

ALZHEIMER ARAŞTIRMALARINDA IN VIVO DENEYSEL MODELLER

Dr. Öğretim Üyesi Derya Deniz KANAN

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

- Alzheimer Hastalığı (AH), ilerleyici nöron ve sinaps kaybı ile karakterize edilen¹, **nörofibriler yumaklar** olarak adlandırılan hiperfosforile tau proteinlerinin kümelenmesi ve **amiloid plak (AP)** olarak adlandırılan amiloid β peptid ($A\beta$)' lerin birikimi gibi patofizyolojik lezyonların gözleendiği bir hastalıktır².

- Klinik olarak, bilişsel işlevlerde ilerleyici tarzda bir kayıp, takiben demans ve ölüm ile karakterize bir durum olarak tanımlanırken, patolojik olarak $A\beta$ ' lerin ekstrasellüler; hiperfosforile tau proteinlerin ise intrasellüler birikimi ve nöronal ölüm şeklinde tanımlanmaktadır^{3,4}.

- Yüzyılımızın önemli sağlık sorunlarından birisi olan AH, 65 yaş üzeri insanlar arasında en yaygın ölüm nedenleri arasında dördüncü sırada bulunmaktadır⁵.
- AH ve diğer demansların, yaşlanan dünya popülasyonu ile 2030 yılına kadar 66 milyona; 2050 yılına kadar ise 115 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir⁶.

- Yine 2018 yılında yapılan başka bir çalışmada, dünya genelinde yaklaşık 50 milyon insanın demanslı olduğu ve her 3 saniyede yeni demanslı vakaların raporlandığı bildirilmiştir⁷.
- Genel olarak, ortalama yaşam süresinin artması nedeniyle nörodejeneratif hastalıklara sahip hastaların sayısı da gün geçtikçe artmakta ve bu hastalıklar toplumsal sorun haline gelmektedir.

- Kronik hastalıkların sağlık sistemi ve topluma yükü oldukça büyüktür. Hızla yaşlanan nüfus özelliği sebebi ile ülkemizin, dünyada en fazla Alzheimer hastalığının görüldüğü ülkeler arasına katılacağı düşünülmektedir.
- Alzheimer hastalığının yaşam kalitesi, kişinin kendisi ve ailesi, sağlık sistemi açısından getirdiği yük değerlendirildiğinde, bu hastalığın patofizyolojisinin aydınlatılması bu nedenle çok önemlidir.

- Son yıllarda deneysel Alzheimer hayvan modelleri üzerine yapılan çalışmalar patogeneze mekanizmalarının aydınlatılması ve patogeneze yönelik yeni tedavi yöntemleri geliştirilmesi konusunda önem kazanmıştır.

Alzheimer deneysel hayvan modelleri

Transgenik olan modeller

- A β modelleri
- Tau modelleri

Transgenik olmayan modeller

- Yüksek yağ diyeti ile indüklenmiş AH modelleri
- AH' nin müdahale modelleri (Kimyasal olarak indüklenmiş AH modelleri ve lezyon modelleri) gibi...

Transgenik Olan Modeller

- Transgenik hayvan kendi genomunda *transgen* olarak adlandırılan yabancı DNA parçası taşıyan hayvan olarak tanımlanır.
- 1990' ların ortalarında ilk transgenik farelerde AH modellerinin oluşturulması, AH' nin moleküler mekanizmasının anlaşılması açısından önemli bir keşif olarak görülmektedir.

- APP, presenilin-1 (PS1) ve presenilin-2 (PS2) genlerindeki mutasyonların belirlenmesine dayanılarak, AH' nin ailesel geçişli formları ile çalışılmış ve bu modellerde amiloid birikimi, anormal Tau fosforilasyonu, inflamasyon veya davranışsal bozuklukları içeren AH ile ilgili çeşitli görüşler ortaya çıkmıştır.

Transgenik Olan Modeller / A β Modeli

- Tg2576
- PDAPP
- APP23
- TgCRND8
- PSEN1
- PSAPP
- APP/Lo

Transgenik Olan Modeller / Tau Modeli

- JNPL3
- Htau
- TAPP

Transgenik Modeller;

- Amiloid hipoteze katkı sağlamıştır.
- Güvenilir biyomarker bulabilmek için yararlıdır.
- Ulaşımı güçtür.
- Her laboratuvarın alt yapısı ve teknolojik imkanları aynı değildir.

Transgenik Olmayan Modeller

- Transgenik olmayan modeller, daha çok ileri yaştaki demanslı hastalardaki kognitif bozuklukların, kolinergic eksiklikten kaynaklandığını savunan, "kolinergic hasar" hipotezini test etmek için kullanılmıştır.

Transgenik Olmayan Modeller

- Kimyasal bileşik uygulamaları (skopalamın, kolşisin, alüminyum)
- İatrojenik lezyon oluşturma (beyin travması, bilateral hipokampal fimbrio-fariks kesilmesi, adrenalektomi, ooferektomi ve iskemi sonrası hipertermi)
- ECS (Elektrokonvülsif şok)
- IgG-saporin 192 modeli

- İnsülin/fosfoinazitid- 3-kinaz (PI3-K) yolağı üzerinden oluşturulan **hiperinsülinemik model**
- A β antikoru uygulanarak oluşturulan **immün yanıt modeli**
- **Streptozotosin (STZ) ile indüklenmiş AH modeli**
- Yüksek kolesterolle besleme,
- D-galaktoz uygulaması ile birlikte ya da tek başına overektomi
- Serebral dejenerasyon modelleri

- Alzheimer hastalığının etiyopatogenezi ile ilişkili hipotezlerden biri de oksidatif stres hipotezidir.
- Alzheimer hastalığında oksidatif hasarın arttığı ve bu artışın hastalıkta ortaya çıkan nöronal dejenerasyona ve ölüme neden olabileceği ileri sürülmüştür.

- Alzheimer hastalığının etiopatogenezinde oksidatif stresin katkısını gösteren bulgular arasında Alzheimer hastalarının beyinlerinde serbest radikal oluşumunu uyaran demir, alüminyum ve civanın konsantrasyonlarının artmasına, lipid peroksidasyonunun, protein ve DNA oksidasyonunun artmasına, enerji metabolizmasının bozulmasına ve sitokrom oksidaz C miktarlarının azalmasına, NFY'lerde ve amiloid plaklarda ileri glikozilasyon son ürünlerine rastlanmıştır.

Özetle...

- **Cerrahi yaklaşım** (Serebral Dejenerasyon Modelleri: Beynin korteks, hipokampus ve ön beyin bazal nükleus bölgesi gibi bölgelerinde stereotaksik cerrahi yöntemlerle lezyon oluşturmak)
- **Kimyasal madde kullanımı**
- **Elektriksel stimülasyon uygulaması**
- **Transgenik hayvan hazırlama**

Cerrahi Yöntemle Lezyon Oluşturma

- Stereotaksik yöntemle belirlenen beyin bölgesinin aspirasyon gibi tekniklerle uzaklaştırılması, beyinde özel bağlantı bölgelerinin kesilmesi veya belirlenen beyin bölgesinin özel çözeltiler ya da radyo frekansları ile hasarlanması deney hayvanlarında Alzheimer hastalık modeli oluşturmak için kullanılmaktadır.
- Davranıştan sorumlu olduğu düşünülen bölgeler deneysel olarak lezyon oluşturma bölgeleri olarak seçilir.

Kimyasal Madde Kullanımı

Nörotoksik maddeler;

- Eksitotoksik amino asitler (ibotenik asit),
- Katekolamin toksinleri (6-hidroksidopamin),
- İndolamin toksinleri (5-7-dihidroksitriptamin),
- Kolinergik toksinler (antikolinergikler),
- Tübilin-bağlayan toksinler (kolşisin: hipokampal granüler hücreler ve bazal ön beyin kolinergik nöronlar)

Kimyasal Madde Kullanımı

- Farmasötik maddeler;
 - Skopolamin (muskarinik asetilkolin reseptörünün aktivitesini engelleyerek AH' de gözlemlenenlere benzer şekilde elektrofizyolojik değişiklikler ve geçici bilişsel amnezi ortaya çıkarır)
 - Etanol
 - Organofosfat pestisitler
- Diyete ilave edilen maddeler;
 - Alüminyum
 - N-aminodeanol (NADe)

Elektriksel Stimulasyon Uygulama

- ECT sırasında amigdala, hipokampus, dentat gyrus gibi temporal lob bölgeleri kolayca etkilenebilir.
- Elektriksel stimülasyon uygulama sonucu, nörotransmitter ilişkili değişiklikler ortaya çıkar. Asetilkolin, adrenerjik, serotonin reseptör sayılarında azalma olur.

Transgenik Hayvan Oluşturmak

- Genetik mutasyon oluşturulmuş deney hayvanları Alzheimer hastalık modeli için değişik amaçlarla hazırlanmışlardır.
- Ancak her merkezde gerekli teknolojiye sahip olamama sebebiyle transgenik hayvan oluşturmak çok yaygın değildir.

AlCl₃ İle Oluşturulan Modeller

- 45 gün süreyle ip yolla 40 mg/kg/gün/ip AlCl₃
- 7 gün süreyle ip yolla 10 mg/kg/gün AlCl₃
- 30 gün süreyle oral yolla 100 mg/kg/gün AlCl₃ (fare)
- 28 gün süreyle oral yolla 50 mg/kg AlCl₃ (sıçan)
- 28 gün süreyle ip yolla 100 mg/kg AlCl₃ (sıçan)

- 50 gün süreyle ip yolla 100 mg/kg $AlCl_3$ (fare)
- 60 gün boyunca ip yolla 100 mg/kg $AlCl_3$ (sıçan)
- 14 gün süreyle oral yolla 200 mg/kg $AlCl_3$ (sıçan)
- 12 hafta süreyle oral yolla 100 mg/kg $AlCl_3$ (fare)
- 90 gün süreyle oral yolla 50 mg/kg $AlCl_3$ (fare)

Diğer yöntemler...

- Deneysel AH modeli oluşturmak için overektominin ardından 10 hafta, her gün 100 mg/kg dozda D-galaktoz (i.p.) uygulaması
- Farelere ip yolla (D-galaktoz 60 mg/kg) + oral yolla ($AlCl_3$ 5 mg/kg)
- Overektomi + galaktoz (80 mg/kg/gün)
- Farelere bilateral ICV-STZ (1.5 mg/kg/day) infüzyonu (1 ve 3. gün her hemisfere 1.5 μ l)

- $A\beta$, 5 gün boyunca bilateral DG' a enjeksiyon
- Sıçanların hipokampusüne $A\beta$ 1-42 enjeksiyonu
- Sıçanlarda adrenalectomi sonrası hipokampusün dentat girus ve granüler tabakada dejenerasyon ve sonrasında bilişsel bozulma

MODELİN DOĞRULANMA AŞAMASI

Davranış Testleri

- Açık alan testi
- Morris su tankı
- Yükseltmiş labirentler (I, Y, T, Artı)
- Pasif sakinme

Histopatolojik Değerlendirme

- A β Plaklar
- Nörofibriler Yumaklar

Bu alandaki çalışmalarımız;



European Journal of Pharmacology 407 (2000) 159–164

ejp

www.elsevier.nl/locate/ejphar

The effects of some K⁺ channel blockers on scopolamine- or electroconvulsive shock-induced amnesia in mice

Salim Y. Inan^a, Fazilet Aksu^{a,*}, Firuz Baysal^b

^a *Department of Pharmacology, School of Medicine, University of Çukurova, 01330 Balcali, Adana, Turkey*

^b *Department of Pharmacology, School of Medicine, University of Celal Bayar, Manisa, Turkey*

Received 8 June 2000; received in revised form 13 September 2000; accepted 15 September 2000

NJC



PAPER



Cite this: *New J. Chem.*, 2018, 42, 8098

Synthesis of curcumin complexes with iron(III) and manganese(II), and effects of curcumin–iron(III) on Alzheimer's disease†

Nurcan Bicer,^a Emel Yildiz, ^{*a} Arash Alizadeh Yegani ^b and Fazilet Aksu ^b

- $AlCl_3$ ile oluşturulan deneysel Alzheimer modelinde davranış, öğrenme ve belleğin değerlendirilmesi ve beyin histopatolojik incelenmesi
- $AlCl_3$ ile oluşturulan deneysel Alzheimer modelinde oksidatif stres parametrelerinin değerlendirilmesi
- $AlCl_3$ ile oluşturulan deneysel Alzheimer modelinde beyin BDNF düzeylerinin araştırılması

- $AlCl_3$ ile oluşturulan deneysel Alzheimer modelinde testis ve overlerin histopatolojik incelenmesi
- $AlCl_3$ ile oluşturulan deneysel Alzheimer modelinde M1 reseptörleri ile Adenozin reseptörleri ilişkisinin araştırılması

TEŞEKKÜR EDERİM...

Kaynaklar

- 1. Kim DH, Huh JW, Jang M, Suh JH, Kim TW, Park JS, Yoon SY. Sitagliptin increases tau phosphorylation in the hippocampus of rats with type 2 diabetes and in primary neuron cultures. *Neurobiol. Dis* 2012; 46(1): 52-8.
- 2. Lehmann S, Delaby C, Touchon J, Hirtz C, Gabelle A. Biomarkers of Alzheimer's disease: the present and the future. *Revue neurologique* 2013; 169(10): 719-23.
- 3. Bertram L, Lill CM, Tanzi RE. The genetics of Alzheimer disease: back to the future. *Neuron* 2010; 68(2): 270-81.
- 4. Aly HF, Metwally FM, Ahmed HH. Neuroprotective effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) in rat model of Alzheimer's disease. *Acta Biochim Pol* 2011; 58(4): 513-20.
- 5. Sonkusare SK, Kaul CL, Ramarao P. Dementia of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders-- memantine, a new hope. *Pharmacol Res* 2005; 51(1): 1-17.
- 6. Wortmann M. Dementia: a global health priority - highlights from an ADI and World Health Organization report. *Alzheimers Res Ther* 2012; 4(5): 40.
- 7. Çelebi A. Farelerde skopolamin ile oluşturulan demans modelinde agomelatin'in etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, 2019.