

# Alzheimer Hastalığının Biyokimyası

Prof. Dr. Fatma Z. Kutay  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

İletişim:  
Fatma Z. KUTAY  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı  
İZMİR

## **ALZHEİMER HASTALIĞININ BİYOKİMYASI**

Çok sık görülen bir nörodejeneratif hastalık olan Alzheimer hastalığı (AH) ilk kez 1907 yılında Bavyalı psikiyatr Alois Alzheimer tarafından tanımlanmıştır. AH'li hastaların beyinlerinde özellikle orta-büyük piramidal hücrelerde olmak üzere nöronlarda kayıp, intranöronal nörofibriler yumakların (NFY) varlığı ve ekstraselüler amiloid filamentlerinin (senil plaklar) depolanması gözlemlenir (1).

Multiple nörotransmitter (NT) sistemler selüler patoloji ile korele olarak etkilenirler: AH'de ilk gözlenen NT değişikliği kolinerjik sistemdedir. Kolin asetil transferaz ve asetil kolin esterazda farkedilir bir azalma söz konusudur (2). Bazal önbeyin kolinerjik nöronların ve onların kortikal projeksiyonunun kaybı ve disfonksiyonu vardır. AH'lilerin beyinlerinde monoaminerjik ve nöropeptid eksiklikleri ile kolinerjik fonksiyon kayıpları gibi multiple nörotransmitter değişiklikleri 1970'lerde ortaya konmuştur. Baskin ve ark'nın yaptığı bir çalışmada AH beyin biyopsi örneklerinde kortikal kolin asetil transferaz aktivitesinin azaldığını saptamışlardır. Nörofizyolojik işlevlerin performansı ile bu enzimin aktivitesi arasında negatif bağıntı bulunması kolinerjik aktivitenin in vivo azaldığının kanıtıdır (3).

Sözmen ve arkadaşlarının AH'de BOS materyalinde yürüttüğü bir çalışmada da BOS asetil kolin esteraz aktivitesinin diğer demans grubuna ve kontrollara göre düşük olduğu saptanmış ve bu enzim aktivite azlığı, azalan kolinerjik aktivite nedeniyle azalan substrata bağlanmıştır (4).

AH'de multiselüler patojenik kaskad nedeniyle tek NT sistemi etkilenmemektedir. Beyin sapındaki serotonerjik ve noradrenerjik hücreler, neokortekste somatostatin veya kortikotropin salıverici faktör üreten hücreler, glutamat, GABA, Substans P ve/veya nöropeptid Y salan nöronlarda da değişiklik gözlenir (1).

**Çevresel faktörler:** AH, Creutzfeldt-Jakob

hastalığı gibi infeksiyöz / kalıtsal spongiform ensefalopatiler (prion hastalıkları) ile sınırlı bir paralellik gösterir. AH'de bir infeksiyöz patogen gösterilmemiştir. Bir olasılıkla metal iyonları özellikle, alüminyum gibi çevre toksinler bu hastalıkta önemli rol oynuyor olabilir.

**Alüminyum (Al) ve AH:** Bazı araştırmacılar, AH patolojisinde kortikal bölgelerde özellikle NFY'ler içinde Al konsantrasyonlarının yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Bununla birlikte amiloid plaklar veya amiloid anjiyopatinin çok az olduğu veya hiç saptanmadığı Guam Parkinson demans kompleksindeki NFY'lerde de Al birikimi saptanmıştır. Bu, Al depozisyonunun AH'ye özgü olmayıp, sekonder olarak NFY'lere bağlanmakta olduğu görüşünü desteklemektedir. Ayrıca AH'de magnezyum, kalsiyum, çinko, silisyum ve demirin de AH nöronlarda anormal konsantrasyonlarda olduğu bildirilmiştir. Al, amiloid plakların merkezinde de yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. Sinaptozom ve eritrositlerde kolin transportunun Al ile inhibe edildiği gösterilmiştir (1).

Al kaplar, antiasidler ve deodorantlar, aşular, hatta bazı yörelerin suları Al içerir. Aköz çözeltilerde Al<sup>3+</sup> iyonu şeklindedir. Solunum ile veya GIŞ ile alınabilir, transferrine bağlanabilir ve Fe depo proteini ferritin ile depo edilebilir. Uzun süreli hemodiyaliz tedavisi sonucu görülen diyaliz ansefalopatisi gibi nörolojik ciddi sendromların oluşması, beyinde gri cevherde Al birikmesine bağlıdır. Al, fikse valansından dolayı lipid peroksidasyonunu stimüle etmez. Fakat ortama Fe<sup>2+</sup> eklenirse, peroksidasyon hızı çok artar. Al<sup>3+</sup> iyonları membrana bağlanarak, membran lipidlerinin yapısını bozar, lipid peroksidasyonuna yatkınlaştırır (5). Alüminyuma bağlı nörodejenerasyonda glutamat-NO-cGMP yolu inhibe olur (6). Al, Hekzokinaz, glukoz 6 fosfat dehidrogenazı inhibe eder, böylece glukoz ve glukoz-6 fosfat kullanımı etkilenir. AH'de de glukoz kullanımının azaldığını gösteren çalışmalar vardır (7).

**Nörofibriler yumaklar:** AH beyinlerinin çoğunda senil plaklara intranöronal sitoplazmik liflerin yığınları (NFY'ler) eşlik eder. Bu yumaklar genel olarak, çift helikal filamentlerden (CHF, 10nm) oluşur. NFY'ler, AH'nin histolojik markeri olarak nöritik plaklardan daha zayıf bir göstergedir. NFY'ler mikrotubuliye bağlı protein Tau'nun posttranslasyonel modifiye (fosforile) formlarını içerir. AH'de bazı kinazların aktiflendiği, fosfatazların ise aktivitesinin azaldığı ileri sürülmektedir (1). Kortikal nöron hücre kültürlerinde Al'nin tau'daki hiperfosforilasyonu arttırdığı gösterilmiştir (8).

Cyclin bağımlı kinaz5 (Cdk5), memelilerde MSS'nin gelişiminde gerekli bir enzimdir. Aktive olması için regülatör alt ünitesi olan p35 ile birleşmiş olmalıdır. p35'in yıkılım ürünü olan p25'in AH beyinlerinde akümüle olduğu gösterilmiştir. İn vivo p25/Cdk5 kompleksinin tau'yu hiperfosforillediği ve böylece, mikrotubuli ile bağlanmaya olan yeteneğini azalttığı gösterilmiştir (9). AH beyinlerinden elde edilen CHF'lerin in vitro olarak yüksek oranda glikozile olduğu ve NFY'lerin özgül glikan molekülleri ile bağlı olduğu gösterilmiştir. CHF yumaklarının deglikozilasyonu filamentleri demetlere çevirmekte ve mikrotubulilere olan ilgisinin düzelmesine neden olmaktadır (10).

Proteinlerin glikasyonunda oluşan "ketoamin" yapıların herhangi bir nedenle oksidasyonu, fragmentasyonu ve/veya çapraz bağlanması ile ilerlemiş glikasyon son ürünleri (AGE) oluşur. AGE'lerin yaşlılıkta, diyabetin komplikasyonlarında ve AH patogenezinde rol oynayabileceği öne sürülmektedir (11). Buna karşılık, diyabette gliko proteinlerin artmış olmasının AH-tipi patoloji için bir risk faktör oluşturmadığı, bilişsel yetersizliğin başka faktörlere bağlı olduğunu gösterilmiştir (12).

AH'de NFY'lerde saptanan glikozamino glikanlar (GAG) nöronlarda CHF'nin formasyonunda kritik rol oynar (13).

**Senil plaklar:** Kompleks lezyonlar olan senil plaklar, sinaptik sonlanmalarda ve gliada lokalizedir. Amiloid protein beyinde kortikal

damar duvarlarında depolanmıştır. Bu protein, plakların amiloidi ile aynıdır ve demans ile plak sayısı koreledir. Senil plakların büyük bir kısmı, 40-42 residülü protein olan amiloid beta  $\beta$  (A $\beta$ ) proteinin amorf, büyücek nonfilamental agregatlar olarak başlar. Zamanla bu diffüz A $\beta$  depositleri fibriler  $\beta$  kırmalı tabakalı protein yapısı kazanır. Limbik ve bağlantılı kortekslerdeki senil veya nöritik plakların çok sayıda olması AH'nin tanısında tek ve en çok güvenilir nöropatolojik markerdir (1).

AH'deki amiloid plaklar, bir integral membran glikoproteini olan A $\beta$  protein,  $\beta$ amiloid prekürsör proteinin ( $\beta$ APP'nin) 40-42 amino asidik parçası olup,  $\beta$ APP'nin alternatif proteolitik işlemlerinden oluşur.  $\beta$ APP'nin primer yapısı, toplam 770 amino asid içerir. 687. rezidüden sonra alfa sekretaz etkisi ile çözünür APPs-alfa ve membran içindeki 10 kDa (83 rezidü) oluşturur. 711/713'ncü rezidüde gama sekretaz etkisiyle p3 peptidi salınır.  $\beta$ sekretaz ile 671'inci rezidüden sonra APPs- $\beta$  ve 99 AA lik moleküller oluşur (12 kDa). Gama sekretaz ile de bundan A $\beta$  peptidleri salınır. AH'li beyinlerde p3 reaktivitesinin yaygın oluşu ve selektif lokalizasyonu p3'ün AH patolojisine katkıda bulunan bir faktör olduğunu düşündürmüştür (14).

$\beta$ APP'nin A $\beta$  dizini içeren hücre yüzeyindeki enzimatik yıkılımı ile APP'nin sekrete formu oluşur, intraselüler ortama salınır. Alternatif yol ise;  $\beta$ APP'nin asidik, olasılıkla lizozomal kompartımanda yıkılımı ile ise, hücrelerden intakt A $\beta$ 'nin serbestleşmesine neden olur. AH, mutasyonlar, yaşa bağlı değişikliklerde endositoz yolu ağırlıklı işler. Lizozomal yıkılımı  $\beta$ APP'nin akümüasyonu ve ekstraselüler depozit oluşması izler.  $\beta$ amiloid protein mikromolar düzeylerde bile direkt nörotoksiktir. Amiloid fibril oluşumu in vitro, pH'a bağımlıdır. Normalde APPs ( $\beta$ APP veya A $\beta$ PP) fibroblast hücrelerin normal büyüme hızı için gereklidir ve eksojen APPs bu hücrelerin proliferasyonunu stimüle etmektedir (15).

**Glukokortikoidler (ve stres) ve AH:** Glikokortikoid reseptörleri (GR), MSS'de yaygın bir biçimde sentezlenirler, mineralokortikoid reseptörleri (MR) ise başlıca hipokampusta bulunur. Normal yaşlılarda, serum kortizol düzeyi ve GR disfonksiyonunun her ikisiyle de yaş ile pozitif bir korelasyon vardır. Sıçanlarda, beyinde kronik stres ile artan kortikosteroidler A $\beta$  peptidde artışa neden olur. Glukokortikoidler AH'de potansiyel bir risk faktör olarak rol oynayabilir (16,17).

İnterlökin 6 (IL-6), hipofizi indükleyerek ACTH salımını ve adrenele direkt etki ile glukokortikoid salımını uyarmaktadır ve amiloid sentezini arttırmaktadır. AH patolojisinde kronik enflamatuvar bir olayın varlığı düşünülmektedir. AH'de BOS'ta, korteks ve hipokampusta amiloid plakların erken formlarında IL-6 immunoreaktivitesi saptanmıştır. IL-6 ve IL-1 $\beta$  nöron ve astrositlerde APP'nin ekspresyonunu düzenler (18).

Sporadik AH'lilerde serbest çözünür A $\beta$ 42 iki-üç kat daha yüksektir. Bu, beyine daha çok sA $\beta$  girebileceğini göstermektedir. Gama sekretazı inhibe eden ilaçların uygulanmasından sonra AH hastalarının bir kısmında çözünür A $\beta$ 'nin BOS'ta ve plazmada normal yaşlılara oranla daha düşük olduğu saptanmıştır (19,20).

Anderson ve ark., sıçanlarda spasyal bellek performansı ile BOS APPs- $\alpha$  arasında pozitif bir korelasyon saptamışlardır. APPs- $\alpha$ , sinaptogenezi artırır ve nöroprotektif olaylarda rol oynar (21).

AH'nin büyük bir bölümü sporadik olarak ortaya çıkar. Ancak genetik faktörlerin önemi oldukça iyi bir şekilde kanıtlanmıştır. Down sendromlu hastalarda AH'nin gelişmesi genetik faktörlerin rolünü göstermektedir. 1980'lerin ortasından sonra nöronal ve glial değişiklikler, nöritik distrofi veya NFY'ler henüz saptanmadan 10'lu, 20'li yaşlarda ölen DS'li hastalarda limbik ve bağlantılı kortekslerde değişik dansitelerde diffuz A $\beta$  depozitlerinin gösterilmiştir (1).

**Presenilin 1 (PS-1) ve Presenilin 2 (PS-2) genlerindeki mutasyonlar sıklıkla erken başlangıçlı otozomal dominant Alzheimer hastalığının nedenidir:**  $\beta$ APP mutasyonlarının keşfinden kısa süre sonra Kromozom 14'de PS-1 geninde çok sayıda missense mutasyon (yaklaşık 45 adet) saptanmıştır. PS-1'in klonlanmasından sonra kromozom 1'de bu gen yüksek homoloji gösteren bir gen dizini saptanmış ve bu gene PS-2 denmiştir. PS-1 ekspresyonu memeli embriyogenezi ve yaşamı için gereklidir. Fakat mutant PS1'in fonksiyonu bilinmemektedir. Familial AH'de PS-1 ve PS-2 deki mutasyonların toksik etkileri; gama sekretazın disregülasyonu üzerinden olabilir. Transfekte hücrelerde ve transgenik sıçanların beyinlerinde A $\beta$ 'nin rölatif olarak iki kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu mutasyonlar, insan plazma, deri fibroblastlarında ve beyinde gösterilmiştir. PS mutasyonlarının A $\beta$  42'yi nasıl arttırdığı bilinmemekte, fakat, PS ile  $\beta$  APP arasında kompleks oluşumunu takiben bu etkinin olabileceği ileri sürülmektedir. A $\beta$  40 üretimi üzerine ise belirgin bir etkisi yoktur (22,23, 24).

**Otozomal dominant AH'nin nadir formuna  $\beta$ APP genindeki nokta mutasyonları neden olur:**

Kodon	Mutasyon	İsim	in vitro A $\beta$ daki etkiler
670/671	KM/NL	Swedish	A $\beta$ oluşumunda artış
692	A/G	Flemenish	A $\beta$ /p3'de artış Farklı A $\beta$ N-ucu
693	E/Q	Dutch	A $\beta$ /p3'de artış A $\beta$ fibrillogenezinde artış
717	V/I	London	Uzun A $\beta$ (42)'da artış
	V/G		
	V/F		

**Apolipoprotein E'nin  $\beta$ 4 alleli geç başlangıçlı AH için major bir genetik risk faktördür:** Ailesel örneklerde, post-mortem çalışmalarda ve popülasyon bazlı çalışmalarda ApoE4 allelinin geç başlangıçlı AH ile bağlantılı olabileceği gösterilmiştir. AH'de bu allelin görülme sıklığı %50 iken, normal kontrollarda %14-16 arasındadır. BOS proteinlerinin biyokimyasal araştırmaları A $\beta$ 'ya bir protein olan ApoE'nin bağlanabildiğini ortaya koymuştur (1).

Lipid metabolizmasında önemli rol oynayan bir plazma proteini olan ApoE geni 19. Kromozomda yer alır. Genetik olarak saptanan üç şekli vardır: ApoE2, ApoE3 ve ApoE4. Bunların üç homozigot (E2/2, E3/3, E4/4) ve üç heterozigot (E2/3, E3/4, E2/4) fenotipi vardır (25).

ApoE'nin başlıca sentez yeri başta karaciğerdir. Karaciğerdeki mRNA'nın 1/3 kadarı beyinde saptanmıştır. Beyinde sentezden sorumlu olan hücre tipi, astrositlerdir. ApoE, ekstraselüler boşlukta serbest veya proteine bağlı olarak bulunur. Bazı nöronlarda hem sitoplazmik aralıkta, hem de endozom, lizozom ve peroksizomların intraveziküler aralıklarında bulunmaktadır. Bu değişik yerleşim, ApoE'nin değişik metabolik olayda rol oynadığını göstermektedir (26).

Kültürde yapılan çalışmalarda, monosit ve makrofajların da ApoE üretilip salgıladıklarını göstermiştir. Beyinde az sayıda bulunan, küçük ve inaktif olan monositik orijinli hücrelerin ve mikroglia olarak isimlendirilen makrofaj benzeri özellik gösteren hücrelerin yaralanması ve diğer patolojik stimülasyonların sonucunda normal makrofajlara benzeyerek beyindeki apoE mRNA'sının yüksek miktarlarının kaynağı haline geldikleri öne sürülmektedir. ApoE, BOSda LDL reseptörüne bağlanan tek apoproteindir. Çünkü ne ApoB, ne de ApoA1/CIII beyinde sentez edilememektedir. ApoE'nin sinir dokusunda lipid taşıma dışında yapısal bir protein, nörotransmitter veya nörohormon prekürsörü olarak alternatif görevler üstlendiği de düşünülmektedir (26).

ApoE izoformlarının özgün etkileri içinde LDL reseptörü, A $\beta$  peptid ve mikrotübülü bağımlı protein tau ve mikrotubuli bağımlı protein c2 bağlanması gibi işlevler vardır. Sinir hücreleri içerdikleri LDL ilişkili protein (LRP) aracılığı ile her üç ApoE izoformunu da bağlayabilmektedir. ApoE'nin lipidler ile kompleks yapmış olarak LRP reseptörlerine bağlanıp endositoz yolu ile sinir hücrelerine girdiği, oluşan endozomlar yolu ile de mikrotübüller aracılığı ile hücre gövdesine taşındıkları öne sürülmüştür. AH'de sinapsislerdeki azalmanın LRP upregülasyonuna neden olduğu öne sürülmektedir. Herhangi bir nedenle ApoE'nin LRP ile bağlanarak senil plaklardaki ölü nöritlerde birikmesine yol açtığı gösterilmiştir (27).

İn vitro, ApoE2 ve E3'ün tau ve MAPc2'nin mikrotubuli bağlanma bölgesine bağlandığı ancak, ApoE4'ün bağlanmadığı gösterilmiştir. ApoE3 ve E2'nin tau ile bağlanması koruyucu bir işlev yapar. Tau fosforilasyonunun hızı azalır, CHF'lerin oluşumu azalır ve mikrotubuli stabilizasyonu kolaylaşır. Bu hipoteze göre, ApoE2 ve ApoE3 allelini taşımayan E4/4 bireylerde, CHF oluşumunun arttığı ve nöron ölümünün hızlandığı belirtilmiştir. Sonuçta, bellek kaybı, beyin kütlelerinde azalma ve hastalığın erken yaşta ortaya çıktığı gösterilmiştir. Birçok çalışmada ApoE4'ün A $\beta$  proteine ApoE3'ten daha büyük bir ilgi ile bağlandığı gösterilmişse de bazı çalışmalar fark olmadığını bildirmişlerdir. Elektron mikroskopik çalışmalar, ApoE4'ün amiloid fibril oluşumunu çok arttırdığını ortaya koymuştur. Ancak bu etkileşim in vivo koşullarda henüz gösterilememiştir (27).

ApoE, AH'de nörofibriler yumakların başlıca proteini olan tau aracılığı ile yumaklara, senil plakların protein bileşeni olan A $\beta$  aracılığı ile de senil plaklara kolayca bağlanmakta ve miktarlarının artmasına neden olmaktadır. ApoE  $\epsilon$ 4 alleli ile AH arasındaki ilişki Strittmatter ve ark tarafından 1993'de ortaya konmuştur (28). ApoE4

allelinin varlığı AH'ye yakalanma riskini 2-3 kat arttırmaktadır. Başlangıç yaşı da gen dozu ile ters orantılıdır (29). Buna karşılık ApoE  $\beta$ 2 alleli ise hastalığa yakalanma riskini azaltmakta, ortaya çıkma yaşını ise arttırmaktadır (27,30). Bilişsel olarak normal olan  $\epsilon$  4 homozigot kişilerde pozitron emisyon tomografi (PET) ile yapılan incelemelerde, bu bireylerin bazı beyin bölgelerinde AH'ninkine benzer şekilde düşük glukoz metabolizması gözlenmiştir (31,32). AH'de BOS'ta ApoE ELİSA yöntemi ölçülebilmektedir. ApoE, kan-beyin bariyerini aşmadığı için BOS düzeyleri MSS için gösterge olmaktadır (33).

Scacchi ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada plazma ApoE konsantrasyonları geç başlangıçlı, sporadik Alzheimer hastalarında ölçülmüş ve yaşlı kontrollardan farklı olmadığı bildirilmiştir. Buna karşılık ApoE  $\epsilon$  4 allelinin yüksek olduğu saptanmıştır (34).

**Genotip-Fenotip ilişkisi familial AH'nin bilinen tüm formlarında  $\beta$  amiloidozun erken ve kesin bir faktör olduğunu göstermektedir:** AH'nin familial formlarının moleküler patogenezindeki hipotetik kaskad; 1.  $\beta$ APP, PS1 ve PS2 genlerinde missense mutasyon, 2.  $\beta$ APP'nin proteolizinde değişme, 3. A $\beta$ 42 ve/veya total A $\beta$  üretiminde artma, 4. beyin interstisyel sıvıda A $\beta$ 42'nin ilerleyen agregasyonu ve çözünmezliği, 5. agregate A $\beta$ 42'nin diffüz plaklar şeklinde depozisyonu, 6. "Enflamatuvar" yanıt: mikroglial aktivasyon ve sitokin salımı ve astrositozis ve akut faz proteinleri salımı, 7. amiloid plaklar içinde ve nöropilde ilerleyen nöritik hasar, 8. nöronal metabolik ve iyonik homeostazın bozulması; oksidatif hasar, 9. değişmiş kinaz/fosfataz aktiviteleri, hiperfosforile tau, CHF oluşumu, 10. ilerleyen nörotransmitter eksiklikleri ile hipokampus ve serebral kortekste yaygın nöronal / nöritik disfonksiyon ve nöron ölümü, 11. DEMANS gelişimi şeklinde sıralanabilir (1).

Hastalığın prelinik fazına ilişkin bilgiler, erken çocukluk döneminden geç adult döneme kadar ölen Down sendromlu (DS)

hastaların AH-tipi beyinlerinin araştırılması, insanlar, diğer primatlar, köpekler ve kedilerde normal yaşlılık süresinde AH-tipi lezyonların gelişiminin benzer analizleri ve insanlarda erken başlangıçlı AH'ye neden olan insan APP'nin overekspresye mutant formunun kullanıldığı transgenik fare çalışmaları ile elde edilmiştir. Çok sayıda araştırmacı çok genç (12-15 yaş) DS'li beyinlerde erken AH benzeri morfolojik değişiklikler olduğunu rapor etmişlerdir. Yaşı daha ileri olan DS'lilerde ise beyinlerinde nöritik ve glial distrofi ile çevrili fibriler plaklar 30 yaşından sonra çok artmıştır ve NFY'ler de ortaya çıkmaya başlamıştır. Diffüz plakların erken akümüasyonu artmış APP gen dozajına bağlıdır. Benzer bulgular, APP'nin yüksek ekspresyon gösterdiği APP transgenik farelerde de izlenir (1).

A $\beta$  proteininin agregate olmasını, depozisyonunu ve toksisitesini arttırmada putatif rolleri olan ve bazıları "patolojik şaperonlar" olarak adlandırılan assosiye polipeptidler, normal olarak sekrete edilen alfa-1 antikomotripsin, ApoE, serum amiloid P komponenti ve heparan sülfatı kapsar (23). Bir akut faz proteini olan C-reaktif proteinin AH'da senil plaklarda arttığı post-mortem çalışmalarda gösterilmiştir. CRP-benzer immunoreaktivite hem intraselüler hem de ekstraselüler NFY'lerde yaygın bulunması AH etiolojisindeki enflamasyon süreçlerinin rolünü destekleyen bir bulgudur (35).

p38-kinaz, enflamatuvar sinyallere ve apoptozun başlamasına yanıt olarak aktive olan bir stres proteindir. AH'li hastaların beyinlerinde enzimin aktif şekli olan fosforile p38 proteininin kontrollara oranla daha yüksek olduğu, yoğun p38 immunoreaktivitesinin nöritik plaklar ve NFY içeren nöronlar ile assosiye olduğu saptanmıştır. Bu, nöroenflamasyon ile AH arasındaki ilişkinin diğer bir göstergesidir (36).

Homozigot APPV717F transgenik farelerde yapılan bir çalışmada, AH tipi astrositler ile çevrili nöritik amiloid plakların oluştuğu ve bu astrositlerden bir sitokin olan S100beta'nın salındığı gösterilmiştir. Bu sitokin, nörit

büyümesini ve  $\beta$ APP'nin aşırı eksprese edilmesini sağlamaktadır (37,38).

Alzheimer hastalığı ve oksidan stres: Oksidatif metabolik aktivite hızının yüksek, önemli antioksidan enzimlerin düşük olması nedeni ile vücuttaki diğer organların içinde Merkezi Sinir Sistemi (MSS) oksidatif hasara daha açıktır. Globus pallidus, substansia nigra gibi beyin bölgeleri, demirce zengin bölgelerdir (36). Beyin, lipid peroksidasyonu için başlıca dokudur ve nöral membran fosfolipidleri kolayca okside olan çok doymamış yağ asitleri (PUFA) içerir. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan hidroksinonenal (HNE) gibi ürünler sitotoksiktir ve doku hasarını arttırır. PUFA'larca zengin olan membran bütünlüğü, sinaps gibi özel aktiviteler için çok önemlidir. Kan-beyin bariyeri, antioksidan girişini de engellemektedir. MSS'de reaktif oksijen metabolitleri (ROM), Mitokondrial solunum zinciri, katekolaminlerin monoamino oksidaz (MAO) tarafından metabolizması, prostaglandin metabolizması ve demir/Fenton tepkimesi sonucunda oluşurlar. Mikroglial hücreler ve makrofajlar superoksit ve HClO oluştururken, nöronlar ve epitel hücrelerde ise nitrik oksid (NO.) sentezlenir. Oksidatif stresi arttıran nedenler arasında, hücreyi nekroza götüren bazı koşullar, toksinler, iyonize edici radyasyon, enfeksiyon, iskemi/reperfüzyon, termal hasar ve yaşlanma sayılabilir. Nöronlarda oksidan hasar, kan-beyin bariyerinin, tubulin yapısının bozulmasına, sinaptik ileti, ve iyon dengesinin değişmesine neden olur. Nöronların ve onların sinaptik bağlantılarının sayılarındaki azalma tüm MSS fonksiyonlarını etkiler (1,21, 30).

AH'de serebral korteks nöronlarında peroksinitrite bağlı proteinlerde artmış nitrasyon gözlenmesi oksidatif hasarın göstergesidir (39). Yaşlı sıçan beyinlerinde hipokampus ve serebellumda cGMP düzeyleri ve NO. konsantrasyonu değişir. A $\beta$ 'nin bu olayda etkili olduğu ileri sürülmektedir. Yaşlı sıçanların beyinlerinde cGMP bağımlı sinyal ileti hipokampus ve serebellumda

azalabilmekte, öğrenme ile bellek etkilenebilmektedir. AH'de Abeta peptid NMDA reseptörleri tarafından NO-bağımlı sinyaliletinin azalmasına neden olmaktadır (40). Taşkiran ve ark'nın yaptığı bir çalışmada AH'de BOS Nitrik oksidin stabil metabolitleri olan nitrit ve nitrat düzeyinin diğer demanslı hasta grubundan ve kontrol grubun değerlerinden daha düşük olduğu saptanmıştır (41).

Mitokondriler reaktif oksijen metaboliti, ROM oluşumunda primer kaynaktırlar. Bu santral rolü nedeniyle AH patolojisinde mitokondriler çok önemlidir. Sitokrom oksidaz defektlerinin, çocukluk çağı miyopatileri ve ansefalopatileri ve AH ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu durumda, ATP üretimi bozulur, ROM artar, Ca homeostazı bozulur. AH'de trombositlerde sitokrom oksidazın katalitik aktivitesinde özgün defektler saptanmıştır ve beyinde bu enzimin eksikliği anatomik olarak yaygındır (42).

Hatanpaa ve ark, nöronal enerji metabolizmasının bir markeri olan sitokrom oksidaz III-alt ünitesinin mRNA düzeylerini post-mortem AH beyin korteks örneklerinde düşük bulmuşlardır. AH'de NFY içeren nöronlardaki mRNA düzeyi NFY içermeyen nöronlardakinden daha düşüktür (43).

Sitokrom oksidazın özgün kimyasal inhibitörü olan sodyum azid verilerek, yapılan toksik AH modelinde bellekte azalma ve düşük nöronal plastisite saptanmıştır. Ayrıca, APP geninde anormal bir ekspresyon olmuş ve A $\beta$  proteinin çözünürlüğü de çok azalmıştır (42).

AH'de Hem-Oksijenaz1'in spesifik indüksiyonunun arttığı gösterilmiştir. Oluşan CO ve Fe, serbest radikal hasara götürür. Zn-protoporfirin gibi HO-1 inhibitörlerinin terapötik amaçla kullanılması bir olasılıktır (44).

Abeta depolanması, iskemiye bağlı olarak artar. Kafa travması amiloidin masif depolanmasını arttırmaktadır. İskemik hasar Ca homeostazının bozulmasına ve protein ile membranların oksidatif hasarına neden olur, A $\beta$ 'nin oluşumu ve agregasyonu artar. A $\beta$  nörotoksitesi de hücre içinde Ca'u arttırır.

Glutamat, da ayrı bir yolla hücreiçi kalsiyumunu arttırarak, hücre ölümüne neden olmaktadır (15, 28, 45, 46). Shimohama ve ark., kalsiyum bağlayıcı bir protein olan nörokalsin'in AH beyinlerinde post-mortem olarak belirgin düşük olduğunu bildirmişlerdir (47). Beyinde yaygın NFY'lerin tekrarlayan kafa travmalarına bağlı olduğu ileri sürülmektedir (48,49).

AH'de amiloid depozitlerinde lipid peroksidasyonunun toksik metaboliti olan hidroksinonenal (HNE) artmış olması amiloid depozitlerinin toksik etkilerini açıklamaktadır (50). Post-mortem AH frontal korteks homojenatları kontrollara göre peroksidasyon ürünlerini daha fazla içermektedir. AH'de korteks, hipokampus ve serebellumda SOD aktivitesi %40 daha düşüktür. Ayrıca total Fe düzeyi de AH beyinlerinin frontal korteksinde signifikant daha yüksek bulunmuştur. AH'nin mitokondrilerinde kalsiyumun alımı kontrollara oranla çok yüksektir (51). Sayre ve ark., AH'de NFY ve senil plaklar tarafından oluşturulan oksidatif katalizi in situ göstermişler ve santral rolün NFY ve senil plakların içerdiği transisyon metallere varlığına bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir (52). Eksitotoksikite ve AH: Beyinde nöronların eksitator nörotransmitterler ile eksitasyonu, intraselüler kalsiyum artışı, nöronal hasarı ve nöronal ölüme götüren kaskadı indüklemektedir. Glutamat reseptörleri bilişsel işlevlerde ve bellekte çok önemli rol oynamaktadır. Wakabayashi ve ark, alfa amino izoksazolepropionik asid (AMPA)- tip (GluR1) ve N metil D aspartat tip (NMDAR1) glutamat reseptörlerinin protein düzeylerini post-mortem AH beyinlerinde ölçmüşlerdir. Bulgular, AMPA reseptörünün anormal eksprese edildiğini ve postsinaptik dansite proteini ile etkileşiminin AH'de etkilendiğini ve hastalığın patofizyolojisini gösterdiğini düşündürmektedir (53).

**Anjiyotensin konverting enzim- AH ilişkisi:** Anjiyotensin konverting enzim (ACE) renin-anjiyotensin ve kallikrein-kinin sistemlerinin anahtar enzimidir. Son yıllardaki çalışmalarda ACE genotiplerinin demansta ve Parkinsonlu

hastalarda önemi üzerinde durulmaktadır. Çünkü, ACE delesyon polimorfizminin koroner kalp hastaları ile olan yüksek ilişkisi dışında, ilerleyen yaşlarda ömür uzunluğu ve yaşamı ile yakından ilgili olduğu düşünülmektedir (54). ACE enziminin üç genotipi vardır: Homozigot D/D, I/I ve heterozigot I/D. D allelinin varlığı sirküle ACE ile yakından ilişkili olup, koroner ateroskleroz rizki ile bağlantılıdır. Ayrıca, DD genotipi serebrovasküler hastalıklarda da artmış bir frekans göstermektedir.

Çeşitli toplumlarda yapılan çalışmalarda apoE4'ün yüksek plazma total ve LDL-kolesterolü ve koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (55). Ayrıca, Alvarez ve ark'nın yaptığı çalışmada geç başlangıçlı AH'de ACE ve sağlıklılarda yürüttükleri çalışmada ACE-I (insersiyon) allelinin AH'de genotip frekansının hafif, fakat signifikant bir şekilde arttığı gösterilmiş, ve ACE-I allelinin geç başlangıçlı AH için artmış risk ile bağlantılı olduğu sonucuna varılmıştır (56).

ACE inhibitörü olan antihipertansif ilaçların hastaların kognitif fonksiyonlarını güçlendirdiği de gösterilmiştir. AH'li hastalarda post-mortem incelemeler, aynı cinsiyetteki ve yaştaki kontrollara göre hipokampusta, frontal ve temporal kortekste ve diğer serebral bölgelerde ACE aktivitesinin signifikant yüksek olduğunu göstermektedir. Son yıllarda ACE D (delesyon) alleli bulunan olgularda kognitif bozuklukların artmış olduğu gösterilmiştir. Ve bunun ilerlemiş yaş, kadın olma riski ve ApoE ε4 allelinden bağımsız olduğu ileri sürülmektedir. Palumbo ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise, değişik demans gruplarında ApoE ε4 alleli ve ACE D (delesyon) alleli çalışılmış, ApoE β alleli geç başlangıçlı AH'de spesifik bulunurken, ACE D alleli mental yetersizliklerde spesifik olmayan bir sorumlu faktör olarak değerlendirilmiştir (57). ACE inhibitörlerinin birçok nörodejeneratif hastalıkta rol oynayan selüler apoptozis üzerine olumlu etkileri olduğu da bildirilmiştir (58). Ravati ve ark, ACE inhibitörlerinin sıçanlarda oluşturulan



fokal serebral hasarda serbest radikal temizleyici özelliği olduğunu göstermişlerdir (17).

**AH ve Apoptoz:** Birçok çalışma, AH'de apoptozun A $\beta$  tarafından indüklendiğini bildirmektedir (1,59-62). Kaspaslar, aspartat-spesifik sistein proteazlardır ve apoptozda merkezi bir rol oynarlar. A $\beta$ 'nın da kaspas-benzeri bir proteolitik rolü olduğu ileri sürülmüştür. Kaspas-3 eksik farelerde gelişen beyinde apoptozda azalma gösterilmiştir. AH beyinlerinde de keza kaspas-3 protein düzeyleri yüksektir (63). AH'de Kaspas-3'ün olası substratı olan aktinin yıkılımı plak assosiyasyon nöronlarında ve mikroglialarda gösterilmiştir. Harada ve ark, kulture sıçan kortikal nöronlarında  $\beta$ amiloidin indüklediği apoptozda kaspas-3'ün rolünü DNA fragmentasyonu ile göstermişlerdir. Kaspas 3 yanısıra diğer kaspaslar da Abeta'nın indüklediği apoptozda rol oynayabilir. Kaspas inhibitörlerinin varlığında Abeta'nın indüklediği nöronal hasarın sürmekte olduğu parsiyel nükleer kondansasyon ve kortikal nöronların ölümü ile gösterilmiştir (59).

Chan ve ark, AMPA reseptörlerinin nöronal apoptozdaki ve AH'deki yıkılımını incelemişlerdir. A $\beta$  ile kulture hipokampal nöronlarda apoptoz hızlanmaktadır. AMPA (Glu R1, R2/3 ve Glu R4) ve NMDA (NR1 ve NR 2A) reseptörlerinin Abeta ile hızla parçalandıkları, kaspas inhibitörü ile bu yıkılımın azaltıldığı gösterilmiştir. Kontrol grubun ve AH'nin beyinlerinde post-mortem çalışmalar AH'de AMPA reseptör alt ünitesinin proteolizinin artmış olduğunu ortaya koymuştur (60).

**Erken tanıya ilişkin çalışmalar:** AH beyinlerinde yürütülen post-mortem çalışmalarda CRF (Corticotropin releasing factor) içeren nöronların hastalığın erken dönemlerinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Asetil kolin ise daha geç dönemlerde değişir. AH için antemortem çalışmalarla CRF'nin erken tanı testi olarak kullanılabilirliği öne sürülmektedir. Eğer CRF nöronları dejenere oluyorsa, postsinaptik CRF reseptörlerinin dansitesi yükselmelidir.

Pozitron Emisyon Tomografi (PET) ile CRF reseptörlerinin in vivo gösterilebilmesi için çalışmalar yapılmalıdır (64). Benzer şekilde, Somatostatin benzeri immunoreaktivite (SLI) ve CRF immunoreaktivitesinin erken marker olup olmadığı araştırılmış her ikisi de post-mortem serebrokortikal alanlarda saptanmıştır (65). Birçok demans tipinde, Hem CRF-IR, hem de SLI azalırken, orta demasta sadece CRF-IR azalmıştır. Bu sonuçlar, CRF-IR'nin erken demans ve olası AH'de potansiyel bir nörokimyasal erken marker olarak yararlı olabileceğini göstermektedir (65).

Tumani ve ark, AH'de erken marker olarak BOS, serum ve beyinde glutamin sentetaz (GS) aktivitesini araştırmışlardır (66). GS, astrositlerde lokalize olup, potansiyel nörotoksik olan glutamat ve amonyakı glutamine çevirerek nöronları korumaktadır. AH dahil, birçok hastalıkta GS'nin aktivitesinde değişiklikler olduğu bildirilmiştir. Hepatik ansefalopati, spinoserebellar atrofi ve AH'de beyin GS aktivitesi azalmaktadır. AH'de düşük olan GS aktivitesinin beyindeki yerleşimi artmış oksidasyon ürünleri ile birlikte ve özellikle amiloid plakların çevresinde bulunmuştur. Bu nedenle glutamin sentetazın AH patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Tumani ve ark, GS protein düzeylerini serum ve BOS'ta ölçmüşlerdir. GS düzeyleri lumbar BOS'ta AH'de signifikant yüksek bulunmuştur. Fakat nonspesifiktir. Olasılıkla beyinde astrogliosis'e bağlı olabilir. Lumbar BOS'daki GS, başlıca beyinden kaynaklanmaktadır (66).

Alzheimer hastalarının plazmasında A $\beta$ 42 düzeylerinin yükseldiği saptanmıştır. Hastalığın semptomları çıkmadan önce bir marker olabileceği öne sürülmektedir (67).

Tanıda BOS A $\beta$ 42 düzeyinin sensitivitesi yüksektir. AH'nin erken aşamalarında BOS A $\beta$ 42 düzeyi düşüktür. Klinik tanıda özellikle erken tanıda bir marker olarak yarar sağlayabilir (68). Ishi-guro ve ark, AH'de erken tanı markerı olarak BOS'ta fosforile tau düzeyini yüksek bulmuşlardır (69). Ingelson ve ark tarafından AH ve diğer demanslarda,

kontrol ve hasta gruplarındaki plazma tau immunoreaktivitesi arasında bir fark bulunamamış ve tanı kriteri olarak kullanılamayacağı bildirilmiştir (70). Buna karşılık Andreasen ve ark, BOS tau ölçümünün hastalığın erken döneminde normal yaşlılara oranla arttığını ve tanıda kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir (71).

**Teropatik Stratejiler** AH'nin moleküler temelini anlaşılması ile gelişmektedir. Hücre kültür sistemleri ve transgenik fare modelleri çalışmaları ile AH modellerinde etkili ilaç araştırmaları yapılmaktadır. Nöronal ve non-nöronal hücrelerden A $\beta$  sekresyonunun inhibisyonu (23), kolinerjik agonistlerin kronik uygulanması ile alfa sekretaz yolu ile oluşan APP oluşumu artarak A $\beta$  oluşumunun azaltılması, antiinflamatuvar ilaçlar (SO-az2 inhibitörleri) (72), nöroprotektif stratejiler (73), antioksidan yaklaşımlar üzerinde çalışmalar sürdürülmektedir. AH'den korunma amacı ile donazepil ve E vitamini kombinasyonları ile yapılan çalışmalar, orta bilişsel yetersizlikte bu kombinasyonun çok yararlı olabileceğini göstermiştir (74). Son yıllarda, melatoninin MSS'de serbest radikal oluşumunu ve eksitatör amino asitlerin salgılamasını takiben oluşan nörodejeneratif işlemlerde rolü olan hidroksil radikallerine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. (29,30,45,75-79). MSS'de Alüminyum ile indüklenen lipid peroksidasyonunun MLT ile azaltıldığını gösteren çalışmalar vardır (5). MLT,  $\beta$  amiloid peptid ve fibril oluşumunu engeller. MLT, amiloid fibril tarafından ekstraselüler oluşturulan serbest radikalleri yakalar, peroksil radikallerini yakalayarak membran disfonksiyonunu önler ve lipid peroksidasyonunu azaltır, artmış intraselüler Ca $^{2+}$  etkisi ile intraselüler oluşan radikalleri yakalar. Ayrıca, AH BOS'unda MLT düzeylerinin düşük olduğu saptanmıştır (79, 80).

Elan ilaç şirketi geçtiğimiz yıl içinde APP over eksprese transgenik farelerde amiloid depolarını azaltan bir aşı bulunduğunu, yakında insan deneklerde araştırmanın devam

edeceğini açıklamıştır (74).

Sonuç olarak, insan ömrünün giderek uzadığı çağımızda, AH mekanizmasını, nedenlerini anlamada, tedavi yollarına ve sağlıklı yaşlılığa ulaşmada, moleküler biyoloji, biyokimya, farmakoloji ve klinik bilimlerin kombine gücü çok önemlidir.

#### KAYNAKLAR

1. Selkoe DJ, Lansbury Jr PL. Biochemistry of Alzheimer's and prion Diseases. Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD, eds. Basic Neurochemistry 6ncı baskı. Philedalphia, New York:Lippincott-Raven-1999: 950-965.
2. Frolich L, Dirr A, Gots ME, et. al. Acetylcholine in human CSF: methodological considerations and levels in dementia of Alzheimer type. J Neural Transm-1998; 105:961-973.
3. Baskın D, Browning J, Pirozzolo F et al. Brain choline acetyltransferase and mental function in Alzheimer disease. Arch neurol-1999;56(9):1121-1123.
4. Sözmen EY, Yetimaller Y, Tanyalçın T, Kutay F. Z, Tunçbay T. Cerebrospinal fluid acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in Alzheimer's disease. Turkish J Med Sci-1995;25:285-288.
5. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 2nd Edn. Clarendon Oxford-1995
6. Hermenigildo C, Saez R, Minoia C, Manzo L, Felipe V. Chronic exposure to aluminium impairs the glutamatinic oxide-cyclic GMP pathway in the rat in vivo. Neurochem Int-1999;34(3):245-253.
7. Clauberg M, Smith CB, Dang T, Sokoloff L, Joshi JG. Effects of chronic dietary aluminium on local cerebral glucose utilization in rats. Neurobiol. Aging-1994; 15(5):657-661.
8. Jones KR, Oorschot DE. Do aluminium and/or glutamate induce Alz-50 reactivity? A light microscopic immunohistochemical study. J Neurocytol-1998; 27:45-57.
9. Patrick GN, Zukerberg L, Nikolic M, et al. Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. Nature-1999; 402:615-622.
10. Spillantini MG, Tolnay M, Love S, et al. Microtubule-associated protein tau, heparan sulphate and alpha-synuclein in several neurodegenerative diseases with dementia. Acta Neuropathol (Berl)-1999; 97:585-594.
11. Ko LW, Ko EC, Nacharaju P, et al. An immunochemical study on tau glycation in paired helical filaments. Brain Res -1999; 830:301-313.
12. Heither J, Dickson D. Diabetetics do not have increased Alzheimer-type pathology compared with age-matched control subjects. A retrospective postmortem immunocytochemical and histofluorescent study. Neurology-1997; 49:1306-1311.

13. Verbeek MM, Otte-Holler I, van den Born J, et al. Agrin is a major heparan sulfate proteoglycan accumulating in Alzheimer's disease brain. *Am J Pathol*-1999; 155:2115-2125.
14. Higgins LS, Murphy GM Jr, Forno LS, et al. P3 beta-amyloid peptide has a unique and potentially pathogenic immunohistochemical profile in Alzheimer's disease brain. *Am J Pathol*-1996; 149:585-596.
15. Barger SW, Smith-Swintosky VL, Rydel RE, Mattson MP. Beta amyloid precursor protein mistreatment and loss of calcium homeostasis in Alzheimer's disease. Nitsch RM, Growdon JH, Corkin S, Wurtman RJ Eds. *Alzheimer's Disease. The New York Academy Sciences, New York- New York*-1993;695: 158-164.
16. Budas G, Coughlan CM, Secki JR et al. The effect of corticosteroids on amyloid beta precursor protein/amyloid precursor-like protein expression and processing in vivo. *Neurosci Lett*-1999;276:61-64.
17. Ravati A, Junker V, Kouklevi M et al. Enalapril and moexipril protect from free radical-induced neuronal damage in vitro and reduce ischemic brain injury in mice and rats. *Eur. J Pharmacol*-1999;373:21-33.
18. Tilg H, Dinarello CA, Mier JW. IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunology Today*-1997;18(9):428-432.
19. Matsubara E, Ghiso J, Frangione B, et al. Lipoprotein-free amyloidogenic peptides in plasma are elevated in patients with sporadic Alzheimer's disease and Down's syndrome. *Ann Neurol*-1999; 45:537-541.
20. Kuo YM, Emmerling MR, Lampert HC, et al. High levels of circulating Abeta42 are sequestered by plasma proteins in Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun*-1999; 257:787-791.
21. Anderson JJ, Holtz G, Baskin PP, et al. Reduced cerebrospinal fluid levels of alpha-secretase-cleaved amyloid precursor protein in aged rats: correlation with spatial memory deficits. *Neuroscience*-1999; 93:1409-1420.
22. De Jonghe C, Cras P, Vanderstichele H, et al. Evidence that Abeta42 plasma levels in presenilin-1 mutation carriers do not allow for prediction of their clinical phenotype. *Neurobiol Dis*-1999; 6:280-287.
23. Sherrington R, Hyslop PG, Hutton M et al. The Molecular biology of Alzheimer's disease. Charney DS, Nestler EJ, Bunney BS, Eds. *Neurobiology of mental illness. New York-Oxford-Oxford Press*-1999; 650-658.
24. Takashima A. Biochemistry of presenilin 1. *Rinsho Shinkeigaku*-1997;37:1097-1098.
25. Ağaçhan B, Yılmaz H, Aydın M, İsbir T. Apolipoprotein E'nin beyindeki metabolizması. *Endok. Yön*-1999; 8(1):24-27.
26. Boyles JK, Pitas RE, Wilson E. et al. Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating of the peripheral nervous system. *J. Clin. Invest*-1985;76:1501-1513.
27. Roses AD, Saunders AM, Corter EH, et al. Influence of the susceptibility genes apolipoprotein E-e2 on the rate of disease expressivity of late-onset Alzheimer's disease. *Arzneim-Forsch/Drug Res*-1995;45(1); 413-417.
28. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D et al. Apolipoprotein E: High-avidity binding to B-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. -1993;90; 8098-8102.
29. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type allele and risk of Alzheimer's disease in late-onset families. *Science*-1993; 261; 921-923.
30. Smith AD, Sim E, Nagy A, et al. Protective effect of ApoE2 in Alzheimer's disease. *Lancet*-1994; 344: 473-474.
31. Reiman EM, Caselli RJ, Yun LS et al. Preclinical evidence of Alzheimer's disease in persons homozygous for the epsilon 4 allele for apolipoprotein E. *New Eng J Med*-1996;334 (12):752-758.
32. Mayeux R, Saunders AM, Shea S et al. Utility of the apolipoprotein E genotype in the diagnosis of the Alzheimer's Disease. *New Eng J Med*-1998;338 (8):506-511.
33. Yamauchi K, Tozuka M, Nakabayashi T, et al. Apolipoprotein E in cerebrospinal fluid: relation to phenotype and plasma apolipoprotein E concentrations. *Clin Chem*-1999; 45:497-504.
34. Scacchi R, Gambina G, Ruggeri M, et al. Plasma levels of apolipoprotein E and genetic markers in elderly patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*-1999; 259:33-36.
35. Doung T, Nikolaeva M, Acton PJ. C-reactive protein-like immunoreactivity in the neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Brain Res*-1997; 749: 152-156.
36. Hensley K, Floyd RA, Zheng NY, et al. p38 kinase is activated in the Alzheimer's disease brain. *J Neurochem*-1999; 72:2053-2058.
37. Sheng JG, Mrak RE, Bales KR, et al. Overexpression of the neurotropic cytokine S100beta precedes the appearance of neuritic beta-amyloid plaques in APPV717F mice. *J Neurochem*-2000; 74:295-301.
38. Royston MC, McKenzie JE, Gentleman SM, et al. Overexpression of s100beta in Down's syndrome: correlation with patient age and with beta-amyloid deposition. *Neuropathol Appl Neurobiol*-1999; 25:387-393.
39. Smith MA, Rickey Harris PL, Sayre LM, et al. Widespread peroxynitrite-mediated damage in Alzheimer's disease. *J Neurosci*-1997; 17: 2653-2657.
40. Chalimoniuk M, Strosznajder JB. Aging modulates nitric oxide synthesis and cGMP levels in hippocampus and cerebellum. Effects of amyloid beta peptide. *Mol Chem Neuropathol*-1998;35(1-3):77-95
41. Taşkiran D, Sözmén E. Y, Yetimlar Y, Tanyalçın T,

- Kutay F. Z. Value of nitrite and nitrate levels in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Turkish J Med Sci*-1995; 25:223-224.
42. Parker WD, Davis RE. Primary mitochondrial DNA defects as a causative event in Alzheimer disease. Beal MF, Howell N, Bodis-Wollner I, Eds. *Mitochondria and free radicals in neurodegenerative disease*. New York: Wiley-Liss-1997;319-329.
43. Hatanpaa K, Chandrasekaran K, Brady DR, et al. No association between Alzheimer plaques and decreased levels of cytochrome oxidase subunit mRNA, a marker of neuronal energy metabolism. *Brain Res Mol Brain Res* -1998; 59:13-21.
44. Smith MA, Sayre LM, Perry G Morphological aspects of oxidative damage in Alzheimer's Disease. Beal MF, Howell N, Bodis-Wollner I, Eds. *Mitochondria and free radicals in neurodegenerative disease*. New York: Wiley-Liss-1997;319-329.
45. Bains JS, Shaw CA. Neurodegenerative disorders in humans: the role of glutathione in oxidative stress-mediated neuronal death. *Brain Res Rev* 1997;25:335-358.
46. Busciglio J, Andersen JK, Hyman M et al. Stress, Aging and neurodegenerative disorders. Rsermely P, Ed. *Stress of Life* Newyork Academy of Sciences. New York-New York -1998;851:429-441.
47. Shimohama S, Chachin M, Taniguchi T, et al. Changes of neurocalcin, a calcium-binding protein, in the brain of patients with Alzheimer's disease. *Brain Res*-1996; 716:233-236.
48. Adle-Biassette H, Duykaerts C, Wasowicz M, et al. Beta AP deposition and head trauma. *Neurobiol Aging*-1996; 17:415-419.
49. Geddes JF, Vowles GH, Robinson SF, Sutcliffe JC. Neurofibrillary tangles, but not Alzheimer-type pathology, in a young boxer. *Neuropathol Appl Neurobiol*-1996;22(1):12-6
50. Ando Y, Brannstrom T, Uchida K, et al. Histochemical detection of 4-hydroxynonenal protein in Alzheimer amyloid. *J Neurol Sci*-1998; 156:172-176.
51. Sayre LM, Perry G, Harris PL, et al. In situ oxidative catalysis by neurofibrillary tangles and senile plaques in Alzheimer's disease: a central role for bound transition metals. *J Neurochem*-2000; 74:270-279.
52. Richardson JS. Free radicals in the genesis of Alzheimer's Disease. Nitsch RM, Growdon JH, Corkin S, Wurtman RJ Eds. *Alzheimer's Disease*. The New York Academy Sciences, New York- New York-1993;695: 73-76.
53. Wakabayashi K, Narisawa-Saito M, Iwakura Y et al. Phenotypic down-regulation of glutamate receptor subunit GluR1 in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*-1999;20(3):287-295
54. Ağaçhan B, Yılmaz H, Aydın M, İsbir T. Is there any association between apolipoprotein E and angiotensin converting enzyme gene polymorphism in patients with Parkinson's disease and dementia? *J. Med. Invest* -2000; 47:1-5.
55. Ağaçhan B, Yılmaz H, Aydın M, Kızıltan G, İsbir T. Parkinson hastalarında apolipoprotein E gen polimorfizminin lipid profilleri ile ilişkisi. *Ege Tıp Derg*-1999; 38(2):75-79.
56. Alvarez R, Alvarez V, Lahoz CH et al. Angiotensin converting enzyme and endothelial nitric oxide synthase DNA polymorphisms and late onset Alzheimer's disease. *J. Neurol Neurosurg Psychiatry*-1999;67(6):733-736.
57. Palumbo B, Cadini D, Nocentini G et al. Angiotensin converting enzyme deletion allele in different kinds of dementia disorders. *Neurosci Lett*-1999;267:97-100.
58. Bredesen DE. Neural apoptosis. *Ann Neurol*-1995;38:839-851.
59. Harada J, Sugimoto M Activation of caspase-3 in amyloid-induced apoptosis of cultured rat cortical neurons. *Brain Re. Art Det*-1999;842:311-323.
60. Chan SL, Griffin WS, Mattson MP. Evidence for caspase-mediated cleavage of AMPA receptor subunits in neuronal apoptosis ann Alzheimer disease. *J Neurosci*-1999;57(3)315-323
61. Forloni G, Chiesa R, Smiroldo S et al. Apoptosis mediated neurotoxicity induced by chronic application of \_amiloid fragment 25-35. *NeuroReport*-1993; 4:523-526.
62. Laferla FM, Tinkle BT, Bieberich CJ et al. The alzheimer's A\_\_peptide induces neurodegeneration and apoptotic cell death in transgenic mice. *Nat Genet*-1995; 9:21-30.
63. Shimohama S, Tanino H, Fujimoto S. Changes in caspase expression in alzheimer disease: comparison with development and aging. *Biochem Biophys Res Commun*-1999; 256: 381-384.
64. Nemeroff CB. The preminent role of neuropeptide systems in the early pathophysiology of Alzheimer Disease: Up with Corticotropin releasing factor, down acetylcholine. *Arch Gen Psychiatry*-999;56(11):991-992.
65. Davis KL, Mohs RC, Marin DB et al. Neuropeptide abnormalities in patients with early pathophysiology of Alzheimer Disease: Up with Corticotropin releasing factor, down acetylcholine. *Arch Gen Psychiatry*-1999;56(11):981-987.
66. Tamani H, Shen G, Peter JB, Bruck W. Glutamine synthetase in cerebrospinal fluid, serum, and brain: a diagnosis marker for Alzheimer disease? *Arch Neurol*-1999; 56:124-1246.
67. Tang MX, Jacobs DM, et. al. Plasma amyloid beta-peptide 1-42 and incipient Alzheimer's disease. *Ann Neurol*-1999; 46:412-416.
68. Andreasen N, Hesse C, Davidsson P, et. al. Cerebrospinal fluid beta-amyloid(1-42) in Alzheimer disease: differences between early-and late-onset Alzheimer disease and stability during the course of

- disease. Arch Neurol-1999; 56:673-680.
69. Ishiguro K, Ohno H, Arai H, et. al. Phosphorylated tau in human cerebrospinal fluid is a diagnostic marker for Alzheimer's disease Neurosci Lett-1999; 270:91-94.
  70. Ingelsson M, Blomberg M, Benedikz E, et. al. Tau immunoreactivity detected in human plasma, but No obvious increase in dementia. Dement Geriatr Cogn Disord-1999; 10:442-445.
  71. Andreasen N, Minthon L, Clarberg A, et. al. Sensitivity, specificity, and stability of CSF-tau in AD in a community-based patient sample. Neurology-1999; 53:1488-1494.
  72. Pasinetti GM, Aisen PS. Cyclooxygenase-2 expression is increased in frontal cortex of Alzheimer's disease brain. Neuroscience-1998; 87:319-324.
  73. Gozes I, Bardea A, Reshef A, et al. Neuroprotective strategy for Alzheimer disease: intranasal administration of a fatty neuropeptide. Proc Natl Acad Sci USA-1996; 93:427-432.
  74. Kelly E. Novel investigations in understanding and treating Alzheimer's Disease. Drug mar Develop-1999; 10 (11):386-392.
  75. Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology. British Med. Bull-1993;49 (3):577-587.
  76. Reiter RJ. Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin. Progress in Neurobiology 1998; 56:359-384.
  77. Reiter RJ, Tan D, Cabrera J et al. The oxydant/antioxidant network:role of melatonin. Biol Signals Recept -1999;8 (1-2):56-63.
  78. Reiter RJ, Tang L, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. Life Sci-1997; 60(25):2255-2271.
  79. Reiter RJ. Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin. Progress in Neurobiology -1998; 56:359-384.
  80. Pappolla M, Bozner P, Soto C et al. Inhibition of Alzheimer beta-fibrillogenesis by melatonin. J. Biol Chem -1998;273 (13):7185-7188

