

Alzheimer Hastalığının Moleküler Biyolojisi / *Molecular Biology of Alzheimer's Disease*

M. Baki Yokeş, A. Nazlı Başak

Boğaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İSTANBUL

ÖZET

Alzheimer Hastalığı (AH) yaşlı nüfusta en sık görülen demans tipidir. Entelektüel işlevlerde giderek artan kayıplarla ortaya çıkan hastalık, psikoz, depresyon, ajitasyon ve anksiyete gibi belirtiler, kişilik ve algılamada bozukluklar nedeniyle hem hasta, hem de hasta yakınları üzerinde yoğun bir stres yaratır. A β peptidlerinden oluşan senil plaklar ve hiperfosforile *Tau* proteini içeren nörofibriler yumaklar Alzheimer hastalarının beyinlerinde görülen başlıca patolojik bulgulardır. AH tanısından sonra hastalığın gelişimi bireyden bireye çok değişkenlik gösterir. Yirmi yıl gibi uzun bir zamana yayılabilen hastalıkta, ortalama yaşam süresi hastalığın başlangıç yaşına göre 2-8 yıl arasında olabilir. Pozitif aile hikayesi, kafa travması, depresyon, aterosklerozis, düşük eğitim düzeyi gibi etkenlerin yanısıra ilerleyen yaş AH için en etkili risk faktörüdür. Çoğunlukla 65 yaşın üzerinde görülen AH'nin prevalansı yaş ile orantılıdır. 65 yaştan sonra ortaya çıkan olguların %70'i sporadiktir, 65 yaştan önce ortaya çıkan olguların %60'ı ise aileseldir. Alzheimer olgularının küçük bir yüzdesinin nesiller arasında otozomal dominant bir geçiş göstermesi, hastalığın temelinde genetik faktörlerin yattığının en büyük delilidir. Bugüne kadar mutasyona uğradıklarında erkenbaşlangıçlı Alzheimer hastalığına neden olan üç gen tanımlanmıştır; β -amiloid prekürsör protein (APP), Presenilin 1 (PS1) ve Presenilin 2 (PS2) genleri. AH olgularının %2-10'unu kapsayan bu mutasyonlar hastalık oluşturmaya yeterlidir. Genlerin kodlayıcı bölgelerinde yer alan

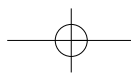
Anahtar Kelimeler: Alzheimer Hastalığı, moleküler patogeneze, APP, PS1, PS2, APOE

mutasyonlar A β ₄₂ yapımını artırarak senil plakların ana maddesini oluşturan A β 'nin daha fazla çökmesine neden olmaktadır. AH'nin etiolojisinde genetik faktörlerin etkin olduğuna dair başka bir delil de Apolipoprotein E genidir (APOE). ApoE'nin E4 alelinin hastalığın sporadik ve ailesel formları için risk faktörü olduğu incelenen birçok toplumda gösterilmiştir. PS1, PS2 ve APOE genlerinin promotor bölgelerinin yanısıra 100'den fazla gende görülen polimorfizmlerin geçbaşlangıçlı AH için risk faktörü oluşturabilecekleri öne sürülmüş olsa da, söz konusu polimorfizmlerin AH ile ilişkisi incelenen tüm popülasyonlarda gösterilememiştir. Bağlantı ve asosiyasyon analizleri sonucunda edilen bulgular, hastalığın mekanizmasına ışık tutmaktan çok, hastalığın ne kadar kompleks bir yapısı olduğunu ortaya koymaktadır. Farklı çalışma grupları tarafından farklı kromozom bölgeleri bağlantılı gösterilmiş ise de, bazı kromozom bölgelerinin birden fazla laboratuvar tarafından tanımlanmış olması, yeni genlerin bulunabilmesi açısından umut vericidir. A β 'nin AH patogenezinde merkezi bir rol oynadığına dair birçok kanıt varsa da, nörodejenerasyonda bir dizi karmaşık ve ikincil olayın da katkısı vardır. Sonuç olarak insandaki hastalık sürecinin uygun ilaç tedavileri ile durdurulması gerekir. Bu doğrultuda ilk aşamada, terapötik ajanların hedefi olarak A β yapımının engellenmesi, agregasyonun ve nörotoksitenin önlenmesi görülmektedir. Gelecekte AH'yi erken önlemeye yönelik gelişmiş tedavi yöntemleri uygulamaya girince, riskli

Key words: Alzheimer's Disease, molecular pathogenesis, APP, PS1, PS2, APOE

Yazışma Adresi: Prof. Dr. A. Nazlı Başak
Boğaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bebek İstanbul
Tel: 0212 359 66 79 basak@boun.edu.tr

Dergiyeye Ulaşma Tarihi/Received: 25.04.2005
Kesin Kabul Tarihi/Accepted: 25.04.2005



bireylerin genetik yatkınlık faktörleri için teste tabi tutulmaları mümkün olacaktır; bunun uluslararası kurallar çerçevesinde yapılması önemlidir.

ABSTRACT

Molecular Biology of Alzheimer's Disease

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia in the elderly. The disease, clinically characterized by a progressive decline in intellectual functions, becomes increasingly distressing for the patient and for his/her caregivers, since it is also associated with psychosis, depression, agitation, anxiety and loss of personality. The two neuropathological hallmarks of AD are senile plaques and neurofibrillary tangles. Following diagnosis, the course of AD varies considerably from a few years to over 20 years, with a mean survival of 2-8 years according to age of onset. A positive family history, previous head injury depression, atherosclerosis low education level are found to be risk factors for AD besides age, which is the most effective risk factor. AD usually onsets after age of 65 years and its prevalence increases with age. Late-onset AD occurs after the age of 65 and 70% of those cases are sporadic; 60 % of early-onset AD, occurring before 65 years are familial. In a small number of pedigrees, AD segregates with a fully penetrant autosomal dominant trait, which indicates that AD has a genetic etiology. To date, three genes are identified that when mutated cause early-onset AD: β -amyloid precursor protein gene (APP), Presenilin 1 gene (PS1) and Presenilin 2 gene (PS2). Together these mutations, which are by themselves sufficient to cause early-onset AD, account for 2-10% of the whole AD population. The mutations located in the coding region of these genes, increase the production of $A\beta_{42}$, thereby leading to an increased $A\beta$ deposition, which is the major component of the senile plaques. Apolipoprotein E (APOE) gene is an other indication for the genetic etiology of AD. ApoE4 allele has been shown to be a risk factor for sporadic and familial AD in multiple populations. To date more than 100 genes, including the promoter regions of PS1, PS2 and APOE, have been considered to contribute to sporadic AD pathology; however the majority of these studies showed contradictory results. The linkage and association analysis data provide evidence for the high complexity of the disease, rather than shedding light on the disease mechanism. Full genome screens revealed many different loci on different chromosomes, but only some of them yielded positive results in independent studies, which may be promising for the discovery of new AD genes. Although there is enough of evidence that $A\beta$ is central to AD pathogenesis, there are many complex secondary events that all contribute to the final outcome of neurodegeneration. Ultimately, the disease process in man has to be prevented through the appropriate use of therapeutic drugs. In this regard $A\beta$ is leading the way as a target for therapeutic agents in an attempt to reduce its production, inhibit aggregation and neurotoxicity. When in future advanced treatment options become available for the early prevention of AD, individuals at risk can make use of predictive DNA testing; the DNA test has to be performed according to strictly approved international guidelines, which assure the confidentiality of the test results.

GİRİŞ

Alzheimer Hastalığı (AH) yaşlı nüfusta en sık görülen demans tipidir. Hastalık klinik olarak yakın bellek ve konuşma gibi entellektüel işlevlerde giderek artan kayıplarla ortaya çıkar.

Psikoz, depresyon, ajitasyon ve anksiyete AH'nın sık görülen belirtileridir.⁽¹⁾ Kişilik ve algılamada ortaya çıkan bozukluklar hem hasta, hem de hasta yakınları üzerinde yoğun bir stres yaratır.

Nörolojik muayene, nörofizyolojik testler ve beyin görüntüleme yöntemlerine bağlı olarak ancak "olası AH" tanısı konulabilmektedir. Post-mortem incelemede görülen senil plaklar ve nörofibriler yumaklar kesin tanıya olanak veren nöropatolojik bulgulardır.⁽²⁻⁵⁾

Senil plakların ve nörofibriller yumakların dışında, nöropil iplikçikler, distrofik nöritler, granovaküoler dejenerasyon, Hirano cisimcikleri ve serebral amiloid anjiyopati AH'nin diğer nöropatolojik bulgularıdır. Temporal, parietal ve entorhinal kortekste, hipokampus ve amigdalada büyük çaplı nöronal ve dendritik kayıplar görülür.⁽⁶⁾ Enzim aktivite-lerinde, özellikle kolinasetiltransferaz enzim aktivitesinde belirgin bir azalma vardır. Atropi korteksin incelenmesine ve lateral serebral ventriküllerin genişlemesine yol açar.

İleri yaşın yanısıra, pozitif aile hikayesi, kafa travması, depresyon, aterosklerozis, düşük eğitim düzeyi, alüminyuma maruz kalma, sigara kullanımı AH riskini arttırır.^(7,8) Ancak ilerleyen yaş AH için en etkili risk faktörüdür. Çoğunlukla 60 yaşın üzerinde görülen AH'nin prevalansı yaş ile orantılıdır. 60-64 yaş arasında görülme sıklığı %1 iken, 85 yaşın üzerinde %40'a kadar çıkar.^(7,9)

AH genellikle hastalığın başlama yaşına göre sınıflandırılır. 65 yaştan önce ortaya çıkan AH, erken-başlangıçlı (EBAH), 65 yaştan sonra ortaya çıkan AH ise geç-başlangıçlı (GBAH) olarak tanımlanır. EBAH ve GBAH olguları arasında hastalığın başlangıç yaşı dışında belirgin bir klinik ve patolojik fark görülmez.

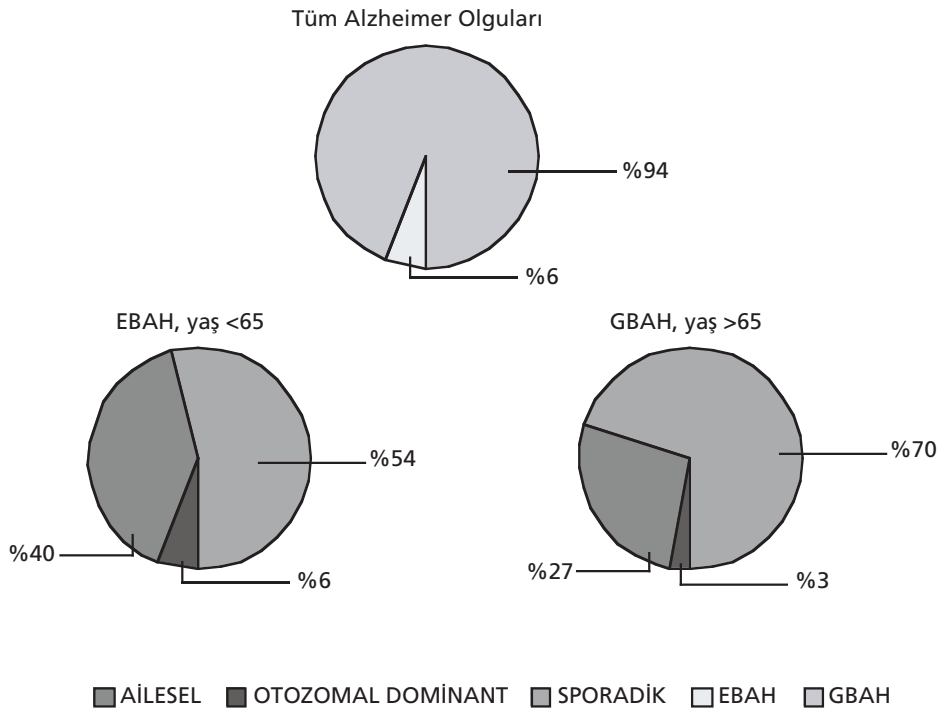
Kronik beyin hipoperfüzyonuna maruz kalan hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda, yaşlı bireylerin beyinlerinde pre- ve post-sinaptik değişimler, protein sentezinde ve enerji metabolizmasında bozukluklar, serebral glukoz tüketiminde azalma, özellikle kolinerjik sistemde vasküler innervasyon, serebral korteks kapillerlerinde yapısal bozukluklar ve görsel-mekansal bellek yetersizliklerine yol açan serebral mikrovasküler patolojiler görülmüştür.⁽¹⁰⁻¹¹⁾ AH hastalarında, deneysel olarak yaşlandırılan hayvanların beyinlerinde ortaya çıkanlarla benzer, biyokimyasal ve yapısal bozuklukların görülmesi, ilerleyen yaşın vasküler bir risk faktörünün eşliğinde serebral hipoperfüzyona neden olarak AH patolojisine yol açabileceğini düşündürmektedir.

Çoğunlukla 65 yaşın üzerinde görülen GBAH olgularının %70'i sporadiktir; 65 yaştan önce ortaya çıkan EBAH olgularının %60'ı ise aileseldir

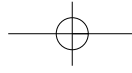
(Resim 1). Hem GBAH hem de EBAH'ta görülen ailesel olguların bir bölümünün nesiller arasında otozomal dominant bir geçiş göstermesi, hastalığın temelinde genetik faktörlerin yattığının en büyük delilidir. Ancak pozitif aile öyküsü mutlaka genetik bir nedeni işaret etmez. Aynı ortamları paylaşan kişilerde görülen AH'nin nedeni çevresel etkenler de olabilir.

AH tanısından sonra hastalığın gelişimi bireyler arasında çok değişkenlik gösterir. Ortalama yaşam süresi hastalığın başlangıç yaşına göre 2-8 yıl arasında olabilir.^(12,13) Ancak bu süre 20 yıl gibi uzun bir zamanı da kapsayabilir. Demans şiddeti, davranış bozuklukları, düşme, kötü yaşam koşulları ve erkek olmak gibi etkenlerin hastaların yaşam sürelerini azalttığı görülmektedir.⁽¹⁴⁻¹⁸⁾

Ortalama yaşam süresinin yüksek olduğu Batı Topluları için AH önemli bir sağlık sorunu



Resim 1. Alzheimer hastalığının tipleri.



oluşturmaktadır. Alzheimer Hastalığı, ABD’de görülen ölüm nedenleri arasında, kalp krizi ve kanserden hemen sonra, 3. sırada gelmektedir.⁽¹⁹⁾ Eldeki veriler dikkate alındığında, 2025 yılında tüm dünyada 22 milyon kişinin AH’ye yakalanacağı tahmin edilmektedir.⁽²⁰⁾ AH hasta ve hasta yakınlarının yanı sıra, sağlık sistemleri üzerine de büyük bir yük getirmektedir. ABD’de bir Alzheimer hastasının yıllık bakım giderinin 47.000 dolar civarında olduğu tahmin edilmektedir.^(21,22)

ALZHEİMER HASTALIĞININ MOLEKÜLER PATOLOJİSİ

• β -Amiloid Plaklar

AH beyinde görülen patolojik bulguların başında senil plaklar gelmektedir. Senil plakların ana maddesi 4kDa büyüklüğünde olan beta amiloid peptididir(A β). A β peptidleri, 39-43 amino asit uzunluğunda (çoğunlukla 40-42 amino asit), beta-amiloid prekürsör proteininin (APP) proteolitik yıkımı sonucunda oluşan ürünlerdir.^(23,24) β -pleated sheet yapısında olan bu peptidler, sağlıklı hücreler tarafından da salgılanırlar; sağlıklı insanların ve hayvanların plazma ve serebrospinal sıvılarında bulunurlar,⁽²⁵⁻²⁷⁾ ancak A β_{42} peptidlerine göre daha fazla miktarlarda bulunan A β_{40} peptidleri sağlıklı bireylerde tüm A β peptidlerinin %90’ını oluşturur. Alzheimer hastalarının beyinlerinde A β peptidleri 8nm çapında hücre-dışı filamentler oluşturur. Bu filamentlerin birikmesi senil plaklara ve 10-100 μ m çapında hücre-dışı lezyonlara neden olur. Senil plaklar çoğunlukla hippokampus ve temporal kortekste görülür.

Hücre kültürü deneylerinde A β peptidlerinin nörit büyümesini hızlandırdığı, reaktif oksijen moleküllerini arttırarak sitotoksik oksidatif strese yol açtığı, mikroglial hücreleri aktive

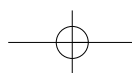
ettiği ve Ca²⁺ metabolizmasını bozduğu görülmüştür. Nöronlar üzerinde doğrudan toksik etkisi olduğu kabul edilse de, A β agregatlarının mı AH’ye yol açtığı, yoksa AH sonucunda mı senil plakların olduğu henüz aydınlığa kavuşmamıştır.

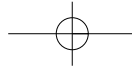
• Nörofibriler Yumaklar

Nörofilamentler ve mikrotübüller nöronal hücre iskeletinin ana komponentleridir. Nörofilamentler yapısal destek oluşturarak aksonal ve dendritik büyümede görev alırken, mikrotübüller hücre içinde maddelerin transportunu sağlar. AH beyinde mikrotübüller sistemin ana maddesi olan *Tau* proteininin hiperfosforile olduğu görülmektedir. Hiperfosforile Tau mikrotübüllere bağlanamaz.⁽³⁰⁻³²⁾ Parçalanmış mikrotübüller sistem, Tau proteini açısından zengin nörofibriler yumaklara ve distrofik nöritlere dönüşür.

17. kromozomda bulunan *Tau* geni yaklaşık 100 kb uzunluğundadır ve 16 ekzon içerir.⁽³³⁻⁵⁵⁾ Alternatif kırılma sonucunda 55-110 kDa arasında altı ayrı *Tau* izoformu sentezlenir. Yetişkin insan beyinde altı izoforma da rastlanır.⁽³⁶⁻³⁹⁾ *Tau* proteininin çözünürlüğü yüksek olmasına karşın altı izoformu da nörofibriler yumakların oluşumunda rol oynar. Nöron içinde, akzonlarda ve dendritlerde oluşan nörofibriler yumaklar, protein sentezini ve organellerin işlevlerini bozarak hücrenin ölümüne neden olurlar.

A β agregasyonunun, AH’nin ortaya çıkmasında öncü olduğu düşünülse de, nörofibriler yumakların ve ana maddeleri olan *Tau* proteininin de AH’de merkezi bir rol oynadığına inanılmaktadır; post-mortem incelemeler nörofibriler yumak yoğunluğunun, A β plak yoğunluğuna göre, hastalık semptomları ile





daha fazla ilişki içerisinde olduğunu göstermiştir. Bu konudaki hararetli tartışmalar Alzheimer araştırmacılarının Baptist (A β agregasyonunun hastalığın ana etkeni olduğuna inananlar) ve Tauist (Tau agregasyonunun hastalığın ana etkeni olduğuna inananlar) olmak üzere iki gruba bölünmesine yol açmıştır. Ancak son yıllarda elde edilen bulgular amiloid hipotezini daha çok desteklemektedir: APP geni üzerindeki mutasyonlar AH'ye neden olurken, Tau mutasyonları FTDP-17'ye yol açmaktadır.⁽⁴⁰⁾ FTDP-17'de de AH'de olduğu gibi yoğun nörofibriler yumaklar görülmesi, ancak A β plaklarına hiç rastlanmaması, Tau proteininin yapısının ileri derecede etkilenmesinin bile A β plak oluşumuna yeterli olmadığına işaret etmektedir. Bu da, AH'deki nörofibriler yumakların A β metabolizmasındaki değişiklikten daha sonra oluştuğunu düşündürmektedir. Ayrıca, EBAH'a neden olan PS1 ve PS2 gen mutasyonlarının A β_{42} /A β_{40} oranını artırarak, A β_{42} 'nin daha fazla çökmesine neden oldukları gözlemlenmiştir.⁽⁴¹⁾ Amiloid hipotezini destekleyen diğer bir bulgu da transgenik farelerden elde edilmiştir. İnsan mutant APP ve mutant Tau genlerini aşırı miktarda ekspres

eden transgenik fare beyinlerinde nörofibriler yumaklar yalnız mutant Tau geni taşıyan farelere oranla daha fazla bulunmuştur, ancak amiloid plaklarında kontrollere göre bir değişiklik yoktur.⁽⁴²⁾ Bu bulgu Tau agregasyonunun APP işlevinin bozulmasından sonra gerçekleştiğini göstermektedir. Buna ilaveten, A β 'nin yıkımı ve ortamdaki temizlenme mekanizmalarında oluşabilecek sorunların GBAH riskini arttırdığına dair her geçen gün yeni deliller elde edilmektedir.⁽⁴³⁾

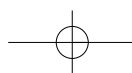
A β peptidlerinin Tau fosforilasyonuna neden olabilecek mekanizmaları harekete geçirebileceği olası görülmektedir; fibriler A β peptidlerine maruz kalan hipokampal hücrelerde MAPK ve GSK3 β yolları aktive olmakta ve Tau hiperfosforilasyonu ortaya çıkmaktadır.^(44,45)

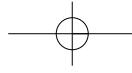
ALZHEİMER HASTALIĞININ MOLEKÜLER GENETİĞİ

AH olgularının büyük yüzdesi sporadiktir, ancak hastalığın genetik etiyolojisi olduğunu gösteren yeterince kanıt vardır. AH olgularının görüldüğü

Tablo 1. Alzheimer hastalığı ile ilişkisi kesinleşmiş olan genler ve hastalık patogenezi etkileri.

Gen (protein)	Kromozom bölgesi	Kalıtım şekli	Patogenik mutasyon sayısı	Ortalama başlangıç yaşı (aralık)	AH patogenezi etkisi
APP (β -amiloid prekürsör)	21q21.3	Otozomal dominant	18	51.5 yıl (35-60)	A β_{42} /A β_{40} oranında artış; mutasyonlar γ -sekretaz bölgesine yakın
PS1 (presenilin 1)	14q24.3	Otozomal dominant	142	44.1 yıl (24-60)	A β_{42} /A β_{40} oranında artış; γ -sekretaz aktivitesi için gerekli
PS2 (presenilin 2)	1q31-42	Otozomal dominant	10	57.1 yıl. (46-71)	A β_{42} /A β_{40} oranında artış; γ -sekretaz aktivitesi için gerekli (?)
APOE (apolipoprotein E, E4-alelli)	19q13.32	Kompleks (risk artışı)	-	Başlangıç yaşını düzenliyor	A β agregasyonunda artış; lipid/kolesterol transport mekanizmasıyla (?)





ailelerin çoğunluğunda, AH'nin kalıtım şekli yeterince açık değildir. Ancak bazı ailelerde, hastalığın otozomal dominant bir şekilde kalıtıldığı görülmektedir. Bugüne kadar mutasyona uğradıklarında EBAH'a neden olan üç gen tanımlanmıştır; β -amiloid prekürsör protein (APP), Presenilin 1 (PS1) ve Presenilin 2 (PS2) genleri. Bu genlerin kodlayıcı bölgelerinde oluşan mutasyonlar EBAH oluşturmaya yeterlidir. PS1 mutasyonları en sık görülür, ve ailesel EBAH olgularının %18-50'sini oluşturur.^(46,47) APP (%5) ve PS2 mutasyonları (<%1) daha seyrek. Bu üç gene bağlı mutasyonlar tüm AH olgularının %2-10'unu kapsar (Tablo 1).

Bugüne kadar hiçbir GBAH olgusunda APP, PS1 ve PS2 genlerinin kodlayıcı bölgelerinde mutasyon görülmemiştir. Bu olgularda hastalığın kalıtım türünün belirgin olmaması, GBAH oluşumunun genetik ve çevresel nedenlerin etkileşiminden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Hastalığın başlama yaşının çok değişken olabilmesi, hangi bireyin risk altında olduğunu ya da hangi bireyin hastalık riski taşımadığını belirlemede zorluk yaratmaktadır.

Erken-Başlangıçlı Alzheimer Hastalığına Neden Olan Genler

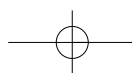
• β -amiloid Prekürsör Protein Geni

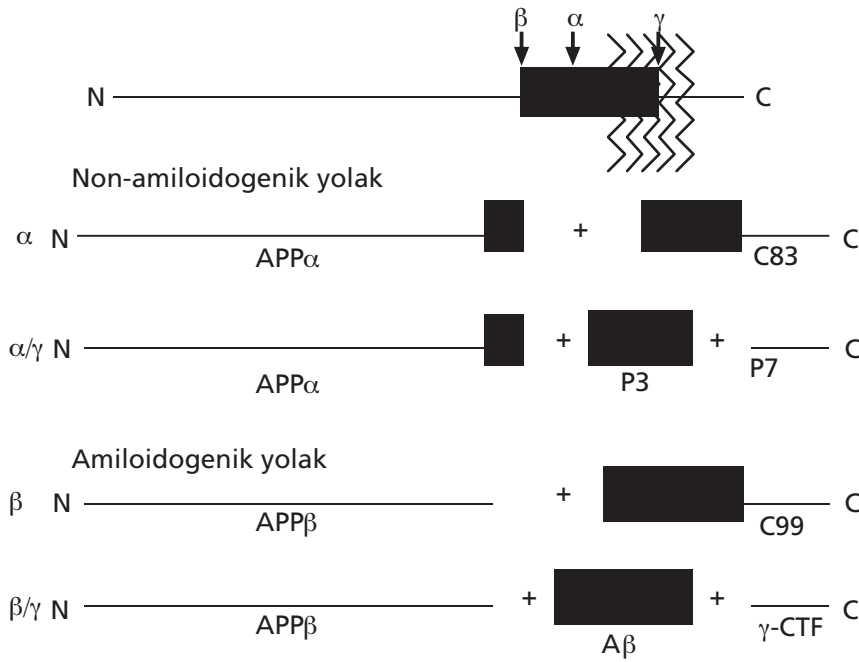
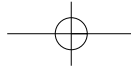
21. kromozomun uzun kolu üzerinde bulunan APP geni evrim sürecinde korunmuş APP-benzeri protein ailesinin bir üyesidir. 18 ekzonun alternatif kırılması sonucunda beş değişik izoformu sentezlenir.⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾ En uzun izoformu *app*₇₇₀ ve 8. ekzonu içermeyen *app*₇₅₁, nöronlar dışında tüm hücrelerde en çok sentezlenen izoformlardır. Nöronal hücrelerde ise bu izoformlar görülmekle birlikte, en sık rastlanan izoform exon 7 ve exon 8'i içermeyen *app*₆₉₅'dir.

app proteini sentezlendikten sonra yoğun post-translasyonel işlemlerden geçer. Hücre zarı üzerinde bulunan *app* proteini sekretaz enzimleri tarafından proteolitik yıkıma uğrar. Parçalanmış N-terminal ucu hücre dışına salgılanır. Hücre zarı üzerinde kalan C-terminal kısmı ise hücre içinde metabolize edilir. Non-amiloidogenik ve amiloidogenik olmak üzere birbiriyle yarışan iki farklı mekanizmayla gerçekleşen bu yıkım sonucunda A β peptidleri oluşabilir. Mekanizması henüz tam olarak açıklığa kavuşmamış olmasına karşın, *app*'nin üç değişik sekretaz enzimi ya da enzim grubu tarafından kesildiği bilinmektedir.

α -sekretazlar (*TACE/ADAM17* ve *ADAM10*) *app* proteinini A β 'dan keserek çözünebilir C-terminal ürünlerin ortaya çıkmasına neden olurlar. C-terminal ürünlerin daha sonra γ -sekretaz tarafından kesilmesi sonucunda non-amiloidogenik ürünler oluşur. Amiloidogenik yolda ise β -sekretaz (*BACE*) *app*'yi A β bölgesinin N-terminal ucuna yakın bir noktadan keser. Ortaya çıkan ve çözünebilir olan C-terminal uç, intakt bir A β içerdiği için potansiyel olarak amiloidogeniktir; γ -sekretaz ile ikinci bir kesime maruz kaldığında A β peptidlerini oluşturur (Resim 2). Bugüne kadar γ -sekretaz aktivitesine sahip bir enzim tanımlanamamıştır, ancak Presenilin proteinlerinin γ -sekretaz aktivitesinde rol aldığı düşünülmektedir.⁽⁵¹⁻⁵³⁾ β - ve γ -sekretazlar *app* proteinini tek bir noktadan kesmezler. Bu nedenle ortaya çıkan yıkım ürünlerinin N- ve C-terminalleri uzunluk açısından farklılık gösterir.

app evrim sürecinde iyi korunmuş bir proteindir. Sıçan ve insan *app* mRNA'ları %97 oranında benzerlik gösterir.⁽⁵⁴⁾ *App*₆₉₅'in tüm dizisi maymunlarda ve insanlarda aynıdır.⁽⁵⁵⁾ *Drosophila melanogaster* ve *Caenorabditis elegans*'ta da *app* homologları bulunmuştur.





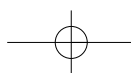
Resim 2. *app*'nin sekretaz enzimleri tarafından kesilmesi ve A β peptidlerinin oluşumu. 16. ve 17. ekzonlar tarafından kodlanan A β hücre zarının ekstrasellüler kısmında yer alır. *app*'nin α - ya da γ -sekretaz ile kesilmesi A β peptidinin parçalanmasına neden olur. Ancak *app* önce β - ardından da γ -sekretaz ile kesildiği takdirde A β peptidleri oluşur. β - ve γ -sekretazların kesim noktaları sabit değildir. Bu nedenle ortaya çıkan A β peptidlerinin uzunlukları 39-43 amino asit arasında değişebilir. Kesim sonucunda N-terminal bölge hücre dışına salgılanırken, C-terminal kısım hücre içinde metabolize edilir.

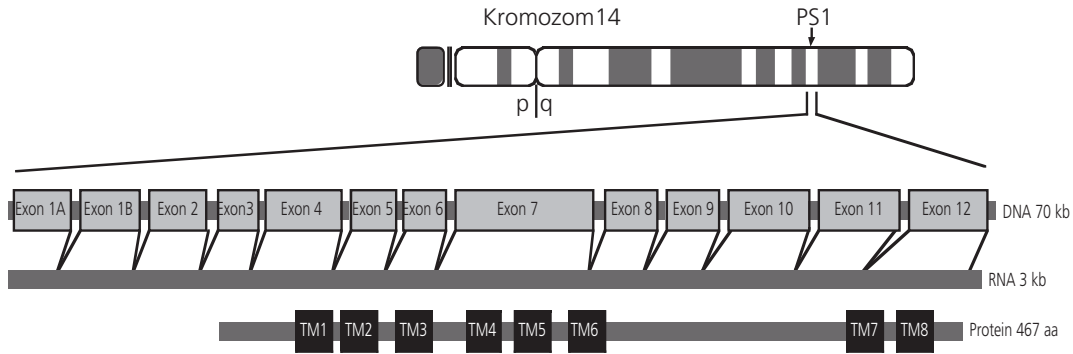
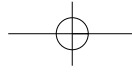
Birçok canlıda bu kadar korunmuş olması, *app*'nin önemli bir fizyolojik rolü olduğunu düşündürmektedir. Ancak her iki APP kopyası olmayan *knockout* farelerde ciddi bir fizyolojik hasar görülmemektedir. Bu durum APP-benzeri protein ailesinin diğer üyelerinin *app*'nin yokluğunda onun işlevini üstlenebildiğini göstermektedir.

app'nin işlevi henüz belli değildir. NGF'in (Nerve Growth Factor) *app*'nin ekspresyonunu ve sekresyonunu regüle ettiği PC12 hücrelerinde gösterilmiştir.⁽⁵⁶⁾ Salgılanan *app*'nin intrasellüler kalsiyum seviyesini düzenleyerek glutamatın eksitotoksik etkisine karşı hücreyi koruduğu düşünülmektedir.⁽⁵⁷⁾ *app* hücre proliferasyonu ve hücre adhezyonunu stimüle ederek ve NGF tarafından indüklenen nörit gelişimini destekleyerek bir otokrin işlevi görüyor olabilir. *app*'nin sinyal iletiminde rol oynadığına dair bulgular da vardır. γ -sekretaz enzimleri ile

kesilmesi sonucunda ortaya çıkan C-terminal bölgenin Fe65 nükleer adaptör proteini ve TIP60 histon-asetiltransferaz enzimi ile multimerik kompleksler oluşturması, γ -sekretaz kesiminin gen ekspresyonunda da rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Bugüne kadar 50 ailede AH ve benzeri hastalıklara neden olan 18 APP mutasyonu tanımlanmıştır. Bu mutasyonlardan 693. kodonda görülen glutamik asit/glutamin mutasyonu az sayıda Hollandalı ailede görülen ender bir otozomal dominant hastalığa yol açmaktadır (*Hereditary Cerebral Hemorrhage with Amyloidosis of the Dutch Type*).^(58,59) 692. kodon üzerinde görülen Alanin/Glisin değişimi ise karışık bir fenotipe neden olmaktadır; bu mutasyonu taşıyan bireylerde serebral hemorrhage ya da EBAH görülmektedir. Bütün *app* mutasyonları A β oluşumunda önemli rol oynayan proteolitik kesim noktalarındadır, ya da





Resim 3. Presenilin 1 geninin kromozom üzerindeki lokasyonu ve protein yapısı.

bu noktalara çok yakındır. Mutasyonların hastalığın oluşumundaki etkileri henüz tam olarak açıklanamamıştır, ancak hücre kültürlerinde incelenen bazı mutasyonların A β ₄₂ oluşumunu arttırdığı gözlemlenmiştir.⁽⁶⁰⁾ APP mutasyonları taşıyan ailelerde hastalık başlangıç yaşı aynı ailenin bireylerinde benzer olsa da, aileden aileye değişiklik gösterebilir (35-60 yaş).

• PS1 ve PS2 Genleri

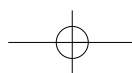
Presenilin genleri *Caenorhabditis elegans*'tan insana kadar tüm canlı türlerinde homologları bulunan ve evrim sürecinde korunmuş olan bir protein ailesinin üyesidir. *Ps1* ve *Ps2* proteinleri arasında %67 benzerlik vardır, proteinlerin transmembran domain'lerinde bu benzerlik %95'e ulaşır.⁽⁶¹⁾

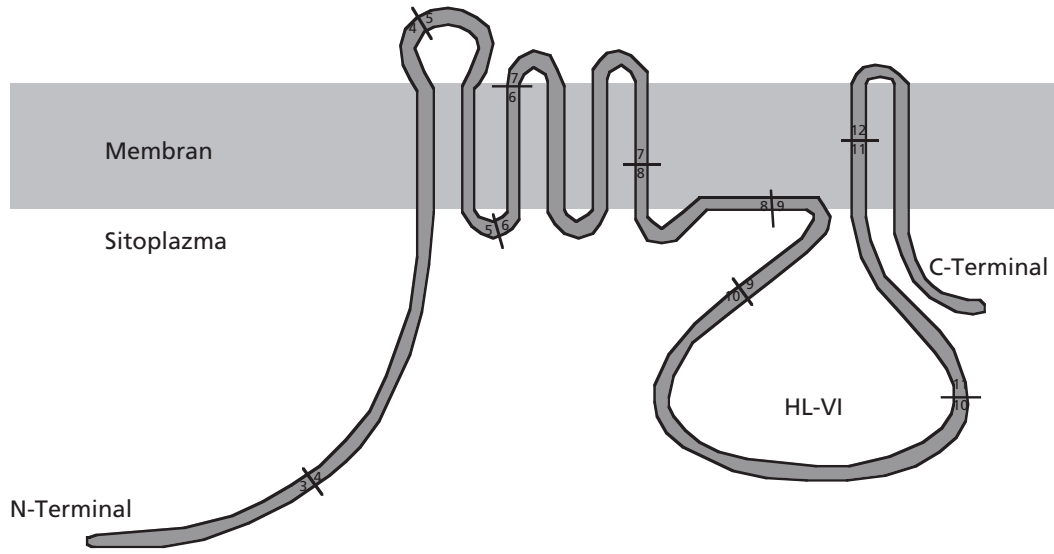
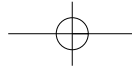
PS1 14. kromozomdadır (14q24.3). 70 kilobazlık bir bölgeyi içeren genin 13 ekzonu vardır,⁽⁶²⁻⁶⁵⁾ ancak ilk üç ekzon protein kodlamaz (Resim 3). Alternatif kırılma sonucunda farklı dokularda farklı izoformlar sentezlenir. *Ps1* sekiz transmembran domain'e sahip, 42-43kDa'luk bir proteindir.⁽⁶⁶⁾ Sentezlendikten hemen sonra proteolitik yıkım sonucunda 27-28 kDa'luk N-terminal (NTF) ve 16-17 kDa'luk C-terminal (CTF) olmak üzere iki parçaya ayrılrsa da, her iki terminal de kompleks halinde bulunur (Resim 4).⁽⁶⁷⁾

1. kromozomdaki (1q42.1) *PS2* geni *PS1* ile benzer özellikler gösterir (Resim 5).⁽⁶⁸⁾ *PS1*'de olduğu gibi, alternatif kırılma sonucunda, birçok dokuda ekspres edilen farklı *Ps2* izoformları sentezlenir.⁽⁶⁹⁾ *Ps2* proteini de *Ps1* gibi N- ve C-terminal olmak üzere iki parçaya kesilmiş, ancak birlikte bulunan NTF/CTF kompleksleri oluşturur.⁽⁷⁰⁾

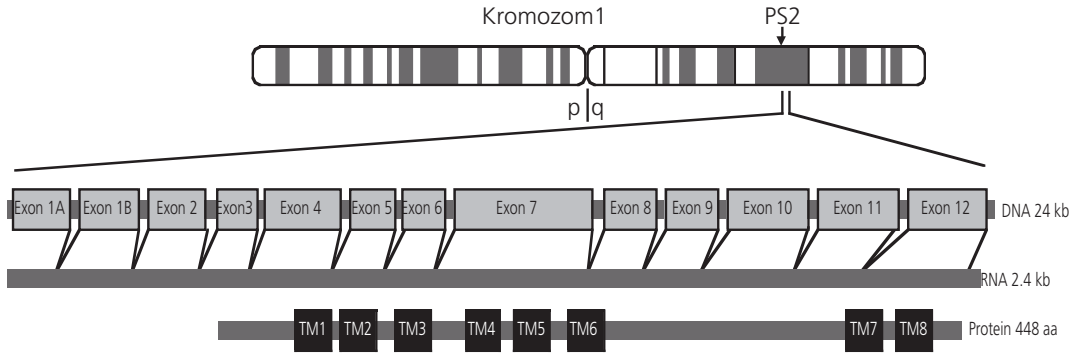
Ps1 periferel dokuda ve sinir sisteminde sentezlenir. Hücre içinde endoplazmik retikulum ve Golgi zarında bulunur.^(71,72) Bunun yanı sıra hücre kültürü çalışmalarında NTF/CTF komplekslerinin nöronların sinaptik veziküllerinde, sinaptik plazma zarında, sinaptik adhezyon bölgelerinde ve nörit büyüme konilerinde lokalize oldukları görülmüştür. Bu bulgular *Ps1*'in nöronal farklılaşma, gelişme ve sinaptik işlevlerde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Ps1 nikastrin, *Aph-1* ve *Pen-2* gibi transmembran proteinleri ile multiprotein kompleksleri oluşturur. *Ps1*'in tip1 membran proteinlerinin γ -sekretaz ile kesiminde rol oynadığı bilinmektedir. Ancak aspartil proteaz inhibitörlerinin kesilmemiş *Ps1*'lere değil de NTF/CTF komplekslerine bağlanıyor olması, γ -sekretaz aktivitesi için gerekli olanın NTF/CTF kompleksleri olduğunu göstermektedir.





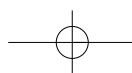
Resim 4. Presenilin proteinlerinin membran üzerindeki lokasyonu ve domain yapısı.
HL: hidrofobik halka; siyah çizgiler: intron-ekzon sınırları; makas: proteolitik kesim.

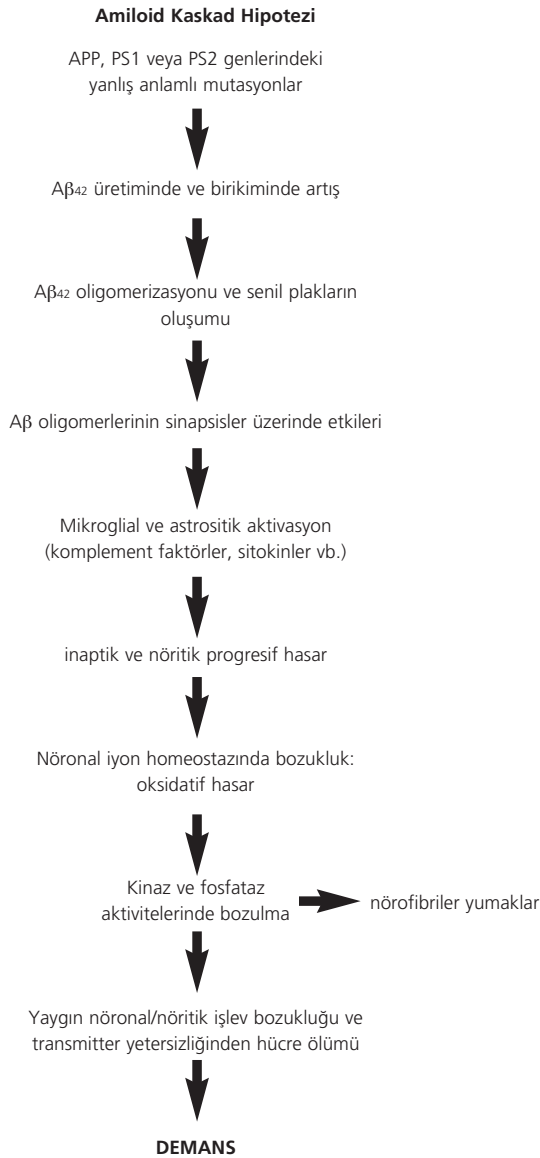
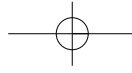


Resim 5. Presenilin 2 geninin kromozom üzerindeki lokasyonu ve protein yapısı.

Apoptozun tetiklenmesi veya Ca^{2+} influx'ı E-cadherin'in $Ps1/\gamma$ -sekretaz ile kesilmesini stimüle eder. Benzer bir şekilde adhezyon molekülü olan nektin-1 α da $Ps1/\gamma$ -sekretaz ile kesilir. $Ps1$ 'in hücre iskeleti ve hücre adhezyon ile ilgili moleküllerle ilişkide olması, bu proteinin epitel hücrelerde ve nöronlarda hücreler-arası adhezyonun regülasyonu, sinaptogenez,

post- ve presinaptik organizasyonda yer alabileceğini düşündürmektedir. $Ps1$ 'in Ca^{2+} metabolizmasında rol oynadığına dair de bulgular vardır. Mutant $PS1$ geni taşıyan hücre kültürü çalışmalarında, bu hücrelerin $IP3$ eşiklerinin çok düşük olduğu ve uyarıldıkları taktirde endoplazmik retikulumdan aşırı miktarda Ca^{2+} iyonu salındığı gözlemlenmiştir.





Resim 6. Amiloid kaskad hipotezine göre AH'deki patojenik olaylar: Aβ oligomerleri hem mikroglia ve astrositleri aktive ederler, hem de nöronlardaki sinaps ve nöritleri doğrudan hasara uğratabilirler.

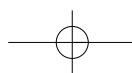
PS1-/- nöronlarda Aβ sekresyonunu kaybolurken *app*'nin C-terminalinin birikmesi, *Ps1*'in *app* metabolizmasında doğrudan rol oynadığını göstermektedir.

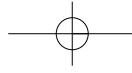
Ps1 ve *Ps2* proteinleriyle etkileşim içinde olduğu

saptanan 30'dan fazla proteinin arasında *Tau*, *Bcl-XL* (anti-apoptotik), *kalsenilin* ve *kalmirin* gibi Ca²⁺ bağlayan proteinler ve *BACE1* gibi γ-sekretaz enziminin olması, Presenilin mutasyonlarının AH oluşumunda birden fazla noktada rol alabileceğini düşündürmektedir.

Bugüne kadar 142 PS1 mutasyonu tanımlanmıştır.⁽⁴⁰⁾ Bu mutasyonların çoğunluğu yanlış anlamlı (*missense*) mutasyonlardır. Protein sentezini engelleyen, ya da protein yapısını etkili bir şekilde değiştirebilecek insersiyon ve delesyonlara rastlanmaması, PS1'in hayati bir öneme sahip olduğunu göstermektedir. PS1 mutasyonlarının yaklaşık %60'ı 5, 7 ve 8. ekzonlarda görülür. PS1'e bağlı AH başlama yaşı, mutasyonun türü ve diğer faktörler nedeniyle aileden aileye çok farklıdır: 34-64 yaş. Ancak, aynı aile içinde hastalığın başlama yaşı hemen hemen aynıdır. Altıncı ekzondaki Phe175Ser ile 9. ekzondaki Glu318Gly değişimleri patojenik olmayan polimorfizmlerdir.^(73,74) Intron 8'deki bir polimorfizmin GBAH için risk faktörü oluşturduğu söylene de, böyle bir bağlantı diğer çalışmalarda tanımlanmamıştır.^(75,76)

PS mutasyonlarının AH'nin oluşumundaki rolü henüz tam olarak açıklanamamıştır. Mutant PS1 geni taşıyan hücrelerde toplam Aβ miktarında bir değişiklik olmadığı halde, Aβ₄₂ oranının normal hücrelere kıyasla önemli miktarlarda arttığı gösterilmiştir. Bu bulgu, PS1 mutasyonlarının Aβ₄₂ yapımını arttırarak daha fazla Aβ çökmesine neden olduğunu düşündürmektedir. Ancak kırılma noktasını değiştirerek ekzon 9'un tamamen delesyona uğramasına neden olan intron 8 mutasyonu olan ailelerde bazı farklı nöropatolojik bulgulara rastlanılmaktadır. Bu hastalarda görülen difüz senil plakların merkezlerinde amiloid fibril agregatları bulunmamakta ve çevrelerinde



**Tablo 2.** Alzheimer hastalığı için risk faktörü olduğu düşünülen genler.

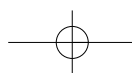
Gen	Kromozom bölgesi	Başlangıç yaşı	Sporadik ve/veya Ailesel	Kesinlik
APOE	19q32.2	Geç/erken	Sporadik / ailesel	Kesin
α -2M	12p	Geç	Sporadik	Şüpheli
LRP	12	Geç	Sporadik	Şüpheli
LBP-1c/CP2/LSF	12	Geç	Sporadik	Şüpheli
ACE	17q23	Geç	Sporadik	Şüpheli
VLDL-R	9pter-p23	Geç	Sporadik	Şüpheli
BChE	3q26.1-q26.2	Geç	Sporadik	Şüpheli
ACT	14q32.1	Geç	Sporadik	Şüpheli
IDE	10q23-q25	Geç/erken	Sporadik / ailesel(?)	Şüpheli
TfC2	3q21	Geç	Sporadik	Şüpheli
catD	11p15.5	Geç/erken	Sporadik / ailesel	Şüpheli
BH	17q11.1-q11.2	Geç/erken	Sporadik	Şüpheli
TGF- β 1	19q13.1-q13.3	Geç	Sporadik	Şüpheli
5-HTT	17q11.1-q12	Geç	Sporadik	Şüpheli
NOS3	7q35	Geç	Sporadik	Şüpheli
CST3	20p11.2	Geç	Sporadik	Şüpheli
APOE promoter	19q32.2	Geç/erken	Sporadik	Şüpheli
PS1 promoter	14q24	Erken	Sporadik / ailesel	Şüpheli

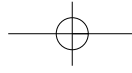
Tablo 3. Bağlantı ve asosiyasyon analizleri sonucunda AH ile bağlantılı olabileceği düşünülen kromozom bölgeleri.

Kromozom bölgesi	Bağlantı analizi					Asosiyasyon analizi		
	Periack-Vance et al.(92)	Periack-Vance et al.(93)	Kehoe et al.(94)	Myers et al.(95)	Li et al.(96)	Blacker et al.(97)	Zubenko et al.(98)	Hiltunen et al.(99)
1p36	-	-	+	+	-	+	-	+
4q35	-	-	-	-	+	+	-	-
5p13-15	-	+	+	+	-	+	-	+
6p21	-	-	+	+	+	+	-	+
6q15	+	-	+	+	-	-	-	-
9p21	-	+	+	+	-	+	-	-
9q22	-	-	+	+	-	+	+	-
10q21-22	-	-	+	+	-	+	-	-
10q24-25	-	-	-	-	+	+	-	-
12p11	+	-	+	+	-	-	-	-
19q13	-	+	+	+	+	+	-	-
Xp21	-	-	+	+	-	+	-	-
Xq21-26	-	-	+	-	-	-	+	-

distrofik nörit ve enflamatuar reaksiyonlar görülmemektedir.⁽⁷⁷⁾ Bu bulgular, $A\beta_{42}$ 'nin nörotoksik etkisinin $A\beta$ fibrillerinin oluşumundan daha evvel ortaya çıktığını göstermektedir; $A\beta_{42}$ peptidleri agregasyon

oluşturmadan önce, kalsiyum homeostazını bozarak, serbest radikal oluşumunu hızlandırarak, ya da hücre-içi haberleşme mekanizmalarını engelleyerek toksik bir etki gösterebilir (Resim 6)⁽⁷⁸⁾





Hücre içinde *Ps1* ile aynı kompartmanlarda bulunması ve *Ps1/γ*-sekretaz aktivitesinin kritik bir komponenti olması dolayısıyla, PS2 mutasyonlarının da PS1 ile benzer bir mekanizma sonucunda dominant geçişli EBAH'na neden olduğu düşünülebilir. Ancak bugüne kadar EBAH'na neden olan sadece 10 PS2 mutasyonu tanımlanmış olması ve bu mutasyonları taşıyan aynı aile bireylerinde bile hastalığın başlangıç yaşının çok değişkenlik göstermesi, iki genin arasında farklılıklar olabileceğine işaret etmektedir.

Geç Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı için Genetik Risk Faktörleri

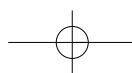
APP veya PS genlerindeki mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkan AH olguları ile sporadik AH olguları arasında hastalık başlangıç yaşı ve seyri dışında patolojik bir fark görülmemesi, bu mutasyonların hastalığı oluşturmaktan ziyade, ileri yaşın en büyük risk faktörü olduğu Alzheimer Hastalığı'nın oluşumunu hızlandırdıklarını düşündürmektedir. AH'nin etiolojisinde genetik faktörlerin rol oynadığına dair bir diğer delil de Apolipoprotein E genidir (APOE). Popülasyonda en sık görülen üç alelden (E2, E3 ve E4) biri olan E4 alelinin sporadik ve ailesel GBAH için risk faktörü olduğu incelenen birçok toplumda gösterilmiştir. Ancak E4 alelinin varlığı kendi başına AH oluşturmak için yeterli değildir. E4 alelini taşıyan bireylerin hepsi hasta olmadığı gibi, bu aleli taşımadığı halde hastalığa yakalananlar da vardır. Ancak bu alelin AH'de görülme sıklığı sağlıklı topluma göre yaklaşık 2-3 kat fazladır. APOE4 aleli GBAH olgularının tümünü açıklamaz. Eldeki bulgular ışığında ileri yaşta, ya da sporadik olarak ortaya çıkan AH olgularında da başka genetik faktörlerin rol oynayabileceği kabul edilmektedir. AH için risk faktörü oluşturduğu düşünülen birçok gen üzerindeki tartışmalar

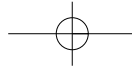
halen sürmektedir (Tablo 2). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda 100 civarında genin AH için risk faktörü olabileceği öne sürülmüş ve bazı toplumlarda bu genlerin bazı alelleri ile AH arasında bağlantılar gösterilmiştir. Diğer taraftan, incelenen her toplumda böyle bir bağlantı bulunamamıştır. GBAH olguları üzerinde yapılan bağlantı ve asosiyasyon analizlerinde hastalık ile bağlantılı olabilecek kromozom lokasyonları belirlenmiş olmasına karşın, bu bölgelerde bulunan genlerden hangilerinin hastalık ile ilgili olduğu henüz açıklık kazanmamıştır. Ancak bağımsız laboratuvarlar tarafından yürütülen çalışmalarda aynı kromozom lokasyonlarının tanımlanması, olası genetik faktörlerin hastalık etiolojisinde önemli bir etken olabileceğini göstermektedir (Tablo 3).

• APOE Geni

Apolipoprotein E geni (APOE) 19. kromozomda (19q13.2), aynı gen ailesinin üyeleri olan APOC-I, APOC-I' ve APOC-II genleri ile birlikte grup halinde bulunur.⁽⁷⁹⁾ Sadece dört ekzon içeren 3.7kb uzunluğundaki APOE geni birçok dokuda sentezlenir.^(80,81) Ancak en aktif olduğu organ karaciğerdir. Apolipoprotein E (*ApoE*) lipoproteinlerle etkileşime girerek yıkımlarını yönlendirir. *ApoE* kolesterol ve trigliserid transportunda önemli rolü olan bir proteindir. LDL reseptör ailesi ve scavenger reseptörleri gibi hücre-yüzeyi reseptörleri ile girdiği ilişki sonucunda kolesterolün hücre içine taşınmasını sağlar. Kan-beyin bariyerini geçemez, ancak beyinde astrositler tarafından sentezlenir, beyinde en fazla bulunan apolipoproteindir. Periferik ve merkezi sinir sistemi hasarlarından sonra *ApoE* miktarında görülen artış, nöron rejenerasyonunda rol oynadığını düşündürmektedir.

Bugüne kadar 30'dan fazla APOE varyantı





tanımlanmıştır. Bunlardan 14'ü ailesel disbetalipoproteinemi ile ilişkilendirilmiştir. Toplumlarda görülen en baskın aleller E2, E3 ve E4 alelleridir. Bu aleller 112. ve 158. pozisyonlarda bulunan sistein ya da arginin nedeniyle farklı fizyolojik ve biyokimyasal özelliklere sahiptir. Her iki pozisyonunda da arginin taşıyan *ApoE4*, çoğunlukla *VLDL* (*very low-density lipoprotein*), 112. pozisyonunda sistein ve 158. pozisyonunda arginin bulunduran *ApoE3* ile her iki pozisyonunda da sistein içeren *ApoE4* çoğunlukla *HDL* (*high-density lipoprotein*) ile birlikte bulunur. *ApoE4* ekspresyonu plazmada yüksek kolesterol seviyesine neden olduğu için kalp hastalıkları riskini arttırmaktadır. GBAH popülasyonlarında *ApoE4* aleli normal popülasyona oranla 2-3 kat daha sık görülür. *ApoE4* alelinin AH riskini artırdığı, *ApoE2* alelinin ise AH'ye karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu, birkaç küçük toplum dışında, incelenen tüm popülasyonlarda gösterilmiştir. Ancak *ApoE4* AH için sadece bir risk faktörüdür. AH oluşumu için gerekli olmadığı gibi, yeterli de değildir.

APOE4 genotipinin nöropatolojik fenotipi Aβ agregasyonunda görülen artıştır. ApoE izoformlarının AH beyindeki amiloid düzeylerini nasıl etkilediğine dair iki hipotez ortaya atılmaktadır. *ApoE* Aβ'nın ortamdan uzaklaştırılmasında rol oynayabilir, ya da ApoE Aβ'nın presipitasyonunu hızlandırabilir. İlk hipotez *ApoE*-Aβ komplekslerinin oluşumu ve bu komplekslerin *ApoE* reseptörlerine bağlanması olmak üzere iki aşama içerir. ApoE izoformlarının Aβ peptidleri ile etkileşime girdikleri gösterilmiştir. E3 izoformu E4 izoformuna göre daha yoğun etkileşime girebilmektedir.^(82,83) *ApoE*'nin dışında birçok ligand ile etkileşen *LRP* (*low-density lipoprotein receptor-related protein*) amiloid plaklar üzerinde gösterilmiştir.⁽⁸⁴⁾ Bu tür reseptörlerin

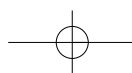
işlevsel bozukluğu Aβ peptidlerinin ortamdan uzaklaştırılmamasına neden olabilir. İkinci hipotez için literatürde birbiri ile çelişkili bulgular sunan çalışmalar vardır. *ApoE4* alelinin Aβ peptidleriyle daha stabil kompleksler oluşturarak agregasyonunu hızlandırdığının yanı sıra, E2 ve E3 izoformlarının daha etkin *ApoE*-Aβ kompleksleri oluşturduğunu söyleyenler de vardır.^(85,86)

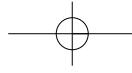
• Promotor Polimorfizmleri

Down's Sendromu (DS)'na neden olan trizomi 21 *app*'nin normalden 4-5 kat daha fazla sentezlenmesine yol açar. DS'lu hastalarda genç yaşta AD semptomlarının görülmesi, *app* ekspresyonunun AH oluşumunda rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ancak genin -802 ile +268. pozisyonlarının içerdiği promotor bölgesi üzerinde yapılan çalışmalarda, AH ile bağlantılı olabilecek bir değişiklik şimdiye kadar bulunamamıştır.

PS1 ve PS2 genleri *app* metabolizmasında anahtar görev üstlenmelerinden ötürü, ekspresyonlarında olabilecek herhangi bir bozukluğun AH'ye yol açabileceği düşünülmüştür. PS1 geni üzerinde yapılan geniş çaplı popülasyon taramalarında -48C/T, 2154G/A değişimlerinin ve -2823. pozisyonda bulunan 13 bazlık delesyonun EBAH ile bağlantılı olabileceği ileri sürülmüştür.⁽⁸⁷⁾ -48C/-2154G/-2823D haplotipinin AH için bir risk faktörü olduğu bulunmuştur. Hücre kültürü çalışmalarında -48C alelinin promotor aktivitesinde %50 azalmaya neden olduğu gösterilmiştir.⁽⁸⁸⁾ Ayrıca AH için risk faktörü olabilecekleri düşünülen -280C/G ve -2818A/G değişimlerinin de PS1 promotor aktivitesini nöronlara özgü olarak %30 azalttığı gözlemlenmiştir.

Sporadik AH'nin erken evrelerinde PS2





ekspresyonunda azalma olduğu görülmüştür.⁽⁸⁹⁾ Bunun yanısıra, -1495. pozisyonda görülen 1 bp delesyonun GBAH ile bağlantılı olduğu Rus toplumunda gösterilmiştir. Ancak bu bağlantı İtalyan popülasyonunda görülmemiştir.⁽⁹⁰⁾

AH olgularında görülen *ApoE* seviyesindeki artış, APOE ekspresyonunun AH ile alakalı olabileceğini düşündürmüştür.⁽⁹¹⁾ AH popülasyonlarında yapılan genetik incelemelerde APOE geninin promoter bölgesinde bulunan -491A/T, -427T/C ve -219T/G polimorfizmlerinin promoter aktivitesini yükselterek AH'ye yol açabileceği görülmüştür. Ancak bu bağlantılar incelenen her popülasyonda bulunamamıştır.

• Genom Tarama Çalışmaları

AH'ye açıklık getirebilecek yeni bilgiler elde edebilmek için tüm genomu içeren bağlantı ve asosiyasyon analizleri yapıldıysa da, elde edilen bulgular, hastalığın mekanizmasına ışık tutmaktan çok, hastalığın ne kadar kompleks bir yapısı olduğunu bir kez daha ortaya koymuştur. Farklı çalışma grupları tarafından farklı kromozom bölgeleri bağlantılı gösterilmiş ise de, bazı kromozom bölgelerinin 3-4 laboratuvar tarafından tanımlanmış olması, yeni genlerin bulunabilmesi açısından umut vericidir (Tablo 2).⁽⁹²⁻⁹⁹⁾

Kromozom 6p21

Bu bölge dahilinde yer alan üç genin; HLA-A, HFE ve TNFA, AD ile bağlantılı olabilecekleri daha önceden belirtilmiştir. Ancak genom taramalarında elde edilen sinyal adı geçen genlerin bulunduğu bölgeden yaklaşık 10 Mbp öteden gelmektedir. Bu nedenle AH ile ilgili olabilecek genin henüz bulunamamış olduğu düşünülmektedir.⁽¹⁰⁰⁻¹⁰³⁾

Kromozom 10q

10. kromozomda birden fazla grubun bağlantı bulunduğu bölgede TNFRSF6, IDE, KIFF11 ve HHEX genleri yer almaktadır. Bu genler içinde IDE'nin AH için risk faktörü olabileceği daha olasıdır, çünkü IDE'nin monomerik A β moleküllerini parçaladığı gösterilmiştir.⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾ 10. kromozomda tanımlanan diğer bir bölge CDC2, VR22, GSTO1/2 ve PRSS11 genlerini içermektedir. Ancak bu genlerin AH ile bağlantısını gösteren hiçbir çalışma yoktur. Tau ve app'nin fosforilasyonunda rol alan CDC2 ve oksidatif stres mekanizmasında yer alarak enflamatuvar sitokinleri harekete geçirdiği düşünülen GSTO1/2'nin Frontotemporal Demans ve Parkinson hastalığıyla bağlantılı bulunması dikkat çekicidir.^(107,108)

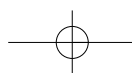
Kromozom 11q23

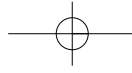
11. kromozomun uzun kolunun ucunda yer alan BACE bir γ -sekretazdır. Bazı çalışmalarda 262. kodondaki G alelinin AH olgularında normallere göre daha fazla bulunduğu, ve APOE4 aleli ile birlikteliği durumunda etkisinin daha fazla olduğu gösterilmiştir, ancak bu bulgu yapılan bütün çalışmalarda tekrarlanamamıştır.⁽¹⁰⁹⁾

Kromozom 12p13 ve 12q13

12. kromozomda bulunan beş genin; α -2 macroglobulin, CIR, OLR1, LRP1, and TFCP2, AH ile bağlantısı çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Ancak literatürde pozitif ilişki gösteren yayın sayısı kadar herhangi bir ilişki bulamayan yayın da vardır. Yine de söz konusu genlerin bazılarının APP ve APOE metabolizmasında doğrudan rol alıyor olmaları, bu genler üzerinde daha çok çalışılması gerektiğini düşündürmektedir.

CR1 geninin AH ile hiçbir bağlantısı





tanımlanmamıştır. Ancak hücre reseptörü olan ve beyinde yoğun sentezlenen OLR1'in 3'UTR bölgesinde bulunan polimorfizmlerin AH ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir.⁽¹¹⁰⁾

α -2 macroglobulin proteini (α -2M) 720kDa büyüklüğünde bir glikoproteindir. İnsan plazmasındaki başlıca proteinaz inhibitörüdür. Senil plaklar üzerinde bulunur ve A_β peptidleri ile kuvvetli bağlar yapar.⁽¹¹¹⁻¹¹³⁾ Serin-proteaz- α -2M kompleksi A_β peptidlerini parçalayabilir. Aktive olan α -2M ortamdan LRP tarafından uzaklaştırılır. LRP, ApoE ve app izoformlarına da bağlanabilir. Bu nedenle α -2M beyinde ApoE ve app metabolizmasını yönetir.⁽¹¹⁴⁾ 24. ekzon üzerinde bulunan Val1000Ile ve 18. ekzonun 5' kırılma bölgesinde görülen 5 bp delesyonun AH olgularında normal popülasyona göre daha sık olduğu bazı çalışmalarda bulunmuştur.

LRP1 de LRP gibi ApoE, α -2M ve app proteinlerine bağlanabilir. Ancak genin 5' bölgesinde bulunan dördü tekrar, 3. exonda bulunan same sense mutasyonu ve Ala216Val değişimi üzerine yapılan çalışmalar birbirleriyle çelişen sonuçlar vermiştir.^(110,115)

TFCP2 geni LRP1 geninin 6 Mbp ilerisinde bulunur. α -2M ve app ekspresyonunda rol alan Fe65 proteini ile etkileşim gösterir.^(116,117) Genin 3' UTR bölgesinde bulunan bir A/G değişiminin AH riskini düşürdüğü gösterilmiştir.

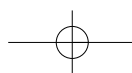
TARTIŞMA

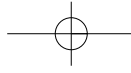
Dr. Alois Alzheimer'in, adını taşıyan hastalığın tipik özelliği olan patolojik değişimleri tarif etmesinin üzerinden yaklaşık bir asır geçti; bu sürede Alzheimer Hastalığı ve diğer nörodejeneratif hastalıklardaki mekanizmayı çözenin kolay olmadığı anlaşıldı.⁽¹¹⁸⁾ Üç

otozomal dominant geçişli ve erken-başlangıçlı gen ve bir geç-başlangıçlı risk faktörünün bulunması ile AH genetiğinde çok önemli ilerlemeler kaydedilmesine rağmen, bir dizi olası AH lokusu halen gizemini korumaktadır.⁽¹¹⁹⁾ 2003-2004 yılları AH fenotipleri ile potansiyel aday genler arasındaki bağlantıları göstermek açısından çok verimli olduysa da, öncekiler gibi, bu çalışmalar da birçok çelişki içermektedir. Bu çelişkilerin bir kısmı hastalığa özgü nedenlere, bir kısmı ise yöntem dayalı nedenlere bağlıdır.

Son yirmi yılda Mendel tipi geçiş gösteren hastalık genlerinin birçoğunda %100 penetrans ile kalıtılan ve hastalık nedeni olan mutasyonlar tanımlandı. Ancak bu genlerdeki mutasyonlar, aslında çok yaygın olan Alzheimer, Parkinson, diyabet, bazı kanser türleri gibi hastalıkların, çok küçük bir yüzdesini açıklayabilmektedir. Bu ve bir dizi başka ortak özellikleri dolayısıyla bu hastalıklar, genetik açıdan *kompleks* ve *heterojen hastalıklar* olarak sınıflandırılırlar. Komplekstirler, çünkü kalıtım şekilleri tek tip ya da basit değildir; heterojendirler, çünkü birçok gendeki mutasyon ve polimorfizmler hem birbirleri, hem de genetik olmayan faktörlerle etkileşirler. Kompleks ve heterojen hastalıkların genlerini belirlemede kullanılan yöntemlerin başarısızlık nedenlerinden biri, yatkınlık geni adı verilen genlerin genotip-fenotip ilişkileri üzerindeki küçük ve mütevazi etkileri olabilir. Ancak hastalık için oluşturdukları risk çok büyüktür, çünkü toplumda görülme oranları yüksektir.⁽¹¹⁹⁾

Alzheimer Hastalığında bir dizi yatkınlık geninin hastalık başlangıcını ve seyrini kesin bir şekilde etkilediği bilinmektedir. Ayrıca, hastalık kalıtımı yaşa-bağımlı bir ikilem gösterir: Nadir ama penetransı yüksek otozomal dominant geçişli mutasyonlar EBAH'ye, buna karşılık daha yaygın ve düşük penetranslı polimorfizmler AH'nin çok





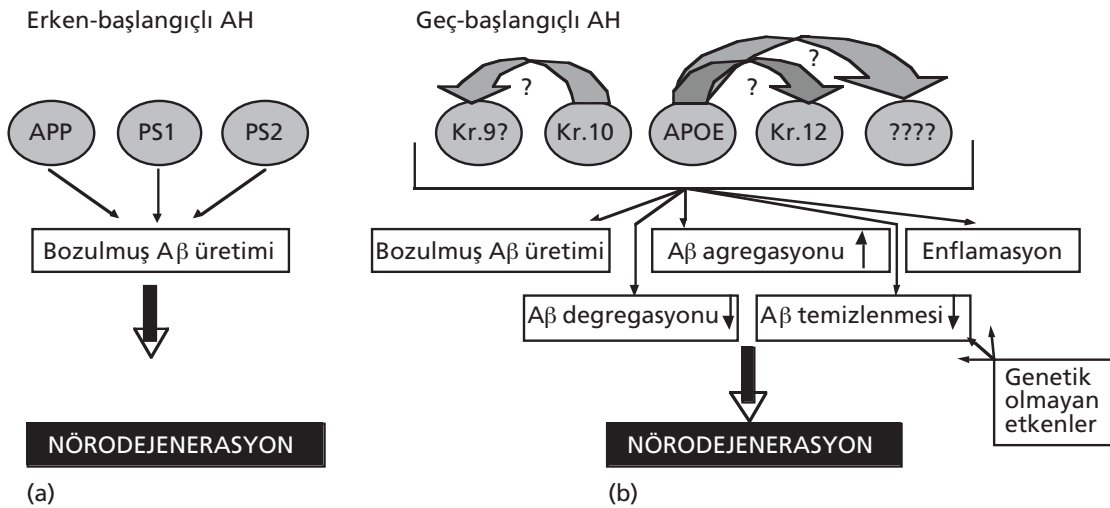
daha sık görülen geç-başlangıçlı şekline neden olur (Resim 7). Yeni AH genlerinin bulunması, olası bir değişikliğin mütevazi etkisi yanında, genel olarak kompleks hastalıkların tanımlanmasını güçleştiren birçok faktör tarafından etkilenir: Lokus ya da alel heterojenitesi, bilinmeyen veya modellenmesi güç olan etkileşim şemaları; toplumlar-arası farklılıklar ve stratifikasyon; yetersiz örnek miktarı ve bilinçsiz örnek toplama stratejileri; yanlış pozitif sonuç olasılığı ve polimorfizmler arasındaki bağlantı eşitsizliği.⁽¹²⁰⁾

Son yıllarda tanımlanan birçok olası AH yatkınlık geninin hiçbiri AH patogeneğinde, ApoE polimorfizmlerinde olduğu gibi, güçlü ve yaygın bir etken olarak gösterilemedi. Asosiyasyon çalışmalarındaki güçlükleri yenmenin bir yolu, daha etkin genotipleme ve analiz yöntemlerini ve yüksek randımanlı (*high throughput*) moleküler teknolojileri devreye sokmaktır. Mikroarray yöntemi ile SNP genotiplemesi,

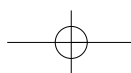
yüzlerce polimorfizmin çok sayıda örnekte eş-zamanlı olarak incelenmesini sağlayarak, sonuçların direkt olarak karşılaştırılabilmesini ve bilimsel açıdan güvenilir genetik risk profillemesi yapılmasını mümkün hale getirecektir. Bireysel genetik risklerin sistematik olarak tanımlanması ile, moleküler ilaç tedavilerinin birleştirilmesi, AH'nin başlangıcının geciktirilmesini, hatta önlenmesini sağlayacaktır; bu da genomik tıbbın önemli başarılarından biri olacaktır.⁽¹²¹⁾

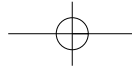
• Alzheimer Hastalığında Farmakogenomik

Bugün AH'de uygulanan ilaç tedavisinin, belleği güçlendirme açısından yetersizliği göz önünde bulundurulduğunda, yanıtlanması gereken önemli bir soru vardır: *ACE inhibitörleri gibi semptomatik bir yaklaşım, yani her hastaya uygulanabilecek tek tip bir ilaç mı, yoksa mekanizmaya-dayalı (genotip-temelli) bireysel bir yaklaşım mı, AH tedavisi için daha uygundur?*⁽¹²²⁾ AH moleküler düzeyde çok heterojen bir hastalık olduğuna göre, her hasta



Resim 7. AH ile ilişkisi bilinen genlerin ve diğer olası kromozom bölgelerinin AH patogeneğine etki mekanizmaları. (a) Erken-başlangıçlı Alzheimer hastalığına neden olan APP, PS1 ve PS2 mutasyonları başka etkenlere gerek olmadan A₄₂/A₄₀ oranında artışa neden olurlar. (b) AH oluşumu için risk faktörü olan genler birbirleriyle etkileşime girerek, nörodejenerasyona yol açan patojenik mekanizmaların bir ya da birkaçında rol oynayabilirler^[120].





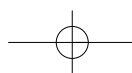
ilaca aynı tepkiyi vermeyecektir; bir AH grubu için efektif olan bir ilaç, başka bir grupta etkin olmayabilir. Ya da belirli bir gen mutasyonu için geliştirilen ilaç, diğer genotipler için uygun olmayacaktır. Teorik olarak, AH'nin bilinen bir genetik nedene bağlanmadığı hastalar, genotip-temelli tedaviden, genetik geçişin kanıtlandığı olgular kadar yararlanamayacaklardır. Bugün AH patogenezi ile ilgili bilgi birikimimiz hastaları AH oluşum mekanizmalarına göre anlamlı alt gruplara sınıflandırabilmek için yetersizdir; ama gen tarama yöntemlerinin her gün daha mükelleşmesi böyle bir alt gruplandırmayı yakında mümkün kılacaktır. 2002 yılında geliştirilen TaqMan PCR yöntemi ile APOE genotipleme çok hızlı ve ekonomik bir şekilde yapılabilir hale gelmiştir.⁽¹²³⁾ Bu tarama yöntemlerinin klinik ortamda kullanılabilmesi hasta kategorizasyonu ve farmakogenomiğin AH kliniğinde uygulanması açısından önemli bir aşama olacaktır. Farmakogenomik verilere dayalı mekanizma-temelli bir yaklaşım AH tedavisini kökten değiştirecektir: Bir bireyin genotipi sadece AH başlangıç yaşını ve hastalık patolojisini etkilemekle kalmayıp, tedaviye cevabı da etkilemektedir. Bireysel ve özgün tedavi yöntemleri hedeflendiğinde, farmakogenomik kesinlikle sağaltım randımanını arttıracak ve ilaç yan etkilerini azaltacaktır. Bu da, özellikle AH gibi, ilaç yanıtının uzun-soluklu olduğu progresif ve dönüşü olmayarak ilerleyen bir hastalıkta yanlış ilaçla vakit kaybetmeme açısından çok önemlidir.⁽¹²²⁾

Aβ'nin AH patogenezinde merkezi bir rol oynadığına dair birçok kanıt varsa da, nörodejenerasyonda bir dizi karmaşık ve ikincil olayın da katkısı vardır, dolayısıyla hücre kültürü ve hayvan modeli deneyleri ile ana sebebi tanımlamak güç ve yetersizdir. Sonuç olarak insandaki hastalık sürecinin uygun ilaç

tedavileri ile durdurulması gerekir. Bu doğrultuda ilk aşamada, terapötik ajanların hedefi olarak Aβ yapımının engellenmesi, agregasyonun ve nörodejenerasyonun önlenmesi görülmektedir.⁽¹²⁴⁾

• Alzheimer Hastalığında Prediktif Genetik Tanı

AH'nin genetiğine yönelik sürekli artan bilgimiz hastalığın çok kompleks olduğunu ortaya koymuştur. Bu kompleksite klinik pratiğe nasıl yansıyor? DNA analizi ile prediktif genetik tanı son derece hassas bir süreçtir; zira bireyin ve yakınlarının özel hayatını doğrudan etkiler. Hastalığa engel olacak bir tedavi, ya da tam sağaltım mümkünse ve test sonuçlarının klinik anlamları yüksekse, prediktif analiz önerilmeli, hatta mecbur tutulmalıdır. Ancak, AH için henüz böyle bir olanak olmadığı ve APP, PS1, PS2 mutasyonlarının neden olduğu EBAH dışında genetik tanının doğruluk oranı düşük olduğu için, asemptomatik bireylere genetik tanı önerilmemektedir. ApoE genotipleme bugün rutin olarak kullanılan tanı yöntemlerini tamamlama amacıyla uygulansa bile, kesinlikle herhangi bir klinik tanının yerine konmamalı ve tek gösterge olarak kullanılmamalıdır. Tablo 2'deki risk faktörlerinden hiçbiri klinik uygulamada kullanılmaya elverişli olacak kadar ayrıntılı bir şekilde tanımlanmamıştır. Erken-başlangıçlı otozomal dominant geçişli AH için, Huntington Hastalığında uygulanan kurallar geçerlidir: Asemptomatik bireylerde genetik test hizmeti, yoğun bir test-öncesi ve test-sonrası genetik danışma birlikteliğinde ve uluslararası kurallar çerçevesinde, test sonucunun her durumda gizli tutulmasını sağlayarak verilmelidir. Gelecekte AH'yi erken önlemeye yönelik gelişmiş tedavi yöntemleri uygulamaya girince, riskli bireylerin genetik yatkınlık faktörleri için teste tabi tutulma eşikleri büyük olasılıkla düşecektir. Test prosedürünün her



aşamasında, özel eğitilmiş sağlık personelinin varlığının dışında, bireylerin tüm yasal haklarını ve gizliliği koruyacak önlemlerin de alınması çok önemlidir.⁽¹²⁰⁾

TEŞEKKÜR

Boğaziçi Üniversitesi Araştırma Fonuna ve Suna ve İnan Kırac Vakfı'na araştırmamıza sağladıkları katkılar için teşekkür ederiz.

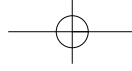
KAYNAKLAR

- Cummings JL. Dementia: the failing brain. *Lancet* 1997;345:1481-1489.
- Corey-Bloom J, Thal U, Galasko D. Diagnosis and evaluation of dementia. *Neurology*, 1995;45:211-218.
- Mori H. Untangling Alzheimer's disease from fibrous lesions of neurofibrillary tangles and senile plaques. *Neuropathology*, 2000;Suppl:S55-60.
- Chui HC, Tierney M, Zarow C, Lewis A, Sobel E, Perlmutter LS. Neuropathologic diagnosis of Alzheimer disease: interrater reliability in the assessment of senile plaques and neurofibrillary tangles. *Alzheimer Disease and Associated Disorders* 1993;7:48-54.
- Bacskaı BJ, Hyman BT. Alzheimer's disease: what multiphoton microscopy teaches us. *Neuroscientist*. 2002;8:386-90.
- Mirra SS, Heyman A, McKeel D. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 1991;41:479-486.
- Breteler MMB, Claus JJ, Van Duijn, CM. Epidemiology of Alzheimer's Disease *Epidemiology Review* 1992;14:59-82.
- Hofman A, Ott A, Breteler MMB. Atherosclerosis, apolipoprotein E and the prevalence of dementia and Alzheimer's disease in a population-based study: the Rotterdam study. *Lancet* 1997;349:151-154.
- Hebert LE, Scherr PA, Bienias JL, Bennett DA, Evans DA. Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 census. *Archives of Neurology* 2003;60:1119-22.
- de la Torre JC, Fortin T. A chronic physiological rat model of dementia. *Behavioural Brain Research* 1994;63:35-40.
- de la Torre JC. Hemodynamic consequences of deformed microvessels in the brain in Alzheimer's disease. *Annals of New York Academy of Sciences* 1997;826:75-91.
- de la Torre JC. Cerebrovascular pathology in Alzheimer's disease compared to normal aging. *Gerontology* 1997;43:26-43.
- Larson EB, Shadlen MF, Wang L, McCormick WC, Bowen JD, Teri L, Kukull WA. Survival after initial diagnosis of Alzheimer disease. *Annals of Internal Medicine* 2004;140:501-9.
- Wolfson C, Wolfson DB, Asgharian M, M'lan CE, Ostbye T, Rockwood K, Hogan DB; Clinical Progression of Dementia Study Group. A reevaluation of the duration of survival after the onset of dementia. *New England Journal of Medicine* 2001;344:1111-6.
- Walsh JS, Welch HG, Larson EB. Survival of outpatients with Alzheimer-type dementia. *Annals of Internal Medicine* 1990;113:429-34.
- Nielsen H, Lolk A, Pedersen I, Autzen M, Seneff C, Kragh-Sorensen P. The accuracy of early diagnosis and predictors of death in Alzheimer's disease and vascular dementia—a follow-up study. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 1991;84:277-82.
- Stern Y, Albert M, Brandt J, Jacobs DM, Tang MX, Marder K, Bell K, Sano M, Devanand DP, Bylsma F, et al. *Neurology* 1994;44:2300-7.
- Heyman A, Peterson B, Fillenbaum G, Pieper C. The consortium to establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD). Part XIV: Demographic and clinical predictors of survival in patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 1996;46:656-60.
- Ewbank DC. Deaths attributable to Alzheimer's disease in the United States. *American Journal of Public Health* 1999;89:90-92.
- Sleegers K, Van Duijn CM. Alzheimer's Disease: Genes, Pathogenesis and Risk Prediction. *Community Genetics* 2001;4:197-203.
- Rice DP, Fox PJ, Max W, Segura E. The economic burden of Alzheimer's disease care. *Health Affairs (Milwood)* 1993;12:164-176.
- Ernst RL, Hay JW. The US economic and social cost of Alzheimer's disease revisited. *American Journal of Public Health* 1994;84:1261-1264.
- Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical And Biophysical Research Communications* 1984;120:885-890.
- Robakis NK, Wisniewski HM, Jenkins EC. Chromosome 21q21 sublocalisation of gene encoding beta-amyloid peptide in cerebral vessels and neuritic (senile) plaques of people with Alzheimer disease and Down syndrome. *Lancet* 1987;1:384-385.
- Haass C, Schlossmacher MG, Hung AY. Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature* 1992;359:322-325.
- Seubert P, Vigo-Pelfrey C, Esch F. Isolation and quantitation of soluble Alzheimer's beta-peptide from biological fluids. *Nature* 1992;359:325-327.
- Shoji M, Golde TE, Chiso I. Production of the Alzheimer amyloid beta protein by normal proteolytic processing. *Science* 1992;258:126-129.
- Yankner BA, Duffy LK, Kirschner DA. Neurotrophic and neurotoxic effects of amyloid beta protein: reversal by tachykinin neuropeptides. *Science* 1990;250:279-282.
- Kowall NW, McKee AC, Yankner BA, Beal MF. In vivo neurotoxicity of beta-amyloid (beta (1-40)) and the beta (25-35) fragment. *Neurobiology of Aging* 1992;13:537-542.
- Goedert M. Tau protein and the neurofibrillary pathology of Alzheimer's Disease. *Annals of New York Academy of Sciences*;777:121-131.
- Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung Y, Quinlan M, Wisniewski H, Binder L. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 1986;83:4913-4917.
- Morishima-Kawashima M, Hasegawa M, Takio K, Suzuki M, Yoshida H, Titani K, Ihara Y. Proline-directed and non-proline-directed phosphorylation of PHF-tau. *Journal of Biological Chemistry* 1995;270:823-829.
- Neve RL, Harrsi R, Kosik KS, Kurnit DM, Donlon TA. Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. *Brain Research* 1986;1:271-280.

34. Binder LI, Frankfurter A, Rebhun LI. Differential localization of MAP-2 and tau in mammalian neurons in situ. *Annals of New York Academy of Sciences* 1986;466: 145-166.
35. Andreadis A, Brown WM, Kosik KS. Structure and novel exons of the human τ gene. *Biochemistry* 1992;31:10626-10633.
36. Cleveland DW, Hwo S, Kirschner MW. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *Journal of Molecular Biology* 1997;116:207-225.
37. Drubin DG, Kobayashi S, Kirschner MW. Association of tau protein with microtubules in living cells. *Annals of New York Academy of Sciences* 1986;466:257-268.
38. Drubin DG, Kobayashi S, Kellogg D, Kirschner MW. Regulation of microtubule protein levels during cellular morphogenesis in nerve growth factor-treated PC12 cells. *Journal of Cell Biology* 1988;106:1583-1591.
39. Oblinger M, Argasinski A, Wong J, Kosik KS. Tau gene expression in rat sensory neurons during development and regeneration. *Journal of Neuroscience* 1991;11:2453-2459.
40. Cruts M, Rademakers R. AD and FTD Mutation database, 2004, <http://www.molgen.ua.ac.be/ADMutations/>
41. Duff K, Eckman C, Zehr C, Yu X, Prada C-M, Perez-tur J, Hutton M, Buee L, Harigaya Y, Yager D, Morgan D, Gordon MN, Holcomb L, Refolo L, Zenk B, Hardy J, Younkin S. Increased amyloid-beta-42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. *Nature* 1996;383:710-713.
42. Lewis J, Dickson DW, Lin W-L, Chisholm L, Corral A, Jones G, Yen S-H, Sahara N, Skipper L, Yager D, Eckman C, Hardy J, Hutton M, McGowan E. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science* 2001;293:1487-1491.
43. Ertekin-Taner N, Graff-Radford N, Younkin LH, Eckman C, Baker M, Adamson J, Ronald J, Blangero J, Hutton M, Younkin SG. Linkage of plasma A β 42 to a quantitative locus on chromosome 10 in late-onset Alzheimer's disease pedigrees. *Science* 2000;290:2303-4.
44. Ferreira A, Lu Q, Orecchio L, Kosik KS. Selective phosphorylation of adult tau isoforms in mature hippocampal neurons exposed to fibrillar A β . *Molecular and Cellular Neurosciences* 1997;9:220-34.
45. Hoshi M, Sato M, Matsumoto S, Noguchi A, Yasutake K, Yoshida N, Sato, K. Spherical aggregates of β -amyloid (amylopheroïd) show high neurotoxicity and activate tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3 β . *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 2003;100:6370-5.
46. Hutton M, Busfield F, Wragg M, Crook R, Perez-Tur J, Clark RF, Prihar C, Talbot C, Phillips H, Wright K, Baker M, Lendon C, Duff K, Martinez A, Houlden H, Nichols A, Karran E, Roberts C, Venter JC, Adams MD, Cline RI, Phillips CA, Fuldner RA, Hardy J, Goate A. Complete analysis of the presenilin 1 gene in families with early onset Alzheimer's disease. *Neuroreport* 1996;7:801-805.
47. Sherrington R, Froelich S, Sotbi S, Campion D, Chi H, Rogaeve BA, Levesque G, Rogaeve EI, Lin C, Liang Y, Ikeda M, Mar L, Brice A, Agid Y, Percy MB, Clerget-Darpoux F, Piacentini S, Marcon G, Nacmias B, Amaducci L, Frebourg I, Lannfelt L, Rommens JM, St George-Hyslop PH. Alzheimer's disease associated with mutations in presenilin 2 is rare and variably penetrant. *Human Molecular Genetics* 1996;5:985-988.
48. Salbaum JM, Lemaire HG, Weidemann A, Masters CL, Beyreuther K. The promoter of Alzheimer's disease amyloid A4 precursor gene. *EMBO Journal* 1988;7:2807-2813.
49. Robakis NK, Ramakrishna N, Wolfe G, Wisniewski HM. Molecular cloning and characterization of a cDNA encoding the cerebrovascular and neuritic plaque amyloid peptides. *Proceeding of National Academy of Sciences USA* 1987;84:4190-4194.
50. Tanzi RE, McClatchey M, Lamperti E D, Villa-Komaroff L, Gusella JF, Neve RL. Protease inhibitor domain encoded by an amyloid protein precursor mRNA associated with Alzheimer's disease. *Nature* 1988;331:528-530.
51. Brou C, Logeat F, Gupta N, Bessia C, LeBail O, Doedens JR, Cumano A, Roux P, Black RA, Israel A. A novel proteolytic cleavage involved in Notch signaling: the role of the disintegrin-metalloprotease TACE. *Molecular Cell* 2000;5:207-216.
52. Asai M, Hattori C, Szabo B, Sasagawa N, Maruyama K, Tanuma S, Ishiura S. Putative function of ADAM9, ADAM10, and ADAM17 as APP alpha-secretase. *Biochemical Biophysical Research Communication* 2003;301:231-235.
53. Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, Kahn S, Mendiaz EA, Dents P, Taplow DB, Ross S, Amaranta P, Loeloff R, Luo Y, Fisher S, et al. Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 1999;286:735-741.
54. Kang J, Müller-Hill B. Differential splicing of Alzheimer's disease amyloid A4 precursor RNA in rat tissues: PreA4695 mRNA is predominantly produced in rat and human brain. *Biochemical And Biophysical Research Communications* 1990;166:1192-1200.
55. Podlisny MB, Tolan D, Selkoe DJ. Homology of the amyloid beta protein precursor in monkey and human supports a primate model for beta amyloidosis in Alzheimer's disease. *American Journal of Pathology* 1991;138:1423-1435.
56. Villa A, Latasa MJ, Pascual A. Nerve growth factor modulates the expression and secretion of beta-amyloid precursor protein through different mechanisms in PC12 cells. *Journal of Neurochemistry* 2001;77:1077-84.
57. Mattson MP, Cheng B, Cuiwell AB, Esch FS, Lieberburg I, Rydel RE. Evidence for excitoprotective and intraneuronal calcium-regulating roles for secreted forms of the β -amyloid precursor protein. *Neuron* 1993;10:243-254.
58. Levy E, Carman MD, Fernandez-Madrid IJ. Mutation of the Alzheimer's disease amyloid gene in hereditary cerebral hemorrhage, Dutch type. *Science* 1990;248:1124-1126.
59. Bakker E, Van Broeckhoven C, Haan J. DNA diagnosis for hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis (Dutch type). *American Journal of Human Genetics* 1991;49:518-521.
60. Suzuki N, Cheung TT, Cai XD, Odaka A, Otvos L Jr, Eckman C, Golde TE, Younkin S. An increased percentage of long amyloid (protein secreted by familial amyloid (protein precursor (13 APP717) mutants. *Science* 1994;264:1336-1340.
61. Cruts M, Backhovens H, Wang S-Y, Van Gassen G, Theuns J, De Jooghe C, Wehnert A, De Voecht J, De Winter G, Cras P, Broyland M, Datson N, Weissenbach J, den Dunnen J, Martin J-J, Hendriks L, Van Broeckhoven C. Molecular genetic analysis of familial early-onset Alzheimer's disease linked to chromosome 14q24.3. *Human Molecular Genetics* 1995;4:2363-2372.
62. Schellenberg GD, Bird TD, Wijsman EM, Orr HT, Anderson L, Nemens E, White JA, Bonnycastle L, Weber JL, Alonso ME. Genetic linkage evidence for a familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Science* 1992;258:668-671.
63. St George-Hyslop P, Haines J, Rogaeve E, Mortilla M, Vaula G, Pericak-Vance M, Foncin JF, Montesi M, Bruni A, Sorbi S. Genetic evidence for a novel familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Nature Genetics* 1992;2:330-334.
64. Van Broeckhoven C, Backhovens H, Cruts M, De Winter G, Bruyland M, Cras P, Martin JJ. Mapping of a gene predisposing to early-onset Alzheimer's disease to chromosome 14q24.3. *Nature*

- Genetics 1992;2:335-339.
65. Mullan M, Houlden H, Windelspecht M, Fidani L, Lombardi C, Diaz P, Rossor M, Crook R, Hardy J, Duff K. A locus for familial early-onset Alzheimer's disease on the long arm of chromosome 14, proximal to the alpha 1-antichymotrypsin gene. *Nature Genetics* 1992;2:340-342.
 66. Doan A, Thinakaran G, Borchelt DR, Slunt HH, Ratovirskyl Podlisny M, Selkoe DJ, Seeger M, Gandy SE, Price DL, Sisodia SS. Protein topology of presenilin 1. *Neuron* 1996;17:1023-1030.
 67. Haass C. Presenilins: genes for life and death. *Neuron* 1997;18:687-690.
 68. Levy-Lahad E, Poorkaj P, Wang K, Hui Fu N, Oshima J, Mulligan J, Schellenberg CD. Genomic structure and expression of STM2, the chromosome 1 familial Alzheimer's disease gene. *Genomics* 1996;34:198-204.
 69. Prihar G, Fuldner BA, Pcrez-Tur J, Lincoln S, Duff K, Crook R, Hardy J, Phillips CA, Venter C, Talbot C, Clark RB, Goate A, Li J, Potter H, Karran E, Roberts GW, Hutton M, Adams MD. Structure and alternative splicing of the presenilin-2 gene. *Neuroreport* 1996;7:1680-1684.
 70. Kim TW, Pettingell WH, Hallmark O, Moir RD, Wasco W, Tanzi RE. Endoproteolytic cleavage and proteasomal degradation of presenilin 2 in transfected cells. *Journal of Biological Chemistry* 1997;272:11006-11010.
 71. Walter J, Capell A, Grunberg J, Pesold B, Schindzielorz A, Prior R, Podlisny MB, Fraser P, Hyslop PS, Selkoe DJ, Haass C. The Alzheimer's disease-associated presenilins are differentially phosphorylated proteins located predominantly within the endoplasmic reticulum. *Molecular Medicine* 1996;2:673-691.
 72. Kovacs DM, Fausett HJ, Page KJ, Kim I, Moir RD, Merriam DE, Hollister RD, Hallmark CC, Mancini R, Felsenstein KM, Haan BI, Tanzi RE, Wasco W. "Alzheimer-associated presenilins 1 and 2: Neuronal expression in brain and localization to intracellular membranes in mammalian cells. *Nature Medicine* 1996;2:224-229.
 73. Dermaut B, Cruts M, Sliemers AJ, Van Gestel S, De Jonghe C, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Breteler MM, Hofman A, van Duijn CM, Van Broeckhoven C. The Glu318Gly substitution in presenilin 1 is not causally related to Alzheimer disease. *American Journal of Human Genetics* 1999;64:290-292.
 74. Colacicco AM, Panza F, Basile AM, Solfrizzi V, Capurso C, D'Introno A, Torres F, Capurso S, Cozza S, Flora R, Capurso A. F175S change and a novel polymorphism in presenilin-1 gene in late-onset familial Alzheimer's disease. *European Neurology* 2002;47:209-213.
 75. Wragg M, Hutton M, Talbot C, Busfield F, Han SW, Lendon C, Clark RB, Morris JC, Edwards D, Goate A, Pfeiffer F, Crook R, Prihar G, Phillips H, Baker M, Hardy J, Rossor M, Houlden H, Karran B, Roberts G, Craddock N. Genetic association between intronic polymorphism in presenilin-1 gene and late-onset Alzheimer's disease. *Lancet* 1996;347:509-512.
 76. Cruts M, Hendriks L, Van Broeckhoven C. The presenilin genes: A new gene family involved in Alzheimer disease pathology. *Human Molecular Genetics* 1996;5:1449-1455.
 77. Crook R, Verkoniemi A, Perez-Tur J, Mehta N, Baker M, Houlden H, Farrer M, Hutton M, Lincoln S, Hardy J, Gwinn K, Somer M, Paetau A, Kalimo H, Ylikoski R, Poyhonen M, Kucera S, Haltia M. A variant of Alzheimer's disease with spastic paraparesis and unusual plaques due to deletion of exon 9 of presenilin 1. *Nature Medicine* 1998;4:452-455.
 78. Hardy J, Selkoe DJ. The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science* 2002;297:353-356.
 79. Lusis AJ, Heinzmann C, Sparkes RS, Scott J, Knott TJ, Geller R, Sparkes MC, Mohandas T. Regional mapping of human chromosome 19: organization of genes for plasma lipid transport (APOC1, -C2, and -E and LDLR) and the genes C3, PEPD, and GPI. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 1986;83:3929-3933.
 80. Paik YK, Chang DJ, Reardon CA, Davies GE, Mahley RW, Taylor JM. "Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 1989;82:3445-3449.
 81. Das HK, McPherson J, Bruns GAP, Karathanasis SK, Breslow JL. Isolation, characterization, and mapping to chromosome 19 of the human apolipoprotein E gene. *Journal of Biological Chemistry* 1985;260:6240-6247.
 82. LaDu MJ, Falduto MT, Manelli AM, Reardon CA, Getz GS, Frail DE. Isoform-specific binding of apolipoprotein B to (-amyloid. *Journal of Biological Chemistry* 1994;269:3403-23406.
 83. LaDu MJ, Pederson TM, Frail DB, Reardon CA, Getz GS, Falduto MT. Purification of apolipoprotein B attenuates isoform-specific binding to (-amyloid. *Journal of Biological Chemistry* 1995;270:9030-9042.
 84. Wisniewski T, Frangione B. Apolipoprotein E: a pathological chaperone protein in patients with cerebral and systemic amyloid. *Neuroscience Letters* 1992;135:235-238.
 85. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Englund J, Salvesen G S, Roses AD. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 1993;90:1977-1981.
 86. Yang DS, Smith JD, Zhou Z, Gandy SE, Martins RN. Characterization of the binding of amyloid-beta peptide to cell culture-derived native apolipoprotein (2, (3, and (4 isoforms and to isoforms from human plasma. *Journal of Neurochemistry* 1997;68:721-725.
 87. van Duijn CM, Cruts M, Theuns J, Van Gassen G, Backhovens H, Van den Broeck M, Wehnert A, Semeels S, Hofman A, Van Broeckhoven C. Genetic association of the presenilin-1 regulatory region with early-onset Alzheimer's disease in a population based sample. *European Journal of Human Genetics* 1999;7:801-806.
 88. Theuns J, Del-Favero J, Dermaut B, Van Duijn CM, Backhovens H, Van den Broeck MV, Serneels S, Corsmit E, Van Broeckhoven CV, Cruts M. Genetic variability in the regulatory region of presenilin 1 associated with risk for Alzheimer's disease and variable expression. *Human Molecular Genetics* 2000;9:325-331.
 89. McMillan PJ, Leverenz JB, Dorsa DM. Specific downregulation of presenilin 2 gene expression is prominent during early stages of sporadic late-onset Alzheimer's disease. *Brain Research. Molecular Brain Research* 2000;78:138-45.
 90. Di Natale M, Perri M, Kawarai T, Maletta R, Tomaino C, Sato C, Nacmias B, Shibata N, Sorbi S, H. St George-Hyslop P, Bruni AC, Rogaeva E. Absence of association between Alzheimer disease and the regulatory region polymorphism of the PS2 gene in an Italian population. *Neuroscience Letters* 2003;343:210-212.
 91. Lambert JC, Perez-Tur J, Dupire MJ, Galasko D, Mann D, Amouyel P, Hardy J, Delacourte A, Chartier-Harlin MC. Distortion of allelic expression of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Human Molecular Genetics* 1997;6:2151-2154.
 92. Pericak-Vance MA, Bass MP, Yamaoka LH, Gaskell PC, Scott WK, Terwedow HA, Menold MM, Conneally PM, Small GW, Vance JM, Saunders AM, Roses AD, Haines JL. Complete genomic screen in late-onset familial Alzheimer disease. Evidence for a new locus on chromosome 12. *JAMA* 1997;278:1237-1241.
 93. Pericak-Vance MA, Grubber J, Bailey LR, Hedges D, West S,

- Santoro L, Kemmerer B, Hall JL, Saunders AM, Roses AD, Small GW, Scott WK, Conneally PM, Vance JM, Haines JL. Identification of novel genes in late-onset Alzheimer's disease. *Experimental Gerontology* 2000;35:1343-52.
94. Kehoe P, Wavrant-De Vrieze F, Crook R, Wu WS, Holmans P, Fenton I, Spurlock G, Norton N, Williams H, Williams N, Lovestone S, Perez-Tur J, Hutton M, Chartier-Harlin MC, Shears S, Roehl K, Booth J, Van Voorst W, Ramic D, Williams J, Goate A, Hardy J, Owen MJ. et al. A full genome scan for late onset Alzheimer's disease. *Human Molecular Genetics* 1999;8:237-245.
 95. Myers A, Wavrant De-Vrieze F, Holmans P, Hamshere M, Crook R, Compton D, Marshall H, Meyer D, Shears S, Booth J, Ramic D, Knowles H, Morris JC, Williams N, Norton N, Abraham R, Kehoe P, Williams H, Rudrasingham V, Rice F, Giles P, Tunstall N, Jones L, Lovestone S, Williams J, Owen MJ, Hardy J, Goate A. Full genome screen for Alzheimer's disease: stage II analysis. *American Journal of Medical Genetics* 2002;71:154-61.
 96. Li YJ, Scott WK, Hedges DJ, Zhang F, Gaskell PC, Nance MA, Watts RL, Hubble JP, Koller WC, Pahwa R, Stern MB, Hiner BC, Jankovic J, Allen FA Jr, Goetz CG, Mastaglia F, Stajich JM, Gibson RA, Middleton LT, Saunders AM, Scott BL, Small GW, Nicodemus KK, Reed AD, Schmechel DE, Welsh-Bohmer KA, Conneally PM, Roses AD, Gilbert JR, Vance JM, Haines JL, Pericak-Vance MA. Age at onset in two common neurodegenerative diseases is genetically controlled. *American Journal of Human Genetics* 2002;70:985-93.
 97. Blacker D, Bertram L, Saunders AJ, Moscarillo TJ, Albert MS, Wiener H, Perry RT, Collins JS, Harrell LE, Go RC, Mahoney A, Beaty T, Fallin MD, Avramopoulos D, Chase GA, Folstein MF, McInnis MG, Bassett SS, Doheny KJ, Pugh EW, Tanzi RE; NIMH Genetics Initiative Alzheimer's Disease Study Group. Results of a high-resolution genome screen of 437 Alzheimer's disease families. *Human Molecular Genetics* 2003;12:23-32.
 98. Zubenko GS, Hughes HB, Stiffler JS, Hurtt MR, Kaplan BB. A genome survey for novel Alzheimer disease risk loci: results at 10-cM resolution. *Genomics* 1998;50:121-8.
 99. Hiltunen M, Mannermaa A, Thompson D, Easton D, Pirskanen M, Helisalmi S, Koivisto AM, Lehtovirta M, Ryyanen M, Soininen H. Genome-wide linkage disequilibrium mapping of late-onset Alzheimer's disease in Finland. *Neurology* 2001;57:1663-1668.
 100. Renovize EB. An HLA and family study of Alzheimer's disease. *Psychological Medicine* 1984;14:515-520.
 101. Collins JS, Perry RT, Watson B Jr, Harrell LE, Acton RT, Blacker D, Albert MS, Tanzi RE, Bassett SS, McInnis MG, Campbell RD, Go RC. Association of a haplotype for tumor necrosis factor in siblings with late-onset Alzheimer disease: the NIMH Alzheimer Disease Genetics Initiative. *American Journal of Medical Genetics* 2000;96:823-830.
 102. Culpan D, MacGowan SH, Ford JM, Nicoll JA, Griffin WS, Dewar D, Cairns NJ, Hughes A, Kehoe PG, Wilcock GK. Tumour necrosis factor-alpha gene polymorphisms and Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters* 2003;350:61-65.
 103. Pulliam JF, Jennings CD, Kryscio RJ, Davis DG, Wilson D, Montine TJ, Schmitt FA, Markesbery WR. Association of HFE mutations with neurodegeneration and oxidative stress in Alzheimer's disease and correlation with APOE. *American Journal of Medical Genetics* 2003;119B:48-53.
 104. Edland SD, Wavrant-De Vrieze F, Compton D, Smith GE, Ivnik R, Boeve BF, Tangalos EG, Petersen RC. Insulin degrading enzyme (IDE) genetic variants and risk of Alzheimer's disease: evidence of effect modification by apolipoprotein E (APOE). *Neuroscience Letters* 2003;345:21-24.
 105. Feuk L, Prince JA, Blennow K, Brookes AJ. Further evidence for role of a promoter variant in the TNFRSF6 gene in Alzheimer disease. *Human Mutation* 2003;21:53-60.
 106. Prince JA, Feuk L, Gu HF, Johansson B, Gatz M, Blennow K, Brookes AJ. Genetic variation in a haplotype block spanning IDE influences Alzheimer disease. *Human Mutation* 2003;22:363-371.
 107. Li YJ, Oliveira SA, Xu P, Martin ER, Stenger JE, Scherzer CR, Hauser MA, Scott WK, Small GW, Nance MA, Watts RL, Hubble JP, Koller WC, Pahwa R, Stern MB, Hiner BC, Jankovic J, Goetz CG, Mastaglia F, Middleton LT, Roses AD, Saunders AM, Schmechel DE, Gullans SR, Haines JL, Gilbert JR, Vance JM, Pericak-Vance MA, Hulette C, Welsh-Bohmer KA. Gluthione S-transferase omega-1 modifies age-at-onset of Alzheimer disease and Parkinson disease. *Human Molecular Genetics* 2003;12:3259-3267.
 108. Johansson A, Hampel H, Faltraco F, Buerger K, Minthon L, Bogdanovic N, Sjogren M, Zetterberg H, Forsell L, Lilius L, Wahlund LO, Rymo L, Prince JA, Blennow K. Increased frequency of a new polymorphism in the cell division cycle 2 (cdc2) gene in patients with Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Neuroscience Letters* 2003;340:69-73.
 109. Cruts M, Dermaut B, Rademakers R, Roks G, Van den Broeck M, Munteanu G, van Duijn CM, Van Broeckhoven C. Amyloid beta secretase gene (BACE) is neither mutated in nor associated with earlyonset Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters* 2001;313:105-107.
 110. Luedeking-Zimmer E, DeKosky ST, Chen Q, Barnada MM, Kamboh MI. Investigation of oxidized LDL-receptor1(OLR1) as the candidate gene for Alzheimer's disease on chromosome 12. *Human Genetics* 2002;111:443-451.
 111. Bauer J, Strauss S, Schreiter-Gasser U, Ganter U, Schlegel P, Witt I, Yolck B, Berger M. Interleukin-6 and alpha 2-macroglobulin indicate an acute-phase state in Alzheimer's disease conics. *FEBS Letters* 1991;285:111-114.
 112. Van Gool, D, De Stmoper, B, Van Leuven E, Triau E, Dom R. (2-Macroglobulin expression in neuritic-type plaques in patients with Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 1993;14:233-237.
 113. DuY, Ni B, Glinn M, Dodel RC, Bales KR, Zhang Z, Hyslop PA, Paul SM. Alpha 2-macroglobulin as a beta-amyloid peptide-binding plasma protein. *Journal of Neurochemistry* 1997;69:299-305.
 114. Wang X, Luedeking EK, Minster RL, Ganguli M, DeKosky ST, Kamboh MI. Lack of association between the _2-macroglobulin polyorphisms and Alzheimer's disease. *Human Genetics* 2001;108:105-108.
 115. Luedeking-Zimmer K, DeKosky ST, Nebes R, Kamboh MI. Association of the 3'UTR transcription factor LBP-1c/CP2/LSF polymorphism with late-onset Alzheimer's disease. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 2003;117B:114-117.
 116. Bing Z, Reddy SA, Ren Y, Qin J, Liao WSL. Purification and charecterization of the serum amyloid A3 enhancer factor. *Journal of Biological Chemistry* 1999;274:24649-24656.
 117. Zambrano N, Minopoli G, de Candia P, Russo, Tommaso. The Fe65 adaptor protein interacts through its PID1 domain with the transcription factor CP2/LSF/LBP1. *Journal of Biological Chemistry* 1998;273:20128-20133.
 118. Koo EH, Kopan R. Potential role of presenilin-regulated signaling pathways in sporadic neurodegeneration. *Neurodegeneration (Supplement to Nature)* 2004; S26-S33.
 119. Bertram L, Tanzi RE. Alzheimer's disease: one disorder, too many genes? *Human Molecular Genetics* 2004; 13: R135-R141.



-
120. Bertram L, Tanzi RE. The current status of Alzheimer's disease genetics: what do we tell the patients? 2004; 50: 385-396.
 121. Rocchi A, Pellegrini S, Siciliano G, Murri L. Causative and susceptibility genes for Alzheimer's disease: a review. Brain Research Bulletin 2003; 61: 1-24.
 122. Crensil V. The Pharmacogenomics of AD. Ageing Research Reviews 2004;3:153-169.
 123. Koch W, Ehrenhaft A, Griesser K, Pfeufer A, Muller J, Schomig A, Kastrati A. TaqMan systems for genotyping of disease-related polymorphisms present in the gene encoding apolipoprotein E. Clin Chem Lab Med. 2002;40:1123-31.
 124. Verdile G, Fuller S, Atwood CS, Laws SM, Gandy SE, Martins RN. The role of beta amyloid in Alzheimer's disease: still a cause of everything or the only one who got caught? Pharmacological Research 2004;50:397-409.

