

ALZHEİMER HASTALIĞININ NÖROPATOLOJİSİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ*

Selkoe DJ**

Kısaltarak çevirenler: E. Saka***, K. Selekler****

Huntington hastalığı, amiotrofik lateral skleroz gibi çarpıcı histolojik bulguları olmayan nörodejeneratif hastalıklarda moleküler gelişmeler ailevi formlara bağlı genlerin pozisyonel klonlama tekniği ile elde edilmiştir. Alzheimer hastalığında ise genetik faktörlerle ilgili bilgilerin elde edilmesi morfolojik genotipin biyokimyasal olarak incelenmesi ile başlamıştır. Alzheimer patolojisinin klasik tanınan özellikleri olan nörofibriller yumaklar ve senil (amiloid) plakların 1970' li yılların sonlarından beri biyokimyası, nöroanatomi ve moleküler biyolojisi derin olarak araştırılmıştır. Bu araştırmalar, amiloid β -proteininin ($A\beta$) progresif bir şekilde serebral dokuda birikmesinin, hastalığın gelişmesinde erken, değişmez ve muhtemelen gerekli bir faktör olduğunu göstermiştir. Alzheimer hastalığının oluşmasında etken olan genlerin belirlenmesindeki gelişmeler, meningovasküler amiloid çöktürülmesinin peptid subünitinin antılması ile başlamıştır. Bu 40 aminoasit içeren peptid'e Glenner tarafından amiloid β proteini ismi verilmiştir. Daha sonra " β amiloid precursor protein" (β APP)'in $A\beta$ bölgesindeki aminoasitlerin mutasyonu sonucunda değişmesinin Alzheimer hastalığının moleküler nedeni olduğu bulunmuştur. β APP, düşük ağırlıklı lipoprotein reseptörü, insülin reseptörü gibi iyi bilinen reseptörlere benzer şekilde, değişik hücre zarlarına tek transmembran bölgesiyle tutunan ve hücre yüzeyinden projekte olan büyük bir glikoproteindir (fig. 1). β APP'i kodlayan cDNA' nin 1987' de Benno Mueller-Hill, Beyreuther ve arkadaşları tarafından klonlanmasının ardından, proteinin nöronlar, astrositler, endotel hücreleri, düz kas hücreleri gibi hemen tüm memeli hücreleri tarafından eksprese edildiği görülmüştür. Ancak bu proteinin $A\beta$ fragman çöktürmeleri yalnızca beyinde ve beyin özellikle limbik ve neokortikal gri bölgesinde izlenmiştir. Ekstrasellüler amiloidi oluşturan $A\beta$, β APP'nin 40-42 aminoasit içeren bölgesini oluşturur ve 28 aminoasit trans-

membran bölgesinin dışını, 12-14 aminoasitlik bölgesi ise transmembran bölgesinin ilk aminoasitlerini oluşturmaktadır. $A\beta$ bölgesinin bu topografik özelliğinden dolayı, $A\beta$ nin beyin ekstrasellüler aralığına serbestleşmesinden önce, buna neden olacak bir olayın hücre membranını etkilemesi gerektiği düşünülmüştür. Bu düşünce amiloid çöktürmelerinin hastalık prosesine ikincil geliştiği hipotezini desteklemiştir.

$A\beta$ ve onun prekürsör proteini ile ilgili çalışmalar ilerlerken, bir yandan da nörofibriller yumakların içeriği araştırılmıştır. 1960' lı yılların başında Michael Kidd ve Robert Terry elektron mikroskopi ile bu yumakların çift helikal filamentler (PHF) olarak tanımlanan protein ipliklerinden oluştuğunu göstermişlerdir. 1980' li yıllarda immünokimyasal ve biyokimyasal analizler, "microtubule-associated protein" olan tau' nun bu anormal ipliklerin ana komponenti olduğunu göstermiştir. Daha sonra Virginia Lee ve arkadaşları tarafından bu ipliklerinin hemen tamamının tau' dan oluştuğu gösterilmiştir. Morfolojik çalışmalar ise Alzheimer korteksinde bütün yapısal olarak anormal olan dendrit ve aksonlarda görülen yumaklarda PHF' lerin aynı ya da benzer olduğunu göstermiştir. Alzheimer beyinde bu modifiye sitoskeleton proteinin bu kadar yaygın izlenmesine rağmen, tau' yu kodlayan genin klonlanması ile Alzheimer hastalığının herediter formlarında bu gene ait defekt gözlenmemiştir. Aynı zamanda benzer modifiye tau proteinleri subakut sklerozan panensefalit, Kuft hastalığı, Hallervorden-Spatz hastalığı, Guam' ın Parkinson demans kompleksi ve pugilistik demans gibi değişik beyin hastalıklarında da gözlenmiştir.

Alzheimer hastalığında genetik çalışmalar:

Alzheimer hastalığında klinik ve moleküler genetik çalışmalar ise otozomal dominant formların incelenmesi ile başlamıştır. Trizomy 21 (Down sendromu) hastalarının değişmez bir şekilde Alzheimer hastalığına benzer nöropatolojik fenotip oluşturmaları nedeni ile gen defektinin 21. kromozomda olduğu düşünülmüştür. 1987' de β APP geninin klonlanması ile 21. kromozomun uzun kolunda

* *Dementia Update. American Academy of Neurology 49th Annual Meeting, April 12-19, 1997 Boston, MA: 1997, American Academy of Neurology Press, USA, 1997, 39-61, 12 kaynak*

** *Harvard Medical School, Brigham and Women's Hospital, Boston, MA.*

*** *Araş Gör. Dr.*

**** *Prof. Dr., HÜTF Nöroloji AD, Ankara*

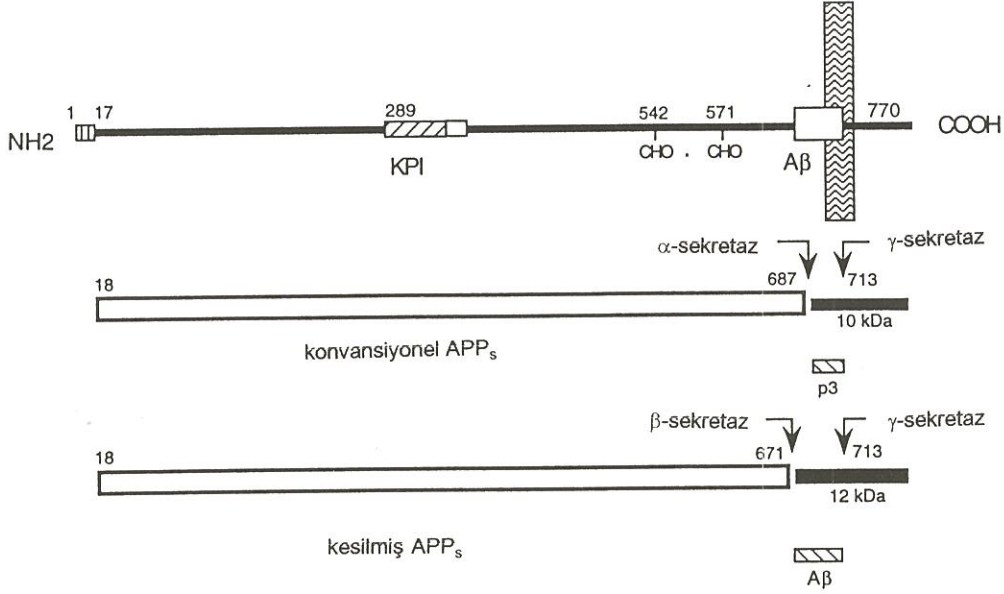


Fig.1: Beta-amiloid-prekürsör protein ve ana metabolik ürünlerinin şematik çizimi.
 En üstteki çizim 770 aminoasit içeren bilinen en büyük β APP alterne transkriptini göstermektedir. 17 aminoasitlik sinyal peptidi, amino terminalinde bulunmaktadır. Alternatif transkripsiyonu yapılan 56 ve 19 aminoasit kodlayan ekson bölgelerinin başlangıç yeri, peptidin 289. aminoasitine karşılık gelmektedir. "Kunitz type" (KPI) bölgesi bu eksonun kodladığı ilk bölgeyi, serin proteaz inhibitör bölgesini oluşturmaktadır. 542 ve 571. aminoasitler, N-glikolizedir. Hücre zarında bulunan 700-723 aminoasitleri arasındaki bölge çizimde taranmıştır. $A\beta$ bölgesi, beyaz kutu ile belirtilmiştir. Bu bölgenin ilk 28 aminoasitlik bölümü ekstrasellüler, 12-15 aminoasitlik bölümü transmembranaldır. Ortadaki çizimde oklar proteolitik kırılma bölgelerini göstermektedir. α -sekretaz proteinin büyük çözünebilir APPs parçasının kırılıp ekstrasellüler bölgeye salınmasını sağlarken, 83 aminoasitlik, 10 kDa' luk karboksi-terminal bölgesinin hücrede kalmasını sağlamaktadır. Bu 10 kDa'luk bölge de tam olarak bilinmeyen, γ -sekretaz olarak adlandırılan proteolitik enzim ile 713. aminoasit bölgesinden kırılarak, p3 peptidi ekstrasellüler aralığa salınır. En alttaki çizimde, peptidin, β -sekretaz olarak adlandırılan, tam olarak bilinmeyen proteolitik enzim tarafından alterne yolla 671. aminoasit seviyesinde kırılmasını göstermektedir. Bu enzim aktivitesi kesilmiş APPs' nin salınmasına neden olur. Geriye kalan 99 aminoasitlik, 12kDa' luk karboksi-terminal parçası ise γ -sekretaz tarafından kırılarak $A\beta$ parçasının salınımına neden olur.

lokale olduğu bulunmuş, 1991' de ise ailevi Alzheimer hastalarında β APP geninin kodlanan bölgesinde mutasyonun varlığı gösterilmiştir.

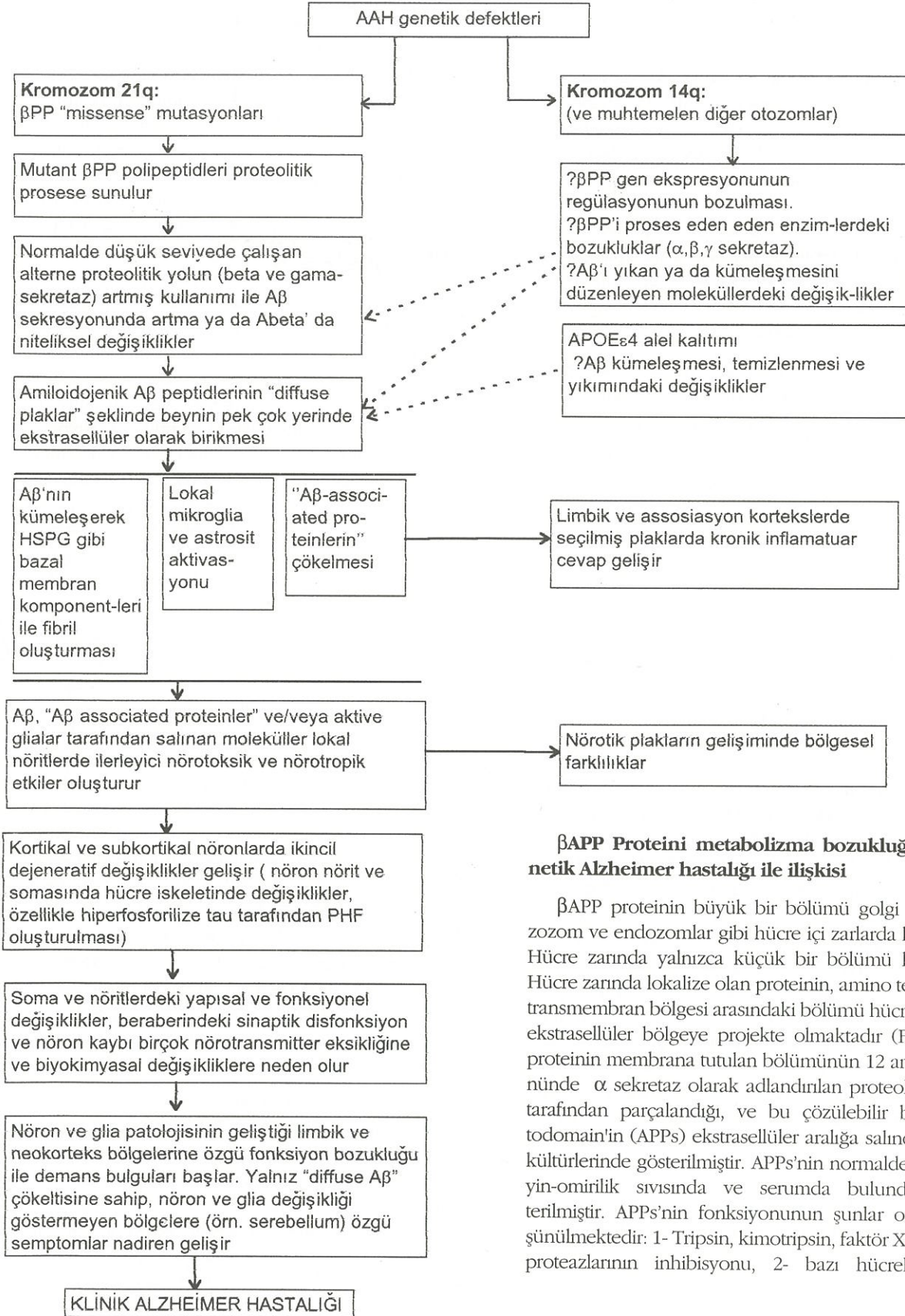
Değişik etnik gruplardaki diğer ailelerle yapılan çalışmalar ise β APP geninde farklı "missense" mutasyonların varlığını göstermiştir. Ancak bu çalışmalar yalnız altı "missense" mutasyonunu göstermiş olup, dünyada yalnızca bir kaç düzine ailedeki Alzheimer gelişmesinin genetik bazını açıklayabilmektedir.

Bu gelişmeleri takiben Gerald Schellenberg, Thomas Bird ve arkadaşları erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı olan ailelerde genetik defektin 14. kromozomun uzun kolunda lokalize olduğunu göstermiştir. Son zamanlarda sorumlu genin S182 olduğu bulunmuş ve bu gen tarafından kodlanan proteinin membran reseptörleri, kanal proteinlerine benzer şekilde hücre membranını yedi böl-

gede geçen bir protein olduğunu göstermiştir. Değişik etnik gruplardaki ailelerde S182 geninde en az sekiz farklı "missense" mutasyonun varlığı görülmüştür.

Biyokimyasal çalışmalar $A\beta$ ye bağlanma kapasitesi olan apolipoprotein E' nin varlığını göstermiş ve genetik çalışmalar bu proteini kodlayan genin 19. kromozomda lokalize olduğunu göstermiştir. Waren Strittmatter ve Allen Roses ApoE geninin $\epsilon 4$ polimorfizminin, geç başlayan Alzheimer hastalığında majör risk faktörü olduğunu belirtmiştir. Daha sonraki çalışmalar birçok etnik grupta, bir ya da iki ApoE $\epsilon 4$ alelinin bulunmasının geç başlangıçlı Alzheimer gelişme riskini belirgin şekilde artırdığını ve başlangıç yaşını düşürdüğünü, buna karşın ApoE $\epsilon 2$ alelinin bulunmasının ise hastalığın gelişme riskini azalttığını göstermiştir. Apo E $\epsilon 4$ aleline sahip olunması vakaların % 40-50 sinde Alzheimer hastalığı gelişmesinde majör genetik risk faktör olduğu belirtilmektedir.

Ailesel Alzheimer hastalığının (AAH) patogenezi açıklayan hipotetik Model



βAPP Proteinini metabolizma bozukluğunun genetik Alzheimer hastalığı ile ilişkisi

βAPP proteininin büyük bir bölümü golgi aparatı, lizozom ve endozomlar gibi hücre içi zarlarda lokalizedir. Hücre zarında yalnızca küçük bir bölümü lokalizedir. Hücre zarında lokalize olan proteinin, amino terminali ile transmembran bölgesi arasındaki bölümü hücre zarından ekstrasellüler bölgeye projekte olmaktadır (Fig. 1). Bu proteinin membrana tutulan bölümünün 12 aminoasit ö-nünde α sekretaz olarak adlandırılan proteolitik enzim tarafından parçalandığı, ve bu çözülebilir büyük ek-todomain'in (APPs) ekstrasellüler aralığa salındığı, hücre kültürlerinde gösterilmiştir. APPs'nin normalde insan beyin-omirilik sıvısında ve serumda bulunduğu gösterilmiştir. APPs'nin fonksiyonunun şunlar olduğu düşünölmektedir: 1- Tripsin, kimotripsin, faktör XI gibi serin proteazlarının inhibisyonu, 2- bazı hücrelerin eks-

trasellüler matrikse adhezyonu, 3- yara iyileştirici ve tropik etkiler. Ayrıca parçalanmamış β APP holoproteininin bilinmeyen bir liganda reseptör olduğu ve hücreler arası ilişkiyi sağladığı düşünülmektedir. β APP, α sekretaz tarafından koparılmadıysa, iki alternatif sekretaz aktivitesi ile koparılmaktadır: β sekretaz $A\beta$ ' yi amino terminalinden, γ sekretaz karboksi terminalinden koparmaktadır. Bu bulgular, β APP eksprese edilen hücrelerde, $A\beta$ nın hafif asidik intrasellüler veziküllere devamlı salındığını ve buradan ekstrasellüler aralığa bırakıldığını göstermektedir. $A\beta$ nın az oranda ve agreg olmadan bulunması halinde, fizyolojik görevi olduğu düşünülmektedir. Asetilkolin ve bradikinin, elektriksel depolarizasyon β APP' nin metabolizmasında α sekretaz aktivitesini kuvvetlendirmektedir.

Alzheimer hastalığının mekanizması, tanı ve tedavisinde normal $A\beta$ salgılanmasının anlamı

Genetik Alzheimer hastalığına yol açan $A\beta$ bölgesinin beş "missense" mutasyonu ve Dutch tipi herediter serebral hemoraji ve amiloidoz' la ilgili $A\beta$ bölgesinin mutasyonu hücre kültürlerinde çalışılmıştır. Bu çalışmalar, "missense" β APP mutasyonlarının, $A\beta$ salgılanmasını nitelik ve nicelik olarak değiştirerek beyinde amiloid çökeltisini artırdığını göstermiştir. Alzheimer hastalığında gösterilen mutasyonlar, β APP' nin primer fonksiyonunu bozmaktan çok, β APP' nin $A\beta$ ya metabolizmasını değiştirerek (örneğin sekresyonunu artırarak) etkin olmaktadır. Örneğin büyük bir İsveç ailesinde saptanan mutasyonda $A\beta$ bölgesinden hemen önceki aminoasitin değişerek methionin yerine leusin' in girdiği gösterilmiştir. Bu mutasyona ikincil olarak $A\beta$ salınımının arttığı ve bu kişilerde semptomların başlangıcından uzun süre önce plazma $A\beta$ miktarında artma olduğu saptanmıştır. Erken başlangıçlı Alzheimer hastalığında bulunan bir dizi mutasyonun $A\beta$ bölgesinin son aminoasitinden dört aminoasit sonra aminoasit substitüsyonu ile olduğu bulunmuştur. Bu mutasyon sonucu daha uzun, 42 aminoasitlik $A\beta$ sekresyonunun arttığı gözlenmiştir. Bu 42 aminoasitlik $A\beta$ ' nin klasik 40 aminoasitlik $A\beta$ ' den daha fazla çözülmez, amiloid çökeltileri oluşturduğu gösterilmiştir. 14. kromozomun S182 geninde olan mutasyonların da daha amiloidojenik $A\beta$ 1-42'nin salgılanmasında artışa neden olduğu gösterilmiştir. ApoE⁴ proteini ise $A\beta$ ' nin bağlanması, hücre içine alınımı ve yok edilmesini etkileyerek, amiloid plakların ve vasküler amiloid çökeltilerin artmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Alzheimer Hastalığının oluşumunda $A\beta$ çökeltmesi gerekli ancak tek başına yeterli olmayan bir faktördür.

Alzheimer hastalığındaki patogenetik kaskadı ile ilgili bilgilerin çoğu Down sendromlu hastaların ileri yaşta beyin patolojilerinin incelenmesi, normal yaşlanma sürecindeki Alzheimer benzeri lezyonların incelenmesi ve mutant formda β APP' i aşırı derecede sentezleyen transgenik farelerin çalışılması ile elde edilmiştir. Bu çalışmalar, artmış β APP "messenger" RNA ve proteinine ikincil olarak yaygın $A\beta$ plaklarının oluşmasının Alzheimer tipi patolojik bulguların gelişmesinin ilk belirtisi olduğunu göstermiştir. Patogenezde daha sonra $A\beta$ peptidlerinin fibriller plaklar halinde çökelmesi ve bunun lokal hücrel etkiyle tepkisel astrositoza, mikroglia hücrelerinin aktivasyonuna ve yakınındaki akson ve dendritlerde patolojik değişikliklere neden olduğu düşünülmektedir. Bu sitotoksik etkilerin ne kadının kümeleşen $A\beta$ proteini ve ne kadının amiloid plaklarda saptanan diğer proteinler (β amiloid-associated proteins": α 1-antikimotripsin, apolipoprotein E, serum amiloid P komponenti, heparan sülfat proteoglikan, klasik kompleman yolunun proteinleri) tarafından oluşturulduğu bilinmemektedir. Yine amiloid plaklara yakın akson ve dendritlerde, ve bunların hücre gövdelerinde hangi aşamada kinazların aktive olup, fosforazların inhibe olduğu ve tau hiperfosforilasyonuna neden olup, yumak oluşmasına yol açtığı bilinmemektedir. Her durumda, Alzheimer korteksinde değişik seviyelerde ancak birbirine yakın, birçok moleküler ve hücrel değişiklikler gerçekleşmektedir. Hiç şüphesiz amiloid plaklarla ilişkili olmayan nöronlar ve bunların yollarında da biyokimyasal ve morfolojik değişiklikler gerçekleşmektedir. Kolinerjik Meynert'in bazal çekirdeği, noradrenerjik "locus cereleus", serotonerjik "median raphe nükleusları" gibi subkortikal nöronlarda ve bunların amiloidden zengin kortikal alanlara projekte olan aksonlarında da büzülme, hücre kaybı ve yumak oluşumu sık olarak izlenmiştir. Nörofibriller yumakların ve nörofil ipliklerinin, β amiloid çökeltilerinin bulunmadığı etiolojik olarak farklı bazı hastalıklarda da bulunması nedeniyle, amiloidotik süreçte özgü olmadığı ve bir tip nöronal cevap olduğu, buna karşılık nörotik plakların Alzheimer hastalığı ve Down sendromuna daha özgün olduğu düşünülmektedir. Bilişsel olarak normal olan yaşlı hastalarda görülen amiloid plakları ise, amiloid çökeltilerinin yaygın tipte olması ve nörotik ve glial değişikliklerin gözlenmemesi ile ayrılır.

Alzheimer beyninde görülen nörotransmitter eksikliği yalnızca kolinerjik eksiklikle sınırlı değildir. 1970' den beri yapılan çalışmalarda bir çok nörotransmitter ve nöropeptidin de eksikliği olduğu gösterilmiştir. Tacrine gibi kolinerjik tedavi ile hastalarda beklenen semptomatik yararın sağlanamamasının bir açıklaması bu olabilir. Bir ya da iki ApoE⁴ aleli taşıyan hastaların Tacrine'e bu aleli taşımayanlara göre daha az cevap verdiği de gösterilmiştir.

Ailevi Alzheimer hastalığında klinik demansın gelişmesindeki hipotetik sıra Figür 2' de gösterilmiştir.

ALZHEİMER HASTALIĞINDA YENİ TANISAL YAKLAŞIMLAR

İlerleyici demans kliniği ile gelen hastalarda yapılması gereken incelemeler Tablo 1' de gösterilmiştir. Alzheimer hastalığında serum ve beyin-omirilik sıvısında A β seviyesi, beyin-omirilik sıvısında tau proteinin ölçümü klinik tanıda yardımcı olabilecek tetkiklerdir. Tau proteini seviyesinin yükselmesi ve A β seviyesinde düşme Alz-

heimer hastalığında spesifik ancak fazla sensitif olmayan bir bulgudur. Hastaların üçte birinden fazlasında bu iki parametrede değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Hastalarda ApoE genotipinin belirlenmesi bir başka tanısall yaklaşımdır. $\epsilon 4$ aleline sahip olmayan bir çok hastada Alzheimer hastalığının gelişmesi, yine $\epsilon 4$ aleline sahip herkesde Alzheimer hastalığının gelişmediği bilinmektedir. Bu nedenle ApoE genotipleme demans gelişen hastalarda yapılmalı, prediktif test olarak asemptomatik kişilerde kullanılmamalıdır.

Alzheimer hastalığında elde edilen moleküler bilgiler yeni ve etkili tedavilerin geliştirilmesini sağlıyor.

Tablo-1: İlerleyici Demansla Gelen Yaşlı Hastalarda Tanısal Yaklaşım

Her hastada yapılması gereken incelemeler

- Ailedeki demans öyküsünü de içeren nörolojik öykü
- İlaç öyküsü
- Mental muayeneyi de içeren nörolojik muayene
- Kan testleri: tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı, biyokimya profili, tiroid fonksiyon testleri, vitamin B₁₂, folik asit, sifilis serolojisi, plazma ilaç seviyeleri
- Beyin kompütürize tomografisi ya da magnetik rezonans grafisi

Öykü ve fizik muayene sonucunda gerekli görülen hastalarda yapılması gereken tetkikler

- Nöropsikolojik testler
- Psikiyatrik değerlendirme
- Elektroensefalogram
- HIV
- Lomber ponksiyon
- Santral sinir sistemi depresanlarını, stümülanlarını, metal iyonlarını içeren toksikolojik araştırma

Tablo- 2: Alzheimer Hastalığındaki Patogenetik Mekanizmayı Yavaşlatan ya da Önleyen Potansiyel Tedavi Stratejileri

- β -sekretaz ve/veya γ -sekretaz proteaz aktivitesinin kısmi inhibisyonu ile A β üretiminin azaltılması
- APP metabolizmasını amiloidojenik yoldan amiloidojenik olmayan yola çevrilmesi (örneğin birincil yollarla α -sekretaz ile parçalanarak β APP yüzdesinin artırılması)
- A β ve A β' ya bağımlı peptidleri yıkan ekstrasellüler proteazların aktivitesinin artırılması
- Çözünabilir A β monomerlerinin çözünmez, polimerik fibriller halinde kümelenmesinin önlenmesi
- Kümelenmiş A β tarafından oluşturulan özgün nöronal toksisitenin önlenmesi (örneğin nöron içi kalsiyum artışının önlenmesi)
- Olgun A β plaklarına eşlik eden mikrogliya aktivasyonunun ve astrosit proliferasyonunun önlenmesi
- Olgun A β plaklarının çevresinde oluşan akut faz protein cevabının, kompleman aktivasyonunun ve sitokin salınımının, santral sinir sistemine özgün anti-inflamatuar ajanlarla önlenmesi
- Nöronal kinaz ve fosfotaz aktivitelerindeki dengesizlikten dolayı tau proteininin hiperfosforilasyonu ve buna ikincil yumak oluşumunun kontrol edilmesi
- Plak ve yumak oluşumu ile giden nöron kaybının özgün trofik faktörlerin verilimi ile geciktirilmesi