 367-374.
103. Paxinos G, Watson C. (1998). The rat brain in stereotaxic coordinates. 4nd ed, Academic Press, California.
104. Pepeu G. (2001). Overview and perspective on the therapy of Alzheimer's disease from apreclinical viewpoint. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*, 25 (1): 193-209.
105. Pratico D. (2008). Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: A reappraisal. *Trends Pharmacol Sci*, 29 (12): 609-615.

106. Prut I, Belzung C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol*, 463: 3-33.
107. Qiu WW, Zheng RY. (2006). Neuroprotective effects of receptor imidazoline 2 and its endogenous ligand agmatine. *Neurosci Bull*, 22 (3): 187-191.
108. Raasch W, Regunathan S, Li G, Reis DJ. (1995). Agmatine, the bacterial amine, is widely distributed in mammalian tissues. *Life Sci*, 56 (26): 2319-2330.
109. Rakonczay Z, Horváth Z, Juhász A, Kálmán J. (2005) Peripheral cholinergic disturbances in Alzheimer's disease. *Chem Biol Interact*, 157-158: 233-238.
110. Reddy PH, McWeeney S. (2006). Mapping cellular transcriptomes in autopsied Alzheimer's disease subjects and relevant animal models. *Neurobiol Aging*, 27 (8): 1060-1077.
111. Regunathan S, Feinstein DL, Reis DJ. (1999). Anti-proliferative and anti-inflammatory actions of imidazoline agents. Are imidazoline receptors involved? *Ann NY Acad Sci*, 881: 410-419.
112. Regunathan S, Piletz JE. (2003). Regulation of inducible nitric oxide synthesis in macrophages and astrocytes. *Ann NY Acad Sci*, 1009: 20-29.
113. Reis DJ, Regunathan S. (1999). Agmatine: An endogenous ligand at imidazoline receptors is a novel neurotransmitter. *Ann NY Acad Sci*, 881: 65–80.
114. Reis DJ, Regunathan S. (2000). Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *Trends Pharmacol Sci*, 21 (5): 187-193.
115. Reisberg B, Doody R, Stöffler A, Schmitt F, Ferris S, Möbius HJ; Memantine Study Group. (2003). Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med*, 348 (14): 1333-1341.
116. Ritchie CW, Bush AI, Mackinnon A, Macfarlane S, Mastwyk M, MacGregor L, Kiers L, Cherny RA, Li QX, Tammer A, Carrington D, Mavros C, Volitakis I, Xilinas M,

- Ames D, Davis S, Beyreuther K, Tanzi RE, Masters CL. (2003). Metal-protein attenuation with iodochlorhydroxyquin (clioquinol) targeting Abeta amyloid deposition and toxicity in Alzheimer disease: a pilot phase 2 clinical trial. *Arch Neurol*, 60 (12): 1685-1691.
117. Rogawski MA, Wenk GL. (2003). The neuropharmacological basis for the use of memantine in the treatment of Alzheimer's disease. *CNS Drug Rev*, 9 (3): 275-308.
118. Roselli F, Tirard M, Lu J, Hutzler P, Lamberti P, Livrea P, Morabito M, Almeida OF. (2005). Soluble beta-amyloid1-40 induces NMDA-dependent degradation of postsynaptic density-95 at glutamatergic synapses. *J Neurosci*, 25: 11061–11070.
119. Sabbagh MN. (2009). Drug development for Alzheimer's disease: Where are we now and where are we headed? *Am J Geriatr Pharmacother*, 7 (3): 167-185.
120. Sabbagh MN, Farlow MR, Relkin N, Beach TG. (2006). Do cholinergic therapies have disease-modifying effects in Alzheimer's disease? *Alzheimers Dement*, 2 (2): 118-125.
121. Salloway S, Mintzer J, Weiner MF, Cummings JL. (2008). Disease-modifying therapies in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 4 (2): 65-79.
122. Salminen A, Ojala J, Kauppinen A, Kaarniranta K, Suuronen T. (2009). Inflammation in Alzheimer's disease: Amyloid- β oligomers trigger innate immunity defence via pattern recognition receptors. *Prog Neurobiol*, 87 (3): 181-184.
123. Sapcanin A, Sofic E, Tahirovic I, Salkovic-Petrisic M, Hoyer S, Riederer P. (2008). Antioxidant capacity in rat brain after intracerebroventricular treatment with streptozotocin and alloxan-a preliminary study. *Neurotox Res*, 13 (2): 97-104.
124. Sastre M, Galea E, Feinstein D, Reis DJ, Regunathan S. (1998). Metabolism of agmatine in macrophages: Modulation by lipopolysaccharide and inhibitory cytokines. *Biochem J*, 330: 1405-1409.

125. Satriano J, Schwartz D, Ishizuka S, Lortie MJ, Thomson SC, Gabbai F, Kelly CJ, Blantz RC. (2001). Suppression of inducible nitric oxide generation by agmatine aldehyde: Beneficial effects in sepsis. *J Cell Physiol*, 188: 313-320.
126. Savioz A, Leuba G, Vallet PG, Walzer C. (2008). Contribution of neural networks to Alzheimer disease's progression. *Brain Res Bull*, 80 (3-4): 309-314.
127. Selekler K. (2004). Alzheimer hastalığının öncesi hafif kognitif bozukluk. *Hacettepe Tıp Derg*, 35: 199-206.
128. Selkoe DJ. (2001). Presenilins, β -amyloid precursor protein and the molecular basis of Alzheimer's disease. *Clin Neurosci Res*, 1 (1-2): 91-103.
129. Sengul G, Takci E, Malcok UA, Akar A, Erdogan F, Kadioglu HH, Aydin IH. (2008). A preliminary histopathological study of the effect of agmatine on diffuse brain injury in rats. *J Clin Neurosci*, 15 (10): 1125-1129.
130. Sharma M, Gupta YK. (2001). Effect of chronic treatment of melatonin on learning, memory and oxidative deficiencies induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 70 (2-3): 325-331.
131. Sharma M, Gupta YK. (2001). Intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats produces both oxidative stress in the brain and cognitive impairment. *Life Sci*, 68 (9): 1021-1029.
132. Sharma M, Gupta YK. (2002). Chronic treatment with trans resveratrol prevents intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive impairment and oxidative stress in rats. *Life Sci*, 71 (21): 2489-2498.
133. Sharma M, Gupta YK. (2003). Effect of alpha lipoic acid on intracerebroventricular streptozotocin model of cognitive impairment in rats. *Eur Neuropsychopharmacol*, 13 (4): 241-247.
134. Smith MA, Hirai K, Hsiao K, Pappolla MA, Harris PL, Siedlak SL, Tabaton M, Perry G. (1998). Amyloid-beta deposition in Alzheimer transgenic mice is associated with oxidative stress. *J Neurochem*, 70 (5): 2212-2215.

135. Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, Paul S, Moran T, Choi EY, Nairn AC, Salter MW, Lombroso PJ, Gouras GK, Greengard P. (2005). Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. *Nat Neurosci*, 8 (8): 1051-1058.
136. Sonkusare S, Srinivasan K, Kaul C, Ramarao P. (2005). Effect of donepezil and lercanidipine on memory impairment induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. *Life Sci*, 77 (1): 1-14.
137. Sonkusare SK, Kaul CL, Ramarao P. (2005). Dementia of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders—memantine, a new hope. *Pharmacol Res*, 51 (1): 1–17.
138. Standridge JB. (2004). Pharmacotherapeutic approaches to the treatment of Alzheimer's disease. *Clin Ther*, 26 (5): 615-630.
139. Steckler T. (2002). Animal models of cognitive disorders. In: *Biological psychiatry*. Eds: D'haenen HAH, Boer JA, Willner P, John Wiley & Sons Ltd, England, p. 219-220.
140. Stephenson J. (2004). New Alzheimer Disease Target Identified. *JAMA*, 291 (17): 2063.
141. Stewart LS, McKay BE. (2000). Acquisition deficit and time-dependent retrograde amnesia for contextual fear conditioning in agmatine-treated rats. *Behav Pharmacol*, 11 (1): 93-97.
142. Su RB, Ren YH, Liu Y, Ding T, Lu XQ, Wu N, Liu ZM, Li J.(2008b). Agmatine inhibits morphine-induced drug discrimination in rats. *Eur J Pharmacol*, 593: 62–67.
143. Su RB, Wang WP, Lu XQ, Wu N, Liu ZM, Li J. (2009). Agmatine blocks acquisition and re-acquisition of intravenous morphine self-administration in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 92 (4): 676-682.
144. Su RB, Wei XL, Zheng JQ, Liu Y, Lu XQ, Li J. (2004). Anticonvulsive effect of agmatine in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 77 (2): 345-349.

145. Sugiura T, Kobuchi S, Tsutsui H, Takaoka M, Fujii T, Hayashi K, Matsumura Y. (2009). Preventive mechanisms of agmatine against ischemic acute kidney injury in rats. *Eur J Pharmacol*, 603 (1-3): 108-113.
146. Sugiura T, Tsutsui H, Takaoka M, Kobuchi S, Hayashi K, Fujii T, Matsumura Y. (2008). Protective effect of agmatine on ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, 51 (3): 223-230.
147. Swanson CJ, Bures M, Johnson MP, Linden AM, Monn JA, Schoepp DD. (2005). Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders. *Nat Rev Drug Discov*, 4 (2): 131-144.
148. Szegedi V, Juhasz G, Budai D, Penke B. (2005). Divergent effects of Abeta1-42 on ionotropic glutamate receptor-mediated responses in CA1 neurons in vivo. *Brain Res*, 1062: 120–126.
149. Terry AV Jr, Buccafusco JJ. (2003). The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: Recent challenges and their implications for novel drug development. *J Pharmacol Exp Ther*, 306 (3): 821-827.
150. Torreilles F, Touchon J. (2002). Pathogenic theories and intrathecal analysis of the sporadic form of Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*, 66 (3): 191–203.
151. Tsuno N. (2009). Donepezil in the treatment of patients with Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother*, 9 (5): 591-598.
152. Turner LN, Balasubramaniam R, Hersh EV, Stoopler ET. (2008). Drug therapy in Alzheimer disease: An update for the oral health care provider. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 106 (4): 467-476.
153. Utsuki T, Shoaib M, Holloway HW, Ingram DK, Wallace WC, Haroutunian V, Sambamurti K, Lahiri DK, Greig NH. (2002). Nicotine lowers the secretion of the Alzheimer's amyloid beta-protein precursor that contains amyloid beta-peptide in rat. *J Alzheimers Dis*, 4 (5): 405-415.

154. Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Cullen WK, Anwyl R, Wolfe MS, Rowan MJ, Selkoe DJ. (2002). Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature*, 416: 535–539.
155. Walton HS, Dodd PR. (2007). Glutamate-glutamine cycling in Alzheimer's disease. *Neurochem Int*, 50 (7-8): 1052-1066.
156. Wang WP, Iyo AH, Miguel-Hidalgo J, Regunathan S, Zhu MY. (2006). Agmatine protects against cell damage induced by NMDA and glutamate in cultured hippocampal neurons. *Brain Res*, 1084 (1): 210-216.
157. Watson GS, Craft S. (2004) Modulation of memory by insulin and glucose: neuropsychological observations in Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol*, 490 (1-3): 97-113.
158. Wei XL, Su RB, Lu XQ, Liu Y, Yu SZ, Yuan BL, Li J. (2005). Inhibition by agmatine on morphine-induced conditioned place preference in rats. *Eur J Pharmacol*, 515 (1-3): 99-106.
159. Wei XL, Su RB, Wu N, Lu XQ, Zheng JQ, Li J. (2007). Agmatine inhibits morphine-induced locomotion sensitization and morphine-induced changes in striatal dopamine and metabolites in rats. *Eur Neuropsychopharmacol*, 17 (12): 790-799.
160. Weinstock M, Shoham S. (2004). Rat models of dementia based on reductions in regional glucose metabolism, cerebral blood flow and cytochrome oxidase activity. *J Neural Transm*, 111 (3): 347-366.
161. Xiao XQ, Zhang HY, Tang XC. (2002). Huperzine A attenuates amyloid beta-peptide fragment 25-35-induced apoptosis in rat cortical neurons via inhibiting reactive oxygen species formation and caspase-3 activation. *J Neurosci Res*, 67 (1): 30-36.
162. Yamada K, Nabeshima T. (2000). Animal models of Alzheimer's disease and evaluation of anti-dementia drugs. *Pharmacol Ther*, 88 (2): 93-113.

163. Yao J, Taylor M, Davey F, Ren Y, Aiton J, Coote P, Fang F, Chen JX, Yan SD, Gunn-Moore FJ. (2007). Interaction of amyloid binding alcohol dehydrogenase/Abeta mediates up-regulation of peroxiredoxin II in the brains. *Mol Cell Neurosci*, 35 (2): 377-382.
164. Zeidan MP, Zomkowski AD, Rosa AO, Rodrigues AL, Gabilan NH. (2007). Evidence for imidazoline receptors involvement in the agmatine antidepressant-like effect in the forced swimming test. *Eur J Pharmacol*, 565 (1-3): 125-131.
165. Zhou L, Zhu DY. (2009). Neuronal nitric oxide synthase: Structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric Oxide*, 20 (4): 223-230.
166. Zhu MY, Piletz JE, Halaris A, Regunathan S. (2003). Effect of agmatine against cell death induced by NMDA and glutamate in neurons and PC12 cells. *Cell Mol Neurobiol*, 23 (4-5): 865-872.
167. Zhu MY, Wang WP, Cai ZW, Regunathan S, Ordway G. (2008). Exogenous agmatine has neuroprotective effects against restraint-induced structural changes in the rat brain. *Eur J Neurosci*, 27 (6): 1320-1332.
168. Zhu MY, Wang WP, Huang J, Feng YZ, Regunathan S, Bissette G. (2008). Repeated immobilization stress alters rat hippocampal and prefrontal cortical morphology in parallel with endogenous agmatine and arginine decarboxylase levels. *Neurochem Int*, 53 (6-8): 346-354.
169. Zhu MY, Wang WP, Huang J, Regunathan S. (2007). Chronic treatment with glucocorticoids alters rat hippocampal and prefrontal cortical morphology in parallel with endogenous agmatine and arginine decarboxylase levels. *J Neurochem*, 103 (5): 1811-1820.
170. Zoia C, Cogliati T, Tagliabue E, Cavaletti G, Sala G, Galimberti G, Rivolta I, Rossi V, Frattola L, Ferrarese C. (2004). Glutamate transporters in platelets: EAAT1 decrease in aging and in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 25: 149-157.

171. Zoia CP, Tagliabue E, Isella V, Begni B, Fumagalli L, Brighina L, Appollonio I, Racchi M, Ferrarese C. (2005). Fibroblast glutamate transport in aging and in AD: Correlations with disease severity. *Neurobiol Aging*, 26: 825–832.
172. Zomkowski AD, Hammes L, Lin J, Calixto JB, Santos AR, Rodrigues AL. (2002). Agmatine produces antidepressant-like effects in two models of depression in mice. *Neuroreport*, 13 (4): 387-391.
173. Zomkowski AD, Rosa AO, Lin J, Santos AR, Calixto JB, Rodrigues AL. (2004). Evidence for serotonin receptor subtypes involvement in agmatine antidepressant like-effect in the mouse forced swimming test. *Brain Res*, 1023 (2): 253-263.
174. Zomkowski AD, Santos AR, Rodrigues AL. (2005). Evidence for the involvement of the opioid system in the agmatine antidepressant-like effect in the forced swimming test. *Neurosci Lett*, 381 (3): 279-283.

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Müge	Soyadı	ŞİRVANCI YALABIK
Doğum Yeri	BALIKESİR	Doğum Tarihi	07/05/1984
Uyruğu	T.C.	Tel	0533 650 39 94
E-mail	mugesirvanci@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2006
Lise	Balıkesir Sırrı Yırcalı Anadolu Lisesi	2002

İş Deneyimi

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
	Mesul Müdür	Marmara Galenos Ecza Deposu Tic. ve San. A.Ş.	2008-Devam ediyor
	Proje sorumlusu	Novartis Sağlık A.Ş.	2007-2008

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İyi	İyi	İyi
Almanca	Orta	Zayıf	Zayıf

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	58,311	59,734	60,836

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office Programları	Çok iyi

10. ETİK KURUL ONAY BELGESİ



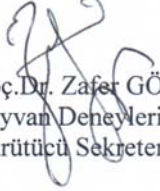
**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU**

PROJENİN ADI : Deneysel alzheimer modelinde agmatinin etkilerinin araştırılması
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ : Prof.Dr. Feyza Arıcıoğlu
PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR : Müge Şirvancı
PROJENİN YÜRÜTÜLECEĞİ LABORATUVAR : M.Ü. Eczacılık Fak. Farmakoloji
Anabilim Dalı
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI : 16.04.2009-10.2009.mar

Sayın : Prof.Dr. Feyza Arıcıoğlu

Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'na "Deneysel alzheimer modelinde agmatinin etkilerinin araştırılması " isimli projeniz"Hayvan Deneyleri Etik Kurulu " tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Çalışmalarınızda başarılar dileriz.


Doç.Dr. Zafer GÖREN
Hayvan Deneyleri Etik Kurul
Yürütücü Sekreteri

Not: Deneylerin yapılması sırasında ortaya çıkan zorluklar, deney protokolünde yapılması gereken değişiklikler, "Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu'na" bildirilmelidir. Bütün yazışmalarda, proje onay tarihi ve onay sayısı belirtilmelidir. Araştırmacıların proje ile yapılan bütün yayınlarında proje onay tarih ve numarası belirtmesi zorunludur.