

T.C
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI



**β-AMİLOİD İLE İNDÜKLENEN IN VİTRO ALZHEİMER
HASTALIĞI MODELİNDE β-GLİSİRETİNİK ASİT'İN KORUYUCU
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS

Sevinç AYABAKTI

Danışman:

Prof. Dr. Fatih SAKİN

HATAY-2020

T.C
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

**β-AMİLOİD İLE İNDÜKLENEN IN VİTRO ALZHEİMER
HASTALIĞI MODELİNDE β-GLİSİRETİNİK ASİT'İN KORUYUCU
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans
Sevinç AYABAKTI

Danışman:

Prof. Dr. Fatih SAKİN

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
19.YL.045 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY-2020

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

**β-AMİLOİD İLE İNDÜKLENEN IN VİTRO ALZHEIMER HASTALIĞI
MODELİNDE LİNOLEİK ASİT'İN KORUYUCU ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Sevinç AYABAKTI

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından/...../ 2020 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof. Dr. Fatih SAKİN

Üye: Doç. Dr. Mustafa YİPEL

Üye: Doç. Dr. Orhan ÇORUM

Bu tez, Enstitümüz Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

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

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın tüm sürecinde beni her zaman destekleyen, bilgisini, zamanını ve yardımını esirgemeyen değerli danışmanım Prof. Dr. Fatih SAKİN'e ve Dr. Öğr. Üyesi Arash ALIZADEH YEGANI'ye;

Her zaman bana destek olup anlayış ve sabır gösteren başta annem olmak üzere babam, abim, ablam ve kardeşime;

Hatay Altınözü Devlet Hastanesi Başhekimi Dr. Batuhan KUNT ve mesai arkadaşlarıma;

Hiçbir yardımını esirgemeyen Nihat'a en içten teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
ÖZET	XI
ABSTRACT.....	XII
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Alzheimer Hastalığı Epidemiyolojisi	2
2.2. Alzheimer Hastalığının Belirtileri	3
2.3. Alzheimer Hastalığının Patogenezi	3
2.3.1. Kolinerjik Hipotezi	3
2.3.2. Glutamaterjik Hipotez	4
2.3.3. Amiloid Kaskat Hipotezi	5
2.3.4. Tau-Proteini Hipotezi	7
2.4. Alzheimer Hastalığı'nda Risk Faktörler	8
2.4.1. Cinsiyet	8
2.4.2. Yaş	9
2.4.3. Genetik Faktörler	9
2.5. Alzheimer Hastalığında Oksidatif Stres ve Apoptozun Yeri	10
2.5.1. Oksidatif Stres	10
2.5.2. Apoptoz	14
2.6. Alzheimer Hastalığı'nda Güncel Tedavi	15
2.6.1. Kolinerjik Ajanlar	16
2.6.2. N-Metil-D-Aspartik Asit Reseptör Antagonisti	18
2.7. Alzheimer Tedavisinde Alternatif Molekül 18β-Glisiretinik Asit	20
2.7.1. 18β-Glisiretinik Asit'in Farmakolojik Etkileri	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Hücre Kültürü	25

3.2. Amiloid Beta Peptit ($A\beta_{1-40}$) ile Oluşturulan <i>in vitro</i> AH Modeli	25
3.3.MTT Analizi.....	26
3.4. ELISA Testi ile Kaspaz-3, SOD, KAT ve GPx Enzim Düzeyleri.....	26
3.5. İstatistiksel Analizler.....	27
4. BULGULAR.....	28
4.1. $A\beta_{1-40}$ Uygulamasına Karşı 18 β -Glisiretinik Asit Eklenen Grupların MTT Analiz Sonuçları	28
4.2. 18 β -Glisiretinik Asit Uygulamasının <i>in vitro</i> AH Modelinde Apoptoz Mekanizmasına Etkileri	29
4.3. 18 β -Glisiretinik Asit Uygulamasının <i>in vitro</i> AH Modelinde Antioksidan Enzim Seviyelerine Etkileri.....	30
4.3.1. 18 β -Glisiretinik Asit'in <i>in vitro</i> AH Modelinde SOD Enzim Seviyelerine Etkisi.....	30
4.3.2. 18 β -Glisiretinik Asit'in <i>in vitro</i> AH Modelinde GPx Enzim Seviyelerine Etkisi.....	31
4.3.3. 18 β -Glisiretinik Asit'in <i>in vitro</i> AH Modelinde KAT Enzim Seviyelerine Etkisi.....	32
5. TARTIŞMA	33
6.SONUÇ.....	37
7. KAYNAKÇA.....	38
ÖZGEÇMİŞ	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Amiloid Prekürsör Proteini'nin Amilodijenik Yol ile Bölünmesi .	6
Şekil 2. Amiloid β yanlış katlanması ve toplanması .	6
Şekil 3: Tau protein patolojisinin oluşum ve ilerlemesi	8
Şekil 4. SOD Enzim Mekanizması	12
Şekil 5. Glutasyon Peroksidaz Enzim Mekanizması	13
Şekil 6. Antioksidan Enzim Savunma Mekanizması	14
Şekil 7. Kaspaz-3'ün AH oluşum ve ilerlemesindeki rolü	15
Şekil 8. <i>G. glabra</i> , ana aktif bileşenleri	20
Şekil 9. $A\beta_{1-40}$ Uygulamasına Karşı 18 β -Glisiretinik Asit Eklenen Grupların Hücre Canlılıkları	29
Şekil 10. <i>In vitro</i> AH modelinde kaspaz-3 enzim (pg/ml) seviyesi değerleri:	30
Şekil 11. <i>In vitro</i> AH modelinde SOD enzim (U/ mg protein) seviyesi değerleri:	31
Şekil 12. <i>In vitro</i> AH modelinde GPx enzim (U/ mg protein) seviyesi değerleri:	32
Şekil 13. <i>In vitro</i> AH modelinde KAT enzim (pg/ml) seviyesi değerleri:	32

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Alzheimer Hastalığının Tedavisi İçin Mevcut FDA Onaylı İlaçlar.....	19
Tablo 2. A β ₁₋₄₀ indüklenmesi ile oluşturulan AH modelinde 18 β -GA'nın hücre canlılığı ve biyokimyasal parametre seviyeleri	28



SİMGELER VE KISALTMALAR

AAH	: Ailesel Alzheimer Hastalığı
ABD	: Amerika Birleşik Devleti
AChE	: Asetilkolin Esteraz
AH	: Alzheimer Hastalığı
Apo	: Apolipoprotein
APP	: Amiloid Prekürsör Proteini
A β	: Amiloid- β
BuChE	: Butirilkolinesteraz
Ca ⁺²	: Kalsiyum
CHEI	: Kolinergik Ajanlar
CPE	: <i>Crataegus pinnatifida</i> meyvesinin etanol ekstraktı
CTF-a	: C-Terminal Fragmanı Alfa
CTF- β	: C-Terminal Fragmanı β
DMEM	: Dulbecco's Modification Of Eagle's Medium
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DSB	: Derhal Serbest Bırakma
FBS	:Fetal Buzağı Serumu
FDA	: Food And Drug Administration
<i>G. glabra</i>	: <i>Glycyrrhiza glabra</i>
GA	: Glisiretinik Asit
GİS	: Gastrointestinal Sistem
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	:Glutasyon

GSK-3	:Glikojen Sentaz Kinaz-3
GSSG	:Okside Glutasyon
<i>H. Pylori</i>	: <i>Helicobacter Pylori</i>
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	:Hidrojen Peroksit .
Hep G2	:Hepatoma Hücre Dizisi
HEPES	: 4-(2-Hidroksietil)-1-Piperazineetansulfonik Asit
I/R	: İskemi/Reperfüzyon
KAT	:Katalaz
MG	: Malign Glioma
Mg ⁺²	: Magnezyum
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
MTT	: 3- (4,5-Dimetiltiyazol-2-İl) -2,5 Difeniltetrazolium Bromür
MTX	: Metotreksat
<i>n</i>	:Sayı
NADP ⁺	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NFY	: Nöro Fibriler Yumaklar
NMDA	:N-Metil-D-Aspartik Asit
NO	:Nitrik Oksit
O ₂	: Oksijen
O ₂ ⁻	: Süperoksit
OH ⁻	:Hidroksil
OS	: Oksidatif Stres
OSAO	:Oklüzyon-reperfüzyonu

OST	: Osthol
<i>P. nigrum</i>	: <i>Piper nigrum</i>
PSA	:Penisilin/Streptomisin
PSEN1	:Presenilin-1
PSEN2	:Presenilin-2
p-tau	: Tau Proteini
ROT	:Reaktif Oksijen Türleri
<i>S. triloba</i>	: <i>Salvia triloba</i>
SOD	:Süper Oksit Dismutaz
SS	:Standart Sapma
β -Sekretaz	:Beta Sekretaz
TAD	: Toplam antioksidan durum
TNF-a	: Tümör Nekroz Faktörü-a
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
US	:Uzatılmış Salım
γ -Sekrataz	: Gama Sekretaz
μ l	: Mikrolitre ...
μ M	: Mikromolar

ÖZET

β -Amiloid İle İndüklenen *in vitro* Alzheimer Hastalığı Modelinde β -Glisiretinik Asit'in Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması

Bu çalışma, U87 Malign Glioma (MG) hücre hattında amiloid β_{1-40} (A β) ile indüklenen *in vitro* Alzheimer Hastalığı (AH) modelinde apoptotik yollar ve antioksidan enzimler üzerine meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*) bitki ekstresinden elde edilen 18 β -Glisiretinik asitin (GA) koruyucu etkilerini araştırmak amacıyla gerçekleştirildi.

Çalışmada U87 MG hücre hattından ibaret kontrol grubu, A β ile indüklenmiş U-87 hücre hatlarını içeren *in vitro* AH modelinin oluşturulduğu A β grubu ve A β grubuna 18 β GA eklenmesiyle oluşturulan A β +18 β GA grubu olmak üzere 3 grup oluşturuldu. Apoptozisin göstergesi olarak kaspaz-3, antioksidan durumun belirlenebilmesi için de süper oksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimlerinin seviyeleri analiz edildi. Kontrol grubuna kıyaslandığında A β grubunda kaspaz-3 seviyesi istatistiksel olarak önemli şekilde yüksek bulunurken; A β +18 β GA grubunda ise A β grubuna kıyasla kaspaz-3 seviyesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p<0,05$). Bununla birlikte, kontrol grubu ile kıyaslandığında A β grubunda SOD, KAT ve GPx enzim seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunurken, A β +18 β GA grubunda A β grubuna kıyasla bu enzim seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p<0,05$).

Sonuç olarak, A β ile indüklenmiş *in vitro* AH modelinde 18 β -GA'nın antioksidan enzim düzeylerini artırarak ve apoptotik yolları aktive ederek koruyucu bir potansiyele sahip olduğu ortaya konuldu. Bu etkiler göz önüne alındığında 18 β -GA'nın AH'da koruyucu ya da alternatif tedavide kullanım potansiyeline sahip olabileceği, bunun yapılacak daha ileri çalışmalarla desteklenmesi gerektiği değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: 18 β - Glisiretinik Asit, Alzheimer hastalığı, Kaspaz-3, Antioksidan enzimler

ABSTRACT

Investigation of the protective effect of β -glycyrrhetic acid in the β -amyloid induced in vitro alzheimer's disease model

This study was carried out to investigate the protective effects of 18 β -Glycyrrhetic acid (GA) which is derived from licorice root (*Glycyrrhiza glabra*) plant extract on apoptotic pathways and antioxidant enzymes in an in vitro Alzheimer's Disease (AD) model induced by amyloid β 1-40 (A β) in U87 Malignant Glioma cell line.

In the study, three groups were formed: the control group consisting of U87 MG cell line, the A β group, in which the in vitro AD model was created containing the A β -induced U-87 cell lines, and the A β + 18 β GA group created by adding 18 β GA to the A β group. Caspase-3 as an indicator of apoptosis, and to be able to determine the antioxidant status the levels of super oxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) enzymes were analyzed. When compared to the control group, the caspase-3 level in the A β group was found to be statistically significantly higher; In the A β +18 β GA group, the caspase-3 level was determined statistically significantly lower compared to the A β group ($p < 0.05$). Nevertheless, when compared to the control group, SOD, CAT and GPx enzyme levels were found statistically significantly low in the A β group, while these enzyme levels were determined to be statistically considerably high in the A β + 18 β GA group compared to the A β group ($p < 0.05$).

As a result, it was revealed that 18 β -GA has a protective potential by increasing antioxidant enzyme levels and activating apoptotic pathways in A β -induced in vitro AD model. When these effects are considered, it was evaluated that 18 β -GA could have the potential to be used in preventive or alternative treatment in AD, and this should be supported by further studies.

Keywords: 18 β -Glycyrrhetic Acid, Alzheimer's disease, Caspase-3, Antioxidant enzymes

1.GİRİŞ

Demans; davranış, bellek ve düşünme gibi bilişsel alanlarda yaşa bağlı olarak düşüş gösteren, bireyin günlük yaşam aktivitelerini etkili bir şekilde gerçekleştirme yeteneğini kısıtlayan insidansı nedeniyle “21. yüzyılda sağlık ve sosyal bakım için en büyük zorluk” olarak görülen olgudur. Teşhis edilen demans vakalarının yaklaşık %80’i Alzheimer Hastalığı (AH) olarak bilinen demans formundadır (Mullane&Williams 2020). AH, 1906 yılında bir kadın hastanın beyin otopsisinin sonucu çeşitli bulgular elde edilmesi ve bu bulguların 1907 yılında yayımlanması ile ilk kez tanımlanmış olup; dünya genelinde artan yaşa bağlı prevelansı en yaygın olan kronik geri dönüşümsüz nörodejeneratif bir hastalıktır (Cipriani ve ark. 2010; Anand ve ark. 2014). Hastalığın ilerlemesi üç aşamada tanımlanabilir. İlk aşama klinik öncesi faz olarak adlandırılır ve asemptomatiktir. Beyindeki amiloid beta (A β) plaklar ile karakterize edilir ama beyin fonksiyonunda değişiklik kanıtı yoktur. Amiloid plakların ortaya çıkmasını, hiperfosforillenmiş yanlış katlanmış Tau protein (p-tau) agregatları sonucu Nöro Fibriler Yumakların (NFY) oluşumu takip eder. p-tau patolojisi nöron kaybı ve beyin atrofisi ile ilişkili olan hafif bilişsel bozukluk adı verilen ikinci klinik fazdır. Klinik fazın üçüncü aşamasında günlük aktivitelerde bozulma meydana gelir. Günümüzde hastalığın spesifik bir tedavisi yoktur (Cannavoa ve ark. 2020).

Bu çalışmada; öncelikle AH’nin tanımı, epidemiyolojisi, semptomları, patofizyolojisi, ortaya çıkma süreci ile ilgili var olan hipotezler ve güncel tedavisinde kullanılan ilaçlar özetlendi. Tezin sonraki bölümlerinde günümüzde AH’nin tedavisinde daha önce hiç çalışma bulunmayan geleneksel bitki türü olan *Glycyrrhiza glabra* (*G. glabra*)’dan elde edilen 18 β -Glisiretinik Asit (18 β -GA) anlatıldı. Bu kapsamda öncelikle 18 β -GA’nın farmakolojik etkileri *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla desteklenerek detaylı olarak sunuldu. 18 β -GA’nın AH’deki etkinliğini incelemek amacıyla U87 Malign Glioma (MG) hücre hatlarında A β ₁₋₄₀ indüklenmesi ile oluşturulan *in vitro* AH hücre modelinde 18 β -GA’nın hücre canlılığı üzerindeki etkileri 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazolyum bromür (MTT) analizi ile araştırıldı. Sonrasında ELISA testi ile bu hücre hatlarında 18 β -GA’nın AH’deki koruyucu etkilerini araştırmak ve bunun oksidatif hasar ve apoptoz üzerindeki etkisini belirlemek için kaspaz-3, süper oksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzim seviyeleri incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alzheimer Hastalığı Epidemiyolojisi

Dünya genelinde artan yaşlı nüfusa bağlı olarak topluluklarda demans önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir (Topçuoğlu&Selekler 1998). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre 2015 yılında 60 yaşın üzerindeki dünya nüfusunun oranı neredeyse %12 iken 2050'de %22'ye çıkması beklenmektedir. 2020'de 60 yaş üstü insanların sayısının 5 yaşından küçük çocuklardan daha fazla olacağı öngörülmektedir (World Health Organization 2018). Demans hastası bireylerin tüm vakalarının %50-70'ini oluşturan AH dünya genelinde artan bir prevalansa sahiptir (Topçuoğlu&Selekler 1998).

2019 yılı itibari ile dünyada 47 milyon Alzheimer hastası olduğu bilinmekte, 2030 yılında bu sayının 76 milyon, 2050 yılında ise 135,5 milyona yükseleceği tahmin edilmektedir (Ülgen 2019). Amerika Birleşik Devleti'nde (ABD) bu hastalıkla yaşayan 5,8 milyon kişi varken, bu nüfusun 5,6 milyonunu 65 yaş üstü hastaların oluşturduğu rapor edilmiştir. 2050 yılında bu sayının yalnızca ABD'de 13,8 milyon kişiye yükseleceği tahmin edilmektedir (Alzheimer's Association Report 2018).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaşlı nüfus hızla artmaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre, 65 yaş üstü nüfusun toplam nüfusa göre oranı 2014 yılında %8 iken, 2018 yılında %8,8'e yükselmiştir (TÜİK 2019). 2023 yılında ülkemizin 65 yaş üstü nüfusunun, toplam nüfus oranının %10'u üzerine çıkacağı öngörülmektedir (Türkiye Alzheimer Derneği 2014). Ülkemizde 2016 TÜİK verilerine göre son 12 ay içinde geçirdiği başlıca hastalık/sağlık sorunları nedeniyle 65 yaş üstü bireyler için değerlendirme sonucunda; nüfusun %5,6'sı AH sebebiyle sağlık kuruluşuna başvurmuştur. Küresel Hastalık Yüğü Çalışması 2017 verilerine göre ülkemizde 2002 yılında Alzheimer ve diğer demans hastalıkları erken ölüm sebebiyle kaybedilen yaşam yılı kişi sayısı 158.090 iken 2017 yılında bu sayı 259.328 olmuş ve %64,04 artmıştır (Başara ve ark. 2018). Ülkemizde ölüm nedeni istatistiklerine göre, AH'den ölen yaşlıların oranı 2013 yılında %3,6 iken bu oran 2017 yılında %4,6'ya yükselmiştir (TÜİK 2019). Tüm bu sonuçlar AH'nin tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de giderek artan bir sağlık problemi olduğunu göz önüne sermektedir.

2.2. Alzheimer Hastalığının Belirtileri

Alzheimer hastalığının belirtileri özellikle erken dönemlerde kişiden kişiye değişiklik gösterebilmektedir (The Heart of Alzheimer's Care and Cure 2016). AH tipik olarak yavaş ilerler ve erken evrelerinde semptomlar hissedilmeyebilir. Hastalık ilerledikçe semptomlar daha belirgin hale gelir ve günlük yaşamda hastanın etrafındaki kişileri de etkilemeye başlar. Özellikle son yaşanan olayları unutma, kalıcı ve sık hafıza kaybı, tekrar tekrar aynı şeyi söylemek, günlük konuşmalarda belirsizlik, mantıksal olarak daha az planlama, problem çözme, organize etme ve düşünebilme, doğru sözcüğü bulmada güçlük, rutin işler yapmanın uzun sürmesi, sosyal becerilerin bozulması, davranış, kişilik ve ruh halindeki değişiklikler hastalığın en yaygın belirtileridir (Dementia Australia 2017). Hastalığın son aşaması bedensel fonksiyon kaybı ve ölümle sonuçlanır (Fisha ve ark. 2019).

2.3. Alzheimer Hastalığının Patogenezi

Alzheimer hastalığının erken fark edilebilmesi, önleyici tedbirlerin alınabilmesi ve en doğru tedavi yaklaşımının belirlenebilmesi için öncelikle hastalığın oluşum mekanizması ve sebep olan belirteçlerin çok iyi bilinmesi gerekir. Hücre içi p-tau ve hücre dışı A β peptit AH ile karakterize iki serebral belirteçtir. Hücre içi p-tau NFY'leri oluştururken; hücre dışı A β peptitler amiloid plakların oluşmasına sebep olur (Saka, 2010; Schierle ve ark. 2016). Bunlarla birlikte, serebrovasküler faktörlerin de AH'nin patogenezinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Arenda ve ark. 2011). AH'nin oluşumuna dair ortaya atılmış çeşitli hipotezler vardır. Bu hipotezler ayrıntılı olarak aşağıda açıklanmıştır.

2.3.1. Kolinerjik Hipotezi

Alzheimer hastalığının nasıl oluştuğu tam olarak bilinmesede oluşumu ile ilgili en güçlü hipotezlerden biri AH'nin kolinerjik hipotezidir. 1976 yılında yayımlanan bir çalışmada ilk defa ortaya atılan bu hipotezde, üç Alzheimer'lı hasta beyni üzerinde çalışılmış ve kolinerjik sistem yetersizliğinin AH'nin gelişiminde kritik rol oynadığı keşfedilmiştir (Davies&Maloney 1976). Bartus ve ark. tarafından

1982’de yapılan çalışmada; beyinleri incelenen yaşlı hayvan ve insanların kolinerjik belirteçlerinde önemli değişikliklerin meydana geldiği ve bu değişikliklerin nöronal seviyede kolinerjik fonksiyon kaybı ile ilgili olabileceği saptanmıştır. Kolinerjik sistemdeki bu değişikliklerin yaşla birlikte ortaya çıkan hafıza kaybı arasında ilişkiler kurulabileceğini; gençlerdeki kolinerjik mekanizmaların yapay olarak bozulması sonucu, yaşlılık ve demans sonucu doğal olarak meydana gelenlere çarpıcı şekilde benzediğini ortaya çıkarmışlardır. Sonuç olarak AH’de, beyin asetilkolin sentezi için gerekli olan kolinasetil transferaz enzimi düşük düzeyde bulunur. Bu nedenle santral ve periferelde kolinerjik etkiyi güçlendirmek amacıyla asetilkolin yıkımını sağlayan ve asetil kolinesterazın yıkımını inhibe eden kolinesteraz inhibitörleri AH’de kullanılan bileşiklerdir.

2.3.2. Glutamaterjik Hipotez

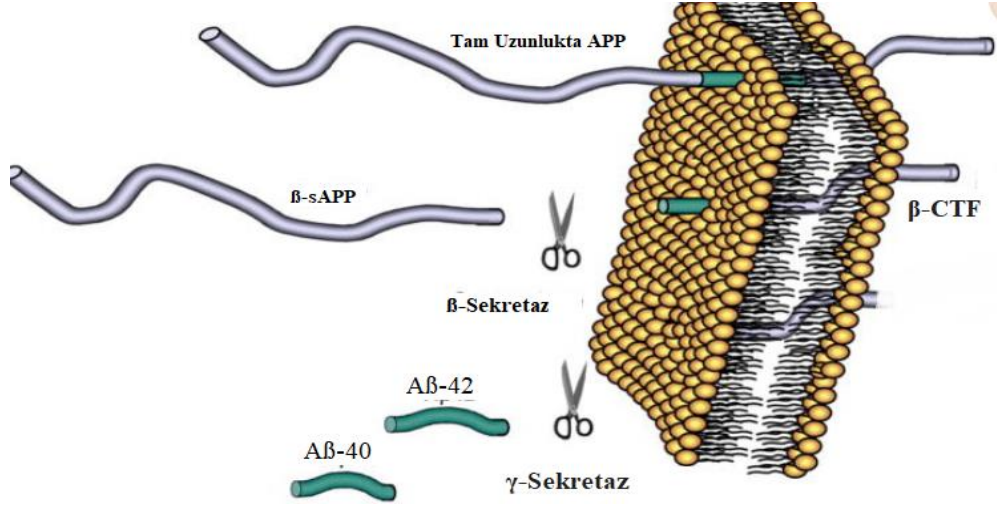
Glutamat, memeli Merkezi Sinir Sistemi’nde (MSS) en bol miktarda bulunan ve esas olarak AH’de etkilenen beyin bölgelerinde yer alan temel uyarıcı bir nörotransmitterdir. Glutamat reseptörü moleküler öğrenme mekanizmasında temel rol oynamaktadır (Mota ve ark. 2013; Wang & Reddy 2017). N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptör aracılığıyla uyarıcı glutamaterjik nörotransmisyon; sinaptik plastisite ve nöronların hayatta kalması için kritiktir (Wang&Reddy 2017). Ancak glutamatın, hücre dışı konsantrasyonu yeterince yüksek olduğunda MSS nöronlarını öldürebilen güçlü bir nörotoksin olduğu da bilinmektedir (Rothman & Olney 1986).

Fizyolojik koşullar altında dinlenmede glutamat konsantrasyonları düşük mikrolitre aralıktadır. Sadece sinaptik iletim sırasında bu seviyeler birkaç milisaniye boyunca geçici olarak mililitre konsantrasyonlarına ulaşır (Danysz&Parsons 2012). Normal bilişsel işlevi olan bireylerde magnezyum (Mg^{+2}), dinlenme koşullarında nöronal NMDA reseptörünün kalsiyum (Ca^{+2}) kanalından geçişini bloke eder. Ancak Mg^{+2} , membran depolarizasyonu meydana geldiğinde ve sinaptik glutamat konsantrasyonları en üst seviyelerde olduğunda kolayca yer değiştirir. Bununla birlikte, AH’de her zaman sinapta bulunan yüksek glutamat seviyeleri nedeniyle dinlenme koşulları altında bile NMDA reseptörünün Ca^{+2} kanalından yer değiştirdiğine inanılmaktadır (Francis 2005). Normal bireylerde ekstrasinaptik NMDA reseptör aracılı apoptoz, sinaptik NMDA reseptör aracılı sağ kalımı antagonize eder. AH’de, glial hücrelerden AB peptit ile indüklenen glutamat salınımı, ekstrasinaptik NMDA

reseptörlerini aktive eder. Zayıflatılmış sinaptik aktivite, NMDA reseptör aracılı hayatta kalma sinyali yenen pro-apoptotik sinyalleri tetikler ve daha fazla sinaptik hasara yol açar. Bu durum AH'nin oluşumu ve ilerlemesine sebebiyet verir (Wang&Reddy 2017).

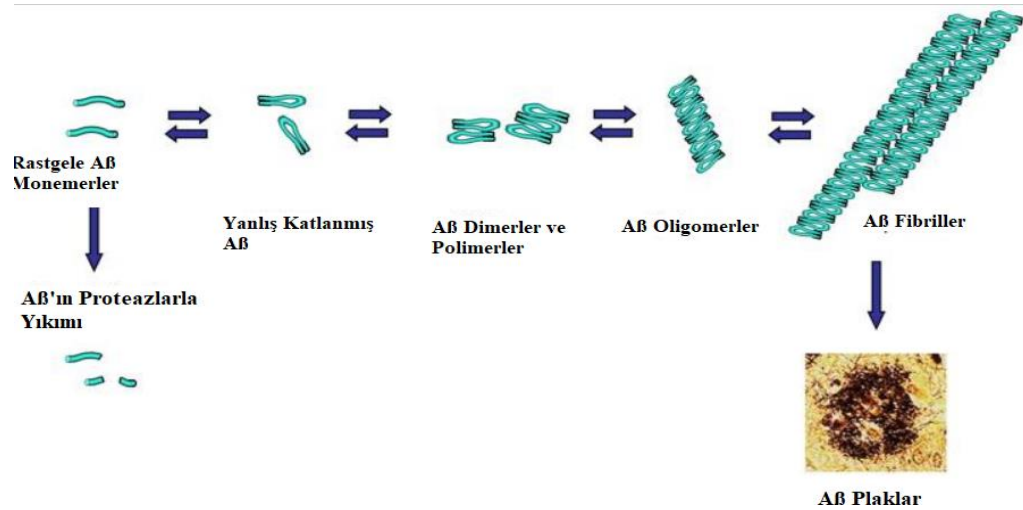
2.3.3. Amiloid Kaskat Hipotezi

Alzheimer hastalığının oluşumunda diğer güçlü hipotezlerden biri AH'nin Amiloid Kaskat hipotezidir. Hardy ve Higgins'in 1992 yılında ortaya attığı bu hipotezde; Amiloid Prekürsör Proteini'nin (APP) kendisinin veya APP içeren bölünme ürünlerinin nörotoksik olduğunu, nörofibriler oluşum ve hücre ölümüne yol açtığını keşfetmişlerdir. Bu hipoteze göre APP çeşitli ürünler üretmek için farklı alanlarda bölünen Tip I integral membran proteinidir. APP sitoplazmadan salgı yoluna girdiğinde endoplazmik retikulumla aktarılır ve daha sonra nöronal plazma zarına taşınır. APP burada amiloidojenik ve amiloidojenik olmayan yol şeklinde iki yol ile işlenir. Amiloidojenik olmayan yolda APP, ilk önce C-terminal kısmından alfa-sekretaz ile parçalanır ve hücre içi C-terminal fragmanı (CTF-a) serbest hale gelir. CTF-a, bir APP hücre içi domeni üretmek için gama sekretaz (γ -sekrataz) ile daha da parçalanır (Zhou ve ark.2018). Amiloidojenik yolda ise APP, C-terminal kısmından beta sekretaz (β -sekretaz) ile bölünür ve C-terminal fragmanı- β ile β -APP oluşur. β -APP, γ -sekretaz ile daha fazla bölünmeye maruz kalarak β_{40} ve β_{42} peptit artıklarıyla sonlanan A β peptitlerini oluşturur (Hampel ve ark. 2010). Şekil 1'de APP'nin amiloidojenik yol ile bölünmesi sonucu oluşan A β_{40} ve A β_{42} 'lerin oluşumu sunulmuştur.



Şekil 1. Amiloid Prekürsör Proteini'nin Amilodijenik Yol ile Bölünmesi (Hampel ve ark. 2010).

Alzheimerlı hastalarda APP'nin amilodijenik yoldan bölünmesi artmıştır. Hastalıkta A β peptit üretimi ile klirensi arasındaki dengesizlik sonucu artmış A β peptit üretimi veya azalmış A β peptit klirensi görülmektedir. β -sekretaz enziminin aşırı aktif olması veya A β klirensinin azalması sonucu ortamda aşırı A β peptit birikir. Çözünür doğal protein olan A β peptitler yanlış katlanmalar sonucu amiloid plaklar diğer adı ile senil plakları oluşturur. Şekil 2'de A β 'nin yanlış katlanması ve toplanması sunulmuştur (Hampel ve ark. 2010). Semptomların başlamasından 15-20 yıl öncesine kadar bile beyinde birikmeye başlayabilen senil plaklar hücreler arasındaki bağlantıların kopmasına sebep olur (Schierle ve ark. 2016).

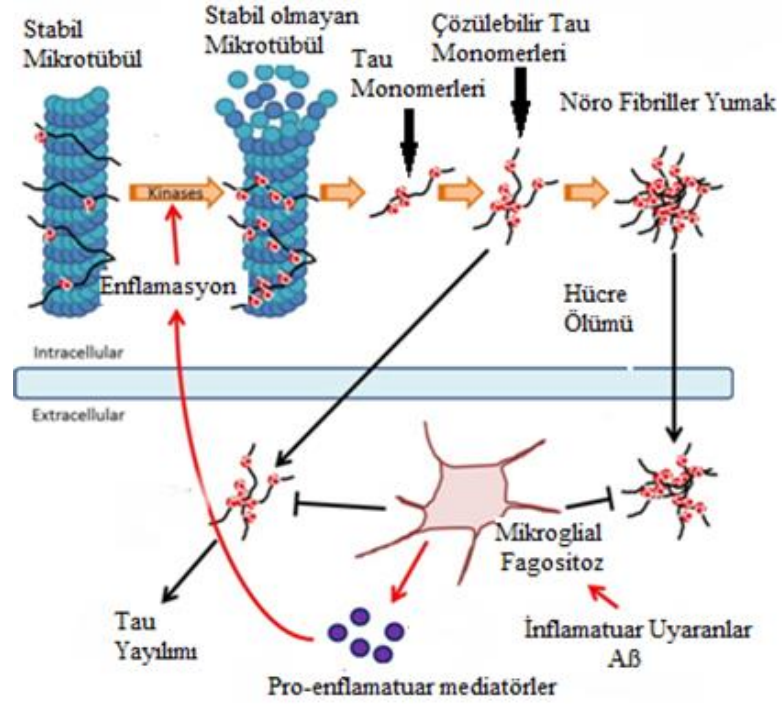


Şekil 2. Amiloid β yanlış katlanması ve toplanması (Hampel ve ark.2010).

2.3.4. Tau-Proteini Hipotezi

Alzheimer oluşumunda dördüncü hipotez p-tau hipotezidir. Kromozom 17'de bulunan p-tau geni; beynin belirli bölgelerinde seçilmiş bazı nöronların akson mikro tübülünde yapısal olarak bulunur (Sütlaş 2004). Doğal haliyle p-tau düzensizdir, çok esnektir ve çözünür protein yapısındadır. Normal p-tau, filamentlerde birikmeden yetişkin beyinlerde fosforile edilir. Çok esnek ve yüksek oranda çözünür olan p-tau, anormal p-tau fosforilasyonu sebebiyle kolayca bir araya gelebilmektedir. Nörodejeneratif hastalıkların çoğunda p-tau agregatının anormal fosforlanmış formları filamentlerde bulunur. (Jouanne ve ark. 2017).

Tau proteini, bağlanma alanları ile mikro tübülü stabilize eder. Mikro tüplere bağlanması kinazların ve fosfatazların koordineli hareketleriyle dengede tutulur. (Kolarova ve ark. 2012). Aşırı p-tau fosforilasyonu koordineli hareketlerin bozulması sonucu mikrotübül afinitesinin kaybı ile sonuçlanır. Çözünür p-tau birikimi çözünür p-tau oligomerlerini, bu oligomerler patolojik olarak çözünmeyen NFY'leri oluşturur. p-tau oligomerleri, p-tau patolojisinin komşu nöronlara yayılmasına katkı sağlayarak NFY'lerin artmasına sebep olur. A β peptit gibi enflamatuar uyarıcılar, p-tau fosforilasyonunda rol alan kinazların yukarı regülasyonuna ve patolojinin alevlenmesine neden olur. Bu alevlenme pro-enflamatuar mediyatörlerin mikro glial üretimini artırır. İnflamasyon, hücre dışı tau türlerinin mikrogial fagositozunu indükleyerek tau patolojisinin artmasına ve nihayetinde AH'nin oluşum ve ilerlemesine sebebiyet verir. Şekil 3'te p-tau patolojisinin oluşum ve ilerlemesi sunulmuştur (Barron ve ark. 2017).



Şekil 3: Tau protein patolojisinin oluşum ve ilerlemesi (Barron ve ark. 2017)

2.4. Alzheimer Hastalığı'nda Risk Faktörler

Alzheimer hastalığının henüz tam olarak nedeni bilinmese de genetik yatkınlık, yaş, cinsiyet ve ailede demans risk faktörleri arasında sıralanabilir.

2.4.1. Cinsiyet

Çeşitli nörolojik hastalıklarda cinsiyet farklılığı; hastalığın prevalansını etkileyen faktörlerden biridir. Örneğin, otizm baskın olarak erkek çocukları etkilerken, depresyon kadınlarda daha yaygındır. Parkinson hastalığı erkeklerde daha yaygın iken AH 65 yaş üstü kadınlarda daha sık görülmektedir (Hanamsagar & Bilbo 2016). Yapılan çalışmalar Aβ peptit yükü yüksek olan kadınların, benzer şekilde Aβ peptit yükü yüksek olan erkeklere kıyasla daha fazla bilişsel düşüşe uğradıklarını göstermiştir. Aβ peptidin cinsiyete özgü duyarlılığın altında yatan mekanizma henüz açıklığa kavuşturulmamasına rağmen cinsiyet ve cinsiyete özgü risk faktörlerinin AH riski üzerindeki etkisinin, hastalığın prelinik aşamasında ortaya çıktığı bilinmektedir (Buckley ve ark. 2018).

2.4.2. Yaş

Beynin yaşlanması ile sadece yaşlanan beyinde gözlenen yaşa bağlı birçok hücrel ve moleküler değişiklikler meydana delmektedir. Yaşlanan beynin en belirgin değişimleri;

- Parenkimde giderek artan Aβ peptit birikimi,
- Artan mikro glia sayısı,
- Mitokondride morfolojik değişiklikler,
- Nöronlarda ana bileşeni p-tau olan NFY'lerin progresif birikimi,
- Azalmış nörojenez,
- Nöronal morfoloji,
- Azalmış sinaps sayısı ve sinapsta morfolojik değişiklikler,
- Artmış ateroskleroz şeklinde sıralanabilir (Hullinger & Puglielli 2017)

Alzheimer hastalarından alınan beyinler ile normal yaşlıların beyinleri karşılaştırıldığında; genellikle normal yaşlanma ile AH arasında reseptör bağlanmasında önemli bir fark bulunmadığı görülmüştür (Bartus ve ark.1982). Bir çok çalışmada elde edilen verilere göre; AH'nin görülme sıklığı 60 yaşından sonra katlanarak artmakta ve beyin yaşlanması sonucu ortaya çıkan değişimler AH riskine katkıda bulunmaktadır (Riedel ve ark. 2016). Bu sonuçlar AH'nin yaşlanmanın doğal sonucu olduğunu göstermektedir.

2.4.3. Genetik Faktörler

AH'de genetik faktörlerinin etkisinin %60 dolaylarında olduğu ve genetik farklılıkların hastalık sürecinde belirgin bir rol oynadığı tahmin edilmektedir. APP, presenilin-1 (PSEN1), presenilin-2 (PSEN2) ve Apolipoprotein (Apo) E4 genlerinin AH'nin gelişiminde rol oynayan başlıca genler olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında p-tau'yu kodlayan gen mutasyonlarının da hastalığa neden olduğu bilinmektedir (Caruso ve ark. 2018).

Presenilin-1 ve PSEN2 genleri çok benzer bir genetik yapıya sahiptir ve başlangıç yaşı 60 yaştan daha genç hastalarda meydana gelen erken başlangıçlı Ailesel Alzheimer Hastalığı'na (AAH) bağlı mutasyonların yaklaşık %90'ını barındırdığı düşünülmektedir

(Ho&Shen 2011; Guerreiro ve ark. 2012). AHA'nin sebebinin bu genlerdeki patojenik mutasyonlarla tamamen açıklandığı görülmüştür (Guerreiro ve ark. 2012). PSEN genlerinin sinaptik fonksiyon, öğrenme ve hafıza ile yetişkin beynindeki nöronal sağ kalımda önemli rol oynadığı bilinmektedir. AHA'yla bağlantılı mutasyonlarda PSEN'in normal işlevi değişmektedir (Ho&Shen 2011). PSEN1 ve PSEN2 genlerinin her ikisi de APP'yi A β fragmanlarına bölerek işleyen γ -sekretazların ana bileşenleridir. Bu genlerdeki mutasyon, γ -sekretazların proteolitik aktivitesini bozmakta, A β_{40} ve A β_{42} peptit dengesizliği ile AHA'ye sebep olmaktadır (Wong ve ark. 2019). Bu genler ve APP'ye bağlı sinyalleşmeler üzerinde yapılacak çalışmaların çoğaltılmasının hastalığı önlemede, klinik uygulamada ve gelecekteki tedavi denemelerinde dikkate alınması gerektiği düşünülmektedir (Almkvist ve ark. 2019; Deyts ve ark. 2019).

Kolesterol taşıma proteini olan insan ApoE4 geni, lipit ve nöronal homeostazı farklı şekilde etkileyen üç ortak izoformu bulunan polimorfik bir proteindir. ApoE4 geninin kalıtımındaki mutasyonunun geç başlangıçlı AHA'ye sebep veren majör etkili gen olduğu çalışmalar ile keşfedilmiştir. ApoE4 geninin; A β peptit ilişkili toksisite ve agregasyonu ile A β peptit temizlenmesinde rolü olduğu, bunun sonucu olarak plak gelişiminde yapısal bir rol oynadığı kanıtlanmıştır (Burns ve ark. 2003; Bilousova ve ark. 2019).

2.5. Alzheimer Hastalığında Oksidatif Stres ve Apoptozun Yeri

2.5.1. Oksidatif Stres

Aerobik organizmaların hayati hücresel fonksiyonları için moleküler oksijen (O_2) gerekir. Solunum ve enzimatik aktivitelerin bir sonucu olarak hücreler “reaktif oksijen türleri” (ROT) olarak adlandırılan, O_2 'nin normal metabolizma basamaklarında indirgenmesi ile açığa çıkan süperoksit ($\bullet O_2^-$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil ($OH^\cdot$), nitrik oksit (NO) radikalleri gibi değişik kimyasal O_2 formları üretirler. Bu O_2 formları son derece toksik moleküller olduğundan hayati süreçleri sürdürmek için hücrelerden hızlıca uzaklaştırılmalıdır (Kılınç 2012; Altiner ve ark. 2017).

Alzheimer hastalığında patolojik değişikliklerin bir diğer nedeninin ROT ile antioksidatif mekanizmalar arasındaki dengesizlikten kaynaklandığı bildirilmiştir (Leszek ve ark. 2000). AH’de, oksidatif stres (OS) mekanizmalarının arttığını gösteren dolaylı kanıtlar mevcutken, ROT’ların amiloid plak birikiminde potansiyel rolü olduğu saptanmıştır (Evans 1993). OS mekanizmasında H₂O₂ çok sayıda fizyolojik sürece dahil olduğundan başlıca role sahip reaktif türlerdendir (Lima ve ark. 2016). AH’de Aβ peptide maruz kalan hücrelerin içerdiği oksidatif hasarın; Aβ peptide maruz kalmanın dolaylı bir etkisi olduğu düşünülürken; Aβ peptitlerinin kendiliğinden H₂O₂ üretebileceğine dair son raporlar, H₂O₂’in doğrudan oksidatif hasarda yer alma ihtimalini doğurmuştur (Tabner ve ark. 2001). AH’de H₂O₂ molekülü, hastalıkla ilişkili OS’nin tedavisi için terapötik bir hedef olarak düşünülmektedir. Hastalık patolojisinde H₂O₂ bileşenini hedefleyen ilaçların etkinliği henüz belirlenmemiştir. Ancak H₂O₂ oluşum ve yıkım metabolizmasında yer alan enzimleri spesifik olarak hedefleyen ajanların geliştirilmesi AH tedavisinde gelecekte yeni bir yol sağlayabileceği bildirilmiştir (Milton 2004).

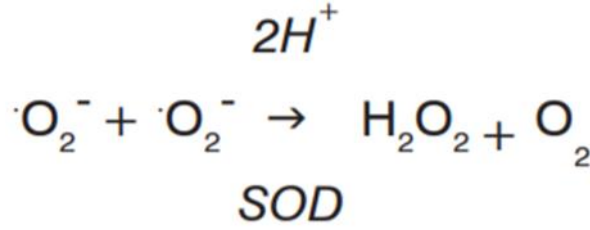
ROT ile antioksidatif mekanizmalar arasındaki dengeyi enzimatik ve düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar oluşturmaktadır. Enzimatik antioksidanlar; SOD, KAT ve GPx iken glutatyon (GSH), tokoferoller (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), retinoik asit (A vitamini), melatonin, ürik asit, lipoik asit AH’de etkili olan düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlardır (Sherki ve ark. 2001). Bu çalışmada enzimatik antioksidanların, oluşturulan *in vitro* AH modelindeki davranışları incelendiğinden bu antioksidanların özelliklerinden aşağıda ayrıntılı olarak bahsedilmiştir.

Süper Oksit Dismutaz

Güçlü reaktivite ve oksitleme kabiliyetine sahip olan •O₂⁻, moleküler O₂’nin indirgenmesinde sonra üretilen ilk okside O₂⁻ türüdür. Ana •O₂⁻ üreticileri kloroplast ve mitokondriyal elektron taşınmasındaki fotosentetik elektron taşıma zinciridir. Ayrıca, plazma zarında bulunan hücre duvarına bağlı peroksidazlar ve Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat Hidrojen (NADPH) diğer •O₂⁻ üreticileridir (Szollosi 2014).

Süperoksit molekülünün reaksiyona girme eğilimi yüksek olduğundan düşük pH’da kendiliğinden H₂O₂’ye dönüşebilir. Bu reaksiyonu Şekil 4’te sunulduğu gibi enzimatik SOD katalize eder. H₂O₂ daha uzun yarı ömre sahiptir. Bu nedenle SOD canlı sistemlerde dokulara

zarar verme potansiyeline sahip serbest radikallerin atılmasında önemli bir rol oynar (Thome ve ark. 1997).



Şekil 4. SOD Enzim Mekanizması

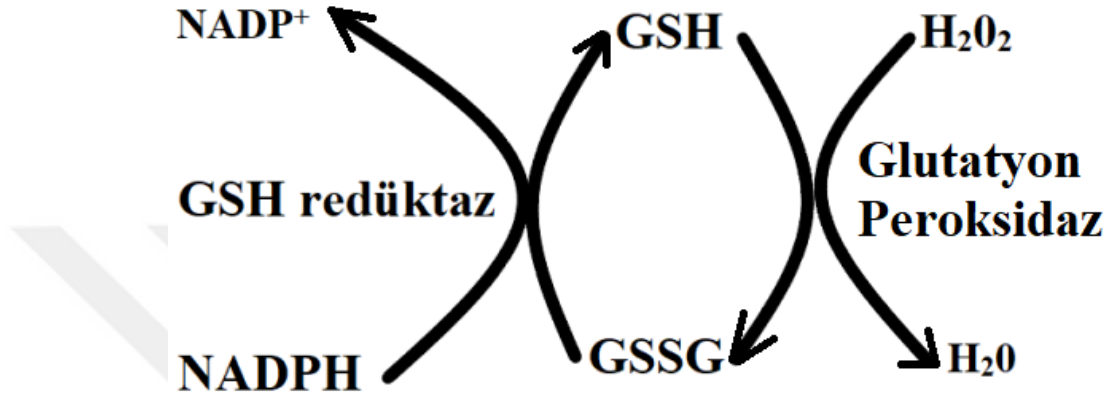
Memeli hücrelerinde üç ana SOD izoformu mevcuttur. Bakır-çinko SOD (Cu/Zn-SOD) diğer ismi ile SOD₁ homodimer izoformundadır. Mitokondrinin çekirdeğinde, sitoplazmasında, plazmasında, membranlar arası boşluğunda bulunur. Manganez SOD (Mn-SOD) diğer ismi ile SOD₂ homotetramer izoformundadır. Ağırlıklı olarak mitokondrinin matrisinde bulunur. Cu/Zn SOD (EC-SOD) diğer ismi ile SOD₃ tetramerik glikoprotein izoformu hücre dışı ortamda bulunur (Stephenie ve ark. 2020). Hafıza ve bilişsel işlevlerde etkili olan SOD izoformu SOD₁'dir. Alzheimer hastalığının beyin amiloid plaklarında SOD₁'in lokalize olduğu bilinmesi, AH'de faydalı bir biyobelirteç olabileceğini düşünülmektedir (McLimans ve ark. 2019; Donkin ve ark. 2010).

Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon Peroksidaz, serebral düzeyde sentezlenen ve beyni oksidatif hasara karşı koruyan serebral fonksiyonlar için önemli olan selenyum (Se) bağımlı enzimler ailesine ait bir selenoproteindir (Cardoso ve ark. 2010). GPx; enzim katalizi, protein sentezi, membran nakli, hücre olgunlaşması ve lökotrien sentezi gibi birçok biyolojik süreçte rol oynar. Se, GPx'in işlevinde çok önemli bir kofaktör olan GSH'nin geri dönüşümünde büyük bir rol oynar. GSH güçlü antioksidan özelliklerini kullanarak, hücreyi özellikle hücre zarını ve mitokondriyi zararlı serbest radikallere karşı korur (Pomarede&Chandaramoul 2009).

Glutasyon Peroksidaz, serebral bölgede SOD₁'in H₂O₂, organik hidroperoksit veya lipid peroksitlere dönüştürdüğü •O₂⁻'in, indirgeyici GSH ile indirgenmesini katalizleyerek bu peroksitleri su (H₂O) ve O₂'e ayırır. Bu görevi ile son derece yüksek derecede reaktif olan OH⁻ serbest radikalının üretim olasılığını ortadan kaldırarak beyni koruyan önemli bir

savunma hattını oluşturur (Picot ve ark.1996; Cardoso ve ark .2012; Luo ve ark. 2014). Şekil 5'te GSH'nin GPx katalizörlüğünde suyun oluşum mekanizması sunulmuştur. Reaksiyon sonucu oluşan okside glutatyon (GSSG) glutatyon redüktaz katalizörlüğünde kolayca tekrar GSH'ye dönüşür ve döngü bu şekilde devam eder.



Şekil 5. Glutatyon Peroksidaz Enzim Mekanizması

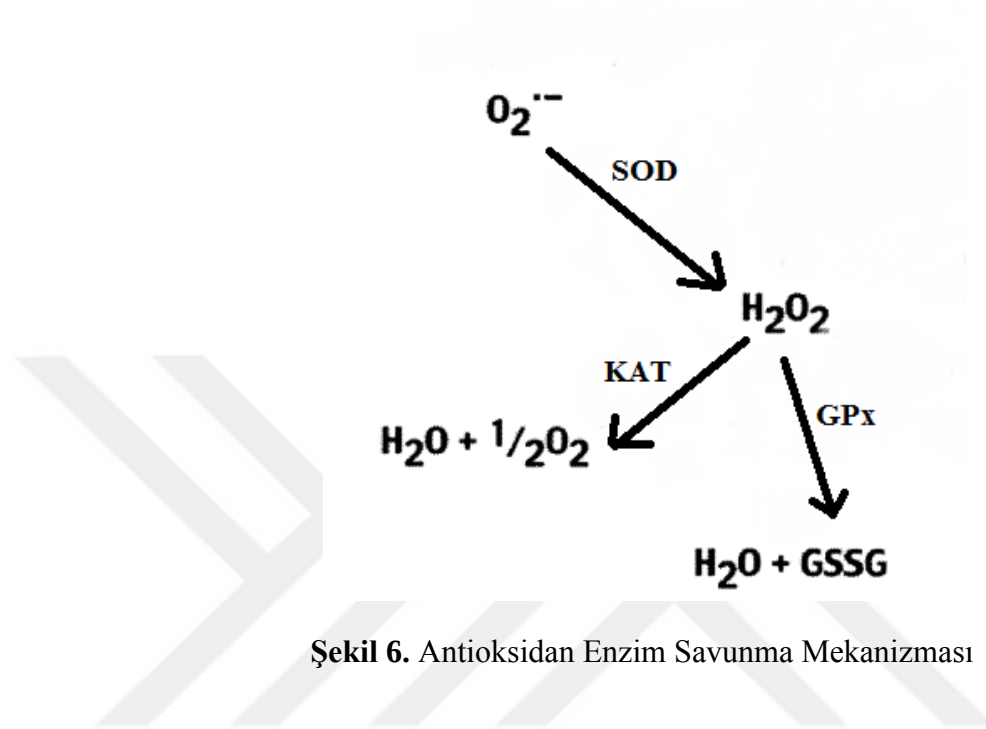
Alzheimer hastalarında hastalığın klinik evrimi boyunca GSH'nin plazma seviyelerinin giderek azaldığı ve plazma GPx aktivitesinde önemli bir düşüş olduğu bildirilmiştir (McGrattan ve ark. 2015) .

Katalaz

Katalaz bilinen tüm organizmalarda bulunan, çok yüksek iş hacmine sahip, H₂O₂'i O₂ ve H₂O'e yüksek oranda ayrıştırabilen, yapısında demir içeren bir enzimdir. Dokularda genel olarak peroksizomlarda bulunur (Şimsek 1999; Capurso ve ark. 2008). Rolünün bir şekilde GPx rolüne yardımcı olduğu düşünülmektedir. KAT ve GPx antioksidan savunma sisteminde ROT'a karşı ikinci savunma kademesinde bulunur (Tehrani & Movahedi 2018).

Oksidatif stres, AH patogenezinde birincil faktör olmayabilir. Ancak bu hastalığın patofizyolojisine katkıda bulunabileceği, bu nedenle SOD, GPx ve KAT gibi antioksidan

korumada yer alan enzimlerin incelenmesi, bu nörodejeneratif hastalığın tedavisine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (Leoa ve ark. 1998). Şekil 6’da antioksidan enzim savunma mekanizması özetlenmiştir.



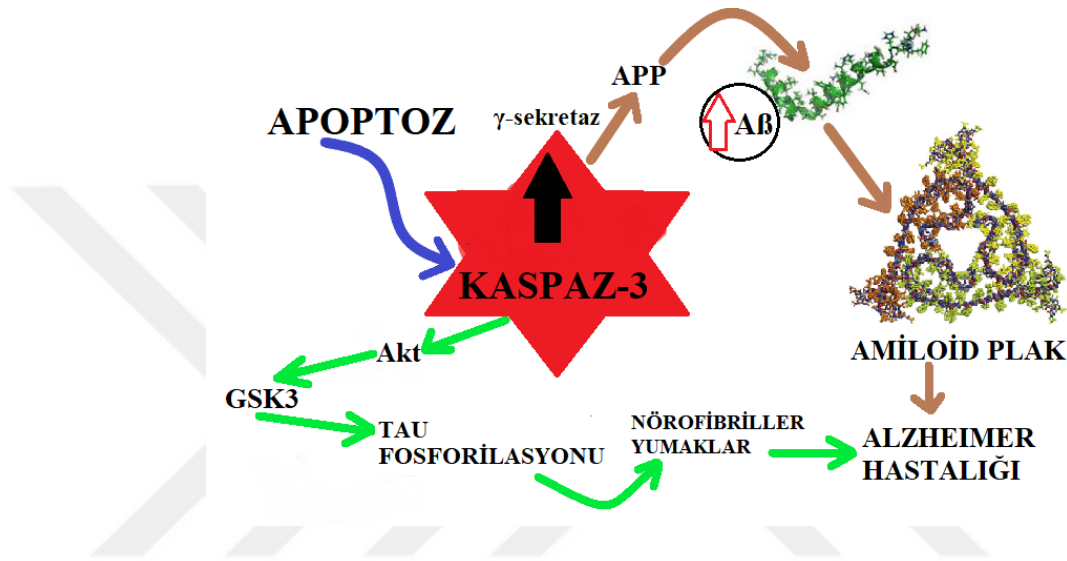
Şekil 6. Antioksidan Enzim Savunma Mekanizması

2.5.2. Apoptoz

Apoptoz, hasarlı hücreleri ortadan kaldıran ve çok hücreli organizmalarda homeostazı düzenleyerek evrimsel olarak korunan bir hücre ölümü programıdır. DNA'ya zarar veren ajanlar, besini geri çekme, hipoksik durumlar veya ölüm reseptörü aktivasyonu gibi bir dizi faktör tarafından indüklenebilir. Apoptotik hücre ölümü hücre büzülmesi ile başlar, kromatin yoğunlaşması sonucu DNA parçalanması ile devam eder. Son aşama ölmekte olan hücrelerin makrofajlar veya komşu hücreler tarafından yutulması ile son bulur. Apoptoz başlangıcında ve yürütülmesinde merkezi rol, sisteine bağımlı aspartat proteinleri ailesine aittir. Bu protein ailesi kısaca kaspaz olarak adlandırılır (Zamaraev ve ark. 2017)

Nöronal apoptoz çok karmaşık bir süreçtir ve hafıza kaybı ile bilişsel bozulmaya neden olabilir. Kaspaz ailesinde yer alan kaspaz-3 ve kaspaz-9 hücre içi terminal nöronal apoptotik sinyal proteinleridir (Jiao ve ark. 2018). AH’de kaspaz-3’ün aktif olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Rohn 2008). Fizyolojik koşullar altında kaspaz-3, APP’nin

γ -sekretaz aracılı bölünmesini artırarak A β peptit üretimini tetikler. Bu durum amiloid plakların oluşumunu ve Akt'nin glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3) aktivitesiyle tau fosforilasyonunu arttırarak AH gelişimine sebebiyet verir (Snigdha, Smith, Prieto & Cotman 2012; Chu ve ark. 2014). Şekil'7'de kaspaz-3'ün AH oluşum ve ilerlemesindeki rolü şematize edilmiştir.



Şekil 7. Kaspaz-3'ün AH oluşum ve ilerlemesindeki rolü

2.6. Alzheimer Hastalığı'nda Güncel Tedavi

Alzheimer hastalığında bilişsel bozukluk ve disfonksiyonun semptomatik tedavisi için şu anda aktif kullanılan Food and Drug Administration (FDA), Türkçe adıyla "Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi, onaylı dört ilaç bulunmaktadır. Bunlar arasında üç kolinesteraz inhibitörü (donepezil, rivastigmin ve galantamin) ve rekabeti olmayan NMDA reseptör modülatörü olan memantin bulunur. İlaç endüstrisinin çabalarına rağmen, günümüzde etkili bir hastalık iyileştirici tedavi mevcut değildir.

2.6.1. Kolinerjik Ajanlar

Kolinerjik ajanlar (ChEI), hafif ile orta dereceli AH'de kanıtlanmış etkinliğe sahip ilaçlardır. ChEI ile serebral bölgede kolinerjik işlevlerin artırılması hedeflenmiştir (Aksaray&Kaptanoğlu 1999). FDA onaylı asetilkolin esteraz (AChE) inhibitörleri rivastigmin, takrin, donepezil ve galantamin'dir. Rivastigmin ve galantamin bitkisel kaynaklı iken; takrin ve donepezil sentetik ilaçlardır (Koçancı&Aslım 2016). 10.000'den fazla kişi üstünde yapılan uzun vadeli çalışmalarda test edilen beş ChEI'nın (takrin, eptastigmin, donepezil, rivastigmin, metrifonat) benzer standartlaştırılmış ve uluslararası olarak onaylanmış ölçümler kullanarak çoklu klinik çalışmalarda hem bilişsel hem de bilişsel olmayan işlevlerde istatistiksel olarak anlamlı iyileşme sağladıkları bulunmuştur (Giacobini 2000).

Kolinerjik iletiyi artırmak amacıyla başlangıçta fizostigmin denenmiştir. Galantamin, fizostigmin ve takrin tarafından insan beyin dokusu ve eritrositlerinde AChE aktivitesinin inhibisyonunun karşılaştırıldığı bir çalışmada, insan beynindeki kolinesteraz aktivitesini baskılamada fizostigminin; takrin ve galantaminden daha güçlü olduğu bulunmuştur (Thomsen ve ark. 1991). Ancak fizostigminin yarı ömrünün kısalığı ve bilişsel işlevleri düzelten dozlarda gastrointestinal sistem (GİS) yan etkileri sık olduğundan kullanımı çok sınırlıdır (Yüksel 2000).

Takrin, 1993 yılında pazara sunulmuştur. Ancak tedavi edilen hastaların dörtte birindeki karaciğer enzimlerinin asemptomatik yükselmesi ve yüksek kolinerjik yan etkileri nedeniyle kullanımı sınırlı kalmıştır. Bununla birlikte takrin; karaciğer toksisitesinden yoksun, etkinliği karşılaştırılabilir ve daha iyi bir kar-zarar oranı sergileyen ikinci nesil AChE inhibitörlerinin (donepezil, rivastigmin, galantamin) gelişimine neden olmuştur (Hofmann & Hock 2001).

Geri dönüşümlü olmayan bir AChE inhibitörü olan donepezil, nörodejenerasyonun hücrel ve moleküler süreçlerini etkileyerek farmakolojik etkiler sağlar. Merkezi kolinerjik sistemin yetersiz aktivitesi nedeniyle AChE'yi inhibe eder ve kolinerjik iletimin zarar görmesinden kaynaklanan nöronal dejenerasyonu hafifletir (Li ve ark. 2018). Oral günlük 5mg/10mg donepezil tedavisinin bilişsel işlevi sürekli olarak geliştirdiği görülmüştür.

Donepezil, tedavinin kesilmesine yol açabilecek ciddi yan etkiler (hepatotoksisite veya böbrek fonksiyon bozuklukları) göstermemiştir (Vasile & Gheorg 2002).

Galantamin, AH için AChE'yi inhibe eden ve nikotinik reseptörleri modüle eden, 2001'de FDA tarafından onaylanan AChE inhibitörüdür (Coylea & Kershaw 2001). Bu ikili etki mekanizması galantamini AH için mevcut tedavilerinden fayda görmeyen hastalar için çekici bir seçenek haline getirebilmektedir (Maelicke 2001). Günlük 24 mg galantamin alan hastalar üzerinde yapılan 6 ay kadar süren randomize kontrollü çalışmada galantaminin, AH'nin bilişsel ve fonksiyonel semptomlarını önemli ölçüde azalttığı ve davranışsal semptomların ortaya çıkmasını ertelediği saptanmıştır (Coylea & Kershaw 2001).

Rivastigmin (karbamoilatin), AChE'yi geri dönüşümsüz inhibe edebilen, 2000'de FDA tarafından onaylanan karbamat inhibitörüdür. Beyin bölge seçiciliği yüksektir. Hem prelinik çalışmalar hem de insan gönüllüler üzerinde yapılan çalışmalar, rivastigminin MSS kompartmanında AChE'yi periferik göre önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermiştir (Polinsky 1998). Donepezil ve galantamin AChE'yi inhibe ederken; rivastigmin hem AChE'yi hem de butirilkolinesterazı (BuChE) bloke edebilir (Hayashi ve ark. 2017). 3 mg oral rivastigmin dozu MSS'de AChE'yi 6 ila 10 saat boyunca inhibe edebilir. Çalışmalar rivastigminin Alzheimer hastalarında etkili olduğunu ve iyi bir güvenlik profiline sahip olduğunu açıkça göstermiştir. En sık görülen advers olaylar diğer kolinerjik ilaçlarda olduğu gibi hafif GIS rahatsızlıklarıdır (Agid ve ark. 1998).

Donepezil ve galantaminin AH hastalarındaki tolere edilebilirlik, biliş ve günlük yaşam aktiviteleri üzerine etkileri karşılaştırıldığında her iki ilacın da hastalar tarafından iyi tolere edildiği bulunmuştur. Ancak donepezilin galantamine kıyasla biliş ve günlük yaşam aktivitelerini önemli ölçüde daha fazla iyileştirdiği gözlenmiştir (Soininen ve ark. 2002). Yapılan bir diğer meta analiz çalışmasında her üç ilacın (Donepezil, Rivastigmin ve Galantamin) da benzer bilişsel etkinliği gösterdiğini kanıtlamıştır. Sonuç olarak, her üç ilaçta AH'de bilişsel semptomların tedavisi ve güvenlik profillerinde farklılıklar görülmekle birlikte, farklı ilaçlar arasında doğrudan bir karşılaştırma yapmak için başka çalışmalara ihtiyaç vardır (Ritchie ve ark. 2004).

2.6.2. N-Metil-D-Aspartik Asit Reseptör Antagonisti

Memantin (1-amino-3,5-dimethyladamantane), adamantinin bir türevi olarak ilk olarak Eli Lilly ve Company tarafından sentezlenmiş ve 1968'de bir anti-influenza ajanı olarak patentlenmiştir (Olivares ve ark. 2012). AH'ye bağlı orta veya şiddetli demans tedavisi için 2003 yılından itibaren ABD tarafından kullanıma sunulan tek NMDA reseptör antagonistidir. Olağan idame dozu günde 10 ile 20 mg veya uzatılmış salım kapsülleri için günde 14 ile 28 mg'dır. Yan etkileri yaygın değildir. Ancak baş ağrısı, baş dönmesi, ajitasyon, anksiyete, yorgunluk, uykusuzluk, ishal, bulantı ve kusma olabileceği gözlenmiştir (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases 2020).

Memantin, NMDA reseptörünü bloke ederek glutamat tarafından indüklenen nörotoksisiteyi inhibe etmektedir. Kanala girebilir ve mevcut akışı yalnızca kanal açıldıktan sonra engelleyebildiğinden "Açık Kanal Engelleyici" olarak da adlandırılır (Johnson & Kotermanski 2006). Düşük glutamat konsantrasyonlarının sürekli salımı olduğunda NMDA reseptörünü bloke ederek Ca^{+2} akışını önlemesi sonucu nöroproteksiyon sağlayan bir ajandır. Ca^{+2} eksitotoksisitesi OS ile ilişkili olduğu için memantin, antioksidan özelliğe de sahiptir (Sonkusare ve ark. 2005). Ayrıca memantin, sadece NMDA reseptörlerinin bir antagonisti olarak değil, aynı zamanda APP dolayısıyla A β peptit ve p-tau ekspresyonunu bloke ettiğini gösteren böylece AH semptomlarını iyileştirmek için dahili ribozom giriş bölgesinin bir inhibitörü olarak da işlev görebileceğini gösteren çok sayıda araştırma yayınlanmıştır (Domingueza ve ark. 2011)

Alzheimer hastalığı karmaşık ve zayıflatıcı bir nörolojik hastalıktır. Onlarca yıldır tedavisi araştırılmasına rağmen onaylanan ilaç sayısı azdır ve onaylanan ilaçlar sadece semptom azaltmaya yöneliktir (Gasparro 2019). Tablo 1'de FDA onaylı mevcut ilaçlar sunulmuştur. Alzheimer hastalığı tedavisi için ilaçların sürekli büyümesi, gelişmesi ve klinik araştırmaların genişletilmesi için daha fazla çalışmaya ve bu çalışmalar sonucu yeni molekül keşfine ihtiyaç vardır (Ehret & Chamberlin 2015).

Tablo 1: Alzheimer Hastalığının Tedavisi İçin Mevcut FDA Onaylı İlaçlar

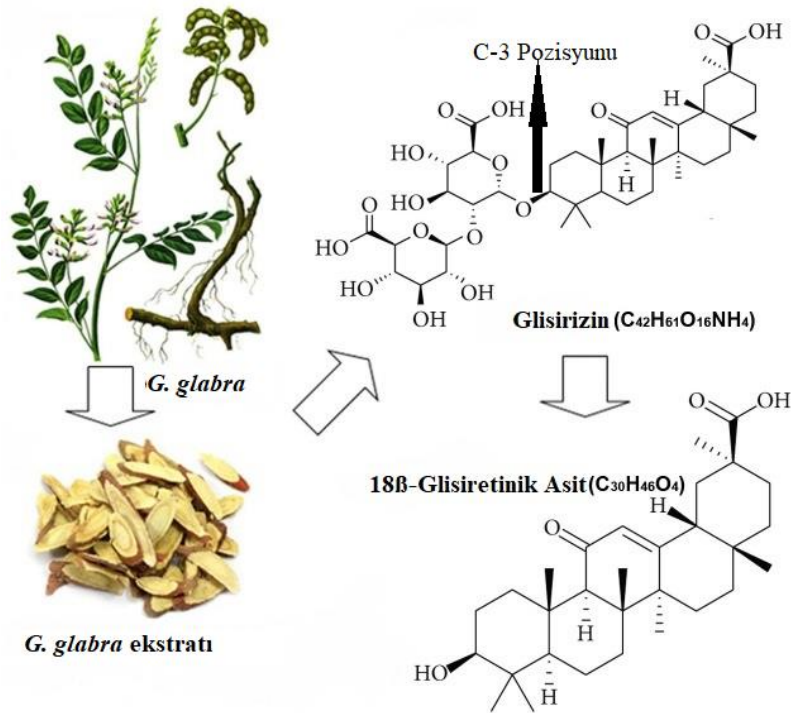
İLAÇ	ETKİ MEKANİZMASI	ÖNERİLEN DOZ	BELİRTEÇLER
Donepezil	AChE'nin spesifik, rekabetçi olmayan geri dönüşümlü inhibitörü, esas olarak MSS aktif	Günde bir kez 5- 23 mg	Hafif ila orta derecede AH; orta ila şiddetli AH
Rivastigmin	Beyin seçici, AChE ve BuChE'nin karbamat tipi “psödo” geri dönüşümsüz inhibitörü	Oral: Günde bir kez 1.5-6 mg; Yama: 4.6 veya 13.3 mg /24 saat	Oral: Alzheimer tipinde hafif ila orta demans; Yama: Alzheimer tipinde hafif, orta ve şiddetli demans
Galantamin US / DSB	AChE'nin güçlü, rekabetçi ve geri dönüşümlü inhibitörü; asetilkolinin nikotinik reseptörler üzerindeki etkisini artırır	DSB: Günde bir kez 4 /12 mg; US: günde bir kez 8–24 mg	Alzheimer tipinde hafif ile orta demans
Memantin US / DSB	Rekabetçi olmayan NMDA reseptör antagonisti	IR: Günde bir kez 5/10 mg; ER: günde bir kez 7-28 mg	Alzheimer tipi orta ile şiddetli demans
Memantin US/ Donepezil	Rekabetçi olmayan NMDA reseptör antagonisti ve spesifik, rekabetsiz geri dönüşümlü AChE inhibitörü, esas olarak MSS aktif	Memantin US: Günde bir kez 14 veya 28 mg Donepezil: günde bir kez 10 mg	Memantin hidroklorür ve donepezil hidroklorür üzerinde stabilize olan hastalarda orta ila şiddetli Alzheimer tipi demans

-DSB: Derhal Serbest Bırakma, US: Uzatılmış Salım (Ehret & Chamberlin 2015)

2.7. Alzheimer Tedavisinde Alternatif Molekül 18β-Glisiretinik Asit

Bir çok hastalığın tedavisinde yıllardan beri bitkisel ürünler kullanılmaktadır. AH'nin tedavisinde var olan FDA onaylı ilaçlar hastalığın tedavisinde ve semptomların giderilmesinde yetersiz kalmaktadır. Tıbbi bitkiler kullanılarak AH tedavisinde çeşitli ilaçların neden olduğu toksik yan etkileri etkisiz hale getirmek amaçlanmıştır (Obules 2019).

Bu çalışmada *in vitro* AH hücre modelinde *G. glabra* bitkisinden elde edilen 18β-GA'nın AH tedavisinde etkinliği araştırılmıştır. 18β-GA ($C_{30}H_{46}O_4$, 470.68 g/mol), *G. glabra*'nin kurutulmuş kök ekstrantından elde edilen Glisirizin'in C-3 pozisyonundan eter bağının koparılması ile elde edilir (Krapf ve ark. 1993; Ralla ve ark. 2020). Karaciğerden metabolize olan 18β-GA'nın günlük oral tedavi dozu 500 ile 1500 mg arasındadır. (Krahenbuhl ve ark. 1994). Şekil 8'de *G. glabra*'nın ana aktif bileşenleri sunulmuştur



Şekil 8. *G. glabra*, ana aktif bileşenleri (Huang ve ark. 2016)

2.7.1. 18β-Glisiretinik Asit'in Farmakolojik Etkileri

Tarihin başlangıcından beri *G. glabra* (Meyan Kökü) türleriyle çeşitli hastalıklara çareler aranmıştır. Farklı coğrafi bölgelerden ve farklı zaman dilimlerinden gelen

geleneklerle yaygın kullanımını belgelenmiştir. İlk belgelenmiş Meyan Kökü kullanımı; eski Asur, Mısır, Çin ve Hint kültürlerine kadar uzanmaktadır (Fiore, Eisenhut, Ragazzi, Zanchin & Armanini 2005). Günümüzde *G. glabra* yaygın olarak antienflamatuar ve antitümörjenik etkileri nedeniyle kullanılırken; cilt, solunum yolu, idrar sistemi enfeksiyonları ve ülser tedavisinde de etkinliği ile ilgili çalışmalar da mevcuttur (Rahman ve ark. 2018; Jiang ve ark. 2018).

Yapılan literatür taraması sonucu *G. glabra* bitkisinden elde edilen 18 β -GA'nın çok sayıda farmakolojik etkisi bulunmuştur. Bu farmakolojik etkiler mekanizmalarıyla aşağıda ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Antidiyabetik Etki

18 β -Glisiretinik asidin diyabet hastalığı üzerinde etkisi araştırılmış, fare 3T3-L1 hücrelerinde yapılan bir çalışmada *in vitro* adipogenez ve lipoliz modeli oluşturulmuştur. Bu amaçla doza bağımlı olarak 18 β -GA (1-40 μ M) tedavi edilen farelerde, doza bağımlı olarak olgunlaşan fare preadipositlerinde lipid birikimini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. 10 μ M dozda, Akt fosforilasyonu yoluyla adipojenik farklılaşma markerlarının seviyesini düşürmüştür. Sonuç olarak 18 β -GA'nın olgunlaşan preadipositlerde adipogenez ve olgunlaşan adipositlerde lipolizi doğrudan etkileyerek yağ kütlesini değiştirdiği gösterilmiş; bu nedenle obezitenin tedavisi için faydalı olabileceği kanıtlanmıştır (Moon ve ark. 2012).

Streptozotosin kaynaklı diyabet oluşturulan sıçanlara günlük 50, 100 ve 200 mg dozlarda 18 β -GA uygulandığında kontrol gruplarına kıyasla toplam kolesterol, trigliserit, serbest yağ asidi ve fosfolipid seviyeleri plazma ve dokularda azaldığı ve diyabetik sıçanların normalliğe doğru iyileştiği gözlenmiştir. Böylece 18 β -GA uygulamasının, diyabet riskine bağlı hiperglisemi ve hiperlipidemiye azaltabileceği gösterilmiştir (Kalaierasii ve ark. 2009).

Mide Koruyucu Etki

18 β -Glisiretinik asidin halk arasındaki kullanımda antiülser etkisi olduğu bilinmektedir. Mide koruyucu etkisi ile ilgili yayımlanmış nice çalışma vardır.

Gram-negatif bir bakteri olan *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*); midenin özel alanlarında üreyebilen, duodenal ve gastrik ülser gibi mide hastalıklarına neden olabilen bir bakteridir (Şimşek & Binicier 2011). *H. Pylori* ile enfekte olmuş mide dokusuna 18 β -GA'nın etkisi araştırılmış ve bu kapsamda yapılan *in vivo* çalışmada *H. Pylori* enfektesi olan doku gruplara ayrılmış. Deney grupların birine güncel tedavide kullanılan antibiyotikler (klaritromisin, amoksisilin ve esomeprazol) diğerine ise 18 β -GA uygulanmıştır. Kontrol grubuna kıyasla gastrik intralüminalde pH değeri, histopatolojik değişiklikler ile inflamasyonla ilişkili sitokinlerin ekspresyon seviyeleri araştırılmıştır. *H. pylori*+18 β -GA grubu ile *H. pylori*+antibiyotik grubu ile karşılaştırıldığında sonuçlarda anlamlı fark bulunamamıştır. Ancak çalışma 18 β -GA'nın *H. pylori* ile enfekte olmuş gastriti önemli ölçüde azalttığını, gastroprotektif etkisinin olduğunu ve yeni bir terapötik ilaç olarak gelişme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir (Cao ve ark. 2016)

Bir diğer çalışmada 18 β -GA'nın, Non Steroidal Antienflamatuar İlaçlar kaynaklı küçük bağırsak yaralanmaları üzerindeki antienflamatuar etkisi araştırılmıştır. Fareler üzerinde yapılan *in vivo* çalışmada 18 β -GA'nın Tümör Nekroz Faktörü-a (TNF-a) üretimi baskılama yoluyla ince bağırsak hasarının iyileştirilmesinde rol oynadığını; GİS'te bir anti-enflamatuar ajan olarak görev yapabileceğini göstermiştir (Ishida ve ark. 2013).

Antitümör Etki

Bitkilerden elde edilen doğal ürünler anti-kanser ajanlar olarak da kullanılmaktadır. Hepatoselüler karsinom, dünya çapında en yaygın ölümcül hastalıklardan biridir ve bugüne kadar etkili bir tedavisi yoktur. Bu nedenle bilim insanları yeni moleküllere yönelmiştir. Yapılan bir çalışmada; İnsan hepatoma hücre dizisinde (HepG2) 18 β -GA'nın antienflamasyon, çoğalma önleyici ve apoptozun indüklenmesi yoluyla kemopreventif etkisi araştırılmıştır. 18 β -GA, normal karaciğer hücre hattını etkilemeden HepG2 hücrelerinin proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe edebilmiştir. ROT oluşumu ve NO üretim potansiyelini azaltmıştır. Bu durumu Kaspaz-3 gibi apoptozda yer alan enzimleri kullanarak yaptığı düşünülmüştür. Bu veriler 18 β -GA'nın karaciğer kanserinde güçlü bir kemopreventif ajan olarak kullanılabileceğini düşündürmüştür (Hasan ve ark. 2016).

18 β -GA'nın transgenik farelerde gastritin şiddetini azalttığını ve gastrik tümör oluşumunu bastırdığı bildirilmiştir. Mide kanseri dokularında 18 β -GA'nın kanser

hücrelerini ve inflamasyonla ilişkili genlerin ekspresyonunu inhibe ederek enflamatuar mikro ortamı iyileştirdiği rapor edilmiştir (Cao ve ark. 2016).

Antienflamatuar Etki

Alerjik astım, patolojik yapısal değişikliklerle ilişkili hava yollarının inflamasyonu ile oluşan bir hastalıktır. Literatür taramasında 18 β -GA'nın; İnterlökin 5 ve 13'ü baskılayarak fare alerjik astım modelinde ovalbüminin yol açtığı hava yolu inflamasyonunu, eozinofil infiltrasyonunu ve hava yolu aşırı duyarlılığını önemli ölçüde inhibe ettiği bulunmuştur. Bu veriler 18 β -GA'nın alerjik astım dahil olmak üzere enflamatuar havayolu bozukluklarının tedavisi için yeni bir terapötik bileşik olabileceğini düşündürmüştür (Kim ve ark. 2017).

Radyasyona bağlı inflamasyon, radyasyona bağlı doku hasarında önemli bir rol oynar. Radyasyona bağlı cilt hasarına karşı 18 β -GA aktivitesi *in vitro* olarak değerlendirilmiş ve altta yatan mekanizmalar araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 18 β -GA'nın ROS/p38MAPK/AP-1 sinyal yolunu ve NF κ B aktivasyonunu aşağı regüle ederek enflamatuar sitokin üretimini baskılayabildiğini göstermiştir. 18 β -GA tedavisi, farelerde deri dokusunda enflamatuar hücre infiltrasyonunu ve TNF-a düzeylerini önemli ölçüde azaltmıştır. Bu sonuçlar 18 β GA'nın, radyasyona bağlı inflamasyon cilt hasarını önlediğini göstermiştir (Suave ark. 2018).

Antioksidan Etki

El-Twab ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, sıçanlarda metotreksat (MTX) ile indüklenen nefrotoksisiteye karşı 18 β -GA'nın olası koruyucu etkileri araştırılmıştır. 18 β -GA'nın MTX kaynaklı nefrotoksisite üzerinde OS ve inflamasyonu azaltma mekanizmaları ile koruyucu bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

2-Asetilaminofloren (2-AAF), kemirgenlerde tümör oluşumuna yol açan bilinen bir hepatik kanserojendir. Arka arkaya beş gün boyunca intraperitoneal olarak 50 mg/kg dozda 2-AAF uygulanması ile hepatiktoksisite, inflamasyon, OS ve hiper proliferasyona neden olur. İki farklı dozda (45 ve 75 mg/kg) 18 β -GA ile ön işlem yapılması, 2-AAF ile indüklenen artmış lipid peroksidasyonu, alanin transaminaz ve aspartat transaminaz, ksantin oksidaz aktiviteleri ve faz-II detoksifiye edici enzimlerin glutatyon içeriği seviyelerini önemli ölçüde

iyileştirmiştir. Ayrıca histolojik gözlemler 18 β -GA'nın önleyici etkilerini de desteklemiştir. Bulgular, 18 β -GA ile ön tedavinin OS, inflamasyon ve hiperproliferasyonun zayıflaması yoluyla potansiyel hepatoprotektif etkisi olduğunu göstermiştir (Hasan ve ark. 2014).

18 β -Glisiretinik Asidin farelerde global serebral iskemi/reperfüzyon (I/R) ile meydana gelen beyin dokusundaki nöronal hasar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Serebral I/R, lipid peroksidasyonlarında artışa, antioksidan savunma sistemlerinin elemanlarında azalmaya sebep olmuş ve OS'yi önemli ölçüde indüklemiştir. 10 gün süreyle 18 β -GA (100 mg/kg) ile muamele edilmiş farelerde; antioksidan savunma sistemlerinde önemli artışlar ve lipid peroksidasyonlarında önemli bir azalma sağlayarak serebral I/R'nin oksidatif etkilerine karşı koruyuculuğu kanıtlanmıştır. Ek olarak, Serebral I/R'nin neden olduğu beyin dokusunda histopatolojik hasar ve apoptoz insidansını 18 β -GA tedavisi ile ortadan kaldırmıştır. Mevcut sonuçlara dayanarak, 18 β -GA'nın beyindeki global serebral I/R'nin neden olduğu nöronal hasarı azalttığı kanıtlanmaktadır (Oztanir ve ark. 2014).

18 β -Glisiretinik Asidin bir çok farmakolojik etkisinin olduğu anlatılan çalışmalar ile göz önüne serilirken, AH üzerindeki etkisi ile ilgili literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada; *in vitro* AH hücre modeli oluşturulan U87 MG hücre hattında 18 β -GA'nın hücre canlılığına etkisi; apoptozis ve antioksidan mekanizmalar ile AH tedavisindeki potansiyel rolü incelendi.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada A β ₁₋₄₀ çözeltisi, Dulbecco's Modification of Eagle's Medium (DMEM) , penisilin/streptomisin antibiyotiği (PSA) ve fetal sığır serumu (FBS), dimetil sülfoksit (DMSO), MTT çözeltisi, U87 MG hücre hattı Sigma Aldrich firmasından; kaspaz-3, SOD, KAT ve GPx ELISA kitleri R&D Systems adlı firmadan temin edildi. U87 MG hücrelerinde AH *in vitro* modeli oluşturmak için literatür Zhang ve ark. (2017) çalışmasından yararlanıldı.

3.1. Hücre Kültürü

Çalışmada glial hücre bileşenini taklit eden insan glioblastomu U87 MG hücre hatları kullanıldı. Kültür ortamı; DMEM besi ortamına %1 (PSA) ve % 10 FBS eklenerek oluşturuldu. Hücreler kültür flaskslarında yüzeye tutunmaları için 37°C'de %5 nemlendirilmiş CO₂ atmosferinde kültürlendi.

Analizlere geçilmeden önce, hücrelerin %80 sıklıkta olması beklendi ve bu süre zarfında eski ortamlar haftada iki kez yeni kültür ortamı ile değiştirildi. %80 sıklığa ulaşan hücreler, kullanılmış besi ortamı uzaklaştırıldıktan sonra serumsuz ortam ile yıkandı ve serumsuz ortamda 2 saat tutuldu.

3.2. Amiloid Beta Peptit (A β ₁₋₄₀) ile Oluşturulan *in vitro* AH Modeli

Hücre pasajlanması sonucu elde edilen farklılaşmış U87 MG hücreleri 24 saat süreyle 5 mikromolar (μ M) A β ₁₋₄₀ ile inkübe edildi. *In vitro* gruplar, her grup 6 tekrarlı ve 96 kuyucuklu plakanın her bir kuyucuğunda 5x10⁴ hücre olacak şekilde, aşağıda anlatıldığı gibi ilgili işlemler yapılarak gerçekleştirildi.

Kontrol grubu: Farklılaşmış olan U87 MG hücrelerinin besi yeri ortamına 50 μ l serum fizyolojik eklendi ve 48 saat boyunca inkübe edildi. Bu süre bitiminde hücrelerin besi yeri ortamına son konsantrasyonu % 0,1 olacak şekilde DMSO eklendi ve hücreler inkübatörde 24 saat daha inkübe edildi.

A β Grubu: Farklılaşmış olan U87 MG hücrelerinin besi yeri ortamına 5 μ M konsantrasyonda A β ₁₋₄₀ eklendi ve 48 saat boyunca inkübe edildi. Bu süre bitiminde hücrelerin besi yeri ortamına son konsantrasyonu % 0,1 olacak şekilde DMSO eklendi ve hücreler inkübatörde 24 saat daha inkübe edildi.

A β +18 β GA Grubu: Farklılaşmış olan U87 hücrelerinin kültür ortamına son konsantrasyonu 5 μ M olacak şekilde A β ₁₋₄₀ uygulamasından 48 saat sonra son konsantrasyonu 5 μ M 18 β -GA eklenerek 24 saat daha inkübe edildi

3.3.MTT Analizi

Hücre canlılığı ve bileşiklerin sitotoksik etkilerini incelemek amacıyla üreticinin talimatlarına göre MTT çözeltisi kullanıldı. Kısaca üç grup (Kontrol grubu: A β grubu, A β +18 β GA grubu) FBS içermeyen yeni besi ortamı kuyucuklu plakalara %10 MTT (5 mg/ml konsantrasyonda) solüsyonu içerecek şekilde ekildi. Hücreler karanlık ortamda 37°C ve %5 CO₂'li inkübatörde 4 saat süre ile inkübe edildi. İnkübasyon sonrası MTT içeren besi ortamı uzaklaştırıldı ve formazan kristallerinin çözülmesi için hücrelerin üzerine 100'er mikrolitre (μ l) DMSO eklendi. Oluşan kristallerin iyice çözünmesi için 10 dakika 37°C'de %5 CO₂ inkübatöründe bekletildi. Tüm işlemler dikkatli bir şekilde tamamlandıktan sonra her bir bölme 570 nm dalga boyunda okutularak absorbans değerleri kaydedildi.

3.4. ELISA Testi ile Kaspaz-3, SOD, KAT ve GPx Enzim Düzeyleri

ELISA testi ile kontrol, A β ve A β +18 β -GA gruplarında apoptotik ve inflamasyon yolağı temsil eden kaspaz-3 protein seviyesi ile antioksidan enzimler olan SOD, KAT GPx seviyeleri tespit edildi. İlgili ELISA deney prosedürleri her kit için farklı olup ilgili kitlerde belirtilen protokollere göre yapıldı. Bu protokoller kısaca şu şekildedir.

Her grup hücre hattından 100'er μ l ELISA kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü alüminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 μ l reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda

kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C’de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm’de mikrolaka okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlendi. İlgili protokol her enzim (Kaspaz-3, SOD, KAT ve GPx) seviye tayini için ayrı ayrı yapılarak; sonuçların okunması ELISA mikrolaka okuyucu (Rayto) ile yapıldı.

3.5. İstatistiksel Analizler

Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS 25 olarak adlandırılan Istatistical Package for the Social Sciences programında gerçekleştirildi. Verilerin çözümlenmesinin ilk adımı olarak normallik varsayımı Shapiro Wilk testi ile kontrol edildi. Normal dağılıma sahip olan ve bağımsız ikiden çok gruba sahip değişkenlerin ortalamaları arasındaki farkın incelenmesi için Anova testi; normal dağılıma sahip olmayan ve bağımsız ikiden çok gruba sahip değişkenlerin ortalamaları arasındaki farkın incelenmesi için Kruskal Wallis testi yapıldı. Farkı yaratan grup ya da grupların ortaya çıkartılması için post hoc testlerinden Bonferroni analizi gerçekleştirildi. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

A β ₁₋₄₀ indüklenmesi ile oluşturulan *in vitro* AH modelinde 18 β -GA'nın hücre canlılığı ve biyokimyasal parametre seviyelerine etkisi Tablo 2'de verildi.

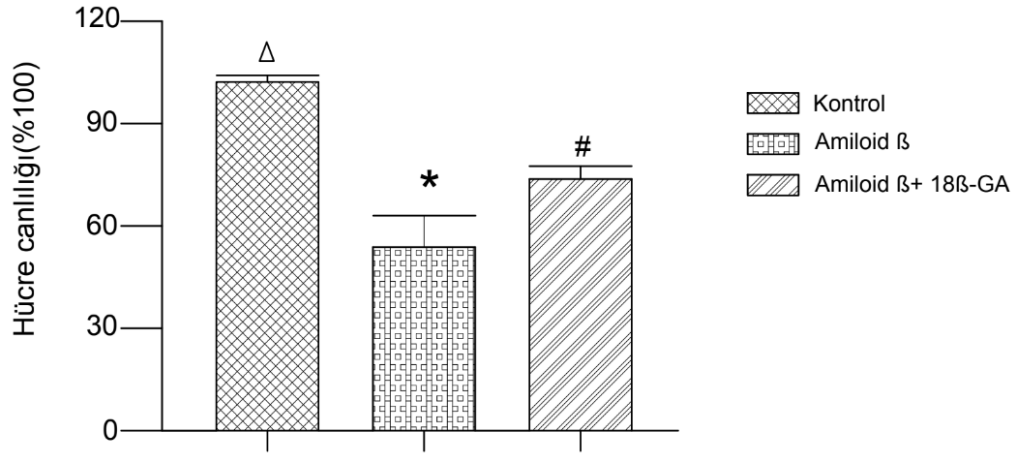
Tablo 2. A β ₁₋₄₀ indüklenmesi ile oluşturulan AH modelinde 18 β -GA'nın hücre canlılığı ve biyokimyasal parametre seviyeleri

	Kontrol Grubu	A β Grubu	A β +18 β -GA Grubu
MTT (%) (n:6)	102,20 $\pm$ 1,924 ^{Δ}	53,80 $\pm$ 9,203*	73,75 $\pm$ 3,775
Kaspaz-3 (pg/ml) (n:6)	0,73 $\pm$ 0,31 ^{Δ}	7,80 $\pm$ 2,28*	3,83 $\pm$ 1.12 [#]
SOD (U/mg protein) (n:6)	11,40 $\pm$ 1,14 ^{Δ}	6.20 $\pm$ 0,83*	9,19 $\pm$ 0,19 [#]
GPx (U/mg protein) (n:6)	4,50 $\pm$ 0,47 ^{Δ}	2,17 $\pm$ 0,63*	3,42 $\pm$ 0,31 [#]
KAT (pg/ml) (n:6)	806,00 $\pm$ 56,39 ^{Δ}	593,80 $\pm$ 132,90*	727,10 $\pm$ 58,80 [#]

(Δ ,* , #) Her satırda yer alan gruplar kendi içinde istatistiksel olarak anlamlıdır (p< 0,05)
(n:sayı, ortalama $\pm$ standart sapma (ss))

4.1. A β ₁₋₄₀ Uygulamasına Karşı 18 β -Glisiretinik Asit Eklenen Grupların MTT Analiz Sonuçları

Kontrol grubu hariç tüm gruplara A β ₁₋₄₀ uygulaması sonrası canlı hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı (p<0.05). 18 β -GA uygulama sonrası ise A β grubuna kıyasla A β +18 β -GA grubunda canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi (p<0.05). Kontrol grubu, A β ve A β +18 β -GA deney gruplarındaki MTT analizine hücre canlılığı yüzde oranları ölçümlerinin görselleştirilmesi Şekil 9'da sunuldu.

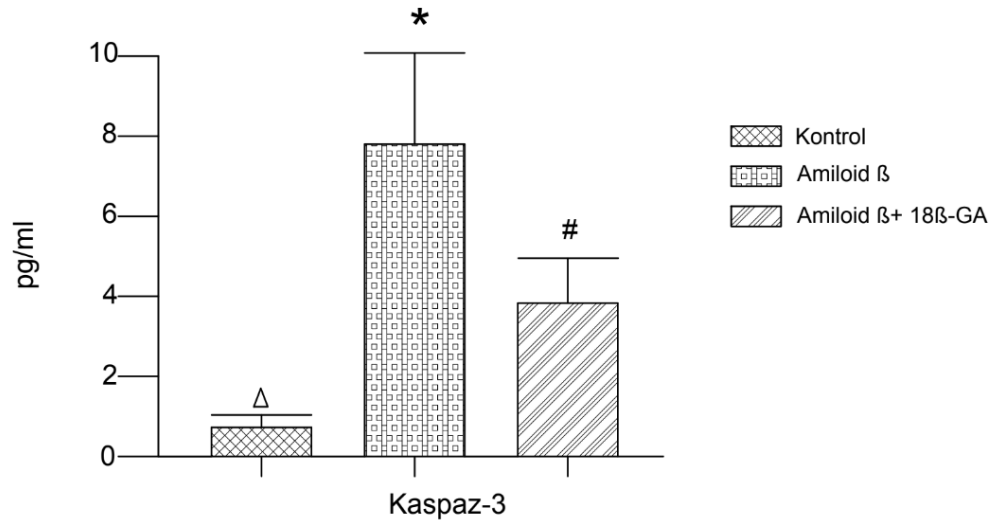


(Δ,*, #) Gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlıdır (p< 0,05)

Şekil 9. Aβ₁₋₄₀ Uygulamasına Karşı 18β-Glisiretinik Asit Eklenen Grupların Hücre Canlılıkları

4.2. 18β-Glisiretinik Asit Uygulamasının *in vitro* AH Modelinde Apoptoz Mekanizmasına Etkileri

Kontrol grubu hariç tüm gruplara Aβ₁₋₄₀ uygulaması sonrası kaspaz-3 enzim seviyesi (pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu (p<0.05). 18β-GA uygulama sonrası ise Aβ grubuna kıyasla Aβ+18β-GA grubunda kaspaz-3 enzim seviyesinde (pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalış gözlemlendi (p<0.05). Kontrol grubu, Aβ grubu ve Aβ+18β-GA grubu deney gruplarındaki kaspaz-3 enzimine ait (pg/ml) ölçümlerinin görselleştirilmesi Şekil 10'da sunuldu.



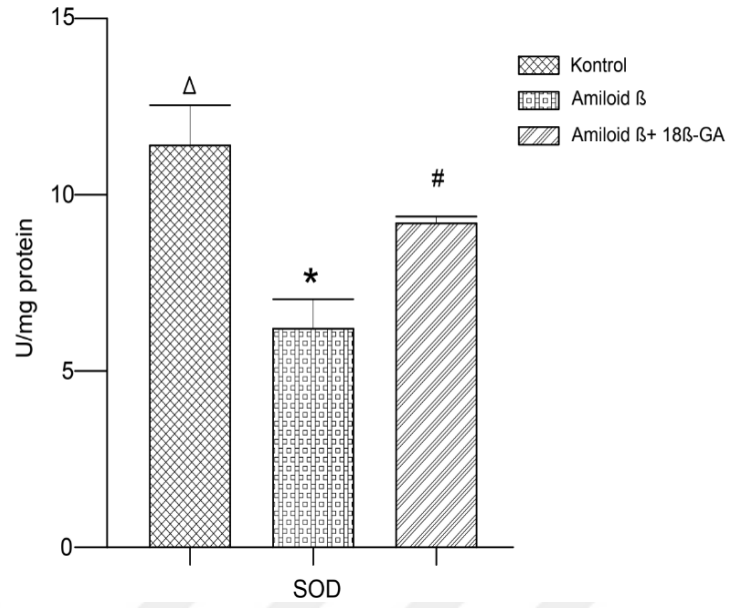
(Δ,*, #) Gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$)

Şekil 10. *In vitro* AH modelinde kaspaz-3 enzim (pg/ml) seviyesi değerleri

4.3. 18β-Glisiretinik Asit Uygulamasının *in vitro* AH Modelinde Antioksidan Enzim Seviyelerine Etkileri

4.3.1. 18β-Glisiretinik Asit'in *in vitro* AH Modelinde SOD Enzim Seviyelerine Etkisi

Kontrol grubu hariç tüm gruplara Aβ₁₋₄₀ uygulaması sonrası SOD enzim seviyesi (U/mg protein) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı ($p < 0.05$). 18β-GA uygulama sonrası ise Aβ grubuna kıyasla Aβ+18β-GA grubunda SOD enzim seviyesi (U/mg protein) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi ($p < 0.05$). Kontrol, Aβ ve Aβ+18β-GA gruplarındaki SOD enzimine ait (U/mg protein) ölçümlerinin görselleştirilmesi Şekil 11'de sunuldu.

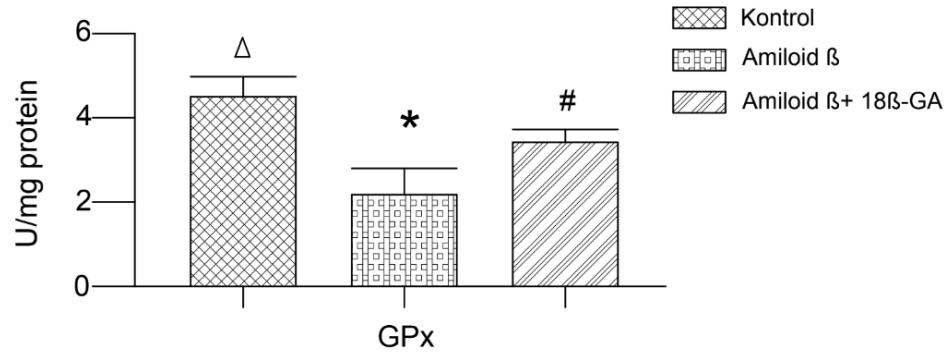


(Δ,*, #) Gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$)

Şekil 11. *In vitro* AH modelinde SOD enzim (U/ mg protein) seviyesi değerleri

4.3.2. 18β-Glisiretinik Asit'in *in vitro* AH Modelinde GPx Enzim Seviyelerine Etkisi

Kontrol grubu hariç tüm gruplara Aβ₁₋₄₀ uygulaması sonrası GPx enzim seviyesi (U/mg protein) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı ($p < 0.05$). 18β-GA uygulama sonrası ise Aβ grubuna kıyasla Aβ+18β-GA grubunda GPx enzim seviyesi (U/ mg protein) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi ($p < 0.05$). Kontrol, Aβ ve Aβ+18β-GA gruplarındaki GPx enzimine ait (U/mg protein) ölçümlerinin görselleştirilmesi Şekil 12'de sunuldu.

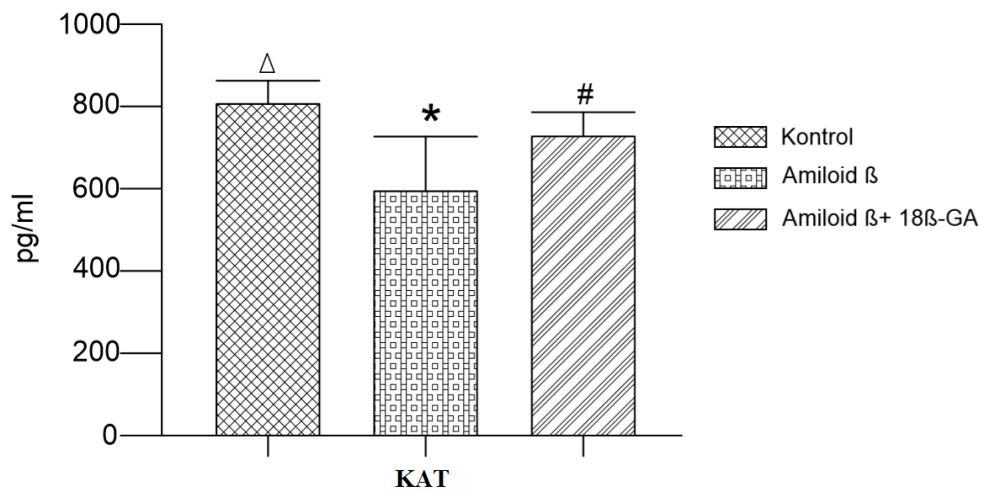


(Δ,*, #) Gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$)

Şekil 12. *In vitro* AH modelinde GPx enzim (U/ mg protein) seviyesi değerleri

4.3.3. 18β-Glisiretinik Asit'in *in vitro* AH Modelinde KAT Enzim Seviyelerine Etkisi

Kontrol grubu hariç tüm gruplara $A\beta_{1-40}$ uygulaması sonrası KAT enzim seviyesi (pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı ($p < 0.05$). 18β-GA uygulama sonrası ise $A\beta$ grubuna kıyasla $A\beta+18\beta$ -GA grubunda KAT enzim seviyesi (pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi ($p < 0.05$). Kontrol, $A\beta$ ve $A\beta+18\beta$ -GA gruplarındaki KAT enzimine ait (pg/ml) ölçümlerinin görselleştirilmesi Şekil 13'te sunuldu.



(Δ,*, #) Gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$)

Şekil 13. *In vitro* AH modelinde KAT enzim (pg/ml) seviyesi değerleri

5. TARTIŞMA

Gu ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, PC12 hücre hatlarında Okadaik asit ile indüklenen AH modelinde *Andrographis paniculata* bitki ekstresinin MTT analizi ile hücre canlılığını arttırdığı ve nöroprotektif etkisi olduğu kanıtlanmıştır. Lee ve ark. (2019) tarafından *Crataegus pinnatifida* meyvesinin etanol ekstraktının (CPE) farelerde oluşturulan AH modelindeki nöroprotektif etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, MTT analizi sonucu CPE'nin A β toksisitesini bloke ederek, nöronal hücre ölümünü önemli ölçüde azalttığı vurgulanmıştır. Yao ve ark. (2018) yaptığı bir diğer çalışmada, *in vitro* oluşturulan AH modelinde Osthol (OST) tedavisinin nöroprotektif etkileri araştırılmış ve MTT analizi sonucu OST'nin AH hücrelerinde hücre canlılığını önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir.

Hung ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, insan dermal fibroblastları 24 saat boyunca 18 β -GA ile artan dozla muamele edilmiş ve MTT analizi sonucunda doza bağlı bir şekilde 18 β -GA'nın hücre canlılığını artırdığını ve toksik olmadığı tespit edilmiştir. Kemik iliği monositleri kullanılarak *in vitro* ortamda yapılan çalışmada MTT analizi ile 18 β -GA'nın belli dozlarda sitotoksik olmadığı rapor edilmiştir (Chen ve ark. 2018).

Bu çalışmada, A β indüklenmesi ile oluşturulan *in vitro* AH modeli hücre hattına eklenen 18 β -GA'nın nöroprotektif etkisi ve metabolik hücre proliferasyon aktivitesinin ölçülmesiyle literatür taraması sonucu ortaya çıkan sonuçlara benzer şekilde, 18 β -GA eklenen A β + 18 β GA grubunda A β grubuna kıyasla hücre canlılığını artırdığı ve hücre iyileşmesinde istatistiksel olarak anlamlı proliferasyon artışına neden olduğu tespit edilmiştir.

Literatür taraması Alzheimer hastası beyinlerinin klinik muayenesinde kaspaz-3'ün senil plaklarda lokalize olduğunu ve hücrelerel çalışmalar ile A β 'nin kaspaz-3 aktivasyonu yoluyla nöronal apoptozu indükleyebileceğini göstermiştir (Chang ve ark. 2016). Ancak kaspaz-3'ün p-tau metabolizması üzerindeki potansiyel rolü bilinmemektedir. Tau fosforilasyonunu doğrudan ve spesifik olarak düzenlediğine dair deneysel kanıtlar sağlamak amacıyla AH'nin *in vivo* transgenik fare modeli oluşturulmuş ve bu farelerde kaspaz-3 aktivite artışı gözlenmiştir. Geri dönüşümsüz, hücre geçirgen bir kaspaz-3 inhibitörü olan Z-DEVD-FMK ile tedavi edilen AH farelerinin MSS'inde kaspaz-3 aktivasyonunun azaldığı

rapor edilmiştir. Sonuçlar, kaspaz-3'ün p-tau metabolizması üzerinde potansiyel rolü olduğunu göstermiştir (Chu, Lauretti & Praticò 2017). Chen ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, orta serebral arter oklüzyon-reperfüzyonu (OSAO) ile deneysel iskemik inme modeli oluşturulan sıçanlarda memantinın iskemik inmeye karşı *in vitro* ve *in vivo* potansiyel mekanizmaları araştırılmış ve kaspaz-3 seviyelerinin OSAO muamelesinden 24 saat sonra önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir. Buna karşılık, memantinın tedavisi ile kaspaz-3 seviyelerinin yükselmesi önemli ölçüde önlenmiştir. Memantinın iskemik inmede beyni hasara karşı koruduğu ve iskemik penumbradaki kaspaz-3 yolunun aktivasyonunu baskılayarak hücre apoptozunu ve nöron ölümünü azalttığını gösterilmiştir. Kshirsagar ve Gursahani (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, lipopolisakkarit ile indüklenen AH fare modelinde lipopolisakkaritin kaspaz-3 aracılı hücre apoptozunu arttırdığı bildirilirken; rosmarinik asit tedavisi ile lipid peroksidasyon seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı; kaspaz-3 inhibisyonunun da dikkate değer bir artış gösterdiği rapor edilmiştir.

Chen ve ark.(2018) tarafından yapılan bir çalışmada, artan kaspaz-3 ekspresyonu ile oluşan fare hepatosellüler karsinom tümörlerinin 18β-GA ile tedavi sonrası kaspaz-3 aktivitesi azalmasına bağlı tümör boyutunda küçülme rapor edilmiştir. SiHa hücrelerinde ise yüksek 18β-GA maruziyetinin kaspaz-3 aktivitesini arttırarak apoptoz mekanizmaları arttırdığı gözlenmiştir. Rashid ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, sıçanlarda Cisplatin ile indüklenen oksidatif bağırsak hasarına karşı 18β-GA'nın tedavi etkinliği araştırılmıştır. Cisplatin uygulanan gruba kıyasla kontrol grubunda kaspaz-3 ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı, 18β-GA tedavi gruplarında ise kaspaz-3 ekspresyonunun azaldığı rapor edilmiştir.

Bu çalışmada, kontrol grubuna kıyasla Aβ grubunda kaspaz-3 faaliyetlerini istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir. 18β-GA eklenen Aβ₁₋₄₀+18β-GA grubunda ise Aβ grubuna kıyasla kaspaz-3 seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüş gösterdiği gözlenmiştir. *In vitro* AH modelinde kaspaz-3 seviyesinin anlamlı şekilde artması AH oluşumunda apoptozisin etkili olabileceğini ve Aβ+18β-GA grubuna kıyasla Aβ grubunda kaspaz-3 enzim seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalması ise antiapoptotik aktivite yoluyla 18β-GA'nın AH'de koruyucu bir rolü olabileceği tespit edilmiştir

Alzheimer hastalığının ROT ile ilgisi tam olarak anlaşılmamış olsa da literatürde serbest radikallerin muhtemelen AH'de nöron ölümünün patogenezinde rol oynadığı

gösterilmiştir (Markesbery 1997). Tabari ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, skopolamin hidroklorür intraserebroventriküler enjeksiyonuyla deneysel olarak oluşturulan hafıza bozukluğu modelinde SOD, GPX aktiviteleri ve toplam antioksidan durum (TAD) değerlendirilmiş ve kontrol grubuna kıyasla sıçan modelinde; SOD, GPX seviyeleri ve TAD istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüş gösterdiği bildirilmiştir. Goschorska ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada, sodyum florür kaynaklı oksidatif strese maruz bırakılarak oluşturulan AH modelinde; kontrol grubuna kıyasla SOD, GPx ve KAT enzim seviyelerinde azalma gözlenirken; AH tedavisinde yaygın kullanılan donepezil ve rivastigminin tedavisi sonrası KAT enzim seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde uyarıcı etkisi olduğu rapor edilmiştir. SOD ve GPx enzim seviyelerinin ise artış eğiliminde olduğu ancak bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Sales ve ark. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, erkek sıçanların hipokampusüne A β ₁₋₄₂ enjekte edilerek oluşturulan AH modelinde; A β enjeksiyonundan 7 gün sonraki değerlendirmede SOD, KAT ve GSH aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu, kaspaz-3 protein seviyesinde ise kontrol grubuna kıyasla anlamlı artış olduğu bildirilmiştir. Memantin tedavisi sonrasında KAT ve GSH aktivitesinde anlamlı bir artış; kaspaz-3 protein seviyesinde anlamlı bir azalma gözlenirken belirtilen gruplar arasında SOD aktivitesinde anlamlı bir fark olamadığı vurgulanmıştır. Melo ve ark. (2009) yaptığı bir diğer çalışmada, sıçan kortikal nöronlarında A β ₁₋₄₀ indüklenmesi ile oluşturulan AH modelinde, GPx enzim seviyesinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu; galantaminin tedavisi sonrası ise bu düşüşün önlendiği bildirilmiştir. Weng ve ark. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, Alüminyum kloridat'ın günlük oral uygulamasıyla bilişsel düşüş sağlanarak oluşturulan AH sıçan modelinde; kontrol grubuna kıyasla SOD, KAT ve GPx enzim seviyelerinin anlamlı ölçüde azaldığı ancak kamelya yağı ile tedavisi sonrası bu enzim aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı rapor edilmiştir (Weng, Chen, Li & Yen 2020).

18 β -GA tarafından sunulan en önemli koruyucu mekanizma antioksidan enzimatik aktivite seviyelerini artırma yeteneğidir. Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda ROT seviyeleri önemli ölçüde artmaktadır. Bu nedenle, antioksidan motifler içeren moleküllerin kullanımı, yeni tedavileri geliştirmek için cazip bir stratejidir (Peña ve ark.2017). Mahmoud ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, sıçanlara metotreksat (MTX) enjeksiyonu ile oluşturulan hepatotoksisite modelinde; MTX ile indüklenen sıçanlarda, kontrol grubuna

kıyasla karaciğer SOD ve GPx aktivitesi belirgin bir düşüş sergilerken, 18β-GA ile tedavi sonrası karaciğer SOD ve GPx aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir. Kalaierasi ve Pugalendi (2011) tarafından yapılan çalışmada, sıçanlarında streptozotosin ile indüklenen diyabet modelinde kontrol grubuna kıyasla bu sıçanlarda SOD, KAT ve GPx seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı; 45 gün boyunca oral 18β-GA tedavisi sonrası diyabetik sıçanlara kıyasla bu enzimatik antioksidan seviyelerinin anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir. PC12 hücrelerinde 6-hidroksidopamin ile indüklenen sitotoksitede GPx ve KAT enzimlerinin aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığını; 18β-GA tedavi sonrasında GPx ve KAT aktivitelerini artırarak ROT içeriğini istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltarak 18β-GA'nın nöroprotektif kabiliyeti olduğu rapor edilmiştir (Kao, Shyu & Yen 2009).

Bu çalışmada, Aβ₁₋₄₀ indüklenmesi oluşturulan *in vitro* AH modelinde oluşturulan hücre hatları incelendiğinde literatür çalışmalarına benzer şekilde; kontrol grubuna kıyasla Aβ₁₋₄₀ grubunda SOD, GPx ve KAT enzim seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunurken, 18β-GA eklenen Aβ₁₋₄₀+18βGA grubunda ise Aβ₁₋₄₀ grubuna kıyasla SOD, GPx ve KAT seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ile 18β-GA'nın antioksidan enzim seviyelerini artırarak AH'de koruyucu bir etkisinin olabileceği gösterilmiştir.

6.SONUÇ

Bu çalışmada insan nöroblastom U87 MG hücrelerine A β ₁₋₄₀ eklenerek *in vitro* düzeyde oluşturulan AH modeline 18 β -GA muamele edilerek yapılan,

- ❖ MTT analizi ile 18 β -GA'nın *in vitro* AH modelinde proliferatif etkisinin olduğu bu çalışma ile ilk defa tespit edilmiştir.
- ❖ ELISA testi ile kontrol grubuna kıyasla A β grubunda kaspaz-3 enzim seviyesinin artması, A β grubuna kıyasla A β + 18 β -GA grubunda ise kaspaz-3 enzim seviyesinin azalması 18 β -GA'nın antiapoptotik aktivite yoluyla AH'de koruyucu etkisinin olabileceği tespit edilmiştir.
- ❖ ELISA testi ile kontrol grubuna kıyasla A β grubunda SOD, GPx ve KAT enzim seviyelerinin azalması, A β grubuna kıyasla A β + 18 β -GA grubunda ise SOD, GPx ve KAT enzim seviyelerinin artması, 18 β -GA'nın antioksidan mekanizmaları aktive ederek AH'de potansiyel bir koruyucu etkisinin olabileceği tespit edilmiştir.

Bu olumlu etkilerin hepsi bir bütün olarak değerlendirildiğinde; 18 β -GA'nın AH üzerindeki çalışmaları arttırılmalı ve *in vivo* deneyler ile klinik amaçlı kullanıma uygunluğu araştırılmalıdır.

7. KAYNAKÇA

1. **Agid Y, Dubois B, Anand R. & Gharabawi G.** Efficacy And Tolerability Of Rivastigmine In Patients With Dementia Of The Alzheimer Type. *Current Therapeutic Research*. **1998**. 59 (12): 837-845.
2. **Aksaray G & Kaptanoğlu C.** Alzheimer Hastalığının İlaç Tedavisinde Yenilikler. *Düşünen Adam* **1999**. 12 (1): 35-41.
3. **Almkvist O, Vieitez ER, Thordardottir S, Nordberg, A, Viitanen M ve ark.** Longitudinal Cognitive Decline In Autosomal-Dominant Alzheimer's Disease Varies With Mutations In App And Psen1 Genes. *Neurobiology Of Aging*. **2019**. 82: 40-47.
4. **Altiner A, Atalay H, Bilal T.** Serbest Radikaller Ve Stres İle İlişkisi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*. **2017**. 7 (1):51-55.
5. **Alzheimer's Association Report.** Alzheimer's Disease Facts And Figures. Alzheimer's Dementia **2018**. 14(3):367-429.
6. **Anand R, Kiran DG & Mahdi AA.** Therapeutics of Alzheimer's Disease: Past, Present and Future. *Neuropharmacology*. **2014**. 76: 27-50.
7. **Arenda VA, Claassen J.** The Cerebrovascular Role Of The Cholinergic Neural System In Alzheimer's Disease. *Behavioural Brain Research*. **2011**. 221(2):537-542.
8. **Barron M, Gartlon J, Dawson LA., Atkinson PJ & Pardon MC.** A State Of Delirium: Deciphering The Effect Of Inflammation On Tau Pathology In Alzheimer's Disease. *Experimental Gerontology*. **2017**. 94:103-107.
9. **Bartus RT, Dean RL & Beer B.** The Cholinergic Hypothesis Of Geriatric Memory Dysfunction. *New Sefies Science*. **1982**. 217(4558):408-417.
10. **Başara BB, Soyutun İ & Çağlar A.** TC Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2017. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı. Erişim adresi: <https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/31096,turkcesiydijiv1pdf.pdf?0>
11. **Bilousova T, Melnik M, Miyoshi E, Gonzalez BL, Poon WW ve ark.** Apolipoprotein E/Amyloidβ Complex Accumulates In Alzheimer Disease Cortical Synapses Via Apolipoprotein E Receptors And Is Enhanced By Apoe4. *The American Journal Of Pathology*. **2019**. 189(8):1621-1636.
12. **Buckley RF, Mormino EC, Amariglio RE, Properzi MJ, Rabin JS ve ark.** Sex, Amyloid, And Apoe E4 And Risk Of Cognitive Decline In Preclinical Alzheimer's Disease: Findings From Three Well-Characterized Cohorts. *Alzheimer's & Dementia* **2018**:1-11.
13. **Burns M, Noble WJ, Olm V, Gaynor K, Casey E, ve ark.** Co-Localization Of Cholesterol, Apolipoprotein E And Fibrillar Aβ In Amyloid Plaques. *Molecular Brain Research*. **2003**. 110:119-125.
14. **Cannava C, Tosha J, Fishera EC, Wiseman FK.** Using Mouse Models To Understand Alzheimer's Disease Mechanisms In The Context Of Trisomy Of Chromosome 21. *Progress In Brain Research*. **2020**. 251:181-208.
15. **Cao D, Jia Z, You, L, Wu Y, Hou, Z ve ark.** 18β-Glycyrrhetic Acid Suppresses Gastric Cancer By Activation Of Mir-149-3p-Wnt-1 Signaling. *Oncotarget* **2016**. 7 (44): 71960-71973.
16. **Cao D, Jiang J, You L, Jia Z, Tsukamoto T ve ark.** The Protective Effects Of 18β-Glycyrrhetic Acid On Helicobacter Pylori-Infected Gastric Mucosa In Mongolian Gerbils. *Biomed Research International*. **2016**. 1-8.
17. **Capurso C, Solfrizzi V, D'introno A, Colacicco AM, Capurso SA ve ark.** Short Arm Of Chromosome 11 And Sporadic Alzheimer's Disease:Catalase And Cathepsin D Gene Polymorphisms. *Neuroscience Letters*. **2008**. 432 (3):237-242.
18. **Cardoso BR, Ong TP, Filho WJ, Jaluul O, Cozzolino FM ve ark.** Nutritional Status Of Selenium In Alzheimer's Disease Patients. *British Journal Of Nutrition* **2010**.103(6): 803-806.
19. **Cardoso BT, Ong TP, Freitas MI, Cominetti C, & Cozzolino SM.** Glutathione Peroxidase 1 Pro198leu Polymorphism In Brazilian Alzheimer's Disease Patients: Relations To The Enzyme Activity And To Selenium Status. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. **2012**. 5(2):72-80.
20. **Caruso A, Nicoletti F, Mango D, Saidi A, Orlando R ve ark.** Stress As Risk Factor For Alzheimer's Disease. *Pharmacol Res*. **2018**. 132:130-134.
21. **Chang YJ, Linh NH, Shih YH, Yu HM, Suan M ve ark.** Alzheimer's Amyloid-β Sequesters Caspase-3 in Vitro via Its C-Terminal Tail. *ACS Chemical Neuroscience*. **2016**. 17(8):1-26.

22. **Chen B, Wang G, Li W, Liu W, Lin R, ve ark.** Memantine Attenuates Cell Apoptosis By Suppressing The Calpain-Caspase-3 Pathway In An Experimental Model Of Ischemic Stroke. *Experimental Cell Research*. **2017**. 351(2):163-172.
23. **Chen X, Zhi X, Yin Z, Li X, Qin L ve ark.** 18 β -Glycyrrhetic Acid Inhibits Osteoclastogenesis In Vivo and In Vitro by Blocking RANKL-Mediated RANK-TRAF6 Interactions and NF- κ B and MAPK Signaling Pathways. *Front. Pharmacol*. **2018**. 9 (1), 1-15.
24. **Chu J, Lauretti E & Praticò D.** Caspase-3-dependent cleavage of Akt modulates tau phosphorylation via GSK3 β kinase: implications for Alzheimer's disease. *Molecular Psychiatry*. **2017**. 22 (1):1002-1008.
25. **Chu J, Li JG, Joshi YB, Giannopoulos PF, Hoffman NE ve ark.** Gamma Secretase-Activating Protein Is a Substrate for Caspase-3: Implications for Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry*, **2014**. 77 (8), 720-728.
26. **Cipriani G, Dolciotti C, Picchi L & Bonuccelli U.** Alzheimer And His Disease: A Brief History. *Neurological Sciences*. **2010**. 32(2):275-279.
27. **Coylea J & Kershaw P.** Galantamine, A Cholinesterase Inhibitor That Allosterically Modulates Nicotinic Receptors: Effects On The Course Of Alzheimer's Disease. *Biological Psychiatry*. **2001**. 49 (3):289-299.
28. **Danysz W & Parsons CG.** Alzheimer's Disease, B-Amyloid, Glutamate, NMDA Receptors And Memantine – Searching For The Connections. *British Journal Ofpharmacology*. **2012**. 167:324-352.
29. **Davies P & Maloney A.** Selective Loss Of Central Cholinergic Neurons In Alzheimer's Disease. *The Lance*. **1976**. 2(8000):1403.
30. Dementia Australia. Alzheimer's Disease. 2017. https://www.dementia.org.au/files/helpsheets/helpsheet-aboutdementia13-Alzheimersdisease_English.Pdf
31. **Deyts C, Clutter M, Pierce N, Pierce N, Chakrabarty P ve ark.** App-Mediated Signaling Prevents Memory Decline In Alzheimer's Disease Mouse Model. *Cell Reports*. **2019**. 275):1345-1355.
32. **Domingueza E, China TY, Chen CP & Wu TZ.** Management Of Moderate To Severe Alzheimer's Disease: Focus On Memantine. *Taiwanese Journal Of Obstetrics And Gynecology*. **2011**. 50 (4):415-423.
33. **Donkin J, O'neill M, Wang J, Scrocchi LA, Wellington CL ve ark.** Misfolded Superoxide Dismutase 1 (SOD1) As A Novel Target For Alzheimer's Disease. *Alzheimer's & Dementia*. **2010**. 6(4):563.
34. **Ehret MJ & Chamberlin KW.** Current Practices In The Treatment Of Alzheimer Disease:Where Is The Evidence After The Phase In Trials?. *Clinical Therapeutics*. **2015**. 37(8):1604-1614.
35. **El-Twab SM, Hozayen WA, Hussein OE & Mahmoud AM.** 18 β -Glycyrrhetic Acid Protects Against Methotrexate-Induced Kidney Injury By Up-Regulating The Nrf2/Are/Ho-1 Pathway And Endogenous Antioxidants. *Renal Failure*. **2016**. 38(9):1516-1527.
36. **Evans PH.** Free Radicals In Brain Metabolism And Pathology. *Brttish Mtdkal Bvlltrin*. **1993**. 49(3): 377-587.
37. **Fisha PV, Steadmana D & Baylea ED.** New Approaches For The Treatment Of Alzheimer's Disease. *Biorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2019**. 29(2):125-133.
38. **Fiore C, Eisenhut M, Ragazzi E, Zanchin G, Armanini D.** A History Of The Therapeutic Use Of Liquorice In Europe. *J Ethnopharmacol*. **2005**. 99(3):317-324
39. **Francis PT.** The Interplay Of Neurotransmitters In Alzheimer's Disease. *CNS Spectrums*. **2005**. 11(18):6-9.
40. **Gasparro KA.** Update On Treatments For Cognitive Decline In Alzheimer's Disease. *Sci-Hub.Tw/10.1016/J.Nurpra*.**2019**.12.016
41. **Giacobini E.** Cholinesterase Inhibitor Therapy Stabilizes Symptoms Of Alzheimer Disease. *Alzheimer Disease And Associated Disorders*. **2000**. 14 (1):3-10.
42. **Goschorska M, Gutowska I, Bosiacka BI, Piotrowska K, Metryka E, ve ark.** Influence of Acetylcholinesterase Inhibitors Used in Alzheimer's Disease Treatment on the Activity of Antioxidant Enzymes and the Concentration of Glutathione in THP-1 Macrophages under Fluoride-Induced Oxidative Stress. *Int J Environ Res Public Health*. **2019**. 16(1): 10.
43. **Gu L, Lu J, Li Q, Wu N, Zhang L ve ark.** A network-based analysis of key pharmacological pathways of *Andrographis paniculata* acting on Alzheimer's disease and experimental validation. *Journal of Ethnopharmacology*. **2019** 251:112488
44. **Guerreiro RJ, Gustafson DR & Hard J.** The Genetic Architecture Of Alzheimer's Disease: Beyond App, Psens And Apoe. *Neurobiol Aging*. **2012**. 33(3): 437-456.

45. **Hanamsagar R & Bilbo SD.** Sex Differences In Neurodevelopmental And Neurodegenerative Disorders: Focus On Microglial Function. *Journal Of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. **2016**. 160: 127–133.
46. **Hampel H, Shen Y, Walsh DM, Aisen P, Shaw LM ve ark.** Biological Markers Of Amyloid B-Related Mechanisms In Alzheimer's Disease. *Experimental Neurology*. **2010**. 223(2):334–346.
47. **Hardy JA & Higgins GA.** Alzheimer's Disease: The Amyloid Cascade Hypothesis. *Science*. **1992**. 256: 184–185.
48. **Hasan SK, Khan R, Ali N, Khan AQ, Rehman MU ve ark.** 18- β Glycyrrhetic Acid Alleviates 2-Acetylaminofluorene-Induced Hepatotoxicity In Wistar Rats: Role In Hyperproliferation, Inflammation And Oxidative Stress. *Human And Experimental Toxicolog*. **2014**. 34 (6):628–641.
49. **Hasan SK, Siddiqi A, Nafees S, Ali N, Rashid S ve ark.** Chemopreventive Effect Of 18 β -Glycyrrhetic Acid Via Modulation Of Inflammatory Markers And Induction Of Apoptosis In Human Hepatoma Cell Line (Hepg2). *Molecular And Cellular Biochemistry*. **2016**. 416(2): 169–177.
50. **Hasler F, Krapf, R, Brenneisen R, Bourquin D, Krähenbühl.** Determination Of 18 β -Glycyrrhetic Acid In Biological Fluids From Humans And Rats By Solid-Phase Extraction And High-Performance Liquid Chromatography. **1993**. 620(1):73–82.
51. **Hayashi K, Hamano T, Asano R, Sasaki H, Kitasaki Y ve ark.** Reduction Of Serum Cholinesterase By Cholinesterase Inhibitor (Donepezil, Galantamine, Or Rivastigmine). *Journal Of The Neurological Sciences*. **2017**. 381(1): 188–373.
52. **Ho A & Shen J.** Presenilins In Synaptic Function And Disease. *Trends Mol Med*. **2011**. 17(11): 617–624.
53. **Hofmann M & Hock C.** Alzheimer's Disease: Antidementive Drugs. International. *Encyclopedia Of The Social & Behavioral Sciences*. **2001**. 418–423.
54. **Huang QC, Wang MJ, Chen XM, Yu WL, Chu YL ve ark.** Can Active Components Of Licorice, Glycyrrhizin And Glycyrrhetic Acid, Lick Rheumatoid Arthritis? *Oncotarget*. **2016**. 7(2): 1193–1202.
55. **Hung CF, Hsiao CY, Hsieh WH, Li HJ, Tsai YJ ve ark.** 18 β -glycyrrhetic acid derivative promotes proliferation, migration and aquaporin-3 expression in human dermal fibroblasts. *Plos One*, **2017** 12 (8), 1–14.
56. **Hullinger R & Puglielli L.** Molecular And Cellular Aspects Of Age-Related Cognitive Decline And Alzheimer's Disease. *Behav Brain Res*. **2017**. 322: 191–205.
57. **Ishida T, Miki I, Tanahashi T, Yagi S, Kawauchi S ve ark.** Effect Of 18 β -Glycyrrhetic Acid And Hydroxypropyl Cyclodextrin Complex On Indomethacin-Induced Small Intestinal Injury In Mice. *European Journal Of Pharmacology*. **2013**. 714(125): 127–131.
58. **Jiang YX, Dai YY, Pan YF, Wu XM, Yang Y ve ark.** (Published Online **2018**). Total Flavonoids From Radix Glycyrrhiza Exert Anti-Inflammatory And Antitumorigenic Effects By Inactivating Inos Signaling Pathways. *Evid Based Complement Alternat Med* .
59. **Jiao W, Wang Y, Kong L, Yang TO, Meng Q ve ark.** Cart Peptide Activates The Nrf2/Ho-1 Antioxidant Pathway And Protects Hippocampal Neurons In A Rat Model Of Alzheimer's Disease. *Biochemical And Biophysical Research Communications*. **2018**. 501(4): 1–7.
60. **Johnson JW & Kotermanski SE.** Mechanism Of Action Of Memantine. *Current Opinion in Pharmacology*. **2006**. 6(1):61–67.
61. **Jouanne M, Rault S & Voisin AS.** Tau Protein Aggregation In Alzheimer's Disease: An Attractive Target For The Development Of Novel Therapeutic Agents. *European Journal Of Medicinal Chemistry*. **2017** . 39:153–167
62. **Kalaiaresi P & Pugalendi KV.** Protective effect of 18 β -glycyrrhetic acid on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Journal of Pharmacy Research*. **2011**. 4(1):107–111.
63. **Kalaiaresii P, Kaviarasan K & Pugalendi KV.** Hypolipidemic Activity Of 18 β -Glycyrrhetic Acid On Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *European Journal Of Pharmacology*. **2009**. 612:93–97.
64. **Kao TC, Shyu MH & Yen GC.** Neuroprotective Effects of Glycyrrhizic Acid and 18 β -Glycyrrhetic Acid in PC12 Cells via Modulation of the PI3K/Akt Pathway. *J. Agric. Food Chem*, **2009**. 57(2):754–761.
65. **Kılınç E, Var A, Mavioğlu H, Dinç G, Karaçam M ve ark.** Circulating Manganese Superoxide Dismutase (Mn-SOD, SOD2) Levels And Its Ala16val Polymorphism In Patients With Alzheimer's Disease. *Turkish Journal Of Geriatrics*. **2012**. 15(1): 1–6.
66. **Kim SH, Hong JH, Lee JE & Lee YC.** 18 β -Glycyrrhetic Acid, The Major Bioactive Component Of Glycyrrhizae Radix, Attenuates Airway Inflammation By Modulating Th2 Cytokines, Gata-3,

- Stat6, And Foxp3 Transcription Factors In An Asthmatic Mouse Model. *Environmental Toxicology And Pharmacology*. **2017**. 52: 99-113.
67. **Koçancı FG & Aşım B.** Asetilkolinesterazın Yapısı Ve Fonksiyonları Ve Bitkilerin Asetilkolinesteraz İnhibitör Etkileri. *Manas Journal Of Agriculture And Life Science*. **2016**. 6 (1):19-35.
 68. **Kolarova M, Sierra FG, Bartos A, Ripova D & Ricny J.** Structure And Pathology Of Tau Protein İn Alzheimer Disease. *Int J Alzheimers Dis*. **2012**. 1-13.
 69. **Krahenbuhl S, Hasler F, Frey BM, Frey FJ, Brenneisen, R ve ark.** Kinetics And Dynamics Of Orally Administered glycyrrhetic Acid İn Humans. *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism*. **1994** 78(3):581-585.
 70. **Kshirsagar VV & Gursahani M.** Rosmarinic Acid Attenuates Oxidative Stress, Neuroinflammation And Neurodegeneration Against Lipopolysaccharide-Induced Alzheimer's Disease Via Jnk-3 And Caspase-3 Inhibition İn Mice. *Alzheimer's & Dementia*. **2019**. 15(7):P2-215.
 71. **Lee CS, Kim YJ, Lee MS, Han ES & Lee SJ.** 18 β -Glycyrrhetic acid induces apoptotic cell death in SiHa cells and exhibits a synergistic effect against antibiotic anti-cancer drug toxicity. *Life Sciences*. **2008**. 83 (13-14):481-489.
 72. **Lee J, Cho E, Kwon H, Jeon J, Jung CJ ve ark.** The fruit of *Crataegus pinnatifida* ameliorates memory deficits in β -amyloid protein-induced Alzheimer's disease mouse model. *Journal of Ethnopharmacology*. **2019**. 243:112107.
 73. **Leoa ME, Borrelloa S, Passantinoa M, Palazzotti B, Mordente A ve ark.** Oxidative Stress And Overexpression Of Manganese Superoxide Dismutase İn Patients With Alzheimer's Disease. *Neurosci Lett*. **1998** 250(3):173-176.
 74. **Leszek J, Kiejna A, Janicka B, Trypka E & Goma R.** Activity Assessments Of Superoxide Dismutase, Glutathione Reductase And Glutathione Peroxidase İn The Red Blood Cells Of Alzheimer Patient's. *European Psychiatry*. **2000**. 15(2): 347.
 75. **Li YX, Ye ZH, Chen T, Jia XF, & He L.** The Effects Of Donepezil On Phencyclidine-İnduced Cognitive Deficits İn A Mouse Model Of Schizophrenia. *Pharmacology, Biochemistry And Behavior*. **2018**. 175:69-76.
 76. **Lima JB, Langforda TF, Huang BK, Deena WM & Sikes HD.** A Reaction-Diffusion Model Of Cytosolic Hydrogen Peroxide. *Free Radical Biology And Medicine*. **2016** 90: 85-90.
 77. **Luo Z, Liang L, Sheng J, Panga Y, Li J ve ark.** Synthesis And Biological Evaluation Of A New Series Of Ebselen Derivatives As Glutathione Peroxidase (Gpx) Mimics Andcholinesterase İnhibitors Against Alzheimer's Disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2014**. 22(4):1355-1361.
 78. **Maelicke A.** Pharmacokinetic Rationale For Switching From Donepezil To Galantamine. *Clinical Therapeutics*. **2001**. 23(1):8-12.
 79. **Mahmoud AM, Hussein OE, Hozayen WG & El-Twab SM.** Methotrexate hepatotoxicity is associated with oxidative stress, and down-regulation of PPAR γ and Nrf2: Protective effect of 18 β -Glycyrrhetic acid. *Chemico-Biological Interactions*, **2017**. 270: 59-72.
 80. **Markesbery WR.** Oxidative Stress Hypothesis İn Alzheimer's Disease. *Free Radical Biology & Medicine*. **1997**. 23(1):134-147.
 81. **Mcgrattan AM, Mcguinness B, Mckinley MC, Kee F, Passmore P ve ark.** Diet And Nutrition İn Dementia And Cognitive Decline. Chapter 42 - Circulating Oxidative Damage And Antioxidant Defense System Biomarkers İn Early Stage Alzheimer's Disease. *Academic Press*. **2015**, 469-477
 82. **Mclimans KE, Clark B, Pappas C, Plagman AK, Wolf T ve ark.** Associations Of Csf Superoxide Dismutase 1 With Cognitive, Neural, And Csf Biomarkers Across The Alzheimer's Disease Spectrum. *Alzheimer's & Dementia*. **2019**. 15(7): P1022.
 83. **Melo JB, Sousa C, Garça P, Oliveira CR & Agostinho P.** Galantamine protects against oxidative stress induced by amyloid-beta peptide in cortical neurons. *European Journal of Neuroscience*. **2009**. 29:455-464.
 84. **Milton NG.** Role Of Hydrogen Peroxide İn The Aetiology Of Alzheimer's Disease. *Drugs Aging*. **2004**. 21(2):81-100.
 85. **Moon MH, Jeong JK, Lee YJ, Seol JW, Ahn DC ve ark.** 18 β -Glycyrrhetic Acid İnhibits Adipogenic Differentiation And Stimulates Lipolysis. *Biochemical And Biophysical Research Communications*. **2012**. 420:805-810.
 86. **Mota SL, Ferreira I & Reg CA.** Dysfunctional Synapse İn Alzheimer's Disease E A Focus On Nmda Receptors. *Neuropharmacology*. **2013**. 1-11.
 87. **Mullane K & Williams M.** Alzheimer's Disease Beyond Amyloid: Can The Repetitive Failures Of Amyloidtargeted Therapeutics Inform Future Approaches To Dementia Drug Discovery? *Biochemical Pharmacology*. **2020**. 1-125.

88. **National Institute Of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases** Memantine. Livertox Clinical And Research Information On Drug-Induced Liver Injury. Bookshelf. **2012**
89. **Obulesu M.** Natural Products In The Treatment Of Alzheimer's Disease. *Alzheimer's Disease Therenostics*. **2019**. 28(5):19-24.
90. **Olivares D, Deshpande VK, Shi Y, Lahiri DK, Greig NH ve ark.** N-Methyl D-Aspartate (NMDA) Receptor Antagonists And Memantine Treatment For Alzheimer's Disease, Vascular Dementia And Parkinson's Disease. *Curr Alzheimer Res*. **2012**. 9(6):746-758.
91. **Oztanir NM, Ciftci O, Çetin A, Durak MA, Basak N ve ark.** The Beneficial Effects Of 18 β -Glycyrrhetic Acid Following Oxidative And Neuronal Damage İn Brain Tissue Caused By Global Cerebral İschemia/Reperfusion İn A C57bl/J6 Mouse Model. *Neurological Sciences*. **2014**. 3 (8):1221–1228.
92. **Peña JM, Ramos DA, López O, Maya I, Lagunes I ve ark.** New Tacrine Dimers With Antioxidant Linkers As Dual Drugs: Anti-Alzheimer's And Antiproliferative Agents. *European Journal Of Medicinal Chemistry*. **2017**. 138:761–773.
93. **Picot IC, Boudia MM, Nicole A & Thevenin M.** Peripheral Antioxidant Enzyme Activities And Selenium In Elderly Subjects And In Dementia Of Alzheimer's Type--Place Of The Extracellular Glutathione Peroxidase. *Free Radical Biology & Medicine*. **1996**. 20(4):579-587.
94. **Polinsky RJ.** Clinical Pharmacology Of Rivastigmine: A New-Generation Acetylcholinesterase Inhibitor For The Treatment Of Alzheimer's Disease. *Clinical Therapeutics*. **1998**. 20(4):634-647.
95. **Pomarede N & Chandaramoul M.** **Nutritional Cosmetics** . Chapter 13:Enhancing The Skin's Natural Antioxidant Enzyme System By The Supplementation Or Upregulation Of Superoxide Dismutase, Catalase, And Glutathione Peroxidase. William Andrew.**2009**. s. 245-265
96. **Rahman H, Khan I, Hussain A, Shahat AA, Qasim M ve ark.** Glycyrrhiza Glabra HPLC Fractions: İdentification Of Aldehydo Isoophiopogonone And Liquirtigenin Having Activity Against Multidrug Resistant Bacteria. *Bmc Complement Altern Med*. **2018** 18 (40): 1-6.
97. **Ralla T, Salminen H, Braun K, Edelmann M, Hofmann T ve ark.** Investigations İnto The Structure-Function Relationship Of Plant-Based Surfactant Glycyrrhizin: Interfacial Behavior & Emulsion Formation. *Lwt*. **2020**. 120 (Published online)
98. **Rashid S, Nafees S, Siddiqi A, Vafa A, Afzal SM ve ark.** Partial protection by 18 β Glycyrrhetic acid against Cisplatin induced oxidative intestinal damage in wistar rats: Possible role of NFkB and caspases. *Pharmacological Reports*. **2017**. 69 (5):1007-1013.
99. **Riedel BC, Thompson PT & Brinton RD.** Age, Apoe And Sex: Triad Of Risk Of Alzheimer's Disease. *Journal Of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. **2016**. 160:134-147.
100. **Ritchie CW, Ames D, Clayton T & Lai R.** Metaanalysis Of Randomized Trials Of The Efficacy And Safety Of Donepezil, Galantamine, And Rivastigmine For The Treatment Of Alzheimer Disease. *The American Journal Of Geriatric Psychiatry*. **2004**. 12(4):358–369.
101. **Rohn TT.** Caspase-Cleaved Tar Dna-Binding Protein-43 İs A Major Pathological Finding İn Alzheimer's Disease. *Brain Research*. **2008**. 1228:189 – 198.
102. **Rothman SM & Olney JW.** Glutamate And The Pathophysiology Of Hypoxic–İschemic Brain Damage. *Ann Neurol*. **1986**. 19(2):105–111.
103. **Saka, E.** Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisi: Deneysel Ve Genetik Bulgular. *Turkish Journal Of Geriatrics*. **2010**. 13(3):21-26.
104. **Sales RK, Ashiri M, Hafizi M, Kalanaky S, Maghsoudi AH ve ark.** Neuroprotective Effect of New Nanochelating-Based Nano Complex, ALZc3, Against A β (1–42)-Induced Toxicity in Rat: a Comparison with Memantine. *Pharmaceutical Research* . **2020**. 37(3):2-14.
105. **Schierle GS, Michel CH & Gasparini L.** Advanced İmaging Of Tau Pathology İn Alzheimer Disease: New Perspectives From Super Resolution Microscopy And Label-Free Nanoscopy. *Microscopy Research And Technique*. **2016**. 79(8):677-688.
106. **Sherki YG, Melamed E & Offen D.** Oxidative Stress İnduced-Neurodegenerative Diseases: The Need For Antioxidants That Penetrate The Blood Brain Barrier. *Neuropharmacology*. **2001**. 40(8): 959–975.
107. **Snigdha S, Smith ED, Prieto CG & Cotman CW.** Caspase-3 activation as a bifurcation point between plasticity and cell death. *Neurosci Bull* , **2012**. 28 (1), 14–24.
108. **Sonkusare SK, Kaul CL, Ramarao P.** Dementia Of Alzheimer's Disease And Other Neurodegenerative Disorders—Memantine, A New Hope. *Pharmacological Research*. **2005**. 51 (1):1-17.
109. **Soininen H, Martin S, Bullock R, Alhainen K, Hager K ve ark.** First Head To Head Study Comparing The Efficacy Of Donepezil And Galantamine İn Alzheimer's Disease. *European Neuropsychopharmacology*. **2002**. 12(1): 385.

110. **Stephenie S, Chang YP, Gnanasekaran A, Esa NM & Gnanaraj C.** An Insight On Superoxide Dismutase (SOD) From Plants For Mammalian Health Enhancement. *Journal Of Functional Foods*. **2020**. 68.
111. **Sua L, Wang Z, Huang F, Lan R, Chena X ve ark.** 18 β -Glycyrrhetic Acid Mitigates Radiation-Induced Skin Damage Via Nadph Oxidase/ROS/P38mapk And Nf-Kb Pathways. *Environmental Toxicology And Pharmacology*. **2018**. 60:82–90.
112. **Sütlaş MK.** Santral Sinir Sisteminin Dejeneratif Hastalıklarında Bos Tau Düzeylerinin Bir Belirteç Olarak Kullanımı : Bir Gözden Geçirme Yazısı. *Düşünen Adam*. **2004**. 17 (2):126-130.
113. **Szollosi R.** Oxidative Damage To Plants. Chapter 3:-Superoxide Dismutase (SOD) And Abiotic Stress Tolerance İn Plants: An Overview. Academic Press. **2014** s.89–129
114. **Şimşek F.** Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar Ve Lipit Peroksidasyonu. *Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi*. **1999**. 8(1):42-47.
115. **Şimşek İ & Binicier ÖB** Helicobacter Pylori. *İç Hastalıkları Dergisi*. **2011**.18:13-26.
116. **Tabari S, Babri S, Mirzaie F, Farajdokht F ve ark.** Enduring amnesia induced by ICV scopolamine is reversed by sesame oil in male rats1. *Acta Cirúrgica Brasileira*. **2016**. 31(8):520-526.
117. **Tabner BJ, Turnbull S, El-Agnaf,O & Allsop D.** Production Of Reactive Oxygen Species From Aggregating Proteins Implicated İn Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease And Other Neurodegenerative Diseases. *Curr Top Med Chem*. **2001** 1(6):507-517.
118. **Tehrani HS & Movahedi AA.** Catalase And Its Mysteries. Progress İn Biophysics And Molecular Biology. **2018**. 1-8.
119. **The Heart Of Alzheimer's Care And Cure.** Alzheimer's Disease. **2016**. Erişim adresi: Tarihinde [Www.Alzsd.Org](http://www.alzsd.org): <https://www.alzsd.org/Wp-Content/Uploads/2016/05/Alzheimers-Understanding-The-Disease.Pdf>
120. **Thome J, Gsell W, Rösler M, Kornhuber J, Hashimoto E. ve ark.** Oxidative-Stress Associated Parameters (Lactoferrin, Superoxide Dismutases) M Serum Of Patients With Alzheimer's Disease. *Life Science*. **1997**. 60(1):13-19.
121. **Thomsen T, Kaden B, Fische JP, Bickel U, Barz H. ve ark.** Inhibition Of Acetylcholinesterase Activity İn Human Brain Tissue And Erythrocytes By Galanthamine, Physostigmine And Tacrine. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem*. **1991**. 29(1): 487-492.
122. **Topçuoğlu ES & Selekler K.** Alzheimer Hastalığı. *Turkish Journal Of Geriatrics*. **1998**.1(2):63-67.
123. **Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) :** Tük Haber Bülteni 2019 Tarihinde İstatistiklerle Yaşlılar, **2019**. Erişim adresi <http://www.tuik.gov.tr/Prehaberbultenleri.do?İd=30699>
124. **Türkiye Alzheimer Derneği.** Gelişmiş Ülkelerde Alzheimer Hastalığı Azalırken, Türkiye'de Artıyor **2014**. Erişim Adresi <http://www.alzheimerderneği.org.tr/Haber/Gelisim-Ulkelerde-Alzheimer-Hastaligi-Azalirken-Turkiyede-Artiyor>
125. **Ülgen S.** 21 Eylül Dünya Alzheimer Günü. *Yarış Dergisi.Com*. **2019**. Erişim adresi <http://www.yarisdergisi.com/21-Eylul-Dunya-Alzheimer-Gunu/>
126. **Vasile D & Gheorg MD.** The Efficacy Of Donepezil İn Alzheimer's Disease Cognitive Deficit. *European Neuropsychopharmacology*. **2002**. 12 (3):374.
127. **Yao Y, Wang Y, Kong L, Chen Y & Yang J.** Osteolysis decreases tau protein phosphorylation via PI3K/AKT/GSK-3 β signaling pathway in Alzheimer's disease. *Life Sciences*. **2019**. 217(15):16-24.
128. **Wang R & Reddy PH.** Role Of Glutamate And Nmda Receptors İn Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. **2017**. 57(4):1041–1048.
129. **Weng MH, Chen SY, Li YZ & Yen CG.** Camellia oil alleviates the progression of Alzheimer's disease in aluminum chloride-treated rats. *Free Radical Biology and Medicine*. **2020** 152:411-421.
130. **Wong H, Seelaar H, Melhem S, Rozemuller AJ & Swieten JC.** Genetic Screening İn Early-Onset Alzheimer's Disease Identified Three Novel Presenilin Mutations. *Neurobiology Of Aging*. **2019**. 86: 201.
131. **World Health Organization.** Ageing And Health. **2018** Erişim adresi <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>
132. **Zhou Y, Sun Y, Ma QM Liu Y.** Alzheimer's Disease: Amyloid-Based Pathogenesis And Potential Therapies. *Cell Stress*. **2018**. 2 (7):150-161. Yazar Eksik
133. **Yüksel N.** Alzheimer Hastalığının İlaçla Tedavisi. *Klinik Psikiyatri*. **2000**. 3(1):137-141.
134. **Zamaraev AV, Kopeina GS, Prokhorova EA, Zhivotovsky B & Lavrik IN.** Post-Translational Modification Of Caspases: The Other Side Of Apoptosis Regulation. *Trends İn Cell Biology*. **2017**. 27(5):322–339.
135. **Zhang Y, Zhao L, Wu Z, Chen X, & Ma T.** Galantamine Alleviates Senescence Of U87 Cells Induced By Beta-Amyloid Through Decreasing Ros Production. *Neuroscience Letters*. **2017**. 653:183–188.

ÖZGEÇMİŞ

1993 yılı Antakya - Hatay'da doğdum. 2007 yılında Nihal-Turgut Anlar Anadolu Öğretmen Lisesi kazandım ve 2011 yılında mezun oldum. 2012 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Lisesi kazandım ve 2017 yılında mezun oldum. 2018 yılında Altınözü Devlet Hastanesi'ne Eczacı olarak atanmış halen mesleğimi sürdürmekteyim. Orta derece İngilizce biliyorum.

