

SİNİR BİLİMDE GÜNCEL TEMEL KAVRAMLAR



EDİTÖR
DOÇ. DR. ALİ ASLAN



SINIR BİLİMDE GÜNCEL TEMEL KAVRAMLAR

EDİTÖR

Dr. Ali ASLAN

YAZARLAR

Prof. Dr. Ahmet BAYRAK
Prof. Dr. Tülin BAYRAK
Doç. Dr. Ali ASLAN
Doç. Dr. Gülay HACIOĞLU
Doç. Dr. Ülkü KARAMAN
Doç. Dr. Selma CIRRIK
Dr. Öğr. Üyesi Adem TOKPINAR
Dr. Öğr. Üyesi Elif DOĞAN
Dr. Öğr. Üyesi Emel KABARTAN
Dr. Öğr. Üyesi Halil YILMAZ
Dr. Öğr. Üyesi Muhammet DEĞERMENCİ
Dr. Öğr. Üyesi Mücahit SEÇME
Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT
Dr. Öğr. Üyesi Saim SEZER SONDAŞ
Dr. Öğr. Üyesi Semih TAN
Dr. Öğr. Üyesi Sümeyya Deniz AYBEK
Dr. Öğr. Üyesi Türkan Mutlu YAR
Öğr. Gör. Burak Oğuzhan KARAPINAR
Arş. Gör. Selen YILMAZ
Dr. Feyza DOĞAN
Dr. Ramazan ÜZEN
PhD. Kübra ŞAHİN
Seçil TAN



Copyright © 2023 by iksad publishing house
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, distributed or
transmitted in any form or by
any means, including photocopying, recording or other electronic or mechanical
methods, without the prior written permission of the publisher,
except in the case of
brief quotations embodied in critical reviews and certain other
noncommercial uses permitted by copyright law. Institution of Economic
Development and Social
Researches Publications®

(The Licence Number of Publicator: 2014/31220)

TURKEY TR: +90 342 606 06 75

USA: +1 631 685 0 853

E mail: iksadyayinevi@gmail.com

www.iksadyayinevi.com

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.

Iksad Publications – 2023©

ISBN: 978-625-367-109-9

Cover Design: Enes KÜÇÜK

June / 2023

Ankara / Turkey

Size = 16 x 24 cm

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....1

BÖLÜM 1

BAĞIMLILIKTA ROL OYNAYAN NÖROTRANSMİTERLER

Doç. Dr. Gülay HACIOĞLU

Doç. Dr. Selma CIRRIK.....3

BÖLÜM 2

BAZAL ÇEKİRDEKLERİN ANATOMİSİ VE KLİNİK ÖNEMİ

Dr. Öğr. Üyesi Adem TOKPINAR

Öğr. Gör. Burak Oğuzhan KARAPINAR.....49

BÖLÜM 3

CEREBELLUM

Dr. Öğr. Üyesi Adem TOKPINAR

Arş. Gör. Selen YILMAZ.....61

BÖLÜM 4

COENUROSI

Dr. Öğr. Üyesi Türkan Mutlu YAR

Doç. Dr. Ülkü KARAMAN.....79

BÖLÜM 5

ENTERİK SINIR SİSTEMİ - “İKİNCİ BEYNİMİZ”

Dr. Öğr. Üyesi Muhammet DEĞERMENCİ.....93

BÖLÜM 6

EPİLEPSİDE NÖRON GLİA ETKİLEŞİMİ

Dr. Öğr. Üyesi Elif DOĞAN.....109

BÖLÜM 7

İNSULAR KORTEKSİN FİZYOPATOLOJİSİ

Doç. Dr. Ali ASLAN

Dr. Feyza DOĞAN.....127

BÖLÜM 8

KAN BEYİN BARIYERİNİN GEÇİRGENLİĞİ

Doç. Dr. Selma CIRRIK.....145

BÖLÜM 9

MERKEZİ SİNİR SİSTEMİNE YERLEŞEN SERBEST YAŞAYAN AMİPLER

Dr. Öğr. Üyesi Türkan Mutlu YAR

Doç. Dr. Ülkü KARAMAN.....177

BÖLÜM 10

NÖRODEJENERASYONDA KODLAMAYAN RNA'LARIN ROLLERİNE GÜNCEL BAKIŞ

Dr. Öğr. Üyesi Mücahit SEÇME

Dr. Ramazan ÜZEN.....201

BÖLÜM 11

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA DNA METİLYASYONU DEĞİŞİMLERİ

Dr. Öğr. Üyesi Emel KABARTAN.....223

BÖLÜM 12

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA ER STRESİ VE KATLANMAMIŞ PROTEİN CEVABI

PhD. Kübra ŞAHİN.....243

BÖLÜM 13

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA GEN TERAPİSİ

Dr. Öğr. Üyesi Sümeyya Deniz AYBEK.....265

BÖLÜM 14

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA HOMOSİSTEİNİN ROLÜ

Prof. Dr. Tülin BAYRAK

Prof. Dr. Ahmet BAYRAK.....295

BÖLÜM 15

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA OTOFAJİ

Dr. Öğr. Üyesi Saima SEZER SONDAŞ.....309

BÖLÜM 16

OKSİDATİF STRESİN NÖRODEJENERASYON ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT.....321

BÖLÜM 17

SPİNA BİFİDA GELİŞİMİNDE ROL ALAN MOLEKÜLER MEKANİZMALAR

Dr. Öğr. Üyesi Semih TAN

Seçil TAN.....337

BÖLÜM 18

SPİNA BİFİDA

Dr. Öğr. Üyesi Halil YILMAZ.....

359

ÖNSÖZ

Nörolojik bozukluklar, dünya çapında engelliliğin önde gelen nedeni ve ikinci önde gelen ölüm nedenidir. Son 30 yılda, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde nörolojik hastalıklara bağlı ölümlerin ve engellilerin kesin sayısı önemli ölçüde artmış ve nüfus artışı ve yaşlanmanın bir sonucu olarak küresel olarak daha fazla artış beklenmektedir. Etkilenen insan sayısındaki bu artış, majör nörolojik bozuklukların önlenmesi ve yönetimindeki ilerlemelerin, küresel demografik değişikliklere karşı koymak için yeterince etkili olmadığını göstermektedir. Bu nedenle, bu yükü azaltmak için acil önlemlere ihtiyaç vardır. Fonksiyonel bozuklukları olan hastalarda nöroloğun rolü geleneksel olarak tanı koymakla, bir "hastalığı" dışlamakla ve semptomları "organik olmayan" veya "psikojenik" olarak telaffuz etmekle sınırlandırılmıştır. İşlevsel bozukluğu olan bir hastanın rutin değerlendirmesi sırasında nöroloğun tedaviye öncülük etmesi için birçok fırsat mevcuttur. Bu fırsatlar öykü alma sürecinde, muayene sırasında ve tedavi ile konsültasyonun sonunda ortaya çıkar.

Dr. Ali ASLAN

BÖLÜM 1

BAĞIMLILIKTA ROL OYNAYAN NÖROTRANSMİTERLER

Doç. Dr. Gülay HACIOĞLU¹
Doç. Dr. Selma CIRRIK²

¹Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Giresun, Türkiye.
gulayhacioglu@yahoo.com, Orcid ID: 0000-0002-8528-2371

²Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.
selmacirrik@gmail.com, Orcid ID: 0000-0001-8474-0185

GİRİŞ

Bağımlılık, genellikle ilaçların tıbbi olmayan alışkanlık ve nedenlerle kendi kendine uygulanmasıyla tanımlanır (Wise ve Robble, 2020). Bağımlılık yapan ilaçların ortak noktası beynin ödül devresinin işleyişini geliştirmeleridir. Çekirdek ödül devresi, medial ön beyin demeti aracılığıyla ventral tegmental alan (VTA)'yı, nükleus akumbensleri ve ventral pallidumu birbirine bağlayan bir seri devreden oluşur. Başlangıçta hedonik tonun ayar noktasını basitçe kodladığına inanılsa da, bu devrelerin artık işlevsel olarak çok daha karmaşık olduğuna, ayrıca dikkati, ödül beklentisini, ödül beklentisinin onaylanmamasını ve teşvik edici motivasyonu kodladığına inanılıyor. Bu devrelerdeki "hedonik düzensizlik" bağımlılığa yol açabilir. Ödül devresindeki "ikinci aşama" dopaminerjik bileşen, çok önemli olan ve bağımlılık yapan ilaca duyarlı bileşendir. Bağımlılık yapan tüm ilaçların ortak noktası, akumbens çekirdeğindeki dopaminerjik sinaptik işlevi doğrudan veya dolaylı olarak, hatta trans-sinaptik olarak artırmalarıdır. Kendi kendine ilaç uygulaması, nükleus akumbensteki dopamin seviyeleri tarafından düzenlenir ve buradaki dopamini istenen hedonik seviyeyi korumak için belirli yüksek bir aralıkta tutmak için yapılır. Bağımlılık yapan ilaçların bazı sınıfları için (örn. opiyatlar), kronik kullanımla öforik etkilere karşı tolerans gelişir. Kullanım sonrası disfori, daha sonra ödül devresi hedonik tonuna hâkim olmaya başlar ve bağımlılar artık uyuşturucuları kafayı bulmak için değil, sadece normale dönmek için kullanırlar. Bağımlılık yapıcı maddelerin haz verici etkilerine aracılık eden beyin devreleri, fiziksel bağımlılığa aracılık edenlerden ve aşırma ve nüks etmeye aracılık edenlerden anatomik, nörofizyolojik ve nörokimyasal olarak farklıdır (Gardner, 2011). Uyuşturucu bağımlılığına yatkınlıkta önemli genetik farklılıklar vardır, ancak stres ve sosyal yenilgi gibi çevresel faktörler de beyin ödüllendirme mekanizmalarını bağımlılığa karşı savunmasızlık oluşturacak şekilde değiştirir. Kısacası, "biyo-psiko-sosyal" etiyojoloji modeli bağımlılık için çok uygundur. Bağımlılık, beynin ödül devresi içindeki hipo-dopaminerjik işlevsiz bir durumla ilişkili görünmektedir. Bağımlılıkta serotonerjik, opioid, endokannabinoid, histaminerjik ve glutamaterjik mekanizmalar da ima edilmektedir. Kritik olarak, uyuşturucu bağımlılığı ara sıra eğlence amaçlı kullanımdan, dürtüsel kullanıma ve alışılmış zorlayıcı kullanıma doğru ilerler. Bu, ödül güdümlü davranıştan alışkanlık güdümlü uyuşturucu arama davranışına doğru bir ilerleme ile bağlantılıdır. Bu davranışsal ilerleme,

uyuşturucu arama davranışı (nüksetme) üzerinde ventral striatalden (nükleus akumbens) dorsal striatal kontrole nöroanatomik bir ilerleme ile ilişkilidir. İlaçla tetiklenen nüksetme, akumbens çekirdeğini ve nörotransmitter dopamini içerir. Stresle tetiklenen nüksetme, (a) amigdalanın merkezi çekirdeğini, stria terminalisin yatak çekirdeğini ve nörotransmitter kortikotropin serbestleştirici faktörü ve (b) beyin sapının lateral tegmental noradrenerjik çekirdeklerini ve nörotransmitter norepinefrini içerir. İşaretle tetiklenen nüksetme, amigdalanın bazolateral çekirdeğini, hipokampusu ve nörotransmitter glutamati içerir (Gardner, 2011). Beyindeki bağımlılık yapıcı ilaç etkisinin nöroanatomisi, nörofizyolojisi, nörokimyası ve nörofarmakolojisi, şu anda uyuşturucu bağımlılığının farmakoterapötik tedavisi için bazıları umut verici görünen çeşitli stratejiler üretmektedir.

Bağımlılık yapan ilaçların kötüye kullanımı, kaydedilen insanlık tarihi kadar eski tıbbi ve toplumsal bir sorundur. Bu ilaçlar arasında çok az farmakolojik benzerlik olduğu görülüyor. Bazıları- barbitüratlar, etanol, opiyatlar ve benzodiazepinler- yatıştırıcıdır; diğerleri- nikotin, kokain ve amfetaminler- uyarıcıdır. Bazıları- opiyatlar ve kannabinoidler- antinöroseptik, diğerleri (uygun laboratuvar veya klinik durumlarda) pronöroseptiktir. Etanol ve opiyatlar gibi bazıları çarpıcı derecede fiziksel bağımlılık yaratırken, kokain gibi diğerleri çok az fiziksel bağımlılık üretir. Bununla birlikte, birkaç ortak nokta hem açık, hem de öğreticidir. Bağımlılık yapan tüm ilaçlar sübjektif olarak ödüllendirici, pekiştirici ve zevk vericidir (Gardner, 2011). Laboratuvar hayvanları, tıpkı insanların yaptığı gibi, gönüllü olarak bunların alımını kendi kendine yönetir. Ayrıca, hayvanlardaki iştah sıralaması, insanlardaki iştah sıralamasına paraleldir (Gardner, 2000). Belki de en anlamlısı, tüm bağımlılık yapan uyuşturucuların (LSD benzeri ve meskalin benzeri halüsinojenler hariç) beyin ödül devresini aktive etmesi ve böylece uyuşturucu bağımlılığının aradığı öznel "yüksekliği" üretmesidir (Gardner, 2011).

1. BEYNİN ÖDÜL DEVRESİ

Beynin ödül devresi ilk olarak 1950'lerin başında McGill Üniversitesi'nde Olds ve Milner (1954) tarafından keşfedildi. Araştırmacılar, hayvanların, anatomik olarak medial ön beyin demeti ile ilişkili subkortikal yapıların hafif elektriksel uyarımını aldıkları bir laboratuvar alanına tekrar

tekrar döndüklerini bulmuşlardır. Daha sonra, hayvanların bu tür bir beyin uyarımı almak için hevesle görevleri (örneğin, test odalarındaki duvara monte edilmiş kolları bastırmak) yerine getirdiklerini keşfettiler. Diğer araştırmacılar, insan olmayan primatlarda elektriksel beyin stimülasyon ödülü üzerinde çalıştılar ve primatlardaki anatomik beyin substratlarının kemirgenlerdekiyle homolog olduğunu doğruladılar (Routtenberg ve ark., 1971). Sofistike elektrofizyolojik teknikler kullanan Gallistel ve ark. (1981), elektriksel beyin stimülasyonu ödülünü destekleyen birincil nöral substratın, medial ön beyin demetinin orta derecede hızlı ileten, miyelinli inen nöral lif sistemi olduğunu belirledi. Bu sistem medial ön beyin demetinin ön yatak çekirdeklerinden (hipotalamus ve preoptik alanın önünde bir dizi derin subkortikal limbik alan) kaynaklanır, medial ön beyin demeti yoluyla orta beyindeki VTA'ya iner ve sonra yukarı doğru yükselerek nükleus akumbens, koku alma tüberkülü ve frontal korteks dahil olmak üzere seçilmiş bir ön beyin limbik lokus grubuna bağlanır.

2. DOPAMİN

Bağımlılık yapan ilaçlar tarafından beyin ödül devresinde etkinleştirilen en önemli nörotransmitter dopamindir. Bu bilgi, onlarca yıllık araştırmalar sonucunda öğrenilmiştir ve birçok uyumlu bulguya dayanmaktadır. Neredeyse tüm bağımlılık yapan ilaçlar işlevsel dopamin agonistleridir- bazıları doğrudan, bazıları dolaylı, hatta bazıları trans-sinaptiktir (Gardner, 2011). Aslında, LSD ve meskalin benzeri halüsinojenler dışında, fonksiyonel dopamin agonizmi, tüm bağımlılık yapan ilaçların paylaştığı tek farmakolojik özelliktir. Bununla birlikte, dopamin agonistlerinin intraserebral mikroenjeksiyonları koşullu yer tercihi üretir ve istemli intraserebral kendi kendine uygulamayı destekler.

Bağımlılık tıbbi son yıllarda çok büyük ilerlemeler kaydetmiştir. Bilgideki bu muazzam ilerlemeler, kaydedilen insanlık tarihi kadar eski olan bir hastalık için kesin tedavilerin geliştirilmesi için iyiye işarettir. Bağımlılık yapan ilaçların çoğu, nörotransmitter dopaminin hücre dışı seviyelerinde yükselmelere neden olur. Dopamini sentezleyemeyen veya kullanamayan hayvanlar, koşullu reflekslerden veya yemek arama davranışından yoksundur; sadece koşulsuz tamamlayıcı refleksleri vardır (Ungerstedt, 1971). Dopamin içeren nöronların patlama deşarjları (fazik ateşleme) uyarıları, ödüller ve cezalandırıcılarla ilişkilendiren uzun süreli anılar oluşturmak için gereklidir.

Bağımlılık yapıcı ilaçların alışılmış alımının bir sonucu olarak beyinde eksprese edilen dopamin reseptörleri azalır.

Dopamin, nöronlar tarafından sentezlenen ve diğer nöronların aktivitesini etkileyecek şekilde salınan bir kimyasal nörotransmitterdir. Bazen bir nöromodülatör olarak tanımlanır, çünkü diğer nörotransmitterlerin yerine geçmek yerine duyarlılığı modüle eder. Dopamin, glutamatın etkisini güçlendiren veya azaltan uzun süreli hücrel modifikasyonların gelişimini kolaylaştırır ve bu uyarlamalar, müteakip arama davranışlarını kontrol etmek için ödül belirleyicilerinin etkinliğini tayin eder (Wise ve Robble, 2020). Dopamin fonksiyonunun dört yönü bağımlılıkla ilgilidir: (1) dopamin içermeyen hayvanların yalnızca koşulsuz refleksleri vardır, (2) dopamin nöronlarının fazik ateşlemesi öğrenmeyi güçlendirir, (3) dopaminergic nöronların tonik/pacemaker ateşlemesi motivasyonu kontrol eder veya buna katkıda bulunur ve (4) alışkanlık bağımlılığı diğer teşviklere olan ilgiyi azaltır. Dopamin sistemlerinde seçici hasar olan yetişkin hayvanlar akinetiktir. Yapay olarak beslenmezlerse açlıktan ölürlere (Ungerstedt, 1971). Yeterli motor kapasiteleri vardır: ayak darbelerine yanıt verirler (Cooper ve ark., 1973), başlarını sallama, tımar etme ve kısıtlamadan kaçma girişiminde bulunma yeteneğini korurlar; derin suya konulursa yüzerler ve bir buz banyosuna konulursa kaçarlar (Keefe ve ark., 1989). Ancak, dopamini tükenmiş hayvanlar açık alanda spontane hareketler gösteremezler (Ungerstedt 1971), hafif dokunma, işitsel veya görsel uyaranlara yalnızca minimal düzeyde yanıt verirler, hareketli uyaranları takip edemezler veya yiyecek kokularına tepki veremezler (Marshall ve Teitelbaum, 1974). Basitçe söylemek gerekirse, bu hayvanların lezyona uğramadan önce öğrenilmiş koşulsuz refleksleri ve alışkanlıkları vardır, ancak yeni tepkiler öğrenemezler. Ayrıca, lezyona maruz kaldıktan sonra, öngörücü uyaranlara tepki verme motivasyonundan yoksundurlar. Bu yaşam için kritiktir; öngörücü uyaranlar, hayvanı bir ödülün diğerine yönlendirir. Özetle, dopamin tükenmesi, hayvanları şartlandırılmış refleksleri öğrenemez hale getirir.

Hem dopamin sistemi, hem de dopamin sisteminin sinaptik hedefleri heterojendir. Dopamin sistemi, her biri farklı işlevlere hizmet eden striatuma, medial prefrontal kortekse, hipokampüse, amigdalya ve diğer alanlara yansır (Menegas ve ark., 2018). Bazı dopamin nöronları koşulsuz ödüllere yanıt verirken (Ljungberg ve ark., 1992) diğerleri koşulsuz cezaya tepki verir

(Lammel ve ark., 2011). Bazıları ödülü tahmin etmeye gelen nötr uyarılara yanıt verir (Ljungberg ve ark., 1992); diğerleri ise cezayı tahmin etmeye gelen nötr uyarılara tepki verir (Mileykovskiy ve Morales, 2011). Striatum içinde, çıkış nöronlarının yarısına yakını sadece dopaminerjik D1 reseptörlerini ve diğer yarısı sadece D2 reseptörlerini eksprese eder (sadece birkaç hücre her ikisini de ifade eder). D1 reseptörlerinin dopamin için düşük afinitesi vardır. D1'i eksprese eden çıkış nöronları etkinleştirildiğinde eylemi teşvik ederler (Kravitz ve ark. 2012). D2 reseptörlerinin dopamine afinitesi yüksektir ve genellikle dopamin molekülleri tarafından işgal edilirler. D2'yi eksprese eden nöronlar aktive edildiğinde ise genellikle eylemi engelledikleri düşünülmektedir (Kravitz ve ark. 2012). Bu nedenle, dopaminin D1 striatal nöron aktivasyonu bir dizi hareketi mümkün kılarken, D2 striatal nöron aktivasyonu birden fazla potansiyel olarak çelişkili hareket setini devre dışı bırakır.

Bağımlılık yapan ilaçların her birinin dopamin sistemini harekete geçirip geçirmediği ve nasıl harekete geçirdiği merak konusudur. Kokain, amfetamin, opiyatlar, alkol, nikotin, esrar, barbitüratlar ve benzodiazepinler dopamin sistemini aktive etseler de farklı derecelerde yaparlar. Yüksek dozlarda kafein dopamin sistemini aktive eder, ancak kendi hücre içi dopamin benzeri düşük doz etkilerine sahiptir. Yüksek enerjili yiyecekler ve belki de kumarın heyecanı da dopamin sistemini harekete geçirir ve bunu ani tepkilere neden olacak şekilde yapar.

2.1. Kokain

Kokain psikomotor bir uyarıcıdır. Kokain ve amfetamin, kasılmalara neden olan ve bağımlılık yapmayan geleneksel uyarıcılar olan strikinin, pentilentetrazol ve pikrotoksininden farklıdır. Kokain, hücre dışı dopamin seviyelerini yükseltir ve alışkanlık oluşturur (Deneau ve ark., 1969). Amfetamin öforisi ile örtüşen, ancak diğer uyuşturuculara atfedilen öforiden oldukça farklı olan bir tür öforiye neden olur. Kokainin uyarıcı etkisi davranış ve ruh halini canlandırır, can sıkıntısını ve yorgunluğu giderir. Kokain, dopamin taşıyıcı tarafından dopaminin geri alımını bloke ederek dopaminerjik sistemi aktive eder. Ayrıca norepinefrin ve serotonin nörotransmitterlerinin geri alımını da engeller. Kokainin ödüllendirici olduğu kadar caydırıcı etkileri de vardır; caydırıcı etkileri norepinefrin veya serotonin taşıyıcısını bloke

etmesinden kaynaklanıyor olabilir. Dopamin sisteminin çeşitli projeksiyonları arasında dorsal striatuma olanı alışkanlık oluşumu için önemli görünmektedir (Yin ve ark., 2004). Kokain deneyimi olan hayvanlar, yalnızca ilacın ödüllendirici etkilerini değil, aynı zamanda kokain maruziyetiyle veya sonrasında ortaya çıkan kokain yoksunluğunun caydırıcı yan etkilerini de öğrenirler. Kokain bağımlısı insanlar, D2 dopamin reseptörlerinin ekspresyonunda uzun vadeli düşüşler geliştirirler (Volkow ve ark., 1992), bu da onları muhtemelen alışılmadık ödüllere karşı azalmış bir hassasiyetle karşı karşıya bırakır.

2.2. Amfetaminler

Amfetamin, metamfetamin ve ilgili ilaçlar da psikomotor uyarıcılardır. Dopamin seviyelerini yükseltir ve alışkanlık oluştururlar (Deneau ve ark., 1969). Kokainde olduğu gibi, amfetaminlerin doğrudan etkileri ruh halinin yükselmesi, uyanıklığın artması ve yorgunluktan kurtulmadır ve bunların yoksunluk semptomları, depresif ruh hali ve motivasyon eksikliğidir. Amfetaminler, veziküllerden dopamin salarak ve dopamin taşıyıcısını tersine çevirerek hücre dışı dopamin düzeylerini yükseltir (Jones ve ark., 1998). Amfetamin hızlı dopamin salınımına neden olur. Tipik bir kendi kendine uygulama deneyinde, bazal dopamin birkaç kat yükselir, buna fazik dopamin salınımı eşlik eder (Daberkow ve ark., 2013). Kokain bağımlısı bireylerde olduğu gibi, metamfetamin bağımlısı insanlar da D2 reseptörlerinin ifadesinde uzun vadeli düşüşler geliştirir (Schrantee ve ark., 2015), bu da onları alışılmadık ödüllere karşı azalmış bir hassasiyetle bırakır.

2.3. Opiyatlar

Morfin, eroin, kodein, fentanil ve oksikodon içeren opiyatlar, dopamin seviyelerini dolaylı olarak yükselten, gerginliği ve ağrıyı azaltan ve alışkanlık oluşturan (Deneau ve ark., 1969) sedatif hipnotiklerdir. Bu ilaçlar, kokain veya amfetaminin öforik etkilerinden farklı öfori çeşidine neden olur, ancak alkol, benzodiazepinler ve barbitüratların neden olduklarıyla bir dereceye kadar örtüşür. Opiyatların dopamin sistemini aktive etme mekanizması trans-sinaptiktir. Normalde dopamin nöronlarını inhibitör kontrol altında tutan gama aminobütirik asit (GABA) içeren nöronları inhibe eder (Sugita ve ark., 1992). En yeni kanıtlar, eroinin ventral striatumun medial tarafına çıkıntı yapan dopaminerjik nöronların medial alt bir grubunu seçici olarak etkisiz hale

getirdiğini göstermektedir (Corre ve ark., 2018). Opiyatların çoklu davranışsal etkileri vardır: ağrıyı azaltırlar, beslenmeyi uyarırlar ve sosyal sıkıntıyı hafifletirler (Wise ve Robble, 2020). Kokain ve metamfetamin bağımlısı kullanıcılarda olduğu gibi, opiyat bağımlısı insanlarda da D2 reseptörlerinin ekspresyonunda uzun vadeli düşüşler gelişir (Wang ve ark., 1997), bu da onları muhtemelen alışkanlık oluşturmamış ödüllere karşı azalmış hassasiyetle başa bırakır.

2.4. Alkol

Alkol depresan bir ilaçtır, ancak düşük dozlarda ve sarhoşluğun erken dönemlerinde striatal dopamin düzeylerini yükseltir ve alışkanlık oluşturur. Düşük dozların veya erken zehirlenmenin ani etkileri öforidir, daha yüksek dozlar alındığında depresyon yaşanır. Alkol dopamin sistemini aktive eder. Diğer bağımlılık yapan ilaçlardan farklı olarak reseptörü yoktur ve bu nedenle tek veya basit bir etki mekanizması da yoktur. Güçlü bir olasılık, alkolün dopamin sistemini aktive etme yeteneğinin ventral striatum veya VTA'daki GABA reseptörleri ile etkileşime giren glisin reseptörleri ile etkileşimine bağlı olmasıdır (Söderpalm ve ark., 2017). Alkol ayrıca dopaminerjik nöronlar üzerindeki serotonin-3 reseptörlerini aktive ederek ödül sistemini de harekete geçirebilir (Wang ve ark., 2019). Kendi kendine alkol alımı, nikotinik reseptör blokörü olan mecamylamine tarafından da azaltılır, bu da alkolün birden fazla ödüllendirici etki alanına sahip olduğunu düşündürür. Alkollü içeceklerin tadı yeni kullanıcılar için genellikle tiksindirici olsa da, deneyimli kullanıcılarda alkol ısrarlı istek, kaygı ve davranışsal sıkıntıya neden olur.

2.5. Nikotin

Nikotin, dopaminerjik nöronların patlama tarzında ateşlenmesine neden olan, hücre dışı dopamin seviyelerini yükselten ve alışkanlık oluşturan psikomotor bir uyarıcıdır. Hem VTA'da, hem de striatumda beyindeki asetilkolin reseptörlerinin bir alt kümesinde etki eder. Nikotin, dopaminerjik nöronların boşalmasına neden olur ve striatumdaki nikotinik etkiler akson terminallerinden dopamin salınımını etkileyen olayların bir karışımını içerir (Rice ve Cragg, 2004). Sigara içimi ayrıca katabolik enzim monoamin oksidazı inhibe ederek nikotinik olmayan maddeler yoluyla dopamin düzeylerini yükseltir. Nikotin ödüllendirici olsa da, yeni kullanıcılar için öne çıkan öznel etkisi iticidir. Kokain, metamfetamin, opiyat ve alkol bağımlısı kullanıcılarda

olduğu gibi, nikotin bağımlısı insanlarda da D2 reseptörlerinin ekspresyonunda uzun vadeli düşüşler ortaya çıkar (Fehr ve ark., 2008).

2.6. Kafein

Kafein, alışkanlık oluşturan bir psikomotor uyarıcıdır. Esenlik, mutluluk, uyanıklık ve sosyallik duygularını üretir. Yüksek dozları dopamin düzeylerini yükseltebilmektedir. Bununla birlikte, insanların genellikle tükettiği dozlarda kafein, dopamin sistemini aktive etmede minimal düzeyde etkilidir. Düşük dozlarda, striatumun dopamine duyarlı çıkış nöronlarında bulunan adozin reseptörlerindeki adozinin etkilerini bloke eder (Ferre, 2016). Kafein, bağımlılık araştırmaları için özellikle ilginç bir maddedir. Marjinal olarak ödüllendiricidir, fakat birçok laboratuvar girişimine rağmen, intravenöz kafein hayvanlarda kendi kendine uygulanmaz. Sorgulanmadıkça, çoğu kullanıcı bunun ruh hali üzerindeki etkilerinin farkında değildir. Kafein; alkol ve nikotinin yanı sıra, ilaç dışı pekiştiricilerin ödüllendirici etkilerini güçlendirir. Adozinin A2A reseptörlerini bloke eder ve D2 striatal çıkış nöronlarında D2 dopamin reseptörleri ile heteromerler oluşturur. Ayrıca kafein, D1 striatal çıkış nöronlarında D1 reseptörleri ile heteromerler oluşturan adozin A1 reseptörlerini bloke ederek postsinaptik dopamin iletimini artırır (Ferre, 2016). Bu nedenle, kafeinin dopamin benzeri hücre içi etkileri vardır ve uzun süreli güçlendirme ve depresyonu etkileme potansiyeline sahiptir. Kafein kullanımının kesilmesi, kaygı, depresyon ve uykusuzluk ile örtüşen klinik semptomlara neden olur.

3. GLUTAMAT

Glutamat, beyindeki primer uyarıcı nörotransmitterdir ve organizmaların değişen bir ortama davranışlarını uyarlaması için gerekli olan sinaptik plastisitenin önemli bir aracısıdır (Abraham, 2008). Beyinde her yerde bulunan bir nörotransmitter olmasına rağmen, bazı glutamaterjik projeksiyonların bağımlılık yapan ilaçlardan kritik olarak etkilendiği düşünülmektedir. Bu bağlamda araştırmaların odağı bazal ganglionlara, özellikle nükleus akumbense giden glutamaterjik afferentler üzerine odaklanmıştır (Kalivas ve O'Brien, 2008). Bu bölge, amigdala, hipokampus, medial talamus ve prefrontal korteksten gelen girdileri içerir. Medial talamus haricinde, tüm bu projeksiyonların hayvan bağımlılık modellerinde sonuçsal olduğu bulunmuş, bağımlı insanlarda ise beyin görüntüleme çalışmalarında prefrontal korteks ve

amigdala aktivasyonu yaygın olarak gözlemlenmiştir. Uyuşturucu arama veya davranışsal duyarlılaşma gibi bağımlılık yapıcı davranışların ifadesinde önemli olan çekirdeğe prefrontal ve amigdala projeksiyonlarının aktivasyonunun aksine, bağımlılığın gelişimi düşünüldüğünde, VTA'daki dopaminerjik nöronlara gelen glutamaterjik aferentlere odaklanılmıştır (Vezina, 2004).

Dopamin, bağımlılık çalışmalarında öne çıkan bir odak noktası olmasına rağmen, glutamatın bağımlılıktaki rolüne yönelik araştırmalar artıyor. Görünüşe göre dopamin bağımlılık döngüsünün başlangıcında birincil bir role sahipken, glutamat döngünün sonraki bölümlerinde (eski haline getirme ve nöks) daha büyük bir faktördür. Glutamatın uyuşturucu bağımlılığına dahil olduğuna dair ilk gösterge, lokomotor sensitizasyonun nörobiyolojisi üzerine yapılan araştırmalarda ortaya çıkmıştır. Bağımlılık yapan ilaçların çoğunun ortaya çıkardığı motor uyarıcı etkiler, genellikle tekrarlanan ilaç uygulamasıyla artar ve bu hassaslaştırılmış davranışsal tepki son tekrarlanan ilaç uygulamasından sonra aylarca sürebilir. 1990'ların ortalarında, D1 dopamin reseptörlerinin uyarılmasının, sensitizasyonu indüklemek için gerekli sinaptik olaylar dizisi olarak VTA'da glutamatın salınmasıyla bağlantılı olduğu önerildi (Kalivas ve Duffy, 1995) ve yakın tarihli bir çalışmada konuyla ilgili kanıtlar sağlandı (Schilström ve ark., 2006). Bu yazarlar, presinaptik glutamat salınımındaki artışın, VTA'ya prefrontal glutamaterjik girdinin aktivitesini yükselten NMDA reseptörlerindeki artış yoluyla dopamin hücrelerinin artan aktivasyonundan kaynaklanabileceğini tahmin ettiler. Psikostimülanlara ek olarak, nikotin kaynaklı sensitizasyon, muhtemelen glutamaterjik aferentler üzerindeki presinaptik nikotinic reseptörlerin sonucu olarak, VTA'ya glutamat salınımı ile de ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, prefrontal korteksten glutamaterjik girdinin elektrikle uyarılmasının, bu aferenti özellikle duyarlılaştırmanın gelişimiyle ilişkilendirerek, duyarlılaştırmayı indüklediği gösterilmiştir (Schenk ve Snow, 1994). Bağımlılık yapan ilaçlar tarafından kalıcı davranış değişikliklerinin geliştirilmesinde VTA'daki glutamatın oynadığı rolü anlamamızda önemli bir ilerleme, tek bir sistemik kokain enjeksiyonunun VTA'daki dopaminerjik hücrelerde glutamata bağımlı uzun süreli güçlendirme (LTP) ürettiğinin gösterildiği 2001 yılında yapılmıştır (Ungless ve ark., 2001). Bu temel bulgu tekrarlanmış ve sadece davranışsal duyarlılık için değil, aynı zamanda kendi kendine ilaç uygulamasının gelişimi için de geçerli olduğu gösterilmiştir.

Davranışsal sensitizasyon ifadesinde nükleus akumbens içine glutamat salınımının rolü ilk olarak nükleus akumbensteki AMPA reseptörlerini bloke ederek gösterildi (Pierce ve ark., 1996). Duyarlılaştırma çalışmalarına paralel olarak, kokain arayışının eski haline döndürülmesinin, akumbenslerin çekirdeğine artan glutamat salınımı ile ilişkili olduğu bulundu (McFarland ve ark., 2003). Son zamanlarda yapılan bir dizi araştırma, uyuşturucu arayışını veya duyarlılığı ifade etmek için akumbenslerde artan glutamat iletimi gerekliliğine ek olarak, kronik psikostimülan uygulaması tarafından üretilen bir dizi glutamatla ilişkili hücrenel adaptasyon olayının olduğunu göstermektedir. Ayrılmış nöronları kullanan elektrofizyolojik çalışmalar, kronik kokainden çekildikten sonra AMPA kaynaklı uyarımda bir azalma olduğunu gösterirken, *in vivo* çalışmalar artan AMPA duyarlılığına işaret etti (Kalivas ve Hu, 2006). Hayvan modellerinde bağımlılık davranışlarının hem gelişimini, hem de ekspresyonunu düzenlemede glutamatın belirgin rolü bu nörotransmitteri potansiyel bir farmakoterapötik hedef olarak tanımlamaktadır. Glutamat salınımı, grup II metabotropik glutamat (mGluR2/3) salınımını düzenleyen otoresseptörlerin uyarılmasıyla presinaptik olarak inhibe edilebilir. Buna göre, mGluR2/3 agonistlerinin hem sistemik, hem de intra-akumbal uygulaması uyuşturucu aramayı engeller. Alternatif olarak, N-asetilsistein ile sistin-glutamat değişimini uyararak sinaptik olmayan glial glutamat salınımının düzenlenmesinin dolaylı olarak mGluR2/3'ü uyardığı, akumbensteki glutamat salınımını azalttığı ve kokain/eroïn arayışını inhibe ettiği gösterilmiştir (Madayag ve ark., 2007).

Glutamat, duyarlılık ve uyuşturucu arama gibi bağımlılık yapıcı davranışların gelişimini düzenlemede çok önemli bir rol oynar. Bağımlılıkla ilgili davranışların gelişimi, VTA'da glutamat reseptörünün uyarılmasını gerektirir ve dopaminerjik hücrelerde artmış glutamat salınımı ve geçici LTP ile ilişkilidir. Glutamat hem prefrontal korteksten, hem de amigdaladan kaynaklanır. Glutamat ve bağımlılıktaki rolüne ilişkin gelecekteki araştırmalar için önemli bir husus, bağımlılıkla ilgili davranışların ifadesi sırasında meydana gelen geçici nöroplastisiteyi incelemektir. Belki de yeni nesil farmakoterapötik ajanlar bağımlılıkla ilgili davranışların ifadesine eşlik eden glutamat iletimindeki hızlı değişiklikleri hedef alacaktır. Aslında, açıklanan ilaç arama sırasında üretilen glutamat salınımını köreltmek için N-asetilsistein veya

mGluR2/3 agonistlerinin kullanıldığı çabalar, bağımlılıkla ilgili bir davranışın ifadesi sırasında ortaya çıkan hücresele patolojiye hedeflemenin örnekleridir.

4. OKSİTOSİN

Son zamanlarda, oksitosinin bağımlılıktaki potansiyel terapötik rolü araştırılmıştır. Nöropeptit oksitosinin prososyal ve anksiyolitik etkilerine ek olarak bağımlılık davranışı üzerinde etkileri olduğu bulunmuştur (Sundar ve ark., 2021). Oksitosinin bağımlılık üzerindeki en dikkate değer etkisi, kendi kendine uygulama ve koşullu yer tercihi gibi deneysel paradigmalara ölçüldüğü üzere, uyuşturucu arama davranışını azaltmasıdır. Spesifik mekanizmalar hala araştırılıyor olmasına rağmen, ödül devresinin, oksitosinin uyuşturucu arama davranışını zayıflattığı mekanizmaların ayrılmaz bir parçası gibi görünmektedir. Ödül devresi veya mezokortikolimbik sistem, maddeler ve ödül arasındaki ilişkinin düzenlenmesinden sorumludur. Ödüllendirici maddeler; kötüye kullanılan ilaçlar (kokain, metamfetamin, opiyatlar vb.) veya yemek, seks ve sosyal etkileşimler gibi doğal ödüller olabilir. VTA, ödül devresindeki kilit yapılardan biridir. VTA içinde, dopamin salınımını düzenlemek için VTA'daki dopaminerjik nöronlara yansıyan GABAerjik ara nöronlar da vardır (Cooper ve ark., 2017).

Endojen oksitosin sistemi, ödül devresi ile birkaç yerde etkileşime girer. Hipotalamusun parvoselüler nöronlarından oksitosinerjik projeksiyonlar, özellikle VTA, nükleus akumbens ve substansiya nigra olmak üzere orta beyin dopaminerjik nöronlarına gider. Bu yapıların tümü, nöropeptidin bağlandığı yüksek yoğunlukta oksitosin reseptörü içerir. Peris ve ark. (2017), oksitosin reseptörlerini eksprese eden VTA nöronlarının yaklaşık %50'sinin glutamaterjik olduğunu bulmuştur. Ödül devresine yönelik endojen oksitosin projeksiyonlarının, sosyal bağların ve ilişkisel davranışın ödüllendirici etkilerine aracılık ettiği düşünülmektedir. Mezokortikolimbik sistemin merkezi bileşenlerinde oksitosin reseptörlerinin varlığı, oksitosinin bağımlılık davranışlarını azaltma yeteneği için de önemlidir. Oksitosin, uyuşturucu kaynaklı davranışları, uyuşturucu arama davranışlarını ve bağımlılık yapan maddelere karşı istekleri azaltma yeteneğiyle ödüllendirici maddelerin etkilerine karşı koyar. Ayrıca, kemirgenlerde lokomotor hiperaktivite, tekrarlayan davranışlar ve kokaine karşı davranışsal duyarlılık gibi kokainin neden olduğu davranışları zayıflatır. Oksitosinin akumbens çekirdeğine

uygulanması, kendi kendine kokain tatbikatını azaltmıştır (Weber ve ark., 2018). Oksitosinin benzer etkileri diğer kötüye kullanılan ilaçlar için de tespit edilmiştir. Metamfetamin arayışı, sistemik oksitosin tedavisi ile doza bağlı olarak azalmıştır (Sundar ve ark., 2021). Opioidlerle ilgili olarak, oksitosinin hem periferik hem de merkezi tedavileri, kemirgenlerde, özellikle analjezik morfin ve eroine karşı opioid toleransını başarılı bir şekilde azaltmıştır (Zanos ve ark., 2018). Oksitosinin insanlarda uyuşturucu aramayı engelleyip engellemediğini test etmek için birkaç klinik çalışma yapılmıştır. Oksitosin alan denekler, kontrol grubuna göre daha az yoksunluk semptomu göstermiştir (Pedersen ve ark., 2013). Başka bir klinik çalışma, tek bir intranasal oksitosin uygulamasının (40 IU) esrar bağımlısı bireylerde uyuşturucu isteğini, stresi ve kaygıyı azalttığını bulmuştur (McRae-Clark ve ark., 2013). Açıkçası, oksitosinin bağımlılık yapan davranışlar üzerinde derin bir etkisi vardır ve bağımlılar için terapötik ajan olarak umut verici bir adaydır. Bununla birlikte, oksitosinin ilaca bağlı davranışları azalttığı mekanizmalar tam olarak belirlenememiştir.

Oksitosin uygulaması, ödül devresindeki glutamat seviyelerini etkileyebilir, bu da nöropeptidin glutamaterjik sistem üzerinden hareket ederek bağımlılık davranışlarını azaltabileceğini düşündürür. Bu, glutamat ve GABA hücrelerinin ağırlıklı olarak VTA'nın medial fasiküler ve rostrilineer çekirdeklerinde yer aldığını, dopaminerjik hücrelerinin ise VTA'nın yan bölgelerinde bulunduğunu ve oksitosin uygulamasının VTA ateşleme oranlarında artışa neden olduğunu gösteren bulgularla desteklenmektedir (Peris ve ark., 2020). Bu nedenle, glutamaterjik olması muhtemel olan VTA'dan nükleus akumbense medial projeksiyonların da oksitosinerjik mekanizmalara dahil olması olasıdır. Oksitosin reseptörleri, VTA'daki dopaminerjik, glutamaterjik ve GABAerjik hücrelerde bulunur ve bu reseptörler, nükleus akumbens ve prefrontal kortekste benzer şekilde ilaca bağlı uyumsuz glutamat iletiminde yer alan bölgelerde lokalize edilmiştir. Oksitosinin, glutamat reseptörlerinin aktivitesini değiştirerek anormal glutamat iletimini azaltması mümkündür. İyonotropik reseptörlerle etkileşimleri incelenirken, oksitosin reseptörlerinin prefrontal korteksteki NMDA-NR1 alt biriminde metamfetamin kaynaklı artışları azalttığı bulunmuştur (Qi ve ark., 2012). Oksitosin uygulaması aynı zamanda prefrontal korteks, amigdala, dorsal hipokampus ve stria terminalisin yatak çekirdeğindeki glutamatın AMPA-R1

alt biriminin fosforilasyonunda kokainin neden olduğu azalmalara da karşı koymuştur. İlginç bir şekilde, bu reseptörün fosforilasyonu, alt birimin hücre yüzeyine taşınmasını artırır, bu da kokainin bazı bölgelerde AMPA tarafından indüklenen uyarıcı akımı seçici olarak azaltabileceğini ve oksitosinin bu anormalliği düzeltebileceğini düşündürür. Bu nedenle oksitosin, belirli beyin bölgelerinde NMDA ve AMPA yüzey ekspresyonu üzerinde farklı etkilere sahip gibi görünse de nihayetinde ilaca bağlı iyonotropik reseptör değişikliklerine karşı çıkar. Oksitosin uygulamasının ardından glutamat iletimindeki değişiklikler, metabotropik glutamat reseptörleri ile etkileşime giren oksitosin reseptörleri nedeniyle de meydana gelebilir. Spesifik olarak, Grup 2 metabolik glutamat reseptörleri oksitosinin etkileriyle oldukça ilgili görünmektedir. Grup 2 inhibe edici reseptörler, ödül işlemede yer alan yapılarda glutamat ve dopaminin salınmasının düzenlenmesinde yer alır; bu reseptörlerin agonistleri ilaç arama davranışının eski haline dönmesini engelleyebilir. Nükleus akumbense presinaptik Grup 2 reseptörlerini bloke etmek, oksitosin işaretli metamfetamin arayışının azalmasını engelledi (Bernheim ve ark., 2017). Bu nedenle oksitosinin Grup 2 metabotropik glutamat reseptörlerini uyararak nükleus akumbense glutamatın uyarıcı etkilerini azaltması, ardından prefrontal kortekste ve hipokampus gibi bölgelerdeki aktivasyonu azaltması ve ilaç arama davranışlarının başlamasını önlemesi mümkündür. Oksitosin reseptörleri, VTA içindeki glutamaterjik nöronlarda bulunur, bu da oksitosinin VTA nöronlarındaki glutamat salınımını doğrudan modüle ettiğini düşündürür. Bu glutamaterjik nöronların ödül ve bağımlılıktaki kesin rolü tam olarak bilinmemekle birlikte, çalışmalar VTA'daki glutamaterjik nöronların nükleus akumbense dopamin iletimini modüle edebildiğini ve ödül süreçlerini nükleus akumbense, prefrontal korteks ve amigdala dahil olmak üzere, bir dizi alana projeksiyonlar yoluyla etkileyebildiğini bulmuştur (Taylor ve ark., 2014). Glutamaterjik nöronların hangi spesifik VTA alt popülasyonlarının oksitosin reseptörlerini eksprese ettiği henüz bilinmemekle birlikte, oksitosinin VTA içindeki glutamat iletimi üzerindeki etkisiyle ödül süreçleri üzerinde nöromodülatör bir katkı sağlayabileceği bir dizi olası mekanizma vardır.

Oksitosinin eksojen uygulaması, bağımlılıkla ilişkili sinir yollarında glutamat ve dopamin iletimini etkiler. Bağımlılığı tedavi etmek için oksitosin kullanmanın gelecekteki etkilerini dikkate almak önemlidir. Kilit faktör,

oksitosinin kendisinin, özellikle prososyal ve anksiyolitik etkilerine yönelik bağımlılık yapıcı doğasıdır. Araştırmalar, aşırı derecede yüksek seviyelerde olmadıkça bağımlılık davranışlarına neden olmadığını gösterse de, oksitosin eğer bağımlılık tedavisinde ilaç olarak kullanılırsa, insanların bu bileşiği uygun dozdan çok daha fazla miktarlarda tüketme olasılığı ortaya çıkabilecektir. Dikkate alınması gereken diğer bir faktör de oksitosin uygulamasının periferik sistem üzerindeki, özellikle önemli role sahip olduğu üreme sistemi üzerindeki sonuçlarıdır.

6. GABA

Beynin birincil inhibitör nörotransmitteri olan GABA, etkilerini iki temel reseptörü aracılığı ile göstermektedir. İyonotropik tipte olan GABAA reseptörleri hızlı inhibitör postsinaptik akımlara aracılık eden klor kanallarıdır. Metabotropik tipteki GABAB reseptörleri ise G proteini ile eşleşmiş serpentin reseptörleri olup, hücre içi ikinci haberci sistemlerini aktive ederek, daha yavaş bir inhibisyona aracılık etmektedir (Stephens ve ark., 2017; Li ve Slesinger, 2022). GABAerjik nöronların VTA'daki nöron popülasyonunun yaklaşık %30-35'ini oluşturduğu bildirilmiştir (Nair-Roberts ve ark., 2008; Dobi ve ark., 2010). VTA'nın baskın nöronları olan dopaminerjik nöronlar (%60-65) ödül ve motivasyonel davranışlarda kilit rol oynamakta ve ateşleme düzeyleri GABAerjik aktiviteden etkilenmektedir (Polter ve Kauer, 2014; Creed ve ark., 2014). Bu etkileşim ödül, motivasyon ve bağımlılıkla ilişkili davranışlarda GABA'nın önemli bir nörotransmitter olarak öne çıkmasına neden olmuştur.

VTA dopaminerjik nöronlarının GABAerjik girdisi sadece lokal GABA nöronlarından kaynaklanmaz. Ayrıca nükleus akumbens, ventral pallidum, rostromedial tegmental çekirdek ve lateral hipotalamus gibi birçok subkortikal alandan kaynaklanan aferentlerden de GABAerjik girdi sağlanmaktadır (Soden ve ark., 2020; Li ve Slesinger, 2022). VTA içindeki GABAerjik nöronların iki genel popülasyonu olduğu görülmektedir. Bunlardan birincisi dopaminerjik nöronların yerel innervasyonunu sağlayan internöronlar iken diğeri, nükleus akumbens dahil olmak üzere birçok beyin alanının uzun menzilli innervasyonunu sağlayan projeksiyon nöronlarıdır (Creed ve ark., 2014). Lokal VTA nöronlarından salınan GABA, VTA dopaminerjik nöronların aktivitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Örneğin VTA GABA nöronlarının aktivitesindeki artış dopaminerjik nöronların spontan ateşleme oranında güçlü

bir inhibisyona neden olurken (Tan ve ark., 2012), inhibisyonları dopaminerjik nöron aktivitesinde artışa veya disinhibisyona neden olmaktadır (Bocklisch ve ark., 2013). Dopaminerjik nöronların uyarılabilirliğinde GABAerjik girdilerin yaptığı inhibisyon, glutamaterjik girdilerin yaptığı eksitasyonu dengelemektedir (Overton ve Clark, 1992). Bu inhibitör kontrolün, dopaminerjik fonksiyon ve sonrasındaki davranış için, özellikle motivasyonla ilgili olanlar açısından önemli sonuçları vardır. Anestezi uygulanmış hayvanlardaki kayıtlar, ayak şoku gibi olumsuz bir uyarının, VTA'nın GABAerjik nöronlarında spontan ateşleme hızını geçici ve güçlü bir şekilde artırdığını ve dopaminerjik nöronların aktivitesini azalttığını göstermiştir (Ungless ve ark., 2004; Tan ve ark., 2012).

VTA'nın dopaminerjik ve GABAerjik nöronlarında hem GABAA hem de GABAB reseptörlerinin ekspresyonu vardır (Ciccarelli ve ark. 2012). Ancak bu nöronların GABAA ve GABAB agonistlerine karşı hassasiyetleri aynı değildir (Tan ve ark. 2010; Cruz ve ark. 2004). VTA GABA ara nöronlarının dopaminerjik nöronlarda yaptığı inhibisyon tercihen GABAA reseptörleri aracılı gözükmemektedir (Edwards ve ark. 2017; Polter ve ark. 2018). Hem farmakolojik hem de optogenetik çalışmalar, dopaminerjik nöronların ateşleme hızının, bu nöronlar üzerindeki GABAA reseptörlerinin aktivasyonu ile büyük ölçüde azaldığını göstermektedir (Johnson ve North, 1992; Polter ve Kauer, 2014). Bununla birlikte, GABAB reseptör ligandlarının da dopaminerjik nöronlarda etkili olduğu görülmektedir. Örneğin, bir GABAB reseptör agonisti olan baklofenin lokal olarak VTA'ya infüzyonu hem VTA'da hem de nükleus akumbensde dopamin salınımının azalmasına neden olmuştur (Klitenick ve ark. 1992). Morfin, kokain ve amfetamine yanıt olarak dopamin salınımı ve lokomotor aktivasyon VTA'ya yapılan baklofen uygulaması ile bloke edilebilmektedir (Kalivas ve ark. 1990; Klitenick ve ark. 1992). GABAB reseptör antagonistinin VTA içine infüzyonu ise dopamin düzeyinde artışa neden olmaktadır (Giorgetti ve ark. 2002).

VTA'daki GABA nöronları, esas olarak nükleus akumbensin orta büyüklükteki dikensi nöronlarından (medium sized-spiny neuron, MSN) inhibitör girdiler almaktadır. Örneğin MSN'lerin aktivasyonu, VTA GABA hücrelerinin inhibisyonuna ve bunun sonucunda da dopaminerjik nöronların disinhibisyonuna yol açmaktadır (Bocklisch ve ark., 2013). Bu hücrel disinhibisyon mekanizması, birkaç bağımlılık yapıcı ilaç sınıfının ödüllendirici

etkilerinde rol oynamaktadır (Lüscher ve Ungless, 2006). Spesifik olarak, opioidler (Johnson ve North, 1992), gama-hidroksi bütirik asit (GHB) (Cruz ve ark., 2004), kannabinoidler (Oleson ve Cheer, 2012) ve benzodiazepinler (Tan ve ark., 2010) VTA GABA nöronları üzerinde etki ederek inhibisyonlarına neden olmaktadır. Benzodiazepinler klinikte kaygı, uykusuzluk ve kas spazmlarını tedavi etmek için kullanılan bir ilaç sınıfıdır. Ayrıca sedasyon ve anterograd amneziye neden olurlar ve bağımlılık potansiyeli taşırlar. Benzodiazepinlerin *in-vivo* uygulaması, VTA GABA nöronlarının aktivitesini inhibe eder ve sonuç olarak dopaminerjik nöronunun ateşleme hızını artırır (Creed ve ark., 2014). Benzodiazepinlerle birlikte, opioidler de GABA hücrelerinde spesifik olarak eksprese edilen μ -opioid reseptörlerine bağlanarak başlangıçta GABA nöronları üzerinde etki gösteren ve aktivitelerini azaltarak VTA dopaminerjik nöronlarının disinhibisyonuna yol açan başka bir bağımlılık yapan ilaç sınıfıdır (Johnson ve North, 1992). Örneğin, morfinin rostromedial tegmental çekirdek kaynaklı GABAerjik nöronlarda bulunan μ -reseptörlerini aktive ederek VTA dopaminerjik nöron aktivitesini artırabileceği gösterilmiştir (Matsui ve Williams, 2011). Morfinin rostromedial tegmental çekirdek yoluyla VTA dopaminerjik uyarıcı etkisi VTA'daki NMDA ve AMPA reseptörlerin blokasyonu ile ortadan kalktığından glutamaterjik tona bağlı olduğu düşünülmektedir (Matsui ve Williams, 2011; Jalabert ve ark., 2011). Opiyatların akumbens içinde dopaminden bağımsız etkileri vardır ve bu etkiler opiyat ödülünde önemli bir rol oynar. Alkolün ödüllendirici etkilerinin merkezinde mezolimbik dopamin sistemi rol oynamaktadır. GABAerjik, serotonerjik ve glutamaterjik sistemlerin içinde bulunduğu nörotransmitter sistemlerinin de ilave mekanizmalar oluşturarak alkol bağımlılığında rol oynadığı düşünülmektedir (Tomkins ve Sellers, 2001).

7. SEROTONİN

Serotonin, 5-Hidroksitriptamin (5-HT) olarak da bilinen ve triptofandan sentezlenen bir monoamin nörotransmitterdir. Merkezi sinir sistemi (MSS)'nin yanı sıra, gastrointestinal sistem ve trombositlerde de bulunmaktadır. Beyin sapında dorsal rafe nükleusu, medyan rafe ve kaudal rafe çekirdeklerinden kaynaklanan serotonerjik nöronlar, orta beyin dopaminerjik hücre gövdelerinin inervasyonu da dahil olmak üzere, beyinin hemen hemen tüm alanlarına yansımaktadır (Peters ve ark., 2021a). Bu nedenle serotonerjik sistem

organizmanın uyku, sirkadiyen ritim, ruh hali, iştah, bilişsel fonksiyonlar, üreme davranışları, nosiseptif iletim, motor, endokrin, kardiyovasküler ve solunum fonksiyonlarının düzenlenmesi dahil birçok işlevinin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Serotonin yolağındaki sorunlar obsesif kompulsif bozukluk, anksiyete bozuklukları, depresyon, şizofreni, otizm, migren ve hipertansiyon ile ilişkilendirilmektedir. Günümüzde depresyon tedavisinde kullanılan ilaçların çoğu, beyindeki serotonin düzeylerini artırarak etki etmektedir (Banerjee, 2014; Filip ve ark., 2005; Peters ve ark., 2021a)

Sinaptik boşluğa salınan serotonin, difüzyon mesafesindeki nöronların dendrit, hücre gövdesi ve presinaptik terminallerinde bulunan reseptörlerine bağlanarak etkisini göstermektedir. Serotonerjik etkinin sonlandırılması ise esas olarak sinaptik boşluktaki serotoninin geri alımı yoluyla sağlanmaktadır. Presinaptik nöronlardaki spesifik serotonin taşıyıcısı (SERT) aracılı bu geri alım gerçekleşmektedir. Serotonin etkilerine aracılık eden reseptörler yapısal, biyokimyasal (sinyal iletiminin reseptör sonrası mekanizmaları) ve farmakolojik farklılıklarına göre 16 farklı tipe ayrılmaktadır (Banerjee, 2014; Filip ve ark., 2005). Presinaptik veya postsinaptik olarak eksprese edilebilen bu reseptörlerin çoğunluğu G-proteini ile eşleşmiş metabotropik reseptörlerdir. 5-HT1 reseptörleri hücreleri hiperpolarize ederken, 5-HT2, 5-HT4, 5-HT5, 5-HT6 ve 5-HT7 reseptörleri, farklı hücre içi sinyal yollarını kullanarak nöronları depolarize etmektedir (Di Matteo ve ark., 2008). Bu reseptörler içinde iyonotropik özellikte olanlar 5-HT3 reseptörleridir ve serotonin bağlandığında katyon kanalı haline gelirler (Barnes ve Sharp, 1999; Peters ve ark., 2021a).

Serotonin tarafından düzenlenen önemli işlevlerden birisi de ödüldür. Dorsal raphe çekirdeğinden gelen serotonerjik nöronlarının, VTA'nın dopaminerjik nöronları ile kurdukları etkileşim bu etkide önemli gözükmektedir. Serotoninin dopaminerjik nöronlarla etkileşimi, kötüye kullanılan ilaçlar veya antipsikotikler dahil olmak üzere çok sayıda nöroaktif ilacın etki mekanizmasını oluşturmaktadır (De Deurwaerdere ve Di Giovanni, 2020). Serotoninin lokal uygulanması veya dorsal rafe nükleusunun farmakolojik veya elektriksel stimülasyonu, VTA dopaminerjik nöronların uyarılmalarına ve/veya inhibisyonuna neden olmaktadır (Cameron ve ark., 1997; Gervais ve Rouillard, 2000). Bu düzenlemenin eksitator veya inhibitör doğası, sürece dahil olan özel serotonin reseptör tipine ve eksprese edildiği

hücreye bağlı olarak değişebilmektedir. Ayrıca, dorsal rafe nükleusu nöronlarının heterojenliği ve VTA içindeki projeksiyon bölgelerindeki farklılıklar da değişken sonuçlarda rol oynuyor olabilir. Zira VTA'yı inerve eden dorsal rafe nükleusu nöronları %46 glutamaterjik, %13 serotonerjik ve %14 ikili nörotransmitter salgılayan serotonerjik-glutamaterjik nöronlar olarak tanımlanmıştır (Peters ve ark., 2021a; Qi ve ark., 2014; Wang ve ark., 2019).

Serotonin reseptörleri, doğrudan ve dolaylı mekanizmalar yoluyla dopamin sinyalini etkilemektedir. Örneğin, 5-HT_{1A} reseptörleri VTA'nın hem dopaminerjik, hem de muhtemelen GABAerjik olan non-dopaminerjik hücrelerinde eksprese edilmekte ve sistemik verilen 5-HT_{1A} agonistleri, VTA'nın dopaminerjik nöronlarında doza bağlı etkiler göstermektedir. Düşük dozlar bu nöronların ateşleme hızını ve sayısını artırırken, yüksek dozlar ateşlemede azalışa neden olmaktadır (Arborelius ve ark., 1993; Lejeune ve Millan, 1998).

5-HT_{2A} ve 5-HT_{2C} reseptörlerinin aktivasyonu, dopaminerjik nörotransmisyon üzerinde zıt etkilere sahiptir. Her iki reseptör de mezolimbik ve mezokortikal sistemler boyunca, VTA içindeki dopaminerjik ve GABAerjik nöronlarda, nükleus akumbensteki orta büyüklükteki dikensi nöronlarda ve prefrontal korteksin hem glutamaterjik, hem de GABAerjik nöronlarında eksprese edilmektedir (Peters ve ark., 2021a). 5-HT_{2A} agonistleri striatumda dopamin salınımını artırmaktadır (Navailles ve De Deurwaerdère, 2011). Bununla birlikte, tek başına 5-HT_{2A} antagonistlerinin dopaminerjik nöron aktivitesi veya salınımı üzerinde önemli bir etkisi yoktur (Bubar ve Cunningham, 2008). Bu reseptörler, dopamin salınımını tonik olarak modüle etmez, ancak uyarılmış koşullarda dopamin salınımını ve bunun hedef bölgeler üzerindeki etkilerini değiştirebilmektedir (Navailles ve De Deurwaerdère, 2011). Tersine, 5-HT_{2C} reseptörü, dopamin salınımının tonik ve fazik modülasyonunu sağlamaktadır. Sistemik 5-HT_{2C} agonistleri, dopamin nöronlarının bazal ateşleme hızını inhibe eder ve terminal salınımını azaltır. Ayrıca, 5-HT_{2C} reseptör antagonistleri VTA dopamin nöronlarında aktif olarak ateşlemeyi artırır ve nükleus akumbenste dopamin artışına neden olur (Cunningham ve Anastasio, 2014). Farelerde ve sıçanlarda yapılan deneyler, 5-HT_{2C} antagonizmasının veya 5-HT_{2A} aktivasyonunun kokain, amfetamin ve kötüye kullanılan diğer ilaçlar tarafından indüklenen hiperaktiviteyi artırdığını, 5-HT_{2C} aktivasyonunun veya 5-HT_{2A} antagonizmasının ise bu tür uyarıcıların

neden olduğu lokomotor etkilerini bloke ettiğini göstermiştir (Auclair ve ark. 2004; Fletcher ve ark., 2006; Higgins ve Fletcher, 2003). Bu davranışsal etkilere, nükleus akumbensteki dopaminerjik terminallerden dopamin salınımının kolaylaştırılması veya zayıflaması eşlik eder (Di Matteo ve ark., 2008). Dopamin salınımı üzerindeki bu etkiler, mezolimbik yola özgü görünmektedir (Peters ve ark., 2021a).

İyonotropik tipteki 5-HT₃ reseptörü substantia nigra pars kompakta ve VTA gibi dopaminerjik alanların yanı sıra, nükleus akumbens ve prefrontal korteks gibi dopaminoseptif alanlarda da eksprese edilmektedir (Di Matteo ve ark., 2008; Barnes ve Sharp, 1999; Wang ve ark., 2019). VTA içinde, dopaminerjik nöronların yaklaşık %80'i hızlı serotonin sinyalinin iletilmesinde önemli olan 5-HT_{3A} reseptörü için de pozitifdir (Wang ve ark., 2019). VTA'da somatodendritik dopamin salınımına 5-HT₃ reseptör agonistinin uyarıcı etkisi ve 5-HT₃ reseptör antagonistinin inhibitör etkisi dopaminerjik nöron aktivitesinin modülasyonuna 5-HT₃ reseptörlerinin de katıldığını göstermektedir (Campbell ve ark., 1996; Peters ve ark., 2021a).

Kokain, amfetamin ve türevlerinin psikostimülan etkileri öncelikle dopaminerjik aktivasyona bağlanmıştır. Bununla birlikte, bu bileşikler serotonin dahil olmak üzere, diğer monoaminler üzerinde de önemli etkilere sahiptir. Örneğin kokain, nükleus akumbens, VTA, dorsal raphe çekirdeği, hipokampus, striatum ve korteks dahil olmak üzere bir dizi beyin bölgesinde doza bağlı bir şekilde serotonin dahil monoaminlerin geri alımını inhibe etmekte ve ekstraselüler monoamin artışına neden olmaktadır (Koob ve Volkow, 2010). Yapılan çalışmalarda kokain uygulamasının hayvanlarda lokomotor aktivite artışı ile birlikte nükleus akumbensteki dopamin ve serotonin artışına neden olduğu gösterilmiştir (Kirby ve ark., 2011; Filip ve ark., 2005; Broderick ve ark., 2004). Psikostimülanlar gibi opioidler ve etanol de bağımlılık döngüsünü başlatmakta ve serotonerjik sistemi benzer şekilde düzenlemektedir. Bu üç ilaç grubu hücre dışı serotonin çeşitli beyin bölgelerinde akut olarak uyarırken, bırakma sırasında serotonin çıkışını baskılamaktadır. Serotonerjik sistemin hipoaktivitesi, yoksunluk sendromunun bir parçası olarak bildirilen disforik ruh haline katkıda bulunabilir ve uyuşturucu aramayı ve nüksetmeye yatkınlığı tetikleyebilir (Koob ve Volkow, 2010; Weiss ve ark., 2001).

8. ENDOJEN KANNABİNOİDLER

Endojen kannabinoid sistemi, kannabinoid (CB) reseptörleri, bu reseptörler için endojen ligandlar (endokannabinoidler) ve bu endojen ligandların oluşumunda, taşınmasında ve deaktivasyonunda rol oynayan proteinlerden oluşan bir sinyal sistemidir. Kannabinoid reseptörleri için ilk endojen ligandlar N-araşidonoiletanolamin (AEA, anandamid) ve 2-araşidonoilgliserol (2-AG) olarak tanımlanmıştır (Solinas ve ark., 2008; Spanagel, 2020). Ardından noladin eter, virodhamin ve araşidonoyildipamin gibi başka endokannabinoidler önerilmiş olsa da bunların rolleri henüz netleşmemiştir (Porter ve ark., 2002; Solinas ve ark., 2008). Anandamid ve 2-AG membran fosfolipidlerinden kaynaklanan glisero(fosfo)lipid öncüllerinin hidrolizini takiben üretilen lipofilik bileşiklerdir. En önemli biyosentetik öncüller, anandamid için N-asilfosfatidiletanolaminler ve 2-AG için diasilgliserollerdir. Bu bileşikler eikosanoidler olduğundan, prostaglandinler ve lökotrienlerde olduğu gibi hücrede önceden sentezlenip depolanmaları mümkün olmaz. Bunun yerine "talep üzerine" sentezlenir ve hücrelerden hemen salınırlar. Anandamid ve 2-AG biyosentezinin son aşamasını katalize eden enzimlerin tümü kalsiyuma duyarlı olduğundan hücre içi kalsiyum artışına neden olan uyarılar endokannabinoid sentezinde artışa sebep olabilmektedir. Örneğin, nöronal aktiviteye eşlik eden hücre içi kalsiyum artışını takiben de-novo sentezlenir ve salınırlar (Solinas ve ark., 2008; Di Marzo, 2008).

Endokannabinoidler, fizyolojik etkilerini CB1 ve/veya CB2 reseptörleri aracılığı ile gösterirler. Bu reseptörlerin MSS ve periferdeki dağılımı, motor fonksiyon, biliş ve hafıza, iştah, bağışıklık fonksiyonu, uyku, stres tepkisi, termoregülasyon, analjezi ve ödül işleminin kontrolündeki rolü ile ilişkilidir (Spanagel, 2020). Beyinde en bol bulunan G-proteini ile eşleşmiş reseptörlerden birisi olan CB1 reseptörü, bazal ganglion çekirdekleri, hipokampus, korteks ve serebellumda yüksek oranda eksprese edilmektedir (Herkenham ve ark., 1991). CB2 reseptörünün MSS'deki ekspresyonu daha düşük düzeyde olup dalak, tonsiller, timus, akciğer ve testisler gibi periferik dokularda ve lökositlerde bol miktarda eksprese edilmektedir (Munro ve ark., 1993; Jordan ve ark., 2019). CB1 reseptörleri, ligandı bağlandığında adenilat siklaz inhibisyonuna neden olan Gi/o proteinleriyle eşleşmiştir ve aktivasyonları hücre içi cAMP azalışına neden olur (Howlett ve ark., 2002). Bu reseptörler, presinaptik membranda lokalize olmuştur ve primer olarak

nörotransmitter salınımında inhibisyonuna aracılık ederler. Yani depolarize olan postsinaptik nöronlarda ihtiyaç üzerine salınan endokannabinoidler, retrograd olarak hareket ederek presinaptik terminallerdeki CB1 reseptörlere bağlanıp aktive etmekte ve daha fazla nörotransmitter salgısını azaltmaktadır. Böylece sinaptik iletimde endokannabinoid aracılı kısa süreli ya da uzun süreli depresyon ortaya çıkmaktadır (Solinas ve ark., 2008; Spanagel, 2020; Di Marzo, 2008). Endokannabinoidlerin genel etkileri, GABA veya glutamaterjik transmisyonun presinaptik inhibisyonuna bağlı olarak eksitatör ya da inhibitör olabilmektedir (Katona ve ark., 1999; Melis ve ark., 2004). Bu de-novo sentez ve geriye dönük etki, endokannabinoidleri nöronal aktivitenin modülatörleri haline getirmekte, belirli nöronlara afferent girdileri filtrelemek ve seçmek için bir negatif geri bildirim sağlamaktadır (Peters ve ark., 2021a; Spanagel, 2020).

Endokannabinoid sistem reseptörleri delta-9-tetrahidrokanabinol (THC) gibi psikoaktif bileşikler veya sentetik kannabinoidler için de birer hedefdir. Beyin ödüllendirme süreçlerinde CB1 reseptörlerinin rolüne ilişkin kanıtlar, esrardaki aktif bileşen olan THC gibi CB1 reseptör agonistlerinin insanlarda ve hayvanlarda ödüllendirici etkiler ortaya koyması ile sağlanmıştır (Maldonado ve Rodriguez de Fonseca, 2002; Tanda ve Goldberg, 2003; Gardner, 2005). Dopaminerjik nöron aktivitesinin CB1 aracılı modülasyonu, ödül duygusunun oluşması ve bağımlılık davranışının gelişimine önemli rol oynamaktadır (Tanda ve Goldberg, 2003; Gardner, 2005) CB1 reseptörlerinin sistemik blokajı, çeşitli ödül uyaranlarına cevaben nükleus akumbenste dopamin salınımını azaltmaktadır (Covey ve ark., 2016; Oleson ve ark., 2012; Wang ve ark., 2015). Bununla birlikte VTA içindeki dopaminerjik nöronlarda CB1 reseptörleri bulunmaz (Herkenham ve ark., 1991) ve endokannabinoidlerin yaptığı modülasyon dolaylı yoldan gerçekleşir. Normal koşullarda VTA içindeki dopaminerjik nöronlar, önemli ölçüde inhibitör GABAerjik girdi almaktadır. GABAerjik girdinin ortadan kaldırılması, nükleus akumbenste dopamin salınması üzerindeki tonik inhibisyonu azaltmaktadır (Nieh ve ark., 2016; Stamatakis ve ark., 2013). Bu disinhibisyon, endokannabinoidlerin dopamin salınımını modüle etme yolu olarak görülmektedir. Özetlemek gerekirse, dopaminerjik nöronun aktivasyonu, nöron gövdesinde hücre içi kalsiyum seviyelerinde artışa ve öncelikle 2-AG'nin sentezine yol açan diasilgliserol lipaz aktivasyonuna neden olmaktadır (Wilson ve Nicoll, 2001). 2-AG daha sonra GABAerjik nöronların presinaptik uçlarındaki CB1 reseptörleri üzerinde

retrograd olarak etki ederek GABA iletiminin inhibisyonuna yol açmaktadır. Bu GABA baskılaması, dopamin nöronlarının disinhibisyonuna ve fazik ateşleme aktivitelerinin daha da artmasına neden olmaktadır (Friend ve ark., 2017; Peters ve ark., 2021b).

Dopaminerjik nöron gövdesindeki ateşlemelerden bağımsız olarak, kortikal glutamat aferentleri ve kolinerjik inter-nöronlar gibi terminal dopamin salınımı üzerinde etkili olan girdiler de vardır (Threlfell ve ark., 2012; Cachope ve ark., 2012). Örneğin, farelerde kolinerjik inter-nöronlar, VTA ateşlemesinden bağımsız olarak nükleus akumbens içindeki dopamin salınımını uyarmaktadır (Cachope ve ark., 2012). CB1 reseptör ekspresyonu yapmasalar bile, bu kolinerjik ara nöronlar aracılı dopamin salınımı sistemik CB1 reseptör agonistleri tarafından önemli ölçüde engellenmektedir (Mateo ve ark., 2017). Buradaki modülasyon, CB1 reseptörlerini yüksek oranda eksprese eden ve kolinerjik ara nöronlar ile sinaps yapan kortikal glutamaterjik aferentler aracılı gerçekleşmektedir. Prefrontal korteksten gelen glutamaterjik nöronlar normalde kolinerjik inter-nöronları uyarmakta, aktive olan nikotinik asetilkolin reseptörleri de dopamin salınımını uyarmaktadır (Peters ve ark., 2021b; Kosillo ve ark., 2016). Böylece kannabinoid aracılı glutamaterjik inhibisyon kolinerjik inter-nöronlar aracılı dopamin salgısını engellemede rol alıyor görünmektedir.

9. HİSTAMİN

Histamin, histidin amino asidinden sentezlenen bir biyojenik amin nörotransmitterdir. Kan-beyin bariyerini geçemez ve beyinde lokal olarak histidin dekarboksilaz enzimi aracılığı ile üretilir. Histaminerjik nöronların hücre gövdeleri, orta beyindeki küçük bir hücre kümesinde, tuberomamiller çekirdekte bulunmaktadır. Histaminerjik nöron sayısı az olsa da projeksiyonları çok yaygındır. Serebral kortikal alanların çoğunun yanı sıra hipotalamus, hipokampus, amigdala ile dorsal ve ventral striatum dahil olmak üzere, birçok subkortikal bölgeyi inerve ederler (Haas ve ark., 2008; Ellenbroek, 2013). Histaminerjik projeksiyonlar, bölgeler arasında eşit dağılmaz ve lif yoğunlukları açısından farklılıklar gösterir. Hipotalamik çekirdekler başta olmak üzere, septum, diyagonal bant, VTA ve olfaktör tüberküller gibi yapıların histaminerjik sistem tarafından inervasyonu yüksektir (Brabant ve ark., 2010). Bu yaygın dağılıma paralel olarak, histamin uyarılma, uyku-uyanıklık düzenlemesi, termoregülasyon, ağrı algısı, beslenme, yüksek bilişsel

işlevler ve ruh halinin belirlenmesi gibi çok sayıda beyin fonksiyonu ile ilişkilendirilmektedir (Haas ve ark., 2008). Beyin histamini ayrıca motivasyon/ödül süreçlerinde yer alan yapılarda, nöral aktiviteyi farklı seviyelerde etkileyerek mezokortikolimbik dopamin sisteminin modülasyonuna katılabilmektedir (Torrealba ve ark., 2012).

Histamin etkilerine H1-H4 olarak adlandırılan dört farklı reseptör aracılık etmektedir. G-proteini ile eşleşmiş olan bu reseptörlerden üçü (H1, H2 ve H3 reseptörleri) MSS’de yaygın dağılım göstermektedir. Bunlardan H1 ve H2 reseptörleri esas olarak postsinaptik membranda yerleşmiştir ve sırasıyla fosfolipaz C ve adenilat siklaz aktivasyonu yaparak hücrenel etkilerini gösterirler. Her ikisinin de uyarıcı etkileri vardır. H3 reseptörleri ise en azından başlangıçta histaminerjik lifler üzerindeki presinaptik otoresptörler olarak tanımlanmıştır (Arrang ve ark., 1983; Brabant ve ark., 2010; Ellenbroek, 2013). Öncelikle adenilat siklazın inhibisyonuna ve hücre içi cAMP üretiminde bir azalmaya neden olan reseptörlerdir (Torrent ve ark., 2005). Bununla birlikte, fosfolipaz A2 (Bongers ve ark., 2007) ve MAP kinaz yollarını da (Drutel ve ark., 2001; Giovannini ve ark., 2003) aktive edebildikleri gösterilmiştir. H3 reseptörlerinin aktivasyonu, presinaptik histamin sentez ve salınımlında inhibisyonuna neden olmaktadır. Sonraki çalışmalarda H3 reseptörlerinin çoğunun histaminerjik olmayan lifler üzerinde yer alan inhibitör hetero-reseptörler olduğunu bulmuştur. H3 reseptörlerinin aktivasyonu dopamin, noradrenalin, GABA ve asetilkolin dahil olmak üzere çeşitli nörotransmitterlerin sentezini ve salınımlarını inhibe edebilmektedir (Haas ve ark., 2008). Histamin reseptörlerinin sonucusu ağırlıklı olarak dalak, akciğer, karaciğer ve bağırsak gibi periferik dokularda lokalize olan H4 reseptörüdür (Breunig ve ark., 2007). Bununla birlikte H4’ün MSS’de bulunduğu dair kanıtlar da vardır (Connelly ve ark. al., 2009).

Tuberomamiller çekirdek nöronlarının lezyonu ve H1 reseptör antagonistleri ile yapılan erken çalışmalar, histaminin ödül ve bağımlılık davranışlarının gelişiminde engelleyici bir rolü olduğunu ileri sürmüştür (Wagner ve ark., 1993; Huston ve ark., 1997). Daha sonraki çalışmalarda ise çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, büyük striatal kolinerjik inter-nöronlardaki H1 reseptörlerinin aktivasyonu, striatumda asetilkolin salınımlında artışa yol açarak dopaminerjik aktiviteyi artırabilmektedir (Bell ve ark., 2000). Diğer yandan, H1 reseptörlerinin aktivasyonu, VTA/substantia nigra pars

retikulatadaki GABAerjik nöronları uyarmakta ve bu yolla orta beyinde dopaminerjik aktiviteyi inhibe edebilmektedir (Korotkova ve ark., 2002). Striatumdaki GABAerjik ara nöronlarda birlikte bulunan H1 ve H2 reseptörlerinin sinerjistik aktivasyonu, bu hücreleri depolarize edebilmektedir. Her iki reseptörün de dahil olduğu bu nöral mekanizma, metamfetamin kaynaklı davranışsal duyarılılaşmada rol oynamaktadır (Ogawa ve ark., 2009). H3 reseptörleri nükleus akumbens ve olfaktor tüberküller dahil olmak üzere, striatumba çok yüksek yoğunlukta bulunmaktadır. Presinaptik yerleşimli H3 reseptörlerinin uyarılması dopaminerjik hücrelerde dopamin sentez ve salınımını azaltabilmektedir (Schlicker ve ark., 1993; Molina-Hernandez ve ark., 2000). GABAerjik orta-büyükölükteki dikensi nöronlarda postsinaptik yerleşimli olan H3 reseptörlerinin aktivasyonu, D1 ve D2 reseptör fonksiyonlarının negatif modülasyonu yoluyla dopamin iletimini zayıflatmaktadır (Sánchez-Lemus ve Arias-Montaño, 2004). Öyle görünüyor ki histamin, farklı reseptörleri aracılığı ile farklı nöron gruplarını etkilemekte ve bu yolla dopamin iletimi ve bağımlılıkla ilgili davranışlar üzerinde kompleks etkili bir modölatör işlevi görmektedir.

SONUÇ

Bağımlılık, beyinin ödöl, motivasyon ve hafızayla ilgili devrelerinde, pek çok nöron grubu ve hücre içi sinyal yolağının etkilendiğı, olumsuz sonuçlarına rağmen devam eden, zorunlu bir uyuşturucu arama davranışı ile karakterize edilen kronik bir hastalıktır. Kötüye kullanılan farklı ilaç türleri farklı etki mekanizmalarına sahip olsa da, çeşitli beyin alanlarını ve nörokimyasal substratları içeren ortak bir bağımlılık yolağı olduğu düşünölmüş ve nükleus akumbens ile VTA'nın dahil olduğu mezolimbik dopamin sistemi bağımlılık yapan uyuşturucu etkileri için bir "nihai ortak yol" olarak önerilmiştir. Ortak yolun dopaminerjik nöronlarının aktivitesi doğrudan veya dolaylı olarak glutamat, GABA, serotonin, oksitosin, endojen kannabinoidler veya histamin salgılayan farklı tipteki nöronların etkisi altındadır. Potansiyel olarak bağımlılık yapan ilaçların, belirli nörotransmitterler ile eşleştiğı saptanmıştır. Örneğın, kokainin temel etkisi beyinde dopamin seviyelerini yükseltmek iken alkolün etkisinde dopaminin yanı sıra serotonin, GABA, glutamat, asetilkolin ve endorfinler dahil çok sayıda nörotransmitter sistemi

etkilenmektedir. Bu bölümde, bağımlılıkta rol oynayan nörotransmitterlerden öne çakanları hakkında bilgi verilmiştir.

Bağımlılık, etkilenen bireylere, ailesine, arkadaşlarına ve bir bütün olarak topluma önemli ölçüde zarar veren yıkıcı bir hastalıktır. Sosyal ve mesleki olumsuz etkilerinin yanı sıra tüm dünyada her yıl, tütün, alkol ve yasa dışı uyuşturucuların kötüye kullanılmasının doğrudan sağlık hizmetlerine maliyeti giderek artmaktadır. Bağımlılığın altında yatan biyolojik mekanizmaların tanımlanması, hedefe yönelik ilaç geliştirilmesi için önemlidir. Bağımlılığa neden olan faktörler beyinde uzun süreli ve hatta kalıcı değişikliklere neden olabilmektedir. Bu nedenle uyuşturucuyu arama ve yeniden kullanma davranışının altında yatan nörobiyolojik faktörlerin tam olarak anlaşılması için araştırmaların devam etmesi gereklidir. Başarılı bir tedavi için çoğu uyuşturucu ve alkol bağımlısında nükseden davranışların engellenmesi için bu önemlidir.

KAYNAKÇA

- Abraham W. C. (2008). Metaplasticity: tuning synapses and networks for plasticity. *Nature reviews. Neuroscience*, 9(5), 387. <https://doi.org/10.1038/nrn2356>
- Arborelius, L., Chergui, K., Murase, S., Nomikos, G. G., Höök, B. B., Chouvet, G., Hacksell, U., & Svensson, T. H. (1993). The 5-HT_{1A} receptor selective ligands, (R)-8-OH-DPAT and (S)-UH-301, differentially affect the activity of midbrain dopamine neurons. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 347(4), 353–362. <https://doi.org/10.1007/BF00165384>
- Arrang, J. M., Garbarg, M., & Schwartz, J. C. (1983). Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H₃) of histamine receptor. *Nature*, 302(5911), 832–837. <https://doi.org/10.1038/302832a0>
- Auclair, A., Drouin, C., Cotecchia, S., Glowinski, J., & Tassin, J. P. (2004). 5-HT_{2A} and alpha_{1b}-adrenergic receptors entirely mediate dopamine release, locomotor response and behavioural sensitization to opiates and psychostimulants. *The European journal of neuroscience*, 20(11), 3073–3084. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03805.x>
- Banerjee N. (2014). Neurotransmitters in alcoholism: A review of neurobiological and genetic studies. *Indian journal of human genetics*, 20(1), 20–31. <https://doi.org/10.4103/0971-6866.132750>
- Barnes, N. M., & Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38(8), 1083–1152. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(99\)00010-6](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(99)00010-6)
- Bell, M. I., Richardson, P. J., & Lee, K. (2000). Histamine depolarizes cholinergic interneurons in the rat striatum via a H₁-receptor mediated action. *British journal of pharmacology*, 131(6), 1135–1142. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703692>
- Bernheim, A., Leong, K. C., Berini, C., & Reichel, C. M. (2017). Antagonism of mGlu_{2/3} receptors in the nucleus accumbens prevents oxytocin from reducing cued methamphetamine seeking in male and female rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 161, 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.08.012>
- Bocklisch, C., Pascoli, V., Wong, J. C., House, D. R., Yvon, C., de Roo, M., Tan, K. R., & Lüscher, C. (2013). Cocaine disinhibits dopamine neurons by potentiation of GABA transmission in the ventral tegmental

- area. *Science* (New York, N.Y.), 341(6153), 1521–1525. <https://doi.org/10.1126/science.1237059>
- Bongers, G., Sallmen, T., Passani, M. B., Mariottini, C., Wendelin, D., Lozada, A., Marle, A.v, Navis, M., Blandina, P., Bakker, R. A., Panula, P., & Leurs, R. (2007). The Akt/GSK-3beta axis as a new signaling pathway of the histamine H(3) receptor. *Journal of neurochemistry*, 103(1), 248–258. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04752.x>
- Brabant, C., Alleva, L., Quertemont, E., & Tirelli, E. (2010). Involvement of the brain histaminergic system in addiction and addiction-related behaviors: a comprehensive review with emphasis on the potential therapeutic use of histaminergic compounds in drug dependence. *Progress in neurobiology*, 92(3), 421–441. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.07.002>
- Breunig, E., Michel, K., Zeller, F., Seidl, S., Weyhern, C. W., & Schemann, M. (2007). Histamine excites neurones in the human submucous plexus through activation of H1, H2, H3 and H4 receptors. *The Journal of physiology*, 583(Pt 2), 731–742. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.139352>
- Broderick, P. A., Hope, O., Okonji, C., Rahni, D. N., & Zhou, Y. (2004). Clozapine and cocaine effects on dopamine and serotonin release in nucleus accumbens during psychostimulant behavior and withdrawal. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 28(1), 157–171. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2003.09.032>
- Bubar, M. J., & Cunningham, K. A. (2008). Prospects for serotonin 5-HT2R pharmacotherapy in psychostimulant abuse. *Progress in brain research*, 172, 319–346. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)00916-3](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)00916-3)
- Cachope, R., Mateo, Y., Mathur, B. N., Irving, J., Wang, H. L., Morales, M., Lovinger, D. M., & Cheer, J. F. (2012). Selective activation of cholinergic interneurons enhances accumbal phasic dopamine release: setting the tone for reward processing. *Cell reports*, 2(1), 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.05.011>
- Cameron, D. L., Wessendorf, M. W., & Williams, J. T. (1997). A subset of ventral tegmental area neurons is inhibited by dopamine, 5-hydroxytryptamine and opioids. *Neuroscience*, 77(1), 155–166. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(96\)00444-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(96)00444-7)

- Campbell, A. D., Kohl, R. R., & McBride, W. J. (1996). Serotonin-3 receptor and ethanol-stimulated somatodendritic dopamine release. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, *13*(6), 569–574. [https://doi.org/10.1016/s0741-8329\(96\)00069-9](https://doi.org/10.1016/s0741-8329(96)00069-9)
- Ciccarelli, A., Calza, A., Panzanelli, P., Concas, A., Giustetto, M., & Sassoè-Pognetto, M. (2012). Organization of GABAergic synaptic circuits in the rat ventral tegmental area. *PLoS one*, *7*(10), e46250. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046250>
- Connelly, W. M., Shenton, F. C., Lethbridge, N., Leurs, R., Waldvogel, H. J., Faull, R. L., Lees, G., & Chazot, P. L. (2009). The histamine H4 receptor is functionally expressed on neurons in the mammalian CNS. *British journal of pharmacology*, *157*(1), 55–63. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00227.x>
- Cooper, B. R., Breese, G. R., Grant, L. D., & Howard, J. L. (1973). Effects of 6-hydroxydopamine treatments on active avoidance responding: evidence for involvement of brain dopamine. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, *185*(2), 358–370.
- Cooper, S., Robison, A. J., & Mazei-Robison, M. S. (2017). Reward Circuitry in Addiction. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics*, *14*(3), 687–697. <https://doi.org/10.1007/s13311-017-0525-z>
- Corre, J., van Zessen, R., Loureiro, M., Patriarchi, T., Tian, L., Pascoli, V., & Lüscher, C. (2018). Dopamine neurons projecting to medial shell of the nucleus accumbens drive heroin reinforcement. *eLife*, *7*, e39945. <https://doi.org/10.7554/eLife.39945>
- Covey, D. P., Bunner, K. D., Schuweiler, D. R., Cheer, J. F., & Garris, P. A. (2016). Amphetamine elevates nucleus accumbens dopamine via an action potential-dependent mechanism that is modulated by endocannabinoids. *The European journal of neuroscience*, *43*(12), 1661–1673. <https://doi.org/10.1111/ejn.13248>
- Creed, M. C., Ntamati, N. R., & Tan, K. R. (2014). VTA GABA neurons modulate specific learning behaviors through the control of dopamine and cholinergic systems. *Frontiers in behavioral neuroscience*, *8*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00008>
- Cruz, H. G., Ivanova, T., Lunn, M. L., Stoffel, M., Slesinger, P. A., & Lüscher, C. (2004). Bi-directional effects of GABA(B) receptor agonists on the

- mesolimbic dopamine system. *Nature neuroscience*, 7(2), 153–159. <https://doi.org/10.1038/nn1181>
- Cunningham, K. A., & Anastasio, N. C. (2014). Serotonin at the nexus of impulsivity and cue reactivity in cocaine addiction. *Neuropharmacology*, 76 Pt B(0 0), 460–478. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.06.030>
- Daberkow, D. P., Brown, H. D., Bunner, K. D., Kraniotis, S. A., Doellman, M. A., Ragozzino, M. E., Garris, P. A., & Roitman, M. F. (2013). Amphetamine paradoxically augments exocytotic dopamine release and phasic dopamine signals. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 33(2), 452–463. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2136-12.2013>
- De Deurwaerdère, P., & Di Giovanni, G. (2020). Serotonin in Health and Disease. *International journal of molecular sciences*, 21(10), 3500. <https://doi.org/10.3390/ijms21103500>
- Deneau, G., Yanagita, T., & Seevers, M. H. (1969). Self-administration of psychoactive substances by the monkey. *Psychopharmacologia*, 16(1), 30–48. <https://doi.org/10.1007/BF00405254>
- Di Marzo V. (2008). Endocannabinoids: synthesis and degradation. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, 160, 1–24. https://doi.org/10.1007/112_0505
- Di Matteo, V., Di Giovanni, G., Pierucci, M., & Esposito, E. (2008). Serotonin control of central dopaminergic function: focus on in vivo microdialysis studies. *Progress in brain research*, 172, 7–44. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)00902-3](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)00902-3)
- Dobi, A., Margolis, E. B., Wang, H. L., Harvey, B. K., & Morales, M. (2010). Glutamatergic and nonglutamatergic neurons of the ventral tegmental area establish local synaptic contacts with dopaminergic and nondopaminergic neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(1), 218–229. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3884-09.2010>
- Drutel, G., Peitsaro, N., Karlstedt, K., Wieland, K., Smit, M. J., Timmerman, H., Panula, P., & Leurs, R. (2001). Identification of rat H3 receptor isoforms with different brain expression and signaling properties. *Molecular pharmacology*, 59(1), 1–8.
- Edwards, N. J., Tejada, H. A., Pignatelli, M., Zhang, S., McDevitt, R. A., Wu, J., Bass, C. E., Bettler, B., Morales, M., & Bonci, A. (2017). Circuit

- specificity in the inhibitory architecture of the VTA regulates cocaine-induced behavior. *Nature neuroscience*, 20(3), 438–448. <https://doi.org/10.1038/nn.4482>
- Ellenbroek B. A. (2013). Histamine H₃ receptors, the complex interaction with dopamine and its implications for addiction. *British journal of pharmacology*, 170(1), 46–57. <https://doi.org/10.1111/bph.12221>
- Fehr, C., Yakushev, I., Hohmann, N., Buchholz, H. G., Landvogt, C., Deckers, H., Eberhardt, A., Kläger, M., Smolka, M. N., Scheurich, A., Dielentheis, T., Schmidt, L. G., Rösch, F., Bartenstein, P., Gründer, G., & Schreckenberger, M. (2008). Association of low striatal dopamine d2 receptor availability with nicotine dependence similar to that seen with other drugs of abuse. *The American journal of psychiatry*, 165(4), 507–514. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2007.07020352>
- Ferré S. (2016). Mechanisms of the psychostimulant effects of caffeine: implications for substance use disorders. *Psychopharmacology*, 233(10), 1963–1979. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4212-2>
- Filip, M., Frankowska, M., Zaniewska, M., Gołda, A., & Przegaliński, E. (2005). The serotonergic system and its role in cocaine addiction. *Pharmacological reports : PR*, 57(6), 685–700.
- Fletcher, P. J., Sinyard, J., & Higgins, G. A. (2006). The effects of the 5-HT(2C) receptor antagonist SB242084 on locomotor activity induced by selective, or mixed, indirect serotonergic and dopaminergic agonists. *Psychopharmacology*, 187(4), 515–525. <https://doi.org/10.1007/s00213-006-0453-9>
- Friend, L., Weed, J., Sandoval, P., Nufer, T., Ostlund, I., & Edwards, J. G. (2017). CB1-Dependent Long-Term Depression in Ventral Tegmental Area GABA Neurons: A Novel Target for Marijuana. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 37(45), 10943–10954. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0190-17.2017>
- Gallistel, C. R., Shizgal, P., & Yeomans, J. S. (1981). A portrait of the substrate for self-stimulation. *Psychological review*, 88(3), 228–273.
- Gardner E. L. (2000). What we have learned about addiction from animal models of drug self-administration. *The American journal on addictions*, 9(4), 285–313. <https://doi.org/10.1080/105504900750047355>

- Gardner E. L. (2005). Endocannabinoid signaling system and brain reward: emphasis on dopamine. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 81(2), 263–284. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.01.032>
- Gardner E. L. (2011). Addiction and brain reward and antireward pathways. *Advances in psychosomatic medicine*, 30, 22–60. <https://doi.org/10.1159/000324065>
- Gervais, J., & Rouillard, C. (2000). Dorsal raphe stimulation differentially modulates dopaminergic neurons in the ventral tegmental area and substantia nigra. *Synapse (New York, N.Y.)*, 35(4), 281–291. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(20000315\)35:4<281::AID-SYN6>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(20000315)35:4<281::AID-SYN6>3.0.CO;2-A)
- Giorgetti, M., Hotsenpiller, G., Froestl, W., & Wolf, M. E. (2002). In vivo modulation of ventral tegmental area dopamine and glutamate efflux by local GABA(B) receptors is altered after repeated amphetamine treatment. *Neuroscience*, 109(3), 585–595. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(01\)00510-z](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(01)00510-z)
- Giovannini, M. G., Efooudebe, M., Passani, M. B., Baldi, E., Bucherelli, C., Giachi, F., Corradetti, R., & Blandina, P. (2003). Improvement in fear memory by histamine-elicited ERK2 activation in hippocampal CA3 cells. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(27), 9016–9023. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-27-09016.2003>
- Haas, H. L., Sergeeva, O. A., & Selbach, O. (2008). Histamine in the nervous system. *Physiological reviews*, 88(3), 1183–1241. <https://doi.org/10.1152/physrev.00043.2007>
- Herkenham, M., Lynn, A. B., Johnson, M. R., Melvin, L. S., de Costa, B. R., & Rice, K. C. (1991). Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 11(2), 563–583. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.11-02-00563.1991>
- Higgins, G. A., & Fletcher, P. J. (2003). Serotonin and drug reward: focus on 5-HT_{2C} receptors. *European journal of pharmacology*, 480(1-3), 151–162. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2003.08.102>
- Howlett, A. C., Barth, F., Bonner, T. I., Cabral, G., Casellas, P., Devane, W. A., Felder, C. C., Herkenham, M., Mackie, K., Martin, B. R., Mechoulam, R., & Pertwee, R. G. (2002). International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid

- receptors. *Pharmacological reviews*, 54(2), 161–202. <https://doi.org/10.1124/pr.54.2.161>
- Huston, J. P., Wagner, U., & Hasenöhrl, R. U. (1997). The tuberomammillary nucleus projections in the control of learning, memory and reinforcement processes: evidence for an inhibitory role. *Behavioural brain research*, 83(1-2), 97–105. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(97\)86052-4](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(97)86052-4)
- Jalabert, M., Bourdy, R., Courtin, J., Veinante, P., Manzoni, O. J., Barrot, M., & Georges, F. (2011). Neuronal circuits underlying acute morphine action on dopamine neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(39), 16446–16450. <https://doi.org/10.1073/pnas.1105418108>
- Johnson, S. W., & North, R. A. (1992). Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 12(2), 483–488. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-02-00483.1992>
- Jones, S. R., Gainetdinov, R. R., Wightman, R. M., & Caron, M. G. (1998). Mechanisms of amphetamine action revealed in mice lacking the dopamine transporter. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 18(6), 1979–1986. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-06-01979.1998>
- Jordan, C. J., & Xi, Z. X. (2019). Progress in brain cannabinoid CB₂ receptor research: From genes to behavior. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 98, 208–220. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.12.026>
- Kalivas, P. W., & Duffy, P. (1995). D1 receptors modulate glutamate transmission in the ventral tegmental area. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(7 Pt 2), 5379–5388. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-07-05379.1995>
- Kalivas, P. W., & Hu, X. T. (2006). Exciting inhibition in psychostimulant addiction. *Trends in neurosciences*, 29(11), 610–616. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2006.08.008>
- Kalivas, P. W., & O'Brien, C. (2008). Drug addiction as a pathology of staged neuroplasticity. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 33(1), 166–180. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301564>

- Kalivas, P. W., Duffy, P., & Eberhardt, H. (1990). Modulation of A10 dopamine neurons by gamma-aminobutyric acid agonists. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 253(2), 858–866.
- Katona, I., Sperlág, B., Sík, A., Káfalvi, A., Vizi, E. S., Mackie, K., & Freund, T. F. (1999). Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(11), 4544–4558. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-11-04544.1999>
- Keefe, K. A., Salamone, J. D., Zigmond, M. J., & Stricker, E. M. (1989). Paradoxical kinesis in parkinsonism is not caused by dopamine release. Studies in an animal model. *Archives of neurology*, 46(10), 1070–1075. <https://doi.org/10.1001/archneur.1989.00520460046012>
- Kirby, L. G., Zeeb, F. D., & Winstanley, C. A. (2011). Contributions of serotonin in addiction vulnerability. *Neuropharmacology*, 61(3), 421–432. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.03.022>
- Klitenick, M. A., DeWitte, P., & Kalivas, P. W. (1992). Regulation of somatodendritic dopamine release in the ventral tegmental area by opioids and GABA: an in vivo microdialysis study. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 12(7), 2623–2632. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-07-02623.1992>
- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(1), 217–238. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.110>
- Korotkova, T. M., Haas, H. L., & Brown, R. E. (2002). Histamine excites GABAergic cells in the rat substantia nigra and ventral tegmental area in vitro. *Neuroscience letters*, 320(3), 133–136. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(02\)00050-2](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(02)00050-2)
- Kosillo, P., Zhang, Y. F., Threlfell, S., & Cragg, S. J. (2016). Cortical Control of Striatal Dopamine Transmission via Striatal Cholinergic Interneurons. *Cerebral cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 26(11), 4160–4169. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw252>
- Kravitz, A. V., Tye, L. D., & Kreitzer, A. C. (2012). Distinct roles for direct and indirect pathway striatal neurons in reinforcement. *Nature neuroscience*, 15(6), 816–818. <https://doi.org/10.1038/nn.3100>

- Lammel, S., Ion, D. I., Roeper, J., & Malenka, R. C. (2011). Projection-specific modulation of dopamine neuron synapses by aversive and rewarding stimuli. *Neuron*, *70*(5), 855–862. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.03.025>
- Lejeune, F., & Millan, M. J. (1998). Induction of burst firing in ventral tegmental area dopaminergic neurons by activation of serotonin (5-HT)_{1A} receptors: WAY 100,635-reversible actions of the highly selective ligands, flesinoxan and S 15535. *Synapse (New York, N.Y.)*, *30*(2), 172–180. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(199810\)30:2<172::AID-SYN7>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199810)30:2<172::AID-SYN7>3.0.CO;2-9)
- Li, X., & Slesinger, P. A. (2022). GABA_B Receptors and Drug Addiction: Psychostimulants and Other Drugs of Abuse. *Current topics in behavioral neurosciences*, *52*, 119–155. https://doi.org/10.1007/7854_2020_187
- Ljungberg, T., Apicella, P., & Schultz, W. (1992). Responses of monkey dopamine neurons during learning of behavioral reactions. *Journal of neurophysiology*, *67*(1), 145–163. <https://doi.org/10.1152/jn.1992.67.1.145>
- Lüscher, C., & Ungless, M. A. (2006). The mechanistic classification of addictive drugs. *PLoS medicine*, *3*(11), e437. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030437>
- Madayag, A., Lobner, D., Kau, K. S., Mantsch, J. R., Abdulhameed, O., Hearing, M., Grier, M. D., & Baker, D. A. (2007). Repeated N-acetylcysteine administration alters plasticity-dependent effects of cocaine. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *27*(51), 13968–13976. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2808-07.2007>
- Maldonado, R., & Rodríguez de Fonseca, F. (2002). Cannabinoid addiction: behavioral models and neural correlates. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *22*(9), 3326–3331. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-09-03326.2002>
- Marshall, J. F., & Teitelbaum, P. (1974). Further analysis of sensory inattention following lateral hypothalamic damage in rats. *Journal of comparative and physiological psychology*, *86*(3), 375–395. <https://doi.org/10.1037/h0035941>

- Mateo, Y., Johnson, K. A., Covey, D. P., Atwood, B. K., Wang, H. L., Zhang, S., Gildish, I., Cachepe, R., Bellocchio, L., Guzmán, M., Morales, M., Cheer, J. F., & Lovinger, D. M. (2017). Endocannabinoid Actions on Cortical Terminals Orchestrate Local Modulation of Dopamine Release in the Nucleus Accumbens. *Neuron*, *96*(5), 1112–1126.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.11.012>
- Matsui, A., & Williams, J. T. (2011). Opioid-sensitive GABA inputs from rostromedial tegmental nucleus synapse onto midbrain dopamine neurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *31*(48), 17729–17735. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4570-11.2011>
- McFarland, K., Lapish, C. C., & Kalivas, P. W. (2003). Prefrontal glutamate release into the core of the nucleus accumbens mediates cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *23*(8), 3531–3537. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-08-03531.2003>
- McRae-Clark, A. L., Baker, N. L., Maria, M. M., & Brady, K. T. (2013). Effect of oxytocin on craving and stress response in marijuana-dependent individuals: a pilot study. *Psychopharmacology*, *228*(4), 623–631. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3062-4>
- Melis, M., Pistis, M., Perra, S., Muntoni, A. L., Pillolla, G., & Gessa, G. L. (2004). Endocannabinoids mediate presynaptic inhibition of glutamatergic transmission in rat ventral tegmental area dopamine neurons through activation of CB1 receptors. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *24*(1), 53–62. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4503-03.2004>
- Menegas, W., Akiti, K., Amo, R., Uchida, N., & Watabe-Uchida, M. (2018). Dopamine neurons projecting to the posterior striatum reinforce avoidance of threatening stimuli. *Nature neuroscience*, *21*(10), 1421–1430. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0222-1>
- Mileykovskiy, B., & Morales, M. (2011). Duration of inhibition of ventral tegmental area dopamine neurons encodes a level of conditioned fear. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *31*(20), 7471–7476. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5731-10.2011>

- Molina-Hernández, A., Nuñez, A., & Arias-Montaña, J. A. (2000). Histamine H3-receptor activation inhibits dopamine synthesis in rat striatum. *Neuroreport*, *11*(1), 163–166. <https://doi.org/10.1097/00001756-200001170-00032>
- Munro, S., Thomas, K. L., & Abu-Shaar, M. (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, *365*(6441), 61–65. <https://doi.org/10.1038/365061a0>
- Nair-Roberts, R. G., Chatelain-Badie, S. D., Benson, E., White-Cooper, H., Bolam, J. P., & Ungless, M. A. (2008). Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat. *Neuroscience*, *152*(4), 1024–1031. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.01.046>
- Navailles, S., & De Deurwaerdère, P. (2011). Presynaptic control of serotonin on striatal dopamine function. *Psychopharmacology*, *213*(2-3), 213–242. <https://doi.org/10.1007/s00213-010-2029-y>
- Nieh, E. H., Vander Weele, C. M., Matthews, G. A., Presbrey, K. N., Wichmann, R., Leppla, C. A., Izadmehr, E. M., & Tye, K. M. (2016). Inhibitory Input from the Lateral Hypothalamus to the Ventral Tegmental Area Disinhibits Dopamine Neurons and Promotes Behavioral Activation. *Neuron*, *90*(6), 1286–1298. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.04.035>
- Ogawa, S., Yanai, K., Watanabe, T., Wang, Z. M., Akaike, H., Ito, Y., & Akaike, N. (2009). Histamine responses of large neostriatal interneurons in histamine H1 and H2 receptor knock-out mice. *Brain research bulletin*, *78*(4-5), 189–194. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2008.10.016>
- Olds, J., & Milner, P. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of comparative and physiological psychology*, *47*(6), 419–427. <https://doi.org/10.1037/h0058775>
- Oleson, E. B., & Cheer, J. F. (2012). A brain on cannabinoids: the role of dopamine release in reward seeking. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, *2*(8), a012229. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012229>
- Oleson, E. B., Beckert, M. V., Morra, J. T., Lansink, C. S., Cachepe, R., Abdullah, R. A., Loriaux, A. L., Schettters, D., Pattij, T., Roitman, M. F., Lichtman, A. H., & Cheer, J. F. (2012). Endocannabinoids shape

- accumbal encoding of cue-motivated behavior via CB1 receptor activation in the ventral tegmentum. *Neuron*, 73(2), 360–373. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.11.018>
- Overton, P., & Clark, D. (1992). Iontophoretically administered drugs acting at the N-methyl-D-aspartate receptor modulate burst firing in A9 dopamine neurons in the rat. *Synapse (New York, N.Y.)*, 10(2), 131–140. <https://doi.org/10.1002/syn.890100208>
- Pedersen, C. A., Smedley, K. L., Leserman, J., Jarskog, L. F., Rau, S. W., Kampov-Polevoi, A., Casey, R. L., Fender, T., & Garbutt, J. C. (2013). Intranasal oxytocin blocks alcohol withdrawal in human subjects. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 37(3), 484–489. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2012.01958.x>
- Peris, J., MacFadyen, K., Smith, J. A., de Kloet, A. D., Wang, L., & Krause, E. G. (2017). Oxytocin receptors are expressed on dopamine and glutamate neurons in the mouse ventral tegmental area that project to nucleus accumbens and other mesolimbic targets. *The Journal of comparative neurology*, 525(5), 1094–1108. <https://doi.org/10.1002/cne.24116>
- Peris, J., Steck, M. R., & Krause, E. G. (2020). Oxytocin treatment for alcoholism: Potential neurocircuitry targets. *Neuropharmacology*, 171, 108091. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108091>
- Peters, K. Z., Cheer, J. F., & Tonini, R. (2021a). Modulating the Neuromodulators: Dopamine, Serotonin, and the Endocannabinoid System. *Trends in neurosciences*, 44(6), 464–477. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2021.02.001>
- Peters, K. Z., Oleson, E. B., & Cheer, J. F. (2021b). A Brain on Cannabinoids: The Role of Dopamine Release in Reward Seeking and Addiction. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 11(1), a039305. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a039305>
- Pierce, R. C., Bell, K., Duffy, P., & Kalivas, P. W. (1996). Repeated cocaine augments excitatory amino acid transmission in the nucleus accumbens only in rats having developed behavioral sensitization. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 16(4), 1550–1560. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-04-01550.1996>
- Polter, A. M., & Kauer, J. A. (2014). Stress and VTA synapses: implications for addiction and depression. *The European journal of neuroscience*, 39(7), 1179–1188. <https://doi.org/10.1111/ejn.12490>

- Polter, A. M., Barcomb, K., Tsuda, A. C., & Kauer, J. A. (2018). Synaptic function and plasticity in identified inhibitory inputs onto VTA dopamine neurons. *The European journal of neuroscience*, *47*(10), 1208–1218. <https://doi.org/10.1111/ejn.13879>
- Porter, A. C., Sauer, J. M., Knierman, M. D., Becker, G. W., Berna, M. J., Bao, J., Nomikos, G. G., Carter, P., Bymaster, F. P., Leese, A. B., & Felder, C. C. (2002). Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the CB1 receptor. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, *301*(3), 1020–1024. <https://doi.org/10.1124/jpet.301.3.1020>
- Qi, J., Han, W. Y., Yang, J. Y., Wang, L. H., Dong, Y. X., Wang, F., Song, M., & Wu, C. F. (2012). Oxytocin regulates changes of extracellular glutamate and GABA levels induced by methamphetamine in the mouse brain. *Addiction biology*, *17*(4), 758–769. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2012.00439.x>
- Qi, J., Zhang, S., Wang, H. L., Wang, H., de Jesus Aceves Buendia, J., Hoffman, A. F., Lupica, C. R., Seal, R. P., & Morales, M. (2014). A glutamatergic reward input from the dorsal raphe to ventral tegmental area dopamine neurons. *Nature communications*, *5*, 5390. <https://doi.org/10.1038/ncomms6390>
- Rice, M. E., & Cragg, S. J. (2008). Dopamine spillover after quantal release: rethinking dopamine transmission in the nigrostriatal pathway. *Brain research reviews*, *58*(2), 303–313. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2008.02.004>
- Routtenberg, A., Gardner, E. L., & Huang, Y. H. (1971). Self-stimulation pathways in the monkey, *Macaca mulatta*. *Experimental neurology*, *33*(1), 213–224. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(71\)90115-4](https://doi.org/10.1016/0014-4886(71)90115-4)
- Sánchez-Lemus, E., & Arias-Montaño, J. A. (2004). Histamine H3 receptor activation inhibits dopamine D1 receptor-induced cAMP accumulation in rat striatal slices. *Neuroscience letters*, *364*(3), 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.04.045>
- Schenk, S., & Snow, S. (1994). Sensitization to cocaine's motor activating properties produced by electrical kindling of the medial prefrontal cortex but not of the hippocampus. *Brain research*, *659*(1-2), 17–22. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)90858-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)90858-3)

- Schilström, B., Yaka, R., Argilli, E., Suvarna, N., Schumann, J., Chen, B. T., Carman, M., Singh, V., Mailliard, W. S., Ron, D., & Bonci, A. (2006). Cocaine enhances NMDA receptor-mediated currents in ventral tegmental area cells via dopamine D5 receptor-dependent redistribution of NMDA receptors. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(33), 8549–8558. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5179-05.2006>
- Schlicker, E., Fink, K., Detzner, M., & Göthert, M. (1993). Histamine inhibits dopamine release in the mouse striatum via presynaptic H3 receptors. *Journal of neural transmission. General section*, 93(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/BF01244933>
- Schrantee, A., Václavů, L., Heijtel, D. F., Caan, M. W., Gsell, W., Lucassen, P. J., Nederveen, A. J., Booij, J., & Reneman, L. (2015). Dopaminergic system dysfunction in recreational dexamphetamine users. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 40(5), 1172–1180. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.301>
- Soden, M. E., Chung, A. S., Cuevas, B., Resnick, J. M., Awatramani, R., & Zweifel, L. S. (2020). Anatomic resolution of neurotransmitter-specific projections to the VTA reveals diversity of GABAergic inputs. *Nature neuroscience*, 23(8), 968–980. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-0657-z>
- Söderpalm, B., Lidö, H. H., & Ericson, M. (2017). The Glycine Receptor-A Functionally Important Primary Brain Target of Ethanol. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 41(11), 1816–1830. <https://doi.org/10.1111/acer.13483>
- Solinas, M., Goldberg, S. R., & Piomelli, D. (2008). The endocannabinoid system in brain reward processes. *British journal of pharmacology*, 154(2), 369–383. <https://doi.org/10.1038/bjp.2008.130>
- Spanagel R. (2020). Cannabinoids and the endocannabinoid system in reward processing and addiction: from mechanisms to interventions. *Dialogues in clinical neuroscience*, 22(3), 241–250. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2020.22.3/rspanagel>
- Stamatakis, A. M., Jennings, J. H., Ung, R. L., Blair, G. A., Weinberg, R. J., Neve, R. L., Boyce, F., Mattis, J., Ramakrishnan, C., Deisseroth, K., & Stuber, G. D. (2013). A unique population of ventral tegmental area

- neurons inhibits the lateral habenula to promote reward. *Neuron*, 80(4), 1039–1053. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.08.023>
- Stephens, D. N., King, S. L., Lambert, J. J., Belevi, D., & Duka, T. (2017). GABA_A receptor subtype involvement in addictive behaviour. *Genes, brain, and behavior*, 16(1), 149–184. <https://doi.org/10.1111/gbb.12321>
- Sugita, S., Johnson, S. W., & North, R. A. (1992). Synaptic inputs to GABA_A and GABA_B receptors originate from discrete afferent neurons. *Neuroscience letters*, 134(2), 207–211. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(92\)90518-c](https://doi.org/10.1016/0304-3940(92)90518-c)
- Sundar, M., Patel, D., Young, Z., & Leong, K. C. (2021). Oxytocin and Addiction: Potential Glutamatergic Mechanisms. *International journal of molecular sciences*, 22(5), 2405. <https://doi.org/10.3390/ijms22052405>
- Tan, K. R., Brown, M., Labouèbe, G., Yvon, C., Creton, C., Fritschy, J. M., Rudolph, U., & Lüscher, C. (2010). Neural bases for addictive properties of benzodiazepines. *Nature*, 463(7282), 769–774. <https://doi.org/10.1038/nature08758>
- Tan, K. R., Yvon, C., Turiault, M., Mirzabekov, J. J., Doehner, J., Labouèbe, G., Deisseroth, K., Tye, K. M., & Lüscher, C. (2012). GABA neurons of the VTA drive conditioned place aversion. *Neuron*, 73(6), 1173–1183. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.02.015>
- Tanda, G., & Goldberg, S. R. (2003). Cannabinoids: reward, dependence, and underlying neurochemical mechanisms--a review of recent preclinical data. *Psychopharmacology*, 169(2), 115–134. <https://doi.org/10.1007/s00213-003-1485-z>
- Taylor, S. R., Badurek, S., Dileone, R. J., Nashmi, R., Minichiello, L., & Picciotto, M. R. (2014). GABAergic and glutamatergic efferents of the mouse ventral tegmental area. *The Journal of comparative neurology*, 522(14), 3308–3334. <https://doi.org/10.1002/cne.23603>
- Threlfell, S., Lalic, T., Platt, N. J., Jennings, K. A., Deisseroth, K., & Cragg, S. J. (2012). Striatal dopamine release is triggered by synchronized activity in cholinergic interneurons. *Neuron*, 75(1), 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.04.038>
- Tomkins, D. M., & Sellers, E. M. (2001). Addiction and the brain: the role of neurotransmitters in the cause and treatment of drug dependence. *CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, 164(6), 817–821.

- Torrealba, F., Riveros, M. E., Contreras, M., & Valdes, J. L. (2012). Histamine and motivation. *Frontiers in systems neuroscience*, 6, 51. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2012.00051>
- Torrent, A., Moreno-Delgado, D., Gómez-Ramírez, J., Rodríguez-Agudo, D., Rodríguez-Caso, C., Sánchez-Jiménez, F., Blanco, I., & Ortiz, J. (2005). H3 autoreceptors modulate histamine synthesis through calcium/calmodulin- and cAMP-dependent protein kinase pathways. *Molecular pharmacology*, 67(1), 195–203. <https://doi.org/10.1124/mol.104.005652>
- Ungerstedt U. (1971). Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta physiologica Scandinavica. Supplementum*, 367, 95–122. <https://doi.org/10.1111/j.1365-201x.1971.tb11001.x>
- Ungless, M. A., Magill, P. J., & Bolam, J. P. (2004). Uniform inhibition of dopamine neurons in the ventral tegmental area by aversive stimuli. *Science (New York, N.Y.)*, 303(5666), 2040–2042. <https://doi.org/10.1126/science.1093360>
- Ungless, M. A., Whistler, J. L., Malenka, R. C., & Bonci, A. (2001). Single cocaine exposure in vivo induces long-term potentiation in dopamine neurons. *Nature*, 411(6837), 583–587. <https://doi.org/10.1038/35079077>
- Vezina P. (2004). Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity and the self-administration of psychomotor stimulant drugs. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 27(8), 827–839. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.11.001>
- Volkow, N. D., Hitzemann, R., Wang, G. J., Fowler, J. S., Wolf, A. P., Dewey, S. L., & Handlesman, L. (1992). Long-term frontal brain metabolic changes in cocaine abusers. *Synapse (New York, N.Y.)*, 11(3), 184–190. <https://doi.org/10.1002/syn.890110303>
- Wagner, U., Weiler, H. T., & Huston, J. P. (1993). Amplification of rewarding hypothalamic stimulation following a unilateral lesion in the region of the tuberomammillary nucleus. *Neuroscience*, 52(4), 927–932. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(93\)90539-r](https://doi.org/10.1016/0306-4522(93)90539-r)
- Wang, G. J., Volkow, N. D., Fowler, J. S., Logan, J., Abumrad, N. N., Hitzemann, R. J., Pappas, N. S., & Pascani, K. (1997). Dopamine D2 receptor availability in opiate-dependent subjects before and after

- naloxone-precipitated withdrawal. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *16*(2), 174–182. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(96\)00184-4](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(96)00184-4)
- Wang, H. L., Zhang, S., Qi, J., Wang, H., Cachope, R., Mejias-Aponte, C. A., Gomez, J. A., Mateo-Semidey, G. E., Beaudoin, G. M. J., Paladini, C. A., Cheer, J. F., & Morales, M. (2019). Dorsal Raphe Dual Serotonin-Glutamate Neurons Drive Reward by Establishing Excitatory Synapses on VTA Mesoaccumbens Dopamine Neurons. *Cell reports*, *26*(5), 1128–1142.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.01.014>
- Wang, H. L., Zhang, S., Qi, J., Wang, H., Cachope, R., Mejias-Aponte, C. A., Gomez, J. A., Mateo-Semidey, G. E., Beaudoin, G. M. J., Paladini, C. A., Cheer, J. F., & Morales, M. (2019). Dorsal Raphe Dual Serotonin-Glutamate Neurons Drive Reward by Establishing Excitatory Synapses on VTA Mesoaccumbens Dopamine Neurons. *Cell reports*, *26*(5), 1128–1142.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.01.014>
- Wang, H., Treadway, T., Covey, D. P., Cheer, J. F., & Lupica, C. R. (2015). Cocaine-Induced Endocannabinoid Mobilization in the Ventral Tegmental Area. *Cell reports*, *12*(12), 1997–2008. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.08.041>
- Weber, R. A., Logan, C. N., Leong, K. C., Peris, J., Knackstedt, L., & Reichel, C. M. (2018). Regionally Specific Effects of Oxytocin on Reinstatement of Cocaine Seeking in Male and Female Rats. *The international journal of neuropsychopharmacology*, *21*(7), 677–686. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyy025>
- Weiss, F., Ciccocioppo, R., Parsons, L. H., Katner, S., Liu, X., Zorrilla, E. P., Valdez, G. R., Ben-Shahar, O., Angeletti, S., & Richter, R. R. (2001). Compulsive drug-seeking behavior and relapse. Neuroadaptation, stress, and conditioning factors. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *937*, 1–26. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03556.x>
- Wilson, R. I., & Nicoll, R. A. (2001). Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature*, *410*(6828), 588–592. <https://doi.org/10.1038/35069076>

- Wise, R. A., & Robble, M. A. (2020). Dopamine and Addiction. *Annual review of psychology*, 71, 79–106. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010418-103337>
- Yin, H. H., Knowlton, B. J., & Balleine, B. W. (2004). Lesions of dorsolateral striatum preserve outcome expectancy but disrupt habit formation in instrumental learning. *The European journal of neuroscience*, 19(1), 181–189. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03095.x>
- Zanos, P., Georgiou, P., Weber, C., Robinson, F., Kouimtsidis, C., Niforooshan, R., & Bailey, A. (2018). Oxytocin and opioid addiction revisited: old drug, new applications. *British journal of pharmacology*, 175(14), 2809–2824. <https://doi.org/10.1111/bph.13757>

BÖLÜM 2

BAZAL ÇEKİRDEKLERİN ANATOMİSİ VE KLİNİK ÖNEMİ

Dr. Öğr. Üyesi Adem TOKPINAR¹
Öğr. Gör. Burak Oğuzhan KARAPINAR²

¹Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.
ademtokpinar@gmail.com, Orcid ID: 0000-0001-7661-9588

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Samsun, Türkiye.
burakkarapinar@hotmail.com, Orcid ID: 0000-0001-9005-5504

1. GİRİŞ

Bazal ganglionlar veya bazal çekirdekler terimi sağ ve sol serebral hemisferler içerisindeki beyaz cevherin derininde yerleşmiş gri cevher toplulukları (subkortikal çekirdekler) için kullanılmaktadır. Esasen bu yapılar ganglion özelliğinde değil çekirdek (nucleus) yapısındadır. Bu sebepten dolayı bazal ganglionlar ifadesi yerine bazal çekirdekler ifadesini kullanmak daha doğru olacaktır. Bazal çekirdekleri oluşturan başlıca yapılar **nucleus caudatus, putamen, globus pallidus, claustrum** ve **corpus amygdaloideum**dur. Bu bazal çekirdeklerin fonksiyonları ile nucleus subthalamicus, substantia nigra'nın fonksiyonları birbirlerine çok benzemesine rağmen bu yapılar bazal çekirdekler içerisinde yer almamaktadır. Fakat bazı klinisyenler bu fonksiyonel benzerlikleri göz önüne alarak bu yapıları da bazal çekirdeklere dahil etmektedir. Bazal çekirdekler istemli somatik motor hareketlerin başlatılmasında, bu hareketlerin koordinasyonunda ve motor hareketlere bağlı postural kontrolde görev alır. Bazal çekirdekleri tanımlamak için bazı farklı terminolojik terimler de kullanılmaktadır. Örneğin:

Nucleus lentiformis: Putamen+Globus Pallidus

Striatum (Neostriatum): Nucleus caudatus+Putamen

Corpus striatum: Nucleus caudatus+Nucleus Lentiformis

2. BAZAL ÇEKİRDEKLER

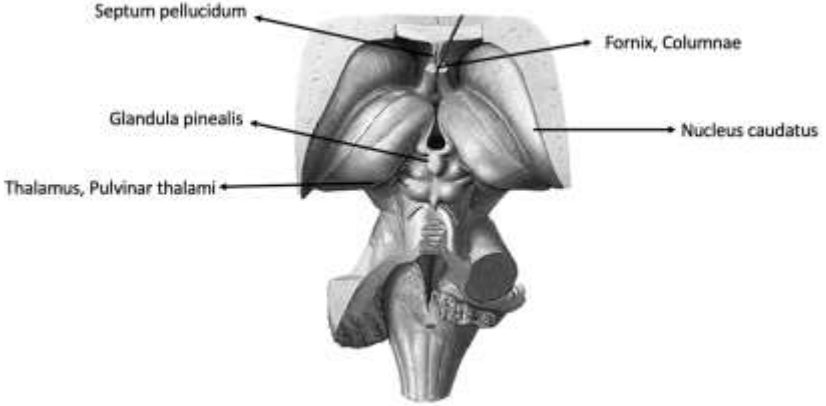
2.1. Nucleus Caudatus

Thalamus'un lateral kısmında yer alan ve lateral ventriküllerle komşuluk yapan büyük C harfi şeklindeki gri cevher kitlesidir. Bu çekirdek caput, corpus ve cauda şeklinde 3 bölümde tanımlanır.

Caput: Ön bölümde yer alır ve çekirdeğin en kalın kısmını oluşturur. Ventriculus lateralis'in ön boynuzunun dış yan duvarını oluşturur. Aşağı kısımda putamen ile devam etmektedir. Bu iki yapının birleşme yerinin üst bölümünde gri cevher sütunları çizgili bir görünüm ile capsula interna içinden geçmektedir. Bu yapıya bu sebepten dolayı striatum denilir.

Corpus: Foramen interventriculare ile thalamus'un arka kısmı arasında uzanan bölümdür. Thalamus ile arasında yer alan sulcus terminalis'te stria terminalis ve daha da derinde v. thalamostriata bulunmaktadır.

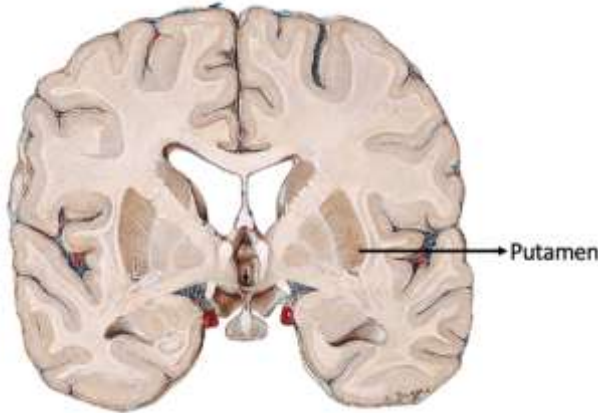
Cauda: Thalamus'un arka-uç seviyesinden başlayıp öne ve aşağıya doğru bükülerek lateral ventrikülün cornu temporele'sinin üst bölümünün oluşumunda yer alan kısımdır. Burada corpus amygdaloideum'a bağlanır (Şekil 1).



Şekil 1. Nucleus caudatus (Sobotta, cilt 1, 2019)

2.2. Putamen

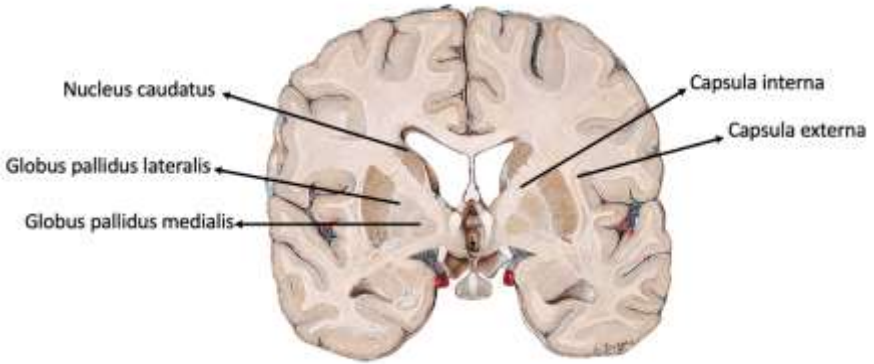
Nucleus lentiformis'in dış tarafta yer alan rengi koyu büyük bir bölümüdür. Capsula interna'nın ön boynuzu ile nucleus caudatus'tan ayrılmıştır. Nucleus caudatus ile eş değer fonksiyonlara sahip olduğu için ikisi birlikte striatum veya neostriatum olarak adlandırılır (Şekil 2).



Şekil 2. Putamen (Sobotta, cilt 1, 2019)

2.3. Globus pallidus

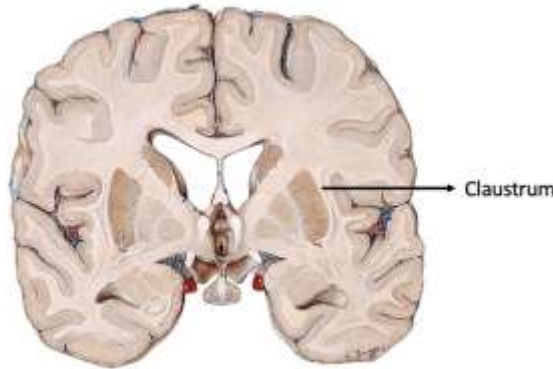
Nucleus lentiformis'in iç kısımda yer alan küçük parçasıdır. Putamen'e göre daha açık renge sahiptir. Lamina medullaris lateralis ile dış tarafta putamen'den ayrılmaktadır. Capsula interna'nın ön boynuzu bu yapıyı nucleus caudatus'tan ayırırken arka boynuzu thalamus'tan ayırmaktadır. Lamina medullaris lateralis bu yapıyı lateral (external) ve medial (internal) olmak üzere iki kısma ayırır (Şekil 3).



Şekil 3. Nucleus caudatus ve globus pallidus (Sobotta cilt 1, 2019)

2.4. Claustrum

Putamen ile insula arasında yer alan ince bir gri cevher uzantısıdır. Putamen'den capsula externa ile ayrılırken insula'dan capsula extrema aracılığı ile ayrılmaktadır. Dış yüzündeki çentikler sayesinde insula'nın girinti ve çıkıntılarına uyum sağlar (Şekil 4).



Şekil 4. Claustrum (Sobotta, cilt 1, 2019)

2.5. Corpus amygdaloideum

Temporal lobda uncusa yakın hizada yerleşim gösterir. Lateral ventriküllerin cornu inferius'unun ön bölümünde yer alan badem şeklindeki gri cevher kitlesidir. Bu yapı limbik sistemimizin bir bölümü olup çevremizde gerçekleşen değişikliklere vücudun yanıt vermesini sağlar. Korkutucu bir ses karşısında kalp atım hızında, kan basıncında ve derinin renginde meydana gelen değişiklik buna örnek verilebilir.

3. BAZAL ÇEKİRDEKLERLE İLGİLİ DİĞER YAPILAR

Mesencephalonda yer alan substantia nigra ile diencephalonda yer alan nucleus subthalamicus bazal çekirdeklerle fonksiyon bakımından yakın ilişki içerisindedir.

3.1. Substantia nigra

Mesencephalon'un ön bölümünde yer alan bu yapı mesencephalon'daki en büyü gri cevher kitlesidir. Pars reticularis ve pars compacta adlı iki bölümden oluşur. Pars reticularis kısmında yer alan nöronlar GABAerjik karakterde iken Pars compacta kısmında yer alan nöronlar melanin pigmentini de içeren dopaminerjik karakterde nöronlardır. Substantia nigra lezyonu sonucunda Parkinson hastalığı ortaya çıkar.

3.2. Nucleus subthalamicus

Subthalamus'un ön bölümünde yer alan bu yapı subthalamus'ta yer alan en büyük gri cevher kitlesidir. Bu çekirdeğin lezyonunda vücudun karşı tarafı etkilenir ve hemiballismus ortaya çıkar.

4. BAZAL ÇEKİRDEKLERİN BAĞLANTILARI

Bazal çekirdeklerin asıl girdi (input) merkezi striatum (neostriatum) olarak kabul edilmektedir. Globus pallidus internus ve substantia nigra pars reticularis ise bazal çekirdeklerin diğer merkezlerle bağlantısını sağlayan çıktı (output) merkezi olarak görev alır. Neostriatumu oluşumuna katılan putamen esas olarak motor hareketlerin kontrolünde görev alırken, nucleus caudatus ise duygu durum değişiklikleri, mental durum ve gözlerin kontrollü hareketi ile ilgilidir.

4.1. Bazal çekirdeklerin afferentleri

Neostriatum'a

- Cortex cerebri'den (kortikostriatal lifler)
- Nuclei intralaminares thalami'den (thalamostriatal lifler)
- Corpus amygdaloideum'dan
- Substantia nigra pars compacta'dan
- Locus caeruleus'dan
- Nucleus raphealis posterior'dan (Mesencephalon'da bulunan)

afferent lifler gelmektedir. Bu lifler çoğunlukla dopaminerjik ve glutamaterjik liflerden oluşur.

4.2. Bazal çekirdeklerin efferentleri

Neostriatum'dan

- Globus pallidus internus-externus'a
- Substantia nigra pars reticularis'e efferent lifler gitmektedir.

Globus pallidus'tan

- Nuclei subthalamici'ye
- Mesencephalon'un tegmentum kısmına
- Thalamus'un çekirdeklerine efferent lifler gitmektedir.

Thalamus'tan çıkan uyarılar da serebral korteksin motor hareketlerle ilgili bölgelerine gider.

4.3. Bazal çekirdeklerin spontan aktivitesi

Striatum'a, globus pallidus internus'tan ve substantia nigra pars reticularis'ten uyarı gelmediği spontan durumlarda thalamus GABAerjik nöronlar (Globus pallidus internus ve substantia nigra pars reticularis'teki nöronlar) ile inhibisyon halinde tutulur. Böylece thalamus'tan serebral kortekse eksitatör uyarı gidişi gerçekleşmez. Diğer yandan globus pallidus externus'taki inhibitör nöronlar ile nucleus subthalamicus'taki nöronlar inhibisyon altına alınır. Böylelikle globus pallidus internus ve substantia nigra pars reticularis nucleus subthalamicus tarafından uyarılamaz.

Serebral korteks ile bazal çekirdekler arasında iki farklı bağlantı mevcuttur. Bunlardan ilki direkt bağlantı iken ikincisi ise indirekt bağlantıdır.

Bu iki bağlantı arasında bir denge durumu söz konusudur. Serebral korteksin aktivitesi direkt yol ile artırılırken indirekt yol ile azaltılmaktadır.

4.4. Direkt Bağlantı

Serebral korteksten gelen ve striatum'u uyaran nöronlar glutamaterjik karakterdedir. Striatum'dan çıkan lifler ise GABAerjik karakterdedir. Striatum'a uyarı gelince buradan globus pallidus internus'a ve substantia nigra pars reticularis'e efferent lifler aracılığı ile uyarı gönderilir. Striatumda bulunan GABAerjik karakterdeki nöronlardan giden uyarılar globus pallidus internus'un ve substantia nigra pars reticularis'in inhibisyonunu sağlar. Bu iki yapı spontan olarak normalde thalamus'u inhibe etmekteydi. Striatum'dan gelen uyarılar ile bu inhibisyon etkisi ortadan kalkmıştır. Böylece thalamus tekrar aktive olur ve burada bulunan glutamaterjik karakterdeki nöronlardan serebral kortekse uyarı gider. Uyarı götüren bu lifler eksitator olarak görev alır. Bu direkt yol sayesinde serebral korteks aktivitesinde artış meydana gelmiş olur.

4.5. İndirekt Bağlantı

Serebral korteksteki nöronlardan striatum'a gelen lifler glutamaterjik karakterdedir. Striatum uyarıldığı zaman globus pallidus externus'ta yer alan nöronları inhibe eder. Bu yapı spontan olarak normalde nucleus subthalamicus'u inhibe etmekteydi. Striatum'a gelen uyarılar ile bu inhibisyon etkisi ortadan kalkar ve nucleus subthalamicus'taki glutamaterjik karakterdeki nöronlar tekrar aktive olur. Nucleus subthalamicustan çıkan lifler globus pallidus internus ve substantia nigra pars reticularis'te yer alan GABAerjik karakterdeki nöronları uyarır. Bu nöronlardan çıkan uyarılara ise thalamus'a giderek thalamus üzerinde inhibe edici bir rol oynar. Böylelikle bu indirekt yol sayesinde thalamus'tan serebral kortekse giden uyarılar inhibe olur ve serebral korteks uyarılamaz. Serebral korteks aktivitesinde azalma meydana gelir.

5. BAZAL ÇEKİRDEKLERİN FONKSİYONLARI VE KLİNİK ÖNEMİ

Bazal çekirdekler direkt ve indirekt bağlantılar sayesinde merkezi sinir sisteminde yer alan birçok yapı ile doğrudan veya dolaylı olarak bağlantı sağlar. Bazal ganglionların başlıca görevleri şunlardır:

- His ve hareketlerin düzenlenmesinde görev alır.
- Yazı yazma, resim çizme, toplu sporlar oynama, şarkı söyleme gibi öğrenilmiş kompleks motor hareket modellerinin düzgün bir şekilde yapılmasını sağlar.
- Geçmişte yapılmış programlamanın depolanması gibi hafıza ile ilgili görevlerde rol alır.
- Dikkatin belirli bir yöne toplanmasını sağlar.

5.1. Bazal Çekirdeklerin Hastalıkları

Bu hastalıklar temel olarak iki grupta incelenir. İlk grup olan hiperkinetik bozukluklarda artmış ve anormal hareketlerin varlığı mevcuttur. Hasta istemediği halde bazı hareketlere engel olamaz. Bu duruma tremor, diskineziler (ballismus, atetoz ve kore vb.) neden olur.

İkinci grup olan hipokinetik bozukluklarda ise zayıf ve yavaşlamış hareketlerle karakterizedir. Hasta istemesine rağmen bazı hareketleri yapamaz. Bu duruma akinezi, bradikinezi ve abnormal postür neden olur. Bilateral globus pallidus lezyonlarında ortaya çıkmaktadır.

5.1.1. Hiperkinetik Bozukluklar

Chorea: Hasta istemediği silkinir tarzda hızlı ve birbirini tekrar etmeyen düzensiz hareketler yapmaktadır. Baş ve ekstremitedeki ani ve sarsılır tarzdaki hareketler buna örnektir.

Atetoz: Sıklıkla ekstremitenin distal kısmında ortaya çıkan ardışık ve yavaş solucan vari hareketlerdir.

Ballismus: Genellikle ekstremitenin proksimal kaslarında meydana gelen geniş amplitudlu ve şiddetli istemsiz hareketlerdir. Ekstremiteler aniden istemsiz olarak değişik yönlerde yelkene benzer tarzda açılma göstermektedir. Bu belirtiler yalnızca bir taraf ekstremitede ortaya çıkmış ise hemiballismus

olarak adlandırılmaktadır. Hemiballismus'a karşı tarafta meydana gelen nucleus subthalamicus ve bağlantıları ile ilgili olan lezyonlar neden olur.

Huntington Hastalığı: Striatum ile bağlantılı progresif ve otozomla dominant geçişli kalıtsal bir hastalıktır. Genellikle yetişkinlik döneminde ortaya çıkmaktadır. Bu hastalarda chorea ve atetoza ilerleyici bir demans da eşlik etmektedir. Koreiform hareketler öncelikle ekstremitelerde meydana gelen istemsiz hareketler ve yüz buruşturma şeklinde ortaya çıkar. Daha sonra ise daha fazla kas grubu tutulur ve hastanın hareketi şiddetli seviyede kısıtlanır. Tutulan kaslar yüzünden konuşma ve yutma işlevinde de bozulmalar meydana gelmektedir.

Sydenham Hastalığı: Sıklıkla çocukluk döneminde görülen ekstremitelerle birlikte yüz ve gövdede de meydana gelen hızlı, düzensiz ve istem dışı hareket varlığıdır. Bu durum genellikle romatoid ateşten kaynaklanmaktadır.

5.1.2. Hipokinetik Bozukluklar

Parkinson: Substantia nigra da yer alan dopaminerjik karakterdeki nöronlarda meydana gelen dejenerasyon sonucu ortaya çıkmaktadır. Parkinson hastalığında görülen birtakım bulgular farklı kombinasyonlar ile görülebilmektedir. Bu bulgular rijidite, istirahat tremoru, bradikinezi, postural refleks kaybı, maske yüz, donma fenomeni ve fleksiyon posturudur.

Rijidite: Pasif hareketler esnasında agonist-antagonist kas ilişkisinin bozulması ve fleksör ve ekstansör kas tonusunda meydana gelen artış sonucunda ortaya çıkar. Rijiditeye istirahat tremoru de eşlik ettiği için eklemlerde dişli çarka benzer tarzda bir direnç meydana gelir.

İstirahat tremoru: Genellikle üst ekstremitede görülen unilateral başlayıp daha sonra bilateral olarak da görülebilen istirahat durumunda ortaya çıkan düşük frekanstaki istemsiz supinasyon ve pronasyon hareketidir. Agonist ve antagonist kas gruplarının ardışık olarak kasılması sonucu meydana gelir. Stres durumunda şiddeti artabilirken uykuda şiddeti azalır ve kaybolur.

Bradikinezi: Yeni bir motor hareketin başlatılmasında ve başlatılan hareketin sürdürülmesinde meydana gelen zorluktur. İlk olarak ince motor

beceri gerektiren hareketlerde zorluklar başlar. Düğme iliklenmesi, kilit açılması, ayakkabı bağcı bağlama gibi aktivitelerde zorluklar meydana gelir. Yürürken kol sallama hareketi yapılamaz.

Postural bozukluklar: Yürüme esnasında artmış kifoz görülmektedir. Adımlar arası mesafe kısalmıştır. Ayaklarını sürüyerek yürür ve fleksiyon postürü hakimdir. Yürümeye başladıktan sonra durdurmada güçlük yaşayabilir.

Maske yüz: Bradikinezi mimik kaslarında da meydana geleceği için hastada ifadesiz donuk bir yüz görünümü meydana gelir. Şaşkınlık, sinirlenme, üzülmeye vb. mimik ifadeleri belirgin değildir.

Donma fenomeni: Parkinson hastalığında görülebilecek en ağır motor dizabilitedir. Genellikle yürümeye başlarken, yürüme esnasında bir engelle karşılaşıldığında, yürüme esnasında sağa sola dönmesi gerektiğinde veya yürüme esnasında başka bir bilişsel aktivitede bulunduğu (ses gelen yere dönmek istemesi, konuşmak vb.) ortaya çıkar. Hasta sanki yerden mıknatıs çekiyor gibi veya yapıştırıcı ile ayakları yapışmış gibi ayaklarını oynatamaz. Hasta ayağını yerde sürüterek ilerlemek ister. Şiddetli durumlarda ise akinezi meydana gelir. Hasta olduğu yerde donar kalır hareket edemez.

KAYNAKÇA

- Arifoğlu, Y. (2021). *Her Yöniyle Anatomi* (3. Baskı., Vol. 1). İstanbul Tıp Kitapevi.
- Arıncı, K. (2006). *Anatomi 2. cilt: Dolaşım sistemi, periferik sinir sistemi, merkezi sinir sistemi, duyu organları*. Güneş kitapevi.
- Çelik, N. D., & Özkan, S. (2022). Parkinson hastalığında donma fenomeni. *Parkinson Hastalığı ve Hareket Bozuklukları Dergisi*, 25(1), 020-027.
- Dere, F. (2018). *Dere Anatomi Atlası ve Ders Kitabı*. (7. Baskı, Vol 1). Akademisyen Kitapevi.
- Jankovic, J., & Tolosa, E. (Eds.). (2007). *Parkinson's disease and movement disorders*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Özbağ, D. (2021). *İnsan Anatomisi* (D. Özbağ, Ed. 2. Baskı ed., Vol. 1). İstanbul Tıp Kitapevi.
- Taner, D., Atasever, A., & Durgun, B. (Eds.). (2008). *Fonksiyonel nöroanatomi*. ODTÜ Geliştirme Vakfı.
- Yıldırım, M. (2013). *Resimli sistematik anatomi*. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Sobotta, F. P., Jens Waschke. (2019). *Sobotta Atlas of Anatomy* (F. Paulsen, Ed.).

BÖLÜM 3

CEREBELLUM

Dr. Öğr. Üyesi Adem TOKPINAR¹
Arş. Gör. Selen YILMAZ²

¹ Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Ordu, Türkiye.
ademtokpinar@gmail.com, Orcid ID: 0000-0001-7661-9588

² Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Ordu, Türkiye.
selenyilmaz@odu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-5637-2642

1. GİRİŞ

Cerebellum, fossa cranii posterior'da truncus encephali'nin arka kısmında bilateral olarak bulunmaktadır. Beyincik ortalama 150 gram ağırlığında bir organımızdır. Cerebellum, ventriculus quartus aracılığıyla ön tarafta medulla oblongata ve pons, üst tarafta tentorium cerebelli aracılığıyla occipital lob ve temporal lob ile komşuluk yapmaktadır.

Cerebellum filogenetik olarak fonksiyonel bölümlerine ve anatomik bölümlerine ayrılarak incelenmektedir.

1.2. Cerebellum'un Anatomik Bölümleri

Cerebellum da iki hemisfer bir vermis bulunmaktadır. Vermis ortada bulunup iki hemisferi birleştirmektedir. Hemisfer lobus anterior, lobus posterior, lobus flocculonodularis olarak üç lobtan oluşmaktadır. Hemisferler arasında iki çentik bulunmaktadır. İncisura cerebelli anterior ön tarafta bulunan ve daha geniş olan çentiktir. İncisura cerebelli posterior arkada bulunan ve derin olan çentiktir. Cerebellum'un dış yüzeyinde kıvrım ve yarıklar görülmektedir. Bu kıvrımlara folia cerebelli, yarıklara ise fissurae cerebelli denilmektedir.

Fissura prima ve fissura posterolateralis cerebellum yüzeyinde bulunan diğer yarıklardır. Fissura prima lobus anterior ve lobus posterior arasında, fissura posterolateralis ise lobus posterior ve lobus flocculonodularis arasında bulunmaktadır. Bu loblar birçok fissura aracılığıyla lobulus'lara ayrılmaktadır. Fissura horizontalis lobulus semilunaris superior ve lobulus semilunaris inferior arasında bulunmaktadır. Bu fissur cerebellum'u alt ve üst yüzüne ayırmaktadır. Cerebellum'un bölümleri tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Cerebellum'un Anatomik Bölümleri

LOBLARI	VERMİS	HEMİSFER
Lobus anterior	Lingula	-
	Lobulus centralis	Ala lobuli centralis
	Culmen	Lobulus quadrangularis
Lobus posterior	Declive	Lobulus simplex
	Folium vermis	Lobulus semilunaris superior
	Tuber vermis	Lobulus semilunaris inferior
	Pyramis vermis	Lobulus biventer
	Uvula vermis	Tonsilla cerebelli
Lobus flocculonodularis	Nodulus	Flocculus

Lobus anterior kas tonusunu düzenlemeden sorumluyken lobus posterior istemli motor aktivitenin koordinasyonunu sağlamaktadır. Lobus flocculonodularis ise daha çok postür ve dengenin korunmasından sorumludur.

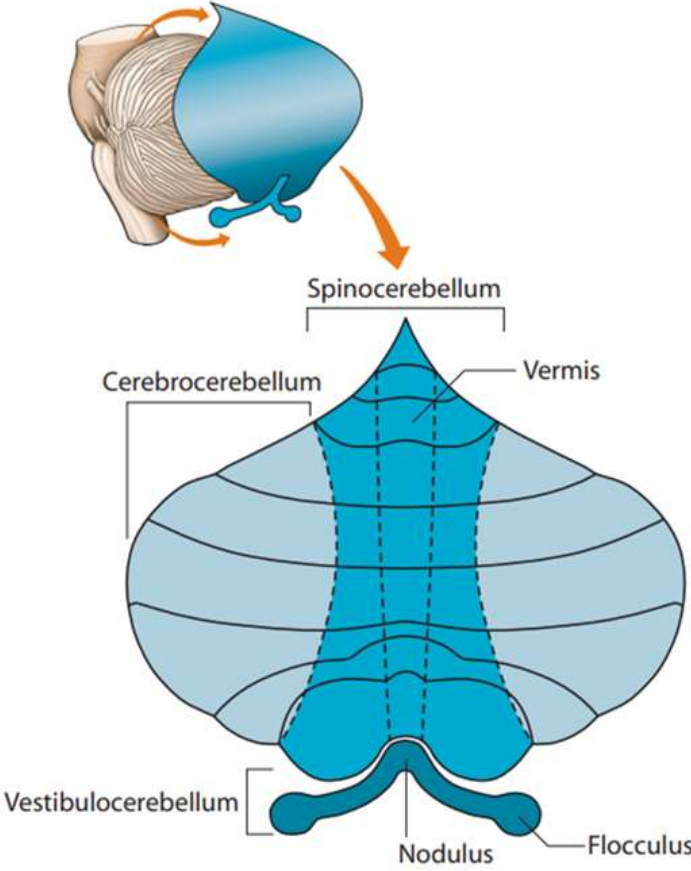
1.3. Cerebellum'un Fonksiyonel Bölümleri

Üç bölümde incelenmektedir. Denge ve göz hareketlerinden sorumlu Archicerebellum, kas hareketleri ve kas tonusunun kontrolünden sorumlu Paleocerebellum ve ince motor hareketlerin planlaması sağlayan Neocerebellum'dur (Şekil 1).

Archicerebellum lobus flocculonodularis'i kapsayan cerebellum'un en eski kısmıdır. Vestibular sistem ile ilişkilidir. Dengeyi sağlamada görevlidir. Bu kısmın hasarında vestibular uyarılar değerlendirilemez. Bunun sonucunda hastada sarhoş gibi yürüme gözlemlenir. Ataksi (dengenin bozulması) meydana gelir. Hasara uğrayan tarafta deviasyon ve nistagmus (gözün istemsiz olarak titremesi) gözlemlenir.

Paleocerebellum ya da spinocerebellum denilen kısım vermiş cerebelliyi kapsamaktadır. Hareketlerin devamlılığını, kas tonusunun kontrolünü, gövde ve ekstremiteler kaslarının kontrolünü sağlamaktadır. Bu kısmın lezyonunda asinerji (koordinasyon bozukluğu) ve hipotoni görülmektedir. Konuşma yavaşlar ve tekdüzeleşir. Hastada disartri (kelimelerin patlayıcı şekilde söylenmesi) görülmektedir.

Neocerebellum ya da cerebrocerebellum denilen kısım cerebellum'un en yeni kısmıdır. Tractus corticopontocerebellaris aracılığıyla cortex cerebri ile bağlantı kurmaktadır. Daha çok ince motor hareketleri gerçekleştirirken görev almaktadır. Hareketlerin planlanması, başlatılması, zamanlanması ve durdurulmasını sağlayıp akıcı bir şekilde yapılmasını ayarlamaktadır. Neocerebellum lezyonlarında hareketlerde mesafe ayarlanamaz ve hareketlerin başlatılmasında sonlandırılmasında gecikmeler meydana gelir. Kinetik tremor da lezyon sonucunda görülmektedir.



Şekil 1. Cerebellum'un Fonksiyonel Bölümleri (Klein et al., 2016)

1.4. Cerebellum'un Çekirdekleri

Beyinciğin iç kısmında corpus medullare denilen beyaz cevher mevcutken dış kısmı cortex denilen gri cevherden oluşmaktadır. Orta hatta alınan kesitlerde beyaz cevher ağaç şeklinde görülmektedir. Bu görüntüye arbor vitae denilmektedir. Beyaz cevherde nuclei cerebelli denilen çekirdekler bulunmaktadır. Medialden laterale doğru çekirdekler nucleus fastigii, nucleus globosus, nucleus emboliformis, nucleus dentatus şeklinde sıralanır.

Nucleus fastigii filogenetik olarak en eski çekirdektir ve bu özelliğinden dolayı vermis'in tümüyle bağlantı kurmaktadır. Ventriculus quartus tavanına yakın yer almaktadır. Nucleus globosus'tan biraz daha büyüktür.

Nucleus globosus beyinciğin ön ve medial kısmında nucleus emboliformis'in iç tarafında bulunmaktadır. Cerebellar cortex'in kısımları olan paleocerebellum ve neocerebellum ile bu iki çekirdek bağlantı kurmaktadır.

Nucleus emboliformis beyinciğin ön tarafında bulunmaktadır.

Nucleus dentatus ise çekirdekler arasında en yeni ve en büyük olanıdır ve dişli bir görünüme sahiptir. Düzensiz şekilde kıvrılmış halde bulunur. Neocerebellum ile bağlantı sağlamaktadır.

1.5. Pedunculus Cerebellaris

Truncus encephali ve cerebellum arasında oluşan bağlantı noktalarıdır. Pedunculus cerebellaris superior, pedunculus cerebellaris medius ve pedunculus cerebellaris inferior olmak üzere üç bağlantı noktası bulunmaktadır.

Pedunculus cerebellaris superior, mesencephalon ve cerebellum arasında bağlantıyı sağlamaktadır. Büyük bir kısmını nucleus dentatus'tan çıkacak olan efferent lifler oluşturur. Ayrıca afferent liflerde geçmektedir. Brachium conjunctivum olarak da adlandırılır.

Pedunculus cerebellaris medius, pons ve cerebellum arasında bağlantıyı sağlamaktadır. Aralarında en kalın olanıdır. Bu kısmı afferent lifler oluşturmaktadır. Bu afferent lifler cerebral cortex'ten başlayıp pons'a gelir ve buradan da cerebellum'un vermis bölümüne gider. Brachium pontis olarak da adlandırılır.

Pedunculus cerebellaris inferior, bulbus ve cerebellum arasında bağlantıyı sağlamaktadır. Bağlantı yerinden afferent ve efferent yollar geçmektedir. Pedunculus'ların en büyük bölümünü oluşturmaktadır. Corpus restiforme olarak da adlandırılır. Afferent ve efferent yollar tablo 2'de gösterilmiştir.

Velum medullare superius ince beyaz cevher laminasıdır. Bu lamina pedunculus cerebellaris superior'lar arasında uzanıp ventriculus quartus tavanının üst bölümünü oluşturmaktadır. Velum medullare inferior da ince beyaz cevher laminası olup ventriculus quartus'un arka alt kısmını kapatmaktadır.

Tablo 2. Afferent ve Efferent Yollar

AFFERENT YOLLAR	EFFERENT YOLLAR
Tractus vestibulocerebellaris	Tractus cerebellovestibularis
Tractus olivocerebellaris	Tractus cerebelloreticularis
Fibrae arcuata externa anterior	Tractus cerebelloolivaris
Tractus cuneocerebellaris	
Tractus reticulocerebellaris	
Tractus spinocerebellaris posterior	

1.6. Cerebellum Damarları

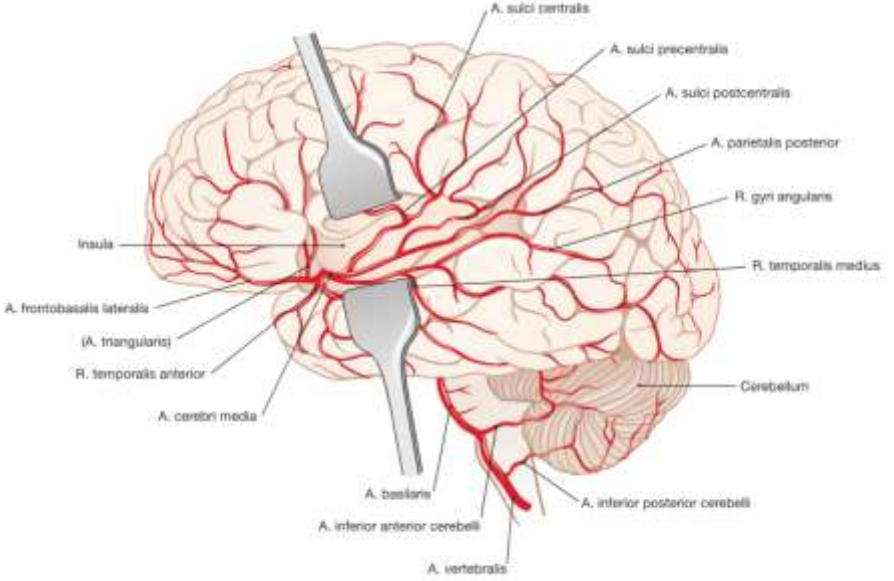
Arteria superior cerebelli, arteria inferior anterior cerebelli, arteria inferior posterior cerebelli beyinciği besleyecek olan üç arterdir.

Arteria inferior posterior cerebelli (PICA), arteria vertebralis'in en kalın dalıdır. Cerebellum'un lobus posterior'u, vermisin alt kısmı ve bulbus'un lateral kısmını beslemektedir.

Arteria inferior anterior cerebelli (AICA), arteria basilaris'in ilk büyük dalıdır. Hemispherium cerebelli'nin anterolateral yüzleri, lobus flocculonodularis ve VI, VII ve VIII. kranial sinirleri beslemektedir.

Arteria superior cerebelli (SCA), pons'un ön yüzünde seyreden a. basilaris'in sonlanmadan önce vermiş olduğu daldır. Bu arter cerebellum çekirdeklerini, vermis'in üst bölümlerini, lobus anterior'un büyük bir kısmını beslemekle sorumludur.

Venleri ise vena magna cerebri, sinüs petrosus superior, sinüs transversus ve sinüs sigmoideus'a açılım göstermektedir. Şekil 2'te cerebellum'u besleyen arterler gösterilmiştir.



Şekil 2. Cerebellum Arterleri (Paulsen, F., & Waschke, J., 2011)

2. CEREBELLUM VE KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Cerebellum'un denge ve motor fonksiyonları üzerinde önemli rolü vardır. Kas tonusu ve dengenin sağlanması, hareketlerin bir koordinasyon içerisinde gerçekleşmesi ve amaca uygun düzgün bir şekilde yapılmasından cerebellum da sorumludur. Her bir hemispherium cerebellum kendi tarafından sorumludur. Kendi tarafında yer alan iskelet kaslarını kontrol eder. Lezyonları da bundan ötürü ipsilateral olarak görülmektedir. Bir hareket açığa çıkacağı zaman cerebellum sinerjist kasların birlikte çalışması ve antagonistlerinde aynı zamanlı gevşemesiyle kasların bir uyum içerisinde çalışmasını sağlamaktadır.

Cerebellum kompleks motor hareketlerin öğrenilip düzenlenmesini ve postürün sağlanmasını kontrol eden bir merkezdir. Bu merkezde veya yollarında bir hasar meydana gelirse kaslar uyum içerisinde çalışamaz, hareket ve postür düzgün bir şekilde sağlanamaz. Hasar sonucunda meydana gelen bazı klinik tablolar gözlemlenir. Geniş adım aralığı ile yürüyüş olarak tanımlanan ataksik yürüyüş gözlemlenir. Bir diğer klinik tablo ise dissinerjidir. Bu klinik tablo cerebellum hastalıklarının birincil belirtisidir.

Kişi istemli bir hareketi gerçekleştirirken agonist kaslar kasılırken antagonist kaslar gevşer ve bu şekilde uyumlu düzgün estetik bir hareket açığa çıkar. Cerebellum hasarında ise bu gerçekleşemez. Hastanın hemisfer tarafındaki ekstremitesinde bu hareketlerin sırasıyla meydana gelmesi güçleşir. Kas tonusunda azalma ve gözlerde şaşılık da görülebilmektedir. Hareket sırasında hastada tremor da görülen belirtiler arasındadır.

Cerebellum hasarı oluşan hastalarda konuşma bozuklukları da sıkça görülmektedir. Konuşmaya yardımcı kaslardaki koordinasyon düzensizliğine bağlı olarak konuşma yavaşlamaktadır. Yine bu kaslar arasında sinerjinin bozulmasına bağlı olarak cümleler kesik kesik kurulabilir, cümlenin yanlış yerlerine vurgu yapılabilir ya da heceler patlayıcı şekilde telaffuz edilebilir. Bu belirtiler sarhoş konuşmasına da benzetilmektedir. Kelimeler ağızdan patlayıcı şekilde çıkıp telaffuz edilebilmektedir. Hastada dizartri denilen peltek konuşma görülebilmektedir.

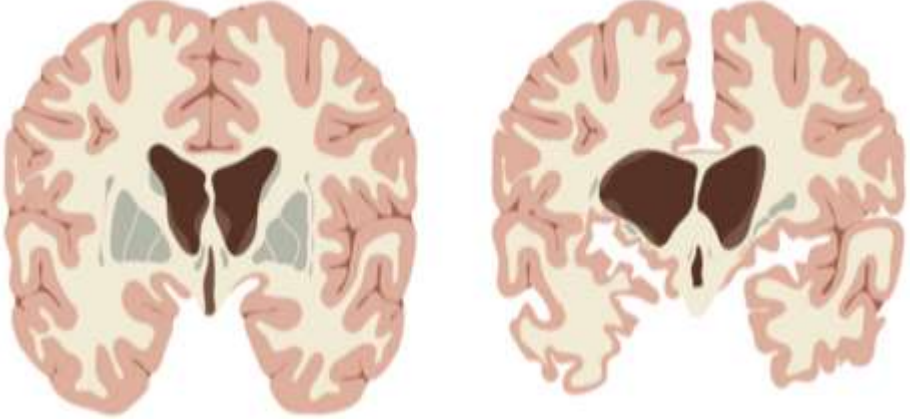
Bu klinik belirtiler birçok hastalıkla birlikte görülmektedir. Her hastalıkta cerebellum farklı şekillerde etkilenim göstermektedir.

2.1. Cerebellum ve Huntington Hastalığı (HH)

Huntington hastalığı nörodejeneratif bir hastalıktır. Monogenik, otozomal dominant geçiş gösteren, kore ve distoni gibi hareket bozukluğu, psikiyatrik semptomlar ve progresif seyirli demans ile karakterize santral sinir sistemini tutan ve striatal nöron kayıpları meydana gelen bir hastalıktır. Geri dönüşü olmayan nöral ve glial kayıplar meydana gelmektedir. Sayılan bu semptomlar belirli bir yaş grubuna dahi değildir. Her yaşta ortaya çıkabilmektedir. Hastaya klinik yansıması istemsiz hareketler, kognitif ve psikiyatrik bulguların görülmesi şeklindedir. Bunlara ek olarak az sıklıkta uyku bozuklukları, kilo kaybı, otonom sinir sistemi tutulumları gibi günlük yaşam aktivitesini olumsuz etkileyecek belirtiler de görülmektedir. Şekil 3'te huntington hastalığının beyinde meydana getirdiği değişiklikler gösterilmektedir.

Yapılan çalışmalara bakıldığında Huntington hastalığının da striatum (nuc. caudatus ve putamen'in birlikte isimlendirilmesi) etkilenen en önemli bölgelerdendir. Nörodejeneratif değişikliğin belirgin olduğu asemptomatik hastalarda bile bu bölge etkilenmektedir. Striatum dışında etkilenen bölgelere bakıldığında cerebellumdaki değişim ile belirtilerin açığa çıkması ile bu

hastalıkta cerebellumun da etkilendiği yorumuna varılmıştır. Bu belirtiler hızlı tekrarlayıcı hareketler, dizartri, okulomotor değişiklikler, denge kayıpları şeklinde hastada gözlemlenmiştir.



Şekil 3. Huntington Hastalığı (Medicana Sağlık Grubu, 2022)

Huntington tanısı koyulan başka bir hastada ekstremitelerde atrofi, denge kaybı, IQ düşüklüğü ve işitsel halüsinasyon şeklinde bulgular gözlemlenmiştir. Bazı görüntüleme yöntemleriyle beyin anatomisi incelendiğinde kortikal ve serebral atrofi tespit edilmiştir. 15 hastanın dahil edildiği başka bir çalışmada ise tüm hastalarda kortikal atrofi, kaudat atrofi, lateral ventriküllerde genişleme tespit edilmiştir. Bunun yanında 2 hastada cerebellar atrofi ve cerebellar sulcus'larda genişlemede tespit edilmiştir.

Cerebellar gri madde kalınlığı ile bireyin duygusal sağlığı arasında olumlu ilişkinin olduğu çalışmalar mevcuttur. Bundan yola çıkılarak Huntington hastalığında sinirli olma öfkelenme belirtileri ile serebellar atrofi şiddeti arasında ilişki bulunmuştur.

Huntington hastalığında motor beceri kaybı ve serebellar hacimde azalma arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Psikiyatrik değerlendirme yapıldığında da serebellar volümde azalma tespit edilmiştir.

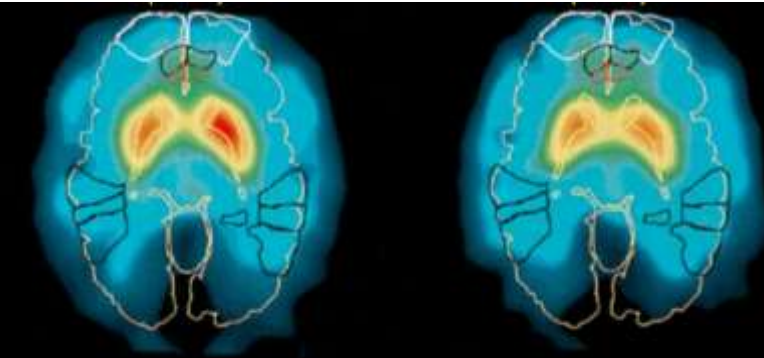
2.2. Cerebellum ve Şizofreni

Şizofreni'nin kelime anlamına bakıldığında Yunanca olan 'şizo' ve 'frenos' kelimelerinin birleşmesiyle oluşmaktadır. 'şizo' ayrık, bölünmüş anlamına gelmektedir. 'frenos'ise akıl anlamındadır. Toplumun bütün popülasyonunda meydana gelebilen, genelde 25 yaş öncesi sinsice başlayıp fark edilmeyen, farklı kronik belirtilerle seyreden, yaşam boyu devam eden, kişinin sosyal ve mesleki etkinliğini olumsuz etkileyen, duygu düşünce ve davranışlarda bozulmaların meydana geldiği ruhsal bir hastalıktır.

Klinik açıdan yansımalarına bakıldığında bir aylık süre içerisinde kişide ayırt edici özellikte belirti bulguların yer aldığı görülmektedir. Bazı bulguların en az altı ay devam etmesi ve bu bulgu belirtilerin kişinin mesleki ve sosyal etkinliğini bozmaktadır. Şizofreni homojen olmayan klinik bir sendromdur. Çünkü bireyler arasında semptomlar farklılık gösterebilmektedir. Bundan ötürü tanı koymak için net bir belirti bulunmamaktadır. Şekil 4'te birinci beyin şizofreni tanılı kişiye ait beyindir. İkincisi ise sağlıklı kişiye ait beyindir.

Cerebellumda motor, psikotik ve bilişsel işlevler düzenlendiğinden şizofreni ve cerebellum arasındaki ilişki motor, bilişsel ve psikotik seviyelerde olduğu düşünülmektedir. Bundan ötürü cerebellum alt kısmının tanımlanması ve ölçülmesi önerilmektedir. Yapılan bir çalışmada hastaların sağlıklı kişilere oranla cerebellum alt bölgelerinin daha küçük hacimde olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda şizofreni hastalarında cerebellumun anatomik yapısı incelenmiştir. Yaşlanmaya bağlı olarak serebral korteks, basal ganglion ve mesencephalon da atrofi meydana gelmektedir. Bunun yanında hemispherium cerebelli ve vermisde de atrofi meydana geldiği tespit edilmiştir.



Şekil 4. Şizofreni'li Beyin ve Sağlıklı Beyin (Açık Radyo, 2016)

Klinik vaka çalışmalarına bakıldığında şizofreni hastalarında kişilik saldırganlık ve duyu durumu arasında meydana gelen belirti bulguları cerebellar atrofiyle ilişkilendirmiştir. Vaka çalışmasında V ve VI. lobül de atrofi gözlenmiştir.

Şizofreni ve cerebellum ilişkisi incelendiğinde şizofreni hastalarına ait vermiş'in daha küçük olduğu tespit edilmiştir. Kronik şizofreni hastalarında vermiş'in posterior superior hacminin azaldığı gösterilmiştir. Vermis hacminin küçük çıkması hastalarda duyu durumu, sensorimotor, konuşma bozukluğu ile ilişkili süreci açıklar nitelikte olmuştur. Vermis'in posterior kısmı bilişsel fonksiyonları kontrol eden anatomik yeri temsil etmektedir. Ve bu yer VI. lobüle denk gelmektedir. Bu lobün hacminin küçük olması şizofreni hastalarında bilişsel fonksiyonların etkilendiğinin anatomik kanıtı niteliğinde olmuştur.

Bilişsel fonksiyonların etkilenmesinin yanında cerebellum da motor hasarın gelişmesine bağlı olarak duruş anormallikleri, ataksi ve yürüme bozuklukları da görülmektedir. Bu bulguların ortaya çıkmasında vermiş'in posterior kısmında meydana gelen hacim küçülmesi daha etken olmaktadır.

2.3. Ataksi ve Cerebellum

Ataksi de primer motor işlev kaybı görülmez yalnızca ortaya çıkan hareket ve koordinasyonu sağlamada bozukluk görülür. Ataksi bir başka şekliyle geniş tabanlı dengesiz yürüyüş şeklinde tanımlanır. Ataksi periferik duyu kayıplarından, omurilik lezyonlarından, cerebellum ve bağlantılarındaki tutulumlardan veya üçünün kombinasyonundan oluşabilmektedir.

Ataksi Etyolojik Sınıflandırma

Ataksi herediter ve edinsel olarak ikiye ayrılmaktadır. Herediter ataksiler ilerleyici spinal veya serebellar atrofinin eşlik ettiği ataksi tablosudur. Bu hastalıkların tümünde değişmez olan serebellar ataksi'dir. Bazen yeni mutasyonların meydana getirdiği sporadik ataksilerde görülebilmektedir. Edinsel ataksiler ise sporadik olarak çeşitli sebeplere bağlı olarak meydana gelen hastalıklardır.

2.3.1. Herediter Ataksiler

Herediter nörodejeneratif hastalıktır. Daha çok spinoserebellar ataksi olarak bilinmektedir. Prevelansı dünyanın farklı bölgelerinde değişiklik

göstermektedir. Spinoserebellar ataksilerin görüldüğü başlangıç yaşı ve klinik belirtileri büyük oranda birbirine yakındır. Büyük bir kısmı 30, 40'lı yaşlardan sonra başlamaktadır. Bunun yanında 20'li yaşlarda ve erken çocukluk dönemlerinde görülen tipleri de bulunmaktadır.

Klinikte görülen belirti bulgular optik atrofi, retinopati, okülomotor bozukluklar, dizartri, gövde ve yürüme ataksisi, ekstrapiramidal sistem hareket bozuklukları, spastisite, sfinkter bozukluklar, periferik nöropati, kognitif bozukluklar ve epilepsi şeklindedir. Tedavisi ise genellikle destekleyici ve semptomatik yaklaşımlardan oluşmaktadır.

2.3.1.1. Otozomal Resesif Serebellar Ataksi

Birçok alt sınıflandırılması bulunmaktadır. Ataksi telanjektazi, vitamin E eksikliği ile giden ataksi, Friedreich ataksisi, Marinesco-Sjögren sendromu, infantil başlangıçlı spinoserebellar atrofi otozomal resesif serebellar ataksilerdendir. İlerleyici ataksi olması bütün tiplerinde değişmez bulgudur.

Friedreich ataksisi 20 yaşından önce görülmektedir. Duyusal nöropati, ataksi, nistagmus, derin tendon reflekslerinde azalma, pes cavus, motor güçsüzlük, amiyotrofi gözlemlenen klinik belirtiler arasındadır. Diğerlerinden ayırt edici belirtileri bulunmaktadır. Piramidal bulgular ve bakış fiksasyon bozukluğu bu belirtiler arasındadır. Bunlara ek kardiyomiyopati, diyabet, skolyoz, işitme kaybı görülebilmektedir.

10, 15 yılda yürüyüşleri bağımlı hale gelir. Hastaların yarısından fazlası hayatını kardiyak problemlerden ötürü kaybedebilir.

Otozomal resesif serebellar ataksinin diğer türleri oldukça nadir görülmekte ve hastaların çocukluk çağlarını etkilemektedir. Çoğu hasta yaşamını immün yetmezliğine bağlı pulmoner enfeksiyonlardan kaybetmektedir.

2.3.1.2. X'e Bağlı Serebellar Ataksiler

Görülme yaşı 50'den küçüktür. Serebellar ataksi hastaların %5 -10'unda görülmektedir. Adrenokortikal fonksiyon bozukluğu ve kısmen de kognitif bozukluklar görülebilmektedir.

2.3.2. Sporadik Serebellar Ataksiler

Çeşitli sebeplerden ötürü ortaya çıkan hastalıklardır. Vitamin eksiklikleri, ilaçlar, toksik sebepler, multipl skleroz, serebrovasküler hastalıklar, alkolizm, tümörler, endokrin hastalıklar gibi faktörlere bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir.

2.4. Yürüme Bozuklukları ve Cerebellum

2.4.1. Yürüme

Yürüme, denge adaptasyon ve lökomosyon'un uyumlu işlevselliğinin bir sonucudur. Gövde ve ekstremiteler kaslarının aynı yönlü aktivasyonu ile hareket oluşur ve bunun sonucunda adımlama meydana gelir. Adımlamanın başlaması durması veya yön değiştirmesi, bunların farklı hız ve zeminlerde de meydana gelmesi için sinir sistemi fonksiyonunun uyumlu bir şekilde çalışması gerekmektedir.

Birey ayaktayken ve yürürken dik pozisyonun sağlanması için denge gerekmektedir. Dik pozisyonda yürümek için ise vücudun yer çekime karşı gelmesi, adımlamanın sağlanması, dengenin oluşturulması ve ilerlemenin meydana gelmesi gibi ögeler gereklidir. Bu ögelerden herhangi birinde problem olursa yürüme de bozukluk meydana gelir.

Denge destek tabanı içerisinde vücudun ağırlık merkezinin dikey şekilde korunmasıdır. Bunun sağlanması içinde görsel, somatosensorial ve vestibüler yapılardan hızlı ve sürekli bir biçimde geri bildirim alınmaktadır. Bunun yanında koordineli bir şekilde nöromüsküler hareketlerde gerçekleşmektedir.

Adaptasyon, istemli aktivitenin, çevrenin ve vücudun meydana getirdiği zorluklara karşı denge ve lökomotor sinerjilerin kendini değiştirmesi ve uyum sağlamasıdır. Normal bir yürüyüş paterni birçok faktöre bağlıdır. Kişinin çevreyi algılaması, sahip olduğu hastalık veya ayakkabısı giysisi ve kişinin amacı bu faktörler arasında yer almaktadır.

Güvenli bir yürüyüş için gerekli şartlar;

- 1) Çevresel etkenler hakkında bilgi
- 2) Vücut pozisyonu ile ilgili proprioseptif, vestibüler, vizüel yollar ile taşınan bilgi
- 3) Geri dönüşü sağlanan bilginin işlenmesi, birleştirilmesi ve yorumlanması

- 4) Kas iskelet sisteminin aktif bir şekilde rol alması ve eylem için güç açığa çıkarabilmesi
- 5) Açığa çıkan gücün en etkili şekilde kullanılması
- 6) Çevresel etkenlere karşı dengenin sağlanması ve adapte olması
- 7) Kişinin kabiliyeti bu şartlar arasında yer almaktadır.

2.4.2. Yürümede Aktif Olan Nöral Yapılar

Ayakta durmak ve yürümek için sinir sisteminin farklı birimlerinin, anatomik yapıların uyum içinde ve normal bir şekilde çalışması gerekmektedir. I. ve II. motor nöron, ekstrapiramidal sistem, denge ve hareketlerden sorumlu vestibüler ve serebellar sistem, periferden gelen impulsları santral sinir sistemine taşıyan duyuusal sinirler, çizgili kaslar yürümede aktif olan nöral yapılar içerisinde. Medulla spinalis, bazal ganglionlar, truncus encephali, serebellum aktif olan diğer nörolojik yapılardır.

2.4.3. Yürüme Bozuklukları

Eğer santral sinir sisteminde herhangi bir problem yoksa kas iskelet sisteminde veya derin duyuda meydana gelecek hasar sonucu oluşan yürüyüş problemleri kompanse edilebilir. Hafif düzeyde bir sensorimotor disfonksiyon meydana gelmişse postür ve sinerjistik lökomosyonda bozulma meydana gelecektir. Bu durumda sinir sistemi postüral ve lökomotor cevapları doğru bir şekilde seçebilmekte fakat yerine getirme aşamasında hata ortaya çıkmaktadır. Yürüme başlatılmaktadır fakat adım atarken zorluk yaşanmaktadır. Bu zorluk sonucunda ataksik, distonik, spastik, koreik yürüyüşler görülebilmektedir.

Ataksik yürüme bozuklukları serebellar ataksi, serebello-spastik ataksi, vestibüler ataksi, duyuusal ataksi şeklinde incelenmektedir.

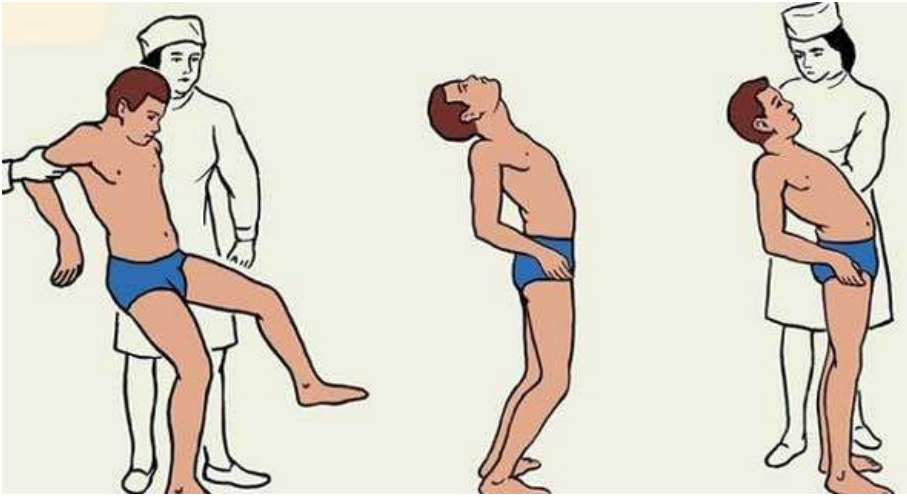
2.4.3.1. Serebellar Ataksi

Serebellum postüral ve lökomotor yanıtların zamanlamasını ve gücünü ayarlamaktan sorumludur. Serebellumun tamamı olmasa bile bu yanıtlar tümüyle ortadan kalkmaz. Yapılan bir çalışmada hayvanların cerebellum'u alınmış ve bu yanıtların kaybolmadığı sadece başlatılmasının koordinasyonsuz ve dismetrik olduğu gözlemlenmiştir.

Serebellum vestibülospinal, rubrospinal ve retikülospinal yolları etkilemekte ve bu şekilde lökomosyon üzerindeki etkileri ortaya çıkmaktadır. Bu yollar yürüyüş esnasında adımlamanın ritmik ve koordineli bir şekilde

gerçekleşmesini sağlamaktadır. Frontal korteks ve thalamus'a gidecek olan serebellar projeksiyon liflerinde yürüyüş ve dengenin sağlanmasında rol almaktadır.

Cerebellum da veya santral sinir sistemi bağlantılarına bağlı olarak bir hastalık oluştuğunda serebellar ataksi meydana gelir. Hasta ayakta durmak için destek yüzeyini genişletir, ayaklarını birbirinden daha fazla uzaklaştırarak her iki yana açar. Tam tersi durum olduğunda yani ayaklar birbirine yaklaştırıldığında ise hasta dengesini sağlayamaz ayakta duramaz ve düşer. Bu durumda gözlerin açık veya kapalı olması durumu değiştirmez. Dengesiz bir yürüyüş ortaya çıkar. Sarhoş yürüyüşünü andıran sağa sola yaylanma şeklinde bir yürüyüş ortaya çıkar. Hasta düz bir hat boyunca yürüyemez. Hasta tandem yürüyüşünü (topuğu diğer ayağın burnuna değdirerek yürüme şekli) gerçekleştiremez (Şekil 5).



Şekil 5. Serebellar Ataksi (Fizyoo, 2016)

Tek tarafta meydana gelen serebellum hasarlarında hasta ayakta durarken hasarlı tarafa doğru düşme eğilimi gösterecektir. Hatta yatak kenarına oturur pozisyonda yardım edilmezse hasarlı tarafa doğru düşme eğilimi gösterecektir. Bazı durumlarda hasta ayakta da duramayabilir.

Cerebellum'un sadece vermiş kısmı tutulduğunda ekstremitelerin koordinasyonunda bir problem oluşmaz. Ardaşık hareketleri değerlendirmek

için kullanılan parmak-burun, diz-topuk testleri sağlıklı bir şekilde yapılabilmektedir. Sadece yürüme güçlüğü ve dengesizlik önemli bulgulardandır.

2.4.3.2. Serebello-Spastik Yürüyüş

Hem piramidal hem de serebellar sistemi birlikte tutan hastalıklarda görülmektedir. Hasta ayaklarını her iki yana açar, birbirinde uzaklaştırır. Bu yürüyüş tipine spastik tip özelliklerde eklenmiştir. Multipl sklerozlu hastalarda sıkça gözlemlenen bir yürüyüş tipidir.

KAYNAKÇA

- Açık Radyo. “Şizofreni ve Beyin Görüntüleme”. 02.05.2023.
<https://acikradyo.com.tr/acik-bilinc/sizofreni-ve-beyin-goruntuleme>
- Arıncı, K. & Elhan, A. (2014). Anatomî. *Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri*.
- Arifoğlu, Y. (2017). Her yönüyle anatomi. 1. Baskı
- Cleveland Clinic. “Friedreich’s Ataxia (FA)”. 0.20.2022.
<https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/23084-friedreichs-ataxia-fa>
- Fizyoo. “Serebellar Ataksi”. 14.06.2016. <https://fizyoo.com/serebellar-ataksi/>
- Güler, E. (2022). Huntington hastalığında manyetik rezonans T1 görüntülerde beyincik parselasyonu. *Erciyes Üniversitesi, Doktora Tezi*.
- Klein, A. P., Ulmer, J. L., Quinet, S. A., Mathews, V., & Mark, L. P. (2016). Nonmotor functions of the cerebellum: an introduction. *American Journal of Neuroradiology*, 37(6), 1005-1009.
- Medicana Sağlık Grubu. ”Huntington Hastalığı”. 01.05.2023. Huntington Hastalığı Nedir ve Belirtileri Nelerdir? - Medicana
- Özcan Karakelle, F. (2008). Ataksik yürüme bozukluklarında yürüme ve postürün değerlendirilmesi. *Çukurova Üniversitesi, Uzmanlık tezi*.
- Paulsen, F., & Waschke, J. (2011). *Sobotta*. Elsevier Health Sciences Germany.
- Standring, S., Ellis, H., Healy, J., Johnson, D., Williams, A., Collins, P., & Wigley, C. (2005). Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice. *American journal of neuroradiology*, 26(10), 2703.
- Tutuk, V. (2019). Şizofreni tanısı ile takip edilen hastalarda cerebellum lobül hacimlerinin MR görüntüler kullanılarak değerlendirilmesi. *Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Uzmanlık tezi*.

BÖLÜM 4

COENUROSIS

Dr. Öğr. Üyesi Türkan Mutlu YAR¹
Doç. Dr. Ülkü KARAMAN²

¹Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.
mutluyarr@gmail.com, Orcid ID:0000-0002-7145-7476

²Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.
ulkukaraman@hotmail.com, Orcid ID: 0000-0001-7027-1613

1. GİRİŞ

Merkezi sinir sistemine yerleşen parazit enfeksiyonlarından biri de Türkiye’de halk arasında delibaş, devvare, salıncak illeti gibi isimlerle anılan coenurosisdir.

Coenurosis, *Multiceps* türlerinin, larvalarının insana yerleşmesiyle oluşan patolojik durumdur. Enfeksiyona neden olan türler, *Taenia* (= *Multiceps*) *multiceps*, *T. serialis*, *T. brauni* ve *T. glomeratus*’dur. Hastalık küçükbaş hayvanlarda çok büyük ekonomik kayıplara sebebiyet veren hastalık olup *T. multiceps* daha sıklıkla görülmektedir. İnsanlarda erişkin hale gelemeyen parazit dokularda enfeksiyonlar meydana getirirler (Özbilgin ve Limoncu, 2007; Özkan ve ark., 2011; Doğanay ve Vural, 2012).

Tarihçe

Coenurosis ilk defa 17. yüzyılda görülmeye başlayarak kayıtlara geçmiştir. Fakat Hipokrat zamanından beri sinirsel belirti gösteren hastalıkların varlığı metinlerde bahsedilmiştir (Gıcık ve ark., 2007). Reuten isimli Avrupalı cerrah, 1634 yılında vertigolu bir koyunda postmortem muayene yaptığında beyinde bir vezikül görmüş ve bu vezikül içi berrak sıvı dolu olarak bildirilmiştir. Bu vezikülden sonra çok sayıda yazar teori geliştirerek hastalık ve nedenlerini araştırmaya başlamışlardır.

Küchenmeister 1781 yılında, coenurosis’in koyunlarda, köpeklerde oluşan taenia yumurtalarından bulaştığı ve bunların beyinde kurtçuklara sebep olduklarını bildirmiştir. Daha sonra Küchenmeister birçok çalışma yaptıktan sonra köpeklerin bağırsaklarındaki *Taenia coenurus*’un larva ve erişkin formuyla koyun ve diğer hayvanların beyindeki *Coenurus cerebralis*’in tek bir parazit türü olduğunu rapor etmiştir (Ransom ve ark., 1905). Türkiye’de küçük ruminantlarla parazit hastalıklarını ilk defa 1937 yılında H. Şükrü Oytun tespit etmiştir (Değerli ve ark., 2005).

Morfoloji

Coenurosisde, Canidae ailesinin üyeleri *Taenia multiceps* ve *T. serialis* için kesin konaktır. Köpekler ve tilkiler *T. serialis* için konaktır. Koyunlar, tavşanlar, otçullar ve insanlar arakonaktır (Karaman ve Özpinar 2022).

Larva kist formunda olup 0.8-6.5 m çaplarında, yuvarlak veya oval, içi kist sıvısı ile dolu beyaz renkli olarak tanımlanmaktadır. Kist duvarına

yapışmış halde bulunan bir sürü bazen küme halinde olan protoskoleksler bulunmaktadır.

Protoskoleksler mikroskopta bakıldığında çift sıra taenia çengellerine ‘C’ ye benzeyen çekmenlere sahiptirler (Oge ve ark., 2012; Abera ve ark., 2016). *Taenia multiceps* 40-100 cm uzunluğunda, 3-5mm genişliğinde olabilmektedirler. 800µm çapında, rostellumlarında büyüklü küçüklü 22-32 adet 2 sıra çengel bulunmaktadır, bu çengellerin büyükleri 150-170µm, küçükleri 90-130µm kadardır.

Genital delikleri halkanın lateralinde, uzun halkanın ortasının gerisinden dışarı açılırlar. Boyun bölgeleri skoleksten daha dardır. Gebe halkaları ise uterus yanlara 9-26 kol vermektedir. Yumurtaları 29-37 µm çapında, hafif oval yapıdadır (Ayaz ve ark., 2011).

Epidemiyoloji ve Evrimi

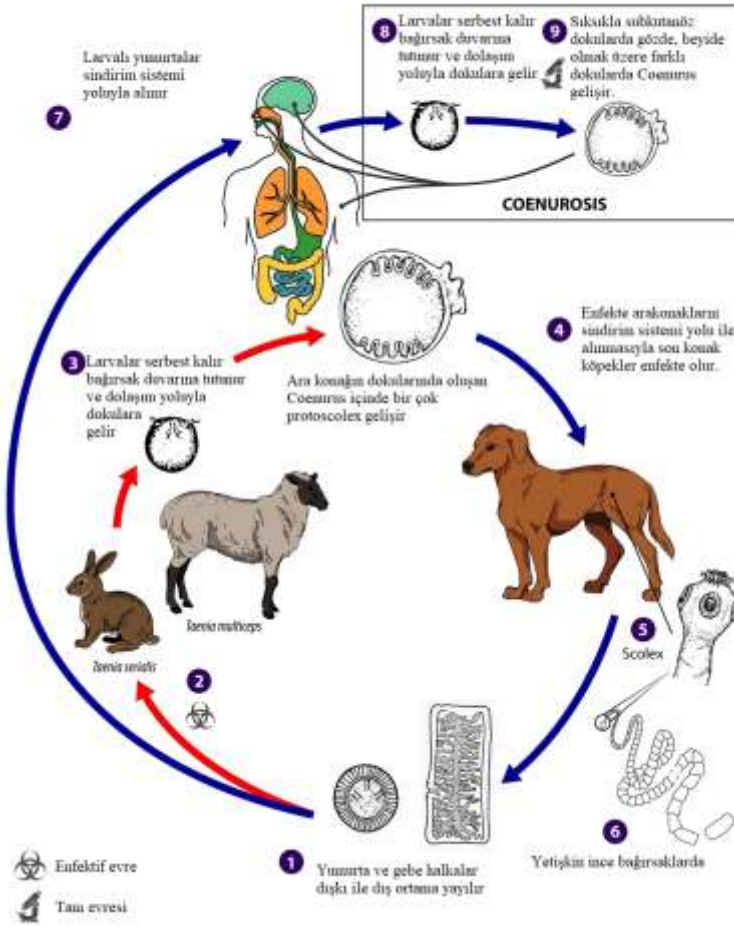
Parazit, Avrupa, Güney Amerika, Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'nın koyun yetiştirilen bölgelerinde de görülmüştür. İnsan olgularının çoğu Afrika'dandır. Ayrıca Afrika'da *T. brauni* ve *T. glomerulatus* vakaları da bildirilmiştir. Erişkini kedilerde larvası kemelerde bulunan *Taenia tanaeiformis*'in larval döneminin (Strobilocercus) karaciğer dokusunda yerleştiği iki insan olgusu bildirilmiştir (anonim 1, 2022). Yine erişkini tilkide larvası kemirgenlerde bulunan *Taenia crassiceps*'in insanların gözünde enfeksiyona neden olabildiği bildirilmiştir. Ayrıca AIDS'li hastanın derialtı ve intramuskuler bölgesinde larvalar tümörlerin içinde tespit edilmiştir (Ntoukas ve ark, 2013).

Parazitin ara konakları koyun ve keçidir, indirekt yaşam döngüsüne sahiplerdir. Son konakların dışkısıyla dışarı çıkan halkalar parçalanır ve bunların parçalanmasından serbest kalan yumurtalar koyun ve keçi gibi ara konaklar tarafından ağız yoluyla alınmaktadırlar. Ağız yoluyla alınan onkosfer bağırsaklarda açığa çıkar ve daha sonra kan yoluyla merkezi sinir sistemine beyin ve omuriliğe ulaşır (Schineder, 2006).

Genç larvalar dokuları delerek nötrofil, eozinofil, kan, hücre yığını, lökosit dolu tüneller oluşturup beyin ve omurilikte göç yapmaktadırlar. Koyun ve keçi gibi ara konaklar merkezi sinir sistemine yerleşen *C. cerebralis* içi berrak sıvı ile dolu bir kese biçimini almaktadır. Ara konakta 3 ayda gelişimini tamamlayan *C. cerebralis* karnivorlar için efektif hale gelmektedir

(Eckert ve ark., 2005). Son konaklar ağız yoluyla canlı protoskoleksleri taşıyan kistli organları yedikleri zaman enfektif hale gelmekte ve *T. multiceps* ince bağırsaklarda 40-42 gün içinde erişkin hale gelmektedir. Enfekte olmuş köpekler her gün 3-4 gebe halkayı dışkıları ile birlikte dışarı atmakta bu yüzden bu halkalarda 37 bin yumurta olduğu düşünülürse sürekli olarak çevreye bulaşım olmaktadır. Bu yumurtalar kuru koşullarda 15 gün, nemli ortamda 30 gün canlı kalabilme özelliğine sahipken yüksek sıcaklıklarda birkaç saat içinde ölmektedirler. Yumurtalar yerlerde köpek dışkısında kış şartlarında 60 günden fazla canlı kalabilme özelliğine sahiptirler. Yumurtalar son konaklar tarafından ağız yoluyla alındığında tekrar döngü devam eder ve ince bağırsaklarda çıkan onkosferler kan dolaşımı yolu ile MSS' ne yerleşerek kist oluşmasına sebep olur (Şekil 1) (Abera ve ark., 2016).

Parazitin yaşam döngüsünde köpek, koyun ilişkisi en kolay bulaşmadır ve genelde kırsalda gerçekleşmektedir. Kontaminasyon çiftçilerin kistli dokuları, hastalıklı kafatasları açarak beyinleri köpeklere yedirmeleri sonucu artmaktadır. Bağışıklıkları daha gelişmemiş 3-4 aylık kuzular bahar mevsiminde kontamine otları yedikleri takdirde çok daha çabuk hasta olabilmektedirler (Varcasia ve ark., 2006).



Şekil 1. Coenurosis evrim döngüsü

https://www.cdc.gov/dpdx/coenurosis/modules/Coenurosis_LifeCycle_Ig.jpg

Coenurosis'in Türkiye ve Dünyadaki Yaygınlığı

Türkiye' de küçükbaş hayvan yetiştiricileri hastalığın ölümle sonuçlandığını düşündüklerinden hayvanları hemen kesmekte bu yüzden mezbahalara coenurosisli hayvan çok az gelmektedir, buna dayanarak hastalığın yaygınlığını belirlemek çok mümkün olmamaktadır (Güralp,1979).

Uslu ve ark., 2004 yılında 624 koyun başını *C. cerebralis* açısından incelemiş, 102'sinde pozitiflik saptamışlardır (Uslu ve ark., 2007).

Avcıoğlu ve ark., Erzurumda kesimi yapılan 1045 sığırdada, Kasım 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında 5'inde (%0.47) *C. cerebralis* saptamışlardır (Avcıoğlu ve ark., 2011). Gıcık ve ark., Kars'ta 387 koyun başında 60'ında (%15.5) **C.cerebralis**'e rastlamışlardır (Gıcık ve ark., 2007). Oge ve ark., Ankara'da bir keçide omurilik bölgesinde 2 coenurosis bulmuşlardır. Bu araştırmada keçilerde koyunlardan farklı olarak oenurosisin farklı organ ve kaslara yerleşebileceğini rapor etmişlerdir (Oge ve ark., 2012). Biçek ve ark., Van'da mezbahaneye gelen 241 koyundan 156'sında bir ya da birden fazla kist bulmuşlardır. Cinsiyet ayrımı yapıldığında erkek hayvanlarda %35, dişilerde ise %29 oranında kiste rastlamışlardır (Biçek ve ark., 2019).

Coenurosis dünyada da hemen her yerde yaygın olarak görülmektedir. Fakat en sık keçi ve koyun yetiştiriciliğinin yaygın olduğu Güneydoğu Asya ve Afrika'daki ülkelerde görülmektedir (Batista ve ark., 2010).

Shumakovich, coenurosisin %40 oranla Kazakistan, Orta Asya'da %20, Kuzey Kafkasyada %18, Orta ve Aşağı Volga'da %15 oranında Rusya'da çok yaygın olduğunu bildirmiştir (Shumakovish, 1958). Dyson ve ark., coenurosisin İngiltere'de oldukça yaygın olduğunu rapor etmişlerdir (Dyson ve ark.,1979). Coenurosisin koyunlardaki yayılışı Özbekistan'ın buhara bölgesinde %3, Etiyopya %5-51, Irak'ta %3 ve Gana'da %2 olarak saptanmıştır (Matchangu ve ark., 1982). Etiyopya'da koyunlarda %5 mortalite belirlenmişken, sağlıklı görünen koyunlarda da yaklaşık %3'ünde bu hastalığın var olduğu rapor edilmiştir (Achenef ve ark.,1999).

Bu hastalığa insanda da geniş coğrafik alanlarda rastlanılmıştır. Fakat daha çok Afrika olmak üzere her coğrafik bölgede insanlarda da coenurosis olaylarına rastlandığı rapor edilmiştir (Merdivenci,1978). Türkiye'de coenurosis için insanda görüldüğüne dair bir kayıt henüz oluşturulmamıştır.

Klinik ve Patogenez

Yavaş gelişen bir enfeksiyon olup *C. cerebralis* gelişmesi için uzun bir inkübasyon dönemi gerekmektedir. Hastalığa özgü olan belirtiler enfeksiyonun alınmasıyla beraber 3 ay sonra görülebilmektedir (Schineder,2006). Bu parazit Avrupa, Kuzey Amerika, Güneydoğu Asya, Afrika'da ruminantların omurilik ve beyinlerinde gelişmekte ve haftalar içinde ölüme sonuçlanmaktadır. Bazen de sinir sistemi dışına yerleşen

coenurosis koyun, keçilerin akciğer ve karaciğerinde ya da deri altı doku ve kas aralarında kist oluşturmaktadır (Tan ve ark., 2018).

Coenurosis cerebralis'le ilk enfekte konaklarda klinik belirtiler; akut, belirtisiz dönem ve kronik olarak üç dönem tanımlanmaktadır. Akut dönemde, onkosfer beyin ve omurilikte göç eder ve bu dönem enfeksiyonu takiben 2-5 hafta arasında bir süre olarak rapor edilmiştir. Akut dönemdeki belirtiler konağın bağışıklık durumu, aldığı enfektif yumurta sayısı, parazitin merkezi sinir sisteminde hangi bölgeye yerleştiğine göre değişim gösterebilmektedir (Herbert ve ark., 1984). Bu dönemde çok sayıda yumurta ile enfekte olan kuzularda belirtiler şekillenmekle birlikte 1-3 hafta içinde ateş çıkması görülebilmektedir. Akut dönemi takiben ensefalitis sonucu ölümler görülmektedir. Otopsi yapıldığında hayvanların beyinlerinde kistlere rastlanılmaktadır. Bazen akut dönem atlatıldıktan hemen sonra belirtisiz bir zaman dilimi başlamaktadır. Coenurosis kesesi gelişmektedir (Edwards ve ark.,1982).

İnsanlarda serebral tutulumda bir tümöre benzer. Klinik, larvanın bulunduğu yere göre, baş ağrısı, görme bozuklukları, afazi ve epileptik krizler gösterir. Beyin üst kısmında yerleşmiş Coenurosis de Prognoz kısmen iyi olup vezikül sinir dokusundan izole hal. Beyin alt kısmında yerleşmişse prognoz kötü seyreder. Veziküller salkım şeklinde olup cerrahi ile tamamen çıkarılmaları zordur. Gözde görme bozukluğuna karaciğerde tıkanma sarılığına neden olabilir. Parazit deri altında yerleşmişse kist formunda olup yumurta büyüklüğüne ulaşabilir. Görünüşü fibrom veya lipom gibidir (Karaman ve Özpınar 2022).

Akut dönemde kuzularda çiğneme, yem yeme durur ve baş anormal tutulur, diş gıcırdatması, koordinasyon bozulması, daire şeklinde dönme görülebilmektedir (Schinader,2006). Bu dönemi takiben yumurtaların vücuda alınmasından 30 gün sonra belirtisiz dönem olarak tanımlanan bir dönem başlamaktadır. Larvalar yerleştikleri dokularda büyümeye başlarlar (Herbert ve ark., 1984).

Kronik dönem genelde 10-18 aylık koyunlarda gözlenmekte olup, larvalar merkezi sinir sistemine yerleşip kist oluşturmalarıyla ortaya çıkmaktadırlar. Genellikle ölümle sonuçlanmaktadır, ölüm genelde onkosferin alınmasından 4-7 ay sonra gerçekleşmektedir (Pipia, 2008). Ara konakta merkezi sinir sistemine özellikle beyine yerleşen larvalar, içi şeffaf sıvı dolu,

içeriye doğru invagine olan birçok skoleksten oluşmuş saydam bir kese oluşturmaktadırlar. Klinik belirtiler kistin yerleştiği bölge büyüklüğü ve bölgeye uyguladığı basınca bağlı olarak değişmektedir (Yılmaz ve ark., 2014).

Coenurosisli hayvanlarda klinik bulgular olarak; depresyon, kist olan tarafa doğru baş kısmı yaslama, donukluk, koordinasyon bozukluğu, iştah kaybı, körlük, kendi etrafında dönme, ataksi, dış gıcırdatma, salivasyon görülmektedir (Farjani ve ark., 2015). Bazı daha ciddi olan vakalarda felç, deri hastalıkları, kas dejenerasyonu, topallık gözlemlenebilmektedir. Zoonoz bir hastalık olduğu için insanlarda da bu tip belirtiler görülebilmektedir (Akbari ve ark., 2015). Keçilerde coenurosis merkezi sinir sistemi yerine daha çok kulak kökü, uyluk kası, pankreas, karaciğer, diyafram, kalp, paratid bezi, akciğer ve diğer organlarda görülebilmektedir (Sharma, 2006).

Tanı

Coenurus cerebralis tanısında hastalık hangi dönemde ise ona göre değişim görülmektedir. Akut dönemde tanı ancak nekropsisi olarak yapılabilmektedir. Kronik dönemde ise hayvanlarda görülen semptomlar izlenip şüphe uyandıran noktalar göz önüne alınmaktadır. Koyunların kafatasında bombeleşme ya da kemiklerde incelme beyinde olan enfeksiyonunun göstergesi olabilmektedir (Eckert ve ark., 2005). Retinada kanama ve ödem tanıda yardımcı olabilmektedir (Sharma, 2006). Bazen şekillenen kistler beyinde %80-90, beyincikte %5-10, omurilikte ise %5-8 oranında görülebilmektedir.

Kist beyinde görüldüğü zaman; körlük, başın kistin olduğu tarafa doğru yaslanması, beyincikte yerleşirse; ataksi, duruş bozukluğu, titreme, omuriliğe yerleşmesi durumunda; omurga refleksi artışı ve ön ayakları etkilemeyen felç belirtileri gözlemlenmektedir (Scott, 2012).

Doğanay ve ark., deneysel olarak kuzularda coenurosis oluşturmuşlar ve enfekte ettikleri 3-4 aylık 10 adet Akkaraman kuzuda coenurosisin kronik semptomları görünene kadar tüm kuzulardan birer hafta ara ile kan alıp Elisa testi sonuçlara bakmışlardır. Test sonucunda IgG'nin enfeksiyonun 35. gününden itibaren seropozitif olduğunu rapor etmişlerdir (Doğanay ve ark., 1999).

Moleküler teşhis için bazı çalışmalar yapılmış *Taneia* türlerinde Cox1 ve nadh1 sekansları yaygın olarak temel alınmıştır (Gasser ve ark., 1999).

Avcıoğlu ve ark., coenurosisin yaygınlığını araştırmak için Erzurum'da sığırlarda çalışma yapmışlardır, burada çıkan 3 örneğin *cox1* ve *nad1* gen sekanslarını belirlemiş ve GenBank'a kaydettirmişlerdir (Avcıoğlu ve ark., 2011).

Tedavi

Coenurus cerebralis ve bazı cestod larvalarının oluşturmuş olduğu enfeksiyonların sağaltımı ve profilaksisi amacıyla laboratuvar hayvanlarında, invitro kültürlerde, kasaplık hayvanlar ve insanlarda bir çok araştırmalar yapılmaktadır. Cestod larvalarına karşı farklı ilaçlar denenmiş olup öncelikle albendazol, mebendazol, paraziquantel ile ümitlenen sonuçlara ulaşılmıştır (Chinnery ve ark., 1986).

Coenurosis eğer belirtiler görüldükten sonra fark edilmişse prognoz olarak hasta kötüdür ve ölüm neredeyse %100'dür (Sharma ve ark., 2005).

Bıyıköğlu ve ark., yaptığı bir çalışmada hasta kuzulara 100 mg/kg dozda 2-5 gün, 5 gün 50 mg/kg dozda paraziquantel uygulanmış olup tüm kistlerin öldüğünü gözlemlemişlerdir. Bu dozların hastalığın tedavisinde kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (Bıyıköğlu ve ark., 1998).

Ghazaei yaptığı bir çalışmada benzimidazol grubu ilaçlarıyla paraziquantel preparatları kombine edilip kullanılırsa merkezi sinir sisteminde kist oluşmasını engellemektedir ve eğer kistlerde protoskoleksler oluşmuşsa bunlarında aktivitesinin durdurulduğunu saptamışlardır (Ghazaei, 2006).

Vester ve ark., benzimidazol türevi olan mebendazolü coenurosis'e karşı denemiler deneysel olarak oluşturulan 2 coenurosisli kuzuya intraperitoneal tek doz 40 mg/kg, 3 kuzuya oral yolla 14 gün 100 mg/kg mebendazol verilmiştir. 4 ay sonra otopsi yaptıklarında hala canlı kistlerin olduklarını belirtmişlerdir (Verster ve ark., 1978).

Coenurosi, cerrahi yöntemlerle sağaltım sağlandığında başarılı sonuçlar alındığı raporlanmıştır (Skerrit ve ark., 1984). Fakat cerrahi tedavide çok dikkatli olmak gerekmekte, çok zor bir operasyon olacağı için insanlarda ve damızlık değeri çok yüksek olan hayvanlarda önerilmektedir. 2 aşamada gerçekleştirilmelidir. Kist sıvısı şok oluşturmadan trepanasyonla veziküle girilerek çok yavaş bir şekilde çekilerek hacmi küçültülmeli, kist duvarı çok dikkatli bir şekilde penset kullanılarak dışarı alınmalıdır (Ayaz ve ark., 2011).

KAYNAKÇA

- Abera, S., Wubit, T., Nejash, A (2016). Cerebral coenurosis in small ruminants: A review. *J Anim Sci Adv* 6(3): 1595-1608
- Acheneff, M., Markos, T., Feseha, G., Hibret, A., Tembely, S (1999). *Coenurus cerebralis* infection in Ethiopian Highland Sheep: Incidensand observation on pathogenesis and clinical signs. *Trop Anim Health Prod* 31,15-24
- Akbari, M., Moazeni, M., Oryan, A., Sharifiyazdi, H., Amrabadi, O (2015). Experimental cerebral and non-cerebral coenurosis in goats: A comparative study on the morphological and molecular characteristics of the parasite. *Vet Parasitol* 211: 201–207
- Anonim 1. (2022) *Taenia taeniaeformis* erişim tarihi 2022, erişim adresi: <https://www.aavp.org/wiki/cestodes/cyclophyllidea/taeniidae/taenia-taeniaeformis/>
- Avcioğlu, H., Yildirim, A., Duzlu, O., İnci, A., Terim, KA., Balkaya, I (2011). Prevalance and molecular characterization of bovine coenurosis from Eastern Anatolian region of Turkey. *Vet Parasitol* 176 (1): 59-64
- Ayaz, E., Tınar, R. (2011). Cestoda, Veteriner Helminoloji. Bursa: Dora Basım-Yayın. 112-116
- Batista, FA., Pizzigati, D., Martins, CF., Nunes, MM., Megda, TT., Ribiero, OC., Paiva, F. (2010). First report of coenurosis in sheep in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 19; 265-267
- Bıyıkoğlu, G., Doğanay, A. (1998). Effects of praziquantel and albendazole on *Coenurus cerebralis* in experimentally infected lambs. *Turk J Vet Anim Sci* 22: 43-48.
- Bıçek, K., Karakuş, A., Değer, M.S. (2019). Van ilinde *Coenurus cerebralis*'in yaygınlığı ve Coenurosis'in teşhisinde yardımcı bir parametre olarak enolaz (NSE) enziminin önemi. *Atatürk Üniv Vet Bil Derg* 14(2): 185-192
- Chinnery, JB., Morris, DL. (1986). Effects of albendazole sulphoxide on viability of hydatid protoscoleces in vitro. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 80:815-817
- Değer, S., Bıçek, K. (2005). Determination of endoparasiter fauna around Van in sheep and suggestions on control of parasiter invasions. *YYÜ Vet Fak Derg.* 16(1): 51- 54
- Doğanay, A., Bıyıkoğlu, G., Öge, H. (1999). Serodiagnosis of coenurosis by ELISA in experimentally in fected lambs. *Acta Parasitologica Turcica.* 23(2):185-189
- Doğanay, A., Vural, G. (2012). Coenurosis. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci* 3(2):83-7

- Dyson, DA., Linklater, KA. (1979). Problems in the diagnosis of acute coenuriasis in sheep. *Vet Rec.* 104:528-529
- Eckert, J., Friedhoff, KT., Zahner, H., Deplazes, P. (2005). *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*, Stuttgardi Enke Verlag
- Edwards, G.T. and Herbert (1982). IV. Observations on the course of *Taenia multiceps* infections in sheep: Clinical signs and post-mortem findings. *Br. Vet. J* 138:489-499.
- Farjani, Kish GH., Khodakaram-Tafti, A., Hajimohammadi, A., Ahmadi, N. (2015). Clinical and morphopathological characteristics of an enzootic occurrence of acute coenurosis (*Coenurus cerebralis*) in a sheep herd. *J Parasit Dis.* 39: 280-283.
- Gasser, RB., Zhu, X., Mc Manus, DP. (1999) NADH dehydrogenase subunit 1 and cytochrome oxidase subunit I and cytochrome oxidase subunit I sequences compared for members of the genus *Taenia* (Cestoda). *Int J Parasitol* 29(12):1965-1970.
- Ghazaei, C. (2006) Evaluation therapeutic effects of antihelminthic agents albendazole, fenbendazole and praziquantel against coenurosis in sheep. *Small Rumin Res* 71: 48–51.
- Gıcık, Y., Kara, M., Arslan, OM. (2007). Prevalance of *Coenurus cerebralis* in sheep in Kars province, Turkey. *Bull Vet Inst Pulawy* 51: 379-382
- Güralp, N. (1979). Cestod larvalarının insan ve hayvan sağlığı açısından önemi ve neden oldukları ekonomik kayıplar. *Vet Hek Dern Derg.* 49(2):32-40
- Herbert, LV., Edwards, GT. (1984) Some host factors which influence the epidemiology of *Taenia multiceps* in sheep. *Ann Trop Med Par.* 78,243-248.
- Karaman, U., Özpınar, N. (2022) Cestod larvaları ile olan enfeksiyonlar, Çebi A. (ed). *Tıbbi Bilimlerde Yenilikçi Yaklaşımlar* (119-142) içinde. Ankara, Iksad Yayınevi
- Matchanov, NM., Azimov, Sh A., Dadaev, S., Zimin, Yu., M. and Gekhtin (1982). VI. Larval cestode infections of Karakul sheep in Bukhara region. *Uzbekskii Biologicheskii Zhurnal* 6:45-47.
- Merdivenci, A. (1978). *Medikal Helmintoloji Ders Kitabı*. İstanbul. Cerrahpaşa Tıp Fak Yayın No.2514/57
- Ntoukas, V., Tappe, D., Pfütze, D., Simon, M., Holzmann, T. (2013). Cerebellar Cysticercosis Caused by Larval *Taenia crassiceps* Tapeworm in Immunocompetent Woman, Germany. *Emerg Infect Dis.* 19(12): 2008–2011.

- Oge, H., Oge, S., Gonenc, B., Ozbakis, G., Asti, C. (2012). Coenurosis in the lumbar region of a goat: a case report. *Vet Med (Praha)*, 57(6): 308–313
- Özbilgin, A., Limoncu, E. (2007). İnsanlarda Hastalık Oluşturan Diğer Cestod Larva Enfeksiyonları, Özcel, M., Özbel, Y., Ak, M. (Ed.), Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları (595-599) içinde, İzmir, Meta Basım
- Özkan, C., Yildirim, S., Kaya, A. (2011). Clinical coenurosis (*Coenurus cerebralis*) and associated pathological findings in a calf. *Pak Vet J* 31(3): 263-266.
- Pipia, AP. (2008). Nuove prospettive per il controllo della cenurosi cerebrale delgi ovini. Università degli Studi di Sassari Facolta Di Medicina Veterinaria, Sassari, Tesi di dottorato della. 17-18
- Ransom, BH. (1905). The gid parasite (*Coenurus cerebralis*): Its presence in American sheep. *U.S. Department of Agriculture* 6: 8-9.
- Schneider, T. (2006) *Veterinärmedizinische Parasitologie* 6., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey, Germany
- Scott, PR. (2012). Diagnosis and treatment of coenurosis in sheep. *Vet Parasitol.* 189: 75– 78
- Sharma DK, hauhan PPS. (2006). Coenurosis status in Afro-Asian region: A review. *Small Rumin Res*, 64,197-202
- Shumakovich, EE. (1958). Coenurosis of sheep and its control in the U. S. S. R. *Bull of Int Epizoot.* 49: 640-642
- Skerrit, GC., Stalbaumer, MF. (1984). Diagnosis and treatment of coenurosis (gid) in sheep. *Vet Rec*, 115:399-403
- Uslu, U., Guclu, F. (2007) Prevalence of *Coenurus cerebralis* in sheep Turkey. *Medycyna Wet.* 63,678-680.
- Varcasia, A., Toscirri, G., Sanna Coccone, GN., Pipia, AP., Scala, A., Damien, V., et al. (2009). Lightowers MW. Preliminary field trial of a vaccine against coenurosis caused by *Taenia multiceps*. *Vet Parasitol.* 162: 285-289.
- Verster, A., Tustin, RC., Reinecke, RK. (1978). Research note an attempt to treat the larval stage of *Taenia multiceps* and a resume of its neural and extra neural distribution in sheep. *Onderstepoort. J Vet Res* 45:257-259.
- Yılmaz, R., Özyıldız, Z., Yumuşak, N. (2014). Pathomorphological findings of *Coenurus cerebralis* in sheep. *Harran Üniv Vet Fak Derg.*3: 73-77

İnternet adresleri

https://www.cdc.gov/dpdx/coenurosis/modules/Coenurosis_LifeCycle_lg.jpg

BÖLÜM 5

ENTERİK SİNİR SİSTEMİ - “İKİNCİ BEYNİMİZ”

Dr. Öğr. Üyesi Muhammet DEĞERMENCİ

1. SİNİR SİSTEMİ

Sinir sistemi, morfolojik olarak bir bütün şeklinde olmasına rağmen fonksiyonel olarak alt bölümlere ayrılır.

Anatomik olarak;

- Merkezi (Santral) Sinir Sistemi (MSS) ve Periferik Sinir Sistemi

Fizyolojik (Fonksiyonel) olarak;

- Somatik Sinir Sistemi ve Otonom Sinir Sistemi (OSS) olarak bölümlere ayrılabilir.

MSS, beyin (encephalon^{Gr}, cerebrum^L, brain^{In}) ve omurilik'ten (medulla spinalis^L, spinal cord^{In}) oluşmaktadır. Periferik sinir sistemi, MSS'nin dışına çıkan aksonların oluşturduğu periferik sinirlerden oluşur. Bu periferik sinirleri, medulla spinalis'ten çıkan 31 çift spinal sinirler ve beyin ve beyin sapından çıkan 12 çift kranial sinirden (kafa çiftleri) oluşur. OSS, isteğimiz dışında çalışan kalp kası, düz kaslar ve bezleri innerve eden efferent bir sistemdir. Bu yapıların haricinde kalan ve isteğimiz ile çalışan (çizgili kaslar vb.) yapıları kontrol eden sistem ise somatik sinir sistemidir. Otonom sinir sisteminin somatik sinir sisteminden en temel farkı istek dışı çalışması ve lokalizasyon ve hedef organa ulaşma şeklinin birbirinden farklı olmasıdır (Elhan A, 2020; Taner D, 2019).

2. ENTERİK SİNİR SİSTEMİ

Enterik sinir sistemi, etiyolojik olarak *enteron* (bağırsak, Grekçe) + *icus* (suffixus) terimlerinden türemiştir. Enterik sinir sistemi, esasen OSS'nin bir parçasıdır ve insan vücudundaki otonom sinir sisteminin en büyük parçasıdır. Ancak otonom sinir sisteme ait simpatik ve parasimpatik kısımlardan farklı olarak değerlendirilir. Normalde MSS ile parasempatik (nervus vagus aracılığıyla) ve sempatik (prevertebral ganglionlar aracılığıyla) sinir sistemleri aracılığıyla iletişim kurar. Enterik sinir sistemi, temel olarak gastrointestinal sistemi oluşturan organların çalışmasını kontrol eden bir nöronlar topluluğudur. Merkezi sinir sisteminden (MSS) bağımsız olarak fonksiyonlarını kontrol edebilen enterik sinir sistemi, geniş bir iç sinir sistemine sahip olmasıyla diğer tüm periferik organlardan farklıdır ve bağımsız şekilde refleks olarak çalışarak peristaltik hareketleri, sindirim bezlerinin çalışmasını ve kan akımını düzenleyebilir. Bu bağımsız çalışma nedeniyle "*İkinci Beyin*" olarak adlandırılır ve birçok açıdan beyin ile benzer özelliklere sahiptir. Ayrıca spinal

sinirlerin yanı sıra onuncu kranial sinir olan nervus vagus'a ait afferent ve efferent dallar aracılığıyla sinyaller göndererek davranışlarımızı etkileyebilir. Bununla birlikte, omurgalı çalışmaları nervus vagus kesildiğinde enterik sinir sisteminin çalışmaya devam ettiğini göstermektedir (Taner D, 2019; Deniz M, 2004; Lake JI, 2013).

Sindirim sistemi (systema digestorium), ağızdan anüse kadar uzanır ve sindirim kanalı ve sindirim bezlerinden (karaciğer ve pancreas gibi) oluşur. Sindirim kanalı yaklaşık 9 metredir ve bu nedenle insan vücudunda ikinci en yüksek nöron sayısına sahip olmasıyla bilinmektedir (Şekil 2). İnsanlarda omurilikte yaklaşık 100 milyon nöron bulunurken enterik sinir sisteminde yaklaşık 500 milyon nöron bulunur. Bu nöron sayısı, ısı, ağrı ve basınç gibi hisleri algılamamızı ve bunlara uygun şekilde yanıt vermemizi sağlayan spinal sinirlerden çok daha fazladır. Bu yönüyle Enterik sinir sistemi, bağırsakların yönetim merkezini oluşturan nöronlar topluluğu olarak bilinir (Taner D, 2019; Lake JI, 2013).

Enterik sinir sistemine dahil olan bu nöronlar, gastrointestinal kanalı oluşturan organların (yeme borusundan anüs'e kadar) duvarındaki pleksuslarda yer alan ganglionlar ile pancreas ve safra kesesine ait pleksusların içindeki gangliyonlarda bulunur. Enterik sinir sistemi, birçok fonksiyonlarını tek başına devam ettirebilir. İnce bağırsaklarda birçok nöron tipi belirlenmiş olmasına rağmen sadece fonksiyonel olarak nöronlar (Dogiel tipi), intrinsik afferent, motor ve ara nöronlar olarak önem arz eder. Pleksuslar içerisindeki visceral duyu nöronları, motor nöronlar ve ara nöronlar enterik sinir sisteminin bağımsız çalışabilmesini sağlayan refleks arkını oluşturur. Duyusal (afferent) nöronlar mukoza ve kaslardan duyusal bilgi alırlar ve mekanik ve kimyasal koşullar hakkında rapor verir. Bu duyular mekanik (gerilme ve tonik kasılmalar), termal, ozmotik ve kimyasal (asit, glikoz ve aminoasitler) uyarılardır. Motor nöronlar bağırsak kasları aracılığıyla peristaltizmi ve bağırsak içeriğinin hareketini kontrol eder. Bu organlardan alınan gerilme, iskemi, spazm ve içerdiği maddelerin cinsi gibi değerleri bu visceral duyu nöronları sayesinde değerlendirilir ve motor nöronlar ise bu durumlara tepki vererek bağırsak aktivitesini düzenler (Furness JB, 2000; Goyal RK, 1996, Sharkey K, 2023).

2.1. Enterik sinir sisteminin embriyolojisi

Enterik sinir sistemi, bağırsağın proksimal kısmına göç eden ve daha sonra distal yönde tüm sindirim sistemi boyunca yayılan crista neuralis'in vagal segment hücrelerinden kaynaklanır. Ayrıca gastrointestinal kanalın son kısmındaki ganglionlar crista neuralis'in sakral segmentinden ek bir katkı alır. Tirozin kinaz aktivitesine sahip birkaç reseptör, bağırsaktaki nöroblastların göçünde ve gelişiminde önemlidir. Bu reseptörler enterik ganglionların gelişiminde rol oynamaktadır ve reseptörlerin bozulması laboratuvar hayvanlarında enterik ganglionların yokluğuna ve renal ageneziye neden olurken insanlarda megacolon ile ilişkilidir. RET ve KİT reseptörleri gibi Endotelin-3 ve Endotelin-B reseptörleri de enterik sinir sisteminin gelişmesinde görev alırlar. Bu yapılar, kalp pili gibi görev görürler ve gastrointestinal sistemdeki düz kasın spontan, ritmik, elektriksel uyarıcı aktivitesinden sorumlu olan non-nöral hücrelerdir. Bu hücreler sinir ve kas arasındaki iletişimin modüle edilmesinde de önemlidir (Deniz M, 2004; Lake JI, 2013).

Bağırsaklara göç, yaklaşık olarak gebeliğin 8. haftasında mideden başlar ve 13. haftada rektumda tamamlanır. Gebeliğin 24. haftasında bilinen birçok gastrointestinal nörohumoral madde belirlenir. Enterik sinir sistemine ait sinirler ile diğer organlar arasındaki bağlantı gebeliğin 26. haftasında gelişir. Enterik sinir hücreleri bir yaşına kadar farklılaşır ve gelişim gösterirler (Deniz M, 2004; Lake JI, 2013).

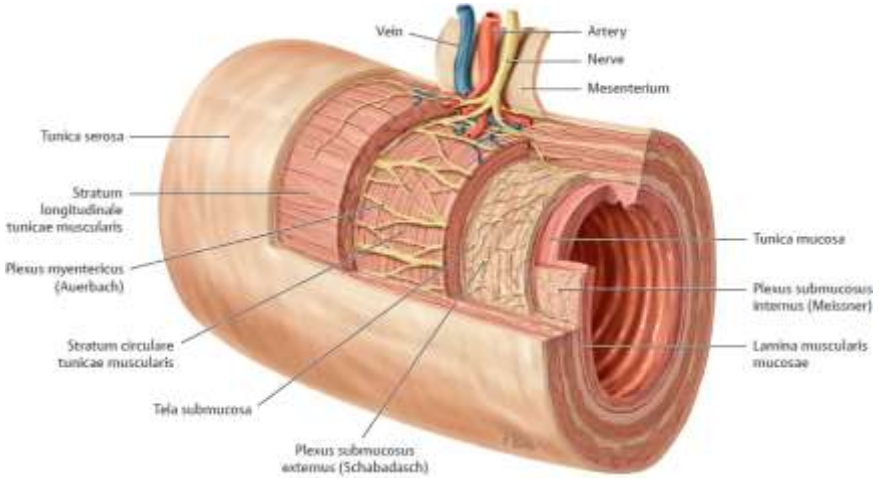
2.2. Enterik sinir sisteminin anatomisi

Sindirim sistemi, ağızda (cavitas oris) başlar ve anüs'te sonlanır. Ağız boşluğunda, dil (lingua), dişler (dentes), dudaklar (labia) bulunur. Ağız boşluğundaki gıdalar önce yutağa (pharynx) daha sonra da yemek borusuna (oesophagus) geçer. Yemek borusunun hareketi ile birlikte gıdalar mideye (gaster) iletilir. Midede depolanan ve sindirilmeye hazırlanan muhteva, önce ince bağırsağa (duodenum, jejunum ve ileum) daha sonra da kalın bağırsağa (caecum, colon, rectum ve canalis analis) geçer. İnce ve kalın bağırsaklarda emilim gerçekleşir ve besin maddeleri kana aktarılır. Daha sonra kalın bağırsaklarda su emilimi gerçekleşir ve katılaşan muhteva (feçes) rektum ve canalis analis yoluyla dışarı atılır. Ayrıca sindirim kanalı dışında sindirim bezleri de sindirim sistemine dahildir (Şekil 2). Karaciğer ve pancreas bu

organlardır ve besinlerin sindirilmesinde görev alan salgıları sindirim kanalına verirler (Elhan A, 2020; Taner D, 2019).

Enterik sinir sistemine dahil olan nöronlar, gastrointestinal kanalı oluşturan organların duvarındaki birbirine bağlı intrinsik pleksuslarda bulunur. Bu pleksuslara parasempatik (visceromotor) lifler nervus vagus aracılığıyla, simpatik lifler ise splanik sinirler aracılığıyla gelir. N. vagus, medulla spinalis'in S₂₋₄ segmentlerinden gelen parasempatik liflerle innerve olan kalın bağırsak olmak üzere gastrointestinal kanalının çoğu bölümüne parasempatik lifler sağlar. İnce ve kalın bağırsağa gelecek olan lifler, öncelikle aorta abdominalis üzerinde yer alan plexus coeliacus'a gelir. Buradan ayrılan lifler, arterler etrafında uzanarak bağırsaklara ulaşır (Elhan A, 2020; Taner D, 2019).

Gastrointestinal kanalı innerve eden parasempatik sinirler enterik sinir sistemi ile nöral bağlantılar oluşturur. N. vagus veya pelvik splanik sinirlerin parasempatik preganglionik nöronları, plexus myentericus ve plexus submucosus'da bulunan postganglionik parasempatik nöronlarla sinaps yapar. Parasempatik preganglionik nöronların hepsi kolinerjik olup simpatik lifler adrenerjiktirler. Simpatik liflerin hücre gövdeleri prevertebral ganglionlarda (ganglion coeliacum) bulunur (Özbağ D, 2021).



Şekil 1. Gastrointestinal kanala ait histolojik katmanlar (Gilroy AM, 2015)

2.2.1. Yemek borusu (Oesophagus^L)

Yaklaşık 25 cm uzunluğunda kastan yapılmış bir organ olup, pharynx'den iletilen maddeleri mideye iletmekle görevlidir. Servikal, torakal ve abdominal bölümleri vardır. Omurların önünde kısmen vertikal olarak aşağı doğru seyreder (Şekil 2). Sindirim kanalının ikinci en dar yeridir (birincisi appendix vermiformis). Dıştan içe doğru tunica adventitia, tunica muscularis, tela submucosa ve tunica mucosa olmak üzere dört tabakadır (Şekil 1). Yemek borusunun sadece torakal ve abdominal kısımları enterik sinir sistemine dahildir. Servikal bölümü çizgili kastan oluşmaktadır ve isteğimiz ile çalışır (Elhan A, 2020; Özbağ D, 2021).

2.2.2. Mide (Gaster^L, Ventriculus^{Gr})

Oesophagus ile duodenum arasında yer alır ve sindirim kanalının en geniş kısmıdır. Pozisyonu içindeki muhtevaya, kas tabakasının gelişimine ve komşu organların durumuna göre değişir (Şekil 2). Pars cardiaca, fundus gastricus, corpus gastricus, pars pylorica ve pylorus olmak üzere 5 bölümden oluşur. Tunica serosa, tela subserosa, tunica muscularis ve tunica mucosa olmak üzere dört bölümden oluşur (Elhan A, 2020; Özbağ D, 2021).

2.2.3. İnce bağırsaklar (Intestinum tenue^L, Enteron^{Gr})

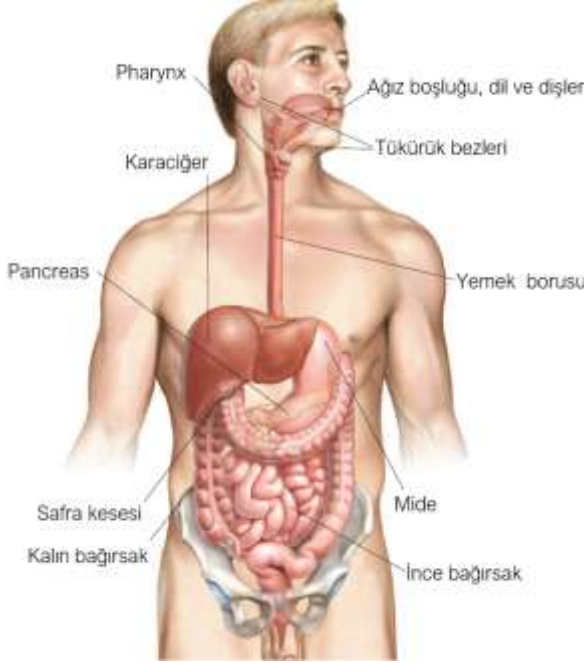
Sindirim kanalının mide ile kalın bağırsak arasında kalan bölümüdür. 6-7 metre uzunluğunda olup çapı, kalınlığı proksimalden distaline doğru azalır. Karın boşluğun orta-alt kısmında bulunur. Duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç parçadan oluşur (Şekil 2).

Duodenum (On iki parmak bağırsağı), ince bağırsağın ilk bölümüdür. İnce bağırsağın en hareketsiz, en kalın, en kısa ve en geniş çaplı bölümüdür. Göbek seviyesinin üstünde yer alır.

Jejunum ve ileum, yumak şeklinde birbirinin devamı şeklinde bulunan iki bölümdür. Bir tür asıcı bağ (mesenterium) ile karın arka duvarına asılı şeklinde bulunurlar. İki bölüm arasında makroskobik olarak farklılıklar mevcuttur. Özellikle jejunum, daha damarlı, daha kalın ve daha büyük çaplıdır. Ileum'da lenf follikülleri ise yoğun olarak bulunur. Jejunum, karın boşluğun sol-üst tarafında yer alırken ileum sağ-alt tarafında bulunur (Elhan A, 2020; Özbağ D, 2021).

2.2.4. Kalın bağırsaklar (Intestinum crassum^L)

Ortalama 1.5 m uzunluğunda olup ileum'dan anüs'e kadar uzanır. Kalın bağırsağın primer fonksiyonu içindeki muhtevanın suyunu emmektir. Görünüş olarak ince bağırsaklardan farklıdır. Sırasıyla caecum, colon, rectum ve canalis analis olmak dört bölümden oluşur. Caecum (kör bağırsak) ilk ve en geniş bölümdür. Caecum'un alt ucunda appendix vermiformis yer alır. Colon, colon ascendens (çıkan kolon), colon transversum, colon descendens (inen kolon) ve colon sigmoideum olmak üzere dört bölümdür (Şekil 2). Rectum yaklaşık 12 cm uzunluğundadır ve sakrum'un önünde aşağı uzanır. Canalis analis, yaklaşık 4 cm uzunluğunda olup anüs ile sonlanır (Elhan A, 2020; Özbağ D, 2021).



Şekil 2. Gastrointestinal sistem anatomisi (Netter F, 2014)

2.3. Enterik sinir sisteminin histolojisi

Enterik sinir sistemi yemek borusundan anüse kadar uzanır. Çoğunlukla aynı olmakla beraber sindirim kanalını oluşturan organların histolojik katmanları birbirinin aynısıdır. Yemek borusunun servikal ve torakal parçaları periton ile çevrelenmediği için en dışta seröz tabakası yoktur. Bunun yerine en dışta tunica adventitia yer alır. Bu katman birçok elastik lif içeren bağ dokusu katmanıdır (Elhan A, 2020; Özbağ D, 2021).

Mide, ince bağırsak ve kalın bağırsağın histolojik katmanları aynıdır. En dışta visseral peritonun oluşturduğu seröz katman yer alır. Bu tabakanın altında içinde damar ve sinirlerin bulunduğu gevşek bağ dokusu tabakası olan tela subserosa bulunur. Bu tabakanın altında ise organların hareketlerini kontrol eden müküler katman yer alır. Bu tabakada dışta longitudinal (stratum longitudinale) içte ise sirküler kas lifleri (stratum circulare) bulunur. Midede bu liflere ek olarak oblik lifler de yer alır. Müküler tabakanın altında ise organın iç duvarını oluşturan mukoza tabakası bulunur. Mukoza tabakası ile müküler tabaka arasında ise tela submucosa denilen ek bir katman vardır (Şekil 1). Mukoza tabakası ile tela submucosa arasında ise tunica muscularis mucosae denilen bir tabaka bulunur (Elhan A, 2020; Özbağ D, 2021).

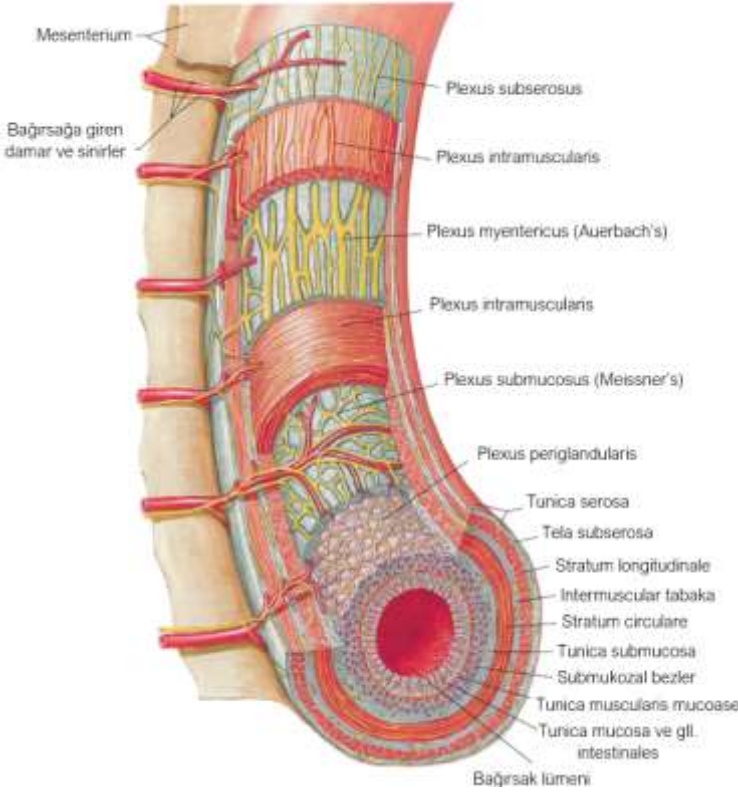
Histolojik kesitlerde, pleksuslar içerisinde yer alan ganglion hücreleri genellikle plexus submucosus'un tanımlanması için en kolay yoldur. Nispeten bazofilik boyanan sitoplazmaya sahip büyük hücre gövdeleri ve büyük yuvarlak ökromatik çekirdekleri vardır. Bu da onları çevredeki fibroblastların iç şeklindeki çekirdekleri arasında nispeten dikkat çekici kılar (Deniz M, 2004; Goyal RK, 1996, Sharkey K, 2023).

2.3.1. Plexus myentericus (Auerbach's)

Enterik sinir sistemi içinde, motor, duyuşal ve ara nöronlardan oluşan iki adet önemli pleksus bulunur. Bu pleksuslar gastrointestinal kanalın kendi kendine çalışmasını ve ikinci beyin olmasını sağlayan yapılardır. Müküler tabaka içerisinde yer alan stratum longitudinale ve stratum circulare arasında yer alan pleksusa plexus myentericus (Auerbach's) denir ve gastrointestinal sistemin major sinir kaynağıdır (Şekil 3). Bu pleksus içinde yer alan motor nöronlar, gastrointestinal kanalın hareketliliğini ve peristaltizmi kontrol eder. Bu görevi de genellikle müküler tabakada yer alan düz kasları innerve ederek sağlar. Güncel çalışmalara göre bu pleksusun nöronlarının % 30'u enterik duyuşal nöronlardır. Plexus myentericus'dan submukozal ganglionlara, safra kesesine ait enterik ganglionlara, pancreas'a ve simpatik ganglionlara birçok birleştirici dal uzanır. Bu pleksus, oesophagus'un sadece torakal ve abdominal kısımlarında bulunur (Deniz M, 2004, Costa M, 2000; Furness JB, 2000).

Pleksus içindeki ganglionlar MSS'ye benzemektir ve bu özelliği ile 'beyin' tanımını gerçekleştirmektedir. Bu özellikler arasında, glia, internöron,

ekstrasellüler alan, kan damarlarından izolasyon, multipl sinaptik mekanizmalar ve çoklu nörotransmitter varlığı bulunur (Grundy D, 2007).



Şekil 3. Plexus myentericus (Auerbach's) ve Plexus submucosus (Meissner's) (Netter F, 2014)

2.3.2. Plexus submucosus (Meissner's)

Gastrointestinal kanalın çok sayıda kan ve lenf damarı ile gömülü yoğun düzensiz bağ dokusundan oluşan ince bir doku tabakası olan submukozal tabakasında yerleşmiş olarak bulunan ganglionlu bir pleksusdur. İçerisinde postganglionik sempatik nöronlar, preganglionik/postganglionik parasempatik nöronlar (submukozal ganglionlar), enterik nöronlar ve enterik glial hücreler bulunur. Plexus myentericus'dan gelen dallar, plexus submucosus'u oluşturmak için sirküler kas liflerini deler ve derine ilerler. Pleksustan gelen gangliyonlar tunica muscularis mucosae'ye ve ayrıca mukoza zarına uzanır. Pleksus içerisinde multipolar ganglion hücreleri olan Dogiel hücreleri bulunur

ve bu hücreler enterik sinir sisteminde önemli bir rol oynarlar. Bu nöronal pleksuslar, gangliyonların daha seyrek ve daha küçük olduğu mideden ziyade ince ve kalın bağırsaklarda daha gelişmiş olarak bulunur ve sinir lifleri plexus myentericus'a ve etraf ganglionlara bağlantı kurar. Plexus submucosus'daki nöronların %14'u duyuşal nöronlardır. Bu pleksusta bulunan ganglionlar, primer olarak gastrointestinal kanalında sıvı salgılanması (sekresyon motilitesi) ve emilimin düzenlenmesinden (absorbsiyon) sorumludurlar. Ayrıca, epitel tabakasındaki hücreleri ve tunica muscularis mucosae'deki düz kasları innerve etmek ve kan akışının modülasyonu görevleri de vardır. İki tabaka şeklinde bulunur:

- Dış tabaka, plexus mucosus externus (Schabadasch) olarak bilinir ve motor nöronları içerir (Şekil 1).
- İç tabaka, tunica muscularis mucosae'ye bitişik olarak uzanır ve gerçek Meissner pleksusu olarak bilinir (Şekil 3).

İnteristiyel hücreler (Cajal hücreleri ya da enterik kalp pili hücreleri) olarak adlandırılan özelleşmiş bir grup hücre de submukozal bağ dokusu ile en içteki dairesel kas tabakası arasındaki ara yüzeyde submukoza ve submukozal pleksusta dağılmış olarak bulunabilir. Bu hücreler bağırsağın elektrik pili olarak hareket ederek plexus myentericus ve plexus submucosus'un otonom olarak çalışmasını sağlar (Şekil 3). Ayrıca, kas ile sinir hücreleri arasında iletişimi sağlayan önemli yapılar olup düz kasların spontan, ritmik ve elektriksel aktivitesinden sorumludurlar (Deniz M, 2004; Costa M, 2000; Furness JB, 2000).

2.4. Enterik sinir sisteminin fizyolojisi ve fonksiyonları

Plexus myentericus enterik sinir sisteminin bir parçası olarak işlev görür ve otonom olarak çalışabilir. Ancak normal sindirim fonksiyonu için bu intrinsik sistem ile MSS arasında iletişim bağlantısı gerekmektedir. Enterik sinir sistemi tarafından kısmen kontrol edilen olaylar çoktur ve motor aktivite, salgı, emilim, kan akışı ve safra kesesi veya pankreas gibi diğer organlarla etkileşimi içerir. Bu bağlantılar, MSS ve enterik sinir sistemlerini birbirine bağlayan ya da MSS'yi doğrudan sindirim sistemine bağlayan parasempatik ve sempatik lifler şeklindedir. Bu çapraz bağlantılar sayesinde bağırsak MSS'ye duyuşal bilgi sağlayabilir ve MSS gastrointestinal fonksiyonu etkileyebilir. MSS ile olan bağlantı sayesinde, lezzetli yiyeceklerin görülmesi ile beraber

midede salgılanmanın başlaması gibi durumlarda sindirim sisteminin dışından gelen sinyallerin sindirim sistemine iletilebileceği anlamına gelir (Fujita S, 2007, Sharkey K, 2023).

Enterik sinir sistemi asetilkolin, dopamin ve serotonin gibi çoğu MSS'de bulunanlarla benzer olarak 30'dan fazla nörotransmitteri kullanır. Vücuttaki serotoninin %90'ından fazlası ve dopaminin yaklaşık %50'si bağırsaklarda bulunmaktadır. Buna ek olarak enterik sinir sistemi, beyindeki astroglialara benzer destek hücreleri ve gangliyonları çevreleyen kılcal damarların etrafında beyin kan damarlarının kan-beyin bariyerine benzer bir difüzyon bariyeri içerir. Enterik sinir sistemi, sindirim sisteminin motilitesini (hareketliliğini), ekzokrin ve endokrin salgılarını ve mikro sirkülasyonunu kontrol eder. Ayrıca immünoregülatör inflamatuvar süreçleri düzenleyerek bu yönetimi sağlar (Pasricha P, 2021).

Enterik sinir sisteminde beyinle aynı nörotransmitterlerin çoğu bulunduğu için, plexus myentericus'a ait nöronlar hem peptid hem de peptid olmayan (aminler, amino asitler, pürinler) nörotransmitterler için reseptörleri açıklayabilir. Bir presinaptik reseptörün aktive edilmesi kolinerjik nörotransmisyonu artırır ve gastrointestinal motiliteyi uyarabilir (Dickson EJ, 2010).

Enterik sinir sistemi dildeki tat reseptörleri sergiler. Bu reseptörler dilde "tatlılığı" algılamak için enterik sinir sisteminde de glikozu hisseder. Bu reseptörler, kan şekeri seviyelerini kontrol etmekten sorumlu olan insülin ve diğer hormonların salgılanmasını düzenlemeye yardımcı olur (Margolske RF, 2007).

Enterik sinir sistemi bağırsak duvarına gömülü nöronlardan oluşur. Diğer işlevlerinin yanı sıra, bu nöronlar çevresel tehlikeleri algılamamızı ve tepkilerimizi belirlememizi sağlar. Örneğin, stres altında beynimiz sağlıklı yiyecekleri tercih edebilir. Bu yiyecekleri daha cazip kılan kafatasındaki beyin değil, bağırsaklarımızdaki ikinci beyindir.

Enterik sinir sisteminin bağımsız olarak işlev görebilmesinin yanı sıra, MSS'nin enterik sinir sisteminin çeşitli işlevlerinin koordinasyonunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Sempatik ve parasempatik sinir sisteminin hem motor hem de duyu yollarının oluşturduğu enterik sinir sisteminin MSS ile olan sıkı bağlantısı bunun bir kanıtı olarak gösterilebilir.

Gastrointestinal fonksiyon, lokal enterik refleksler, sempatik ganglionlardan geçen refleksler ve bağırsaktan MSS'ye geri dönen refleksler arasındaki etkileşimleri içeren bütünlümlü bir sistemdir.

Gastrointestinal kanalı innerve sempatik sinirler omuriliğin torakal ve üst lomber bölgelerinden kaynaklanır. Gastrointestinal sistemi innerve eden sempatik sinirler enterik sinir sistemi nöronlarını inhibe ederek gastrointestinal sistem sekresyonunda ve motilitesinde azalmaya neden olur. Öfke, korku ve endişe gibi duygular sindirimi yavaşlatabilir çünkü bunlar gastrointestinal kanalı innerve eden sempatik sinirleri uyarır.

Yukarıdakilere ek olarak, enterik sinir sisteminin bir özelliği olan nöronlar ve enterik glial hücreler, kas tabakası, submukoza ve lamina propria içinde bulunabilir. Glia hücreleri, enterik sinir sisteminin destekleyici yapılarıdır ve enterik nöronlardan fazladır. Enterik glial hücreler öncelikle bağırsak homeostazında rol oynar ve epitelyal bariyerin bütünlüğüne katkıda bulunur (Furness JB, 2000, Sharkey K, 2023).

2.5. Enterik sinir sisteminin nörokimyasal yapısı

Enterik nöronlarda 30'dan fazla nörotransmitter belirlenmiştir. Enterik nörotransmitterler küçük moleküllü (norepinefrin ve serotonin), büyük moleküllü (peptidler) ya da gaz şeklindedirler (NO ve CO). Kimyasal yapı nöron tipine, türe ve bağırsak segmentine göre değişir (Deniz M, 2004; Furness JB, 2000)

2.6. Enterik sinir sistemi bozuklukları

Hirschsprung hastalığı, plexus myentericus içerisinde bulunan ganglion hücrelerinin kalın bağırsakta bulunmadığında ortaya çıkan konjenital bir bozukluktur. Hirschsprung hastalığı, gelişen bağırsakta nöroblastların kaudal göçünün başarısız olması nedeniyle fonksiyonel bir düşük bağırsak tıkanıklığı şeklindedir. Bu hem plexus myentericus hem de plexus submucosus'da parasempatik intrinsik ganglion hücrelerinin yokluğuyla sonuçlanır. Nadir görülen bir hastalıktır ve erkeklerde görülme sıklığı kadınlardan dört kat fazladır (Tam PK, 2009, Niesler B, 2021).

Akalazya, plexus myentericus'daki ganglion hücre yoğunluğunda azalma ile kendini gösteren nedeni tam olarak bilinmeyen özofagusun motor fonksiyon bozukluğudur. Enterik sistemdeki motor nöron kaybı veya

bozukluğu, kronik idiyopatik konstipasyon ve özofageal sfinkter akalazyasının temelini oluşturur (Storch WB, 1995, Niesler B, 2021).

Konjenital pilor stenozu, fonksiyonel olarak midenin duodenum ile bağlandığı yerin (pylorus) tıkanıklığı ile karakterize bir hastalıktır.

Akut intestinal ileus, bağırsaklardaki motor aktivitesinin yokluğu ile karakterize bir rahatsızlıktır.

Plexus myentericus yıkımının *Chagas hastalığına* neden olduğu bulunmuştur. Tahribat yemek borusunda, bağırsaklarda ve üreterlerde meydana gelir. Bu denervasyon sırasıyla ikincil akalazyaya, megakolon ve megauretere yol açabilir (Deniz M, 2004, Niesler B, 2021).

Enterik sinir sistemi, MSS ile benzerlikleri nedeniyle "bağırsakların beyni" olarak bilindiğinden, araştırmacılar Parkinson hastalığını daha iyi anlamak ve yönetmek için Parkinson hastalarının kolon biyopsilerini kullanmaktadır. Parkinson hastalarının, hastalığını karakterize eden motor hareket komplikasyonlarının başlamasından yıllar önce gastrointestinal kanal disfonksiyonu nedeniyle şiddetli kabızlık yaşadıkları bilinmektedir (Lebouvier T, 2000).

KAYNAKLAR

- Costa M, Brookes SJ, Hennig GW. Anatomy and physiology of the enteric nervous system. *Gut* 2000; 47 (90004): 15–9.
- Deniz M. Enterik Sinir Sistemi. Hr. Ü. Tıp Fak. Der. 2004; 2.
- Dickson EJ, Heredia DJ, Smith TK. Critical role of 5-HT1A, 5-HT3, and 5-HT7 receptor subtypes in the initiation, generation, and propagation of the murine colonic migrating motor complex. *AJP: Gastrointestinal and Liver Physiology* 2010; 299 (1): 144–57.
- Elhan A ve Arıncı K. Anatomi. Cilt 2, 7. Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri. Ankara, 2020.
- Elhan A ve Arıncı K. Anatomi. Cilt 1, 7. Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri. Ankara, 2020.
- Frank H. Netter. Atlas of Human Anatomy. Seventh Ed. Elsevier Inc. USA, 2014.
- Fujita, Shin; Nakanisi, Yukihiko; Taniguchi, Hirokazu; Yamamoto, Seiichiro; Akasu, Takayuki; Moriya, Yoshihiro; Shimoda, Tadakazu. Cancer Invasion to Auerbach's Plexus is an Important Prognostic Factor in Patients with pT3-pT4 Colorectal Cancer. *Diseases of the Colon & Rectum* 2007; 50 (11): 1860–6.
- Furness JB. Types of neurons in the enteric nervous system. *J Auton Nerv Syst.* 2000 Jul 3;81(1-3):87-96.
- Gilroy AM, Macpherson BR, Ross LM. Anatomi Atlası. Çev. Ed. Denk CC, Çelik HH. Palme Yayıncılık, İstanbul, 2015.
- Grundty D, Schemann M. Enteric nervous system. *Curr Opin Gastroenterol.* 2007 Mar;23(2):121-6.
- Goyal RK, Hirano I. The enteric nervous system. *N Engl J Med.* 1996 Apr 25;334(17):1106-15.
- Lake JJ, Heuckeroth RO. Enteric nervous system development: migration, differentiation, and disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2013 Jul 1;305(1):G1-24.
- Lebouvier T, Neunlist M, Bruley des Varannes S, Coron E, Drouard A, N'Guyen JM, Chaumette T, Tasselli M, Paillusson S, Flamand M, Galmiche JP, Damier P, Derkinderen P. Colonic biopsies to assess the neuropathology of Parkinson's disease and its relationship with symptoms. *PLoS One.* 2010; 5(9): e12728.
- Margolskee RF, Dyer J, Kokrashvili Z, Salmon KS, Ilegems E, Daly K, Maillet EL, Ninomiya Y, Mosinger B, Shirazi-Beechey SP. T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na⁺-glucose cotransporter 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(38): 15075-80.

- Niesler B, Kuerten S, Demir IE, Schäfer KH. Disorders of the enteric nervous system - a holistic view. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021 Jun;18(6):393-410.
- Özbağ D. "İNSAN" Anatomi. 2. Baskı. İstanbul Tıp Kitabevleri. İstanbul, 2021
- Pasricha, Pankaj Jay. "Stanford Hospital: Brain in the Gut - Your Health". Archived from the original on 2021.12.22.
- Sharkey KA, Mawe GM. The enteric nervous system. *Physiol Rev* 2023; 103(2): 1487-1564.
- Storch WB, Eckardt VF, Wienbeck M, Eberl T, Auer PG, Hecker A, Junginger T, Bosseckert H. Autoantibodies to Auerbach's plexus in achalasia. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 1995; 41(8): 1033-8.
- Tam PK, Garcia-Barceló M. Genetic basis of Hirschsprung's disease. *Pediatr Surg Int* 2009; 25(7): 543-58.
- Taner D. Fonksiyonel Nöroanatomi. Editor: Doğan Taner, 21. Baskı, ODTÜ Yayıncılık. Ankara, 2019.

BÖLÜM 6

EPİLEPSİDE NÖRON GLİA ETKİLEŞİMİ

Dr. Öğr. Üyesi Elif DOĞAN¹

¹ Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziyoloji Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.
elifdogan@odu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0001-6063-5583

1. EPİLEPSİ

Anormal, aşırı nöronal aktiviteden kaynaklanan beyin fonksiyonlarının geçici olarak bozulmasına nöbet adı verilirken, tekrarlayan nöbetlerin kronik durumuna epilepsi denir. Epilepsi beyindeki eksitator ve inhibitör uyarılar arasındaki dengenin bozulması nedeniyle nöronların anormal elektriksel aktivite üretmesi sonucu oluşur. Epilepsi araştırmalarında ve tedavisinde nöron fonksiyonları çalışmalarının merkezini oluşturmuştur. Mevcut nöbet önleyici ilaçların genişleyen yelpazesine rağmen, ilaca dirençli epilepsi oranları on yıllardır sabit kalmıştır (Purnell, Alves, & Boison, 2023). Ancak yeni yapılan çalışmalar gliaların nöronal aktiviteyi destekleme ve modüle etmedeki rolüne ilişkin araştırmalar artmış ve epilepsinin patofizyolojisinde gliaların rolü olduğuna dair ikna edici kanıtlar sağlanmıştır.

2. GLİA

Glialar, nöronların hayatta kalması ve işlevlerini yerine getirebilmeleri için hayati öneme sahip hücrelerdir. Glial hücreler insan beyninin hacminin yarısından fazlasını kaplar. Merkezi sinir sisteminde (MSS) makroglia ve mikroglia olmak üzere iki alt grupta toplanır. Astrositler, oligodendrositler ve ependim hücreleri makroglialardır ve gliaların %90'ını oluşturur (Kandel, 2021). Mikroglialar gliaların %10'unu oluşturur ve yolk kesesindeki miyeloid progenitörlerden türemiş, erken dönemde beyne kolonize olmuşlardır (Kandel, 2021). Bunlara ek olarak, proteoglikan NG 2 ekspresyon eden yeni bir glial hücre sınıfı olan oligodendrosit öncü hücreleri (OPC'ler) yakın zamanda tanımlanmıştır ve diğer glialardan farklı morfolojik ve fizyolojik özelliklere sahiptir (Eroglu & Barres, 2010). Periferik sinir sisteminde, işlevsel ve antijenik olarak MSS'nin glia hücrelerine benzeyen iki Schwann hücresi sınıfı vardır: miyelinleşen, miyelinleşmeyen (Eroglu & Barres, 2010).

Oligodendrositler ve Schwann hücreleri, aksiyon potansiyellerinin hızlı ve tuzlu hareketini sağlamak için aksonları miyelinleştirir. Miyelinleşmeyen Schwann hücreleri MSS'deki astrositler gibi sinapsların etrafını sarar (Heuser ve ark., 2018).

Ependim hücreleri beynin ventriküllerini kaplayan silli bir glial hücrelerdir. Beyin omurilik sıvı oluşumundan sorumlu koroid pleksusu çevreleyen epitel tabakasını oluştururlar. Siliyer hareketleri sayesinde BOS'un

ventriküler sistem boyunca hareket etmesine yardımcı olarak moleküllerin MSS'deki hücrelere iletimini ve atıklardan arınmayı sağlar.

Mikroglialar nöronal gelişim sırasında presinaptik ve postsinaptik yapıları düzenleyerek gelişen nöral devrelerin şekillendirilmesine yardımcı olur. Travma ve hastalıkları takiben, mikrogliaların motilitesinde, morfolojisinde ve gen ekspresyonunda değişiklikler meydana gelir ve savunma hücrelerinin bu sürece dahil olmasında etkili olurlar.

Astroisitler beynin tüm bölgelerinde bulunur ve beyindeki hücrelerin neredeyse yarısını oluşturur. Astroisitler morfolojileri ve konumlarına göre iki grupta sınıflandırılmıştır. Birinci grup, yüksek oranda gri maddede bulunan protoplazmik astroisitlerdir. Bu hücreler sinapsları çevreler ve kan damarları ile temas halindedir. İkinci grup ise Ranvier düğümleriyle temas halinde olan beyaz maddenin fibröz astroisitleridir. Astroisitlerin görevleri (Eroglu & Barres, 2010; Purnell ve ark., 2023):

- Kan akışını nöronal aktiviteye göre düzenlemek,
- Kan beyin bariyerinin (KBB) yapısının ve geçirgenliğinin korumak
- Nöronların enerji metabolizmasına destek sağlamak
- Nörotransmitterlerin geri alımı ve yıkımına katkı sağlamak ve yapı taşlarını tedarik etmek
- Ekstraselüler alanda iyonu homeostazını sağlamak ve hücre dışı pH'ı düzenlemek
- ESS alan hacminin belirlenmesine katkı sağlamak
- Nörotransmitter reseptörlerini ifade ederek sinaps işlevini 'dinlemek'
- Gliotransmisyon şeklinde kendi sinyal moleküllerini salgılamak
- ATP ve D-serin gibi nörolojik olarak aktif maddeler salgılayarak sinapsların özelliklerini modüle etmek

Normal sağlıklı koşullarda astroisitler, nöronların işlevine sürekli aktif katılım halindedir. MSS'ye yönelik çeşitli patolojiler ve saldırılar, astroisitlerin aktif duruma geçmesini 'reaktif astrogliozis' tetikler.

OPC'ler temelde oligodentrosit ve astroisit oluşumunu sağlayabilen hücrelerdir. Ancak hem hipokampüste hem de serebellumda, OPC'ler ve aksonlar arasında hızlı sinaptik iletim gerçekleştiği gösterilmiştir (Eroglu & Barres, 2010). Bu OPC'ler glutamat ve GA BA aracılığı ile bilgi alabilir ve glutamat gibi nörotransmitterleri salgılayabilir (Tian ve ark., 2005). Bu

sinapslarının işlevsel önemi bilinmemekle beraber, aksonların oligodendrosit progenitör hücrelerinin farklılaşmasını kontrol edebilmesi için potansiyel bir mekanizma olabilir.

3. EPİLEPTOJENEZ

Önceden sağlıklı olan bir beynin kendiliğinden anormal deşarjlar oluşturarak epilepsili beyne kademeli olarak dönüşmesi epileptojenез olarak adlandırılır. Epileptojenез sırasında çeşitli biyolojik değişikliklerin meydana geldiği tanımlanmıştır. Bunlardan bazıları şunlardır (Patel, Tewari, Chaunsali, & Sontheimer, 2019):

- Gliozis
- İyon kanalları, taşıyıcılar ve enzimlerdeki ifadesel ve işlevsel değişiklikler
- Uyarıcı ve inhibitör olarak görev yapan reseptörlerin ifadesinde ve işlevinde değişiklikler,
- Sinir devrelerindeki değişiklikler
- Aksonal ve dendritik plastisite değişiklikleri
- Bozulmuş kan-beyin bariyeri
- Kontrolsüz inflamasyon
- Ekstraselüler matriksin yeniden düzenlenmesi
- Epigenetik yeniden programlama

3.1. Gliozis

Gliozis, santral sinir sistemindeki glialarda, özellikle astrositlerde (astrogliozis) ve mikroglialarda, hastalıklara yanıt olarak görülen yaygın nonspesifik bir reaksiyondur. Gliozisteki değişikliklerin kapsamı ve doğası, hasarın tipine ve ciddiyetine göre değişir. Bu değişiklikler, yararlı veya zararlı etkiler verebilir.

İnsanlardan alınan örneklerde ve deneysel hayvan epilepsi modellerinde, reaktif astrogliozis, epileptik odağın ayırt edici özelliklerinden biri oluşturur (Purnell ve ark., 2023). Gliozisin nöbetlerin bir nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu konusu tartışmalıdır. Travma ile ilişkili epilepsi durumunda, gliozis epilepsi gelişiminden önce ortaya çıkar. Gliozisin epilepsiye neden olduğuna dair çalışmalar vardır. Bunlardan biri $\beta 1$ integrin geni *Itgb1*'in koşullu astrosit spesifik delesyonu ile gliozisin indüklenmesi ve spontan, tekrarlayan nöbetler

geliştiğini gösteren çalışmadır (Patel ve ark., 2019). Başka bir çalışmada da viral yolla hipokampüste astrogliozis oluşturulmasının nöronal aşırı uyarılmaya sebep olduğu gösterilmiştir (Patel ve ark., 2019). Astrosite özgü GFAP genindeki heterozigot mutasyonların neden olduğu Alexander hastalığının en yaygın semptomlarından biri de yine nöbetlerdir (Patel ve ark., 2019).

Edinilmiş epilepsisi olan insanlarda ve reaktif astrogliozis görülür, ancak bazı durumlarda gliozis olmaksızın nöbetlerin varlığı gösterilmiştir. Fokal kortikal displazisi olan kişilerde epileptojenik kortekste gliozis olmadığı gösterilmiştir (Patel ve ark., 2019). Ayrıca, farelerde oluşturulan pilokarpin ile indüklenen epilepsi modelinde, nöbet sıklığı reaktif gliozis ile değil, dentat girustaki GABAergik internöronların kaybı ile korelasyon göstermiştir (Patel ve ark., 2019).

Birlikte ele alındığında, bu bulgular gliozisin epilepsi histopatolojisinin önemli bir bulgusu olduğunu ve epilepsi formlarının hepsinde olmasa da birçoğunda epileptojenez katkıda bulunduğunu göstermektedir.

3.2. İyon ve Su Homeostazi

3.2.1. Potasyum

Nöronların membran potansiyeli dereceli potansiyel ve aksiyon potansiyeli ile değişkenlik gösterebilir. Bu olaylar ekstraselüler sıvıda iyon konsantrasyonu değişimine yol açar. Nöronlar arası ekstraselüler alan küçüktür ve küçük iyon akışları bile iyon konsantrasyonlarını önemli ölçüde değiştirebilir. Normal ekstraselüler alan K^+ miktarı ~ 3 mM kadardır (Kofuji & Newman, 2004). Tek bir aksiyon potansiyeli hücre dışı K^+ konsantrasyonunu neredeyse ekstraselüler K^+ düzeyini ~ 1 mM kadar yükseltir ve nöbetler sırasında tekrarlanan nöronal ateşleme ekstraselüler K^+ düzeyini ~ 12 mM'ye çıkarabilir (Kofuji & Newman, 2004). Fizyolojik koşullarda nöronal aktivite sonrası nöronlar, Na^+/K^+ ATPaz sayesinde, ekstraselüler K^+ düzeyini tekrar ~ 3 mM konsantrasyonuna dönüşünü sağlayabilir. Nöronal aktivitenin yüksek olduğu durumlarda nöronlar potasyumu dengelemede yetersiz kalabilir. Astrositler komşu nöronlara kıyasla ekstraselüler K^+ düzeyini hızla alma ve tutma konusunda üstün bir kapasiteye sahiptir (Purnell ve ark., 2023). Ayrıca, $Na^+/K^+/Cl^-$ kotransporterleri astrositler de dahil olmak üzere K^+ 'u hücrelerin hücre içine taşır (Kofuji & Newman, 2004). Son olarak, içe doğru doğrultucu K^+ kanalları (Kir 4.1), içe doğru akışı tercih ederek K^+ iyonlarının hücre içine

geçişine izin verir (Kofuji & Newman, 2004). Daha sonra astrositler tarafından alınan K^+ , Kir4.1 kanalları aracılığıyla yavaşça hücre dışı boşluğa geri salınır.

Hücre dışı boşluktan alınan K^+ iyonları, uzamsal tamponlama adı verilen bir süreçte gap junction ile bağlanan astrositler arasında aktarılabilir (Kofuji & Newman, 2004). Farelerde gap junction yoluyla astrosit bağlantısının transgenik olarak azaltılmasının K^+ tamponlamasını marjinal olarak bozduğu, nöbet aktivitesine karşı kırılabilirliği artırdığı, glutamat klirensini azalttığı ve astrositik şişmeyi artırdığı gösterilmiştir (Purnell ve ark., 2023). Ekstraselüler K^+ 'nin artmasının hipokampal dilimlerde epileptiform aktiviteyi indüklediği gösterilmiştir (Patel ve ark., 2019). Farelerde yapılan bir çalışmada Kir 4.1'in astrosite özgü delesyonunun, ataksi, nöbetler ve erken ölüme yol açtığı gösterilmiştir (Hinterkeuser ve ark., 2000). Kir 4.1 knockout kortikal astrosit kültürlerinde hem K^+ hem de glutamat alımı azalmıştır. Bu yalnızca potasyum tamponlama ile değil aynı zamanda glutamatın temizlenmesinin de etkilenmesiyle epilepsi oluşumuna katkı sağlayabileceğini göstermektedir (Kucheryavykh ve ark., 2007). Ancak insan ve hayvanlardan rezekte edilen dokularda gap junction sayısı değişken bulunmuştur (Purnell ve ark., 2023).

3.2.2. Kalsiyum

Astrositlerde kalsiyum, iyon konsantrasyonlarına ve astrositin membran potansiyeline göre Na^+/Ca^{+2} değiştirici (NCX) ile düzenlenir. NCX'in downregulasyonu ya da farmakolojik olarak inhibisyonu antikonvülsan etki gösterir (Purnell ve ark., 2023). Astrositlere gelen uyarılar DAG, IP3 yolunu kullanarak da hücre içi sinyal yollarını harekete geçirebilir.

Astrositik Ca^{+2} sinyalizasyonundaki değişiklikler hem nöbetlerin başlamasında hem de epileptogenezin ilerlemesinde rol oynamaktadır. Astrositlerin hücre içi Ca^{+2} sinyalinin, bitişik nöronlarda, yavaş ve içe doğru depolarize edici akımlar ortaya çıkardığı, rodent hipokampal dilimlerinde gösterilmiştir (Tian ve ark., 2005). Ayrıca astrositik Ca^{+2} artışlarının farelerde kortekste ve hipokampusün CA1'inde nöbet aktivitesinden önce geldiğini gösterilmiştir (Heuser ve ark., 2018).

Rodentlerde yapılan status epileptikus modellerinde, lokal nöronların aktivasyonunun astrositlere kalsiyum geçişini artırdığı ve astrositlerde kalsiyuma bağlı sinyallerin günlerce artmış olarak kaldığı gösterilmiştir (Purnell ve ark., 2023). Astrositik Ca^{+2} 'daki bu artışlar nöronal hücre ölümü ile

ilişkilidir ve bu hücre ölümü astrositik glutamat sinyaline farmakolojik müdahale ile önlenir. Fenitoin, valproik asit ve gabapentin gibi yaygın olarak kullanılan nöbet önleyici ilaçlar, nöbetler sırasında astrositik Ca^{+2} sinyalini baskılayarak etki gösterir (Tian ve ark., 2005). Bu ajanların terapötik faydalarının bir kısmının hücre içi kalsiyum artışına bağlı gerçekleşen gliotransmisyonun engellenmesinin aracılık ettiği düşünülmektedir (Tian ve ark., 2005).

3.2.3. Klor

Beynin ana inhibitör nörotransmitteri olan GABA'nın GABAA reseptörleri (GABAAR) iyon kanalı reseptörleridir ve açıldığında hücre içine Cl^- girişine izin verir. Hücre içine Cl^- girişi ekstraselüler sıvı ve hücre içi sıvının konsantrasyon farkına bağlıdır. Bu nedenle hücre içi Cl^- un ve ekstraselüler Cl^- konsantrasyonunun belli aralıklarda tutulması önemlidir. $Na^+-K^+-2Cl^-$ kotransporter (NKCC1) hücre içine Cl^- alınmasında; K^+-Cl^- kotransporter (KCC2) hücre dışına Cl^- atılmasında etkili iki taşıyıcıdır. KCC2 mutasyonlarının ve KCC2 fonksiyon kaybının epilepsi riskini artırdığı bilinmektedir (Doyon, Vinay, Prescott, & De Koninck, 2016). Glutamat, KCC2 proteininin fosforilasyonuna neden olabilir ve ardından KCC2'nin membran ekspresyonunu azaltabilir (Doyon ve ark., 2016). Hücre içi Cl^- birikmesi GABAAR'ın ters potansiyelinde depolarize edici bir kaymaya neden olarak inhibe edici aktivitesini azaltır, dolayısıyla aşırı uyarılabilirliğe katkıda bulunur (Doyon ve ark., 2016).

3.2.4. Su

Su, ekstraselüler sıvının iyonik kompozisyonunu ve hacmini etkilediğinden, epilepsi ile de ilişkilidir. Tek başına ekstraselüler sıvı hacminin, nöbet duyarlılığını ve epileptojenezi değiştirmek için yeterli olduğu gösterilmiştir (Hochman, 2012). Astrositlerde suyun taşınmasını sağlayan kanallar aquaporin (AQP) 4'tür ve en çok subaraknoid ve ventriküler boşluklarla birlikte kan damarlarına bitişik glial hücrelerde perivasküler uç ayaklarda yoğunlaşır (Papadopoulos & Verkman, 2013). AQP4 ve Kir 4.1'in astrosit uç ayaklarında kolokalize bulunur. AQP4 ekspresyonunun azalması ya da kanalın yanlış yerleşiminin, sinaptik K^+ klirensinin azalması, K^+ tamponlama işlevinin bozulması ve şiddetli ve uzamış nöbetlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Patel ve ark., 2019).

Suyun AQP4 kanallarından geçişi ve bunun sonucunda astrositlerin kasılması veya genişlemesi, hücre dışı alanın hacmini değiştirebilir, Nöbetlerin kendisi de hücre dışı alanın hacmini azaltır. Hücre dışı alanın hacmindeki değişiklikler nöronal uyarılabilirliği değiştirir ve hücre dışı alandaki azalmalar prokonvülsan olur (Hochman, 2012).

3.3. Sinaps

Epilepsinin nöral devrelerin kronik olarak değiştiği bir hastalık olduğuna dair çok sayıda kanıt bulunmaktadır (Kandel, 2021). Bu devreler nöronlar arasındaki sinapslarla oluşur. Glial hücreler sinaptojenез, sinaptik budama ve sinaptik olgunlaşma gibi uzun vadeli süreçleri düzenleyerek ve gliotransmitter salgılayarak sinaptik yapı ve işlevi etkiler (Eroglu & Barres, 2010).

Sinaptik yapılar, sinaptik sinyaller ve astrositler arasındaki yapısal ve işlevsel etkileşimler 'üçlü sinaps' kavramını ortaya çıkmıştır (Eroglu & Barres, 2010). Astrositlerin sinapsın yapısını etkilemek, nörotransmitterlerin geri alımını ve yeniden kullanımını sağlamak ve kendi gliotransmitterlerinin salınımı yoluyla sinaptik boşluğun içeriğini değiştirme ve böylece nöronların aktivitesini modüle etme ve ince ayar yapma konusunda benzersiz bir yeteneğe sahip olduğu gösterilmiştir.

Sinaps gelişimi ve aktiviteye bağlı budama ile ilgili glial moleküller vardır. Bunlar arasında BDNF, kolesterol, trombospondinler (TSP'ler), östradiol, protokadherinler, integrinler, efrinler, glipikanlar, dönüştürücü büyüme faktörü- β ve hevin bulunmaktadır (Verkhatsky & Nedergaard, 2018). Astrositlerden gelen sinaps oluşumunu indükleyen sinyallerin TSP'ler olarak adlandırılan bir hücre dışı matris proteinleri ailesinden olduğu tespit edilmiştir (Eroglu & Barres, 2010). TSP'ler öncelikle gelişmekte olan beyinde ifade edilir ve ardından downregüle olur. Bununla birlikte, MSS hasarından sonra reaktif astrositler aşırı TSP salgılar. Bu TSPlerin, nöronal devreyi değiştirerek epileptiform aktivite oluşturabilecek şekilde anormal sinaptogenezi teşvik eden, yardımcı bir kalsiyum kanalı alt birimi olan $\alpha 2\delta 1$ ile etkileşime girdiği gösterilmiştir (Eroglu & Barres, 2010). Gabapentin, epileptojenik donma lezyonunu takiben epileptiform aktiviteyi zayıflatarak TSP ve $\alpha 2\delta 1$ arasındaki etkileşimi bozar, bu da reaktif astrositle tetiklenen anormal sinaptogenezin nörogelişim bozukluğuyla ilişkili epilepside potansiyel bir ağ aşırı uyarılabilirlik mekanizması olabileceğini düşündürür (Eroglu & Barres, 2010).

Astrositler N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDAR) koagonisti D-serinin salınımı yoluyla uzun vadeli güçlenmeyi (long-term potentiation) kontrol edebilir (Eroglu & Barres, 2010). Sinaptik plastisitenin bu şekilde astrositik regülasyonu, fizyolojik koşullarda öğrenme ve hafızayı desteklerken epilepside ağ uyarılabilirliği etkileyebilir.

Astrosit tarafından salınan moleküller, sinaptik gücün düzenlenmesi için de önemlidir. Örneğin, glial türevli tümör nekroz faktörü (TNF), glutamat ve GABAAR'ların postsinaptik membranlara geçişini düzenler, (Verkhratsky & Nedergaard, 2018). Gelişmekte olan inhibitör sinapslarda presinaptik ve postsinaptik farklılaşma ve GABAAR ekspresyonunun düzenlenmesi de astrosit salımlı moleküller tarafından modüle edilebilir (Eroglu & Barres, 2010).

Gliaların sinaptik düzenlemesinin nöronal ağa etkisi büyük olduğu halde nöbetlerle doğrudan ilişkisi gösteren çalışmalar çok azdır. Nöbetlerin sık görüldüğü Fragil X sendromu, Rett sendromu, bazı hastalıklarda anormal dentritik morfolojiye rastlanmıştır (Patel ve ark., 2019).

3.3.1. Nörotransmitterler

Astrositlerin normal beyin fizyolojisindeki en önemli rollerinden biri nöronal olarak salınan glutamatın metabolizmasıdır. Astrositler, sinaptik aralıktan glutamat salınımı veya alımı yoluyla glutamat homeostazını korur, böylece nöronal fonksiyona ince ayar yapar ve glutamat eksitotoksitesini önler.

Astrositler glutamata 2 elektrojenik uyarıcı aminoasit taşıyıcı (EATT) aracılığıyla hücre içine alır: EAAT1 ve EAAT2. Bu taşıyıcılar işlevini bir glutamat ile birlikte 2 Na⁺ iyonunu hücre içine ve bir K⁺ iyonunu hücre dışına taşıyarak yapar (Vandenberg & Ryan, 2013). EAAT 1 öncelikle gelişim sırasında erken dönemde ifade edilirken, EAAT 2 yetişkin beynindeki başlıca astrosit spesifik glutamat taşıyıcısıdır. EAAT 1 ve EAAT 2'nin kemirgen versiyonları glutamat aspartat taşıyıcı (GLAST) ve glutamat taşıyıcı 1 (GLT 1) olarak bilinir (Vandenberg & Ryan, 2013). Bu taşıyıcılar iki yönlü çalıştığından hücre içine alınan glutamat parçalanmalıdır. Hücre içi glutamatın bir kısmı glutamat dehidrojenaz yoluyla α -ketoglutarata dönüştürülerek parçalanır, glutamatın büyük bir kısmı glutamin sentetaz (GS) yolu ile glutamine dönüştürerek nöronların tekrar glutamat sentezi için kullanımına olanak sağlar

(Shen, Pristov, Nobili, & Nikolic, 2023). Bu dönüşüm glutamat-glutamin döngüsü olarak adlandırılır.

Glutamin astrositlerden hücre dışı boşluğa salınır ve ekzositoz olayları sırasında tekrar salınacak olan glutamat veya GABA gibi nörotransmitterlerin sentezi için bir öncü olarak kullanılır. Bu nedenle astrositlerin inhibitör ve eksitatör nöronları dengeli bir şekilde beslemesi önemlidir. Kalan glutamin daha sonra ATP üretimi için bir substrat olarak kullanılan α -ketoglutarata metabolize edilir (Vandenberg & Ryan, 2013).

GLT 1 nakavt farelerin şiddetli spontan nöbetler sergilediği oysa glial GLT 1'i aşırı eksprese eden farelerin pilokarpine indüklenen epilepsi modelinde, epilepsiye dirençli olduğu bulguları gösterilmiştir (Patel ve ark., 2019). Meziyal temporal lob epilepsili bireylerin hipokampusünde GS'nin ekspresyonunda ve enzimatik aktivitesinde önemli bir azalma gözlenmiştir (Eid ve ark., 2004).

3.3.2. Gliotransmisyon

Astrositler nöronlardan salgılanan nörotransmitter veya nöromodülatör olarak görev yapan glutamat, ATP ve adenozin gibi molekülleri salgılayabilir (Patel ve ark., 2019).

Astrositler veziküler glutamat salınımı için gerekli tüm bileşenleri ifade eder ve gerçekten de Ca^{+2} bağımlı glutamat yüklü veziküllerin salınımı in vitro ve in vivo olarak belgelenmiştir (Purnell ve ark., 2023). Astrositlerin bu salgıları doğrudan nöronal uyarılabilirliği etkileyerek epileptojenezde katkıda bulunabilir, sinaptik plastisiteyi etkileyebilir, GABAerjik nörotransmisyonun düzenlenmesine katkı sağlayabilir ve nöronlarda yavaş içe doğru akımların oluşturulması gibi birçok etki ortaya koyabilir (Patel ve ark., 2019).

Astrosit kaynaklı tümörlerde (glioma), hastaların %70'inden fazlası teşhisten önce nöbetler geçirir (van Breemen ve ark., 2009). Hem tümör taşıyan farelerde hem de insanlarda, glioma'lı bireylerin çoğunda sistem Xc adı verilen sistin-glutamat antiportörünün upregüle olduğu saptanmıştır (Patel ve ark., 2019). Bu taşıyıcı glutatyon sentezi için gerekli olan sistini hücre içine taşıırken glutamatı hücre dışına salar. Zorunlu glutamat salınımı, hücre dışı glutamatın kronik olarak yükselmesine yol açar, bu da çevredeki nöronlarda eksitotoksisteye neden olur. Bunun dışında gliomadan salgılanan matriks metaloproteinazlar, etraflarındaki perinöral ağların kılıfını parçalar, bu da

GABAerjik internöronların tercihli ölümüne neden olur (Patel ve ark., 2019). Sonuç olarak uyarıcı dürtüdeki artış ve inhibitör dürtüdeki azalma, sonunda spontan elektrografik ve davranışsal nöbetlere yol açar.

En az iki çalışma, temporal lob epilepsisinin kemirgen modellerinde reaktif astrositlerin aşırı GABA ürettiğini ve saldığını, bunun da uyarıcı nöronlarda tonik GABAAR aracılı akımları aktive ettiğini ve böylece nöbet eşiklerini düşürdüğünü göstermektedir (Purnell ve ark., 2023).

ATP astrositlerden salınan önemli gliotransmitterdir. ATP doğrudan presinaptik ve postsinaptik P2 reseptörlerini aktive edebilir, ya da adenosine ardışık defosforilasyonundan sonra adenosin reseptörlerinin aktivasyonuna yol açabilir. Epilepsi hastalarında ve hayvan modellerinde P2 reseptör ekspresyonu artmıştır (E. Dogan ve ark., 2020). Adenosin A1 reseptörü (A1R), endojen bir nöbet sonlandırıcı olan adenosinin antiepileptik etkilerine aracılık eder (Beamer, Kuchukulla, Boison, & Engel, 2021). Genel olarak, ATP ve adenosin epilepside zıt roller oynar (Beamer ve ark., 2021).

Adenosin, A1R aracılı sinaptik inhibisyon ve nöroprotektif etkileri nedeniyle endojen bir antikonvulsan olarak geniş çapta kabul görmüştür. Astrosit tarafından salınan ATP, ekstraselüler sıvıda hızla adenosine parçalanır ve ardından astrositik nükleozid taşıyıcıları tarafından temizlenir ve ağırlıklı olarak astrositlerde eksprese edilen adenosin kinaz (ADK) tarafından fosforile edilir (Boison, 2016). ADK, hücre dışı adenosin seviyelerini belirlediğinden, ADK ekspresyonundaki herhangi bir değişiklik, adenosin seviyelerini sınırlayabilir ve buna bağlı olarak antikonvulsif ve nöroprotektif fonksiyonlarını azaltabilir (Boison, 2016). ADK aşırı ekspresyonu, astrogliazis veya başka herhangi bir epileptojenik olay yokluğunda bile nöbetleri tetiklemek için yeterlidir (Boison, 2016). Epilepside olası bir ADK disfonksiyonu, reaktif astrositlerde güçlü aşırı ADK ekspresyonu gösteren hayvan ve insan epilepsilerinde görülmüştür, bu da adenosin eksikliğinin nöbetlere katkıda bulunan bir faktör olduğunu düşündürür (Aronica ve ark., 2011). Bu bulgular, geleneksel antiepileptik ilaçlara dirençli olanlar da dahil olmak üzere çok çeşitli epilepsi modellerinde nöbetleri azalttığı bildirilen A1R agonistleri veya ADK inhibitörleri kullanılarak adenosin takviyesi yoluyla terapötik bir yaklaşımı desteklemektedir (Boison, 2016).

3.4. Enerji Homeostazi

Nöronlar GLUT3 yoluyla glukoz alır. Nöronlar glikozu oksidatif fosforilasyonla yıkar, ancak yüksek mitokondriyal aktivitelerinden kaynaklanan oksidatif strese karşı koymak için gerekli redoks durumunu korumak için ağırlıklı olarak pentoz fosfat yolunu kullanır (Patel ve ark., 2019).

Astrositler glikoz taşıyıcı 1 (GLUT1) yoluyla glikoz alır ve daha çok glikoliz yolunu kullanır. Üretilen piruvat, laktat dehidrojenaz 5 (LDH5) tarafından laktata dönüştürülür (Patel ve ark., 2019). Nöronlarda aktivite artışı enerji ihtiyacını oluşturur. Böyle durumlarda astrositlerde oluşan laktatlar LDH1 tarafından piruvata dönüştürülür ve monokarboksilat taşıyıcılar aracılığıyla nöronlara taşınır (Patel ve ark., 2019). Bu yol astrosit nöron laktat mekiği (ANLS) olarak adlandırılır. Astrositler glikojeni depolar ve uzun süreli nöronal aktivite sırasında nöronların yüksek enerji talebini karşılayabilmek için glikolizi artırarak ve ANLS yolu ile nöronları destekleyebilir. AMP aktive protein kinazın (AMPK) bir enerji sensörü olarak görev yaptığı ve hem astrositik glikolizin hem de astrositten nörona laktat mekiğinin çalışmasını denetlediği gösterilmiştir (Muraleedharan ve ark., 2020). AMPK nakavt farelerde laktatın tükendiği ve nöbet yoğunluğunun azaldığı bulunmuştur; ancak, astrositlerde AMPK'nın hücre tipi seçici olarak bozulması nörodejenerasyonu teşvik ettiği gösterilmiştir (Muraleedharan ve ark., 2020). Bu nedenle, astrositler normal uyarma-inhibisyon dengesinin korunmasında çok önemlidir.

3.5. Kan Beyin Bariyeri

KBB, beyindeki kılcal damarları saran, sıkıca birleşmiş endotel hücrelerinden oluşan bir iç tabakadan oluşur. Bu endotel hücreleri de perisitler ve astrositlerin uç kısımları ile çevrilidir. Nöbetler sırasında kan-beyin bariyerinin aşırı geçirgenliğinde astrosit işlev bozukluğunun potansiyel rolüne ek olarak, perivasküler astrositlerdeki patolojik değişiklikler, çoklu ilaç taşıyıcıları ve çoklu ilaç direnci proteinlerini aşırı eksprese ederek nöbet önleyici ilaçların beyne nüfuz etmesini olumsuz etkileyebilir (Purnell ve ark., 2023).

Edinilmiş epilepsi formları her zaman bozulmuş bir KBB ile bazal membran bütünlüğünün bozulması da bulunur ve KBB'nin bozulması epilepsinin ilerlemesine katkıda bulunur. Bununla birlikte, bu geçirgenlik artışı

bazı moleküller için diğerlerine göre daha belirgin olabilir (Kang ve ark., 2013; Purnell ve ark., 2023). KBB bozulması, beyni, en önemlisi albümin olmak üzere, istilacı bağışıklık sistemi hücrelerine ve serum bileşenlerine maruz bırakır. Albüminin beyne doğrudan uygulanması astrogliozise, epileptik odak gelişimine ve hücre dışı glutamat ve potasyumun temizlenmesinde azalmaya neden olur (Purnell ve ark., 2023). Albümin tek başına astrositlerdeki TGF β reseptörlerini aktive ederek nöronal aşırı uyarılabilirliği tetikleyebilir, bu da Kir4.1 kanallarının, glutamat taşıyıcıların ve gap junction proteinlerinin ekspresyonunun azalmasıyla sonuçlanır (Patel ve ark., 2019). TGF β ayrıca AQP4'ün geçirgenliğini ve yüzey ifadesini de değiştirir, bu da bozulmuş K⁺ ve glutamat tamponlama ile sonuçlanır (Patel ve ark., 2019). TGF β sinyalinin aktivasyonu ayrıca anormal nörojenezi, artan uyarıcı sinaptogenezi ve nöronlarda ve diğer çevre hücrelerde eksitotoksik hasara neden olan proinflatuar moleküllerin astrositlerden salınmasını da indükler (Patel ve ark., 2019).

4. TEDAVİ SEÇENEKLERİ

Ketojenik diyet gibi stratejiler glikoz alımının kısıtlanması yoluyla dirençli nöbetlerin kontrolünde sıklıkla başarılı bir şekilde kullanılır (Gano, Patel, & Rho, 2014). Nöbet kaynaklı laktat oluşumunun epileptik nöbetleri teşvik ettiği düşüncesi doğrultusunda, FDA onaylı stiripentol gibi laktat dehidrojenaz inhibitörleri kullanılır ve güçlü antikonvülsan etkileri vardır (Sada, Lee, Katsu, Otsuki, & Inoue, 2015). Bunların dışında gelecek tedaviler, TSP, ADK, AQP4, Kir4.1, A1R, P2Y reseptörleri, GS, EAAT1, EAAT2, inflamatuvar sitokinler ve trombospondinleri hedef alabilir (Shen ve ark., 2023). Bu tedaviler yaşam tarzı değişikliği, özel diyetler, farmakoterapiler, kök hücre tedavisi ve gen terapisi şeklinde olabilir (C. Dogan, 2021).

KAYNAKÇA

- Aronica, E., Zurolo, E., Iyer, A., de Groot, M., Anink, J., Carbonell, C., . . . Gorter, J. A. (2011). Upregulation of adenosine kinase in astrocytes in experimental and human temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 52(9), 1645-1655. doi:10.1111/j.1528-1167.2011.03115.x
- Beamer, E., Kuchukulla, M., Boison, D., & Engel, T. (2021). ATP and adenosine-Two players in the control of seizures and epilepsy development. *Prog Neurobiol*, 204, 102105. doi:10.1016/j.pneurobio.2021.102105
- Boison, D. (2016). Adenosinergic signaling in epilepsy. *Neuropharmacology*, 104, 131-139. doi:10.1016/j.neuropharm.2015.08.046
- Dogan, C. (2021). Genom Düzenleme ve Tedavilerin Geleceği. In C. Ozlu (Ed.), *Inovatif Tip* (pp. 205-214). Turkey: Akademisyen Yayınevi
- Dogan, E., Aygun, H., Arslan, G., Rzayev, E., Avci, B., Ayyildiz, M., & Agar, E. (2020). The Role of NMDA Receptors in the Effect of Purinergic P2X7 Receptor on Spontaneous Seizure Activity in WAG/Rij Rats With Genetic Absence Epilepsy. *Front Neurosci*, 14, 414. doi:10.3389/fnins.2020.00414
- Doyon, N., Vinay, L., Prescott, S. A., & De Koninck, Y. (2016). Chloride Regulation: A Dynamic Equilibrium Crucial for Synaptic Inhibition. *Neuron*, 89(6), 1157-1172. doi:10.1016/j.neuron.2016.02.030
- Eid, T., Thomas, M. J., Spencer, D. D., Runden-Pran, E., Lai, J. C., Malthankar, G. V., . . . de Lanerolle, N. C. (2004). Loss of glutamine synthetase in the human epileptogenic hippocampus: possible mechanism for raised extracellular glutamate in mesial temporal lobe epilepsy. *Lancet*, 363(9402), 28-37. doi:10.1016/s0140-6736(03)15166-5
- Eroglu, C., & Barres, B. A. (2010). Regulation of synaptic connectivity by glia. *Nature*, 468(7321), 223-231. doi:10.1038/nature09612
- Gano, L. B., Patel, M., & Rho, J. M. (2014). Ketogenic diets, mitochondria, and neurological diseases. *J Lipid Res*, 55(11), 2211-2228. doi:10.1194/jlr.R048975
- Heuser, K., Nome, C. G., Pettersen, K. H., Abjorsbraten, K. S., Jensen, V., Tang, W., . . . Enger, R. (2018). Ca²⁺ Signals in Astrocytes Facilitate Spread of Epileptiform Activity. *Cereb Cortex*, 28(11), 4036-4048. doi:10.1093/cercor/bhy196
- Hinterkeuser, S., Schroder, W., Hager, G., Seifert, G., Blumcke, I., Elger, C. E., . . . Steinhauser, C. (2000). Astrocytes in the hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy display changes in potassium conductances.

- Eur J Neurosci, 12(6), 2087-2096. doi:10.1046/j.1460-9568.2000.00104.x
- Hochman, D. W. (2012). The extracellular space and epileptic activity in the adult brain: explaining the antiepileptic effects of furosemide and bumetanide. *Epilepsia*, 53 Suppl 1(Suppl 1), 18-25. doi:10.1111/j.1528-1167.2012.03471.x
- Kandel, E. R. K., John D.; Mack, Sarah H.; Siegelbaum, Steven A. . (2021). *Principles of Neural Science* (6th ed.). United States: McGraw Hill.
- Kang, E. J., Major, S., Jorks, D., Reiffurth, C., Offenhauser, N., Friedman, A., & Dreier, J. P. (2013). Blood-brain barrier opening to large molecules does not imply blood-brain barrier opening to small ions. *Neurobiol Dis*, 52, 204-218. doi:10.1016/j.nbd.2012.12.007
- Kofuji, P., & Newman, E. A. (2004). Potassium buffering in the central nervous system. *Neuroscience*, 129(4), 1045-1056. doi:10.1016/j.neuroscience.2004.06.008
- Kucheryavykh, Y. V., Kucheryavykh, L. Y., Nichols, C. G., Maldonado, H. M., Baksi, K., Reichenbach, A., . . . Eaton, M. J. (2007). Downregulation of Kir4.1 inward rectifying potassium channel subunits by RNAi impairs potassium transfer and glutamate uptake by cultured cortical astrocytes. *Glia*, 55(3), 274-281. doi:10.1002/glia.20455
- Muraleedharan, R., Gawali, M. V., Tiwari, D., Sukumaran, A., Oatman, N., Anderson, J., . . . Dasgupta, B. (2020). AMPK-Regulated Astrocytic Lactate Shuttle Plays a Non-Cell-Autonomous Role in Neuronal Survival. *Cell Rep*, 32(9), 108092. doi:10.1016/j.celrep.2020.108092
- Papadopoulos, M. C., & Verkman, A. S. (2013). Aquaporin water channels in the nervous system. *Nat Rev Neurosci*, 14(4), 265-277. doi:10.1038/nrn3468
- Patel, D. C., Tewari, B. P., Chaunsali, L., & Sontheimer, H. (2019). Neuron-glia interactions in the pathophysiology of epilepsy. *Nat Rev Neurosci*, 20(5), 282-297. doi:10.1038/s41583-019-0126-4
- Purnell, B. S., Alves, M., & Boison, D. (2023). Astrocyte-neuron circuits in epilepsy. *Neurobiol Dis*, 179, 106058. doi:10.1016/j.nbd.2023.106058
- Sada, N., Lee, S., Katsu, T., Otsuki, T., & Inoue, T. (2015). Epilepsy treatment. Targeting LDH enzymes with a stiripentol analog to treat epilepsy. *Science*, 347(6228), 1362-1367. doi:10.1126/science.aaa1299
- Shen, W., Pristov, J. B., Nobili, P., & Nikolic, L. (2023). Can glial cells save neurons in epilepsy? *Neural Regen Res*, 18(7), 1417-1422. doi:10.4103/1673-5374.360281

- Tian, G. F., Azmi, H., Takano, T., Xu, Q., Peng, W., Lin, J., . . . Nedergaard, M. (2005). An astrocytic basis of epilepsy. *Nat Med*, 11(9), 973-981. doi:10.1038/nm1277
- van Breemen, M. S., Rijsman, R. M., Taphoorn, M. J., Walchenbach, R., Zwinkels, H., & Vecht, C. J. (2009). Efficacy of anti-epileptic drugs in patients with gliomas and seizures. *J Neurol*, 256(9), 1519-1526. doi:10.1007/s00415-009-5156-9
- Vandenberg, R. J., & Ryan, R. M. (2013). Mechanisms of glutamate transport. *Physiol Rev*, 93(4), 1621-1657. doi:10.1152/physrev.00007.2013
- Verkhatsky, A., & Nedergaard, M. (2018). Physiology of Astroglia. *Physiol Rev*, 98(1), 239-389. doi:10.1152/physrev.00042.2016

BÖLÜM 7

İNSULAR KORTEKSİN FİZYOPATOLOJİSİ

Doç. Dr. Ali ASLAN ¹
Dr. Feyza DOĞAN ²

¹ Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.
draslan@yahoo.com, Orcid ID: 0000-0002-9674-5618

² Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.
drfeyzadogan@gmail.com, Orcid ID: 0000-0001-9495-0418

GİRİŞ

İnsular korteks (İC), serebral korteksin bir parçasıdır. Lateral sulcusun, bir diğer ismiyle Sylvian fissürünün derininde yer alır. “İnsula” Latin dilinde “ada” anlamına gelir. İC, ilk olarak Alman doktor Johann Chrstian Reil tarafından keşfedilmiş (1809) ve Gray's Anatomy'nin (1858) ilk baskısında "Reil Adası" olarak da adlandırılmıştır (Reil, 1809; Fusar-Poli ve ark., 2009).

İC, “ada” kelimesinin çağrıştırdığı şekilde izole bir beyin bölgesi de değildir. Bu telensefalik yapı; serebral korteks, limbik yapılar, bazal ganglionlar ve otonomik sistemi de içeren karmaşık nöronal devrenin bir parçasıdır. Bununla birlikte İC, kritik beyin yapılarının komşuluğunda yer almaktadır. Bu bölgelerden kaynaklanan patolojiler önemli nörolojik morbidite ve hatta mortalite sebebidir. Tüm bu özellikleri İC’yi temel ve klinik nörofizyolojik araştırmaların konusu haline getirmektedir (Gogolla, 2017; Nieuwenhuys, 2012).

Erişimi zorlaştıran anatomik pozisyonu ve izole lezyon sıklığının düşük olması nedeniyle İC, insanlarda en az anlaşılan beyin bölgelerinden biri olsa da günümüzde, nörogörüntüleme çalışmalarının ilgi odağında yer almaktadır. Buna paralel olarak İC’yi, birçok psikiyatrik ve nörolojik bozuklukta etkilenen merkezi bir bölge olarak tanımlayan fonksiyonel görüntüleme çalışmalarının sayısı da gün geçtikçe artmaktadır (Gogolla, 2017; Isnard ve ark.,2004).

İC’nin işlevsel mikro devrelerini incelemek için kullanılan modern teknolojiler ile oluşturulan hayvan modelleri, duyguların ve güdülenmiş davranışların altında yatan nöronal mekanizmaları ortaya çıkarmaya olanak sağlamaktadır (Gogolla, 2017).

Bu bölümde az bilinen bir beyin bölümü olan İC’nin karmaşık ve gizemli rolünün; fizyoanatomisi, işlevsel bağlantıları, ağrı ve depresyon, epilepsi, şizofreni, anksiyete ve riskli karar verme davranışı, tat duyusu ve iştah gibi alt başlıklar halinde ele alınarak daha iyi anlaşılması amaçlanmıştır.

1. İNSULAR KORTEKS FİZYOANATOMİSİ

Reil adası; temporal, parietal ve frontal operkül tarafından tamamen kaplanmış konumdadır. Beyin hemisferindeki derin yerleşimine rağmen, kortikal bir yapı olarak kabul görür (Waxman, 2016). İC, lateral fissürün üst ve alt kısımları birbirinden ayrıldığında ancak görünür hale gelir. Tüm kortikal yüzey alanının yaklaşık %2’lik kısmını oluşturur (Kortz ve Lillehei, 2022).

İC, anatomik olarak santral insular sulcus tarafından arka ve ön lobüllere ayrılabilir; fonksiyonel olarak üç farklı alan içerir. Bunlar anterior "agranüler", orta "disgranüler" ve posterior "granüler" bölümlerdir (Benarroch, 2019). Agranüler ve granüler terimleri, sırasıyla, granüllü hücre tabakasının yokluğunu ve varlığını anlatmaktadır. Orta insular bölge, oldukça az granül

hücresi içerdiğinden disgranüler olarak adlandırılmaktadır (Mesulam ve Mufson, 1985; Mufson ve ark., 1997).

Anterior agranüler bölge; amigdala, posterior orbitofrontal ve anterior singulat korteks (ASK) gibi limbik yapılarla bağlantılıdır. Nörogörüntüleme çalışmaları ile bu bölgelerin “kişisel duygusal” ve sosyoemosyonel görevler sırasında güçlü bir şekilde aktive oldukları gösterilmiştir (Nieuwenhuys, 2012).

İnsanda Anterior İnsular Korteks (AİC), diğer tüm primat türleri ile karşılaştırıldığında, insulanın geri kalanından orantısız bir şekilde daha büyüktür (Bauernfeind ve ark., 2013). AİC'nin dikkat çeken özelliği; beşinci katmanında, “von Economo Nöronları” (VEN) olarak adlandırılan, çok sayıda ve büyük iğ şeklinde özel projeksiyon nöronları içermesidir (Economo, 1926; Allman ve ark., 2011). VEN'ler ilk olarak İspanyol patolog Ramón y Cajal tarafından not edilmiş ve 1920'lerde ise Avusturyalı psikiyatrist Constantin von Economo tarafından resmen tanımlanmıştır (Gogolla, 2017). VEN'ler özellikle agranüler bölgede yoğunlaşırken aynı zamanda disgranüler bölgenin ön kısmına doğru da uzanır (Morel ve ark., 2013). Bu ayırt edici hücre tipinin kesin işlevi bilinmemekle birlikte VEN'lerin frontotemporal demansta azalması; empati, sosyal farkındalık ve öz kontrol ile ilgili olduklarını düşündürmektedir. VEN'lerin ileri sosyalleşme becerileri olan hayvanlara özgü bir hücre tipi olduğu da bilinmektedir (Allman ve ark., 2011; Gogolla, 2017).

VEN'ler, kontralateral AİC'ye, ipsilateral ASK'ye ve özellikle periakvaduktal gri madde ve parabrakial çekirdekler dahil olmak üzere visseral duyu ve otonomik kontrolle ilgili beyin sapı çekirdeklerine projekte olur (Evrard, 2019). Bu nöronal projeksiyonlar, beyindeki bilgi akışının taşıyıcısıdır (Zhou ve ark., 2022).

2. DUYUSAL VE LİMBİK BAĞLANTILAR

İC; duyu, duygusal, motivasyonel ve bilişsel işlevlere hizmet eden hem kortikal hem subkortikal beyin bölgeleriyle yoğun bağlantıları olan anatomik bir entegrasyon merkezidir (Gogolla, 2017).

Maymunlarda yapılan deneysel nöroanatomik çalışmalar, İC'nin dorsal talamustan ve çeşitli duyu kortikal alanlardan afferent bağlantılar aldığını göstermiştir. İC'nin, karşılıklı olarak amigdala ile ve aynı zamanda birkaç limbik ve birleştirici kortikal alanla da bağlantılı olduğu bilinmektedir (Mesulam ve Mufson, 1985; Mufson ve ark., 1997.; Augustine, 1996).

Maymunlar üzerinde yapılan çalışmalarda, İC'ye uzanan talamik projeksiyonlar incelendiğinde, İC üst katmanının önden arkaya doğru sırasıyla; tat alma, genel visserosensör, somatosensoryel (ağrı ve sıcaklık) ve vestibüler olmak üzere dört birincil duyu alan içerdiği saptandı. Bununla birlikte olfaktor prepiriform korteks gibi diğer kortikal alanlardan gelen duyu projeksiyonların AİC'de sonlandığı bildirildi (Nieuwenhuys, 2012).

Craig, çok miktardaki deneysel nöroanatomik, fizyolojik, klinik ve nörogörüntüleme verilerini sentezleyerek İC'nin işleyişine ait tutarlı bir tablo oluşturdu. Buna göre İC'nin anterior, orta ve posterior bölümleri üç farklı entegrasyon seviyesini temsil etmektedir. Soliter nükleustan ve lamina I spinal nöronlardan gelen ve vücudun fizyolojik durumuyla ilgili içsel algımızı oluşturan afferentler, ilk olarak birincil somatosensöriyel kortekste değil, posterior İC'de sonlanmaktadır. Orta insula, posterior insuladan gelen interoseptif bilginin yeniden temsil edildiği ve diğer birçok kaynaktan gelen girdilerle ilişkilendirildiği polimodal bütünleştirici bir bölge olarak düşünülmektedir. Bu şekilde toplanan bilgilerin AİC'ye iletildiği ve orada bir kez daha birçok kaynaktan gelen yeni bilgi türleri ile bütünleştirildiği sanılmaktadır (Craig, 2002; 2009; 2010; 2011).

Nörogörüntüleme çalışmaları, duyuşsal hisler yaşayan deneklerde AİC ve ASK'nin sıklıkla ortaklaşa aktive edildiğini göstermektedir. AİC ve ASK'nin, somatosensör ve somatomotor kortekslerle benzer bir şekilde birlikte çalışan tamamlayıcı limbik duyuşsal ve motor sistemler olarak hizmet etmesi muhtemel görünmektedir. İçerdikleri VEN'ler de dahil olmak üzere AİC ve ASK, yetişkin insanlarda tüm zihinsel aktivite ve davranışlara rehberlik eden bir çekirdek kontrol ağına ait bileşenlerdir (Craig, 2009; 2010; 2011).

3. İNSULAR KORTEKS VE BİLİNÇ

Beyindeki “yürütme faaliyetlerinin” kontrolü, dağınık halde bulunan beyin devrelerinin entegrasyonunu gerektiren, oldukça karmaşık ve üst düzey bilişsel bir işlemdir. AİC'nin, diğer beyin bölgeleri ve ağları üzerinde adeta bir bekçi gibi konumlandığı; yürütme süreçlerinde çok önemli roller üstlendiği düşünülmektedir. İC, geniş fizyoanatomik bağlantı ağı ile üst düzey kontrol işlevlerini başlatmada öne çıkan bir beyin merkezidir. Hem dışsal hem içsel duyuşsal uyarıların öncelik sırasına koyulmasında ve bütünleştirilmesinde etkinliği bulunmaktadır (Molnar ve Uddin, 2022).

Koubeissi ve ark.'nın vaka çalışmasında, AİC ve claustrum mikro stimülasyonlarının bilinç durumlarını anında değiştirebileceği gösterildi. Bu sonuçla AİC'nin bilince hizmet eden bir ağıın önemli parçası olduğu fikri desteklendi (Koubeissi ve ark., 2014).

Huang ve ark. yaptıkları bir nörogörüntüleme çalışmasında, anterior insula'nın duyuşsal bilgiye bilinçli erişim için bir kapı görevi gördüğünü buldular (Huang ve ark., 2021).

4. İNSULAR KORTEKS VE İÇ ALGI KAVRAMI

“İç algı” olarak kısaca özetlenebilen “interosepsiyon” kavramı; sinir sisteminin vücuttan gelen sinyalleri algılaması, yorumlaması, bütünleştirmesi ve hem bilinçli hem bilinçsiz seviyelerde vücudun iç manzarasının an be an haritalanmasını sağlayan bir süreci ifade eder. İnteroseptif sinyalizasyon; sağlıklı fizyolojik bir işleyişle homeostazın sürdürülmesi için gereklidir. İnteroseptif disfonksiyon; anksiyete bozuklukları, duygudurum bozuklukları, yeme bozuklukları, bağımlılık bozuklukları ve somatik semptom bozuklukları dahil olmak üzere farklı ruh sağlığı durumlarının önemli bir bileşeni olarak giderek daha fazla tanınmaktadır (Khalsa, ve ark., 2018).

Posterior insula, içsel ve dışsal ipuçlarına davranışsal tepkilere aracılık etmek için duyuşsal ve motor bilginin bütünleştirilmesinde önemli bir rol oynarken (Jones ve Critchley, 2010; Deen ve ark., 2011); İC'nin ön kısmı, afektif deneyimin bilinçli bir değerlendirmesini yaratmak için posterior insula'dan gelen bu duyuşsal ve interoseptif geri bildirim aynı uyaranlara verilen bilişsel ve duyuşsal tepkilerle bütünleştirme işlevi görür (Craig, 2009).

5. İNSULAR KORTEKS VE TAT DUYUSU-İŞTAH

Gıdanın besleyici içeriğini değerlendirmek, temel iştah davranışlarına rehberlik etmek, toksik maddelerin alımını önlemek ve sağlıklı bir diyetin sürdürülmesine yardımcı olmaktan sorumlu olan tat duyusu, duyu fizyolojimizin önemli bir bileşenidir (Barlow, 2022; Peng ve ark., 2015).

İC; ağız ve dilden gelen tat sinyalleri ile besin alımını takiben vücutta oluşan visseral sinyalleri aynı anda değerlendirir. Dorsal orta insula içindeki özel bir nöron popülasyonunun bu değerlendirmeyi gerçekleştirdiği ve beslenme davranışının homeostatik düzenlenmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Avery ve ark., 2017). İC hasarı gelişen hastalarda, tat yoğunluğunun azalması, tatları ayırt etmede ve tanımda başarısızlık şikayetlerinin bildirildiği çalışmalar bulunmaktadır (Mak ve ark., 2005; Lopez ve ark., 2012).

Tüketilen bir yiyecek ile ilgili edinilen olumsuz bir deneyim, gelecekte o belirli yiyecekten kaçınma davranışıyla sonuçlanır. Bu fenomene 'tattan kaçınma koşullanması' adı verilir. Bu mekanizmanın hayatta kalmaya katkı sağladığı kabul edilir (Nakai ve ark., 2020). Tattan kaçınma davranışının altında yatan nörofizyolojik mekanizmaların araştırıldığı deneysel bir çalışmada; bazolateral amigdala ile İC arasındaki iletişimin, tattan kaçınma hafızasının temelini doğrudan oluşturabileceği bildirildi (Stehberg ve ark., 2011; Accolla ve Carleton, 2008).

Peng ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, İC'nin tatlı ve acı tadı temsil eden alanlarının optogenetik manipülasyonu gerçekleştirildi. Bu manipülasyon,

öğrenme ve deneyimden bağımsız olarak, besine yönelme veya besinden kaçınma davranışlarına yol açtı (Peng ve ark., 2015).

Tat hafızası oluşumunun İC'de protein sentezine bağlı olduğu ve sinaptik plastisitede yer alan sinyalleşme basamaklarının indüksiyonu ile pozitif korelasyon gösterdiği de bildirildi (Yiannakas ve Rosenblum, 2017).

6. İNSULAR KORTEKS VE VİSSERAL DUYULAR

Bazı araştırmacılar, İC'nin elektrokortikal uyarımlarıyla ortaya çıkan iç organ tepkilerine ilişkin raporlara dayanarak insula'yı, "visseral beyin" olarak adlandırmıştır (Stephani ve ark., 2011).

Son yıllarda gerçekleştirilen sinir yollarını izleme çalışma sonuçları, vücudun her yerinden interoseptif bilgi taşıyan visseral afferent projeksiyonlar aldığı bilinen İC'nin, merkezi vissero-somatosensoriyal rolü olduğu görüşünü destekledi (Tayah ve ark., 2013).

Hassanpour ve ark., 23 sağlıklı bireyin katıldığı çalışmalarında; çarpıntı ve nefes darlığı hissi uyandırmak için hızlı etkili bir periferik beta-adrenerjik agonist olan izoproterenol kullandılar. Çalışmaya katılan bireylerin nöronal aktiviteleri fonksiyonel MR ile kayıt altına alındı. Araştırma sonucunda, sağ orta insulanın sempatik uyarılma, kalp atış hızı artışı ve kardiyorespiratuar duyumun zirve döneminde maksimum uyarıldığı bulundu. Bu sonuçlar, sağ orta insula'nın interoseptif ağda anahtar bir rolü olduğunu doğruladı. Kardiyorespiratuar sinyallerin dinlenim durumuna ulaştığı dönemde, nöronal aktivitenin sağ ön, sağ arka ve sol orta insulanın dahil olduğu diğer insula alt bölgelerine kaydığı gösterildi. Birlikte ele alındığında bu bilgiler, insula alt bölgelerinin vücut durumunun homeostatik sapmalarına yanıtta farklı rollere sahip olduğunu düşündürdü (Hassanpour ve ark., 2018).

7. NÖROLOJİK VE PSİKİYATRİK BOZUKLUKLAR VE İNSULAR KORTEKS

7.1. Epilepsisi

İnsular epilepsisi ilk kez 1950'lerin başlarında ayırt edildi. Temporal lob epilepsisi sebebiyle hastalara uygulanan temporal lobektomi sonrasında nöbetlerin devam etmesi, İC kaynaklı nöbetlerin temporal lob epilepsisini taklit edebileceğini gösterdi (Penfield ve Jasper, 1954). Yine aynı yıllarda girişimsel intraoperatif elektrokortikografi ve insulektomi gibi girişimsel uygulamalar yapılırsa da insular lob epilepsisi ile ilgili çalışmalarda 1990'ların sonlarına kadar bir duraklama yaşandı. Bu duraklama, gelişmeye başlayan stereo-elektroensefalografi (SEEG) tekniğinin insular kökenli nöbetlerin ameliyat öncesi teşhisini mümkün kılmasıyla sona erdi. Böylece yeterince aydınlatılmamış bu nöbet türünün araştırılmasına yönelik ilgi de tekrar arttı (Isnard ve ark., 2019).

Günümüzde, hem İC'nin fizyolojik rolünü anlamak hem bu kortikal bölgede bir nöbet deşarjının gelişimini yansıtan semptomları yeniden üreterek insular nöbetlerin semiyolojisini karakterize etmek için elektriksel stimülasyon yöntemiyle araştırmalar devam etmektedir. Epilepsinin ameliyat öncesi izlenmesi sırasında SEEG bağlamında gerçekleştirilen stereotaksik uyarılar, insular nöbetlerin gelişimi sırasında gözlenen iktal semptomları yeniden oluşturmaktadır (Mazzola ve ark., 2017).

İC kapsamlı bağlantı ağı nedeniyle birçok fonksiyonda rol alır. İC epilepsili hastalar, korunan oryantasyon ve kooperasyona rağmen genellikle semptomlarının tam olarak farkında değillerdir. İC epilepsisi çok çeşitli subjektif ve objektif semptomların bir kombinasyonu şeklinde ortaya çıkar (Isnard ve ark., 2019).

İC patolojisi, lobun hangi bölümünün etkilendiğine bağlı olarak değişen semptomlara neden olabilir. Hoş olmayan somatosensoryel hisler, laringeal daralma, disfonik veya dizatrik semptomlar, orofasiyal duyular ve hipersalivasyon, mide bulantısı, yüz kızarması, ellerin terlemesi ve idrara çıkma dürtüsü dahil olmak üzere visserovejetatif belirtiler insular lob nöbetine eşlik edebilir (Isnard ve ark., 2004; Aljafen, 2020).

AİC kaynaklı nöbetler başlangıçta asemptomatik olsa da hızla yayılarak hiperomotor semptomlara yol açabilir. Posterior insular nöbetler ise kontralateral somatosensoryel semptomlara neden olabilir (Wynford ve Powell, 2017).

İnsular nöbetler, temporal ve frontal lob epilepsilerini taklit etmektedir (Isnard ve ark., 2000; Ryvlin ve ark., 2006). Değişen farkındalık ve bilinç kaybı hem temporal hem frontal lob epilepsisinde görülürken, insular lob epilepsisinde bu semptomlar görülmez. Konuşma tutukluğu ve dizatri ise her üç loba ait epilepsilerin ortak özelliğidir (Aljafen, 2020).

Mazzola ve ark., cerrahi öncesi değerlendirme için bir epilepsi izleme ünitesine kabul edilen 222 hastada nöbet semiyolojisini belirlemeyi amaçlayan SEEG kullanarak İC'nin stereotaktik stimülasyonunu gözden geçirdiler. Hasta grubu atipik temporal veya insular lob epilepsisi ile başvuran kişilerden oluşturuldu. İnsüler stimülasyonla oluşturulan çok sayıda iktal semptom gözlemlendi. Bu semptomlar; işitsel, konuşma, vestibüler veya koku-tat belirtilerine ek olarak ağrı veya laringeal spazm dahil somatosensoryel semptomlar şeklindeydi (Mazzola ve ark., 2017).

7.2. Şizofreni

İnsula, şizofrenide yapısal olarak anormaldir. Hacim ve kortikal kalınlıkta bir azalma ve giral yapılarda değişimler gözlenir. Şizofreni varlığında, İC'de oluşan fonksiyonel bağlantı bozuklukları hakkında ise nispeten az şey bilinmektedir (Sheffield ve ark., 2020)

Shepherd ve ark. şizofrenide İC hacmini konu alan bir meta-analiz çalışması gerçekleştirdiler. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında şizofreni hastalarında İC’de iki taraflı ve istatistiksel olarak anlamlı hacim azalması bulunmaktaydı. Şizofreninin fizyopatolojisini anlama yolunda, İC’deki hacim azalmasının hangi anatomik lokalizasyonda gerçekleştiği önemli olmaktadır. Anterior insulada, posterior insulaya kıyasla, daha büyük bir hacim azalması tespit edildi. Anterior insula hacmindeki azalışla özellikle gerçeklik algısının bozulması ve tuhaf davranışlar gibi semptomların şiddeti arasında pozitif bir korelasyon vardı. Şizofreninin ilk epizodu ile kronik hastalık süreci arasında progresif bir hacim azalması bulunmuyordu (Shepherd ve ark., 2012).

Sheffield ve ark., yakın zamanda gerçekleştirdikleri bir çalışmaya 196 sağlıklı bireyi ve Şizofreni Spektrum Bozukluğu (ŞSB) olan 191 kişiyi dahil ettiler. Araştırmacılar, insula alt bölgelerinin işlevsel bağlantılarını analiz ettiler. ŞSB olan hastaların insula alt bölgelerinde hem artmış hem de azalmış bağlantılar ile karakterize yaygın insular bağlantı kopukluğu tespit ettiler. Azalan dorsal anterior insula bağlantısını, bilişsel bozulma ile ilişkilendirdiler. ŞSB’de ventral anterior insula ile superior temporal sulcus arasında, sağlıklı katılımcılara kıyasla, anormal bağlantılar bulunduğunu ve bu bağlantıların da negatif semptom şiddetiyle ilişkili olduğunu öne sürdüler (Sheffield ve ark., 2020)

7.3. Anksiyete ve Risk Alma Davranışı

Fizyolojik sınırlar içerisinde tutulan korku duygusu hayatta kalmaya katkı sağlamaktadır. Yakın zamanda fareler üzerinde yapılan deneysel bir çalışmada, fareler zarar görebilecekleri tehlikeli durumlarla karşılaştıklarında İC’nin korku oluşturan aktivitesinde artış olduğu gözlemlendi. Hayvanların tehlikeyle karşılaştıklarında donup kalma ve kalp hızının yavaşlaması şeklinde gözlenen davranışları sonucunda ise İC aktivitesinde zayıflama tespit edildi. Sonuçlar, İC’nin korkuyu homeostatik bir aralıkta tutmaya yardımcı olduğu fikrini destekledi (Klein ve ark., 2021).

Hsueh ve ark.’nın yapmış oldukları diğer bir çalışmada ise uyarımla oluşturulan taşikardinin kaygı benzeri davranışı güçlü bir şekilde arttırdığını buldular. Elektrofizyolojik ve görüntüleme yöntemleri kullanılarak taşikardi sırasında aktive olan beyin bölgeleri tespit edildi. Taramalar sonucunda kardiyak interoseptif işleminin potansiyel bir aracısı olduğu düşünülen posterior insular kortekste aktivite artışı olduğunu saptadılar. Bu beyin bölgesi optogenetik olarak inhibe edildiğinde ise taşikardik uyarı aracılığıyla indüklenen anksiyete benzeri davranışın azaldığını gözlemlədiler (Hsueh ve ark., 2023).

Shi ve ark. anterior agranüler insular korteks (AAİC)’in korku ve kaygı modülasyonundaki rolünü araştırdıkları çalışma ile AAİC’in amigdalaya

yönelik projeksiyonların ana kaynağı olduğunu doğruladılar. AAI'deki lezyonların, anksiyolitik davranışlara ve korku hafızasının bozulmasına neden olduğunu gözlemlədiler. Travma sonrası stres bozukluğu fare modelinde, optogenetik yöntemler kullanılarak sağlanan AAI GABAerjik nöronların seçici aktivasyonunun da korkunun önemli ölçüde azalmasına ve kaygının hafiflemesine neden olduğunu buldular (Shi ve ark., 2020).

Anksiyeteye eğilimli bireylerde, interoseptif farkındalığın bozulduğu, yani gözlemlenen ve beklenen vücut durumu arasındaki farkta artış olduğu bilinmektedir. Böyle bir durumda kaçınma isteği oluşturan bir dış uyarana karşı verilen tepkilerde AİC'nin kilit bir rol oynadığı ileri sürülmektedir (Paulus ve Stein, 2006).

Méndez-Ruette ve ark. İC'nin farklı bölümlerinin anksiyetede rolünü araştırdıkları deneysel bir çalışmada CNQX (glutamaterjik AMPA reseptör antagonisti) uygulayarak farklı insular bölgeleri inaktif hale getirdiler ya da bicuculline (GABA reseptör antagonisti) enjeksiyonuyla bu bölgeleri aktive ettiler. Kaudal ve medial insular bölgelerin inaktivasyonu anksiyojenik etkilere neden olurken bu bölgelerin aktivasyonu anksiyolitik etkilere neden oldu. Buna karşılık, daha rostral alanların etkisizleştirilmesi anksiyolitik etkilere, aktivasyonu ise anksiyojenik etkilere neden oldu. Bu çalışma, insulanın kaygıda doğrudan bir rolü olduğunu desteklemektedir (Méndez-Ruette ve ark. 2019).

Paulus ve ark., risk alma derecesinin İC'deki aktivasyon derecesi ile ilişkili olduğu hipotezini öne sürdü. Çalışmaya katılan 17 sağlıklı deneğin riskli karar verme davranışları sırasındaki nöronal aktiviteleri, fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRI) ile takip edildi. Denekler "güvenli" bir yanıt seçmek yerine "riskli" bir yanıt seçtiklerinde sağ insula aktivasyonu önemli ölçüde daha güçlüydü. Elde edilen sonuçlar, insula aktivasyonunun, risk alma karar verme davranışına rehberlik eden caydırıcı somatik belirteçleri başlatmak için kritik bir merkez işlevi gördüğü hipoteziyle tutarlıdır (Paulus ve ark., 2003).

7.4. Ağrı ve Depresyon

Ağrı olarak adlandırdığımız rahatsız edici deneyim, genellikle "ağrı matrisi" olarak tanımlanan birbiriyle etkileşim içinde olan beyin bölgelerinin koordineli aktivasyonundan kaynaklanır (Garcia-Larrea ve Bastuji, 2018). İC'nin de ASK ile birlikte ağrı algısında kritik roller oynadığı bilinmektedir (Lee ve ark., 2022).

Coffeen ve ark., ratlar üzerinde İC'nin ağrı ile ilişkisini araştırdıkları deneysel bir çalışma yaptılar. Bu çalışmada akut, inflamatuvar ve nöropatik ağrı modellerinde İC lezyonlarının etkilerini gözlemlədiler. Çalışmanın dizaynında ağrı modelleri oluşturulmadan önce, rostral agranüler insular korteks (RAİC)

lezyonu oluşturdular. Ağrı modellerini ise bu işlemde 48 saat sonra gerçekleştirdiler. Ardından ratların ağrıya verdikleri yanıtları incelediler. Çalışmanın sonucunda, lezyonun tarafı ne olursa olsun, akut ağrıya ilişkili yanıtta bir değişiklik görülmezken inflamatuvar ve nöropatik modellerde, ağrıya ilişkili davranışlarda azalma saptadılar. Böylece RAİC'nin hem inflamatuvar hem de nöropatik ağrının modülasyonunda önemli bir rol oynadığını ortaya koydular (Coffeen ve ark., 2011).

Dai ve ark., 26 erkek ve 11 kadının dahil edildiği bir nörogörüntüleme çalışması gerçekleştirdiler. İC'de bulunan ağrıya ilgili alt bölümler ile diğer beyin bölgeleri arasındaki fonksiyonel bağlantı (FB) yoğunluğunu araştırdılar. İnsular alt bölümlere ait FB'lerde özellikle sol dorsal disgranüler insula-sağ singulat korteks arasındaki bağlantının erkeklerde kadınlara kıyasla daha yoğun olduğunu gözlemlediler. Bu FB yoğunluğunun ise ağrı sinyallerinin iletilmesinde ve modülasyonunda inhibe edici rol oynadığı sonucuna vardılar. Bu çalışma, aynı zamanda, kadınlardaki ağrı bozukluklarına ait insidansın neden erkeklerden daha yüksek olduğunu da açıklar niteliktedir (Dai ve ark., 2018).

Bir başka çalışmada, kadın migren hastalarının yaşadığı daha yüksek ağrı duyularını İC ile ilişkilendiren bulgulara ulaşıldı. Kadın migren hastalarındaki sol posterior insulanın hem erkek migren hastalarına hem de her iki cinsiyetten sağlıklı kontrollere kıyasla, daha kalın olduğu ancak tam aksine aktivasyonunun azaldığı tespit edildi. Bununla birlikte erkek migren hastalarında hem anterior hem de posterior İC'nin ağırlı uyaranlara yanıt olarak daha fazla aktive olduğu görüldü (Maleki ve ark., 2012).

Nörogörüntüleme çalışmalarından toplanan birikmiş veriler, hem fiziksel ağrıyı hem de depresyonu İC ile ilişkilendirmektedir (Mutschler ve ark., 2012). Sprengelmeyer ve ark.'nın voksel tabanlı morfometri analizlerinden oluşan çalışmasına ait veriler, çalışmaya dahil edilen majör depresif bozukluk (MDB) tanılı katılımcıların İC'sinde belirgin bir gri madde azalması ortaya çıkardı. Bununla birlikte araştırmacılar tarafından İC hacmi ile MDB'ye ait klinik semptomların şiddeti arasında pozitif bir korelasyona dikkat çekildi (Sprengelmeyer ve ark., 2011).

SONUÇ

İC, her ne kadar anatomik olarak saklı kalmış bir “ada” olarak tanımlansa da gelişmekte olan nörogörüntüleme yöntemleri, deneysel hayvan modelleri, kaza ve beyin ameliyatları sonrası gözlemler sonucunda sinirbilimle uğraşan araştırmacıların ilgi odağına girmiş ve beynin çok önemli fonksiyonel alanlarıyla iletişim içerisinde bulunan bir bölgedir.

Önemli fizyolojik rolleri kanıtlanmış bu beyin bölgesi patolojilerinin; İC'nin izole epilepsisi, şizofreni ve depresyon gibi nöropsikiyatrik hastalıklarla

ilişkisi olduğu gösterilmiştir. İC'nin gizemli işlevinin aydınlatılması beynin total fizyolojik aktivitesinin anlaşılmasında aydınlatıcı olacaktır.

KAYNAKÇA

- Accolla, R., & Carleton, A. (2008). Internal body state influences topographical plasticity of sensory representations in the rat gustatory cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(10), 4010–4015. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708927105>
- Aljafen B. N. (2020). Insular epilepsy, an under-recognized seizure semiology. A review for general neurologist. *Neurosciences (Riyadh, Saudi Arabia)*, *25*(4), 262–268. <https://doi.org/10.17712/nsj.2020.4.20200063>.
- Allman, J. M., Tetreault, N. A., Hakeem, A. Y., & Park, S. (2011). The von Economo neurons in apes and humans. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*, *23*(1), 5–21. <https://doi.org/10.1002/ajhb.21136>
- Allman, J. M., Tetreault, N. A., Hakeem, A. Y., Manaye, K. F., Semendeferi, K., Erwin, J. M., Park, S., Goubert, V., & Hof, P. R. (2011). The von Economo neurons in the fronto-insular and anterior cingulate cortex. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1225*, 59–71. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06011.x>
- Augustine, J. R. (1996). Circuitry and functional aspects of the insular lobe in primates including humans. *Brain research reviews*, *22*(3), 229–244.
- Avery, J. A., Gotts, S. J., Kerr, K. L., Burrows, K., Ingeholm, J. E., Bodurka, J., Martin, A., & Kyle Simmons, W. (2017). Convergent gustatory and viscerosensory processing in the human dorsal mid-insula. *Human brain mapping*, *38*(4), 2150–2164. <https://doi.org/10.1002/hbm.23510>
- Barlow L. A. (2022). The sense of taste: Development, regeneration, and dysfunction. *WIREs mechanisms of disease*, *14*(3), e1547. <https://doi.org/10.1002/wsbm.1547>
- Bauernfeind, A. L., de Sousa, A. A., Avasthi, T., Dobson, S. D., Raghanti, M. A., Lewandowski, A. H., Zilles, K., Semendeferi, K., Allman, J. M., Craig, A. D., Hof, P. R., & Sherwood, C. C. (2013). A volumetric comparison of the insular cortex and its subregions in primates. *Journal of human evolution*, *64*(4), 263–279. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2012.12.003>
- Benarroch E. E. (2019). Insular cortex: Functional complexity and clinical correlations. *Neurology*, *93*(21), 932–938.
- Coffeen, U., Manuel Ortega-Legaspi, J., López-Muñoz, F. J., Simón-Arceo, K., Jaimes, O., & Pellicer, F. (2011). Insular cortex lesion diminishes neuropathic and inflammatory pain-like behaviours. *European journal of pain (London, England)*, *15*(2), 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2010.06.007>

- Craig A. D. (2002). How do you feel? Interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Nature reviews. Neuroscience*, 3(8), 655–666. <https://doi.org/10.1038/nrn894>
- Craig A. D. (2009). How do you feel--now? The anterior insula and human awareness. *Nature reviews. Neuroscience*, 10(1), 59–70. <https://doi.org/10.1038/nrn2555>
- Craig A. D. (2010). The sentient self. *Brain structure & function*, 214(5-6), 563–577. <https://doi.org/10.1007/s00429-010-0248-y>
- Craig A. D. (2011). Significance of the insula for the evolution of human awareness of feelings from the body. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1225, 72–82. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.05990.x>
- Dai, Y. J., Zhang, X., Yang, Y., Nan, H. Y., Yu, Y., Sun, Q., Yan, L. F., Hu, B., Zhang, J., Qiu, Z. Y., Gao, Y., Cui, G. B., Chen, B. L., & Wang, W. (2018). Gender differences in functional connectivities between insular subdivisions and selective pain-related brain structures. *The journal of headache and pain*, 19(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s10194-018-0849-z>
- Deen, B., Pitskel, N. B., & Pelphrey, K. A. (2011). Three systems of insular functional connectivity identified with cluster analysis. *Cerebral cortex*, 21(7), 1498-1506.
- Economo, C. V. (1926). Eine neue Art Spezialzellen des Lobus cinguli und Lobus insulae. *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie*, 100(1), 706-712.
- Evrard H. C. (2019). The Organization of the Primate Insular Cortex. *Frontiers in neuroanatomy*, 13, 43. <https://doi.org/10.3389/fnana.2019.00043>
- Fusar-Poli, P., Howes, O., & Borgwardt, S. (2009). Johann Cristian Reil on the 200th anniversary of the first description of the insula (1809). *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 80(12), 1409. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.185884>
- Garcia-Larrea, L., & Bastuji, H. (2018). Pain and consciousness. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 87(Pt B), 193–199. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.10.007>
- Gogolla N. (2017). The insular cortex. *Current biology : CB*, 27(12), R580–R586. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.010>
- Hassanpour, M. S., Simmons, W. K., Feinstein, J. S., Luo, Q., Lapidus, R. C., Bodurka, J., Paulus, M. P., & Khalsa, S. S. (2018). The Insular Cortex Dynamically Maps Changes in Cardiorespiratory Interoception. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American*

- College of Neuropsychopharmacology, 43(2), 426–434.
<https://doi.org/10.1038/npp.2017.154>
- Hsueh, B., Chen, R., Jo, Y., Tang, D., Raffiee, M., Kim, Y. S., Inoue, M., Randles, S., Ramakrishnan, C., Patel, S., Kim, D. K., Liu, T. X., Kim, S. H., Tan, L., Mortazavi, L., Cordero, A., Shi, J., Zhao, M., Ho, T. T., Crow, A., ... Deisseroth, K. (2023). Cardiogenic control of affective behavioural state. *Nature*, 615(7951), 292–299.
<https://doi.org/10.1038/s41586-023-05748-8>
- Huang, Z., Tarnal, V., Vlisides, P. E., Janke, E. L., McKinney, A. M., Picton, P., Mashour, G. A., & Hudetz, A. G. (2021). Anterior insula regulates brain network transitions that gate conscious access. *Cell reports*, 35(5), 109081. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109081>
- Isnard, J., Guénot, M., Ostrowsky, K., Sindou, M., & Mauguière, F. (2000). The role of the insular cortex in temporal lobe epilepsy. *Annals of neurology*, 48(4), 614–623.
- Isnard, J., Guénot, M., Sindou, M., & Mauguière, F. (2004). Clinical manifestations of insular lobe seizures: a stereo-electroencephalographic study. *Epilepsia*, 45(9), 1079–1090. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.68903.x>
- Isnard, J., Hagiwara, K., Montavont, A., Catenoix, H., Mazzola, L., Ostrowsky-Coste, K., Guenot, M., & Rheims, S. (2019). Semiology of insular lobe seizures. *Revue neurologique*, 175(3), 144–149.
<https://doi.org/10.1016/j.neurol.2018.12.002>
- Jones, C. L., Ward, J., & Critchley, H. D. (2010). The neuropsychological impact of insular cortex lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 81(6), 611–618.
- Khalsa, S. S., Adolphs, R., Cameron, O. G., Critchley, H. D., Davenport, P. W., Feinstein, J. S., Feusner, J. D., Garfinkel, S. N., Lane, R. D., Mehling, W. E., Meuret, A. E., Nemeroff, C. B., Oppenheimer, S., Petzschner, F. H., Pollatos, O., Rhudy, J. L., Schramm, L. P., Simmons, W. K., Stein, M. B., Stephan, K. E., ... Interoception Summit 2016 participants (2018). Interoception and Mental Health: A Roadmap. *Biological psychiatry. Cognitive neuroscience and neuroimaging*, 3(6), 501–513.
<https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2017.12.004>
- Klein, A. S., Dolensek, N., Weiland, C., & Gogolla, N. (2021). Fear balance is maintained by bodily feedback to the insular cortex in mice. *Science (New York, N.Y.)*, 374(6570), 1010–1015.
<https://doi.org/10.1126/science.abj8817>
- Kortz, M. W., & Lillehei, K. O. (2022). Insular Cortex. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

- Koubeissi MZ, Bartolomei F, Beltagy A, Picard F. Electrical stimulation of a small brain area reversibly disrupts consciousness. *Epilepsy Behav.* 2014 Aug;37:32-5. doi: 10.1016/j.yebeh.2014.05.027. Epub 2014 Jun 24. PMID: 24967698.
- Lee, J. A., Chen, Q., & Zhuo, M. (2022). Synaptic Plasticity in the Pain-Related Cingulate and Insular Cortex. *Biomedicines*, 10(11), 2745. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10112745>
- Lopez, C., Blanke, O., & Mast, F. W. (2012). The human vestibular cortex revealed by coordinate-based activation likelihood estimation meta-analysis. *Neuroscience*, 212, 159–179. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.03.028>
- Mak, Y. E., Simmons, K. B., Gitelman, D. R., & Small, D. M. (2005). Taste and olfactory intensity perception changes following left insular stroke. *Behavioral neuroscience*, 119(6), 1693–1700. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.119.6.1693>
- Maleki, N., Linnman, C., Brawn, J., Burstein, R., Becerra, L., & Borsook, D. (2012). Her versus his migraine: multiple sex differences in brain function and structure. *Brain : a journal of neurology*, 135(Pt 8), 2546–2559. <https://doi.org/10.1093/brain/aws175>
- Mazzola, L., Mauguière, F., & Isnard, J. (2017). Electrical Stimulations of the Human Insula: Their Contribution to the Ictal Semiology of Insular Seizures. *Journal of clinical neurophysiology : official publication of the American Electroencephalographic Society*, 34(4), 307–314. <https://doi.org/10.1097/WNP.0000000000000382>
- Méndez-Ruette, M., Linsam Barth, S., Moraga-Amaro, R., Quintana-Donoso, D., Méndez, L., Tamburini, G., Cornejo, F., Torres, R. F., & Stehberg, J. (2019). The Role of the Rodent Insula in Anxiety. *Frontiers in physiology*, 10, 330. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00330>
- Mesulam, M. M., & Mufson, E. J. (1985). The insula of Reil in man and monkey: architectonics, connectivity, and function. *Association and auditory cortices*, 179-226.
- Molnar-Szakacs, I., & Uddin, L. Q. (2022). Anterior insula as a gatekeeper of executive control. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 139, 104736. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104736>
- Morel, A., Gallay, M. N., Baechler, A., Wyss, M., & Gallay, D. S. (2013). The human insula: Architectonic organization and postmortem MRI registration. *Neuroscience*, 236, 117–135. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.12.076>
- Mufson, E. J., Sobreviela, T., & Kordower, J. H. (1997). Chapter VII Chemical neuroanatomy of the primate insula cortex: Relationship to

- cytoarchitectonics, connectivity, function and neurodegeneration. In *Handbook of chemical neuroanatomy* (Vol. 13, pp. 377-454). Elsevier.
- Mutschler, I., Ball, T., Wankerl, J., & Strigo, I. A. (2012). Pain and emotion in the insular cortex: evidence for functional reorganization in major depression. *Neuroscience letters*, 520(2), 204–209. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.03.095>
- Nakai, J., Totani, Y., Hatakeyama, D., Dyakonova, V. E., & Ito, E. (2020). Another Example of Conditioned Taste Aversion: Case of Snails. *Biology*, 9(12), 422. <https://doi.org/10.3390/biology9120422>
- Nieuwenhuys R. (2012). The insular cortex: a review. *Progress in brain research*, 195, 123–163. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53860-4.00007-6>
- Paulus, M. P., & Stein, M. B. (2006). An insular view of anxiety. *Biological psychiatry*, 60(4), 383–387. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.03.042>
- Paulus, M. P., Rogalsky, C., Simmons, A., Feinstein, J. S., & Stein, M. B. (2003). Increased activation in the right insula during risk-taking decision making is related to harm avoidance and neuroticism. *NeuroImage*, 19(4), 1439–1448. Penfield, W., & Jasper, H. (1954). Epilepsy and the functional anatomy of the human brain. Guillaume, M. M. J. (1953). Indications chirurgicales dans les epilepsies dites "temporalis". *Rev Neurol*, 88, 461-501.
- Peng, Y., Gillis-Smith, S., Jin, H., Tränkner, D., Ryba, N. J., & Zuker, C. S. (2015). Sweet and bitter taste in the brain of awake behaving animals. *Nature*, 527(7579), 512–515. <https://doi.org/10.1038/nature15763>
- Peng, Y., Gillis-Smith, S., Jin, H., Tränkner, D., Ryba, N. J., & Zuker, C. S. (2015). Sweet and bitter taste in the brain of awake behaving animals. *Nature*, 527(7579), 512–515. <https://doi.org/10.1038/nature15763>
- Reil, J. (1809). Die sylvische grube. *Arch Physiol (Halle)*, 9, 195–208.
- Ryvlin, P., Minotti, L., Demarquay, G., Hirsch, E., Arzimanoglou, A., Hoffman, D., Guénot, M., Picard, F., Rheims, S., & Kahane, P. (2006). Nocturnal hypermotor seizures, suggesting frontal lobe epilepsy, can originate in the insula. *Epilepsia*, 47(4), 755–765. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00510.x>
- Sheffield, J. M., Rogers, B. P., Blackford, J. U., Heckers, S., & Woodward, N. D. (2020). Insula functional connectivity in

- schizophrenia. *Schizophrenia research*, 220, 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2020.03.068>
- Shepherd, A. M., Matheson, S. L., Laurens, K. R., Carr, V. J., & Green, M. J. (2012). Systematic meta-analysis of insula volume in schizophrenia. *Biological psychiatry*, 72(9), 775–784. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.04.020>
- Shi, T., Feng, S., Wei, M., & Zhou, W. (2020). Role of the anterior agranular insular cortex in the modulation of fear and anxiety. *Brain research bulletin*, 155, 174–183. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.12.003>
- Sprengelmeyer, R., Steele, J. D., Mwangi, B., Kumar, P., Christmas, D., Milders, M., & Matthews, K. (2011). The insular cortex and the neuroanatomy of major depression. *Journal of affective disorders*, 133(1-2), 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2011.04.004>
- Stehberg, J., Moraga-Amaro, R., & Simon, F. (2011). The role of the insular cortex in taste function. *Neurobiology of learning and memory*, 96(2), 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2011.03.005>
- Stephani, C., Fernandez-Baca Vaca, G., Maciunas, R., Koubeissi, M., & Lüders, H. O. (2011). Functional neuroanatomy of the insular lobe. *Brain structure & function*, 216(2), 137–149. <https://doi.org/10.1007/s00429-010-0296-3>
- Tayah, T., Savard, M., Desbiens, R., & Nguyen, D. K. (2013). Ictal bradycardia and asystole in an adult with a focal left insular lesion. *Clinical neurology and neurosurgery*, 115(9), 1885–1887. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2013.04.011>
- Waxman, S. G. (2016). *Clinical neuroanatomy*. McGraw-Hill Education.
- Wynford-Thomas, R., & Powell, R. (2017). Navigating the Island of Reil: how to understand the insular cortex. *Practical neurology*, 17(2), 122–126. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2016-001493>
- Yiannakas, A., & Rosenblum, K. (2017). The Insula and Taste Learning. *Frontiers in molecular neuroscience*, 10, 335. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00335>
- Zhou, W., Ke, S., Li, W., Yuan, J., Li, X., Jin, R., Jia, X., Jiang, T., Dai, Z., He, G., Fang, Z., Shi, L., Zhang, Q., Gong, H., Luo, Q., Sun, W., Li, A., & Li, P. (2022). Mapping the Function of Whole-Brain Projection at the Single Neuron Level. *Advanced science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)*, 9(33), e2202553

BÖLÜM 8

KAN BEYİN BARIYERİNİN GEÇİRGENLİĞİ

Doç. Dr. Selma CİRRİK¹

¹ Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.
selmacrrk@yahoo.com, Orcid ID: 0000-0001-8474-0185

1. GİRİŞ

Kan-beyin bariyeri (KBB), vasküler endotel hücreleri başta olmak üzere perisitler, astrositler, mikroglial hücreler ve nöronlar tarafından oluşturulan çok hücreli bir vasküler bariyerdir. Bariyerin endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar paraselüler yoldan spesifik olmayan madde geçişini engellerken, çok sayıda iyon kanalı ve taşıyıcı protein transselüler yoldan spesifik madde geçişlerine aracılık etmektedir. KBB üzerinden gerçekleşen kontrollü madde geçişleri bariyerin ötesinde nöronal ve sinaptik fonksiyonların uygun şekilde devamı için kritik olan bir mikroçevrenin oluşmasını sağlamaktadır. Böylece beyin metabolizması için kritik olan besinlerin ve metabolitlerin düzeyi, nöron uyarılabilirliği için önemli olan başta kalsiyum ve potasyum gibi iyonların düzeyi gibi pekçok değişken KBB'nin aktivitesi ile normal sınırlar içinde tutulmaktadır. KBB aracılı seçici amino asit transportu, merkezi sinir sistemi (MSS)'nin iki önemli nörotransmitteri olan glutamat ve glisinin geçişini düzenlemesi nedeniyle ayrıca önem taşımaktadır. KBB'nin bu fonksiyonu, besin alımını takiben plazmada seviyesi yükselebilen glutamatın eksitotoksik etkisine karşı korunmada olduğu gibi, bu nörotransmitterlerin plazma seviyelerindeki beklenmedik değişikliklere karşı beyini korumaktadır. KBB'nin seçici geçirgen yapısı beyini aynı zamanda endojen veya ekzojen nörotoksik maddelere karşı koruma sağlamaktadır. Bariyer fonksiyonu ile toksik maddelerin beyine girişinin engellenmesinin yanı sıra, bunların beyinden kana ters yönde transportu yapılarak doku birikimleri de engellenmektedir. MSS'nin rejenerasyon ve nörogenez kapasitesi düşük olduğundan, doğal hücre ölümünü hızlandırabilecek bu tür maddelerin beyine girişinin veya birikmesinin engellenmesi büyük önem taşımaktadır. Son olarak, endotel hücrelerinde sitokrom P450 enzimleri (CYP1B1 ve CYP2U1, CYP-3AF) gibi ilaç metabolize eden enzimlerin varlığı, KBB'ye metabolik bir bariyer özelliği kazandırmaktadır (Kadry ve ark., 2020; Zhao ve ark., 2022; Ghosh ve ark., 2011).

KBB'nin geçirgenlik özellikleri, kendisini oluşturan hücreler, hücreler arası bağlantılar ve hücrelerin taşıma özellikleriyle ilişkilidir. Travmatik hasar, iskemi/reperfüzyon hasarı, nörodejeneratif hastalıklar dahil çok sayıda MSS patolojisinde KBB hasarı ve geçirgenlik artışı görülmektedir. Bu bölümde, KBB'nin yapısal özellikleri ve transport mekanizmaları özetlendikten sonra,

KBB geçirgenliğini etkileyen durumlar ve aracı moleküller hakkında bilgi verilecektir.

2. KAN BEYİN BARIYERİNİN BİLEŞENLERİ

KBB'nin seçiciliği ve geçirgenliği serebral vasküler endotel hücrelerin özelliklerine bağlı olmakla birlikte, bu hücreler bariyerin diğer bileşenleri olan persisitler, astrositler, nöronlar, mikroglial hücreler ve hücre dışı matriks ile etkileşim halindedir ve bu çok hücreli yapı KBB için tanımlanan fonksiyonların sürdürülmesini sağlamaktadır (Zhao ve ark., 2022).

2.1. Endotel hücreleri

Mikrovasküler kapiller lümeni astarlayan endotel hücreleri, KBB'nin bariyer fonksiyonu ve beyin homeostazının korunmasında merkezi rol oynayan hücreler olup, yapısal ve fonksiyonel olarak periferik damarların endotel hücrelerinden farklı özellikler gösterirler. Örneğin fenestra içermezler, luminal yüzeylerinde kaveola bölgeleri daha azdır ve diğer endotel hücreleriyle kıyaslandığında transsitoz aktivitesinin düşük olduğu görülür. Bu özelliklerin yanı sıra hücreler arası sıkı bağlantıların varlığı KBB'den spesifik olmayan madde geçişlerini büyük ölçüde kısıtlamaktadır. Endotel hücrenin apikal ve bazolateral membranda bulunan taşıma sistemleri ise beyine ihtiyaç duyulan temel moleküllerin spesifik olarak alınmasına aracılık etmektedir. Hücrelerde bulunan çok sayıdaki mitokondri, primer ve sekonder aktif transport mekanizmaları için gerekli ATP ihtiyacını karşılamaktadır (Zhao ve ark., 2022; Kadry ve ark., 2020; Pardridge, 2005).

Başta inflamatuvar sitokinler olmak üzere çok sayıda molekül endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılarda bozulmaya ve KBB geçirgenliğinde artışa neden olduğundan, bu yapıların anlaşılması önemlidir. Bitişik endotel hücrelerini en apikal noktada birbirine bağlayan sıkı bağlantılar, paraselüler madde geçişini sınırlamanın yanı sıra membran proteinlerinin hareketliliğini sınırlandırarak hücresel polaritenin apikal (lüminal) ve bazolateral olarak devamlılığını da sağlamaktadır. Sıkı bağlantılar çok sayıda proteinin katılımıyla oluşan kompleks yapılardır. Bu komplekslerdeki temel integral proteinler kludin, okludin, triselulin ve bağlantı adezyon molekülleri olarak tanımlanmıştır. Bunlardan kludin ve okludin proteinlerinin oluşturduğu karşılıklı homotipik etkileşimler sıkı bağlantıların kurulmasında temel rol oynamaktadır. Bu transmembran proteinler, intraselüler karboksi terminalleri

aracılığı ile zonula occludens (ZO)-1, ZO-2 ve ZO-3 dahil çeşitli sitoplazmik proteinlerle etkileşime girmektedir. Bu stoplazmik adaptör proteinler sıkı bağlantı kompleksini hücrenin aktin iskeletine bağlayarak stabilize olmalarını sağlamaktadır (Zhao ve ark., 2022; Kadry ve ark., 2020; Haseloff ve ark., 2015).

Yapılan çalışmalar, klauidin-5'in KBB'deki en baskın sıkı bağlantı bileşenlerinden birisi olduğunu göstermektedir. KBB'nin yapısal kararlılığının korunmasına katılan klauidin-5'in eksikliği geçirgenlikte önemli bir artışa neden olmaktadır (Brunner ve ark., 2020; Nitta ve ark., 2003). Benzer şekilde, nöral olmayan dokulara kıyasla beyin endotel hücrelerindeki ekspresyonu yüksek olan okludin proteini de paraselüler geçirgenliğin önemli bir düzenleyicisidir. KBB disfonksiyonu, okludin bağlantılarının bozulmasına bağlı olarak paraselüler geçirgenlikte bir artış ile karakterize edilmektedir (Lochhead ve ark., 2012). Okludin proteininin sitoplazmik C terminali serin, treonin ve tirozin amino asitleri bakımından zengin olup, proteinin bu kalıntılarından fosforilasyonu KBB geçirgenliği ile ilişkilendirilmektedir. Okludinin N-terminali de sıkı bağlantıların bütünlüğünün korunmasına önemli olup, bu bölgenin silinmesi paraselüler geçirgenlikte artışa neden olmaktadır (Takenaga ve ark., 2009; Bamforth ve ark., 1999). İki hücre arasındaki temas noktalarında yer alan klauidinler ve okludinden farklı olarak, trisellülin proteini üç hücreli temas noktalarında bulunmakta ve yaklaşık 20 kDa'a kadar olan moleküllere karşı bir bariyer oluşturmaktadır (Haseloff ve ark., 2015). Bağlantı adezyon molekülü olarak adlandırılan bir diğer transmembran protein ise KBB'de hem hücre-hücre yapışması hem de lökosit göçünde rol oynamaktadır (Martin-Padura ve ark., 1998)

Stoplazmik aksesuar proteinler olan ZO ailesi proteinler, sıkı bağlantı proteinlerini aktin hücre iskeletine sabitleyerek fonksiyonel sıkı bağlantıların birleştirilmesinde önemli rol oynamaktadır (Haseloff ve ark., 2015). Bu proteinlerin ekspresyonundaki veya lokalizasyonundaki değişimler KBB'nin geçirgenlik özelliklerini etkilemektedir. Örneğin ZO-1 ekspresyonundaki artışın KBB geçirgenliğinde azalışla ilişkili olduğu, klauidin-5, okludin ve ZO-1'in ekspresyonundaki azalışın veya ZO-1 yıkılmasındaki artışın ise KBB geçirgenliğinde artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Jiao ve ark., 2011; Sun ve ark., 2019).

2.2. Perisitler

Beyin kapiller damarlarının temel bileşenlerinden birisi olan perisitler, endotel hücrelerinin abluminal tarafında, bazal membrana gömülmüş halde bulunan çok fonksiyonlu hücrelerdir. İntrauterin dönemde bariyer fonksiyonlarının gelişimi için perisitler gereklidir (Daneman ve ark., 2010). Perisitler ve endotel hücreleri arasında N-kadherinlerin oluşturduğu sinaps benzeri temas noktalarının (pim-soket) yanı sıra, gap bağlantılar bulunmaktadır. Gap bağlantılar bu iki hücre arasındaki iyon hareketliliğine, ikinci haberci moleküllerin, çeşitli metabolitlerin ve ribonükleik asitlerin değiş tokuşuna olanak sağlamaktadır (Kadry ve ark., 2020). Perisitlerle ilişkili endotel hücrelerin, izole endotel hücrelerine göre apoptoza daha dirençli olduğunu gösteren *in-vitro* çalışmalar KBB'nin yapısal bütünlüğü ve oluşumunda perisitlerin önemine işaret etmektedir (Ramsauer ve ark., 2002). Bununla uyumlu olarak, perisit fonksiyonu için önemli transkripsiyon faktörleri veya sinyal moleküllerinin eksikliğinde perisit-endotel hücre bağlantılarında bozulma, mikrodamar çapında artış, mikroanevrizma oluşumu, KBB geçirgenliğinde artış ve hemoraji gözlenmektedir (Lindahl ve ark., 1997). Perisitler düz kas hücrelerine benzer kasılma özelliği gösterdiklerinden kapiller çapında değişime ve bir dereceye kadar serebral kan akımında değişime neden olabilmektedir. Perisitler çeşitli vazoaktif moleküller için reseptörler eksprese etmektedir (Hall ve ark., 2014; Kadry ve ark., 2020).

2.3. Astrositler

MSS'de en çok bulunan glial hücreler olan astrositler, diğer beyin hücreleriyle yakın etkileşim halinde olup nöral fonksiyonların düzenlenmesine hemen her yönüyle yardımcı olurlar. Nöral parankimin kompartmanlara ayrılması, hücre dışı sıvıda iyon dengesinin korunması, pH regülasyonu, nörotransmitter alımı ve işlenmesi gibi önemli fonksiyonları vardır. Uç ayak projeksiyonları aracılı endotel hücrelerinin bazal membranı ile temas halinde olan astrositler, olgunlaşmamış beyin endotel hücrelerinde sıkı bağlantıların gelişimi için önemli olmasa da, yetişkin endotel hücrelerinde sıkı bağlantıların bakımı için gereklidir. Astrositlerin KBB işlevinde ikili roller oynadığı görülmektedir (Michinaga ve Koyama, 2019). Örneğin, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), matris metaloproteinazlar (MMP), nitrik oksit (NO), glutamat ve endotelin-1 gibi astrosit kaynaklı faktörler KBB'nin bozulmasına

ve geçirgenliğin artmasına neden olurken, astrosit kaynaklı koruyucu faktörler olan anjiyopietin-1 (Ang-1), glial türevli nörotrofik faktör, transforme edici büyüme faktörü (TGF) - β , retinoik asit (RA), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) -1 ve apolipoprotein E KBB geçirgenliğini azaltmaktadır. Zıt etkilerin nedeni astrositlerin, proinflamatuvar (A1) ve antiinflamatuvar (A2) olmak üzere iki farklı fenotipe aktive olmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Michinaga ve Koyama, 2019; Zhao ve ark., 2022; Abbott, 2002).

2.4. Mikroglialar

Mikroglialar, embriyonik gelişim sırasında MSS'ye yerleşen ve yetişkin yaşamı boyunca yerleşik makrofajlar olarak fonksiyon gören bağışıklık hücreleridir. Çeşitli beyin hasarlarına yanıt olarak, astrositler gibi mikroglialar da M1 veya M2 fenotipine farklılaşarak, birbirine zıt fonksiyonlar ortaya koymaktadır. M1 fenotipi proinflamatuvar mikroglia olup interlökin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinler salgılamaktadır. M2 fenotipi ise antiinflamatuvar mikroglia olup nörotrofik yolağı ve VEGF'yi indükleyen kemokinler serbestlemektedir. Beynin mikrovasküler endotel hücrelerine yakın yerleşimli mikrogliaların KBB fonksiyonunu sürdürme ve düzenlemedeki rolleri gösterilmiştir. Örneğin M1 fenotipi KBB fonksiyonlarında bozulmaya neden olurken, M2 fenotipi KBB'deki fonksiyonel kayıpları önlemede etkili olmaktadır (Zhao ve ark., 2022). Mikroglial aktivasyonla serbestlenen IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin sıkı bağlantılarda bozulmaya ve KBB geçirgenliğinde artışa katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Chen ve ark., 2019). İskemiye takiben dakikalar içinde gerçekleşen mikroglial aktivasyon ve salgılanan proinflamatuvar sitokinler beyin hasarını şiddetlendirmektedir (Taylor ve Sansing, 2013). Mikrogliaların salgıladıkları lokal faktörler endotel hücre veya astrositlerin aktivasyonuna neden olmaktadır. Hücreler arasındaki bu etkileşim KBB'de fonksiyonel kayıplara neden olmaktadır (Liu ve ark., 2020, Carrano ve ark., 2011).

2.5. Bazal lamina

KBB'nin oldukça dinamik, aselüler bir bileşeni olarak damarları çevreleyen bazal lamina, endotel hücreler, astrositler ve perisitler gibi farklı hücre tipleri tarafından sentezlenip biriktirilen ekstraselüler matriks

proteinlerinden oluşmaktadır. Bu hücre dışı matriks tabakasının temel bileşenleri arasında laminin, kollajen IV, proteoglikanlar, heparan sülfat, fibronektinler ve glikozaminoglikanlar gibi yapısal proteinler bulunmaktadır (Nguyen ve ark., 2021). Bazal membranın sahip olduğu negatif yüzey, yüklü solütlerin beyin interstisyel sıvısı ile kan arasındaki hareketini etkileyerek bariyer fonksiyonunun sürdürülmesine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca bazal membran bileşenleri olan proteinler ligand görevi görerek integrinler gibi ekstraselüler matriks reseptörlerine bağlanmaktadır. Bu reseptörlerin aktivasyonu hücre göçü, çoğalması ve sağ kalımı dahil sinyal yollarının aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır (Ceafalan ve ark., 2019). Bu ligandlar, reseptörler ve sinyal yollarının KBB geçirgenliğindeki önemli gösterilmiştir. Örneğin, astrositik laminin eksikliğinin, kollajen IV ve laminin yıkımının veya endotel hücrelerde integrin $\beta 1$ delesyonunun KBB bütünlüğünde bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir (Stratman ve ark., 2009; Zhao ve ark., 2022). Bu veriler, KBB'nin sıklığını korunmasında bazal membranın önemini göstermektedir. Bazal membran yıkımına sebep olan MMP'lerin yanı sıra sistein proteaz, serin proteaz ve heparinaz gibi diğer proteazların hücre iskeletinde değişikliklere yol açarak sıkı bağlantıları ve KBB bütünlüğünü etkilemenin yanı sıra lökosit infiltrasyonunu da kolaylaştırdığı görülmektedir (Rempe ve ark., 2016).

2.6. Nöronlar

Kapiller damarlara oldukça yakın yerleşimli olan nöronların sıkı bağlantı proteinlerinin sentez ve lokalizasyonunun düzenlenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir. Nöronların kültür ortamındaki beyin endotel hücrelerinin sıkılaşmasına yardımcı olduğu gösterilmiştir (Savettieri ve ark., 2000). Vasküler bir hasarı takiben, nöronlardan ve astrositlerden gelen sinyaller, proinflamatuvar sitokinleri salgılayan mikrogliaların bölgeye toplanmasına neden olmaktadır (Man ve ark., 2007).

3. KAN BEYİN BARIYERİNDEN MADDE GEÇİŞİ

KBB'nin beyin aktivitesini desteklemek ve homeostazını sürdürmek için ihtiyaç duyulan molekülleri içeri alması, nöral dokuyu toksinlerden, patojenlerden ve potansiyel olarak zararlı maddelerden korumak için bunların girişini engellemesi, ayrıca zararlı olabilecek metabolitleri dışarı atması

gerekmektedir. KBB'nin seçici geçirgen yapısı bu alış-verişin uygun şekilde devam etmesini sağlamaktadır. Genel olarak, yağda çözünen çok çeşitli molekül KBB'den pasif difüzyonla geçip beyne girebilmektedir. Moleküler ağırlık, küçük moleküllerin KBB'den serbest difüzyonunu belirlemede önemli bir faktör olup, 400-500 Da'dan büyük olanların geçişi sınırlanmaktadır. Endotelden basit difüzyonla geçemeyen moleküllerin hareketi ise spesifik taşıyıcılar ve transsitoz mekanizmaları ile sağlanmaktadır. KBB endotel hücrelerinde solüt taşıyıcı (SLC) süper ailesi ile ATP bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcı süper ailesinin üyeleri eksprese edilmektedir (Pardridge, 2015; Fu, 2018; Zhao ve ark., 2022; Kadry ve ark., 2020).

Solüt taşıyıcı gen ailesi, çok sayıda substratın biyolojik membranlardan geçişini kolaylaştıran taşıyıcıları kodlayan 300'den fazla geni içermektedir (Lin ve ark., 2015). Bu taşıyıcılar glikoz, amino asitler, iyonlar, yağ asitleri, nükleotidler ve vitaminler gibi önemli moleküllerin alımında rol oynamaktadır. Kolaylaştırılmış difüzyon ve sekonder aktif taşıma yollarını kullanan SLC'ler, tek yönlü veya çift yönlü madde değişimine aracılık edebilmektedir. Taşıyıcıların lokalizasyonu endotel hücrelerinin klasik polarize yapısına uygun olacak şekilde, bazıları sadece luminal veya abluminal tarafta bulunurken, bazıınının da her iki tarafta eşit dağıldığı görülmektedir (Campos-Bedolla ve ark., 2014; Fu, 2018).

ABC taşıyıcı süper ailesi çoğunlukla endotel hücrelerin lüminal tarafında yerleşmiş ATP bağımlı taşıyıcılardan oluşmaktadır. Bu taşıyıcılar çok sayıda ilaç, ksenobiyotik ve endojen metabolitin ATP bağımlı olarak kana pompalanmasına aracılık etmekte ve beyini toksik maddelere karşı korumaktadır. Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi patolojik bazı durumlarda KBB'deki ABC taşıyıcılarının ekspresyonunda veya aktivitesinde azalış bildirilmiştir (Zlokovic, 2011). ABC taşıyıcıları için en iyi örnek, P-glikoprotein (Pgp) olup birçok ilacın hücre dışına aktif olarak pompalanmasında görev aldığı bilinmektedir (Cox ve ark., 2023).

SLC'ler ve ABC'lerin yanı sıra beyinin metabolik gereksinimlerini karşılamak üzere, düşük düzeyde devam eden transsitoz mekanizmasıyla da madde geçişi sağlanmaktadır. Transsitoz mekanizması başlıca endositoz, hücre içi veziküler hareket ve ekzositoz olmak üzere üç adımda gerçekleşmektedir. Temel mekanizma aynı olmakla birlikte transsitozun reseptör aracılı ve absorptif transsitoz olmak üzere iki tipi vardır. Reseptör aracılı transsitoz

(RMT) makromoleküllerin hücre yüzeyindeki spesifik reseptörüne bağlanması ile tetiklenirken, adsorptif transsitozda (AMT) ligand ile endotel hücrelerinin glikokaliksi arasında yüke bağlı doğrudan bir etkileşim endositoz sürecini başlatmaktadır (Ayloo ve Gu, 2019). Spesifik nöroaktif peptitler, düzenleyici proteinler, hormonlar ve büyüme faktörleri KBB'yi reseptör aracılı transsitoz mekanizması ile geçerek parçalanmadan MSS'ye girebilmektedir. Örneğin insülin ve leptinin KBB'den geçişi, reseptör aracılı endositoz mekanizması ile sağlanmaktadır (Pardridge ve ark., 1985; Zhang ve Pardridge, 2001a). RMT reseptörleri, ligandın kandan beyine geçişine (insülin ve transferrin), beyinden kana ters transsitozuna (IgG) veya endotel hücreleri boyunca net taşıma olmadan sadece beyin kapiller endoteline alınmasına (LDL) aracılık edebilmektedir (Zhang ve Pardridge, 2001a; 2001b).

4. BARIYER GEÇİRGENLİĞİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

KBB özellikle hasar ve hastalık durumlarında fonksiyonel özellikleri değişen dinamik bir yapıdır. İskemi-reperfüzyon hasarı veya nörodejeneratif hastalıklarda gözlenen KBB disfonksiyonu sıkı bağlantıların bozulması, transsitozda artış, transport özelliklerinde değişim ve lökosit infiltrasyonunda artış ile birlikte olabilir. KBB'nin patolojik değişimlerinde sitokinler başta olmak üzere eikosanoidler, serbest radikaller ve matris metalloproteinazları gibi inflamasyonla ilişkili çok sayıda molekül rol oynamaktadır (Zhao ve ark., 2022; Daneman, 2012).

Sitokinlerin neden olduğu geçirgenlik artışı, sıkı bağlantı proteinlerinin ifadesindeki değişimlerle ilişkili görünmektedir. Örneğin hCMEC/D3 ve astrositlerin birlikte kültüre edilmesiyle oluşturulan bir *in-vitro* KBB modelinde, IL-1 β 'nin ATP/P2X7R sinyal yolağını aktive ederek okludin ve ZO-1 yıkımında artışa neden olduğu gösterilmiştir. KBB'de IL-1 β 'nin indüklediği geçirgenlik artışı P2X7R inhibitörlerinin yanı sıra IL-1R ve MMP antagonistleri ile engellenmiştir (Yang ve ark., 2016). Farede subaraknoid hemoraji ile oluşturulan bir beyin hasar modelinde IL-1 β ekspresyonunda artış gösterilmiş ayrıca IL-1 β inhibisyonunun hasarı takiben gözlenen KBB sızıntısı ve ödem dahil semptomları hafiflettiği bildirilmiştir (Sozen ve ark., 2009). Sıçanlarda fokal serebral iskemiden sonra gelişen beyin hasarının, periferik uygulanan IL-1 reseptör antagonisti (rhIL-1ra) ile inhibe olduğu bildirilmiştir

(Relton ve ark., 1996). Ayrıca, fokal serebral iskemi oluşturulmuş farelerde, periferik IL-1 β enjeksiyonunun KBB yapısında bozulmaya, MMP artışına, klaudin 5 ve kollajen IV'de ise azalışa neden olduğu gösterilmiştir (McColl ve ark., 2008). Bir diğer proinflatuar sitokin olan TNF α 'nın da hCMEC/D3 hücrelerinde okludin ekspresyonunda azalmaya neden olarak KBB hasarını desteklediği görülmüştür (Zhang ve ark., 2019). Sıçanlarda yapılan intrakranial TNF α uygulamasının KBB'de açılmaya ve permeabilite artışına neden olduğu gösterilmiştir (Kim ve ark., 1992). Tüm bu veriler IL-1 ve TNF α 'nın KBB geçirgenliğini modüle eden önemli inflamatuar sitokinler olduğunu göstermektedir. Sitokinlerin yanı sıra inflamasyona yanıt olarak siklooksijenaz (COX) 1 ve COX2 aktivasyonu ve üretimi artan prostaglandinler ve lökotrienlerin KBB'de geçirgenlik artışına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Sıçanlarda beyin parenkimi içine doğrudan yapılan lökotrien enjeksiyonu KBB geçirgenliğinde artışa neden olurken lipoksijenaz inhibitörleri varlığında bu etkilerin azaldığı görülmüştür (Candelario-Jalil ve ark., 2007; Black ve Hoff, 1985).

Nöroinflammatuar yanıtların ilerlemesi genellikle reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve reaktif nitrojen türlerinin (RNS) oluşumu ile ilişkilidir ki bu reaktif ürünler KBB hasarının hem erken, hem de geç döneminde etkili aracı moleküller olarak görülmektedir (Zhao ve ark., 2014). KBB'nin önemli bir bileşeni olan membran lipidleri oksidatif hasara karşı oldukça hassastır. Membran lipidlerinin oksitlenmesiyle oluşan malondialdehit ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi sitotoksik peroksidasyon ürünleri KBB bütünlüğünün bozulmasına ve geçirgenlik artışına neden olmaktadır (Mertsch ve ark., 2001). Lipid peroksidasyonu, muhtemelen maddelerin transselüler geçişini modüle ederek, KBB geçirgenliğini arttırmaktadır (Pun ve ark., 2009). Oksidatif stres sıkı bağlantı proteinlerini düzenleyerek de KBB geçirgenliğini etkileyebilmektedir. Örneğin beyin mikrovasküler endotel hücre kültüründe peroksinitrit donörünün klaudin-5'de azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Haorah ve ark., 2005). Hücre kültürü ortamında yapılan diğer çalışmalarda yüksek oksidatif stresin okludin ekspresyonunda azalışa neden olduğu veya hücre içi dağılımını bozduğu, benzer şekilde ZO-1'in de sıkı bağlantı kompleksinden ayrılmasına neden olarak KBB geçirgenliğini arttırdığı gösterilmiştir (Schreibelt ve ark., 2007; Lee ve ark., 2004). İlaveten sıkı bağlantı proteinlerinin fosforilasyonu hücrenin oksidatif stres durumundan

etkilendiğinden, oksidatif stres artışı bu yolu kullanarak da bariyer fonksiyonunu bozabilmektedir (Haorah ve ark., 2005; Wong, 1997). Kısacası, KBB geçirgenliği için son derece önemli olan sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonu, dağılımı ve fosforilasyonunda, ROS tarafından indüklenen herhangi bir değişiklik KBB bütünlüğünü tehlikeye atabilmektedir. Tüm bunların yanı sıra artmış oksidatif stres hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi, inflamatuvar mediatörlerin üretiminde artış ve MMP'lerin aktivasyonu gibi etkileriyle de KBB'nin bozulmasına ve geçirgenlik artmasına neden olmaktadır (Pun ve ark., 2009).

Çinko bağımlı proteazlar olan MMP'ler ekstraselüler matris proteinlerinin, bazal membran bileşenlerinin ve endotelial sıkı bağlantılarla ilişkili proteinlerin yıkımında görev alan enzimlerdir. Bu nedenle, MMP aktivitesinin KBB geçirgenliğinde çok önemli bir belirleyici olduğu görülmektedir. MMP aktivitesi sıkı bağlantı proteinlerinin kesilmesine neden olarak, endotel hücre tabakasındaki paraselüler madde geçişinde ve KBB geçirgenliğinde artışa neden olabilmektedir. Hipoksi veya iskemi/reperfüzyon çalışmalarında görülen sıkı bağlantı proteinlerindeki azalma ve süreklilik kaybının MMP inhibisyonu ile tersine çevrilmesi KBB bütünlüğünün korunmasında MMP'lerin önemini göstermektedir (Bauer ve ark., 2010; Yang ve ark., 2007). MMP inhibisyonu, muhtemelen oklüdin kaybını azaltarak ve endotelial boşluk oluşumunu önleyerek KBB'de geçirgenlik artışını önlemektedir (Kim ve ark., 2003). KBB modülasyonunda rol oynayan MMP tipleri arasında MMP-2 ve MMP-9 öne çıkmaktadır (Rempe ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2018). MMP'nin KBB'yi parçalayıcı etkileri bu enzimlerin doku inhibitörleri (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase, TIMP) tarafından engellenebilmektedir. MMP-9 aktivitesi TIMP-1 tarafından, MMP-2 aktivitesi ise TIMP-2 tarafından inhibe edilmektedir. TIMP seviyesindeki azalma, MMP aktivitesinde ve ekspresyonunda artışa neden olarak KBB'de yıkıma ve geçirgenlik artışına neden olabilmektedir (Chen ve ark., 2020; Matsuura ve ark., 2020). Felç geçirmiş hastalarda ve deneysel serebral arter oklüzyon modellerinde MMP-2 ve MMP-9 artışı gözlenmiştir (Heo ve ark., 1999; Montaner ve ark., 2001). Periferik kanda MMP-9 artışı, inme geçiren hastalarda enfarktüs hacmi ile ilişkilendirilmektedir (Montaner ve ark., 2001). MMP-9 knockout farelerde yapılan çalışmalar ile MMP-9 antikoru veya MMP inhibitörlerinin kullanıldığı çalışmaların sonuçları, MMP yokluğu veya

inhibisyonunun enfarktüs hacminde azalma sağladığını göstermiştir (Asahi ve ark., 2000; Romanic ve ark., 1998). MMP'ları aktive eden kesin moleküler mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır. Bununla birlikte MMP-9, inme, multiple skleroz ve beyin travmaları dahil olmak üzere farklı MSS bozukluğunda KBB yıkımına neden olan ROS ve inflamatuvar sitokinler dahil olmak üzere çeşitli moleküler sinyaller tarafından uyarılan bir efektör gibi görünmektedir (Jin ve ark., 2010). Antioksidan kapasitenin düşük olduğu SOD2-knockout farelerde yüksek MMP aktivitesi ve KBB disfonksiyonu görülürken (Maier ve ark., 2006), SOD1 aşırı ekspresyonunun olduğu transgenik farelerde MMP-9 aktivitesinin düşük olması (Morita-Fujimura ve ark., 2000), MMP aktivasyonu için ROS'un önemli bir tetikleyici olduğunu göstermektedir. İnflamasyonda, inflamatuvar sitokinlerin, ROS ve RNS'nin artan üretimi, MMP sekresyonunu ve pro-MMP aktivasyonunu tetikleyebilirken, MMP'lerin de TNF- α ve IL-1 β dahil olmak üzere sitokinlerin öncül (pro) formlarını aktive edebildiği bilinmektedir (Rivera ve ark., 2010; Wu ve ark., 2011). Bu karşılıklı etkileşim KBB'de yıkım ve geçirgenlik artışını kötüleştirmektedir.

Bağışıklık hücrelerinin MSS'ye girişi, inme ve multiple skleroz dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların patogeneğinde kritik öneme sahiptir. İnflamatuvar hücrelerin spesifik hareketlerini düzenleyen birkaç moleküler etkileşim tanımlanmıştır. İnme hastalarında ve kemirgenlerdeki serebral arter oklüzyon modellerinde yapılan çalışmalarda, MSS endotel hücrelerinin yüzeyinde sıkı yapışmayla ilişkili adezyon moleküllerinin (Icam1) yanı sıra, lökositlerin yuvarlanma hareketiyle ilgili adezyon moleküllerinde de (E-selektin, P-selektin) artış gözlenmiştir (Love ve Barber, 2001). P-selektin knockout ve Icam1 knockout farelerde yapılan çalışmalarda veya Icam1-inhibe edici antikorların kullanıldığı çalışmalarda MSS'ye lökosit infiltrasyonunun azaldığı ve buna infarkt hacminde azalışın da eşlik ettiği görülmüştür. Tüm bunlar bağışıklık hücrelerinin MSS'ye girişinin inme patolojisi için kritik olduğunu göstermektedir (Bowes ve ark., 1993; Connolly ve ark., 1996; Mayadas ve ark., 1993). Gerçekten de hasarı takiben inflamatuvar yanıtın bir parçası olarak bölgeye toplanan nötrofiller ve makrofajlar KBB hasarında önemli rol oynamaktadır (Emerich ve ark., 2002; Soares ve ark., 1995). Aktif nötrofiller sahip oldukları NADPH oksidaz gibi enzimler nedeniyle önemli bir ROS kaynağı haline gelmektedir (Bannister ve ark., 1982). Makrofajların lokal

mikroglialardan mı yoksa KBB'yi geçerek beyine göç eden kan kaynaklı monositlerden mi geliştiği konusu hala belirsizliğini korumaktadır. Kökeni ne olursa olsun, makrofaj/mikroglial aktivasyon, KBB hasarına katılmaktadır ve bunların aktivasyonlarının engellenmesi KBB'de fonksiyon kaybını engellemektedir (Ryu ve McLarnon, 2009).

İnflamatuvar yanıtta gözlenen KBB işlev bozukluğu ile ilişkilendirilen bir diğer faktör de VEGF'dir. Güçlü bir anjiyojenik faktör olan VEGF inme hastalarında ve kemirgenlerdeki arteriyel oklüzyon modellerinde artmaktadır (Zhang ve ark., 2000). Endotel hücre kültüründe VEGF'nin ZO-1 ve oklüdin gibi sıkı bağlantı proteinlerinin dağılımını, ekspresyonunu ve fosforilasyonunu değiştirdiği ve geçirgenlik artışına neden olduğu gösterilmiştir (Wang ve ark., 2001; Murakami ve ark., 2009). VEGF'nin HIF-1 aracılı KBB yıkımında da rol onadığı gösterilmiştir. Bir transkripsiyon faktörü olan HIF-1'in VEGF ekspresyonunda artışa neden olduğu bilinmektedir. HIF-1'in inhibisyonu VEGF seviyesinde düşüğe neden olmakta ve KBB geçirgenliğindeki artışı engellemektedir (Yeh ve ark., 2007). HIF-1 iskemi sırasında MMP ekspresyonunu indükleyerek de KBB hasarını arttırmaktadır. Artan MMP aktivitesi oklüdin ve claudin-5'in parçalanmasına ve lokalizasyonunun değişmesine neden olarak KBB yapısında bozulmaya ve geçirgenlik artışına neden olmaktadır (Shen ve ark., 2018).

KBB bütünlüğünü ve geçirgenliğini etkileyen faktörler arasında bazı nörotransmitterler de vardır. Örneğin MSS'nin en önemli eksitator nörotransmitteri olan glutamatın, beyin vasküler endotel hücre kültüründe oklüdin seviyesinde azalışa neden olarak veya treonin amino asidinden fosforilasyonunu azaltarak KBB hasarına neden olduğu gösterilmiştir (András ve ark., 2007). Glutamatın NMDA reseptörü aracılığı ile peroksinitrit üretiminde artışa ve bu yolla da KBB hasarına neden olduğu düşünülmektedir (Xhima ve ark., 2016). Glutamatın KBB'de bulunan P-gp gibi taşıyıcı proteinlerin ekspresyonu ve aktivitesi üzerinde KBB'nin geçirgenlik özelliklerini değiştirebildiği gösterilmiştir (Bankstahl ve ark., 2008). Kesin moleküler mekanizmaları çok iyi bilinmese de NO, KBB geçirgenliğini arttıran bir diğer nörotransmitter olarak tanımlanmıştır. NO'nun damar genişlemesini indükleyerek ve MMP aktivitesinde artışa neden olarak KBB geçirgenliğini değiştirdiği bildirilmiştir (Mayhan, 2000). Ayrıca, NO üretimindeki artışın sıkı bağlantı ile ilişkili protein seviyelerinde bir azalmaya neden olduğu

gösterilmiştir (Yang ve ark., 2013). Bir diğer MSS nörotransmitteri olan histamin H2 reseptörü aracılı geçirgenliği artırırken, H1 reseptörü aracılı geçirgenlik azalışına neden olmaktadır (Abbott, 2000). Bradikinin ise B2 reseptörleri aracılığı ile klaudin-5 azalışına neden olmakta ve KBB geçirgenliğini arttırmaktadır (Zhou ve ark., 2014). ET-1'in KBB hasarındaki rolünü gösteren çalışmalar da vardır. Örneğin beyin endotel hücrelerinde, monositlerin endotelial bariyerden geçişini kolaylaştırdığı ve serebral iskemide KBB yıkımına ve beyin hasarına katıldığı gösterilmiştir (Reijerkerk ve ark., 2012; Lo ve ark., 2005).

5. BARIYER GEÇİRGENLİĞİNİN DEĞİŞTİĞİ PATOLOJİLER

Travmatik hasar, iskemi/reperfüzyon hasarı, multipl skleroz, Parkinson ve Alzheimer hastalığı, epilepsi, beyin tümörleri, glokom ve lizozomal depo hastalıkları dahil birçok MSS patolojisinde KBB'nin hasarlandığı, iyonlara, farklı moleküllere ve immün hücelere karşı bariyer özelliğini yitirdiği görülmektedir. Bu durum KBB geçirgenliğinde hafif ve geçici değişikliklerden kronik bariyer bozulmasına kadar değişebilmektedir (Daneman ve ark., 2010; Kadry ve ark., 2020; Zlokovic, 2008). KBB'nin geniş çaplı hasarı su ve plazma proteinlerinin MSS'ye girişine ve beyin hacminin artmasına neden olmaktadır. Bu durumun ilerlemesi kafa içi basıncın artmasına, perfüzyonun bozulmasına ve iskemiye, MSS dokusunun herniasyonuna ve ölüme neden olabilmektedir (Unterberg ve ark., 2004). Çoğu durumda, KBB'nin bozulması, travmatik beyin hasarı veya inmede olduğu gibi, bir hasar etkenine sekonder olarak gelişir. Ancak multiple skleroz, epilepsi ve Alzheimer hastalığı gibi diğer MSS bozukluklarında, hastalığın başlangıcında KBB fonksiyon kaybının bir rol oynayıp oynamadığı belirsizliğini korumaktadır (Daneman ve ark., 2010; Kadry ve ark., 2020; Zlokovic, 2008).

Alzheimer hastalarında gözlenen amiloid plakların ana bileşenlerinden birisi olan amiloid beta ($A\beta$) peptidin beyinde birikimi, mikroglialarda ve astrositlerde aktivasyona ve bu hücelerden $IL-1\beta$, $TNF\alpha$ ve $TGF\beta$ gibi sitokinlerin, sinir büyüme faktörü gibi nörotrofik faktörlerin ve reaktif oksijen türlerinin salınmasına neden olmaktadır (Klegeris ve ark., 1997). Ayrıca β -amiloid, inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde görev alan önemli bir transkripsiyon faktörü olan $NF-\kappa B$ 'nin artışına neden olarak, $TNF\alpha$, $IL-1$, $IL-$

6, monosit kemoatraktan protein-1 ve nitrik oksit sentazın ekspresyonunda artışa neden olmaktadır (Akama ve ark., 1998; Sivandzade ve ark., 2019). Tüm bu faktörlerin Alzheimer hastalarında KBB bütünlüğü ve geçirgenlik özelliklerinin bozulmasında rol oynadığı düşünülmektedir. A β , KBB'nin abluminal yüzeyinde lipoprotein reseptörü-ilişkili protein (LRP)-1'e bağlanarak, transsitoz mekanizması ile beyinden kana ters yönde taşınmaktadır. A β -LRP1 kompleksinin endositoz ve transsitoz mekanizmasının bozulması ve A β klirensindeki azalış Alzheimer hastalığı riskinde artış olarak kabul edilmektedir (Cai ve ark., 2018). Görüldüğü gibi hastalığın başlangıcında KBB fonksiyon bozukluğu beyinde A β birikimine neden olurken, A β birikimi KBB hasarının daha da artmasına neden olmaktadır.

KBB hasarının gözleendiği bir diğer nörodejeneratif bozukluk da Parkinson hastalığıdır. Hastalığın gelişiminde gözlenen oksidatif stres artışı ve MMP aktivasyonu KBB hasarında rol oynayan temel faktörler olarak görülmektedir (Pan ve Nicolazzo, 2018; Lee ve ark., 2014). 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) ile oluşturulan deneysel Parkinson modelinde striatal MMP-9 aktivitesinde artış, okludin miktarında azalma ve KBB geçirgenliğinde artış gösterilmiştir (Chen ve ark., 2008). Alzheimer hastalığındaki amiloid oligomerlerine benzer şekilde, α -sinükleinin okludin ve ZO-1 gibi sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunda azalmaya ve KBB hasarına neden olduğu da bildirilmiştir (Kuan ve ark., 2016).

Multipl skleroz, MSS bileşenlerine, özellikle de miyelin kılıfa otoimmün bir saldırı ile karakterize, motor ve duyuşal işlevlerin bozulmasına yol açan bir MSS bozukluğudur. Aktif makrofajlardan salgılanan interferon- γ , TNF α ve IL-3 gibi sitokinler ile reaktif oksijen türlerinin bu hastalarda gözlenen KBB hasarında rol oynayabileceği düşünülmektedir (Schreiner ve ark., 2022). Yapılan çalışmalarda lipid peroksidasyon ürünleri ve nitrik oksit metabolitlerinin multiple sklerozlu hastaların serumunda yüksek olduğu gösterilmiştir (Ortiz ve ark., 2009).

İnme MSS'nin belirli bölgelerine kan akımının bozulmasıyla sonuçlanan ve genelde bir serebral arterdeki trombüsten kaynaklanan ciddi bir problemdir. Deneysel hayvanlarında orta serebral arter oklüzyonu ve reperfüzyonu ile oluşturulan modellerde KBB geçirgenliğinde ve buna bağlı olarak plazma molekülleri ve lökositlerin MSS'ye girişinde artış gösterilmiştir. Hipoksi-iskeminin neden olduğu geçirgenlik artışında sitokinler, VEGF ve NO dahil

çeşitli faktörlerin rolü üzerinde durulmaktadır. Fokal ve global iskemi sonrasında beyin dokusunda ve inme hastalarının beyin omurilik sıvısında IL-1 β ve TNF- α 'nın seviyeleri yüksek bulunmuştur (Feuerstein ve ark., 1994; Tarkowski ve ark., 1997). Hipoksik koşullar altında yapılan *in-vitro* çalışmalarda insan astrositlerinden salgılanan çeşitli inflamatuvar aracılardan insan serebrovasküler endotel hücrelerinden IL-8, ICAM-1, E-selektin, IL-1 β , TNF- α ve MCP-1 ekspresyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu veriler inme nedeniyle artan KBB geçirgenliğinde inflamatuvar sitokinlerin rolünü desteklemektedir (Daneman ve ark., 2010; Kadry ve ark., 2020).

KBB yapısı ve geçirgenlik özelliklerinde değişimin gözlemlendiği bir diğer durum da yaşlılıktır. Artan KBB geçirgenliği yaşla birlikte beyin homeostazının bozulmasına ve çeşitli nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasına katkıda bulunmaktadır. Yaşlılıkta artan KBB geçirgenliği, ilerleyici inflamatuvar ortamda sıkı bağlantı proteinlerinin azalması ve perisit dejenerasyonu ile ilişkilendirilmektedir (Costea ve ark., 2019). Yaşlanmayla beraber beyinde mikroglial aktivasyon, IL-1 β , IFN γ ve TNF- α gibi inflamatuvar mediatörlerin miktarında artış gösterilmiştir (Kumagai ve ark., 2007). Farelerde yapılan çalışmalar, 24 aylık yaşlı farelerde okludin ve ZO-1 düzeyinin, 3 aylık genç farelere kıyasla önemli ölçüde düşük olduğunu göstermiştir (Elahy ve ark., 2015).

6. SONUÇ

İşlevsel ve yapısal bütünlüğü beyin homeostazını korumada hayati önem taşıyan KBB'nin geçirgenliği, kendisini oluşturan hücreler, hücreler arası bağlantılar ve madde alışverişinde görev alan taşıyıcılar tarafından düzenlenmektedir. Bariyerin temel unsuru olan endotel hücreleri arasındaki protein etkileşimleri, paraselüler madde geçişini önleyecek kadar sıkıdır. Yapılan çok sayıda çalışma, sıkı bağlantı proteinlerinin KBB bütünlüğü ve fonksiyonları açısından kritik olduğunu, IL-1, TNF- α , eikosanoitler, bradikinin, serbest radikaller, MMP'ler gibi çok sayıda inflamatuvar molekülün bu proteinleri düzenleyerek KBB hasarına ve geçirgenlik artışına aracılık ettiğini göstermektedir. Multiple skleroz, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve iskemik hasar dahil çok sayıda hastalıkta inflamatuvar aracı moleküller KBB hasarına aracılık etmektedir. KBB geçirgenliğindeki artışların ve bununla ilişkili MSS patolojilerinin engellenmesinde, sıkı bağlantı

proteinlerinin yapısal bütünlüğünün koruyacak girişimler anahtar rol oynayabilir. Sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonu ve lokalizasyonunu etkileyen bütün faktörlerin ve bunların etki mekanizmalarının açığa çıkarılması, KBB geçirgenliğinin anlaşılmasında ve tedaviye yönelik yaklaşımların geliştirilmesinde önemlidir ve bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

- Abbott N. J. (2000). Inflammatory mediators and modulation of blood-brain barrier permeability. *Cellular and molecular neurobiology*, 20(2), 131–147. <https://doi.org/10.1023/a:1007074420772>
- Abbott N. J. (2002). Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability. *Journal of anatomy*, 200(6), 629–638. <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2002.00064.x>
- Akama, K. T., Albanese, C., Pestell, R. G., & Van Eldik, L. J. (1998). Amyloid beta-peptide stimulates nitric oxide production in astrocytes through an NFkappaB-dependent mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(10), 5795–5800. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.10.5795>
- András, I. E., Deli, M. A., Veszélka, S., Hayashi, K., Hennig, B., & Toborek, M. (2007). The NMDA and AMPA/KA receptors are involved in glutamate-induced alterations of occludin expression and phosphorylation in brain endothelial cells. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 27(8), 1431–1443. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600445>
- Asahi, M., Asahi, K., Jung, J. C., del Zoppo, G. J., Fini, M. E., & Lo, E. H. (2000). Role for matrix metalloproteinase 9 after focal cerebral ischemia: effects of gene knockout and enzyme inhibition with BB-94. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 20(12), 1681–1689. <https://doi.org/10.1097/00004647-200012000-00007>
- Ayloo, S., & Gu, C. (2019). Transcytosis at the blood-brain barrier. *Current opinion in neurobiology*, 57, 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.12.014>
- Bamforth, S. D., Kniesel, U., Wolburg, H., Engelhardt, B., & Risau, W. (1999). A dominant mutant of occludin disrupts tight junction structure and function. *Journal of cell science*, 112 (Pt 12), 1879–1888. <https://doi.org/10.1242/jcs.112.12.1879>
- Bankstahl, J. P., Hoffmann, K., Bethmann, K., & Löscher, W. (2008). Glutamate is critically involved in seizure-induced overexpression of P-glycoprotein in the brain. *Neuropharmacology*, 54(6), 1006–1016. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.02.008>
- Bannister, J. V., Bellavite, P., Davoli, A., Thornalley, P. J., & Rossi, F. (1982). The generation of hydroxyl radicals following superoxide production by

- neutrophil NADPH oxidase. *FEBS letters*, 150(2), 300–302. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(82\)80755-2](https://doi.org/10.1016/0014-5793(82)80755-2)
- Bauer, A. T., Bürgers, H. F., Rabie, T., & Marti, H. H. (2010). Matrix metalloproteinase-9 mediates hypoxia-induced vascular leakage in the brain via tight junction rearrangement. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 30(4), 837–848. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.248>
- Black, K. L., & Hoff, J. T. (1985). Leukotrienes increase blood-brain barrier permeability following intraparenchymal injections in rats. *Annals of neurology*, 18(3), 349–351. <https://doi.org/10.1002/ana.410180313>.
- Bowes, M. P., Zivin, J. A., & Rothlein, R. (1993). Monoclonal antibody to the ICAM-1 adhesion site reduces neurological damage in a rabbit cerebral embolism stroke model. *Experimental neurology*, 119(2), 215–219. <https://doi.org/10.1006/exnr.1993.1023>
- Brunner, N., Stein, L., Cornelius, V., Knittel, R., Fallier-Becker, P., & Amasheh, S. (2020). Blood-Brain Barrier Protein Claudin-5 Expressed in Paired *Xenopus laevis* Oocytes Mediates Cell-Cell Interaction. *Frontiers in physiology*, 11, 857. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00857>
- Cai Z, Qiao PF, Wan CQ, Cai M, Zhou NK, Li Q. Role of Blood-Brain Barrier in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2018;63(4):1223-1234. doi: 10.3233/JAD-180098. PMID: 29782323.
- Campos-Bedolla, P., Walter, F. R., Veszelka, S., & Deli, M. A. (2014). Role of the blood-brain barrier in the nutrition of the central nervous system. *Archives of medical research*, 45(8), 610–638. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2014.11.018>
- Candelario-Jalil, E., Taheri, S., Yang, Y., Sood, R., Grossetete, M., Estrada, E. Y., Fiebich, B. L., & Rosenberg, G. A. (2007). Cyclooxygenase inhibition limits blood-brain barrier disruption following intracerebral injection of tumor necrosis factor-alpha in the rat. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 323(2), 488–498. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.127035>
- Carrano, A., Hoozemans, J. J., van der Vies, S. M., Rozemuller, A. J., van Horssen, J., & de Vries, H. E. (2011). Amyloid Beta induces oxidative stress-mediated blood-brain barrier changes in capillary amyloid angiopathy. *Antioxidants & redox signaling*, 15(5), 1167–1178. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.3895>
- Ceafalan, L. C., Fertig, T. E., Gheorghe, T. C., Hinescu, M. E., Popescu, B. O., Pahnke, J., & Gherghiceanu, M. (2019). Age-related ultrastructural

- changes of the basement membrane in the mouse blood-brain barrier. *Journal of cellular and molecular medicine*, 23(2), 819–827. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13980>
- Chen, A. Q., Fang, Z., Chen, X. L., Yang, S., Zhou, Y. F., Mao, L., Xia, Y. P., Jin, H. J., Li, Y. N., You, M. F., Wang, X. X., Lei, H., He, Q. W., & Hu, B. (2019). Microglia-derived TNF- α mediates endothelial necroptosis aggravating blood brain-barrier disruption after ischemic stroke. *Cell death & disease*, 10(7), 487. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1716-9>
- Chen, R., Song, Z., Deng, M., Zheng, W., Liu, J., & Huang, L. (2020). TIMP-2 Polymorphisms Define Subtypes of Hypertensive Intracerebral Hemorrhage with Distinct Perihematomal Edema Development Patterns. *Current neurovascular research*, 17(1), 44–49. <https://doi.org/10.2174/1567202617666191223145632>
- Chen, X., Lan, X., Roche, I., Liu, R., & Geiger, J. D. (2008). Caffeine protects against MPTP-induced blood-brain barrier dysfunction in mouse striatum. *Journal of neurochemistry*, 107(4), 1147–1157. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05697.x>
- Connolly, E. S., Jr, Winfree, C. J., Springer, T. A., Naka, Y., Liao, H., Yan, S. D., Stern, D. M., Solomon, R. A., Gutierrez-Ramos, J. C., & Pinsky, D. J. (1996). Cerebral protection in homozygous null ICAM-1 mice after middle cerebral artery occlusion. Role of neutrophil adhesion in the pathogenesis of stroke. *The Journal of clinical investigation*, 97(1), 209–216. <https://doi.org/10.1172/JCI118392>
- Costea, L., Mészáros, Á., Bauer, H., Bauer, H. C., Traweger, A., Wilhelm, I., Farkas, A. E., & Krizbai, I. A. (2019). The Blood-Brain Barrier and Its Intercellular Junctions in Age-Related Brain Disorders. *International journal of molecular sciences*, 20(21), 5472. <https://doi.org/10.3390/ijms20215472>
- Cox, B., Nicolaï, J., & Williamson, B. (2023). The role of the efflux transporter, P-glycoprotein, at the blood-brain barrier in drug discovery. *Biopharmaceutics & drug disposition*, 44(1), 113–126. <https://doi.org/10.1002/bdd.2331>
- Daneman R. (2012). The blood-brain barrier in health and disease. *Annals of neurology*, 72(5), 648–672. <https://doi.org/10.1002/ana.23648>
- Daneman, R., Zhou, L., Kebede, A. A., & Barres, B. A. (2010). Pericytes are required for blood-brain barrier integrity during embryogenesis. *Nature*, 468(7323), 562–566. <https://doi.org/10.1038/nature09513>
- Elahy, M., Jackaman, C., Mamo, J. C., Lam, V., Dhaliwal, S. S., Giles, C., Nelson, D., & Takechi, R. (2015). Blood-brain barrier dysfunction

- developed during normal aging is associated with inflammation and loss of tight junctions but not with leukocyte recruitment. *Immunity & ageing : I & A*, 12, 2. <https://doi.org/10.1186/s12979-015-0029-9>
- Emerich, D. F., Dean, R. L., 3rd, & Bartus, R. T. (2002). The role of leukocytes following cerebral ischemia: pathogenic variable or bystander reaction to emerging infarct?. *Experimental neurology*, 173(1), 168–181. <https://doi.org/10.1006/exnr.2001.7835>
- Feuerstein, G. Z., Liu, T., & Barone, F. C. (1994). Cytokines, inflammation, and brain injury: role of tumor necrosis factor- α . *Cerebrovascular and brain metabolism reviews*, 6(4), 341–360.
- Fu B. M. (2018). Transport Across the Blood-Brain Barrier. *Advances in experimental medicine and biology*, 1097, 235–259. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96445-4_13
- Ghosh, C., Puvenna, V., Gonzalez-Martinez, J., Janigro, D., & Marchi, N. (2011). Blood-brain barrier P450 enzymes and multidrug transporters in drug resistance: a synergistic role in neurological diseases. *Current drug metabolism*, 12(8), 742–749. <https://doi.org/10.2174/138920011798357051>
- Hall, C. N., Reynell, C., Gesslein, B., Hamilton, N. B., Mishra, A., Sutherland, B. A., O'Farrell, F. M., Buchan, A. M., Lauritzen, M., & Attwell, D. (2014). Capillary pericytes regulate cerebral blood flow in health and disease. *Nature*, 508(7494), 55–60. <https://doi.org/10.1038/nature13165>
- Haorah, J., Knipe, B., Leibhart, J., Ghorpade, A., & Persidsky, Y. (2005). Alcohol-induced oxidative stress in brain endothelial cells causes blood-brain barrier dysfunction. *Journal of leukocyte biology*, 78(6), 1223–1232. <https://doi.org/10.1189/jlb.0605340>
- Haseloff, R. F., Dithmer, S., Winkler, L., Wolburg, H., & Blasig, I. E. (2015). Transmembrane proteins of the tight junctions at the blood-brain barrier: structural and functional aspects. *Seminars in cell & developmental biology*, 38, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2014.11.004>
- Heo, J. H., Lucero, J., Abumiya, T., Koziol, J. A., Copeland, B. R., & del Zoppo, G. J. (1999). Matrix metalloproteinases increase very early during experimental focal cerebral ischemia. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 19(6), 624–633. <https://doi.org/10.1097/00004647-199906000-00005>
- Jiao, H., Wang, Z., Liu, Y., Wang, P., & Xue, Y. (2011). Specific role of tight junction proteins claudin-5, occludin, and ZO-1 of the blood-brain barrier in a focal cerebral ischemic insult. *Journal of molecular*

- neuroscience: MN*, 44(2), 130–139. <https://doi.org/10.1007/s12031-011-9496-4>
- Jin, R., Yang, G., & Li, G. (2010). Molecular insights and therapeutic targets for blood-brain barrier disruption in ischemic stroke: critical role of matrix metalloproteinases and tissue-type plasminogen activator. *Neurobiology of disease*, 38(3), 376–385. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.03.008>
- Kadry, H., Noorani, B., & Cucullo, L. (2020). A blood-brain barrier overview on structure, function, impairment, and biomarkers of integrity. *Fluids and barriers of the CNS*, 17(1), 69. <https://doi.org/10.1186/s12987-020-00230-3>
- Kim, G. W., Gasche, Y., Grzeschik, S., Copin, J. C., Maier, C. M., & Chan, P. H. (2003). Neurodegeneration in striatum induced by the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid: role of matrix metalloproteinase-9 in early blood-brain barrier disruption?. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(25), 8733–8742. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-25-08733.2003>
- Kim, K. S., Wass, C. A., Cross, A. S., & Opal, S. M. (1992). Modulation of blood-brain barrier permeability by tumor necrosis factor and antibody to tumor necrosis factor in the rat. *Lymphokine and cytokine research*, 11(6), 293–298.
- Klegeris, A., & McGeer, P. L. (1997). Beta-amyloid protein enhances macrophage production of oxygen free radicals and glutamate. *Journal of neuroscience research*, 49(2), 229–235. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4547\(19970715\)49:2<229::aid-jnr11>3.0.co;2-w](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4547(19970715)49:2<229::aid-jnr11>3.0.co;2-w)
- Kuan, W. L., Bennett, N., He, X., Skepper, J. N., Martynyuk, N., Wijeyekoon, R., Moghe, P. V., Williams-Gray, C. H., & Barker, R. A. (2016). α -Synuclein pre-formed fibrils impair tight junction protein expression without affecting cerebral endothelial cell function. *Experimental neurology*, 285(Pt A), 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.09.003>
- Kumagai, N., Chiba, Y., Hosono, M., Fujii, M., Kawamura, N., Keino, H., Yoshikawa, K., Ishii, S., Saitoh, Y., Satoh, M., Shimada, A., & Hosokawa, M. (2007). Involvement of pro-inflammatory cytokines and microglia in an age-associated neurodegeneration model, the SAMP10 mouse. *Brain research*, 1185, 75–85. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.09.021>
- Lee, H. S., Namkoong, K., Kim, D. H., Kim, K. J., Cheong, Y. H., Kim, S. S., Lee, W. B., & Kim, K. Y. (2004). Hydrogen peroxide-induced alterations

- of tight junction proteins in bovine brain microvascular endothelial cells. *Microvascular research*, 68(3), 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2004.07.005>
- Lee, H., & Pienaar, I. S. (2014). Disruption of the blood-brain barrier in Parkinson's disease: curse or route to a cure?. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 19(2), 272–280. <https://doi.org/10.2741/4206>
- Lin, L., Yee, S. W., Kim, R. B., & Giacomini, K. M. (2015). SLC transporters as therapeutic targets: emerging opportunities. *Nature reviews. Drug discovery*, 14(8), 543–560. <https://doi.org/10.1038/nrd4626>
- Lindahl, P., Johansson, B. R., Levéen, P., & Betsholtz, C. (1997). Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice. *Science (New York, N.Y.)*, 277(5323), 242–245. <https://doi.org/10.1126/science.277.5323.242>
- Liu, Y., Ma, Y., Du, B., Wang, Y., Yang, G. Y., & Bi, X. (2020). Mesenchymal Stem Cells Attenuated Blood-Brain Barrier Disruption via Downregulation of Aquaporin-4 Expression in EAE Mice. *Molecular neurobiology*, 57(9), 3891–3901. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-01998-z>
- Lo, A. C., Chen, A. Y., Hung, V. K., Yaw, L. P., Fung, M. K., Ho, M. C., Tsang, M. C., Chung, S. S., & Chung, S. K. (2005). Endothelin-1 overexpression leads to further water accumulation and brain edema after middle cerebral artery occlusion via aquaporin 4 expression in astrocytic end-feet. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 25(8), 998–1011. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600108>
- Lochhead, J. J., McCaffrey, G., Sanchez-Covarrubias, L., Finch, J. D., Demarco, K. M., Quigley, C. E., Davis, T. P., & Ronaldson, P. T. (2012). Tempol modulates changes in xenobiotic permeability and occludin oligomeric assemblies at the blood-brain barrier during inflammatory pain. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 302(3), H582–H593. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00889.2011>
- Love, S., & Barber, R. (2001). Expression of P-selectin and intercellular adhesion molecule-1 in human brain after focal infarction or cardiac arrest. *Neuropathology and applied neurobiology*, 27(6), 465–473. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2990.2001.00356.x>
- Maier, C. M., Hsieh, L., Crandall, T., Narasimhan, P., & Chan, P. H. (2006). A new approach for the investigation of reperfusion-related brain injury. *Biochemical Society transactions*, 34(Pt 6), 1366–1369. <https://doi.org/10.1042/BST0341366>

- Man, S., Ubogu, E. E., & Ransohoff, R. M. (2007). Inflammatory cell migration into the central nervous system: a few new twists on an old tale. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 17(2), 243–250. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2007.00067.x>
- Martin-Padura, I., Lostaglio, S., Schneemann, M., Williams, L., Romano, M., Fruscella, P., Panzeri, C., Stoppacciaro, A., Ruco, L., Villa, A., Simmons, D., & Dejana, E. (1998). Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *The Journal of cell biology*, 142(1), 117–127. <https://doi.org/10.1083/jcb.142.1.117>
- Matsuura, R., Hamano, S. I., Daida, A., Nonoyama, H., Kubota, J., Ikemoto, S., Hirata, Y., Koichihara, R., Kikuchi, K., Yamaguchi, A., Sakuma, H., & Takahashi, Y. (2020). Serum matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels in autoimmune encephalitis. *Brain & development*, 42(3), 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2019.11.010>
- Mayadas, T. N., Johnson, R. C., Rayburn, H., Hynes, R. O., & Wagner, D. D. (1993). Leukocyte rolling and extravasation are severely compromised in P selectin-deficient mice. *Cell*, 74(3), 541–554. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)80055-j](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)80055-j)
- Mayhan W. G. (2000). Nitric oxide donor-induced increase in permeability of the blood-brain barrier. *Brain research*, 866(1-2), 101–108. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)02254-x](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)02254-x)
- McColl, B. W., Rothwell, N. J., & Allan, S. M. (2008). Systemic inflammation alters the kinetics of cerebrovascular tight junction disruption after experimental stroke in mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 28(38), 9451–9462. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2674-08.2008>
- Mertsch, K., Blasig, I., & Grune, T. (2001). 4-Hydroxynonenal impairs the permeability of an in vitro rat blood-brain barrier. *Neuroscience letters*, 314(3), 135–138. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(01\)02299-6](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)02299-6)
- Michinaga, S., & Koyama, Y. (2019). Dual Roles of Astrocyte-Derived Factors in Regulation of Blood-Brain Barrier Function after Brain Damage. *International journal of molecular sciences*, 20(3), 571. <https://doi.org/10.3390/ijms20030571>
- Montaner, J., Alvarez-Sabín, J., Molina, C., Anglés, A., Abilleira, S., Arenillas, J., González, M. A., & Monasterio, J. (2001). Matrix metalloproteinase expression after human cardioembolic stroke: temporal profile and

- relation to neurological impairment. *Stroke*, 32(8), 1759–1766. <https://doi.org/10.1161/01.str.32.8.1759>
- Morita-Fujimura, Y., Fujimura, M., Gasche, Y., Copin, J. C., & Chan, P. H. (2000). Overexpression of copper and zinc superoxide dismutase in transgenic mice prevents the induction and activation of matrix metalloproteinases after cold injury-induced brain trauma. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 20(1), 130–138. <https://doi.org/10.1097/00004647-200001000-00017>
- Murakami, T., Felinski, E. A., & Antonetti, D. A. (2009). Occludin phosphorylation and ubiquitination regulate tight junction trafficking and vascular endothelial growth factor-induced permeability. *The Journal of biological chemistry*, 284(31), 21036–21046. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.016766>
- Nguyen, B., Bix, G., & Yao, Y. (2021). Basal lamina changes in neurodegenerative disorders. *Molecular neurodegeneration*, 16(1), 81. <https://doi.org/10.1186/s13024-021-00502-y>
- Nitta, T., Hata, M., Gotoh, S., Seo, Y., Sasaki, H., Hashimoto, N., Furuse, M., & Tsukita, S. (2003). Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice. *The Journal of cell biology*, 161(3), 653–660. <https://doi.org/10.1083/jcb.200302070>
- Ortiz, G. G., Macías-Islas, M. A., Pacheco-Moisés, F. P., Cruz-Ramos, J. A., Sustersik, S., Barba, E. A., & Aguayo, A. (2009). Oxidative stress is increased in serum from Mexican patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Disease markers*, 26(1), 35–39. <https://doi.org/10.3233/DMA-2009-0602>
- Pan, Y., & Nicolazzo, J. A. (2018). Impact of aging, Alzheimer's disease and Parkinson's disease on the blood-brain barrier transport of therapeutics. *Advanced drug delivery reviews*, 135, 62–74. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.04.009>
- Pardridge W. M. (2005). The blood-brain barrier: bottleneck in brain drug development. *NeuroRx : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 2(1), 3–14. <https://doi.org/10.1602/neurorx.2.1.3>
- Pardridge W. M. (2015). Blood-brain barrier endogenous transporters as therapeutic targets: a new model for small molecule CNS drug discovery. *Expert opinion on therapeutic targets*, 19(8), 1059–1072. <https://doi.org/10.1517/14728222.2015.1042364>

- Pardridge, W. M., Eisenberg, J., & Yang, J. (1985). Human blood-brain barrier insulin receptor. *Journal of neurochemistry*, *44*(6), 1771–1778. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1985.tb07167.x>
- Pun, P. B., Lu, J., & Moochhala, S. (2009). Involvement of ROS in BBB dysfunction. *Free radical research*, *43*(4), 348–364. <https://doi.org/10.1080/10715760902751902>
- Ramsauer, M., Krause, D., & Dermietzel, R. (2002). Angiogenesis of the blood-brain barrier in vitro and the function of cerebral pericytes. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *16*(10), 1274–1276. <https://doi.org/10.1096/fj.01-0814fje>
- Reijerkerk, A., Lakeman, K. A., Drexhage, J. A., van Het Hof, B., van Wijck, Y., van der Pol, S. M., Kooij, G., Geerts, D., & de Vries, H. E. (2012). Brain endothelial barrier passage by monocytes is controlled by the endothelin system. *Journal of neurochemistry*, *121*(5), 730–737. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07393.x>
- Relton, J. K., Martin, D., Thompson, R. C., & Russell, D. A. (1996). Peripheral administration of Interleukin-1 Receptor antagonist inhibits brain damage after focal cerebral ischemia in the rat. *Experimental neurology*, *138*(2), 206–213. <https://doi.org/10.1006/exnr.1996.0059>
- Rempe, R. G., Hartz, A. M. S., & Bauer, B. (2016). Matrix metalloproteinases in the brain and blood-brain barrier: Versatile breakers and makers. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *36*(9), 1481–1507. <https://doi.org/10.1177/0271678X16655551>
- Rivera, S., Khrestchatsky, M., Kaczmarek, L., Rosenberg, G. A., & Jaworski, D. M. (2010). Metzincin proteases and their inhibitors: foes or friends in nervous system physiology?. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *30*(46), 15337–15357. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3467-10.2010>
- Romanic, A. M., White, R. F., Arleth, A. J., Ohlstein, E. H., & Barone, F. C. (1998). Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces infarct size. *Stroke*, *29*(5), 1020–1030. <https://doi.org/10.1161/01.str.29.5.1020>
- Ryu, J. K., & McLarnon, J. G. (2009). A leaky blood-brain barrier, fibrinogen infiltration and microglial reactivity in inflamed Alzheimer's disease brain. *Journal of cellular and molecular medicine*, *13*(9A), 2911–2925. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00434.x>

- Savettieri, G., Di Liegro, I., Catania, C., Licata, L., Pitarresi, G. L., D'Agostino, S., Schiera, G., De Caro, V., Giandalia, G., Giannola, L. I., & Cestelli, A. (2000). Neurons and ECM regulate occludin localization in brain endothelial cells. *Neuroreport*, *11*(5), 1081–1084. <https://doi.org/10.1097/00001756-200004070-00035>
- Schreibelt, G., Kooij, G., Reijkerkerk, A., van Doorn, R., Gringhuis, S. I., van der Pol, S., Weksler, B. B., Romero, I. A., Couraud, P. O., Piontek, J., Blasig, I. E., Dijkstra, C. D., Ronken, E., & de Vries, H. E. (2007). Reactive oxygen species alter brain endothelial tight junction dynamics via RhoA, PI3 kinase, and PKB signaling. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *21*(13), 3666–3676. <https://doi.org/10.1096/fj.07-8329com>
- Schreiner TG, Romanescu C, Popescu BO. The Blood-Brain Barrier-A Key Player in Multiple Sclerosis Disease Mechanisms. *Biomolecules*. 2022 Apr 2;12(4):538. doi: 10.3390/biom12040538. PMID: 35454127; PMCID: PMC9025898.
- Shen, Y., Gu, J., Liu, Z., Xu, C., Qian, S., Zhang, X., Zhou, B., Guan, Q., Sun, Y., Wang, Y., & Jin, X. (2018). Inhibition of HIF-1 α Reduced Blood Brain Barrier Damage by Regulating MMP-2 and VEGF During Acute Cerebral Ischemia. *Frontiers in cellular neuroscience*, *12*, 288. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00288>
- Sivandzade, F., Prasad, S., Bhalerao, A., & Cucullo, L. (2019). NRF2 and NF- κ B interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: Molecular mechanisms and possible therapeutic approaches. *Redox biology*, *21*, 101059. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.11.017>
- Soares, H. D., Hicks, R. R., Smith, D., & McIntosh, T. K. (1995). Inflammatory leukocytic recruitment and diffuse neuronal degeneration are separate pathological processes resulting from traumatic brain injury. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *15*(12), 8223–8233. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-12-08223.1995>
- Sozen, T., Tsuchiyama, R., Hasegawa, Y., Suzuki, H., Jadhav, V., Nishizawa, S., & Zhang, J. H. (2009). Role of interleukin-1beta in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in mice. *Stroke*, *40*(7), 2519–2525. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.549592>
- Stratman, A. N., Malotte, K. M., Mahan, R. D., Davis, M. J., & Davis, G. E. (2009). Pericyte recruitment during vasculogenic tube assembly stimulates endothelial basement membrane matrix formation. *Blood*, *114*(24), 5091–5101. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-05-222364>

- Sun, X. G., Duan, H., Jing, G., Wang, G., Hou, Y., & Zhang, M. (2019). Inhibition of TREM-1 attenuates early brain injury after subarachnoid hemorrhage via downregulation of p38MAPK/MMP-9 and preservation of ZO-1. *Neuroscience*, *406*, 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.03.032>
- Takenaga, Y., Takagi, N., Murotomi, K., Tanonaka, K., & Takeo, S. (2009). Inhibition of Src activity decreases tyrosine phosphorylation of occludin in brain capillaries and attenuates increase in permeability of the blood-brain barrier after transient focal cerebral ischemia. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *29*(6), 1099–1108. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.30>
- Tarkowski, E., Rosengren, L., Blomstrand, C., Wikkelso, C., Jensen, C., Ekholm, S., & Tarkowski, A. (1997). Intrathecal release of pro- and anti-inflammatory cytokines during stroke. *Clinical and experimental immunology*, *110*(3), 492–499. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.1997.4621483.x>
- Taylor, R. A., & Sansing, L. H. (2013). Microglial responses after ischemic stroke and intracerebral hemorrhage. *Clinical & developmental immunology*, *2013*, 746068. <https://doi.org/10.1155/2013/746068>
- Unterberg, A. W., Stover, J., Kress, B., & Kiening, K. L. (2004). Edema and brain trauma. *Neuroscience*, *129*(4), 1021–1029. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.06.046>
- Wang, W., Dentler, W. L., & Borchardt, R. T. (2001). VEGF increases BMEC monolayer permeability by affecting occludin expression and tight junction assembly. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, *280*(1), H434–H440. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2001.280.1.H434>
- Wong V. (1997). Phosphorylation of occludin correlates with occludin localization and function at the tight junction. *The American journal of physiology*, *273*(6), C1859–C1867. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.273.6.C1859>
- Wu, B., Ma, Q., Suzuki, H., Chen, C., Liu, W., Tang, J., & Zhang, J. (2011). Recombinant osteopontin attenuates brain injury after intracerebral hemorrhage in mice. *Neurocritical care*, *14*(1), 109–117. <https://doi.org/10.1007/s12028-010-9372-z>
- Xhima, K., Weber-Adrian, D., & Silburt, J. (2016). Glutamate Induces Blood-Brain Barrier Permeability through Activation of N-Methyl-D-Aspartate Receptors. *The Journal of neuroscience : the official journal of the*

- Society for Neuroscience*, 36(49), 12296–12298. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2962-16.2016>
- Yang, F., Zhao, K., Zhang, X., Zhang, J., & Xu, B. (2016). ATP Induces Disruption of Tight Junction Proteins via IL-1 Beta-Dependent MMP-9 Activation of Human Blood-Brain Barrier *In Vitro*. *Neural plasticity*, 2016, 8928530. <https://doi.org/10.1155/2016/8928530>
- Yang, S., Chen, Y., Deng, X., Jiang, W., Li, B., Fu, Z., Du, M., & Ding, R. (2013). Hemoglobin-induced nitric oxide synthase overexpression and nitric oxide production contribute to blood-brain barrier disruption in the rat. *Journal of molecular neuroscience : MN*, 51(2), 352–363. <https://doi.org/10.1007/s12031-013-9990-y>
- Yang, Y., Estrada, E. Y., Thompson, J. F., Liu, W., & Rosenberg, G. A. (2007). Matrix metalloproteinase-mediated disruption of tight junction proteins in cerebral vessels is reversed by synthetic matrix metalloproteinase inhibitor in focal ischemia in rat. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 27(4), 697–709. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600375>
- Yeh, W. L., Lu, D. Y., Lin, C. J., Liou, H. C., & Fu, W. M. (2007). Inhibition of hypoxia-induced increase of blood-brain barrier permeability by YC-1 through the antagonism of HIF-1 α accumulation and VEGF expression. *Molecular pharmacology*, 72(2), 440–449. <https://doi.org/10.1124/mol.107.036418>
- Zhang, S., An, Q., Wang, T., Gao, S., & Zhou, G. (2018). Autophagy- and MMP-2/9-mediated Reduction and Redistribution of ZO-1 Contribute to Hyperglycemia-increased Blood-Brain Barrier Permeability During Early Reperfusion in Stroke. *Neuroscience*, 377, 126–137. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.02.035>
- Zhang, Y., & Pardridge, W. M. (2001a). Rapid transferrin efflux from brain to blood across the blood-brain barrier. *Journal of neurochemistry*, 76(5), 1597–1600. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00222.x>
- Zhang, Y., & Pardridge, W. M. (2001b). Mediated efflux of IgG molecules from brain to blood across the blood-brain barrier. *Journal of neuroimmunology*, 114(1-2), 168–172. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(01\)00242-9](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(01)00242-9)
- Zhang, Y., Ding, X., Miao, C., & Chen, J. (2019). Propofol attenuated TNF- α -modulated occludin expression by inhibiting Hif-1 α / VEGF/ VEGFR-2/ ERK signaling pathway in hCMEC/D3 cells. *BMC anesthesiology*, 19(1), 127. <https://doi.org/10.1186/s12871-019-0788-5>

- Zhang, Z. G., Zhang, L., Jiang, Q., Zhang, R., Davies, K., Powers, C., Bruggen, N.v., & Chopp, M. (2000). VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain. *The Journal of clinical investigation*, 106(7), 829–838. <https://doi.org/10.1172/JCI9369>
- Zhao, Y., Gan, L., Ren, L., Lin, Y., Ma, C., & Lin, X. (2022). Factors influencing the blood-brain barrier permeability. *Brain research*, 1788, 147937. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2022.147937>
- Zhao, Z., Hu, J., Gao, X., Liang, H., & Liu, Z. (2014). Activation of AMPK attenuates lipopolysaccharide-impaired integrity and function of blood-brain barrier in human brain microvascular endothelial cells. *Experimental and molecular pathology*, 97(3), 386–392. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2014.09.006>
- Zhou L, Yang B, Wang Y, Zhang HL, Chen RW, Wang YB. Bradykinin regulates the expression of claudin-5 in brain microvascular endothelial cells via calcium-induced calcium release. *J Neurosci Res*. 2014 May;92(5):597-606. doi: 10.1002/jnr.23350.
- Zlokovic B. V. (2008). The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron*, 57(2), 178–201. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.01.003>
- Zlokovic B. V. (2011). Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nature reviews. Neuroscience*, 12(12), 723–738. <https://doi.org/10.1038/nrn3114>

BÖLÜM 9

MERKEZİ SİNİR SİSTEMİNE YERLEŞEN SERBEST YAŞAYAN AMİPLER

Dr. Öğr. Üyesi Türkan Mutlu YAR¹
Doç. Dr. Ülkü KARAMAN¹

¹Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Ana Bilim Dalı,Ordu, Türkiye.
mutluyarr@gmail.com, Orcid ID:0000-0002-7145-7476¹

Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Ana Bilim Dalı,Ordu,
Türkiye.ulkukaraman@hotmail.com, Orcid ID: 0000-0001-7027-1613

GİRİŞ

Birçok parazitik enfeksiyonlarmerkezi sinir sistemine yerleşerek enfeksiyonlara neden olabilir. Yeleştiği bölgeye ve parazitin fizyolojisine göre farklı enfeksiyonlara neden olabilirler. Toprak ve tatlı sularda serbest olarak yaşayan bazı amip cinsleri ve türleri de insanlarda merkezi sinir sitemine yerleşerek hastalıklara neden olabilirler. Bunlar; Primer amibikmeningoensafalit (PAME), Granülatöz amibik ensefalit (GAE) ve Amibikkeratitdir. İnsan ve hayvanlarda merkezi sinir sitemi enfeksiyona neden olan cinsler Naegleria, Acanthamoeba ve Balamuthia'dır. İnsanlarda hastalığa neden olan serbest yaşayan amipler arasındaki farklılıklar Tablo 1 de gösterilmiştir.

Serbest yaşayan amiplerin sitematiği aşağıda verilmiştir (Marciano-Cabraal, 2003).

Alem: Protista

Şube: Rhizopoda

Sınıf: Lobosea

Altsınıf: Gymnamoebia

Takım: Centramoebia

Aile: Acanthamoebidae

Cins: Acanthamoeba

Cins: Balamuthia

Cins: Sappinia

Takım: Schizopyrenida

Aile: Vahlkampfiidae

Cins: Naeglaria

Merkezi Sinir Sistemine Yerleşen Serbest Yaşayan Amipler

İnsanlarda hastalığa neden olan serbest yaşayan amipler arasındaki farklılıklar tablo 1 de verilmiştir.

Tablo 1. İnsanlarda hastalığa neden olan serbest yaşayan amipler arasındaki farklılıklar

Karakteristik	Acanthamoeba		Deri lezyonları, sinüzit	Balamuthia	Naegleria
	GAE	AK		GAE	PAME
Giriş Portalı	Koku alma epiteli, solunum yolu, deri, sinüsler	Korneal aşınma	Deri, sinüsler, solunum yolu	Olfaktör epitel, deri, solunum yolu	Koku alma dokusu
Kuluçka Süresi	Haftalar, aylar	Gün	Haftalar, aylar	Haftalar, aylar	Gün
Klinik İşaretler	Baş ağrısı, ense sertliği, sinirlilik	Bulanık görme, fotofobi, inflamasyon,	Deri lezyonları, nodüller, sinüs lezyonları, sinüzit	Geveleyerek konuşma, kas zayıflığı, baş ağrısı, mide bulantısı	Baş ağrısı, bulantı, kusma, konfüzyon, ateş, boyun tutulması
Patoloji	Fokal nekroz, granülomlar	Kornea ülserasyonu	Deride granülatöz reaksiyon	Çoklu nekrotik odaklar, inflamasyon, serebral ödem	Hemorajik nekroz
Teşhis	Beyin biyopsisi, BOS smear/wetprep, kültür, PCR	Korneal kazıma, kornea biyopsisi, kalkoflor beyazı, materyal kültürü,	Deri lezyonu biyopsisi, kültürü,	Beyin biyopsisi, memeli hücrelerinde kültür,	Beyin biyopsisi, BOS ıslak hazırlık, BOS kültürü, PCR

1. *Acanthamoeba* spp.

Toprakta ve suda serbest olarak yaşayan protozoonlardan amipler arasında bulunan *Acanthamoeba* türleri; doğada rutubetli yada ıslak topraklarda, lens solüsyonları ve havada çok fazla oranda bulunmaktadır (Akın, 2001; Thomas ve ark, 2011; Li-Li ve ark., 2011). Bu serbest yaşayan amipler immün sistemi baskılanmış kişilerde GAE yani granülatöz amibik ensafalit ve sağlıklı kişilerde amibik keratite (AK) neden olarak tedavi edilmediği takdirde görme kaybı ve hatta körlüğe neden olabilen bir enfeksiyona neden olabilmektedir (Ak, 2007). İnsanları enfekte ettiği bilinen türler arasında *A. byersi*, *A. castellanii*, *A. culbertsoni*, *A. hatchetti*, *A. healyi*, *A. astroonyxix*, *A. divionensis* ve *A. polyphaga* bulunmaktadır.

Tarihçe

Acanthamoeba ilk olarak 1930'da Castellani tarafından tanımlanmış olup *Hartmanella* cinsi olarak belirtilmiştir (Culbertsen ve ark.,1965). Sonra 1931 yılında Volkansky *hartmanella* cinsini morfolojik olarak 3 alt cinse ayırmış ve *Acanthamoeba* cinsini tanımlamıştır (Visvevara, 2013).

Singh, 1957 yılında amiplerin sınıflandırılmasında, sınıflamada *Acanthamoeba* cinslerinin yetersiz kaldığını ve ileriki dönemlerde yine Singh, Pussard, Page kist yapısındaki farklılık ve trofozoitlerdeki *acanthopodia* var

olmasını Hartmanella ve Acanthamoeba cinsleri ile ilgili trofik yapı ve kist şeklinin karakteristik olduğunu belirterek farklılıklarını tanımlamışlardır (Visvevara, 2013). İnsanlarda Jager ve Stamm tarafından 1972’de GAE ilk kez açık şekilde tanımlanmıştır. İlk AK ise 1974’te Nagington ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (Khan, 2006; Siddiqui ve ark., 2012).

Morfoloji

Acanthamoeba spp’nin morfolojik yapısı elektron mikroskobu ile incelenmiş olup ökaryotik hücrelerde görülen tipik organeller görülmüştür. Trofozoit formunda golgi kompleksi, endoplazmik retikulum, besin vakuolleri, ribozom, mitokondri ve mikrotubuller gözlemlenmiştir (Bowers ve ark., 2014; Hadi, 2006). *Acanthamoeba* cinsi amiplerin hayat evrelerinde 2 form bulunur birincisi aktif beslenen büyüyen, hareket eden, çoğalan trofozoit formu, diğeri ise olumsuz çevre şartlarına dayanan kist formudur. *Acanthamoeba* türlerinde morfolojik ayırım yapmak zor olduğundan dolayı türler kistin büyüklüğü ve biçimlerine göre 3 gruba göre ayrılmaktadır. 1. grup, diğelerine göre çok daha büyük kistlere sahiptir. Endokist ve ektokist arasında belirgin bir açıklık bulunmaktadır ve endo kist yıldız biçiminde olup uç kısımlarıyla ektokistle bağlantılı olduğu görülmektedir. 2.grubun ektokistleri buruşuk yapıdadır, endokistleri ise yıldız, poligon, üçgen ya da oval biçimde görülebilmektedir. 3.grup kistleri küçük, kist duvarı düz ve incedir. Ektokist endokisti çevreler ve aralarındaki mesafe azdır (Illingworth ve Cook, 1998; John, 1998; Aydın, 2008). Trofozoit formu 25-56 um arasında değişen bir büyüklüğe sahiptir. Hareketleri yavaştır ve bu hareketini akantapod (*acanthopodium*) olarak adlandırılan dikenimsi yalancı ayakları ile sağlamaktadırlar (Akın ve ark., 2007). Trofozoitler besinin bol, pH’ında nötr olduğu, uygun sıcaklık (~30°C) ve osmolarite (50-80 m Osmol) de canlılıklarını sürdürebilmektedirler (Khan, 2006). Beslenme ve çevrede buldukları bakteri, mantar, alg ve buna benzer yapıları fagositoz yoluyla almalarıyla olmaktadır, diğeri taraftan sıvı ortamda erimiş halde olan besinleri ise pinositoz yoluyla alarak beslenmektedirler (Khan, 2006; Hadi, 2006). Kist formlarının büyüklükleri 13-20 um arasında yuvarlak ve tek çekirdekli olabilmektedir. Bu formlar klora, antibiyotiklere ve dezenfektanlara karşı oldukça dirençlidir. Düşük sıcaklıklarda (0-2°C) canlı kalabilmektedirler. *Acanthamoeba spp.* kistleri klora karşı dayanıklıdır, bu yüzden yüzme havuzlarından sağlanan izolatların diğeri tatlı su izolatlarının diğeri doğal tatlı su izolatlarından fazla patojenik etkiye sahip oldukları rapor edilmiştir (Hadi,2006). Çekirdek yapıları tek olup büyük ve ortada bir çekirdekçikleri bulunur, üremeleri eşeysiz ve ikiye bölünme şeklinde görülmektedir (Saygı, 2002).

Evrım

Acanthamoeba spp., tatlı sularda, deniz suyu, kanalizasyon, yüzme havuzlarında, toprakta, tıbbi havuzlarda, diyaliz makinelerinde, kontakt lens ekipmanlarında, diş tedavi ünitelerinde, havalandırma, ısıtma ve klimalarda, sebzeler, insan burun delikleri ve boğazı, insan ve hayvanların deri, akciğer beyin dokularında bulunabilmektedir (Illingworth ve ar., 1998). Kistler ve trofozoitler vücuda farklı yollardan girebilmekte fakat infektif formu trofozoit olarak bildirilmiştir (Ergüden, 2015). Kistlerin uygun çevre koşulları oluştuğunda trofozoite dönüşmesi eksistasyon oluşturmaktadır (Hadi., 2006)

Bulaşma yolları

Hastalıklı kişilerle aynı ortamda bulunan sağlıklı kişiler arasındaki iletişim, cinsel ilişki yaşayan insanlar, okul öncesinde eğitim gören çocuklar, sağlık personelleri, tarım ve hayvancılık sektörü ile ilgilenenler risk grubundadır (Özcel, 2007; Özcel ve ark., 2007)

Sağlığa ve temizliğe önem verilmeden hazırlanan ve çiğ tüketilen besinler (et ve süt ürünleri), günlük hayatta temas halinde bulunduğumuz ookistli su kaynakları ile bulaşım gerçekleşebilir.

Hastalık etkeni bulaşmış olan canlılar taşıyıcı konak olabilmektedir.

Serbest yaşayan amip türleri içme suyu, havuz, toprak, hava, kontakt lensler, gibi bir çok yerde bulunmakta olup bu yerlerden izalasyonu olabilmektedir (Markel ve ark, 1992).

Epidemiyoloji

Acanthamoeba spp. doğa da çok sık rastlanan bir organizma olup su, hava, topraktan izole edilmiştir. Avrupa, Afrika, Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya, Güney Amerika dahil olmak üzere bir çok ülkede görülmüştür (Ergüden, 2015). *Acanthamoeba*'nın sebep olduğu *acanthamoeba keratiti* herkesi etkileyen bir hastalık olmasına rağmen, kontakt lens kullananlarda oldukça yaygın gözlemlenmektedir. Gelişmiş ülkelerde bu hastalığın görülme oranı milyonda 1-33 arasında değişirken bu hastalığın çoğunluğu kontakt lens kullananlardan oluşmaktadır. Kontakt lens kullananlarda, yanlış lens dezenfeksiyonu duşa yada havuza lens ile girmek, yanlış lens taşıma yada saklama gibi durumlar bu *acanthamoeba keratiti* denilen hastalığa yakalanma riskini artırmaktadır. AK için kişiden kişiye bulaşımın henüz olup olmadığından bahsedilmemiştir (Alotaibi, 2011).

İlk vaka AK için 1970 yılında olmuş olup Nagington ve arkadaşları 1974 yılında ilk kez keratit olarak bildirmişlerdir (Pacella ve ark., 2013). 2004 yılında dünya genelinde AK olgu sayıları üç bine yaklaşmıştır (Schuster ve Visvesvara, 2004). AK olgusu Ülkede ilk defa 1996 yılında Elazığ'da çıkmış ikinci vaka ise 1999 yılında İzmir'den bildirilmiştir (Akyol ve ark, 1996). Dünya genelinde bazı çalışmalar tarafından ortaya çıkarılan bazı raporlara göre lens kullanıcılarının milyonda 17-70 civarında görüldüğü bildirilmiştir

(Amona-Molina ve ark., 2014). Fakat aynı vakanın İngilterede 85milyonda bir olduğu görülmüştür. Bunların arasındaki fark ise sudaki kireç oranındaki farklılık olarak bildirilmiştir. Kireç kalıntısının fazla olduğu yerlerde *Acanthamoeba spp*'nin çok fazla olduğu kaydedilmiştir (Chawla ve ark., 2014). *Acanthamoeba spp*.nin neden olduğu hastalıklardan biride granülatöz amibik ensefalit ilk kez 1972 yılında Jager ve Stamm tarafından bildirilmiş ve bugüne kadar yüzlerce vaka bilgisi verilmiştir (Schuster ve Visvesvara., 2004). GAE enfeksiyonu AK' e göre daha az görülür, bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler ve AIDS'li hastalarda daha yaygın olduğu bildirilmiştir (Ergüden, 2015). Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında keratitli fakat kontakt lens kullanmayan bir hastadan *Acanthamoeba spp*. üretilmiş olup etken moleküler tiplendirme yapılarak T4 sekansı olduğu bulunmuştur (Yang ve ark., 2001). İzmir'de bölgede içme sularında T4 ve lens saklama solüsyon kabında da T9 genotipi saptanmıştır (Ertabaklar ve ark., 2007). Tüm dünyada ve ülkemizde de en sık izole edilen genotip T4 olarak bildirilmiştir. Sarıca ve arkadaşları abse formasyonu olan bir GAE olgusu 75 yaşında Ankaradaki bir erkek hastada sunulmuştur ve bu olgu Türkiye'de GAE ile ilgili yapılan ilk çalışmadır (Sarıca ve ark., 2009).

Klinik ve Patogenez

Acanthamoeba spp. insan sağlığını tehdit eden önemli 2 hastalığa sebep olmaktadır. Kontakt lens takanlarda *Acanthamoeba keratiti* (AK) görülürken, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda çoğunlukla ölümle sonuçlanan Granülatöz Amibik Ensefalit (GAE) görülmektedir. Bazı bağışıklığı zayıflamış bireylerde cilt lezyonları, pnömoni, kutanöz acanthamoebiasis bu türlerin sebep olduğu başka hastalıklardandır (Schuster ve Visvesvara., 2004). 1974 yılında Nagington İngiltere de ilk kez AK i keşfetmiş olup, 1980 yılında kötü lens kullanımı ile ilgili hijyen eksikliği, kontakt lens kullanımının yaygınlığından dolayı salgınlar meydana gelmiştir. 1980 yılından sonra hastalığın insidansında çok önemli bir artış saptanmıştır (Ertabaklar ve ark., 2009). *Acanthamoeba keratiti*, görme bozuklukları, yoğun ağrı, şiddetli iltihaba sebep olan ve tedavi edilmediği takdirde göz kaybına neden olan bir kornea enfeksiyonudur. *A. castellanii*, *A. polyphaga*, *A. hatchetti*, *A. culbertsoni*, *A. rhyodes*, *A. griffini*, *A. quina* ve *A. lugdunensis* dahil birçok *Acanthamoeba* türünün AK'ye neden olduğu bildirilmiştir Bu hastalığın trofozoitin kornea epiteline yapışmasıyla başladığı gözlemlenmiştir. Eğer bireyde daha önceden kornea hasarı varsa hastalığa yakalanma riski daha yüksek olup AK enfeksiyonlarının kontakt lens kullanıcılarında oranı %80 den fazla olarak saptanmıştır (Marciano-Cabral-Cabral, 2003; Moore vd., 1985; Alizadeh vd., 2005). AK, sağlıklı kişilerde de görülen bir hastalıktır. Hastalığı daha önceden geçiren kişilerde bağışıklık gelişmediği için tekrar enfeksiyon geçirilebilmektedir (Marciano-Cabral-Cabral, 2003; Madencioğlu, 2014). Hastalık belirtileri, ışığa karşı hassas gözler, bulanık görme, göz

kapağında ödem ve düşme, gözlerde ağrı ve kızarıklık, gözün saydam yapısını kaybetmesi, kornea içinde halka oluşumu ve epitelin gevşemesi, gözlerde yanma, batma oluşumudur (Madencioğlu, 2014). Bu hastalığın tanısı korneadan alınan biyopsi ya da kontakt lens solüsyonundan alınan örnekte *A. castellanii*'nin görülmesiyle koyulmaktadır. Hızlı teşhiste PCR da önemli bir yöntem olarak belirlenmiştir (Mathers vd., 2000). AK'nin tedavisi uzun sürer ve çok karmaşıktır, fakat propomidin izetionat ve poliheksemetilen biguanid kullanılırsa, kornea nakline gerek olmadan tedavi edilebilmektedir (Tien ve Shev, 1999; Gooi vd., 2008) Ak'ın tedavisinde fungal yada bakteriyel ikinci enfeksiyonlarda varsa eğer bu tedaviyi çok zorlaştırmaktadır (Lorenzo-Morales vd., 2007). Parazitin trofozoit formundan kist formuna geçmesi tedavide semptomların hafiflemesine fakat ileri bir tarihte yeniden ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir (Petersonud,1990). Hastalığın kesin tedavisi kornea nakli olarak bilinmektedir. Fakat bunda bile tekrarlama riski yüksek olmasından dolayı enfeksiyon ortadan kalkana kadar kornea naklinin birkaç defa yapılması gerekmektedir (Caamposamplero vd., 2009).

A. castellanii'nin sebep olduğu ve AK' den daha şiddetli olan hasalığı Granülatöz Acanthmoeba ensefaliti (GAE) olarak bilinmekte, AK'ne göre daha nadir çoğunlukla her zaman ölümlü sonuçlanan, kronik ve yavaş ilerleyen merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonudur. Kronik hastalığı olan yada sağlıklı bireylerde görülebilen bir hastalıktır (Kidney ve Kim, 1998). Bağışıklığı baskılanmış bireylerde görülebilen, nöral dokuya girerek şiddetli ensefalit ve nekroza sebep olabilen fırsatçı bir enfeksiyon olduğu bildirilmektedir (Martinez vd., 1977). Enfeksiyon etkeni, solunum ve nazal yollarla vücuda girerek kan damarlarına yayılıp kan yoluyla kan – beyin bariyerini aşmakta ve MSS'ne ulaşmaktadır (Siddiqui ve Khan, 2012). İnkübasyon zamanı tam bilinmemekle birlikte klinik bulgular birkaç hafta/ay da kendini gösterebilmektedir. GAE, AİDS, deri ülseri, steroid tedavisi, ilaç bağımlılığı, alkol bağımlılığı, diyabet, tüberküloz, kanser kemoterapisi, organ transplantasyonu gibi durumlarda daha çabuk ilerlemektedir. Patogenezi belirsiz olabilmekte, MSS'de pro-inflamatuar yanıt indüksiyonu, bağ dokusu ve nöronal hasar, kan-beyin bariyeri işgali, beyin fonksiyonunun yitirilmesini içermektedir. Solunum yolu yada deriden vücuda girince MSS'ne girişin kan-beyin bariyerinde olduğu başka bir yol olduğu bildirilmektedir. Solunum ve deri yolu enfeksiyonları aylarca sürebilmekte fakat MSS tutulumu gün/haftalar içinde ölümlü sonuçlanabilmektedir (Khan, 2006; Saygı ve Akin, 2003). Hastalığın klinik belirtileri ateş, davranış değişikliği, hemiparezi, uyusukluk, boyun tutulması, ataksi, kusma, bulantı, baş ağrısı, sinir felçleri, nöbetler, ense sertliği, yürüme bozukluğu, çift görme, halüsinasyonlar, uyku düzensizliği, iştahsızlık, ölüm, viral, bakteriyel yada tüberküloz menenjit belirtilerine benzeyebilmektedir (Marcino-cabral-Cabral, 2003). Bu klinik belirtiler olduğunda bununla birlikte solunum enfeksiyonları, beyin apsesi ya da deri ülserasyonu olan hastalarda GAE' den de şüphe edilmesi gerekmektedir. Post

mortem inceleme olduğunda genellikle hemorajik nekroz ve şiddetli ödem olabilmektedir. GAE sebebiyle meydana gelen lezyonlar beyin sapı, orta beyin, bazal ganglionda en çöktür. Bu infeksiyondan MSS harici deri altı dokusu, deri, böbrekler, akciğerler, karaciğer, pankreas, lenf düğümleri, prostat ve kemik iliği etkilenebilmektedir. Tek hücreli parazitler vücut içerisine girdikten sonra immün sistemden plazmadaki membran üzerinde bulunan sialik asit ile veya koruyucu, özel bir kılıf oluşturarak kaçabilmektedirler. Ancak *Acanthamoeba spp*'nin plazma membranında sialik asit bulunmaz ve özel bir koruyucu kılıfda oluşturamazlar bu sebeple immün sistem parazite karşı koyamayacağı için immün sistemi baskılamış bireylerde GAE ye rastlandığı bildirilmektedir (Khan, 2006). Kutanoz Acanthamoebiosis sert eritamotoz nodül veya deri ülserleriyle karakterize olup hastalığın erken belirtisi sert papulonodüllerin meydana gelmesidir. Bu papulonodüller irinli bir materyal toplar ve daha sonra iyileşmeyen sert ülserlere dönüştüğü bildirilmektedir (Madencioğlu, 2014). Sağlıklı bireylerde infeksiyonlar kendiliğinden geçebilmekte fakat immün sistemi baskılanmış hastalarda kan dolaşımına girdikten sonra farklı dokulara yayılıp ölümlere yol açmaktadırlar (Khan, 2006). Bazen belirtiler bir çok nörolojik hastalıkla ortak rastlandığı için sık olarak yanlış ve yavaş tanı koyulmaktadır (Pemon vd., 2008). Teşhisin doğru olabilmesi adına parazitin beyin omurilik sıvısından (BOS) izole edilerek in vitro olarak kültürde üremesine bakılmaktadır. Fakat bu yöntem hem çok uzun sürebilmekte hem de kesinlik bulunmamaktadır (Da rocha – Azeveda vd.,2009).

Tanı

Dokulardan, çevredeki örneklerden, BOS dan izole edilebilen *Acanthamoeba* türlerinin tanısının koyulabilmesi kist ve trofozoit formlarına bakılarak olmaktadır. Parazitin beyin dokusunda enkiste olabildiği bunun izolasyonunu yapabilmek için BOS, beyin otopsi dokusundan ekim yapılabildiği bildirilmektedir. AK'nin izolasyonu içinse kornea sürüntüsü, biyopsi örneği, kontakt lens sıvıları, kontakt lensler, deri örneği kullanılabilir. Örneklerin hepsinden ekim yapmak 24 saat içinde olmalı diye bildirilmektedir (Daldal ve ark., 2011). Tanıların doğru bir şekilde yapılması için çeşitli yöntemler mevcuttur.

- 1. Kültüre Ekim Yapmak:** Hastalığın etkenini tanıyabilmek için çok önemlidir. Hastalık etkeninin (*Acanthamoeba*) üreyebilmesi gerekmekte olup o yüzden bu tür amipler için birden fazla besiyeri bulunmaktadır. En fazla kullanılan besiyeri *Escherichia coli* eklenmiş besin değeri olmayan agardır. Bu besiyeri için en uygun materyal korneadan alınan kazıntı örneğidir (Abduz ve ark., 2012). Tanı için sonuç negatif çıkarsa bile korneal biyopsi, lens kapları ve lens temizleme sularından örnek hazırlanarak kültüre ekim yapılmalıdır. Yinede bu sonuçlar pozitif çıksa bile kesin bir şekilde *Acanthamoeba*

var diyemeyiz fakat Acanthamoeba olduğu düşünülebilmektedir (John, 2005).

2. **Konfokal Tanı:** Son zamanlarda gelişmekte olan bir yöntem olup, korneanın dıştan içe doğru taranmasını sağlayan kornea mikroskobisidir. Konfokal mikroskobunun binoküler mikroskoptan büyütme katsayısı fazladır, bu yüzden görülme imkanı sağlamaktadır (Mattana ve ark.,2004). Klinik olarak en kısa zamanda kullanılması gerekli bir yöntem olup en büyük avantajı hastalığın henüz oluşmadan tanısını sağlayabileceğidir (Jhon, 2005; De Almeida ve ark., 2007).

3. **Sitolojik Test:** 4 gruba ayrılmaktadır.

Antikor testi: İndirekt İmmunofloresan testi, hasta bireyden alınan örneklerde bu metot sayesinde amip varlığı bulunabilmekte tespit edilen amip antikorları indirekt immunofloresan yöntemi ile bulunabilmektedir (Ergüden, 2015).

Pamuk Mavisi: Diğer bir adı ile laktofenol olarak bilinmektedir. Kornea kazıntısı lam üzerine yayılarak üzerine bir damla pamuk mavisi damlatılır ve lamel kapatılıp ışık mikroskobunda incelenmektedir. Burada amaç amibin kist duvarının açığa çıkması ve diğer alana göre daha koyu maviye boyanmasıdır (Chu ve ark., 1998).

Akridin Turuncusu: Bu boyama tekniği Akridin Oranj olarak bilinmektedir. Kornea kazıntısı ve BOS'tan alınan örnekler Akridin Oranj ile boyanmaktadır, bu metodla AK ve GAE'nin tanısında kolaylık sağlanmış olmaktadır. Acanthamoeba kistleri turuncu ve sarı bir renge boyanmaktadır (Magnet, 2014).

Calcoflour Beyazı: Kemafloran özelliğinden dolayı polisakkaritlere affinitesi vardır. Bu yüzden amiplerin trofozoit ve kist tanısında yararlanabilmektedir. Örnek alındıktan sonra lama yayılır, metil alkolle tespit edilir, 3-4 dk süren bu işlemden sonra lamın üzerine %1lik Evans blue ve %1 lik Calcoflour beyazından bir iki damla damlatılıp 5 dk beklenir boya artıkları uzaklaştırılıp lamel kapatılıp incelenir. Kolay ve hızlı sonuç veren bu yöntemde Acanthamoeba kist duvarları parlak elma yeşiline boyanırken trofozoitler ise kahverengi kırmızı arasında bir renge boyanırlar (El-Sayed ve ark., 2012).

4. **Fish Yöntemi:** Floresan in Situ Hibridizasyon olarak bilinmektedir. Bu yöntem de Acanthamoeba'ya özgü işaretlenmiş radyoaktif proplar gönderilir ve AK olup olmadığı belirlenir. Bu diziler 22 bazdan meydana gelen T4 probudur ve 18 S rDNA dizisinin komplementeridir (Matsuzaki ve ark., 2014).

5. **PZR Yöntemi:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu olarak bilinmekte olup son zamanlarda kullanılan spesifik bir yöntemdir. Kornea kazıntısı alınıp DNA izolasyonu yapılır Buradan elde edilen DNA da Acanthamoebaya özgü primerler kullanılarak hedef gen bölgesi tespit edilip amibin olup olmadığı saptanır (Mazur, 1995; Jhon, 2005).

- 6. RFLP Yöntemi:** Restriction Fragment Length Polymorphism olarak adlandırılır. Acanthamoeba'nın hangi türünün hastalığa sebep olduğunu saptamak ve tanı için kullanılan bir yöntemdir. Acanthamoeba'nın bazı primerleri kullanılıp PZR uygulanır ve varyasyon bölgeleri çoğaltılır ve restriksiyon enzimi ile bu bölgeler kesilerek bu enzimin tanıdığı bölgelerin niteliği baz alınarak türü belirlenir. Mitokondrial 16S r RNA ve 18S r RNA Acanthamoeba cinsinin varyasyon belgeleridir (Jhon, 2005).

Tedavi

Acanthamoeba keratitinde erken tanı çok önemlidir. Ağır vakalarda cerrahi ve medikal tedavi gerekebilmektedir. Antimikrobiyal ajanlar yüksek konsantrasyonlarda enfeksiyon bölgesine uygulanmakta bu da medikal tedavi olarak adlandırılmaktadır. Acanthamoeba'nın kist formu tedaviye fazlaca dirençlidir. Bu yüzden kombinasyon tedavi uygulanması önerilmektedir. Bunun için polyhexamethylen biguanidine (PHMB) (%0.02) ve kloroheksidin (%0.02) kombinasyonu önerilmektedir. Bu kombinasyondaki ilaçlar kornea temizlendikten sonra her saat başı uygulanmaktadır (en az 9 kez/gün tavsiye edilir). İlacon verdiği cevaba bağlı tedavi daha sonrasında her üç saatte bire düşer. Tedavi için süre 3-4 haftadır. Hastalığın tekrarlanmaması için tedavi kontrollerle desteklenmelidir. Lezyonun cerrahi müdahale ile temizlenmesinin etkili olduğunun yanı sıra ağız yoluyla yada lokal yoldan miconazole verilmesinin de etkili bir yöntem olduğu vurgulanmıştır. Tedavi edilmediği takdirde bu hastalıkta görme veya göz kaybı olabilmektedir (Ergüden, 2015).

Acanthamoeba türlerinin sebep olduğu tedavi edilmeyen hastalıkların çoğu serebral enfeksiyon kaynaklıdır ve genellikle hastanın ölümüyle sonuçlanmaktadır. Acanthamoeba enfeksiyonları, trofozoit ve kistlerin klasik ilaçlara karşı yüksek direnç göstermesi ve tanı laboratuvarlarında amoebik enfeksiyon belirleyici belgeler olmaması gibi nedenlerle kontrol altına alınması zor bir enfeksiyondur. Şimdiye kadar bu enfeksiyon tedavisi için neomisin, propamidin, izetionat, paromomisin, imidazol gibi ilaçlar kullanılmış fakat başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Çünkü düşük dozdaki ilaçların korneaya olan etkileri az olup ve ilaçlara karşı geliştirilen direnç tedavinin başarısız olmasına sebep olmuştur (Değerli ve ark., 2011b).

Hastaların tedaviye devam etmelerini sağlayan daha dinamik terapiler geliştirmek gerekmektedir. Bu yüzden geleneksel tıp tarafından kullanılan bitki özütleri ile geliştirilecek alternatif tedavi yöntemleri için önemli bir strateji oluşturmuştur. Çünkü başarısız bir tedavi hastalığın tekrarlama riskini arttırabilmekte, bunun yanında ilaç direnci ve bu ilaçların ağır yan etkilerinin meydana gelmesi önemli sorun teşkil etmektedir (Nagwa ve ark., 2011). Günümüz şartlarında Acanthamoeba enfeksiyonları için metronidazol ve emetin sık kullanılan ilaçlardır. Bu ilaçların uzun süre kullanılması, bazen

istenmeyen yan etkiler ya da ilaca karşı direnç oluşturabilmektedir (Aydın, 2008).

GAE hastalığının tedavisinde bir çok farklı ilaç denenmiş olup vaka bazında ketokonazol, itraconazole, flukanazol, varikonazol, pentemidin, mikanazol, amfoterisin B, trimetoprim-sülfametoksazol, polimksin, flusitosin gibi ilaçlar daha çok etkili olmuştur. Kombine ilaç tedavisi tek ilaca göre daha etkili olmaktadır. Bunun nedeninin çoğu ilacın amebosidal etki yerine amebostatik etki göstermesi olduğu bildirilmiştir (Saygı ve ark., 2003). Başarılı olabilen teavilerde, poliheksametilen biguanid klorheksidin (katyonik antiseptikler), zar fonksiyonlarını inhibe eden propamidin, izetionat, heksamidin, pentamidin (aromatik diamidinler), DNA sentezini inhibe edenler neomisin, paramomisin(aminoglikozoidler), protein sentezini inhibe eden klotrimazol, mikonazol, flukanazol vb. imidazollar gibi ajanların kullanıldığı bildirilmektedir (Nagwa ve ark., 2011).

2. *Balamuthia mandrillaris*

Tatlı su ve toprakta bulunan serbest yaşayan amiplerdir. Bazı *Acanthamoeba*, *B. mandrillaris*, *Naegleria fowleri* türleri hayvanlar ve insanlarda merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. Nadir olarak *B. mandrillaris* ve *Acanthamoeba* türleri GAE olarak bilinen ve genellikle ölüme yol açan granülamatöze sebep olabilmektedir.

Tarihçe

B. mandrillaris ilk olarak 1986'da San Diego hayvanat bahçesi vahşi hayvan parkında meningoensefalitten ölen hamile bir mandrill maymunun beyninden izole edildiği bildirilmiştir (Visvesvera, 1990). 1993 senesinde yeni bir protozoon olarak belirlenmiştir (Visvesvera ve ark., 1993). İnsanlarda GAE keşfinin sonrasında 1974'den 1989'a kadar GAE vakalarına geriye dönük bakıldığında bilinmeyen bir amoebadan şüphelenen araştırmalar, *B. mandrillaris*'in insanlarda *Balamuthia amebic ensefalit* (BAE) olarak bilinen GAE'ye sebep olduğunu doğrulamışlardır (Cope ve ark., 2019).

Morfoloji

B. mandrillaris *Balamuthia* cinsi olarak bilinen tek türdür. Trofozoit ve kist formları bulunmaktadır. Trofozoitler 30-60 µm boyutunda, tek bir nükleusa sahip, kistler ise küresel ve tek nükleuslu olup 10-30 µm boyutundadır. İki hücre duvarına sahip olup bir iç duvar (endokist) ve dış buruşmuş bir duvar (ektokist) ile ayırt edilebilmektedir (Martinez ve ark., 2001). Trofozoitler kistlerden uygun koşullar altında ortaya çıkmakta ve aktif olarak mitoz bölünme ile çoğalmakta, böylece yaşam döngüsü tamamlanmaktadır (Siddiqui ve ark., 2015).

Evrım

Bazı hayvanlardan alınan örneklerde bulunan kistlerin bulunması *B. mandrillaris*'in serbest yaşadığı inancını ortaya çıkardı. Toprak ve su örneklerinde fırsatçı protozoa olarak tanımlanmışlardır (Chuster ve ark., 2003). Toprak, su ve havada serbest yaşayan ancak bazen insanlar için patojen olabilen fırsatçı bir patojendir. Trofozoitler vejetatiftir ve eşeysiz olarak ikiye bölünürler. Kistler uyku halinde olup oldukça direçlidirler. Kist ve trofozoit formları burna girdikten sonra derideki yarıklar ya da akciğer yoluyla insanları enfekte etmektedirler. Alt solunum yollarından özellikle beyni işgal eden GAE'ye sebep olmakta ve fagositoz yoluyla beyin dokusunu yemektirler (Lorenzo ve ark., 2013).

Klinik ve Patogenez

Balamuthia Amebik Ensefalit

B. mandrillaris, ölümle sonuçlanan *Balamuthia* amebik ensefalite (BAE) ve nazoforıngal enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Siddiqui ve ark., 2015).

BAE genellikle bağışıklık sistemi zayıflamış (immünsüpresif tedavi, diyabet, malnütrisyon, Hiv pozitif, organ nakli olanlar vs.) insanlarda bildirilmektedir (Visvesvara ve ark., 2007). konağa derideki kesikler, havadaki kistlerin solunum yoluyla akciğerlere ulaşması, burun mukozasının olfaktör epitelyum hücreleri ile girebilmektedirler (Siddiqui ve ark., 2015). Amip doğrudan merkezi sinir sistemine olfaktör sinir yolları ya da kan dolaşımına girerek hematolojik olarak beyine ulaşabilmekte ve haftalar içinde ölümle sonuçlanabilmektedir (Siddiqui ve ark., 2008).

BAE de baş ağrısı, deri lezyonları, kilo kaybı, kişilik değişikliği, ateş, solunum güçlüğü, uyuşukluk, mide bulantısı, yürümede zorluk, kroniyel sinir felci, bilinç kaybı, hemiparezi, epileptik nöbetler gibi semptomlar görüldüğü belirtilmiştir (Siddiqui ve ark., 2015). Çoğunlukla MSS tuttuğundan kutanöz form önemini yitirmekle beraber kutanöz formdan MSS'ye geçiş süreci 30 gün -2 yıl arasında değişmekle birlikte ortalama 5-8 ay olabilmektedir. Deri lezyonları cilt yüzeyinin aşındığı durumlarda, nodüler ya da plaklar halinde görülebilmekte, plaklar yüzde ve gövdede, ekstremitelerde bulunmakta ve sert yapıda oldukları bildirilmektedir (Lores ve ark., 2014).

Epidemiyoloji

B. mandrillaris'in çoğunlukla toprakta ve suda mevcut olduğu bildirilmiştir. Trofozoit formları enfektif formlarıdır, fakat hem trofozoitler hem de kistler vücuda solunum yolu ya da hasar görmüş deriden girerek BAE'ye sebep olabilmektedirler (Dunnebach ve ark., 2004). BAE 'nin etkeni olarak *B. mandrillaris* saptandığından itibaren Dünyada 200'den fazla vaka bildirilmiş olup gerçek sayının daha fazla olabileceği tahmin edilmektedir (Cabella ve ark., 2014).

Tanı

Deri lezyonları, sinüsler, akciğerler ve beyin biyopsileri *B. mandrillaris* enfeksiyonunun tespiti için kullanılmaktadır. Giemsa ve periyodik asit – Schiff, hematoksilen ve eozin gibi boyalarla boyanmış formalinle sabitlenmiş parafinize biyopsi örnekleri, Balamuthia trofozoitlerini gösterebilmektedir (Martinez ve ark., 2001). Son zamanlarda PCR ve DNA yöntemleri ile klinikten ya da çevredeki örneklerden *B. manrillaris*'i tanımlamada önem kazanmaktadır. Çevresel örneklerde *B. mandrillaris* tanısında mitokondriyal 5'Balspec 16S ve 3'Balspec 16S primerleri kullanılarak yapılan PCR sık olarak kullanılmaktadır (Gregory ve ark., 2003).

Tedavi

Balamuthia GAE nonspesifik semptomlar gösterdiğinden, steroidler, antibakteriyeller, antifungaller ve antivirallerle ampirik tedavi çoğunlukla etkisiz olmuştur. Anti-enflamatuar steroidlerin uygulanması, immün efektörleri tüketerek amiplerin hematojen yayılımını arttırmıştır. *Günümüzde* Balamuthia enfeksiyonları için etkili bir tedavi yoktur. Bildirilen vakaların neredeyse tamamı geç evrelerde teşhis edilmiştir ve bu nedenle yüksek bir ölüm oranı ile sonuçlanmıştır. Başarılı tedavi, hastalık yönetilebilir olduğunda, erken teşhise güçlü bir şekilde bağlıdır. BAE'den kurtulanların yarısı, karakteristik cilt enfeksiyonları ile başvurmuş olup erken teşhis konulabilmiştir. Önerilen tedavi, Balamuthia enfeksiyonundan sağ kurtulan az sayıda kişiye sağlanan tedaviye dayanmaktadır. Tedavi olarak lezyonların cerrahi rezeksiyonu ve pentamidin (4 mg/kg/gün - intravenöz [IV]), sülfadiazin (günde 6 saatte bir 1.5 g - oral), flusitozin (her 6 saatte bir 37.5 mg/kg) ile antimikrobiyal kombinasyon tedavisini içerir - oral), flukonazol (12 mg/kg/gün tek doz – oral veya IV), azitromisin (500 mg/gün 1 doz – oral veya IV), klaritromisin (500 mg/gün 1 doz – oral) ve miltefosin (pediyatrik olgularda 2,5 mg/kg/gün, vücut ağırlığı <45 kg olanlarda 100 mg/gün ve vücut ağırlığı ≥45 kg olanlarda 150 mg/gün – oral). Yakın tarihli bir rapor azitromisin, flusitozin ve sülfadiazin kombinasyon tedavisi ile BAE'li bir hastanın iyileşmesine dikkat çekmiş olup 2010 yılında yapılan bir vaka çalışmasında başarılı flukonazol, albendazol ve oral miltefosin (12 gün boyunca günde 150 mg ve günde 100 mg) rapor edilmiştir (Martinez ve ark., 2010).

3. *Sappinia pedata (diploidea)*

Sığır, bizon ve geyik dışkıları ile kontamine olmuş topraktan alınmasıyla sağlıklı bir genç erişkinlerde ensefalite neden olabilir (Qvarnström ve ark., 2019).

4. *Naegleria fowleri*

N. fowleri suda, toprakta, veya merkezi sinir sistemi olabilen konakçıda serbest yaşayan amiptir. Genelde halk arasında ‘beyin yiyen amip’ olarak adlandırılmaktadır. *N. fowleri* patojenik olabilen, bakteri yiyen, doğada serbest yaşayan bir mikroorganizma olup Naegloriasis veya primer amibik meningoensefalit (PAM) adı verilen ve insanı bir hafta içinde ölüme götürebilen bir parazittir.

Tarihçe

Antony Van Leeuwenhoek mikroskobu keşfettiği zaman 17.yy da (1632-1723) bir damla suyu incelemiş ve ilk defa serbest yaşayan amipleri gözlemlemiştir (Ma ve ark., 1990). 1961 yılında Avustralya’da bir vaka bildirilmiştir, bildirilen amibin ölümcül bir enfeksiyona sebep olduğu rapor edilmiştir. Bu amip, Fowler ve Carter adı verilen iki araştırmacı tarafından *Naegleria fowleri* olarak adlandırılmıştır (Siddiqui ve ark., 2016). Patojen ve fırsatçı serbest yaşayan amipler dünyada her yerde bulunmakta ve aerobik, ökaryotik, mitokondrisi olan protistlerdir. Bunlar normal şartlarda doğada serbest yaşarlar fakat bazen bir konağı istila edebilmektedirler. Bu konakta dokularda parazitlik yapabilmekte olup aynı zamanda da anfizoik olarak isimlendirilmektedirler (Visvesvara ve ark., 2007).

Morfoloji

Bu cinsteki amipler, buldukları yüzeyde sümüklü böcek misali kayarak hareket ettikleri için ‘*limax amoeba*’ olarak tanımlanmışlardır. Hareketi açısından *E. histolytica*’ya benzetilmekte olup canlı iken kolay bir şekilde çekirdeğinin görülmesi, aerob olması, kontraktil vakuölü olması ve vücuda giriş yönlerinin değişik şekillerde olması ile farklı oldukları rapor edilmiştir.

Naegleria fowleri bir amoeboflagellate’ye sahip olmasından dolayı trofozoit, kist ve kamçılı bir forma sahiptir. Bu form 2 kamçıya sahip armut şeklindedir (Carter, 1970).

Ameboid trofozoit: Kontraktil vakuölü belli ve tek çekirdeklidirler, 7-20µ büyüklüğünde pseudopodları lobopod tipindedir ve bunlarla hareket etmektedirler. Canlı trofozoit formlarında endoplazma, ektoplazma ve çekirdek görülüp ayırt edilebilir. Boyalı preparatlarda ise çekirdeğin büyük bir kayryozoma sahip olduğu görülür ancak çekirdek zarının periferinde kromatin yoktur ve sitoplazma tanelidir. *Naegleria*, eşeysiz üremeyle 2 ye bölünmeyle çoğalır promitozla bölünme gerçekleşir (Saygı, 2009).

Kamçılı trofozoit: Ortamın özelliği değiştirildiği zaman mesela ameboid trofozoit şeklinin olduğu alana distile su verildiği zaman kamçılı şekiller görülmektedir. Çekirdekçik büyük, çekirdek ise tek ve kese şeklindedir. Bu amipler 2 kamçılı ve armut şeklinde olup, bu dönem içinde çoğalmadıkları hareket etmedikleri ve beslenmedikleri gözlemlenmiştir. *Naegleria*lar; ameboid formdan kamçılı forma dönerken, bir müddet hem kamçı hem

yalancı ayaklara sahiplerdir. Bu türler kamçılı trofozoit formunda çoğalmazlar (Ak ve ark., 2009, Dingle, 1970)

Kist: Tek çekirdekli, 2 cidarlı duvarı olan yuvarlak görünümde ve 7-15µ çapındaki formdur. Kistler çevre şartlarına karşı oldukça dirençlidirler, Kist duvarları, porlara sahiptir. Kistte çekirdek bölünmesi görülmemiştir (Saygı, 2009).

Evrım ve Epidemiyoloji

N. fowleri enfeksiyonları sağlıklı çocuklarda ve yetişkinlerde dalış, yüzme, su kayağı gibi eğlenceli su aktivitelerinde rapor edilmiştir. *N. fowleri*'nin konağı burundan girip insan vücudunu enfekte ettiği söylenmektedir. İlk olarak nazal mukozaya tutunarak enfektif hale gelir, daha sonra koku alma siniri boyunca ve kribriform plaka yoluyla santral sinir sistemi içindeki koku ampüllerine varmak için hareket gerçekleştirir. Koku loplarından beynin diğer kısımlarına yayılabilmekte ve beyin parankimasında çoğalmaktadırlar. *N. fowleri* insana trofozoit formunda girmektedir. Bu türler doğada serbest yaşadıkları için bir konak zincirinden bahsedilememektedir. Doğada trofozoit (amibik veya kamçılı) – kist – trofozoit formları birbirini izler fakat parazitik yaşamda kist formu gözlenmez. *N. fowleri* toprak ve suda yaşayan, kurumaya ve aside karşı duyarlı olan bir parazittir. *N. fowleri* farklı ülkelerde ve farklı çevrelerden izole edilmiş olup Belçika'da kanalda, Nijerya'da havadan, İspanya'da nehirden, Avusturalya'da topraktan, Yeni Zellanda da toprak ve termal sudan izole edilmiştir (John, 1993).

Sıcak yaz aylarında, sağlıklı ve aktif gençlerde daha sık görüldüğü bildirilmiştir ve daima ölümlerle sonlanmaktadır. Enfeksiyon başlangıcında olguların hemen hepsinde 3-7 gün öncesinde yüzme öyküsü mevcuttur. Çekoslovakya'da yüzme havuzundan kaynaklandığı bildirilen, 166 gencin ölümüyle sonuçlanan bir olgu serisi bildirilmiştir (Saygı, 2009).

Klinik ve Patogeneze

N. fowleri yaklaşık 3-7 gün içinde sonuçları ölüme kadar varan primer amebik meningoensefalit (PAM) adı verilen kemorajik, akut bir MSS enfeksiyonuna sebep oluşturmaktadır. Bu hastalık başlangıçta primer amibik ensafalit olarak tanımlanıp PAME diye kısaltılmış fakat son yıllarda kısaltmanın sonundaki E harfi atılarak PAM olarak adlandırılmıştır. Primer kelimesinin kullanılmasının sebebi *Entamoeba histolytica*'nın sebep olduğu beyin apsesinden ayırt edebilmektir. Çünkü serbest yaşayan amipler temelde vücuda burun yoluyla girip kripriform plaklardan geçerek beyine yerleşmektedirler. Oysa *E. histolytica* ağız yoluyla dört çekirdekli olgun kistlerin alınması ile bulaşmakta ve kalın bağırsağına yerleşmektedirler. *E. histolytica*'nın ilk yerleşim yeri kalın bağırsaktır daha sonra bazı şartlar olduğunda kan ya da başka yollarla beyine gidebilirler fakat bu sekonder bir yerleşimdir.

N. fowleri insana diğer memelilere enfekte sularda yüzme ile bulaşmaktadır ya da kurak bölgedeki tozların solunum yoluyla alınması ile bulaşım olmaktadır (Ma ve ark., 1990). PAME' nin en önemli özelliği bulaşım olduktan sonra semptomlar çok hızlı gelişir, ilerler ve erken tanı, müdahale olmadığı takdirde en geç bir hafta içinde ölümlerle sonuçlanmaktadır (Martinez ve ark., 1985). *Naegleria* türlerinin merkezi sinir sistemine yerleşmesi ile bazı semptomlar gelişmektedir. Bunlar; bulantı, ateş, kusma, şiddetli baş ağrısı, beyinde ödem, ense sertliği, menenjit belirtileri, koma, diplopi konfüzyon, kerning belirtisi (Karın üzerinde kıvrılan bacağına normale dönmemesi) dir. Hastadan alınan BOS örneği genelde bulanık, irinli ve kanlıdır. Bazen mm³ deki lökosit sayısı 20 binin üstüne çıkmaktadır (Butt, 1966). Genelde hastalık etkeni bulaştıktan 5 gün sonra baş ağrısı, mide bulantısı, kusma ile başlar sonra boyun tutulması, denge kaybı, çevreye ve insanlara karşı ilgisizlik, nöbetler ve halüsinasyonlar görülebilmektedir. Bu belirtiler ortaya çıktıktan yaklaşık 5 gün yada 1 hafta içinde hasta hayatını kaybetmektedir (Saygı ve ark., 2003).

Tanı ve Tedavi

PAME için tanıda BOS, otopside elde edilen koku lopları ya da beyinin bazı kısımlarından alınan örnekler kullanılmaktadır. Bu örnekler hemen bakılmalı, sadece kısa süreli beklemler için buzdolabında 4°C' de saklanabilmektedir. BOS'tan 1-2 damla lam üzerine koyularak üzerine lamel kapatılıp mikroskopta incelenmektedir. *N. fowleri* bakterilerle beslenebildikleri için kültür yöntemi NNA plaklarına ekilerek uygulanmaktadır. Su veya tortu örnekleri NNA plaklarına ekilmekte 44°C' de inkübe edilmektedir (Ma ve ark., 1990).

Bazı patojen ve patojen olmayan *Naegleria* türlerini birbirinden ayırmak için moleküler yöntemlerden Q PCR ve konvensiyonel PCR yöntemleri kullanılmaktadır (Robinson ve ark., 2006). Hastalardan alınan örnekler NNA besiyerinde ürettiği gibi Nelson ve Neff besiyerlerinde de üreyebilmektedirler (Saygı, 2009).

PAME tanısı konulan çok az hasta yaşamaktadır ve genelde ölümlerle sonuçlanmaktadır. Tedavide kullanılan en önemli ilaç Amfoterisin B dir. Fakat Amfoterisin B'nin düşük tedavi yüzdesi ve yüksek oranda toksik olması sebebiyle yeni ilaçların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Saygı ve ark., 2003).

KAYNAKÇA

- Akın, Polat Z. (2001) Toprak ve su örneklerinden özgür yaşayan amiplerin soyutulması tanımlanması özelliklerinin belirlenmesi ve patojenliklerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Cumhuriyet Üniversitesi.
- Akın, Polat Z., Özçelik, S., Vural. A., Saygı, G. (2007). Aksenik kültürlerde *Acanthamoeba* trofozoitleri üzerindeki gözlemler ve bunların farklı boyalarla boyanma özellikleri. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 31(1):7-13.
- Ak, M., Dağcı, H. (2007) Özcel'in Tıbbi parazit hastalıkları: Türkiye Parazitoloji Derneği.
- Ak, M., Dağcı, H. (2007) Serbest Yaşayan Amiplerin Sebep Olduğu Hastalıklar. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları, İzmir: Meta basım. 310-322
- Alizadeh, H., Neelam, S., Hurt, M., Niederkorn, J. (2005). Role of contact lens wear, bacterial flora, and mannose-induced pathogenic protease in the pathogenesis of amoebic keratitis. *Infection and Immunity*, 73, 1061-8
- Alotaibi, MA. (2011). Interaction of Free-living protozoa with water-borne human pathogenic viruses and protection from disinfection. Leicester Üniversitesi. Yüksek lisans tezi.
- Aydın, E. (2008). Bazı *Salvia* genusu üyelerinin *Acanthamoeba castellanii* tedavisindeki kullanım potansiyelleri ve sitotoksik aktivitelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Sivas.
- Booton, GC., Carmichael, JR., Visvesvara, GS., Byers, TJ., ve Fuerst, PA. (2003). Identification of *Balamuthia mandrillaris* by PCR Assay Using the Mitochondrial 16S rRNA Gene as a Target. *Journal of Clinical Microbiology*, 41, 453-455
- Bowers, B., Korn, ED. (2014) The fine structure of *Acanthamoeba castellanii*. *Journal of Cell Biology*. 41(4):786-805.
- Camposampiero, D., Caramello, G., Indemini, P., Gerten, G., Franch, A., Birattari, F., et al. (2009). Two red eyes and one asymptomatic donor. *The Lancet*, 374/ 1792.
- Carter, RF. (1970). Description of a *Naegleria* sp. isolated from two cases of primary amoebic meningo-encephalitis, and of the experimental pathological changes induced by it. *The Journal of Pathology*, 100(4), 217-244.
- Cecil, G. Butt, MD. (1966). Primary amebic meningoencephalitis. *New England Journal Medicine* 274(26): 1473- 1476.
- Chawla, A., Armstrong, M. & Carley, F. (2014). *Acanthamoeba* keratitis an increasing incidence. *Contact Lens Anterior Eye*. (37): 120.

- Chu, DM., Miles, H., Toney, D., Ngyuen, C., Marciana-Cabral, F. (1998) Amebicidal activity of plant extracts from Southeast Asia on *Acanthamoeba* spp. *Parasitol Res.* 84(9):746–52.
- Chuster, FL., Dunnebacke, TH., Booton, GC., Yagi, S., Kohlmeier, CK., Glaser, C., et al. (2003). Bir amebik ensefalit vakası ile ilişkili *Balamuthia mandrillaris*'in çevresel izolasyonu. *J Clin Microbiol*; 41:3175–80.
- Cope, JR., Landa, J., Nethercut, H., Collier, SA., Glaser, C., Moser, M. et.al. (2019). Amerika Birleşik Devletleri'nde *Balamuthia mandrillaris* hastalığının epidemiyolojisi ve klinik özellikleri *Klinik Enfeksiyon Dis.* 68 :1815–22
- Culbertson, C.G., Holmes, D.H., Overton, W.M. (1965). *Hartmanella castellani* (*Acanthamoeba* sp): Preliminary report on experimental chemotherapy. *American Journal of Clinical Pathology.* 43, 361-4.
- Da Rocha-Azevedo, B., Tanowitz, H., Marciano-Cabral, F. (2009). Diagnosis of infections caused by pathogenic free-living amoebae. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 251-406
- Daldal, N., Taylan, Özkan A. (2011). *Parazitolojide Laboratuvar (Parazit kültürleri)* 1. Baskı.İzmir: 106-7
- de Almeida, I., Alviano, DS., Vieira, DP., Alves, PB., Boş, AF., Lopes, AH. et al. (2007). Antigiardial activity of *Ocimum basilicum* essential oil. *Springer- Verlag* 101(2):443-52.
- Değerli, S., Berk, S., Tepe, B. & Malatyali, E. (2011b). Amoebicidal activity of the rhizomes and aerial parts of *Allium sivasicum* on *Entamoeba histolytica*. *Parasitol Research*, 111: 59–64
- Dingle AD. (1970). Control of flagellum number in *Naegleria*. *Journal of cell science.* 7: 463-482
- El-Sayed, NM., Ismail, KA., Ahmed, SA., Hetta, MH. (2012). In vitro amoebicidal activity of ethanol extracts of *Arachis hypogaea* L., *Curcuma longa* L. and *Pancreatium maritimum* L. on *Acanthamoeba castellanii* cysts. *Parasitol Res.*110:1985–92.
- Ergüden, C. (2015). Uçucu yağların *Acanthamoeba* spp. kist ve trofozoitleri üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ertabaklar, H., Türk, M., Dayanir, V., Ertuğ, S., Walochnik, J. (2007). *Acanthamoeba* keratitis due to *Acanthamoeba* genotype T4 in a non-contact-lens wearer in Turkey. *Parasitol Res.* 100(2):241–6.
- Ertabaklar, H., Dayanir, V., Apaydın, P., Ertuğ, S., Walochnik, J. (2009). Olgu sunumu: *Acanthamoeba* Keratiti. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 33 (4): 283-285.
- Gooi, P., Lee-Wing, M., Brownstein, S., El-Defrawy, S., Jackson, W., Mintsoulis, G. (2008). *Acanthamoeba* keratitis: persistent organisms

- without inflammation after 1 year of topical chlorhexidine. *Cornea*, 27, 246-8.
- Qvarnstrom, Y., Da silva, AJ., Schuster, FL., Gelman, BB., Visvervara GS. (2009). Molecular Confirmation of *Sappinia pedata* as a Causative Agent of Amoebic Encephaliti. *The Journal of Infectious Diseases*. 199(8): 1139-1142.
- Hadi, A. (2006). Interaction between waterborne pathogenic bacteria and *Acanthamoeba castellanii*. Yüksek lisans tezi. Karolinska Enstitüsü
- Illingworth, C.D., Cook, S.D. (1998). *Acanthamoeba keratitis*. *Surv. Ophthalmol*, 42: 493-508.
- John, DT. (1998). Opportunistic amoebae. Topley, Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 9th ed. Vol. 5. Edward Arnold Ltd., London, UK, Pp. 179-192.
- John, DT. (1993). Opportunistically Pathogenic Free-living Amebae. Parasitic Protozoa, In: Kreier JP, Baker JR (eds), San Diego, Academic Pres, 2 nd ed. 143-246.
- John, DT. (2005). Opportunistic Amebae. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 4022-36.
- Khan, NA. (2006). *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. *FEMS Microbiol Rev*. 30(4):564-95.v
- Kidney, D., Kim, S. (1998). CNS infections with free-living amebas: neuroimaging findings. *American Journal of Roentgenology*, 171, 809-12.
- Lares-Jimenez, LF., Booton, GC., Lares-Villa, F., Velazquez-Contreras, CA., ve Fuerst, PA. (2014). Genetic analysis among environmental strains of 103 *Balamuthia mandrillaris* recovered from an artificial lagoon and from soil in Sonora, Mexico. *Exp Parasitol*, 145:57-61.
- Li-Li, C., Joon-Wah, M., Yoon-Tong, L., Thuan-Tzen, K., Init, I., Shar Mariam, M. (2011). Isolation and characterization of *Acanthamoeba* spp. from air-conditioners in Kuala Lumpur, Malaysia. *Acta Tropica*. 117: 23-30.
- Lorenzo-Morales, J., Martínez-Carretero, E., Batista, N., Alvarez-Marín, J., Bahaya, Y., Walochnik, J., Valladares, B. (2007). Early diagnosis of amoebic keratitis due to a mixed infection with *Acanthamoeba* and *Hartmannella*. *Parasitology Research*, 102, 167-9.
- Ma, P., Visvesvara, GS., Martinez, AJ., Theodore, FH., Daggett, PM., ve Sawyer, TK. (1990). *Naegleria* and *Acanthamoeba* infections: review. *Rev Infect Dis*, 104 12(3), 490-513.
- Madencioğlu, D. (2014). Endemik *Dorystoechas hastata* boiss., heldr. ex bentham uçucu yağının bazı *Acanthamoeba* türleri üzerine amebisid etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, İzmir.

- Magnet, A., Henriques-Gil, N., Galván-Díaz, AL., Izquierdo, F., Fenoy, S., Aguila, CD. (2014). Novel *Acanthamoeba* 18S rRNA gene sequence type from an environmental isolate. *Parasitol Res.* 113(8):2845–50
- Marciano-Cabral, F., Cabral, G. (2003). *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(2): 273-307.
- Markel, EK., Voge, M. & Jhon, DT. (1992). *Medical parasitology*. WB Saunders Co Philadelphia, (7):22-96.
- Martínez, A., Sotelo-Avila, C., Garcia-Tamayo, J., Morón, J., Willaert, E., Stamm, W. (1977). Meningoencephalitis due to *Acanthamoeba* sp. Pathogenesis and clinico-pathological study. *Acta Neuropathologica*, 37, 183-91.
- Martinez-Palomo, A. (2014). Silicone hydrogel contact lenses surface promote *Acanthamoeba castellanii* trophozoites adherence: qualitative and quantitative analysis. *Eye Contact Lens*, 40(3):132–139.
- Martinez, AJ. (1985). *Free-Living Amebas: Natural History, Prevention, Diagnosis, Pathology, and Treatment of Disease*. CRC Press Inc., Boca Raton, FL.
- Martinez, AJ., Schuster, FL., ve Visvesvara, GS. (2001). *Balamuthia mandrillaris*: its pathogenic potential. *J Eukaryot Microbiol, Suppl*, 6S-9S.
- Martínez, DY., Seas, C., Bravo, F., Legua, P., Ramos, C., Cabello, AM., et al. (2010). *Balamuthia mandrillaris* amip enfeksiyonunun geniş nörolojik ve kutanöz tutulumu ile başarılı tedavisi. *Klinik Enfeksiyon Dis*; 51 :7–11.
- Mathers, W., Nelson, S., Lane, J., Wilson, M., Allen, R., Folberg, R. (2000). Confirmation of confocal microscopy diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis using polymerase chain reaction analysis. *Archives of Ophthalmology*, 118, 178-83.
- Matsuzaki, Y., Kakinoki, Y., Nakamura, M., Nishihara, T., Tsujisava, T. (2014). Lamiaceae peppermint oil with surfactant showing equal antifungal activity against *Candida albicans* to rosemary chemotype CINEOL. *Advances in Infectious Diseases*.4:58–65.
- Mattana A, Biancu G, Alberti L, Accardo A., Delogu, G., Fiori, PL., et al. (2004). In vitro evaluation of the effectiveness of the macrolide rokitamycin and chlorpromazine against *Acanthamoeba castellanii*. *Antimicrob Agents Chemother*.48(12):4520–7
- Mazur, T., Hadaś, E. (1995). II. The duration of the cyst stage and the viability and virulence of *Acanthamoeba* isolates. *Trop Med Parasitol*. 46(2):106–8.
- Moore, M., McCulley, J., Luckenbach, M., Gelender, H., Newton, C., McDonald, M., Visvesvara, G. (1985), *Acanthamoeba* keratitis associated with soft contact lenses. *American Journal of Ophthalmology*, 100, 396-403.

- Nagwa, ME., Khadiga, AI., Sabah, A., Ghany, A. & Mona, HH. (2011). In vitro amoebicidal activity of ethanol extracts of *Arachis hypogaea* L., *Curcuma longa* L. and *Pancreaticum maritimum* L. on *Acanthamoeba castellanii* cysts, *Parasitol Research*, 110:1985–1992.
- Omana-Molina, MA., Gonzalez-Robles, A., Salazar-Villatoro, L., BernalEscobar, A., Duran-Diaz, A., Mendez-Cruz, AR. & Martinez-Palomo, A. (2014). Silicone hydrogel contact lenses surface promote *Acanthamoeba castellanii* trophozoites adherence: qualitative and quantitative analysis. *Eye Contact Lens*, 40(3):132–139.
- Özcel, MA. (2007). Tıbbi Parazit Hastalıkları Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:22, S: 309-310.
- Özcel, MA., Turgay, N., İnci, A. & Köroğlu, E. (2007). Tıbbi ve veteriner immunoparazitoloji. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, s: 93-97.
- Pacella, E., Torre, GL., Giusti, M. & Lombardi, AM. (2013). Results of casecontrol studies support the association between contact lens use and *Acanthamoeba keratitis*. *Clin Ophthalmol*. 2013; 7:991-4.
- Pemán, J., Jarque, I., Frasquet, J., Alberola, C., Salavert, M., Sanz, J., Gomila, B., Esteban, G. (2008). Unexpected postmortem diagnosis of *Acanthamoeba meningoencephalitis* following allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *American Journal of Transplantation*, 8, 1562-6.
- Peterson, R., Smith, M., Pepose, J. (1990). Recurrent *Acanthamoeba keratitis* following penetrating keratoplasty. *Archives of Ophthalmology*, 108, 1482-3.
- Robinson, BS., Monis, PT., ve Dobson, PJ. (2006). Rapid, sensitive, and discriminating identification of *Naegleria* spp. by real-time PCR and melting- 107 curve analysis. *Appl Environ Microbiol*, 72(9), 5857-5863. doi:10.1128/AEM.00113-06
- Sarica, FB., Tufan, K., Cekinmez, M., Erdoğan, B., Altınörs, MN. (2009) A rare but fatal case of granulomatous amebic encephalitis with brain abscess: the first case reported from Turkey. *Turk Neurosurg*. 19(3):256-9
- Saygı, G. (2009). Parazitler Hastalıkları ve Parazitler. Sivas, Es Form Ofset Matbaası, 62-67
- Saygı, G., Polat, Z., (2003). C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 25 (3):140 – 149
- Saygı, G., Akın, Polat Z. (2003). Özgür yaşayan amipler ve neden oldukları parazitler (Primer Amibik Meningoensefalit-Granülomatöz Amibik Ensefalit–Keratif). *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 25(3):140–9.
- Schuster, F.L. & Visvesvara, G.S. (2004). Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. *Int J Parasitol*, 34: 1001 –1027.

- Siddiqui, R., Khan, NA. (2008). Balamuthia amoebic encephalitis: an emerging disease with fatal consequences. *Microb Pathog*, 44(2), 89-97
- Siddiqui, R., Khan, NA. (2012). Biology and pathogenesis of Acanthamoeba. *Parasit& Vectors*. 5(1):6.
- Siddiqui, R., Khan, N.A. (2015). Balamuthia mandrillaris: Morphology, biology, and virulence. *Trop Parasitol*, 5(1), 15-22.
- Siddiqui, R., Ali, IKM., Cope, JR., ve Khan, NA. (2016). Biology and pathogenesis of Naegleria fowleri. *Acta Trop*, 164, 375-394.
- Thomas, JM., Ashbolt, NJ. (2011). Do Free-Living Amoebae in treated drinking water systems present an emerging health risk? *Environ Sci Technol*. 45: 860-69
- Tien, S., Sheu, M. (1999), Treatment of Acanthamoeba keratitis combined with fungal infection with polyhexamethylene biguanide. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 15, 665-73
- Visvesvara GS. Classification of Acanthamoeba. *Reviews of Infectious Diseases*. 2013; 13:369–72.
- Visvesvara, GS., Moura, H., ve Schuster, FL. (2007). Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: Acanthamoeba spp., Balamuthia mandrillaris, Naegleria fowleri, and Sappinia diploidea. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 50(1), 1-26.
- Visvesvara, GS., Martinez, AJ., Schuster, FL., Leitch, GJ., Wallace, SV., Sawyer, TK., et al. (1990). İnsanlarda ve hayvanlarda yeni bir amebik meningoensefalit ajanı olan leptomyxid ameba. *J Clin Microbiol*. 28 :2750–6.
- Visvesvara, GS., Schuster, FL., Martinez, AJ. (1993). İnsanlarda ve diğer hayvanlarda amebik meningoensefalit etkeni. *J Ökaryot Mikrobiyoloji*. 40 :504–14.
- Yang, YF., Matheson, M., Dart, JKG., Cree, I A. (2001). Persistence of Acanthamoeba antigen following Acanthamoeba keratitis. *Br J Ophthalmol*. Mar. 85(3): 277–280.

BÖLÜM 10

NÖRODEJENERASYONDA KODLAMAYAN RNA'LARIN ROLLERİNE GÜNCEL BAKIŞ

Dr. Öğr. Üy. Mücahit SEÇME¹
Dr. Ramazan ÜZEN²

¹ ORDU Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, ORDU, Türkiye.
mehtersecme@gmail.com, Orcid ID: 0000-0002-2084-760X

² ERCİYES Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri,
Türkiye. r-uzen@yandex.com, Orcid ID: 0000-0002-2208-1361

GİRİŞ

Nörodejenerasyon, nöronların yapı-işlev kaybı ve ölümünü de içeren bir süreçtir. Nörodejeneratif süreç sonucunda bir dizi nörodejeneratif hastalık tetiklenebilmektedir (Tomruk ve ark., 2018). Nörodejeneratif hastalıklar, tipik olarak merkezi sinir sisteminin bir veya daha fazla bölgesindeki nöronların ilerleyici kaybı ile karakterize olan zayıflatıcı nörolojik bozukluktur. Patolojik bozukluk sonucu oluşan nörodejeneratif hastalıklar, Alzheimer, Parkinson ve Huntington hastalıkları, amiyotrofik lateral skleroz (ALS), frontotemporal demans (FTD), spinoserebellar ataksi (SCA) olmak üzere geniş bir sınıfını oluşturmaktadır. Nörodejeneratif hastalık mekanizmaları üzerine yapılan temel araştırmalar genellikle model organizmalar ve yeni deneysel sistemlerden yararlanmıştır (Singh, 2013; Szafranski ve ark., 2015; Rajgor ve Buratti, 2019). Bu tür çalışmalardan elde edilen bilgiler, kodlamayan RNA (ncRNA)'ların nörodejeneratif hastalığın patogenezinde önemli olduğunu göstermektedir (Szafranski ve ark., 2015). ncRNA'ların anormal regülasyonu, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve çok sayıda kanser türü olmak üzere çeşitli hastalıklarla sonuçlanmaktadır (Tai ve ark., 2022).

Dikkat çekici bir şekilde, nörodejenerasyon alanındaki araştırmalar şimdiye kadar büyük ölçüde yaklaşık 20.000 protein kodlayan genin küçük bir yüzdesine odaklanmıştır. Protein kodlayan genler, genomun %2'sinden daha azını kaplaması dolayısıyla (Mehler ve Mattick, 2006), bu da kaçınılmaz olarak nörodejeneratif bozuklukların altında yatan biyolojinin önemli bir bölümünü gözden kaçırıp kaçırmadığımız sorusunu gündeme getirmiştir. Sayıları her geçen gün hızla artan ncRNA dizilerinin işlevsel olarak sorgulanması ve nörodejenerasyonda ki rollerine ilişkin ortaya çıkan kanıtların kritik deneysel doğrulamasının yapılması gereklidir (Salta ve De Strooper, 2017). Bununla birlikte, son yıllarda ncRNA'ların beyin embriyolojisi, gelişimi, homeostazi, stres tepkileri ve plastisitesindeki hayati rollerinin ve diğer biyolojik olaylardaki işlevlerinin altını çizen çalışmalarda bir artış görülmüştür (Ng ve ark., 2012; Qureshi and Mehler, 2013; Briggs ve ark., 2015). Örneğin yetişkin fare beyindeki ncRNA'lar genellikle bölgeye özgü ve aşamaya özgü ifade kalıpları sergiler ve nöronal aktivite tarafından dinamik olarak düzenlenir (Lipovich ve ark., 2012; Mukilan ve ark., 2015). Bunlara ek olarak kodlamayan RNA'ların beyin yaşlanması, nöropsikiyatrik ve nörodejeneratif bozuklukların

patofizyolojisinde önemli roller üstelendikleri rapor edilmiştir (Briggs ve ark., 2015; Salta ve De Strooper, 2017).

Yeni yüksek çözünürlüklü ve yüksek verimli teknolojiler, mikroarray ve derin transkriptom dizileme gibi güncel yöntemler, karmaşık genomların aydınlatılması ve kodlamayan RNA'ların kapsamlı tespitine katkı sağlamıştır (Kumar ve ark., 2017; Morris and Mattick, 2014). Kodlamayan RNA'lar merkezi sinir sisteminde de eksprese edilmektedir. Uzun kodlamayan RNA'ların (LncRNA) yaklaşık %40'ının beyin dokusunda spesifik olarak ifade edildiği tahmin edilmektedir. Dairesel RNA'ların (circRNA), mikroRNA'ların (miRNA) ve diğer kodlamayan RNA türlerinin de sinir hücrelerinde çeşitli biyolojik mekanizmalara katkı sağladığı ve pek çok moleküler basamakta görev aldığı bilinmektedir (Salta ve De Strooper ,2017; Rybak-Wolf ve ark., 2015).

1. KODLAMAYAN RNA'LAR

Genomun kodlamayan bölgeleri olarak görev yapan RNA molekülleri, toplam genomun %98'inden fazlasını oluşturur (Tai ve ark., 2022). Merkezi sinir sisteminde bol miktarda eksprese edilen ncRNA'lar günümüzde birçok hastalıkta yoğun bir şekilde incelenmektedir (Rajgor ve Buratti, 2019). Biyolojik özelliklerden dolayı genomda ncRNA'lar, proteinlere transkribe edilmeyen heterojen bir gen grubu olarak kabul edilmiştir. Ancak daha sonraki çalışmalarda genomun bu kısmının işlevsel olarak kritik olduğunu ve fizyolojik süreçlerde ve doku homeostazında ncRNA'ların önemi rol oynadığı gösterilmiştir. Canlı organizmaların protein kodlayan genlerin sayısı nispeten sabit kalırken, ncRNA'ların kodlamayan transkriptlerin sayısı organizmaların karmaşıklığına paralel olarak önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir (Aliperti ve ark., 2021). Kodlamayan RNA'lar (ncRNA), protein translasyonu, kromatin organizasyonu, gen transkripsiyonu, RNA döngüsü, mRNA translasyonu ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi gibi çeşitli hücresel süreçlere katılmaktadır (Szafranski ve ark., 2015; Idda ve ark., 2018). ncRNA'lar hücre içerisinde gen ekspresyon programlarını birçok farklı mekanizma aracılığıyla kontrol ederek hücrenin transkripsiyon ve post-translasyonel modifikasyonları düzenleyerek önemli biyolojik süreçlerin yönetilmesini sağlamaktadır. Bazı çalışmalarda ncRNA'ların nöronlarda ve mikroglia da apoptoz, mitokondriyal disfonksiyon ve nörotrofik faktör işlevsizliği gibi sinyal yollarını düzenlediği bulunmuştur (Idda ve ark., 2018; Wu ve Kuo, 2020). Ayrıca, genetik, epigenetik ve

translasyonel bir düzenleyici olarak ncRNA'lar, heterokromatin oluşumunu sağlayarak kromatin yapısını yeniden şekillendirir. ncRNA'lar transkripsiyon ve translasyonu kontrol ederek önemli fizyolojik ve patolojik roller oynar ve cis ve trans gen regülasyonuna katılarak gen ekspresyonunu artırabilir veya bastırabilirler. (Wang ve ark., 2018; Li ve ark., 2020).

ncRNA'lar nükleotit boyutlarına göre iki tip ncRNA vardır; küçük ncRNA'lar (<200 nt) ve uzun ncRNA'lar (>200 nt) olarak sınıflandırılır (Li ve ark., 2020; Tai ve ark., 2022) Gen ekspresyonun önemli düzenleyicileri olan ribozomal RNA (rRNA), transfer RNA (tRNA), mikroRNA (miRNA) ve piwi RNA (piRNA) molekülleri 50 nükleotitten daha az olup küçük ncRNA'ları oluşturmaktadır. Protein translasyonel düzenleyicileri olarak görev yapan rRNA ve tRNA'nın yanı sıra, miRNA birçok hastalıkların ilerlemesinde ve düzenlenmesinde kritik roller oynamaktadır. Küçük ncRNA'ların aksine, uzun ncRNA'lar 200'den fazla nükleotid dizilerine sahiptir. LncRNA'lar, protein translasyonu ve transkripsiyon sonrası susturma gibi gen ekspresyonunu düzenlemektedir. LncRNA, histon modifikasyonları ile cis ve trans geninin translasyonunu baskılamakta ve miRNA regülasyonunu bozabilmektedir. Circular (circ) RNA'ların yapısı doğrusal mRNA'lardan farklı olan bir tür ncRNA'dır. CircRNA'ların birçok tipi ve karmaşık fonksiyonu vardır ve tam olarak çalışılmamıştır. (Li ve ark., 2020).

1.1. Uzun Kodlamayan RNA'lar (LncRNA)

Genellikle 200'den fazla nükleotidi olan LncRNA'lar, transkripsiyonel düzenleme, nükleer alanların organizasyonu ve proteinlerin veya RNA moleküllerinin stabilizasyonu sağlayan hücre ve dokuya özgü olan gen kodlama bölgelerinde bulunurlar (Wang ve ark., 2018; Pandini ve ark., 2021). LncRNA'lar çeşitli nükleik asit molekülleri ve protein kompleksleri ile etkileşime girerek epigenetik, transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası seviyelerde çeşitli hücresel süreçleri ve protein aktivitesini yönetir. LncRNA'lar molekülleri hücre çoğalması, sitokin salınımı ve hücre göçü gibi çeşitli biyolojik süreçleri düzenlerler ((Nowak ve ark., 2022; Tai ve ark., 2022).

LncRNA'lar hücre içerisinde işlevlerini yerine getirmek için farklı mekanizmalara sahiptirler. LncRNA'ların etki mekanizması, DNA üzerinde histon modifikasyon enzimleri ve kromatin yeniden modelleme faktörleri ve transkripsiyon düzenleme proteinlerine bağlanarak işlevlerini yerine getirir.

Ayrıca tamamlayıcı bağlanma (antisens LncRNA'lar) ve mikroRNA'lara bağlanma yoluyla mRNA'ları da düzenleyebilirler. Bu fonksiyon mikroRNA'ları tutar ve böylece gen ekspresyonunu inhibe etme yeteneklerini düzenleyebilir (Panni ve ark., 2020; Tai ve ark., 2022). LncRNA'lar, cis veya trans etkileri ile gen susturulmasına aracılık ederek kromatin döngüsü sayesinde hücre içerisinde gen aktivasyonunu düzenler ve transkripsiyon regülasyonunda karmaşık bir ağ oluşturur. LncRNA'lar transkripsiyon sonrası regülasyon esnasında diğer RNA molekülleriyle doğrudan baz eşleştirmesi gerçekleştirerek mRNA yıkımında yer alan proteinlerle ilişki kurabilmektedir. miRNA üzerinde tamamlayıcı bölgeler içeren LncRNA'lar, miRNA'ların hedef mRNA'lar üzerindeki inhibitör etkilerini zayıflatmak için miRNA'ların veya rekabetçi endojen RNA'ların (ceRNA'lar) süngerleri gibi davranarak hedef gen ekspresyonunu aktive edebilirler. Farklı araştırmalar LncRNA'ların, türler arasında yüksek oranda korunduğunu ve farklı genlerin düzenlenmesinde önemli roller oynadığını gösterilmiştir ve LncRNA'ların maksimum uzunluğu yaklaşık 100 amino asitten oluşan mikroproteinleri kodlayabildiğini kanıtlamıştır (Tai ve ark., 2022). 200'den fazla nükleotitten oluşan uzun kodlamayan RNA'ların, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz ve Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif bozuklukları içeren birkaç anahtar moleküler süreçte epigenetik düzenleyiciler olarak görev yaptığı gösterilmiştir. Uzun kodlamayan RNA'lar, merkezi sinir sisteminde bol miktarda eksprese edilir; bu, serbest bırakılmalarının, RNA modifikasyonları yoluyla nöronal dejenerasyonu tetikleyebileceğini düşündürür. Teşhis ve terapötik potansiyellerinin değerlendirilmesi, tedavisi kısıtlı bu hastalıklar için yeni tedavilere katkı sunabilir (Ruffo ve ark., 2023).

1.2. MikroRNA'lar

miRNA'lar, genellikle mRNA'nın 3' UTR bölgesinde bulunan kısa bir tamamlayıcı diziye bağlanarak, hedef mesajcı RNA'ların (mRNA'lar) ekspresyonunu düzenleyen yaklaşık 21-25 nükleotid uzunluğunda olan yüksek oranda korunmuş endojen ncRNA molekülleridir. miRNA'lar, gen ekspresyonunun transkripsiyon sonrası baskılanmasını veya durdurmasını sağlayan ve çeşitli hücrel süreçleri düzenleyen molekülleridir. Olgun miRNA'lar, çekirdekte başlar ve sitoplazmaya ulaşarak son bulan bir dizi biyokimyasal olayların ardından üretilir. miRNA'lar RNA polimeraz II

tarafından birincil miRNA'lar (pri-miRNA) olarak transkribe edilir. Drosha kompleksi tarafından işlendikten sonra, öncü miRNA'lara (pre-miRNA'lar) haline getirilir daha sonra Exportin-5 ile sitoplazmaya transfer edilir. pre-miRNA'lar sitoplazmada Dicer/TARBP2 aracılığıyla işlem görülerek olgun çift iplikli miRNA haline getirilir. İplikçiklerden biri RISC ile kompleks oluşturur. miRNA'lar Argonaute protein ailesinin bir üyesine bağlanırlar ve hedef mRNA'yı hedefleyerek mRNA'nın parçalanmasını veya translasyonun durdurulmasına neden olur (Szafranski ve ark., 2015, Yan ve Bu, 2021, Tai ve ark., 2022).

Hedef mRNA'ların parçalanması veya baskılanması sayesinde, miRNA'lar proliferasyon, yaşlanma ve stres, farklılaşma, apoptoz ve immün sistem uyaranlarına karşı olmak üzere birçok hücrenel süreçte rol oynar. miRNA'ların gen ekspresyonunun artması veya azalması bağışıklık sistemi üzerindeki tepkisi, sitokin üretimi ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini etkilemesi enflamatuar veya anti-enflamatuar etkilere sahip olmasını sağlar. miRNA'lar kanser, kardiyovasküler patoloji, diyabet, iskemik inme, Multipl Skleroz (MS) hastalığı, Alzheimer hastalığı ve diğer nörodejeneratif hastalıklar gibi insan hastalıklarında önemli roller oynar (İdda ve ark., 2018, Nowak ve ark., 2022). Nörodejeneratif bozukluklarda beyin omurilik sıvısı (BOS) ve periferik dokulardaki miRNA seviyelerindeki değişiklikler kapsamlı bir şekilde rapor edilmiştir (Ma ve ark., 2023; Xuan ve ark., 2023).

1.3. Piwi-RNA

piRNA ilk olarak *Drosophila*'da 24-30 nt uzunluğunda tanımlanmıştır. piRNA'lar, tipik olarak 5' ucunda bir üridin ve 3' ucunda 2'-O-metilasyon taşıyan ve genellikle piwi protein ailesinin üyelerine bağlanan yaklaşık 24-31 nükleotid uzunluğunda kısa tek sarmallı ncRNA'lardır. piRNA'lar memeli germline hücrelerinde bulunurken insanlarda çeşitli dokularda ifade edilmektedir. piRNA'lar insanlarda transkripsiyonel veya transkripsiyon sonrası düzeyde sinyal yollarında görev almaktadır (İdda ve ark., 2018; Liu ve ark., 2019). Piwi proteinleri ile etkileşime giren piRNA'lar gen transkripsiyonu ve translasyonunu, transpozon elementlerin baskılanmasında, epigenetik programlama ve antiviral savunmada kritik roller oynayarak gen ekspresyon programlarını düzenler. (Zhang ve ark., 2022). Yapılan çalışmalarda piRNA'ların diğer ncRNA'larla etkileşime girebildiği ve gen regülasyonunu ve

hücrel tepkileri daha fazla etkileyebileceğini göstermektedir. piRNA primer olarak eşey hücrelerinde ifade edilmektedir. Aynı zamanda nöronlara ve birçok somatik hücrede ifade edildiği ve birçok hastalık sürecinde rol aldığı çeşitli çalışmalarda ortaya konulmuştur (Idda ve ark., 2018). Anormal şekilde eksprese olan piRNA'lar kanserlerde çeşitli insan hastalıklarında rol almaktadır (Zhang ve ark., 2022). Ayrıca farklı kanser tiplerinde piRNA ve PIWI proteinlerinin, tümör teşhisi ve tedavisi için yeni biyobelirteçler ve terapötik hedefler olarak kullanılabilmesi göstermiştir (Liu ve ark., 2019).

piRNA'lar, uyarlanabilir ve uzun süreli belleğin nöral heterojenliğini, nörogenezini, nöral plastisitesini ve nesiller arası kalıtımını düzenler. Düzensiz piRNA, nörogelişimsel, nörodejeneratif ve psikiyatrik hastalıkların gelişmesine katkı sağlayabilmektedir. Hatalı bir piRNA imzası, transpoz elementlerin aktivasyonuna, DNA üzerinde yanlış epigenetik etiketler ve/veya histonlar yoluyla yanlışlıkla gen aktivasyonuna neden olur. Damgalama ifadesi, genomik bütünlüğü ve kararlılığı koruyan germ hattı piRNA'larından etkilenir. Defektif piRNA düzenlemesi, anormal beyin gelişimine ve hayatı tehdit eden bozuklukları destekleyen nörodejeneratif etiyolojiye neden olabilir. piRNA'nın heyecan verici rollerinin örneklendirilmesi henüz ilk aşamalarında, bu nedenle gelecekteki araştırmalar, yeni teknikler kullanarak bu gözlemleri genişletebilir, teşhis ve tedavi için potansiyel biyobelirteçlerin belirlenmesine katkı sunabilirler (Chavda ve ark., 2022).

1.4. circRNA'lar (Sirküler RNA'lar)

CircRNA'lar ilk olarak 1976'da bitki virüslerinde gözlemlendi. Ökaryotik hücrelerde yaygın olan tek sarmallı RNA molekülleri şeklinde bulunur. Çekirdekte, sitoplazmada, mitokondride, kloroplastta ve eksozomlarda bulunurlar. Bir tür ncRNA olan CircRNA'lar, miRNA'lar gibi gen ekspresyonunu düzenlenmesinde, miRNA'ların veya proteinlerin bağlanması, hücre çoğalması, hücre farklılaşması ve immün yanıtta ve birçok biyolojik süreçlerde önemli roller oynayabilmektedir (Zang ve ark., 2020). CircRNA'lar miRNA'ların gen ekspresyonunu düzenlemekte ve diğer RNA'ların transkripsiyonunun potansiyel bir düzenleyicisi olarak işlev görmektedir. CircRNA'lar biyolojik gelişim mekanizmalarında miRNA ekspresyonunu, endojen RNA'ları düzenlenmesinde ve farklı hastalıkların teşhisinde bir biyobelirteç görevi görebilmektedir. CircRNA'lar, Alzheimer hastalığı,

embriyoların ve spermlerin gelişiminde, diyabet, miyokard enfarktüsü, ve yumurtalık, meme ve endometriyal tümörler gibi karsinomlar gibi patolojik durumlar da dahil olmak üzere birçok normal sürece dahil olduğu gösterilmiştir (Shafabakhsh ve ark., 2019).

Gelişmekte olan çalışmalar, circRNA'ların değiştirilmiş ifadesinin, nörodejeneratif hastalıkların patolojik süreçlerine dâhil olduğunu göstermektedir. CircRNA'lar, Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların erken teşhisi için umut verici biyobelirteçler olduklarını da kanıtlayabilir. Artan kanıtlar, nörodejenerasyonu önlemek için transkripsiyonu hedefleyen yeni terapötik yaklaşımlara katkı sağlayabilir (Zhang ve Bian, 2021).

2. NÖRODEJENERASYONDA ncRNA MEKANİZMALARI

Kodlamayan RNA aracılı düzenleme mekanizmaları hakkında daha derin bilimsel bilgilerin keşfi, kodlamayan RNA tabanlı etkili terapötik hedeflemeleri kolaylaştıracaktır. Kodlamayan RNA'ların nörodejenerasyonda epigenetik regülasyon, RNAi, alternatif splicing ve moleküler tuzak gibi çeşitli biyolojik mekanizmalar aracılığı ile etki gösterdikleri ortaya koyulmuştur (Salta ve De Strooper, 2017).

2.1. Epigenetik Regülasyon

Kromatin immünopresipitasyon (ChIP) analizleri, nörodejenerasyona bağlanan ncRNA'ların kromatin yeniden modelleme kompleksleri ile birleştiğini ve bu nedenle epigenetik düzenlemede rolleri olabileceğini göstermektedir (Salta ve De Strooper, 2017). Örneğin, ATXN7 (Ataksin-7)'deki poliglutamin tekrar genişlemelerinin SCA7 (spinocerebellar ataxia type 7) ilişkili kodlamayan RNA'lar aracılığıyla nörodejenerasyona sebep olduğu bildirilmektedir. Farelerde SCAANT1 (SCA7 antisens kodlamayan transkript 1) Ateksin-7 transkripsiyonunu baskılamaktadır. SCAANT1 seviyeleri, SCA7 hastalarından alınan fibroblastlarda ve tekrarlanan hastalık lokusunu taşıyan transgenik farelerde ATXN7 mRNA seviyeleri ile ters orantılıdır. Bu nedenle, ATXN7'deki tekrar genişlemesinin SCAANT1 ifadesini azalttığı, bunun da ATXN7 transkripsiyonunun de-represyonuna ve mutant ATXN7 seviyelerinin artmasına yol açtığı bir ileri besleme düzenleme mekanizması önerilmiştir (Sopher ve ark., 2011). BDNF-AS, taurin upregüle edilmiş gen 1 (TUG1), maternal olarak eksprese edilen 3 (MEG3), NEAT1 ve TUNA gibi uzun

kodlamayan RNA'ların sağlıklı ve Huntington hastalığına sahip bireylerin beyin dokusunda farklı şekillerde eksprese edildiği ve epigenetik düzenleyiciler olarak hareket ettikleri gösterilmiştir (Lin ve ark., 2014; Johnson, 2012; Xie ve ark., 2010; Salta ve De Strooper, 2017). BDNF-AS inhibisyonunun, retinal ganglion hücrelerinde iskemik hasar üzerine nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (Xu ve ark., 2016).

2.2. RNAi

Post-transkripsiyonel olarak gen ekspresyonunun miRNA ve siRNA'lar (küçük interferen RNA) tarafından baskılanması toplu olarak RNAi olarak isimlendirilir. miRNA aracılı ve siRNA aracılı mekanizmalar arasında paylaşılan anahtar moleküler bileşenler, RNase III endonükleaz Dicer ve RNA'nın çekirdek bileşeni olan Argonat (AGO) protein ailesidir (Saliminejad ve ark., 2019). miRNA'ların hedeflerine bağlanması, ya mRNA bozulmasına ya da translasyonel inhibisyona yol açar. Kemirgen beynindeki miRNA seviyelerinin global veya bireysel manipülasyonu, nörodejeneratif fenotiplere yol açabilir (Hébert ve ark., 2010, Roshan ve ark., 2014). Dicer'in yetişkin fare beynindeki genetik ablasyonu, Tau'nun hiperfosforilasyonuna ve hipokampusta nöronal kayıba sebep olmaktadır (Hébert ve ark. 2010). Ayrıca miRNA let-7 seviyelerinin artması, fare korteksinde nöronal ölüme neden olmaktadır (Lehmann ve ark., 2012).

2.3. Alternatif splicing

Alternatif splicing mekanizması, ncRNA'ların nörodejeneratif bozukluklarda patolojiyi etkileyebileceği başka bir mekanizmadır. Sortilin ile ilişkili reseptör 1 (SORL1), amiloid- β öncü proteinin (APP) trafiğini düzenleyen ve Alzheimer hastalığı ile ilişkili olduğu ortaya koyulmuş bir gendir. Alzheimer hastalığı olan bireylerin beyinlerinde SORL1 seviyeleri azaldığı gösterilmiştir. Splicing mekanizması ile SORL1 transkriptlerinin üretilmesi insan nöron hücrelerinde artan amiloid- β seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir (Ciarlo ve ark., 2013). Benzer durumun gerçekleştiği diğer bir kodlamayan RNA'da lncRNA 17A'dır. Bu uzun kodlamayan RNA'nı beyin dokusundaki ekspresyon seviyesinin Alzheimer hastalarında upregüle olduğu bulunmuştur. lncRNA 17A'nın amiloid- β oluşumunu arttırdığı ve GABAB reseptörü alt ünitesi 2'yi kodlayan GABAB2'nin alternatif eklenmesini

indüklediği ve bu alt üniteyi içeren reseptörlerin aracılık ettiği sinyallemeyi ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir (Massone ve ark., 2011).

2.4. mRNA Stabilitesi

Doğal olarak oluşan antisens ve sens transkriptleri arasında sitoplazmik RNA-RNA dupleks oluşumu, sens mRNA'sının endonükleolitik veya ekzonükleolitik bozulmasını önleyebilir veya RNA dönüşümünde yer alan proteinlere erişimi engelleyerek stabilitesini ve translasyonunu artırabilir. Örneğin, ncRNA BACE1-antisense (BACE1-AS) BACE1 mRNA'yı bağlar, insan hücre hatlarında ve fare beyin dokularında BACE1 seviyelerinin artmasına yol açar (Faghihi, ve Wahlestedt, 2009). BACE1 amiloid- β üreten proteazlardan biridir ve bu enzim şu anda Alzheimer hastalığı için incelenen önemli bir farmakolojik hedef haline gelmiştir. BACE1-AS seviyeleri, Alzheimer hastalığı olan bireylerin beyinlerinde ve Alzheimer transgenik fare modellerinde yükselmektedir (Faghihi ve ark., 2008).

2.5. Translasyonel Regülasyon

Bazı ncRNA'ların mRNA transkriptlerinin translasyonu üzerinde doğrudan etkisi vardır. Küçük bir nörona özgü ncRNA olan BC200, ribonükleoprotein partikülleri içinde dendritlere taşınır ve burada fare beyinde çeşitli mRNA'ların translasyonunu düzenleyen çoklu protein etkileşimli bir kompleksin parçasını oluşturur (Muddashetty ve ark., 2002). Dendritlerdeki yerel çevirinin uzun vadeli sinaptik plastisite ile ilgili olduğu ve BC200 seviyelerinin insan Alzheimer hastalığında belirgin şekilde arttığı göz önüne alındığında BC200 sinaptik kusurlarla ilişkilendirilmiştir (Mus ve ark., 2007).

2.6. Moleküler tuzaklar (Moleküler decoys)

Çok yönlü ve modüler yapıları sayesinde ncRNA'lar, bir RNA'yı (bu bağlamdaki ncRNA'lara rakip endojen RNA'lar (ceRNA'lar) denir) veya bir protein hedefini titre ederek uzaklaştıran veya bunları belirli hücrel bölmelere taşıyan moleküler tuzaklar olarak hareket edebilir. Belirli bir hücrel bağlamda tek bir ncRNA tarafından tutulabilen hedef moleküllerin sayısı ile birlikte ncRNA tuzağının ve hedeflerinin göreceli zenginliği, bu tür etkileşimlerin sonuçlarını belirleyen kritik faktörlerdir. Daha spesifik olarak, miRNA hedeflerinin anlamlı bir şekilde baskılanmasını indüklemek için ceRNA konsantrasyonu hedef miRNA'nın konsantrasyonuna yaklaşmalıdır (Tay ve

ark., 2014; Thomsan ve ark., 2016; Salta ve De Strooper, 2017). Uzun kodlamayan-SCA7 (Inc-SCA7), ATXN7 mRNA'yı beyin bölgesine bağlı bir şekilde düzenlemek için bir miRNA tuzağı görevi görür. Daha spesifik olarak, Inc-SCA7, miR-124'e bağlanmak için ATXN7 transkripti ile rekabet eder, böylece fare ve insan nöroblastom hücrelerinde ATXN7 seviyelerini artırır. Bu üçlü düzenlemenin bozulması, genişleme tekrarı içeren ATXN7 seviyelerinin yükseldiği SCA7 patolojisinde rol oynayabileceğinden, bu bulguların daha fazla deneysel olarak doğrulanması gerekmektedir (Tan ve ark., 2014).

3. Nörodejenerasyonda Özgün ncRNA Tabanlı Tedaviler

ncRNA'ları hedeflemek, nörodejeneratif bozuklukların tedavisi için etkili yaklaşımlar sunabilmekte ancak kapsamlı ikincil yapıları nedeniyle başarılı bir şekilde hedeflenmesi muhtemel zorluklar barındırmaktadır. Bununla birlikte, geliştirilmiş oligonükleotit tasarımları, bu tür sınırlamaların üstesinden gelebilecek kimyasal olarak değiştirilmiş çok sayıda analog sağlamaktadır ve bu araçların birçoğu deneysel nörodejenerasyon modellerinde başarıyla kullanılmıştır. (Mohamadzadeh ve ark., 2023; Salta ve De Strooper, 2017; Wahlestedt, 2013; DeVos ve Miller, 2013). Tekrarlayan C9ORF72 transkriptlerine karşı antisens oligonükleotidler (ASOs) ve RNA translasyonunu inhibe eden küçük moleküller, hasta fibroblastlarında ve ALS'li bireylerden elde edilen indüklenmiş pluripotent kök hücrelerden türetilen nöronlarda RNA foci oluşumunu baskılamaktadır. C9ORF72 tekrarı aşırı eksprese eden farelerde antisens oligonükleotidler bilişsel eksiklikleri iyileştirmiştir (Donnelly ve ark., 2013; Sareen ve ark., 2013; Jiang ve ark., 2016).

Merkezi sinir sistemini hedeflemek için ortaya çıkan diğer stratejiler arasında nanoteknoloji tabanlı ilaç dağıtım sistemleri bulunmaktadır (Salta ve De Strooper, 2017; Munoz ve ark., 2013). Örneğin, endositik kökenli nano-veziküller olan eksozomlar, siRNA'ların, miRNA'ların ve miRNA antisens oligonükleotidlerin hücreler arası transferine *in vitro* olarak etkin bir şekilde aracılık etmektedir (Munoz ve ark., 2013). *In vivo* olarak, nöronal hedefleme için tasarlanmış ve BACE1'e karşı bir siRNA ile yüklenmiş otolog dendritik hücre türevli eksozomların intravenöz olarak verilmesi, beyne özgü BACE1 mRNA ve proteininin belirgin şekilde azalmasına ve tedavi edilen farelerin korteksindeki amiloid- β seviyelerinde bir azalmaya neden olmuştur (Alvarez-

Erviti ve ark., 2011). Ayrıca farmakoloji endüstrisi günümüzde çeşitli nörolojik bozukluklar için potansiyel tedaviler olarak ncRNA'lara (miRNA'lar, NAT'lar ve lncRNA'lar) odaklanmaktadır (Matsui ve Corey., 2017).

Kodlamayan RNA biyolojisini ve bunun nörodejeneratif hastalıkların moleküler patogeneze ve tedavi stratejilerine katkısını anlamadaki ilerlemelere rağmen, bu alanda önemli bilimsel gelişmelerin kaydedilmesi gerektiğini rahatlıkla söyleyebiliriz. Kodlamayan RNA'ların büyük çoğunluğu işlevsel olarak araştırılmakla birlikte ve bu RNA türlerinin nörodejenerasyon bağlamındaki etkisine ilişkin birçok soru yanıtız kalmaktadır. Beyin dokularında, kan, beyin omurilik sıvısı, nöron hücrelerinde yapılacak geniş profillemeye çalışmaları bu sürece katkı sunacaktır. (Salta ve De Strooper, 2017; Lau, ve ark, 2014). Bu arada nörodejenerasyon ile ilgili, mitokondriyal ncRNA'lar, ncRNA düzenleme (epitranskriptomik) ve kodlamayan DNA'nın epigenetik düzenlemesi ile ilgili yeni görüşler ortaya çıkmaya devam etmektedir (Lardenoije ve ark., 2015; Tai ve ark., 2022). ncRNA'ların faaliyet gösterdiği oldukça karmaşık ağları çözmek için sistem biyolojisi ve biyoinformatik yaklaşımlar gereklidir (Da Sacco ve ark 2012).

Sonuç olarak ilerleyen bilimsel gelişmeler ışığında, gelecek perspektifi açısından baktığımızda nörolojik hastalıklarda, bu büyüleyici kodlamayan RNA moleküllerin patofizyolojik ve moleküler genetik mekanizmalara nasıl katkıda bulunduğuna ve nörolojik hastalıkların insana özgü yönlerinin anlamak için nasıl kritik olabileceğine yönelik yeni gelişmelerin olması muhtemeldir (Salta ve De Strooper, 2017).

KAYNAKLAR

- Aliperti, V., Skonieczna, J., & Cerase, A. (2021). Long Non-Coding RNA (lncRNA) Roles in Cell Biology, Neurodevelopment and Neurological Disorders. *Non-coding RNA*, 7(2), 36. <https://doi.org/10.3390/ncrna7020036>
- Alvarez-Erviti, L., Seow, Y., Yin, H., Betts, C., Lakhali, S., & Wood, M. J. (2011). Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nature biotechnology*, 29(4), 341–345. <https://doi.org/10.1038/nbt.1807>
- Briggs, J. A., Wolvetang, E. J., Mattick, J. S., Rinn, J. L., & Barry, G. (2015). Mechanisms of Long Non-coding RNAs in Mammalian Nervous System Development, Plasticity, Disease, and Evolution. *Neuron*, 88(5), 861–877. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.045>
- Chavda, V., Madhwani, K., & Chaurasia, B. (2022). PiWi RNA in Neurodevelopment and Neurodegenerative Disorders. *Current molecular pharmacology*, 15(3), 517–531. <https://doi.org/10.2174/1874467214666210629164535>
- Ciarlo, E., Massone, S., Penna, I., Nizzari, M., Gigoni, A., Dieci, G., Russo, C., Florio, T., Cancedda, R., & Pagano, A. (2013). An intronic ncRNA-dependent regulation of SORL1 expression affecting A β formation is upregulated in post-mortem Alzheimer's disease brain samples. *Disease models & mechanisms*, 6(2), 424–433. <https://doi.org/10.1242/dmm.009761>
- Da Sacco, L., Baldassarre, A., & Masotti, A. (2012). Bioinformatics tools and novel challenges in long non-coding RNAs (lncRNAs) functional analysis. *International journal of molecular sciences*, 13(1), 97–114. <https://doi.org/10.3390/ijms13010097>
- DeVos, S. L., & Miller, T. M. (2013). Antisense oligonucleotides: treating neurodegeneration at the level of RNA. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 10(3), 486–497. <https://doi.org/10.1007/s13311-013-0194-5>
- Donnelly, C. J., Zhang, P. W., Pham, J. T., Haeusler, A. R., Mistry, N. A., Vidensky, S., ..., Sattler, R., & Rothstein, J. D. (2013). RNA toxicity from the ALS/FTD C9ORF72 expansion is mitigated by antisense

- intervention. *Neuron*, 80(2), 415–428. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.015>
- Faghihi, M. A., Modarresi, F., Khalil, A. M., Wood, D. E., Sahagan, B. G., Morgan, T. E., Finch, C. E., St Laurent, G., 3rd, Kenny, P. J., & Wahlestedt, C. (2008). Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of beta-secretase. *Nature medicine*, 14(7), 723–730. <https://doi.org/10.1038/nm1784>
- Faghihi, M. A., & Wahlestedt, C. (2009). Regulatory roles of natural antisense transcripts. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 10(9), 637–643. <https://doi.org/10.1038/nrm2738>
- Hébert, S. S., Papadopoulou, A. S., Smith, P., Galas, M. C., Planel, E., Silahtaroglu, A. N., Sergeant, N., Buée, L., & De Strooper, B. (2010). Genetic ablation of Dicer in adult forebrain neurons results in abnormal tau hyperphosphorylation and neurodegeneration. *Human molecular genetics*, 19(20), 3959–3969. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq311>
- Idda, M. L., Munk, R., Abdelmohsen, K., & Gorospe, M. (2018). Noncoding RNAs in Alzheimer's disease. *Wiley interdisciplinary reviews. RNA*, 9(2), 10.1002/wrna.1463. <https://doi.org/10.1002/wrna.1463>
- Jiang, J., Zhu, Q., Gendron, T. F., Saberi, S., McAlonis-Downes, M., Seelman, A., Stauffer, ... Lagier-Tourenne, C. (2016). Gain of Toxicity from ALS/FTD-Linked Repeat Expansions in C9ORF72 Is Alleviated by Antisense Oligonucleotides Targeting GGGGCC-Containing RNAs. *Neuron*, 90(3), 535–550. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.04.006>
- Johnson R. (2012). Long non-coding RNAs in Huntington's disease neurodegeneration. *Neurobiology of disease*, 46(2), 245–254. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.12.006>
- Kumar, L., Shamsuzzama, Haque, R., Baghel, T., & Nazir, A. (2017). Circular RNAs: the Emerging Class of Non-coding RNAs and Their Potential Role in Human Neurodegenerative Diseases. *Molecular neurobiology*, 54(9), 7224–7234. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0213-8>
- Lardenoije, R., Iatrou, A., Kenis, G., Kompotis, K., Steinbusch, H. W., Mastroeni, D., Coleman, P., Lemere, C. A., Hof, P. R., van den Hove, D. L., & Rutten, B. P. (2015). The epigenetics of aging and

- neurodegeneration. *Progress in neurobiology*, 131, 21–64. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.05.002>
- Lau, P., Frigerio, C. S., & De Strooper, B. (2014). Variance in the identification of microRNAs deregulated in Alzheimer's disease and possible role of lincRNAs in the pathology: the need of larger datasets. *Ageing research reviews*, 17, 43–53. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2014.02.006>
- Lehmann, S. M., Krüger, C., Park, B., Derkow, K., Rosenberger, K., Baumgart, J., Trimbuch, T., Eom, G.,... Lehnardt, S. (2012). An unconventional role for miRNA: let-7 activates Toll-like receptor 7 and causes neurodegeneration. *Nature neuroscience*, 15(6), 827–835. <https://doi.org/10.1038/nn.3113>
- Li, Y., Li, G., Guo, X., Yao, H., Wang, G., & Li, C. (2020). Non-coding RNA in bladder cancer. *Cancer letters*, 485, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.04.023>
- Lin, N., Chang, K. Y., Li, Z., Gates, K., Rana, Z. A., Dang, J., Zhang, D., Han, T., Yang, C. S., Cunningham, T. J., Head, S. R., Duyster, G., Dong, P. D., & Rana, T. M. (2014). An evolutionarily conserved long noncoding RNA TUNA controls pluripotency and neural lineage commitment. *Molecular cell*, 53(6), 1005–1019. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.01.021>
- Lipovich, L., Datchet, F., Cai, J., Bagla, S., Balan, K., Jia, H., & Loeb, J. A. (2012). Activity-dependent human brain coding/noncoding gene regulatory networks. *Genetics*, 192(3), 1133–1148. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.145128>
- Liu Y, Dou M, Song X, Dong Y, Liu S, Liu H, Tao J, Li W, Yin X, Xu W. The emerging role of the piRNA/piwi complex in cancer. *Mol Cancer*. 2019 Aug 9;18(1):123. doi: 10.1186/s12943-019-1052-9.
- Ma, Z., Liang, H., Hu, B., Cai, S., & Yan, D. (2023). Autophagy-regulating miRNAs: Novel therapeutic targets for Parkinson's disease (Review). *International journal of molecular medicine*, 51(6), 50. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2023.5253>
- Massone, S., Vassallo, I., Fiorino, G., Castelnuovo, M., Barbieri, F., Borghi, R., Tabaton, M., Robello, M., Gatta, E., Russo, C., Florio, T., Dieci, G., Cancedda, R., & Pagano, A. (2011). 17A, a novel non-coding RNA, regulates GABA B alternative splicing and signaling in response to

- inflammatory stimuli and in Alzheimer disease. *Neurobiology of disease*, 41(2), 308–317. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.09.019>
- Matsui, M., & Corey, D. R. (2017). Non-coding RNAs as drug targets. *Nature reviews. Drug discovery*, 16(3), 167–179. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.117>
- Mehler, M. F., & Mattick, J. S. (2006). Non-coding RNAs in the nervous system. *The Journal of physiology*, 575(Pt 2), 333–341. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.113191>
- Mohamadzadeh, O., Hajinouri, M., Moammer, F., Tamehri Zadeh, S. S., Omid Shafiei, G., Jafari, A., Ostadian, A., Talaei Zavareh, S. A., Hamblin, M. R., Yazdi, A. J., Sheida, A., & Mirzaei, H. (2023). Non-coding RNAs and Exosomal Non-coding RNAs in Traumatic Brain Injury: the Small Player with Big Actions. *Molecular neurobiology*, 60(7), 4064–4083. <https://doi.org/10.1007/s12035-023-03321-y>
- Morris, K. V., & Mattick, J. S. (2014). The rise of regulatory RNA. *Nature reviews. Genetics*, 15(6), 423–437. <https://doi.org/10.1038/nrg3722>
- Muddashetty, R., Khanam, T., Kondrashov, A., Bundman, M., Iacoangeli, A., Kremerskothen, J., Duning, K., Barnekow, A., Hüttenhofer, A., Tiedge, H., & Brosius, J. (2002). Poly(A)-binding protein is associated with neuronal BC1 and BC200 ribonucleoprotein particles. *Journal of molecular biology*, 321(3), 433–445. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(02\)00655-1](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(02)00655-1)
- Mukilan, M., Ragu Varman, D., Sudhakar, S., & Rajan, K. E. (2015). Activity-dependent expression of miR-132 regulates immediate-early gene induction during olfactory learning in the greater short-nosed fruit bat, *Cynopterus sphinx*. *Neurobiology of learning and memory*, 120, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.02.010>
- Munoz, J. L., Bliss, S. A., Greco, S. J., Ramkissoon, S. H., Ligon, K. L., & Rameshwar, P. (2013). Delivery of Functional Anti-miR-9 by Mesenchymal Stem Cell-derived Exosomes to Glioblastoma Multiforme Cells Conferred Chemosensitivity. *Molecular therapy. Nucleic acids*, 2(10), e126. <https://doi.org/10.1038/mtna.2013.60>
- Mus, E., Hof, P. R., & Tiedge, H. (2007). Dendritic BC200 RNA in aging and in Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of*

- Sciences of the United States of America, 104(25), 10679–10684. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701532104>
- Ng, S. Y., Johnson, R., & Stanton, L. W. (2012). Human long non-coding RNAs promote pluripotency and neuronal differentiation by association with chromatin modifiers and transcription factors. *The EMBO journal*, 31(3), 522–533. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.459>
- Nowak, A., Wicik, Z., Wolska, M., Shahzadi, A., Szwed, P., Jarosz-Popek, J., Palatini, J., Postula, M., Czlonkowska, A., Mirowska-Guzel, D., & Eyileten, C. (2022). The role of non-coding RNAs in neuroinflammatory process in multiple sclerosis. *Molecular neurobiology*, 59(8), 4651–4668. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-02854-y>
- Pandini, C., Garofalo, M., Rey, F., Garau, J., Zucca, S., Sproviero, D., Bordoni, M., Berzero, G., Davin, A., Poloni, T. E., Pansarasa, O., Carelli, S., Gagliardi, S., & Cereda, C. (2021). MINCR: A long non-coding RNA shared between cancer and neurodegeneration. *Genomics*, 113(6), 4039–4051. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2021.10.008>
- Panni, S., Lovering, R. C., Porras, P., & Orchard, S. (2020). Non-coding RNA regulatory networks. *Biochimica et biophysica acta. Gene regulatory mechanisms*, 1863(6), 194417. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2019.194417>
- Qureshi, I. A., & Mehler, M. F. (2013). Long non-coding RNAs: novel targets for nervous system disease diagnosis and therapy. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 10(4), 632–646. <https://doi.org/10.1007/s13311-013-0199-0>
- Rajgor, D., & Buratti, E. (2019). Neurodegeneration: The emerging non-coding connections. *Non-coding RNA research*, 4(3), 79. <https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2019.09.002>
- Roshan, R., Shridhar, S., Sarangdhar, M. A., Banik, A., Chawla, M., Garg, M., Singh, V. P., & Pillai, B. (2014). Brain-specific knockdown of miR-29 results in neuronal cell death and ataxia in mice. *RNA (New York, N.Y.)*, 20(8), 1287–1297. <https://doi.org/10.1261/rna.044008.113>
- Ruffo, P., De Amicis, F., Giardina, E., & Conforti, F. L. (2023). Long-noncoding RNAs as epigenetic regulators in neurodegenerative diseases. *Neural regeneration research*, 18(6), 1243–1248. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.358615>

- Rybak-Wolf, A., Stottmeister, C., Glažar, P., Jens, M., Pino, N., Giusti, S., Hanan, M., Behm, M., Bartok, O., Ashwal-Fluss, R., Herzog, M., Schreyer, L., Papavasileiou, P., Ivanov, A., Öhman, M., Refojo, D., Kadener, S., & Rajewsky, N. (2015). Circular RNAs in the Mammalian Brain Are Highly Abundant, Conserved, and Dynamically Expressed. *Molecular cell*, 58(5), 870–885. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.03.027>
- Saliminejad, K., Khorram Khorshid, H. R., Soleymani Fard, S., & Ghaffari, S. H. (2019). An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *Journal of cellular physiology*, 234(5), 5451–5465. <https://doi.org/10.1002/jcp.27486>
- Salta, E., & De Strooper, B. (2017). Noncoding RNAs in neurodegeneration. *Nature reviews. Neuroscience*, 18(10), 627–640. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.90>
- Sareen, D., O'Rourke, J. G., Meera, P., Muhammad, A. K., Grant, S., Simpkinson, M., Bell, S., Carmona, S., Ornelas, L., Sahabian, A.,...C. F., Otis, T. S., Svendsen, C. N., & Baloh, R. H. (2013). Targeting RNA foci in iPSC-derived motor neurons from ALS patients with a C9ORF72 repeat expansion. *Science translational medicine*, 5(208), 208ra149. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007529>
- Shafabakhsh, R., Mirhosseini, N., Chaichian, S., Moazzami, B., Mahdizadeh, Z., & Asemi, Z. (2019). Could circRNA be a new biomarker for pre-eclampsia?. *Molecular reproduction and development*, 86(12), 1773–1780. <https://doi.org/10.1002/mrd.23262>
- Singh M. (2013). Dysregulated A to I RNA editing and non-coding RNAs in neurodegeneration. *Frontiers in genetics*, 3, 326. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00326>
- Sopher, B. L., Ladd, P. D., Pineda, V. V., Libby, R. T., Sunkin, S. M., Hurley, J. B., Thienes, C. P., Gaasterland, T., Philippova, G. N., & La Spada, A. R. (2011). CTCF regulates ataxin-7 expression through promotion of a convergently transcribed, antisense noncoding RNA. *Neuron*, 70(6), 1071–1084. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.027>
- Szafranski, K., Abraham, K. J., & Mekhail, K. (2015). Non-coding RNA in neural function, disease, and aging. *Frontiers in genetics*, 6, 87. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00087>

- Tai, Y., Chen, J., Tao, Z., & Ren, J. (2022). Non-coding RNAs: New players in mitophagy and neurodegeneration. *Neurochemistry international*, 152, 105253. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105253>
- Tan, J. Y., Vance, K. W., Varela, M. A., Sirey, T., Watson, L. M., Curtis, H. J., Marinello, M., Alves, S., Steinkraus, B., ...Marques, A. C. (2014). Cross-talking noncoding RNAs contribute to cell-specific neurodegeneration in SCA7. *Nature structural & molecular biology*, 21(11), 955–961. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2902>
- Tay, Y., Rinn, J., & Pandolfi, P. P. (2014). The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition. *Nature*, 505(7483), 344–352. <https://doi.org/10.1038/nature12986>
- Thomson, D. W., & Dinger, M. E. (2016). Endogenous microRNA sponges: evidence and controversy. *Nature reviews. Genetics*, 17(5), 272–283. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.20>
- Tomruk, C., Şirin C., Buhur A., Kılıc K.D.,Çetine.Ö, Erbaş O., Uyanıkgil Y. (2018). The four horsemen of neurodegenerative diseases Alzheimer, Parkinson, Huntington and amyotrophic lateral skleroz; clinical definition and experimental models. *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Journal of Medicine*, 4(1), 37–43. <https://doi.org/10.5606/fng.btd.2018.006>
- Xie, Y., Hayden, M. R., & Xu, B. (2010). BDNF overexpression in the forebrain rescues Huntington's disease phenotypes in YAC128 mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(44), 14708–14718. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1637-10.2010>
- Xu, L., Zhang, Z., Xie, T., Zhang, X., & Dai, T. (2016). Inhibition of BDNF-AS Provides Neuroprotection for Retinal Ganglion Cells against Ischemic Injury. *PloS one*, 11(12), e0164941. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164941>
- Xuan, C., Yang, E., Zhao, S., Xu, J., Li, P., Zhang, Y., Jiang, Z., & Ding, X. (2023). Regulation of LncRNAs and microRNAs in neuronal development and disease. *PeerJ*, 11, e15197. <https://doi.org/10.7717/peerj.15197>

- Wahlestedt C. (2013). Targeting long non-coding RNA to therapeutically upregulate gene expression. *Nature reviews. Drug discovery*, 12(6), 433–446. <https://doi.org/10.1038/nrd4018>
- Wang, S. W., Liu, Z., & Shi, Z. S. (2018). Non-Coding RNA in Acute Ischemic Stroke: Mechanisms, Biomarkers and Therapeutic Targets. *Cell transplantation*, 27(12), 1763–1777. <https://doi.org/10.1177/0963689718806818>
- Wu, Y. Y., & Kuo, H. C. (2020). Functional roles and networks of non-coding RNAs in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Journal of biomedical science*, 27(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00636-z>
- Yan, H., & Bu, P. (2021). Non-coding RNA in cancer. *Essays in biochemistry*, 65(4), 625–639. <https://doi.org/10.1042/EBC20200032>
- Zang, J., Lu, D., & Xu, A. (2020). The interaction of circRNAs and RNA binding proteins: An important part of circRNA maintenance and function. *Journal of neuroscience research*, 98(1), 87–97. <https://doi.org/10.1002/jnr.24356>
- Zhang, M., & Bian, Z. (2021). The Emerging Role of Circular RNAs in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 13, 691512. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.691512>
- Zhang, J., Chen, S., & Liu, K. (2022). Structural insights into piRNA biogenesis. *Biochimica et biophysica acta. Gene regulatory mechanisms*, 1865(2), 194799. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2022.194799>

BÖLÜM 11

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA DNA METİLASYONU DEĞİŞİMLERİ

Dr. Öğr. Üyesi Emel KABARTAN¹

¹ Ordu Üniversitesi, Ulubey MYO, Veterinerlik Bölümü, Ordu, Türkiye
emelkabartan@gmail.com, ORCID ID 0000-0002-6289-2310

1. GİRİŞ

Bir organizmadaki hemen hemen tüm hücreler aynı genetik bilgiyi içermesine rağmen, hücre tipine göre oldukça farklı genler ifade edilir. Bu çeşitliliğin sağlanmasındaki temel mekanizma epigenetik ile açıklanabilir. Epigenetik, DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmadan, gen etkinliğindeki veya işlevindeki kalıtılabilir ve geri dönüşümü mümkün değişikliklerdir (Moore ve ark., 2012). Normal gelişimin farklı aşamalarında elzem olan bu süreç birçok hastalık ve kişisel metabolik farklılıkların da ortaya çıkmasına neden olabilir (Cavalli ve Heard, 2019; Yuan ve ark., 2023).

Çevresel koşullar ve beslenme ile değişebilmesi yanında kalıtılabilir ve DNA dizisindeki mutasyonların aksine potansiyel olarak tersine de çevrilebilir olması (Wüllner ve ark., 2016) açısından epigenetik mekanizmalar, uzun zamandır büyük ilgi odağıdır. Epigenetik mekanizmalar, temelde transkripsiyon aşamasında ve post-transkripsiyonel olarak ikiye ayrılır. Transkripsiyon aşamasında DNA metilasyonları ile histon kuyruklarında metilasyon, ubikütinasyon, asetilasyon ve fosforilasyon gibi mekanizmalar devreye girerken transkripsiyon sonrasında mRNA'nın kodlanmayan RNA türleri ile etkileşimi söz konusudur. Bu bölümde temel epigenetik mekanizmalardan DNA metilasyonunun (DNAm) beyin gelişimindeki rolü verildikten sonra nörodejeneratif hastalıklar (NDH) ile ilişkisi üzerinde durulacaktır.

1.1. Epigenetik bir fenomen olarak DNA Metilasyonu

DNAm, bir metil grubunu S-adenil metiyoninden (SAM) bir sitozin kalıntısının beşinci karbonuna aktararak 5-metil sitozin (5mC) oluşturan bir DNA metiltransferaz ailesi (Dnmt'ler) tarafından katalize edilir (Robertson ve Jones, 2000). Embriyonun gelişiminde yer alan üç proteinden Dnmt1, DNA replikasyonu sırasında, DNAm modelini ebeveynin DNA sarmalından yeni sentezlenen yavru sarmal üzerine aktarırken Dnmt3a ve Dnmt3b, DNA'ya yeni bir metilasyon modeli oluşturabilir ve bu nedenle de-novo Dnmt olarak bilinir (Hervouet ve ark., 2018). Hücreler nihai farklılaşmaya ulaştığında, DNMTlerin ifadesi çok azalır.

TET (Ten-Eleven-Translocation) proteinleri tarafından 5mC'nin 5-hidroksimetilsitozine (5hmC) oksitlenebileceği için (Tahiliani ve ark., 2009; Ito ve ark., 2010) 5hmC'nin de DNAm ile birlikte ele alınması gerekir. 5hmC,

DNA yapısını değiştirerek transkripsiyon faktörlerinin bağlanma yerlerini değiştirebilir ve hatta bazı durumlarda bağlanmayı engelleyebilir (Lercher ve ark., 2014). 5hmC'nin beyinde dikkate değer derecede yüksek olması (Wen ve Tang, 2014) beyindeki 5mC'nin dinamik karakteri hakkında yeni bakış açıları sağlamaktadır.

DNA'm ile ilişkili epigenetik mekanizmalar, özellikle çok faktörlü ve idiyopatik hastalıkların çözümlenmesinde kritik rol alabilir. Aynı zamanda yaşam süresince artan çevresel etkileşimler ile farklılaşan DNA'm örüntüsü, metabolik değişikliklere katkı sağlar. İlerleyen kısımlarda bazı NDHlarla ilişkilendirilecek olan “epigenetik yaş” da kronolojik yaşa göre ölüm riskini tahmin etmede daha iyi bir göstergedir (Li ve ark., 2022).

1.2. Beyin Gelişiminde DNA Metilasyonu

İnsan genomundaki bazların %1'ini 5mC oluşturur ve bu oran dokuya göre değişmekle beraber yetişkin beyinde en yüksek seviyelerdedir (Ehrlich ve ark., 1982). Beyin bölgesine özgü metilasyon değişiklikleri, hücre bölünmesi sırasında bir beyin bölgesini diğerinden ayıran ve bireyler arasındaki farklılıklarla tutarlı kalıtsal işaretlerdir (Ladd-Acosta ve ark., 2007).

Embriyonik kök hücreler nöral soy-bağlı progenitörlere farklılaştıkça, pluripotens ve alternatif soy genleri ile ilişkili olanlar da dahil olmak üzere yüzlerce genin promotör bölgesi metillenir (Mohn ve ark., 2008). Bu DNA'm süreci ile gen susturulması nöronal hücre hattını destekler. Her bir epigenetik mekanizma, nöronal plastisite, öğrenme ve hafıza için kritik olan genlerin düzenlenmesinden sorumlu olduğu gibi sinaptik aktiviteye yanıt olarak da cereyan edebilir (Qureshi ve Mehler, 2013; Yao ve ark., 2016).

Yaşa bağlı belirli DNA'm değişiklikleri, insan beyindeki gen ifadesi üzerinde oldukça geniş bir etkiye sahiptir (Hernandez ve ark., 2011). Farelerde öğrenme ve hafıza işlevlerinin artması ve bilişsel uyarılmanın hipokampus bölgesindeki sinir hücrelerinde DNA'm profilini değiştirebilir (Guo ve ark., 2011). Dnmt1 ve Dnmt3a çift nakavt farelerde meydana gelen DNA'm düşüşleri, seçici olarak hipokampal CA1 bölgesindeki plastisitede anormalliklere, öğrenme ve hafızada bozukluklara yol açar ve Dnmt3a2 izoformu yaşla ilişkili bilişsel gerilemede rol oynarken proteinin yukarı regülasyonu bilişsel işlevi eski haline getirebilir (Oliveira ve ark., 2012).

İnsan beyinde DNAm yaşla birlikte değişip hücre tipine göre farklılık gösterse de 5hmC seviyeleri de beyin dokusunda diğer ana organlarla karşılaştırıldığında en yüksek seviyelerdedir (Li ve Liu, 2011). Hatta genomik 5hmC'nin hücreye özgü modifikasyonları, nöronal işlevlere özgü bir epigenetik imza hipotezini destekler (MacArthur ve Dawlaty, 2021).

Gelişimsel süreçte arsenik maruziyeti gibi çevresel bir etki ise yavruda genom çapında hipometilasyona ve yavrunun hipokampusunda bilişsel süreçle ilgili genlerin düzensiz ifadesine neden olur (Yan ve ark., 2022). Bu bulgular çevresel etkilerin epigenetik mekanizmalarla beyin gelişimini nasıl etkilediğine dair çarpıcı bir örnektir.

2. NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA GENETİK VE EPIGENETİK YAKLAŞIM

NDHlar, nöral dokuların ilerleyici kaybı ile karakterize edilen çeşitli merkezi sinir sistemi bozukluklarıdır (Rachakonda ve ark., 2004). Tek gen hastalığı olarak tanımlanmış Huntington hastalığı (HH) ve Friedreich ataksisi (FA) gibi NDHlar yanında Alzheimer hastalığı (AH), Parkinson hastalığı (PH) ve Amiyotrofik Lateral Skleroz (ALS) gibi hem ailesel hem de sporadik formlarda karşımıza çıkan heterojen NDHlar da vardır (Emerit ve ark., 2004). AH, PH veya ALS gibi NDHların, belirli bir dereceye kadar ailesel bir kümelenme göstermesi, sporadik formların patogenezinde genetik faktörlerin de katkısı olduğunu düşündürür (Mitsui ve Tsuji, 2014).

Mendel kalıtımı olanların aksine, sporadik vakalar doğası gereği karmaşık olduğu için, yani çoklu (epi)genetik ve çevresel faktörleri bir arada değerlendirmek gerektiği için bu bölümde çoğunlukla sporadik PH, AH ve ALS üzerinde durulacaktır. Bahsi geçen bu üç hastalık için yürütülen ilk moleküler çalışmalar, hücrede enerji bozukluğu, apoptoz ve reaktif oksijen türlerinin (Reactive Oxygen Species; ROS) aşırı üretimini, ortak patojenik mekanizmaları üzerinedir (Emerit ve ark., 2004). AH, PH ve ALS vakalarında sırasıyla amiloid beta (A β), α -sinüklein ve süperoksit dismutaz önemli rol oynar ve bu hastalıklarla ilişkili birikimlerin ana bileşenleridir (Barnham ve ark., 2004; Jowaed ve ark., 2010). Gelişen moleküler epidemiyolojik yaklaşımlar, tanıyı kolaylaştırmak, prognostik faktörleri karakterize etmek, ailesel formlar için yüksek riskli genleri belirlemek ve çevresel faktörlerin nedensel ilişkilerini anlamak için son derece değerlidir (Checkoway ve ark., 2011; Miranda-

Morales ve ark., 2017). Artan sayıda moleküler çalışmayla da bu protein ve moleküler yollardan faydalanılarak biyobelirteçler tanımlanmaktadır (Hansson, 2021).

AH ve amiloid plaklarla ilişkilendirilen ve erken başlangıçlı ailesel Parkinson hastalığında da mutasyonuna rastlanan *SNCA*, *NDH*larda merkezi bir rol teşkil eder (Wong ve Krainc, 2017). DNA'ya bağlanarak gen ifadelerinde düzenleyici rol alabilen bu proteinin nörodejenerasyonla ilgili çok sayıda geni etkilediği gösterildiyse de diğer genler arasındaki gen-gen etkileşimleri, insanlarda tüm genom düzeyinde henüz sistematik olarak karakterize edilmemiştir (Bras ve ark., 2021).

2.1. Parkinson Hastalığında Gen İfadesi ve DNA Metilasyonu Değişiklikleri

PH patogenezinde gen ifadesi değişiklikleri dopaminerjik nöron kaybı, oksidatif stres, inflamasyon ve mitokondriyal disfonksiyon ile yakından ilişkilidir (Brown ve ark., 2002; Zheng ve ark., 2010; Mariani ve ark., 2016; Sutherland ve ark., 2019). Ancak, henüz hastalığın tam olarak nasıl geliştiği ve neden bazı insanların daha yüksek risk altında olduğu tam olarak bilinmemektedir.

Daha önceden bahsedildiği gibi normalde sinir iletiminde fizyolojik bir rolü olduğu düşünülen ancak yanlış katlanması ve agregasyonu ailesel ve sporadik PH patolojisiyle ilişkilendirilen *SNCA*'nın hipometilasyonla ifadesinin artması PH patogenezinde DNAm önemini gösterir (Matsumoto ve ark., 2010). PH'da beyindeki dopaminerjik sinir hücrelerinin kaybı, hipermetilasyonla ilişkilidir (Young ve ark., 2019). Toker ve arkadaşları (2021) tarafından yapılan çalışmada, PH vakalarının beyinde, özellikle nöronal fonksiyonlar, oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyonlarla ilgili genlerin ifadesinde histon modifikasyonları ile transkripsiyonel seviyede değişiklikler dikkat çeker. PH vakalarının beyin korteksinde özellikle dopamin hormonu üretiminde önemli bir rol oynayan genlerin metilasyon desenlerinde de önemli farklılıklar vardır ve risk faktörleri olarak bilinen glutamat, dopamin ve nörotrofin sinyal yolları ile ilişkili olan genlerde metilasyon değişiklikleri söz konusudur (Kaut ve ark., 2022). *GSTP1*'in ifadesi, *LRRK2*'nin G2019S mutant formu tarafından DNA hipermetilasyonu yoluyla aşağı doğru düzenlenir (Angelopoulou ve ark., 2022). Aynı zamanda *GBA1* mutasyonu taşıyan PH

vakaları frontal korteksindeki *SNCA* intron 1'in DNAm düzeyleri, idiopatik PH bireylerde anlamlı şekilde azdır (Smith ve ark., 2023). Parkinson hastalığı genlerinin düzenlenmesine yol açan diğer anormal DNA metilasyon değişiklikleri *NPAS2*, *CYP2E1*, *VTRNA2-1*, *NOS2* ve *TNF- α* hipo metilasyonu, *GFPT1*, *HLA-DQA1* ve Tau (*MAPT*) H1 haplotipinin hipermetilasyonlarıdır (Dawson ve ark., 2023). Biyokimyasal açıdan, genomik metilasyon tarafından transkripsiyonun dinamik olarak düzenlenmesi, sürekli bir metil grubu kaynağı gerektirir. Parkinson modeli sıçanlarda metil donörü olarak SAM uygulaması sıçanlarda dopamin seviyelerinde önemli bir iyileşmeye ve dopaminerjik nöronlardaki DNA metilasyon durumunun düzelmesini sağlar (Jalgaonkar ve ark., 2023). Bu bulgular, çok sayıda genetik ve epigenetik mekanizmanın PH ile ilişkisi olduğuna işaret eder.

NDHlara ilişkin vaka-kontrol çalışmalarının büyük kısmında kan parametreleri kullanılır. Bu çalışmalar, hastalığa neden olan mutasyon taramaları (Clark ve ark., 2006) ve hastalığın prognozu (Salas-Leal ve ark., 2019) hakkında bilgi verirken tanı ve tedaviye yönelik yeni biyobelirteçlerin keşfinde de önemli role sahiptir (Hansson, 2021). Yine kandan elde edilen verilere dayanarak PH vakalarının sağlıklı kontrollere kıyasla epigenetik yaşlarının önemli ölçüde yüksek olduğu, epigenetik yaş ile granülosit sayıları arasında da anlamlı bir ilişki olduğu görülmektedir (Horvath ve Ritz, 2015). Ancak kısıtlı da olsa ikizlik çalışmalarından elde edilen bulgular, hastalıkta erken başlangıç gösteren ikizlerin, daha geç başlangıçlı/asemptomatik ikizlere göre daha hızlı bir DNAm yaş hızlanması eğilimine sahip olsa da bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterdiği için bu bağlantı daha dikkatle incelenmeli ve yorumlanmalıdır (Sun ve ark., 2023).

Sonuçta sporadik PH, karmaşık çevre-gen etkileşimlerinin bir sonucu olarak ortaya çıkar (Wirdefeldt ve ark. 2011). Güçlü dopaminerjik veya mitokondriyal toksinlere, yani 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP), organofosfatlara (böcek ilaçları) veya dikloro-difenil-trikloretilen (DDT) maruz kalan hastalarla ilgili epidemiyolojik veriler vardır (Pezzoli ve Cereda, 2013). PH modeli olarak kronik 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) fare modeli kullanılan çalışmanın sonuçlarına göre, lityum tedavisi, kronik MPTP modelindeki PH patogenezinde önemli rol oynayan *SNCA* metilasyonunu regüle ederek nöroprotektif etki gösterir (Zhao ve ark., 2019). Embriyonal gelişim aşamasında dieldrine (tarım ilacı olarak

kullanılan bir organoklorin bileşik) maruz bırakıldığında fare beyininde PH ile ilişkili olan genlerin metilasyonu değişir (Kochmanski ve ark., 2019). Bakır ve kurşun maruziyeti ile de DNAm ve dolayısıyla gen ifadesi düzeyleri değişebilir (Kennedy ve ark., 2020; Yohannes ve ark., 2022). Bu bilgiler, DNAm gibi epigenetik değişikliklerin, genetik varyantların çevresel toksinlere ve PH'daki bireysel duyarlılık ile ilgili çelişkili bulgularına açıklama getirebilir.

2.2. Alzheimer Hastalığında Gen ifadesi ve DNA metilasyonu değişiklikleri

AH, beyinde hücre dışı amiloid- β ($A\beta$) birikimi ve hücre içi tau içeren nörofibriler yumaklarla kendini gösterir. $A\beta$, beyinde plaklara neden olurken etkileşimde olduğu Tau proteininin hiperfosforilasyonu, sinir hücrelerindeki bağlantıların bozulmasına ve sonunda sinerjetik bir şekilde hücre ölümüne yol açar (Busche ve Hyman, 2020). AH patogenezinde önemli rol oynayan bu moleküler mekanizmalarda apolipoprotein E (*APOE*), presenilin 1 ve 2 (*PSEN1*, *PSEN2*), amyloid precursor protein (*APP*), clusterin (*CLU*) ve complement component 1q (*CIQ*) baş rolü oynar (Karch ve Goate, 2015). AH için risk faktörü olan genlerin sayısı, ekstraselüler matris proteinleri, sinyal iletimi ve bağıışıklıkla ilgili çok sayıda geni de içine alır (Bertram ve Tanzi, 2019).

AH ile ilişkili DNAm değişiklikleri tam olarak anlaşılammış olsa da özellikle nörotransmitterlerin sentezinde, sinaps fonksiyonunda ve hücre iskeletinde önemli rol oynayan genlerle ilgili DNAm çeşitli nörotrofik faktörlerin üretimini de etkileyerek hücre işlevlerindeki sorunları tetikleyebilir (Irier ve Jin, 2012; Piras ve ark., 2023).

İkiz çalışmaları, genotipten sapmaları ve epigenetik/çevresel etkileri göstermede önemli yöntemlerdendir. Mastroeni ve meslektaşları (2009) tarafından AH açısından farklı klinik özelliklere sahip olan iki monozygotik ikizin beyin dokularında epigenetik özelliklerin incelendiği çalışmaya göre AH'li dokularda normale göre daha fazla DNAm ve AH olan ikiz kardeş de glial hücrelerde nöronlara göre daha fazla DNAm vardır (Mastroeni ve ark., 2009). AH hastalarının beyinlerinde global 5mC ve 5hmC paternlerinin, amiloid beta, tau ve ubikuitin yükleri dahil çeşitli AD belirteçleriyle ilişkisi vardır (Coppeters ve ark., 2014) ve hastaların superior temporal girusundaki DNAm değişiklikleri de karakterizedir (Watson ve ark., 2016). AH'da

hipokampusun birincil işlevi olan yeni sinir hücrelerinin oluşumu ile ilgili genlerde hipermetilasyon saptanması (Altuna ve ark., 2019) metilasyonunun, sinir hücrelerinin oluşumu ve nörojenez üzerinde etkili olduğunu gösterir. Ancak AH ile ilişkili korteks dokusunda belirlenen metilasyonun çoğunlukla nöronal olmayan hücrelerde olması, hücre tiplerinde hastalıkla ilişkili varyasyonları karakterize etmenin önemini vurgular (Shireby ve ark., 2022).

Kan dokuda biyobelirteç araştırmalarında AH hastalarında Beta-1,3-galactosyltransferase-4 (*B3GALT4*) ve zinc-binding alcohol dehydrogenase domain-containing protein 2 (*ZADH2*) genlerinde önemli derecede hipometilasyon bulguları vardır, bu hipometilasyon yaşlanma ile ilgili değil Alzheimer hastalığına özgüdür ve *B3GALT4* hipometilasyonu, hastalıkta artan beta-amiloid birikimi ile ilişkilidir (Madrid ve ark., 2018). *APP* geninin hem beyinde hem de periferik kanda sürekli olarak hipermetile olan tek gen olduğunun bulunması da onun gelecekte AD'nin en umut verici tanısal kan belirteci olabileceğini ve DNAm çalışmalarına daha fazla enerji ayrılması gerektiğini düşündürür (Wei ve ark., 2020).

Model organizmalardan elde edilen çarpıcı bir veri ise AH modeli olan *APP/PS1* transgenik farelerde hem mtDNA kopya sayısı hem de mitokondriyal gen ifadesi azalırken D-Loop metilasyonunun azalması ve 12S rRNA bölgesi metilasyonunda artış gözlenmesidir (Xu ve ark., 2019) Buna göre mtDNA metilasyon değişiklikleri de AH patolojisinde rol oynayabilir.

Geniş kapsamlı bir derlemede Poon ve ark. (2020) AH patofizyolojisi ile ilişkili çok sayıda genin DNAm düzeylerinde değişikliğe (artış veya azalış) dikkat çeker. *BDNF*, *COMT*, *GRIN2B*, *GSK3B* ve *EPHA1* DNAm düzeylerindeki değişiklikler Alzheimer hastalığının belirtileri ve semptomları ile ilişkilidir ve bu açıdan bakıldığında DNAm Alzheimer hastalığına yol açabilecek faktörlerden biri olabilir (Poon ve ark., 2020). *PM20D1* geni ürünü beyinde enerji metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir enzimdir ve AH hastalarında *PM20D1* promotör bölgesinde artmış DNAm seviyeleri gen ifadesini azaltır (Kim ve ark., 2019). *PM20D1*'deki bu epigenetik değişiklikler, beyinde A β plaklarının birikimine neden olabilir (Shancez-Mut ve ark., 2020). *APOE* de beyin lipid metabolizması, inflamasyon, nöronal plastisite ve beyin hasarı onarımı dahil olmak üzere birçok biyolojik süreci etkiler ve AH için cinsiyet ve yaş üzerinden etkili bir risk faktörüdür (Zhao ve ark., 2020). *APOE* metilasyonu AH ve

kardiyovasküler sağlıkla ilgilidir ve önemli bir biyobelirteç olma potansiyeli vardır (Mur ve ark., 2020).

Hücre proliferasyonu, hücre büyümesi ve yaşlanma gibi biyolojik süreçlerde önemli PI3K/AKT/mTOR sinyal yolunun da nörodejenerasyonda önemli bir rolü vardır (Xu ve ark., 2020). Nöronal hasara neden olabileceği için epigenetik değişiklikler mTOR sinyal yolunu etkileyerek AH prognozu ve semptomları üzerinde etkili olabilir (Agarwal ve ark., 2021).

Hava kirliliği, beslenme faktörleri, enfeksiyonlar ve kronik stres gibi çevresel faktörlerin AH patogeneziindeki etkileri, özellikle DNAm gibi epigenetik mekanizmalar yoluyla modüle edilebilir (Migliore ve Coppede, 2022). Son yıllarda yapılan bu tür çalışmalar, çevresel faktörlerin nörodejenerasyondaki önemine dikkat çekmesi açısından oldukça kıymetlidir.

AH için beyinin farklı bölümlerinde DNAm her zaman gen ifadesine yansımaz (Piras ve ark., 2023) dolayısıyla epigenetiğin karmaşık yapısını göz önünde bulundurularak çok daha fazla çalışmayla metaboloma katkıda bulunan gen, mekanizma ve etkileşimler araştırılmaya devam edilmelidir.

2.3. Amiyotrofik Lateral Skleroz'da Gen İfadesi ve DNA metilasyonu değişiklikleri

ALS, motor nöronların yavaş yavaş ölmesi nedeniyle kaslarda zayıflama ve atrofiye neden olan ölümcül, nadir ve çok nedenli bir sendromdur (Yang ve ark., 2021). ALS'nin moleküler patofizyolojisi ve patogeneziinde rol oynayan faktörler arasında, onlarca gen ve mutasyon tanımlanmış olsa da bunlar hastalığın moleküler mekanizmalarının çözümlenmesi için yeterli değildir (Gregory ve ark., 2020). Aşağıda hastalığın nadir olması nedeniyle diğer NDH'lara kıyasla daha az sayıda olduğu dikkat çeken epigenetik temelli çalışmalardan yola çıkılarak ALS'de DNAm ve gen ifadesi ile ilgili bilgiler derlenmiştir.

ALS hastalarında özellikle motor nöron kaybı ile ilişkili genlerin ifadesi odak noktasıdır. ALS için tanımlanan genlerde yapılan kapsamlı çalışmalar, hastalık ilerlemesi ve diğer fenotipik özelliklerle ilişkili önemli ilişkilerin belirlenmesine yardımcı olabilir ve moleküler olarak yönlendirilmiş kişiselleştirilmiş tedaviler için umut verici hedefler oluşturabilir.

ALS monositlerinde, bağışıklık sistemi, inflamasyon ve mitokondriyal fonksiyonla ilgili genlerde de değişiklikler söz konusudur (Zhao ve ark., 2017).

ALS'de ifadesi değişen genler arasında, nörotransmitter reseptörleri, sinaptik plastisite, oksidatif stres, enflamasyon ve hücre siklusu düzenleyicileri gibi çeşitli biyolojik süreçlerle ilişkili olanlar yer alır (Morgan ve ark., 2018).

ALS vakalarının yaklaşık %10'u ailesel iken geri kalanı sporadik vakalardır (Pakvaran ve ark., 2021). Kalıtılabilirlik çalışmalarına göre sporadik ALS (SALS) önemli bir genetik bileşene sahiptir ve bazı ailesel ALS mutasyonları sporadik vakalarda da gözlenirken çoğu sporadik vakada bilinmeyen bir genetik etiyoloji söz konusudur (Henden ve ark., 2020). Bu durum, SALS'nin kısmen bir gen susturma süreci olan DNAm'dan kaynaklanabileceğini düşündürür.

Analizler, SALS'de beyinde meydana gelen 23 farklı metilasyonun özellikle kalsiyum homeostazı, nörotransmisyon ve oksidatif stresle ilgili genlerde olduğunu gösterir (Morahan ve ark., 2009). Hastalıkta kalsiyum kanalı genleri (*CACNA1B* ve *CACNA1C*) hipermetillenirken neurexin-1 (*NRXN1*), glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör (*GDNF*) reseptörleri (*GFRA1* ve *GFRA2*) ve fosfolipid metabolizması ile ilişkili *PLA2G4C* hipometiledir (Martin ve Wong, 2013). ALS hastalarının DNAm analizi, artmış DNAm ve epigenetik yaşlanma hızı ile ilişkilidir. Epigenetik yaş, hastalığın erken başlangıcı ve daha kısa yaşam süresi ile de orantılıdır (Zhang ve ark., 2020).

ALS fare modellerine göre, spinal kord lezyonlarının nöral hücrelerinde DNMT'lerin aşırı ifadesi ile mitokondriyal bağımlı apoptozun yayılması arasında bir ilişki vardır (Chestnut ve ark., 2011).

ALS için biyobelirteç taramalarında ise ALS patogenezinde önemli süreçlerde rol oynayan enerji üretimi, glukoz homeostazı ve insülin sinyalizasyonu gibi genlerde ortaya çıkan metilasyon değişiklikleri yanında kolesterol yollarıyla ilgili genlerdeki metilasyon değişiklikleri de dikkat çeker (Hop ve ark., 2021). Farklı şekilde metillenmiş lokusların (FML) belirlenmesi için yapılan analizlere göre, farklı yollarda rol alan 12 genle (*NWD1*, *LDHD*, *CIS*, *IQCE*, *TNF*, *PDE1C*, *LGALS1*, *CSNK1E*, *LRRC23*, *ENO2*, *ELOVL2* ve *ELOVL2-AS1*) ilgili diferansiyel olarak metile bölge vardır. Nörotrofik faktörler ve sinaptik plastisite ile ilgili *VGF*'de metilasyon azalır; hücrelerin oksijen kullanımına yanıt olarak gen ekspresyonunu düzenleyen *HIF1A* (hypoxia-inducible factor 1-alpha) ve telomeraz enziminin katalitik alt birimi olarak hücre yaşlanması ve ölümü ile ilişkili *TERT* (telomerase reverse transcriptase) metilasyonu artar ve *ELOVL2* ve *ARID1B*'nin metilasyon

seviyesi hastalığın başlangıç yaşı ve hastalık süresi ile pozitif ilişkilidir (Cai ve ark., 2022).

Ancak önceki çalışmalarda merkezi sinir sistemindeki DNAm profilleri kandakilerden farklılık gösterdiği için kan biyobelirteçlerinin ALS'deki kritik DNAm değişikliklerinin iyi bir göstergesi olmayabilir (Appleby-Mallinder ve ark., 2021).

3. SONUÇ VE ÖNERİLER

DNAm aracılığıyla epigenetik susturulma, “epimutasyon” olarak tanımlanır ve gen ifadesini değiştirdiği gibi gen-protein ve gen-gen etkileşimini tetikleyebilir (Monk ve ark., 2019). DNAm, epigenetik bilgi düzgün bir şekilde oluşturulmadığında ve/veya korunmadığında meydana geldiği bilinen artan sayıda insan hastalığı ile ilişkilendirilir ve epigenetik anormallikleri farmakolojik olarak tersine çevirmenin yolları da ilgiyle araştırılmaya devam etmektedir (Robertson, 2005; de Assis Pinheiro ve ark., 2023). Çeşitli bulgular da epigenetik imzaların geleneksel olarak nöroanatomik ayrımlarla ilişkilendirilen işlevsel programları kısmen belirlediğine dair ilgi çekici bir olasılığa işaret eder (Ladd-Acosta ve ark., 2007).

Prevalansı ve insidansı yaşla birlikte önemli ölçüde artan NDHlar uzayan insan ömrüyle birlikte yeni çağın önemli sorunları arasında yer alacaktır. Epigenetik müdahaleler, bu hastalıkların ilerlemesini yavaşlatmak veya tersine çevirmek için kullanılabilir yeni terapötik stratejiler sağlayabilir (Mohd Murshid ve ark., 2020). Ancak kompleks bir hastalık olan ALS'nin belirli bir formu için başarılı bir tedavinin altında yatan terapötik mekanizmanın diğer bir tür için geçerli olmadığı (Yang ve ark., 2021) gibi bir olguyla karşı karşıya iken farklı NDHlar için çok sayıda güvenli ve özgün biyobelirteç ile yeni endikasyonlara sahip ilaçlar bulunması gerektiği açıktır.

Tüm bu nedenlerle, DNAm da dahil olmak üzere epigenetik değişimlerin rolünü daha iyi anlamamıza yardımcı olacak çalışmaların devamıyla, hastalıkların önlenmesi, erken teşhisi ve tedavisi için daha etkili yöntemlerin geliştirilmesi mümkün olabilecektir. Takip eden süreçte alanda daha çok çalışma yapılması ve hekimlerin daha doğru reçete yazması, yan etkilerden kaçınarak hali hazırdaki kısıtlı terapötik kaynakları optimize edebilmeleri için farmakogenomik eğitimleri de artmalıdır.

KAYNAKÇA

- Agarwal, D., Kumari, R., Ilyas, A., Tyagi, S., Kumar, R., & Poddar, N. K. (2021). Crosstalk between epigenetics and mTOR as a gateway to new insights in pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *International Journal of Biological Macromolecules*, 192, 895-903.
- Altuna, M., Urdánoz-Casado, A., Sánchez-Ruiz de Gordo, J., Zelaya, M. V., Labarga, A., Lepesant, J. M., ... & Mendioroz, M. (2019). DNA methylation signature of human hippocampus in Alzheimer's disease is linked to neurogenesis. *Clinical epigenetics*, 11, 1-16.
- Angelopoulou, E., Paudel, Y. N., Papageorgiou, S. G., & Piperi, C. (2022). Environmental impact on the epigenetic mechanisms underlying Parkinson's disease pathogenesis: a narrative review. *Brain Sciences*, 12(2), 175.
- Appleby-Mallinder, C., Schaber, E., Kirby, J., Shaw, P. J., Cooper-Knock, J., Heath, P. R., & Highley, J. R. (2021). TDP43 proteinopathy is associated with aberrant DNA methylation in human amyotrophic lateral sclerosis. *Neuropathology and applied neurobiology*, 47(1), 61-72.
- Barnham, K. J., Masters, C. L., & Bush, A. I. (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nature reviews Drug discovery*, 3(3), 205-214.
- Bertram, L., & Tanzi, R. E. (2019). Alzheimer disease risk genes: 29 and counting. *Nature Reviews Neurology*, 15(4), 191-192.
- Brás, J., Gibbons, E., & Guerreiro, R. (2021). Genetics of synucleins in neurodegenerative diseases. *Acta Neuropathologica*, 141, 471-490.
- Brown, V. M., Ossadtchi, A., Khan, A. H., Yee, S., Lacan, G., Melega, W. P., ... & Smith, D. J. (2002). Multiplex three-dimensional brain gene expression mapping in a mouse model of Parkinson's disease. *Genome research*, 12(6), 868-884.
- Busche, M. A., & Hyman, B. T. (2020). Synergy between amyloid- β and tau in Alzheimer's disease. *Nature neuroscience*, 23(10), 1183-1193.
- Cai, Z., Jia, X., Liu, M., Yang, X., & Cui, L. (2022). Epigenome-wide DNA methylation study of whole blood in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Chinese Medical Journal*, 135(12), 1466-1473.
- Cavalli, G., & Heard, E. (2019). Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature*, 571(7766), 489-499.
- Checkoway, H., Lundin, J. I., & Kelada, S. N. (2011). Neurodegenerative diseases. *IARC scientific publications*, (163), 407-419.
- Chestnut, B. A., Chang, Q., Price, A., Lesuisse, C., Wong, M., & Martin, L. J. (2011). Epigenetic regulation of motor neuron cell death through DNA methylation. *Journal of Neuroscience*, 31(46), 16619-16636.

- Clark, L. N., Afridi, S., Karlins, E., Wang, Y., Mejia-Santana, H., Harris, J., ... & Marder, K. (2006). Case-control study of the parkin gene in early-onset Parkinson disease. *Archives of Neurology*, 63(4), 548-552.
- Coppieters, N., Dieriks, B. V., Lill, C., Faull, R. L., Curtis, M. A., & Dragunow, M. (2014). Global changes in DNA methylation and hydroxymethylation in Alzheimer's disease human brain. *Neurobiology of aging*, 35(6), 1334-1344.
- Dawson, V. L., Dawson, T. M., & Kang, S. U. (2023). DNA Methylation signature of aging: Potential impact on the pathogenesis of parkinson's disease. *Journal of Parkinson's Disease*, 13(2), 145-164.
- de Assis Pinheiro, J., Borçoi, A. R., Freitas, F. V., Mendes, S. O., Archanjo, A. B., de Oliveira, M. M., ... & Alvares-da-Silva, A. M. (2023). Psychotropic drug use and suggestive depression symptoms associated with nr3c1 dna methylation. *Journal of Human Growth and Development*, 33(1), 139-152.
- Ehrlich, M., Gama-Sosa, M. A., Huang, L. H., Midgett, R. M., Kuo, K. C., McCune, R. A., & Gehrke, C. (1982). Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues or cells. *Nucleic acids research*, 10(8), 2709-2721.
- Gregory, J. M., Fagegaltier, D., Phatnani, H., & Harms, M. B. (2020). Genetics of amyotrophic lateral sclerosis. *Current Genetic Medicine Reports*, 8, 121-131.
- Guo, J. U., Ma, D. K., Mo, H., Ball, M. P., Jang, M. H., Bonaguidi, M. A., ... & Song, H. (2011). Neuronal activity modifies the DNA methylation landscape in the adult brain. *Nature neuroscience*, 14(10), 1345-1351.
- Hansson, O. (2021). Biomarkers for neurodegenerative diseases. *Nature medicine*, 27(6), 954-963.
- Henden, L., Twine, N. A., Szul, P., McCann, E. P., Nicholson, G. A., Rowe, D. B., ... & Williams, K. L. (2020). Identity by descent analysis identifies founder events and links SOD1 familial and sporadic ALS cases. *NPJ genomic medicine*, 5(1), 32.
- Hernandez, D. G., Nalls, M. A., Gibbs, J. R., Arepalli, S., van der Brug, M., Chong, S., ... & Singleton, A. B. (2011). Distinct DNA methylation changes highly correlated with chronological age in the human brain. *Human molecular genetics*, 20(6), 1164-1172.
- Hervouet, E., Peixoto, P., Delage-Mourroux, R., Boyer-Guittaut, M., & Cartron, P. F. (2018). Specific or not specific recruitment of DNMTs for DNA methylation, an epigenetic dilemma. *Clinical epigenetics*, 10(1), 1-18.
- Hop, P. J., Zwamborn, R. A., Hannon, E., Shireby, G. L., Nabais, M. F., Walker, E. M., ... & Veldink, J. H. (2021). Genome-wide study of DNA methylation in amyotrophic lateral sclerosis identifies differentially

- methylated loci and implicates metabolic, inflammatory and cholesterol pathways. *medRxiv*, 2021-03.
- Horvath, S., & Ritz, B. R. (2015). Increased epigenetic age and granulocyte counts in the blood of Parkinson's disease patients. *Aging (Albany NY)*, 7(12), 1130.
- Irier, H. A., & Jin, P. (2012). Dynamics of DNA methylation in aging and Alzheimer's disease. *DNA and cell biology*, 31(S1), S-42.
- Ito, S., D'Alessio, A. C., Taranova, O. V., Hong, K., Sowers, L. C., & Zhang, Y. (2010). Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification. *Nature*, 466(7310), 1129-1133.
- Jalgaonkar, S., Gajbhiye, S., Sayyed, M., Tripathi, R., Khatri, N., Parmar, U., & Shankar, A. (2023). S-adenosyl methionine improves motor coordination with reduced oxidative stress, dopaminergic neuronal loss, and DNA methylation in the brain striatum of 6-hydroxydopamine-induced neurodegeneration in rats. *The Anatomical Record*, 306(4), 820-830.
- Jowaed, A., Schmitt, I., Kaut, O., & Wüllner, U. (2010). Methylation regulates alpha-synuclein expression and is decreased in Parkinson's disease patients' brains. *Journal of Neuroscience*, 30(18), 6355-6359.
- Kaut, O., Schmitt, I., Stahl, F., Fröhlich, H., Hoffmann, P., Gonzalez, F. J., & Wüllner, U. (2022). Epigenome-wide analysis of DNA methylation in Parkinson's disease cortex. *Life*, 12(4), 502.
- Karch, C. M., & Goate, A. M. (2015). Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biological psychiatry*, 77(1), 43-51.
- Kennedy, E., Everson, T. M., Punshon, T., Jackson, B. P., Hao, K., Lambertini, L., ... & Marsit, C. J. (2020). Copper associates with differential methylation in placenta from two US birth cohorts. *Epigenetics*, 15(3), 215-230.
- Kim, B., Choi, Y., Kim, H. S., & Im, H. I. (2019). Methyl-CpG binding protein 2 in Alzheimer dementia. *International neurourology journal*, 23(Suppl 2), S72.
- Kochmanski, J., VanOeveren, S. E., Patterson, J. R., & Bernstein, A. I. (2019). Developmental diethylstilbestrol exposure alters DNA methylation at genes related to dopaminergic neuron development and Parkinson's disease in mouse midbrain. *Toxicological Sciences*, 169(2), 593-607.
- Ladd-Acosta, C., Pevsner, J., Sabuncuyan, S., Yolken, R. H., Webster, M. J., Dinkins, T., ... & Feinberg, A. P. (2007). DNA methylation signatures within the human brain. *The American Journal of Human Genetics*, 81(6), 1304-1315.
- Lercher, L., McDonough, M. A., El-Sagheer, A. H., Thalhammer, A., Kriaucionis, S., Brown, T., & Schofield, C. J. (2014). Structural insights

- into how 5-hydroxymethylation influences transcription factor binding. *Chemical communications*, 50(15), 1794-1796.
- Li, A., Koch, Z., & Ideker, T. (2022). Epigenetic aging: Biological age prediction and informing a mechanistic theory of aging. *Journal of Internal Medicine*, 292(5), 733-744.
- Lister, R., Mukamel, E. A., Nery, J. R., Urich, M., Puddifoot, C. A., Johnson, N. D., ... & Ecker, J. R. (2013). Global epigenomic reconfiguration during mammalian brain development. *Science*, 341(6146), 1237905.
- MacArthur, I. C., & Dawlaty, M. M. (2021). TET enzymes and 5-hydroxymethylcytosine in neural progenitor cell biology and neurodevelopment. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 645335.
- Madrid, A., Hogan, K. J., Papale, L. A., Clark, L. R., Asthana, S., Johnson, S. C., & Alisch, R. S. (2018). DNA hypomethylation in blood links B3GALT4 and ZADH2 to Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 66(3), 927-934.
- Mariani, E., Frabetti, F., Tarozzi, A., Pelleri, M. C., Pizzetti, F., & Casadei, R. (2016). Meta-analysis of Parkinson's disease Transcriptome data using TRAM software: whole Substantia Nigra tissue and single dopamine neuron differential gene expression. *PLoS One*, 11(9), e0161567.
- Martin, L. J., & Wong, M. (2013). Aberrant regulation of DNA methylation in amyotrophic lateral sclerosis: a new target of disease mechanisms. *Neurotherapeutics*, 10, 722-733.
- Mastroeni, D., McKee, A., Grover, A., Rogers, J., & Coleman, P. D. (2009). Epigenetic differences in cortical neurons from a pair of monozygotic twins discordant for Alzheimer's disease. *PLoS one*, 4(8), e6617.
- Matsumoto, L., Takuma, H., Tamaoka, A., Kurisaki, H., Date, H., Tsuji, S., & Iwata, A. (2010). CpG demethylation enhances alpha-synuclein expression and affects the pathogenesis of Parkinson's disease. *PLoS one*, 5(11), e15522.
- Migliore, L., & Coppedè, F. (2022). Gene–environment interactions in Alzheimer disease: the emerging role of epigenetics. *Nature Reviews Neurology*, 18(11), 643-660.
- Miranda-Morales, E., Meier, K., Sandoval-Carrillo, A., Salas-Pacheco, J., Vázquez-Cárdenas, P., & Arias-Carrión, O. (2017). Implications of DNA methylation in Parkinson's disease. *Frontiers in molecular neuroscience*, 10, 225.
- Mitsui, J., & Tsuji, S. (2014). Genomic aspects of sporadic neurodegenerative diseases. *Biochemical and biophysical research communications*, 452(2), 221-225.
- Mohd Murshid, N., Aminullah Lubis, F., & Makpol, S. (2020). Epigenetic changes and its intervention in age-related neurodegenerative diseases. *Cellular and molecular neurobiology*, 1-19.

- Mohn, F., Weber, M., Rebhan, M., Roloff, T. C., Richter, J., Stadler, M. B., ... & Schübeler, D. (2008). Lineage-specific polycomb targets and de novo DNA methylation define restriction and potential of neuronal progenitors. *Molecular cell*, 30(6), 755-766.
- Monk, D., Mackay, D. J., Eggermann, T., Maher, E. R., & Riccio, A. (2019). Genomic imprinting disorders: lessons on how genome, epigenome and environment interact. *Nature Reviews Genetics*, 20(4), 235-248.
- Moore, L. D., Le, T., & Fan, G. (2013). DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*, 38(1), 23-38.
- Morahan, J. M., Yu, B., Trent, R. J., & Pamphlett, R. (2009). A genome-wide analysis of brain DNA methylation identifies new candidate genes for sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, 10(5-6), 418-429.
- Morgan, S., Duguez, S., & Duddy, W. (2018). Personalized medicine and molecular interaction networks in amyotrophic lateral sclerosis (ALS): Current knowledge. *Journal of Personalized Medicine*, 8(4), 44.
- Mur, J., McCartney, D. L., Walker, R. M., Campbell, A., Bermingham, M. L., Morris, S. W., ... & Marioni, R. E. (2020). DNA methylation in APOE: The relationship with Alzheimer's and with cardiovascular health. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 6(1), e12026.
- Oliveira, A. M., Hemstedt, T. J., & Bading, H. (2012). Rescue of aging-associated decline in Dnmt3a2 expression restores cognitive abilities. *Nature neuroscience*, 15(8), 1111-1113.
- Pakravan, D., Orlando, G., Bercier, V., & Van Den Bosch, L. (2021). Role and therapeutic potential of liquid-liquid phase separation in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Molecular Cell Biology*, 13(1), 15-28.
- Pezzoli, G., & Cereda, E. (2013). Exposure to pesticides or solvents and risk of Parkinson disease. *Neurology*, 80(22), 2035-2041.
- Piras, I. S., Brokaw, D., Kong, Y., Weisenberger, D. J., Krate, J., Delvaux, E., ... & Coleman, P. D. (2023). Integrated DNA Methylation/RNA Profiling in Middle Temporal Gyrus of Alzheimer's Disease. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 1-19.
- Poon, C. H., Tse, L. S. R., & Lim, L. W. (2020). DNA methylation in the pathology of Alzheimer's disease: from gene to cognition. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1475(1), 15-33.
- Qureshi, I. A., & Mehler, M. F. (2013). Understanding neurological disease mechanisms in the era of epigenetics. *JAMA neurology*, 70(6), 703-710.
- Rachakonda, V., Pan, T. H., & Le, W. D. (2004). Biomarkers of neurodegenerative disorders: how good are they?. *Cell Research*, 14(5), 349-358.
- Robertson, K. D. (2005). DNA methylation and human disease. *Nature Reviews Genetics*, 6(8), 597-610.

- Robertson, K. D., & A. Jones, P. (2000). DNA methylation: past, present and future directions. *Carcinogenesis*, 21(3), 461-467.
- Salas-Leal, A. C., Sandoval-Carrillo, A., Romero-Gutiérrez, E., Castellanos-Juárez, F. X., Méndez-Hernández, E. M., La Llave-León, O., ... & Salas-Pacheco, J. M. (2019). rs3764435 associated with Parkinson's disease in Mexican Mestizos: Case-control study reveals protective effects against disease development and cognitive impairment. *Frontiers in Neurology*, 10, 1066.
- Sanchez-Mut, J. V., Glauser, L., Monk, D., & Gräff, J. (2020). Comprehensive analysis of PM20D1 QTL in Alzheimer's disease. *Clinical epigenetics*, 12, 1-11.
- Shireby, G., Dempster, E. L., Policicchio, S., Smith, R. G., Pishva, E., Chioza, B., ... & Mill, J. (2022). DNA methylation signatures of Alzheimer's disease neuropathology in the cortex are primarily driven by variation in non-neuronal cell-types. *Nature Communications*, 13(1), 5620.
- Smith, A. R., Richards, D. M., Lunnon, K., Schapira, A. H., & Migdalska-Richards, A. (2023). DNA Methylation of α -Synuclein Intron 1 Is Significantly Decreased in the Frontal Cortex of Parkinson's Individuals with GBA1 Mutations. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2687.
- Sun, Y. M., Yang, W. L., Rogaeva, E., Lang, A. E., Wang, J., & Zhang, M. (2023). Genetic and Epigenetic Study of Monozygotic Twins Affected by Parkinson's Disease. *Clinical and Translational Neuroscience*, 7(2), 11.
- Sutherland, G. T., Matigian, N. A., Chalk, A. M., Anderson, M. J., Silburn, P. A., Mackay-Sim, A., ... & Mellick, G. D. (2009). A cross-study transcriptional analysis of Parkinson's disease. *PLoS one*, 4(3), e4955.
- Tahiliani, M., Koh, K. P., Shen, Y., Pastor, W. A., Bandukwala, H., Brudno, Y., ... & Rao, A. (2009). Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science*, 324(5929), 930-935.
- Toker, L., Tran, G. T., Sundaresan, J., Tysnes, O. B., Alves, G., Haugarvoll, K., ... & Tzoulis, C. (2021). Genome-wide histone acetylation analysis reveals altered transcriptional regulation in the Parkinson's disease brain. *Molecular neurodegeneration*, 16(1), 1-20.
- Watson, C. T., Roussos, P., Garg, P., Ho, D. J., Azam, N., Katsel, P. L., ... & Sharp, A. J. (2016). Genome-wide DNA methylation profiling in the superior temporal gyrus reveals epigenetic signatures associated with Alzheimer's disease. *Genome medicine*, 8(1), 1-14.
- Wei, X., Zhang, L., & Zeng, Y. (2020). DNA methylation in Alzheimer's disease: In brain and peripheral blood. *Mechanisms of Ageing and Development*, 191, 111319.
- Wen, L., & Tang, F. (2014). Genomic distribution and possible functions of DNA hydroxymethylation in the brain. *Genomics*, 104(5), 341-346.

- Wong, Y. C., & Krainc, D. (2017). α -synuclein toxicity in neurodegeneration: mechanism and therapeutic strategies. *Nature medicine*, 23(2), 1-13.
- Xu, Y., Xu, L., Han, M., Liu, X., Li, F., Zhou, X., ... & Bi, J. (2019). Altered mitochondrial DNA methylation and mitochondrial DNA copy number in an APP/PS1 transgenic mouse model of Alzheimer disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 520(1), 41-46.
- Xu, F., Na, L., Li, Y., & Chen, L. (2020). RETRACTED ARTICLE: Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours. *Cell & bioscience*, 10, 1-12.
- Yan, N., Li, Y., Xing, Y., Wu, J., Li, J., Liang, Y., ... & Lu, M. (2022). Developmental arsenic exposure impairs cognition, directly targets DNMT3A, and reduces DNA methylation. *EMBO reports*, 23(6), e54147.
- Yang, X., Ji, Y., Wang, W., Zhang, L., Chen, Z., Yu, M., ... & Sun, H. (2021). Amyotrophic lateral sclerosis: Molecular mechanisms, biomarkers, and therapeutic strategies. *Antioxidants*, 10(7), 1012.
- Yao, B., Christian, K. M., He, C., Jin, P., Ming, G. L., & Song, H. (2016). Epigenetic mechanisms in neurogenesis. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(9), 537-549.
- Yohannes, Y. B., Nakayama, S. M., Yabe, J., Toyomaki, H., Kataba, A., Nakata, H., ... & Ishizuka, M. (2022). Methylation profiles of global LINE-1 DNA and the GSTP1 promoter region in children exposed to lead (Pb). *Epigenetics*, 17(13), 2377-2388.
- Young, J. I., Sivasankaran, S. K., Wang, L., Ali, A., Mehta, A., Davis, D. A., ... & Vance, J. M. (2019). Genome-wide brain DNA methylation analysis suggests epigenetic reprogramming in Parkinson disease. *Neurology Genetics*, 5(4).
- Yuan, X., Huang, J., Wen, L., Novakovic, B., Kilby, M. D., Tong, C., ... & Baker, P. N. (2023). Genome-wide DNA methylation analysis of discordant monozygotic twins reveals consistent sites of differential methylation associated with congenital heart disease. *Genomics*, 110565.
- Zhang, M., McKeever, P. M., Xi, Z., Moreno, D., Sato, C., Bergsma, T., ... & Rogaeva, E. (2020). DNA methylation age acceleration is associated with ALS age of onset and survival. *Acta neuropathologica*, 139, 943-946.
- Zhao, W., Beers, D. R., Hooten, K. G., Sieglaff, D. H., Zhang, A., Kalyana-Sundaram, S., ... & Appel, S. H. (2017). Characterization of gene expression phenotype in amyotrophic lateral sclerosis monocytes. *JAMA neurology*, 74(6), 677-685.
- Zhao, Q., Liu, H., Cheng, J., Zhu, Y., Xiao, Q., Bai, Y., & Tao, J. (2019). Neuroprotective effects of lithium on a chronic MPTP mouse model of

Parkinson's disease via regulation of α -synuclein methylation. *Molecular medicine reports*, 19(6), 4989-4997.

Zhao, N., Ren, Y., Yamazaki, Y., Qiao, W., Li, F., Felton, L. M., ... & Bu, G. (2020). Alzheimer's risk factors age, APOE genotype, and sex drive distinct molecular pathways. *Neuron*, 106(5), 727-742.

Zheng, B., Liao, Z., Locascio, J. J., Lesniak, K. A., Roderick, S. S., Watt, M. L., ... & Global PD Gene Expression (GPEX) Consortium. (2010). Pgc-1 α , a potential therapeutic target for early intervention in parkinson's disease. *Science translational medicine*, 2(52), 52ra73-52ra73.

BÖLÜM 12

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA ER STRESİ VE KATLANMAMIŞ PROTEİN CEVABI

PhD. Kübra ŞAHİN¹

¹ 1 Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Tokat, TÜRKİYE,
e-mail: kubra944@hotmail.fr ORCID: 0000-0001-9870-0176

1.GİRİŞ

Nöronlar, glia hücrelerinin yanı sıra diğer nöronlarla sürekli ve kapsamlı bir şekilde iletişim kuran oldukça uzmanlaşmış hücrelerdir ve sağlıklı protein homeostazını sürdürmek için karmaşık transkripsiyonel efektörler ve sensörler ağı edinmişlerdir (Ziel & Scheper, 2020; Ajoalabady ve ark., 2022). Uzun ömürleri boyunca nöronlar, protein homeostazını (proteostaz) bozabilen birçok stresli durumla karşılaşır. Sıkı protein kalite kontrolünün önemi, anormal nöronal proteostazın nöronal işlev bozukluğuna ve kayba neden olduğu nörodejeneratif bozukluklarla gösterilmektedir (Ziel & Scheper, 2020). Nörodejeneratif hastalıklar dünya çapında toplum ve sağlık sistemleri için giderek artan bir zorluk teşkil etmektedir, ancak moleküler patogenezi hala büyük ölçüde bilinmemekte ve iyileştirici tedavileri bulunmamaktadır (Moreno ve ark., 2012). Alzheimer hastalığı (AH), Huntington hastalığı (HH) ve Parkinson hastalığı (PH) motor işlev bozukluklarından psikodavranışsal belirtilere kadar geniş bir semptom yelpazesi sunan en yaygın nörodejeneratif hastalıklardır (Majd, Power & Grantham, 2015; Masaru Tanaka, Toldi, & Vécsei, 2020).

AH, PH, HH, Prion hastalığı ve amyotrofik lateral skleroz (ALS) gibi motor bozukluklar, benzer ilerleyici nöron ölümü, sinir sistemi bozulması ve kognitif bozukluk ile kendini gösterir, ancak nöronal ölüme yol açan mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır (Majd, Power & Grantham, 2015). Ancak, birçok nörodejeneratif hastalıkta protein agregatlarının birikmesi, nörodejeneratif bozukluklarda hücrel işlev bozukluğunun önde gelen nedenidir. Bu hastalıkların ortak özellikleri, protein birikimine neden olduğuna ve nöronlarda dejeneratif sinyalleri tetiklediğine inanılan olağandışı bir yanlış protein katlanmasıdır. (Moreno ve ark., 2012; Majd, Power & Grantham, 2015).

Endoplazmik retikulumda (ER) katlanmamış/yanlış katlanmış proteinlerin anormal birikimi sonucu meydana gelen hücrel stresin, kanser, diyabet, obezite ve nörodejenerasyon dahil olmak üzere birçok hastalığın patogenezi olası itici güç olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. ER proteostaz sürveyansına, ER lümeninde protein katlanması doğruluğunu algılayan bir sinyal iletim yolu olan katlanmamış protein yanıtı (UPR) aracılık eder. UPR, artan yanlış katlanmış protein seviyeleri tarafından tetiklenen koruyucu bir hücrel mekanizmadır ve hücrenin protein katlama kapasitesini

ayarlamak veya kronik hasar durumunda apoptotik hücre ölümünü indüklemek için protein katlanma durumu hakkındaki bilgileri çekirdeğe ve sitozole iletir (Hetz, Zhang, & Kaufman, 2020). Nörodejeneratif ilerleme sırasında nöronların ölümünün altında kronik ER stresinin yattığı düşünülmektedir, ancak UPR yollarının nöronal hücre kaderini düzenlediği kesin mekanizma tam olarak anlaşılmamıştır (Yan ve ark., 2019). Ancak, sistemik ve nörodejeneratif hastalıklarda kronik UPR aktivasyonu, hücrel dishomeostazın erken belirtisi olarak tanımlanmıştır. UPR sinyalinin düzenlenmesi ve bunun hastalıkların patofizyolojisindeki etkilerinin anlaşılmasındaki son gelişmelerin hastalıkların teşhis ve tedavisinde yeni terapötik yollar açabileceği düşünülmektedir (Hetz, Zhang, & Kaufman, 2020).

Bu bölümde öncelikle ER stresi, UPR tepkisi, UPR sensör proteinleri ve bu sensör proteinlerin sinyal yolak mekanizmaları ele alınmıştır. Daha sonra ER stresi ve UPR cevabının nörodejenerasyon ve nörodejeneratif hastalıklara katkısı, en yaygın nörodejeneratif hastalıklarda UPR mekanizmaları ve terapötik hedef olarak kullanımları üzerine yoğunlaşmıştır.

2.ER STRESİ VE KATLANMAMIŞ PROTEİN YANITI

Ökaryotik hücrelerdeki en büyük organellerden biri olan ER, ER lümeni adı verilen kapalı bir alan aracılığıyla birbirine bağlanan dallanan tübüller ve düzleştirilmiş keselerden oluşan bir ağ olup salgı yolu ile ilişkili proteinlerin sentezlendiği ve katlandığı ana organeldir (Oakes & Papa, 2015; Valenzuela ve ark., 2018). ER'den geçen proteinler, yerleşik ER şaperonları, glikozile edici enzimler ve oksidoredüktazların yardımıyla glikozilasyon, oligomerizasyon, disülfid bağı oluşumu, proizomerizasyon ve katlanma dahil olmak üzere post-translasyonel modifikasyonlara tabi tutulur (Mena, Lopez-Scarim, & Rincon-Limas, 2021). Translasyon sonrası modifikasyonlar ve protein kalite kontrol sistemleri, proteinlerin doğru katlanmasını ve lokalizasyonunu sağlar (Valenzuela ve ark., 2018). Zarlı bir bölme olarak ER, proteinlerin katlanmasının bozulmasına yol açan yapısını, bütünlüğünü ve işlevini etkileyen değişikliklere karşı son derece hassastır. ER katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin lümen içinde toplanmasını önlemek için proteazom tarafından parçalanmak üzere proteinleri tanıyan, proteinleri

sitozole yer değiştiren ve ER-ilişkili bozunma (ERAD) olarak bilinen ubiquitination ve proteazoma bağlı bozunmaya tabi tutulur (Oakes & Papa, 2015; Ghemrawi & Khair, 2020). Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin hücre içinde birikmesi, ER'nin aşırı protein yüküyle baş edememesine ve bunu bir stres biçimi olarak algılamasına yol açar. Bu olay 'ER Stresi' olarak adlandırılır ve çeşitli patolojik durumlara yol açar (Freeman, & Mallucci, 2016; Ghemrawi & Khair, 2020).

ER stresinin saptanması üzerine ER, proteostazı eski haline getirmek ve bu stresten kurtulmasına yardımcı olmak için toplu olarak UPR olarak bilinen, yüksek düzeyde korunmuş birbiriyle ilişkili üç uyarlanabilir sinyal iletim yolunun aktivasyonunu başlatır (Hughes & Mallucci, 2018; Mena, Lopez-Scarim, & Rincon-Limas, 2021). UPR'nin aktivasyonu, protein sentezini ve proteinin ER'ye translokasyonunu azaltarak hücrenin katlanmamış proteinlerin birikimi ile başa çıkmasına izin veren mekanizmaları aktive eder. Protein sentezi hızını azaltarak, şaperonları ve polipeptit agregasyonunu önleyen diğer proteinleri kodlayan genlerin ekspresyonunu yukarı doğru düzenleyerek protein katlama kapasitesini arttırır ve birikmiş yanlış katlanmış proteinleri apoptoza yönlendirerek strese adapte olmaya çalışır (Doyle ve ark., 2011; Ghemrawi & Khair, 2020). Başka bir deyişle, UPR, uygun protein katlanmasına ve yanlış katlanmış/katlanmamış proteinlerin ortadan kaldırılmasına yardımcı olan karmaşık bir ağ görevi görür ve sonunda ER stresinin azalmasına yol açar (Esmaeili ve ark., 2022). Dolayısıyla UPR, ER'deki ana kalite kontrol mekanizmasıdır ve bu yanıt yoluyla hücre, proteostazı korumaya veya iyileştirmeye çalışır (Hughes & Mallucci, 2018). Ancak bu düzeltici mekanizmaların tümü ER fonksiyonunu eski haline getirmek için yeterli değilse, örneğin ER stresi sürdürülürse ve yanlış katlanan protein yeniden katlanamaz veya parçalanamazsa, UPR pro-apoptotik bir sonucu destekler ve hücre apoptoza yönlendirilir (Hughes & Mallucci, 2018; Mena, Lopez-Scarim, & Rincon-Limas, 2021; Esmaeili ve ark., 2022). Bu nedenle, UPR ana hücrel savunma mekanizmalarından biri olarak da kabul edilir (Hughes & Mallucci, 2018).

UPR, PERK (Protein kinaz RNA benzeri ER kinaz), IRE1 α (inositol gerektiren transmembran kinaz/endoribonükleaz 1 α) ve ATF6 (aktive edici transkripsiyon faktörü 6) olarak isimlendirilen üç sensör transmembran proteini tarafından kontrol edilir (Oakes & Papa, 2015; Ghemrawi & Khair,

2020). Bu üç ER stres sensörü arasındaki ortak nokta, hepsinin yanlış katlanmış proteinler kritik düzeyde yüksek konsantrasyonlara ulaştığında doğrudan veya dolaylı olarak algılayabildiğine inanılan bir ER-lümen alanı içermesidir. Yanlış katlanmış proteinlerin lümen alanı algılaması, her bir sensörün oligomerizasyon durumunda değişikliklere ve ilgili aşağı akış aktivitelerinin aktivasyonuna yol açar, böylece ER lümeninden sitoplazmaya bir sinyal iletir (Oakes & Papa, 2015).

Dinlenme koşullarında, üç proteinin tümü, şaperon GRP78 (78 KDa glukozla düzenlenen protein)/BiP ile bir kompleks oluşturur ve inaktif formda bulunurlar (Freeman & Mallucci, 2016; Ghemrawi & Khair, 2020). Ancak, katlanmamış/yanlış katlanmış proteinlerin ER'de birikmesi üzerine, bu moleküllerden ayrılarak yanlış katlanmış proteinleri bağlarlar. GRP78/BiP'in ayrışması PERK, IRE1 α ve ATF6'yı aktive eder (Doyle ve ark., 2011; Freeman & Mallucci, 2016). PERK, IRE1 α ve ATF6'nın aktivasyonu, UPR sırasında hücre içi sinyal yolları ağını başlatır (Doyle ve ark., 2011). Bu yollar paralel olarak çalışır ve uygun protein katlama kapasitesini eski haline getirmek için bir dizi proadaptif kaskadı koordine eder (Mena, Lopez-Scarim & Rincon-Limas, 2021).

En çok korunan UPR sinyal yolu, IRE1 α tarafından başlatılır (Duran-Aniotz ve ark., 2017). IRE1 α , ER stres koşulları altında oto-transfosforile ve homodimerize olan, RNaz alanını aktive eden sitosolik bölgede konformasyonel bir değişikliğe neden olan, ER-konumlu serin/treonin kinaz ve endoribonükleaz alanına sahip bir tip I transmembran proteinidir (Duran-Aniotz ve ark., 2017; Read & Schröder, 2021). IRE1 α 'nın aktivasyonu, katlanmamış proteinlerin birikmesi ortaya çıktığında ER şaperonu GRP78/BiP lümen alanından salındığında gerçekleşir. GRP78'den ayrıldıktan sonra serin/treonin protein kinaz aktivitesi aracılığıyla IRE1 α dimerize olur ve otoposforilasyon ile aktif hale gelir. IRE1 α aktive edildikten sonra, endoribonükleaz alanı, spliceozomdan bağımsız olarak, ortolog IRE1 α , intronunu keserek, X-box bağlayıcı protein 1 (XBP1)'i kodlayan mRNA'nın 26 nükleotidlik bir bölümünü alışılmadık bir şekilde eklenmesini içeren benzersiz bir mekanizma yoluyla sinyal verir (Duran-Aniotz ve ark., 2017; Tatar & Tatar, 2018; Evyapan ve ark., 2019; Cabral- Miranda ve ark., 2022). Bu işleme olayı, RNA'nın kodlama okuma çerçevesini kaydırarak, bir UPR-hedef gen kümesini işleminden geçiren güçlü bir transkripsiyon faktörü olan

XBP1'lerin ifadesine yol açar (Duran-Aniotz ve ark., 2017; Cabral- Miranda ve ark., 2022). XBP1 (eklenmiş mRNA'dan dönüştürülen) sonunda çekirdeğe geçerek ER'deki protein dengesini düzeltmek için protein katlanması, ER biyogenezisi ve ERAD'da rolü olan genlerin transkripsiyonunu artırır (Tatar & Tatar, 2018). IRE1'in RNAse aktivitesi, XBP1 mRNA'sı ile sınırlı değildir. Bunun yerine, IRE1, IRE1'e bağlı bozunma (RIDD) olarak bilinen bir süreçte diğer ER zarıyla ilişkili mRNA'ları parçalama kapasitesine de sahiptir (Preissler & Ron, 2019). IRE1 ayrıca JNK ve NF- κ B yollarının aktivasyonunda bir yapı iskelesi olarak adaptör proteinlere bağlanarak diğer stres yollarıyla iletişim içindedir (Duran-Aniotz ve ark., 2017).

Bir diğer sinyal efektörü olan PERK ise, IRE1 α ile lümen alanı homolojisi gösteren bir tip I transmembran proteindir. PERK'in aktivasyonunun, IRE1'inkine benzer olduğu düşünülmektedir, her ikisinin aktivasyonu da katlanmamış proteinlere afinitesi nedeniyle salınan lümen bölgelerine bağlı GRP78/BiP'e dayanır, bunu PERK monomerlerinin oligomerizasyonu ve trans-fosforilasyonu takip eder (Read & Schröder, 2021). PERK'in ofosforilasyon sonucu aktivite kazanması, ökaryotik translasyon başlatma faktörü 2 α 'yı (eIF2 α) fosforile eder ve eIF2 α 'yı baskılar. Bu baskılanma ER'de mRNA transkripsiyonu baskılar, hücre içindeki genel protein sentezi yavaşlar ve ER'de protein yükü azalmaya başlar. Bu yolla ER'deki katlanmamış protein düzeyi düşürülmeye çalışılır (Tatar & Tatar, 2018; Wiseman, Mesgarzadeh, & Hendershot, 2022). Bununla birlikte, eIF2 α kinazın fosforilasyonu, aktive edici transkripsiyon faktörü 4 (ATF4) gibi stresle ilgili bazı mRNA'ların translasyonunu artırabilir. Ardından ATF4, birkaç otofaji geninin ekspresyonunu indükleyen CHOP'un ve XBP1 gibi hayatta kalmayla ilgili genlerin ekspresyonunu uyarır (Liu ve ark., 2015; Salminen, Kaarniranta & Kauppinen, 2020).

ATF6, bir tip II transmembran proteindir ve UPR sinyallemesinde hayati bir rol oynayan üçüncü yoldur. IRE1 ve PERK'e benzer şekilde, bu protein de aktif olmayan durumunda GRP78/BiP'e bağlanır ve sinyal kaskadının aktive olabilmesi için GRP78/BiP'in ayrılmasını gerektirir. Düzenlenmiş zarlar arası proteoliz (RIP), ATF6 gibi transmembran proteinlerin, daha sonra çekirdeğe girerek gen ekspresyonunu düzenleyen sitoplazmik alanlarını serbest bırakmak için işlendiği süreçtir (Read & Schröder, 2021). GRP78/BiP ayrılması sonucu serbest kalan ATF6 ER'den

Golgi'ye gönderilir ve burada, Site1/S1P ve Site2/S2P proteazları aracılığıyla kırılmaya uğrayarak aktif hale gelir. Aktif hale gelen ATF6 (ATF6p50) (proteolitik kesim sonucu), çekirdeğe göç eder ve çekirdekte şaperonlar ve disülfit izomeraz enzimi (PDI) gibi ER üzerindeki stresi azaltacak hedef genlerin transkripsiyonunu başlatır. Hedef genlerin transkripsiyonu ile ER katlama kapasitesi artırılmaya ve strese karşı korunma sağlanmaya çalışılır (Tatar& Tatar, 2018; Evyapan ve ark., 2019; Hetz ve ark., 2020).

UPR'nin üç kolu birlikte, ER stresi tarafından bozulan hücre proteostazı eski haline getirmek için işbirliği yapar. UPR, ER'nin katlanma kapasitesini artırma görevi görür, ER ile ilişkili bozulmayı (ERAD) destekler ve lümen protein birikimini ve yanlış katlanmayı azaltmak için protein girdilerinin yükünü azaltır. Bununla birlikte, ER stresi yönetilemez olduğunda, UPR, apoptotik programları teşvik etmek için işlevini değiştirir. UPR'nin hücre kaderini belirlemedeki bu dinamik işlevi, özellikle şiddetli proteostatik dengesizlikler ile karakterize edilen nörodejeneratif hastalıklar için önemlidir (Mena, Lopez-Scarim & Rincon-Limas, 2021).

3.ER STRESİNİN NÖRODEJENERATİF HASTALIKLAR ÜZERİNE ETKİSİ

ER stresi ve UPR, nörodejeneratif hastalıklar dahil çeşitli insan hastalıklarının patolojik özelliği olarak ortaya çıkmaktadır (Oakes & Papa, 2015). Ayrıca UPR, nörodejeneratif hastalıkların gelişmesi için önemli bir risk faktörü olan yaşlanma süreciyle de ilişkilendirilmiştir. Hastalık modellerinde UPR'nin genetik veya farmakolojik manipülasyonunu kullanan fonksiyonel çalışmalar, ER stresinin hastalık patogenezine katkısını göstermiştir ve UPR'yi gelecekteki müdahaleler için çekici bir hedef haline getirmiştir (Valenzuela ve ark., 2018).

Nörodejeneratif hastalıklardan mustarip hastaların beyinlerinde yanlış katlanmış/katlanmamış proteinlerin varlığı, son on yılda giderek artan bir şekilde belgelenmiştir, bu nedenle son araştırmaların UPR'yi tüm dünyada bir patolojik yol ve terapötik hedef olarak odak noktasına getirmesi şaşırtıcı değildir. Nörodejeneratif hastalıklar klinik, patolojik ve biyokimyasal belirtileri bakımından farklılık gösterir. Bununla birlikte, nörodejeneratif bozuklukların ortak özelliklerinden biri, nöronların ölümüyle ilişkili hastalığa özgü proteinlerin yanlış katlanması ve toplanmasıdır (Hughes & Mallucci,

2018). Örneğin, AH, PH, HH ve ALS gibi nörodejeneratif hastalıklar, beyinde ilerleyici agregasyon ve anormal proteinlerin birikmesi ile karakterize edilen, sinapsların değişen işlevine ve nihayetinde nörodejenerasyona neden olan klinik olarak sessiz bir dönemle karakterize edilir. Bu nedenle, periferik/merkezi sinir sistemini etkileyen bu durumlar "protein yanlış katlanma hastalıkları" olarak da adlandırılır (Ajooolabady ve ark., 2022). Beyindeki hastalığa özgü yanlış katlanmış proteinler arasında AH'de amiloid-beta ($A\beta$) ve hiperfosforile tau, PH'de a-sinüklein, ALS'de TDP-43, FUS veya SOD1, prion hastalıklarında prion proteini bulunur (Hughes & Mallucci, 2018).

Yanlış katlanmış proteinler fizyolojik aktivitelerini kaybedebilir, nörotoksisite kazanabilir ve kronik beyin enflamasyonuna yol açabilir. Nöronal hücreler, proteinin yanlış katlanmasına karşı özellikle hassastır, bu nedenle, aşırı yanlış katlanma ve agregasyon, sinapsların işlevinin bozulmasına, apoptoza ve seçici nöronal ölüme yol açar (Ghemrawi & Khair, 2020). Sinaps kaybı tersine çevrilebilir bir süreç olmasına rağmen nöronal ölüm tersine çevrilebilir bir süreç değildir. Bu nedenle, sinaptik disfonksiyonu ve dejenerasyonu yönlendiren mekanizmalar, nörodejenerasyon için büyük önem taşır ve müdahale için çok çekici bir hedefdir (Freeman & Mallucci, 2016).

Protein kümelerinin, nörodejeneratif hastalıkların her birinde seçici nöronal kayba nasıl katkıda bulunduğu aktif olarak araştırılmaktadır (Oakes & Papa, 2015). Çalışmaların büyük bir kısmı, nörodejeneratif hastalık modellerinde ER stresinin patolojik sonuçlarını azaltmak için stratejiler geliştirmeye odaklanmıştır (Valenzuela ve ark., 2018). UPR'nin kronik aktivasyonu, hayvan modellerine ve hastalardan alınan dokuların ölüm sonrası çalışmalarına dayanarak çeşitli nörodejeneratif hastalıklar arasında korunmuş bir özellik olarak ortaya çıkmıştır. Fareler ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalar, ER stresinin ve bozulmuş bir UPR'nin doğrudan nörodejenerasyon ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Son on yılda, ER stresi ile nörodejenerasyon arasındaki nedensel bağlantıyı anlamak için UPR'nin genetik ve farmakolojik manipülasyonu kullanılmıştır. Bu çalışmalar, UPR'nin farklı sinyal bileşenlerinin, hastalık tipine, etkilenen nöronlara ve hastalığın evresine bağlı olarak hastalık patofizyolojisi üzerinde spesifik ve hatta bazen zıt etkilere sahip olduğu çok yönlü bir hipotez ortaya çıkarmıştır (Hetz & Saxena, 2017).

Son zamanlarda, çeşitli nörodejeneratif hastalıkları olan hastalardan alınan post mortem beyin dokularında, özellikle PERK-p ve eIF2 α -p'nin tespitinde, UPR aktivasyonunun histolojik kanıtları rapor edilmiş ve UPR aktivasyonunun agregasyonda (özellikle AH ve PH'de) erken bir olay olduğu belirtilmiştir (Hughes & Mallucci, 2018). Bu tutarlılık, ER stresinin patojenik nöronal yanıtta merkezi ve korunmuş bir role sahip olduğunu göstermektedir (Hetz & Saxena, 2017).

Bir stres azaltma yolu olarak iyi karakterize edilmiş işlevinin yanı sıra, çeşitli UPR araçları beyinde başka önemli fizyolojik rollere de sahiptir. Örneğin, memelilerde UPR bileşenleri, beyin gelişimi, sinaptik plastisite ve metabolik kontrolü etkileyen önemli işlevler sergiler. XBP1'in hipokampusta ifadesi, kısmen beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF) transkripsiyonel kontrolünün aracılık ettiği sinaptik plastisite ve hafızayla ilgili süreçleri düzenler (Cabral- Miranda ve ark., 2022). Sinaptik iletişimin karmaşıklığı ve dinamik düzenlemesi, normal beyin işlevini sürdürmek için organizma ömrü boyunca salgı yolu seviyesinde proteostazın sürdürülmesi gerekliliğini vurgulamaktadır (Hanus & Ehlers, 2016). Sinapslardaki ince yapısal ve işlevsel değişiklikler, yaşa bağlı bilişsel gerilemenin ana itici güçleridir, ancak bu bozulmaları dikte eden moleküler mekanizmalar, proteostaz ile ilişkili oldukları öne sürülse de, hala belirsizliğini korumaktadır (Cabral- Miranda ve ark., 2022).

3.1. Alzheimer Hastalığında ER Stresi ve UPR'nin Rolü

AH, ilerleyici bilişsel bozukluk ve hafıza kaybı ile karakterize en yaygın nörodejeneratif hastalıktır. AH patogenezi tam olarak anlaşılammış olup, etkili bir tedavi seçeneği mevcut değildir. Mevcut tedaviler semptomları hafifleten veya hastalığın ilerlemesini yavaşlatan tedavilerdir. Bu nedenle, AH için yeni ve etkili bir tedaviye ihtiyaç duyulmaktadır (Gao & Xu, 2021).

AH, sinaptik iletimdeki değişiklikler, değişmiş kalsiyum homeostazı, artmış ER stresi ve kronik nöroinflamasyon gibi mekanizmalar sebebiyle karmaşık bir hastalık olup, AH'nin nöropatolojik ayırt edici özellikleri arasında amiloid- β (A β) peptitlerinden oluşan hiperfosforile tau ve hücre dışı plak birikmesi yer alır. Tau, nöronal mikrotübüllerin bir dengeleyicisi iken, fosforile tau (p-tau) değildir ve hücre içi nörofibriler yumaklar halinde toplanma eğilimindedir. AH'de, sürekli A β veya p-tau birikimi, ER kalsiyum

homeostazında, anormal protein katlanmasında ve ER stresinde ciddi değişikliklere neden olur (Ghemrawi & Khair, 2020). Tau'nun ER lümeninde yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine yol açan ERAD yolunu bloke ettiği gösterilmiştir (Abisambra ve ark., 2013). A β oligomerleri, nöronal N-metil-D-aspartat reseptörleri (NMDA-R'ler) ile etkileşime girer ve sitozolik kalsiyum dengesinin bozulmasına neden olarak ER stresine bağlı hücre ölümü ve sinaptik depresyonu tetikler. A β peptit nörotoksitesi, ASK1 ve JNK aktivasyonu ile ilişkili ER stres aracılı apoptozu aktive eder (Ghemrawi & Khair, 2020).

Hem in vivo hem de in vitro çalışmalar, ER stresini ve ER stres aracılı apoptozu hedeflemenin AH'nin iyileşmesine katkıda bulunduğunu göstermiştir (Gao & Xu, 2021). AH hastalarının ölüm sonrası nöronlarında artmış Grp78, fosfo-PERK (pPERK), fosfo-eIF2a (peIF2a), ATF4 ve fosfo-IRE1 α (pIRE1 α) ifadesi ve kronik UPR aktivasyonu belirtileri taşıdığı gösterilmiştir (Bell ve ark., 2016; Uddin, Yu & Lim, 2021).

PERK ve eIF2a'nın fosforile formları AH beyinlerinde, özellikle hipokampal piramidal hücrelerde ve frontal kortekste belirgin şekilde artar, bu fosforilasyon tau kümelerinin birikmesiyle aktive edilir ve PERK aktivasyonu, transkripsiyon faktörü ATF4 ve BACE1'in ekspresyonunu artırır (García-González ve ark., 2018; Ghemrawi & Khair, 2020). Sürekli ATF4 aktivitesi ise doğrudan proapoptotik basamakların aktivasyonuna yol açar (Bell ve ark., 2016).

Fosforile IRE1 α seviyeleri ise, nörofibriler yumaklar gösteren çoğu hücrenin ER stresi belirtileri gösterdiği histopatolojik değişikliklerin derecesi ile doğrudan ilişkilidir (García-González ve ark., 2018). AH'deki çalışmalar, presenilin-1'in (PSEN1) IRE1 ve UPR'nin aktivasyonunda bir rolü olduğunu göstermiştir. Kaspaz 12 eksikliği olan fareler, BiP'nin azalmış A β peptit sitotoksitesine bağlı olarak azalmış A β üretimi sergilemiştir, bu da AH'de UPR ve ER stresi arasında bir bağlantı olduğunu gösterir. Benzer şekilde, hayvan modellerinde AH üzerine yapılan araştırmalar, mutant PSEN1'in varlığının UPR'yi azalttığını, bunun da artan ER stresine ve ölüme oldukça duyarlı nöronlara yol açtığını göstermiştir (Uddin, Yu & Lim, 2021). Ayrıca IRE1 geninin silinmesi AH farelerinin kortikal ve hipokampus bölgelerinde Amiloid prekürsör protein (APP) üretimini azaltmıştır (Duran-Aniots ve ark., 2017).

AH ve ATF6 arasındaki ilişkiye dair sınırlı sayıda kanıt vardır, yakın tarihli bir çalışmada AH'li bir fare modelinde ATF6 ifadesinin azaldığı, ATF6'nın A β seviyesini baskılamak için APP ekspresyonunu azalttığı, promotör aktivitesini ve BACE1'in ekspresyonunu aşağı doğru düzenlediği ve AH model farelerde uzamsal belleği koruduğu bulunmuştur (Du ve ark., 2019).

3.2. Parkinson Hastalığında ER Stresi ve UPR'nin Rolü

Motor, bilişsel ve periferik sistemi etkileyen multifaktöriyel nörodejeneratif bir hastalık olan PH, dopaminerjik nöronların dejenerasyonu ile karakterize edilen bir hareket bozukluğudur (Colla, 2019; El Manaa ve ark., 2021). PH'de Lewy cisimcikleri adı verilen nöronal soma veya nöritlerde yanlış katlanmış, kümelenmiş alfa-sinüklein (α -SYN) fibrillerinin proteinli hücre içi inklüzyonlara birikmesi gözlenir (Colla, 2019). Değişmiş dopamin metabolizması, artmış oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon, değişmiş kalsiyum homeostazı, nöroinflamasyon, bozulmuş otofaji ve proteazom disfonksiyonları dahil olmak üzere çeşitli hücresel disfonksiyonlar, PH'de gözlenen nöronal kayıpla ilişkilidir (El Manaa ve ark., 2021). İnsan PH postmortem dokularında ve hastalığın çoğu hücresel ve hayvan modellerinde anormal ER stres seviyeleri meydana gelir (Martinez ve ark., 2019). PH'de ER stresine yol açan mekanizmalar ve UPR'nin dopaminerjik nöronlarının dejenerasyonundaki rolü, yoğun araştırmaların konusudur. Hayvan modellerinde ve PH hasta beyinlerinde oligomerik a-SYN'nin ER'de biriktiği gösterilmiştir (Lethonen ve ark., 2019). α -Sinüklein sinaptik veziküllerde ve sinir dokusundaki hücre zarlarında ifade edilir. Fosforilasyon ve nitrozilasyon gibi a-SYN'nin post-translasyonel modifikasyonu, proteinin yanlış katlanmasına ve ardından birikmesine neden olur. Yanlış katlanma ile a-SYN'nin üçüncül yapısı ağırlıklı olarak a-sarmalından β -tabaka konformasyonuna değişir (Doyle ve ark., 2011). α -SYN'nin agregasyonu, sonunda iltihaplanma ve nörodejenerasyonla sonuçlanan ER stresini indükler (Lethonen ve ark., 2019).

PH'de, farklı beyin bölgelerinde PERK/ATF4 sinyalinin aktivasyonu gözlenir. α -SYN nigral dopaminerjik nöron hücrelerinin ER'sinde biriktir, PERK/eIF2a sinyalini doğrudan aktive eder ve ATF4'ün ifadesini artırır. Bu yolun aktivasyonu, proapoptotik değişikliklerle örtüşür ve PERK yolunun

PH'de pro-apoptotik rolünü destekler (Lethonen ve ark., 2019; Shacham, Patel & Lederkremer, 2021). α -SYN ER'de yerleşik bir protein olmamasına rağmen, ER/Golgi zarları ile veziküler taşımada yer alan moleküllerle doğrudan etkileşime girer ve UPR'yi çeşitli mekanizmalar aracılığıyla aktive eder (Shacham, Patel & Lederkremer, 2021). Bu mekanizmalardan ilki a-SYN oligomerlerinin proteazom mekanizmasının inhibisyonundan sorumlu olması ve a-SYN kümelerinin doğrudan BiP ile etkileşime girerek singulat girus ve parietal kortekste BiP'in yukarı regüle olmasına sebep olduğu mekanizmadır (Alves da Costa ve ark., 2020; Shacham, Patel & Lederkremer, 2021). Bir diğer mekanizma ise, α -syn'nin RAB1'le etkileşerek CoPII ile ATF-6 ilişkisini ve bunun Golgiye translokasyonunu inhibe ettiği ve ERAD üzerinde olumsuz bir etkiye sebep olduğu mekanizmadır. Kronik ER stresine bağlı olarak PERK ve IRE1 α yollarının aktivasyonu ile birleşen ATF-6 yolunun inhibisyonu ise, PH beyinlerinde proapoptotik sinyallerin şiddetlenmesine neden olur (Kulkarni ve ark., 2023). Bu nedenle, PERK ve ATF6 UPR dallarının eşzamanlı olarak hedeflenmesi, PH'nin tedavisi için olası bir terapötik strateji olabilir (Shacham, Patel & Lederkremer, 2021).

ER stresi aynı zamanda PH'nin *Drosophila pink1* ve parkin mutant modellerinde de gözlenir. Kusurlu mitokondriler mitofusinin köprüleri yoluyla ER ile birleşir ve bu köprüler, UPR'nin aktivasyonunu destekler. Bu sebeple, mitofusinin temaslarını azaltmanın nöroprotektif bir yol olabileceği düşünülmektedir (Hughes & Mallucci, 2018).

3.3. Huntington Hastalığında ER Stresi ve UPR'nin Rolü

HH, striatumda başlayıp kortekse ve beynin diğer bazı bölgelerine uzanan, seçici nöronal ölümlerle sonuçlanan, mutant Huntingtin (Htt) agregasyonunun neden olduğu nörodejeneratif bir hastalıktır. Mutant Htt HH modellerinde ER stresine ve pPERK, P-eIF2 α , CHOP, GADD34, BiP, ATF6 ve XBP1'ler gibi UPR belirteçlerinde yukarı regülasyona neden olur (Shacham, Patel & Lederkremer, 2021). BiP ve CHOP'un her ikisinin de HH hastalarının beyinlerinde, kontrol beyinlerine kıyasla yukarı regüle edildiği gözlenmiştir. Hastalığa neden olan Htt'nin genişletilmiş poliglutamin genişlemeleri, ERAD bileşenlerine müdahale ederek ve inhibe ederek ER stresine neden olur (Hughes & Mallucci, 2018). UPR-PERK yolu, HH'de kapsamlı bir şekilde incelenmemiştir. Bununla birlikte, p-eIF2 α seviyeleri,

mutant HTT eksprese eden hücrelerde artmıştır ve bir ER stres inhibitörü olarak salubrinal ilavesi ile agregatların azaldığı ve hücre canlılığının arttığı gösterilmiştir. Bu ayrıca, PERK yolunun ötesinde sürekli kronik eIF2a inhibisyonunun, PERK aracılı nörotoksik etkilerin tersine dönebileceğini düşündürmektedir. PERK yolunun inhibisyonu ile p-eIF2a seviyelerinin düşürülmesi, mutant HTT proteininin toksisitesini tersine çevirir (Bell ve ark., 2016).

3.4. ALS Hastalığında ER Stresi ve UPR'nin Rolü

ALS, motonöronları ve dolayısıyla hastaların motor yeteneklerini etkileyen ölümcül geç başlangıçlı bir nörodejeneratif hastalıktır. Toplam vakaların %5-10'u ailesel ALS vakaları geri kalanı ise sporadik ALS vakaları olarak tanımlanmaktadır (Valenzuela ve ark., 2018). Bunina cisimcikleri, nörofilament hücre iskeleti agregasyonu, ubikuitin, mutant süperoksit dismutaz 1 (mSOD1) ve PDI gibi protein agregatlarının birikmesi hastalığın özellikleridir (Doyle ve ark., 2011). ALS'nin prelinik modellerinde ve ALS hastalarından alınan ailesel-sporadik indüklenmiş pluripotent kök hücre (iPSC) türevli motonöronlarda ER stresi ve UPR aktivasyonu etkileri görülür (Valenzuela ve ark., 2018). Ayrıca, sporadik ALS hastalarının omurilikinde PERK, ATF6, IRE1 ve kaspaz-4'ün protein seviyeleri yüksektir. Ek olarak, Western blot analizi ile sporadik ALS hastalarının insan postmortem omurilik örneklerinde artan XBP-1, ATF4 ve GRP58 seviyeleri gözlemlenmiştir (Scheper & Hoozemans, 2015).

En az 40 ALS ile ilgili gen keşfedilmiş olup C9orf72, SOD1, TDP-43 ve FUS genleri, ailesel ALS vakalarının yarısından sorumludur (Jean ve ark., 2023). TDP-43, ağırlıklı olarak çekirdekte bulunan bir DNA bağlayıcı proteindir. Bununla birlikte, normal koşullar altında bile, TDP-43'ün bir kısmı sitoplazmada yer alır ve TDP-43'ün anormal lokalizasyonu ve sınıflandırılması hastalığın ilerlemesine katkıda bulunur (Bell ve ark., 2016). Stres granülleri, mRNA'lardan, ribozomal alt birimlerden ve çeşitli proteinlerden oluşan hücre içi agregatlardır. eIF2a'nın fosforilasyonu ve bunun sonucunda protein translasyonunun zayıflaması, stres granüllerinin oluşum riskini artırır (Dewey ve ark., 2011). Araştırmalar, genel hücresel stresin stres granül oluşumunu indüklediğini ve eIF2a'nın PERK aracılı

fosforilasyonunun TDP-43'ün stres granül oluşumunu başlattığını göstermiştir (Bell ve ark., 2016).

SOD1, serbest süperoksit radikallerini ortadan kaldıran sitoplazmik ve mitokondriyal lizozimler oluşturmak için bakır veya çinko iyonlarına bağlanan bir proteindir. ER'de mutant SOD1 birikimi, GRP78/BiP ile birleşerek ER stresini indükler. GRP78/BiP SOD1'in ER'ye taşınmasına aracılık eder ve PERK yolunu etkinleştirir. Etkinleşen PERK eIF2a'yı fosforile eder ve fosforile eIF2a ATF4'ün artan ekspresyonuna yol açar (Kikuchi ve ark., 2006). PERK yolunun bir sonucu olarak ATF4 aktivasyonu, omurilik gibi hastalıktan etkilenen alanlarda kanıtlanmıştır. Ancak ATF4, serebellum gibi etkilenmemiş alanlarda aktive edilmemiştir, bu da PERK aktivasyonunun bazı bölgelerde seçici olarak aktive edildiğini düşündürmektedir (Bell ve ark., 2016). Ayrıca, mutant SOD1 ER'de Derlin-1'e doğrudan bağlanarak etki gösterebilir. Derlin-1, ER'den sitozole ERAD aracılı translokasyonda önemli bir proteindir. Mutant SOD1 ve Derlin-1 arasındaki etkileşim, yanlış katlanmış proteinlerin ER'den sitozole translokasyonunu inhibe eder ve yanlış katlanmış proteinler ER'de birikir. Mutant SOD1-Derlin1 etkileşimi, IRE1/ASK1 sinyali ve hücre ölümünü indükler (Jean ve ark., 2023).

4.SONUÇ

Nörodejeneratif hastalıklar dünya çapında çok sayıda insanı etkilemektedir. Dünya sağlık örgütünden alınan bilgilere göre, 2040 yılına kadar nörodejeneratif hastalıkların kanseri geçerek ikinci önde gelen ölüm nedeni olacağı düşünülmektedir. Nörodejeneratif hastalıkların prevalansındaki çarpıcı artış ve buna bağlı maliyetler nedeniyle, nörodejeneratif hastalıkların erken teşhisi ve tedavisi için rasyonel ve gelişmiş sistemler tasarlamak tüm toplumlar için yükselen bir önceliktir.

Çeşitli nörodejeneratif hastalık çalışmalarından elde edilen veriler proteostaz düzensizliğinin, ER stresinin ve daha spesifik olarak, UPR tarafından anormal sinyal iletiminin, nörodejenerasyonda yaygın bir patojenik mekanizma olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, bu UPR aktivasyonunun nörodejeneratif hastalıklardaki patolojik önemi büyük ölçüde bilinmemektedir. Nörodejeneratif proteinopatilerin tedavisi için ER Stresi ve UPR aracılı süreçleri hedeflemek, proteostatik problemlerle savaşmak için

hücrenin kendi mekanizmasını kullanması sebebiyle çekici bir stratejidir. Son zamanlarda, UPR'yi farklı moleküler mekanizmalar yoluyla hedefleyebilen kimyasal şaperonlar, GlaxoSmithKline(GSK) 2606414, ISRIB, Guanabenz, Sephin1, Trazodone Hydrochloride ve Dibenzoylmethane, Salubrinal, Kinase Inhibiting RNase Attenuators (KIRA), N-[2-hydroxy-5-methylphenyl]-3-phenylpropanamide gibi birçok kimyasal bileşik ve nanopartiküller tanımlanmıştır ve bu moleküller test edilmeye devam etmektedir. Bunun ışığında, nanoteknoloji özellikle küçük modülatörlerle kombinasyon halinde moleküler mekanizmaları modüle etmek için nöron korumada temel oyuncu olarak düşünülmekte ve umut verici bir tedavi yaklaşımı olarak geliştirilmeye devam etmektedir.

KAYNAKÇA

- Abisambra, J.F., Jinwal, U.K., Blair, L.J., O’Leary, J.C., Li, Q., Brady, S., Wang, L., Guidi, C.E., Zhang, B., Nordhues, B.A., [...] Dickey, C.A. (2013). Tau accumulation activates the unfolded protein response by impairing endoplasmic reticulum-associated degradation. *J. Neurosci*, 33, 9498–9507. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5397-12.2013>
- Ajoolabady, A., Lindholm, D., Ren, J., & Pratico, D. (2022). ER stress and UPR in Alzheimer’s disease: mechanisms, pathogenesis, treatments. *Cell Death Dis*, 13(8), 706. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05153-5>
- Alves da Costa, C., El Manaa, W., Duplan, E. & Checler, F. (2020). The Endoplasmic Reticulum Stress/Unfolded Protein Response and Their Contributions to Parkinson’s Disease Physiopathology. *Cells*, 9(11), 2495. <https://doi.org/10.3390/cells9112495>
- Bell, M.C., Meier, S.E., Ingram, A.L., & Abisambra, J.F. (2016). PERK-Opathies: An Endoplasmic Reticulum Stress Mechanism Underlying Neurodegeneration. *Curr Alzheimer Res*, 13(2), 150–163. <https://doi.org/10.2174/1567205013666151218145431>
- Cabral-Miranda, F., Tamburini, G., Martinez, G., Ardiles, A.O., Medinas, D.B., Gerakis, Y., Hung, M.L.D., Vidal, R., Fuentealba, M., Miedema, T., Duran-Aniotz, C., [...] Hetz, C. (2022). Unfolded protein response IRE1/XBP1 signaling is required for healthy mammalian brain aging. *The EMBO Journal*, 41, e111952. <https://doi.org/10.15252/embj.2022111952>
- Colla, E. (2019). Linking the Endoplasmic Reticulum to Parkinson’s Disease and Alpha-Synucleinopathy. *Front Neurosci*, 13, 560. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00560>
- Dewey, C.M., Cenik, B., Sephton, C.F., Dries, D.R., Mayer, P., Good S.K., Johnson, B.A., Herz, J. & Yu, G. (2011). TDP-43 is directed to stress granules by sorbitol, a novel physiological osmotic and oxidative stressor. *Mol Cell Biol*, 31(5), 1098–108. <https://doi.org/10.1128/MCB.01279-10>
- Doyle, K.M., Kennedy, D., Gorman, A.M., Gupta, S., Healy, S.J.M., & Samalia, A. (2011). Unfolded proteins and endoplasmic reticulum stress in neurodegenerative disorders. *J Cell Mol Med*, 15(10), 2025–2039. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2011.01374.x>
- Du Y., Liu X., Zhu X., Liu Y., Wang X., Wu X. (2019). Activating transcription factor 6 reduces A β 1–42 and restores memory in Alzheimer’s disease model mice. *Int. J. Neurosci*, 1–9. <https://doi.org/10.1080/00207454.2020.1715977>
- Duran-Aniotz, C., Cornejo, V., Espinoza, S., Ardiles, Á., Medinas, D., Salazar, C., Foley, A., Gajardo, I., Thielen, P., Iwawaki, T., Schepfer,

- W., Soto, C., Palacios, A., Hoozemans, J. & Hetz, C. (2017). IRE1 signaling exacerbates Alzheimer's disease pathogenesis. *Acta Neuropathol*, 134, 489-506. <https://doi.org/10.1007/S00401-017-1694-X>
- Duran-Aniotz, C., Cornejo, V.H., Espinoza, S., Ardiles, A.O., Medinas, D.B., Salazar, C., Foley, A., Gajardo, I., Thielen, P., Iwawaki, T., Scheper, W., Soto, C., Palacios, A.G., Hoozemans, J.J.M., & Hetz, C. (2017). IRE1 signaling exacerbates Alzheimer's disease pathogenesis. *Acta Neuropathologica*, 134, 489–506. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1694-x>
- El Manaa, W., Duplan, E., Goiran, T., Lauritzen, I., Beuchot, L.V., Lacas-Gervais, S., Morais, V.A., You, H., Qi, L., Salazar, M., [...], Alves de Costa, C. (2021). Transcription- and phosphorylation-dependent control of a functional interplay between XBP1s and PINK1 governs mitophagy and potentially impacts Parkinson disease pathophysiology. *Autophagy*, 17(12), 4363–4385. <https://doi.org/10.1080/15548627.2021.1917129>
- Esmacili, Y., Yarjanli, Z., Pakniya, F., Bidram, E., Łos, M.J., Eshraghi, M., Kliensky, D.J., Ghavami, S. & Zarrabi, A. (2022). Targeting autophagy, oxidative stress, and ER stress for neurodegenerative disease treatment. *Journal of Controlled Release*, 345, 147-175. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.03.001>
- Evyapan, G., Ay, G., Cömertpay, G. & Lüleyap, H.Ü. (2019). Tümörögenizde endoplazmik retikulum stres cevabının rolü (Role of endoplasmic reticulum stress response in tumorogenesis). *Cukurova Med J*, 44(1), 241-248. <https://doi.org/10.17826/cumj.480539>
- Freeman, O.J. & Mallucci, G.R (2016). The UPR and synaptic dysfunction in neurodegeneration. *Brain Research*, 1648, Part B, 530-537. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.03.029>
- Gao, X. & Xu, Y. (2021). Therapeutic Effects of Natural Compounds and Small Molecule Inhibitors Targeting Endoplasmic Reticulum Stress in Alzheimer's Disease. *Front Cell Dev Biol*, 9, 745011. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.745011>
- García-González, P., Cabral-Miranda, F., Hetz, C., & Osorio, F. (2018). Interplay Between the Unfolded Protein Response and Immune Function in the Development of Neurodegenerative Diseases. *Front Immunol*, 9, 2541. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02541>
- Ghemrawi, R. & Khair, M. (2020). Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*, 21(17), 6127. <https://doi.org/10.3390/ijms21176127>
- Hanus, C. & Ehlers, M.D. (2016). Specialization of biosynthetic membrane trafficking for neuronal form and function. *Curr Opin Neurobiol*, 39, 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2016.03.004>

- Hetz C. & Saxena S. (2017). ER stress and the unfolded protein response in neurodegeneration. *Nat. Rev. Neurol*, 13, 477–491. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.99>.
- Hetz, C., Zhang, K., & Kaufman, R.J. (2020). Mechanism, regulation and functions of the unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 21(8), 421–438. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0250-z>.
- Hughes, D. & Mallucci, G.R. (2018). The unfolded protein response in neurodegenerative disorders – therapeutic modulation of the PERK pathway. *FEBS Journal*, 286, 342–355. <https://doi.org/10.1111/febs.14422>
- Jeon, Y.M., Kwon, Y., Lee, S. & Kim, H.J. (2023). Potential roles of the endoplasmic reticulum stress pathway in amyotrophic lateral sclerosis. *Front Aging Neurosci*, 15, 1047897. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1047897>
- Kulkarni, A., Preeti, K., Tryphena, K.P., Srivastava, S., Singh, S.B. & Khatri, D.K. (2023). Proteostasis in Parkinson's disease: Recent development and possible implication in diagnosis and therapeutics. *Ageing Research Reviews*, 84, 101816. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101816>
- Lehtonen, S., Sonninen, T.M., Wojciechowski, S., Goldsteins, G. & Koistinaho, J. (2019). Dysfunction of Cellular Proteostasis in Parkinson's Disease. *Front Neurosci*, 13, 457. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00457>
- Liu, Z., Lv, Y., Zhao, N., Guan, G. & Wang J. (2015). Protein kinase R-like ER kinase and its role in endoplasmic reticulum stress-decided cell fate. *Cell Death & Disease*, 6, 1822. <http://dx.doi.org/10.1038/cddis.2015.183>
- Majd, S., Power, J.H., & Grantham, H.J.M. (2015). Neuronal response in Alzheimer's and Parkinson's disease: the effect of toxic proteins on intracellular pathways. *BMC Neuroscience*, 16(69). <https://doi.org/10.1186/s12868-015-0211-1>
- Martinez, A., Lopez, N., Gonzalez, C. & Hetz, C. (2019). Targeting of the unfolded protein response (UPR) as therapy for Parkinson's disease. *Biol. Cell*, 111, 161–168. <https://doi.org/10.1111/boc.201800068>
- Mena, L., Lopez-Scarim, J., & Rincon-Limas, D.E. (2021). TDP-43 and ER Stress in Neurodegeneration: Friends or Foes? *Front Mol Neurosci*, 14, 772226. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.772226>
- Mena, L., Lopez-Scarim, J. & Rincon-Limas, D.E. (2021). TDP-43 and ER Stress in Neurodegeneration: Friends or Foes? *Front Mol Neurosci*, 14, 772226. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.772226>
- Moreno, J.A., Radford, H., Peretti, D., Steinert, J.R., Verity, N., Martin, M.G., Halliday, M., Morgan, J., Dinsdale, D., Ortori, C.A., Barrett, D.A., Tsaytler, P., Bertolotti, A., Willis, A.E., Bushell, M., & Mallucci,

- G.R. (2012). Sustained translational repression by eIF2 α -P mediates prion neurodegeneration. *Nature*, 485(7399), 507–511. <https://doi.org/10.1038/nature11058>
- Oakes S.A. & Papa F.R. (2015). The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annu. Rev. Pathol.*, 10, 173–194. <https://doi.org/10.1146/yıllık-patol-012513-104649>
- Preissler, S., & Ron, D. (2019). Early Events in the Endoplasmic Reticulum Unfolded Protein Response. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 11(4), a033894. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033894>
- Read, A. & Schröder, M. (2021). The Unfolded Protein Response: An Overview. *Biology (Basel)*, 10(5): 384. <https://doi.org/10.3390/biology10050384>
- Salminen, A., Kaarniranta, K., & Kauppinen, A. (2020). ER stress activates immunosuppressive network: implications for aging and Alzheimer's disease. *J Mol Med (Berl)*, 98(5), 633–650. <https://doi.org/10.1007/s00109-020-01904-z>
- Scheper, W. & Hoozemans, J.J.M. (2015). The unfolded protein response in neurodegenerative diseases: a neuropathological perspective. *Acta Neuropathologica*, 130, 315–331. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1462-8>
- Shacham, T., Patel, C. & Lederkremer, G.Z. (2021). PERK Pathway and Neurodegenerative Disease: To Inhibit or to Activate? *Biomolecules*, 11(3), 354. <https://doi.org/10.3390/biom11030354>
- Tanaka, M., Toldi, J., & Vécsei, L. (2020). Exploring the Etiological Links behind Neurodegenerative Diseases: Inflammatory Cytokines and Bioactive Kynurenines. *Int. J. Mol. Sci.* 21(7), 2431. <https://doi.org/10.3390/ijms21072431>
- Tatar, M. & Tatar, T. (2018). Endoplazmik Retikulum Stresi ve İlişkili Hastalıklar (Endoplasmic Reticulum Stress and Related Diseases). *Osmangazi Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.20515/otd.417682>
- Uddin, S., Yu, W.S., & Lim, L.W. (2021). Exploring ER stress response in cellular aging and neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews*, 70, 101417. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101417>
- Valenzuela, V., Jackson, K.L., Sardi, S.P. & Hetz, C. (2019). Gene Therapy Strategies to Restore ER Proteostasis in Disease. *Mol Ther*, 26(6), 1404–1413. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.04.004>
- Wiseman, R.L., Mesgarzadeh, J.S., & Hendershot, L.M. (2022). Reshaping Endoplasmic Reticulum Quality Control Through the Unfolded Protein Response. *Mol Cell*, 82(8), 1477–1491. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.03.025>

Ziel, A.M. & Scheper, W. (2020). The UPR in Neurodegenerative Disease: Not Just an Inside Job. *Biomolecules*, 10(8), 1090. <https://doi.org/10.3390/biom10081090>

BÖÜM 13

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA GEN TERAPİSİ

Dr. Öğr. Üyesi Sümeyya Deniz AYBEK¹

¹ Ordu University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ordu, Turkey. sumeyyadenizaybek@odu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0001-9957-5485

GİRİŞ

Günümüzde gen terapileri, tedavisi olmayan kalıtsal hastalıklar için bir umut ışığı olarak görülmektedir (Mendell vd., 2021). Gen terapisi, kusurlu bir geni düzeltmek amacıyla hücrelere fonksiyonel genetik materyali transfer etmek için ortaya çıkan güçlü bir terapötik araçtır (Martier ve Konstantinova, 2020). Gen terapisinde başlıca dört yaklaşım vardır: kusurlu genin fonksiyonel bir genle yer değiştirmesi; hücreler için zararlı olan mutasyona uğramış bir genin susturulması; genin hücresel fonksiyonuna etki edecek yabancı bir genin eklenmesi; bir hastanın genomundaki genin gen editing yöntemiyle manipüle edilmesidir (Bulcha vd., 2021). Çıplak DNA molekülleri, büyük boyutları, negatif yüklü fosfat grupları ve hidrofilik yapıları nedeniyle hücrelere etkin bir şekilde aktarılamazlar. Aynı zamanda nükleaz aracılı degradasyona karşı da çok hassastırlar. Bu nedenlerden dolayı, gen terapisi için en önemli basamak, terapötik genin degradasyona uğramadan hedeflenen hücrelere gen transferini kolaylaştıran vektörler ve fiziksel yöntemler ile aktarılmasıdır (Al-Dosari ve Gao, 2009). Vektörler, viral ve non-viral vektörler olmak üzere başlıca iki gruba ayrılmaktadır. Viral vektör aracılı gen tedavisinde, terapötik gen, retrovirüsler, adenovirüsler ve adeno-ilişkili virüsleri temel alan vektörler ile hasta içerisine in vivo olarak transfer edilmektedir (Bulcha vd., 2021). Viral olmayan vektörler ise DNA mikroenjeksiyonu, elektroporasyon, gen tabancası, sonoporasyon, magnetofeksiyon ve lipopleks tekniklerini içermektedir. Viral vektörlerin kullanımı genellikle belirgin bir immünojenik tepkiye, sitotoksositeye ve insersiyonel mutageneze yol açmaktadır. Ayrıca, çoğu viral vektörün transgenik kapasiteleri boyut olarak önemli ölçüde düşüktür. Viral vektörlerin aksine non-viral vektörler immünotoksosite göstermez ve transgen boyutu kısıtlı değildir. Ancak, hedef hücrelere transgenlerin dağıtımında viral vektörlere kıyasla daha az etkili olmaktadır. Son 20 yılda gen aktarımı konusunda büyük gelişmeler kaydedilmesine rağmen, bu sınırlayıcı faktörlerin veya olası olumsuz yan etkilerin olmadığı bir gen dağıtım sistemi aracı henüz geliştirilememiştir. Bu yüzden araştırmacılar hücrelerde terapötik bir genin transfer etkinliğini artırmak ve stabil bir gen ekspresyonu sağlamak amacıyla epizomal ve transpozon bazlı vektörler gibi bazı yardımcı teknikler ile daha güvenli gen dağıtım sistemlerini geliştirmeyi hedeflemektedirler (Lee vd., 2017).

Nörodejeneratif hastalıklar, merkezi sinir sistemini etkileyen ve sonuçta nörodejenerasyona yol açan multisistem hastalıkların heterojen bir grubudur. En yaygın görülen nörodejeneratif hastalıklar arasında amyotrofik lateral skleroz (ALS), frontotemporal demans (FTD), spinoserebellar ataksiler (SCA), spinal musküler atrofi (SMA), huntington hastalığı, alzheimer hastalığı (AH) ve parkinson hastalığı (PH) bulunmaktadır. Bazı nörodejeneratif hastalıklara genetik mutasyonlar ve/veya hücrel bozulmalar neden olmaktadır. Bazı durumlarda, farklı nörodejeneratif hastalıklar aynı polimorfizmler veya mutasyonlardan kaynaklanmaktadır ve dolayısıyla benzer patolojik mekanizmalar göstermektedirler. Bazı çevresel veya yaşam tarzı faktörlerinin, genetik faktörlerle birleşmesi sonucu bazı nörodejeneratif hastalıkların gelişme riskinin artırdığı görülürken sporadik vakalar için en önemli risk faktörünün yaşlanma olduğu kabul edilmektedir. Her nörodejeneratif hastalığın patofizyolojisi farklı olsa da hepsinde hücre ölümü, aksonal rejenerasyonun bozulması, demiyelinizasyon ve/veya yapısal ve fonksiyonel nöronal defisit gibi sebeplerden dolayı sinir sistemi hasar görmektedir (Martier ve Konstantinova, 2020). Gen terapisi, nörodejeneratif hastalıkları olan milyonlarca insana, patojenik mekanizmaların doğrudan düzeltilmesi, nöroproteksiyon, nörorestorasyon ve semptom kontrolü dahil olmak üzere çeşitli yollarla terapötik fayda sağlama potansiyeline sahiptir. Bu kitap bölümünde, öncelikle günümüzde mevcut olan gen manipülasyon araçlarını özetleyeceğiz ardından nörodejeneratif hastalıklar için gen tabanlı tedavileri ve karşılaşılan güçlükleri tartışacağız.

1. VİRAL VEKTÖRLER

Virüsler, uygun hücrel alımları nedeniyle gen transferinde oldukça etkilidirler. Bununla birlikte, viral vektörler, üretimindeki zorluklar, akut enflamatuar yanıt oluşturmamasından dolayı tekrar eden uygulamalarda kullanılamama ve humoral ve hücrel immün yanıt oluşturma gibi bazı dezavantajlara sahiptirler. Ayrıca bazı viral vektörler, konağın hücrel genomuna entegre olarak insersiyonel mutagenesize sebep olmaktadır (Al-Dosari ve Gao, 2009). İdeal bir viral vektör geliştirilirken, replikasyonda, kapsid veya zarf oluşumunda görevli proteinleri kodlayan genler viral genomdan uzaklaştırılarak virüsün replike olması ve toksisite oluşturmaması engellenmeye çalışılmaktadır. Farklı viral vektör sistemlerinin her birinin

kendine özgü özellikleri bulunmakta ve bu özellikler gen terapisinde hangi vektörün kullanılacağına belirlenmesinde oldukça önemlidir (Massaro vd., 2021). Bu bölümde gen transferi için en yaygın kullanılan viral vektörler olan retroviral, lentiviral, adenoviral, adeno-ilişkili virüs ve herpes simpleks virüs vektörlerini tartışacağız.

1.1. Retroviral Vektörler

Retroviral vektörler, somatik ve germline gen terapilerinde en sık kullanılan gen dağıtım araçlarıdır. Adenoviral ve lentiviral vektörlerin aksine retrovirüsler, mitotik hücrelerin nükleer porlarından doğrudan geçebildikleri için bölünen hücreleri transfekte edebilirler; retrovirüslerin bu özelliği, *in situ* tedaviler için bu vektörleri en uygun aday yapmaktadır. Retrovirüsler, konak hücre genomuna doğrusal olarak entegre olabildikleri için *ex vivo* gen terapisinde kullanışlıdır (Bushman, 2007). Örneğin X'e bağlı ciddi kombine immün yetmezlik hastalığının tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak bazı hastalarda, virüsün LMO2 onkogenine entegrasyonu sonucu bu gen aktifleşerek lösemi meydana gelmektedir (Hacein-Bey-Abina vd., 2003). Retroviral vektörlerin başlıca sınırlamaları arasında, *in vivo* da düşük etkinlik göstermeleri, konakta immün yanıt oluşturmaları, bölünmeyen hücrelerin transdükte edilememesi ve onkogenlerin aktive etmesi ya da tümör baskılayıcı genleri inaktive etmesi bulunmaktadır (Anson, 2004).

1.2. Lentiviral Vektörler

Lentivirüsler, replike olan hücrelerin yanı sıra replike olmayan hücreleri de transdükte edebilme özelliğine sahiptirler bu sebeple retrovirüsler arasında oldukça önemlidirler (Nayerossadat, Maedeh, ve Ali, 2012). Lentivirüslerin pek çoğu insanlarda genellikle non-patojeniktir ve bu nedenle düşük seviyelerde immün yanıt oluşturmaktadır (Ertl, 2012). Lentivirüsler nöral kök hücrelere güçlü bir tropizm göstermektedir. Lentiviral vektörlerin merkezi sinir sistemi dokuları içerisine *in vitro* gen dağıtımında aracı olarak kullanıldığı birçok çalışma yapılmıştır (Federici vd., 2009). Literatürde, parkinson hastalığı, alzheimer hastalığı, huntington hastalığı, motor nöron hastalıkları, lizozomal depo hastalıkları ve omurilik yaralanması gibi nörolojik hastalıkların deneysel hayvan modellerinde, lentiviral vektörler

aracılığıyla gen terapisinin uzun dönemli etkilerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur (Wong vd., 2006).

1.3. Adenoviral Vektörler

Adenoviral vektörler, diğer viral gen dağıtım sistemleri ile karşılaştırıldığında, önemli avantajlar sunmaktadır. İlk olarak, çoğu insan hücresi birincil adenovirüs reseptörünü ve ikincil integrin reseptörlerini eksprese ettiği için adenoviral vektörler terapötik genleri in vivo olarak iletmenin en etkili yoludur. Bu nedenle, insan hücreleri adenovirüs vektörleri ile kolayca enfekte olabildikleri için yüksek seviyelerde transgen ekspresyonu sağlanır. İkincisi, yeni adenoviral vektörlerin geliştirilmesi ile anti-adenoviral vektör bağışıklığının azaltılması sağlanmaktadır. Üçüncüsü, kullanımlarının güvenliği konusundaki endişelere rağmen, birçok farklı klinik uygulamada adenovirüs vektörleri ile ilgili kapsamlı deneyler yapılarak en güvenli doz aralığı ve uygulama yolları artık iyi bir şekilde bilinmektedir.1989 yılından bugüne dünya genelinde onaylanan 2.000'den fazla gen tedavisinin klinik denemelerinin önemli bir bölümünde, adenoviral vektörler kullanılmıştır. Son olarak, adenovirüs vektörleri, terapötik özellikleri ve virüsün hedefleme özgüllüğünü iyileştirmek amacıyla viral kapsidleri modifiye etmeye yönelik stratejiler geliştirmek için çok yönlü bir platform sunmaktadır (Lee vd., 2017).

1.4. Adeno-İlişkili Virüs Vektörleri

Parvoviridae familyasına ait Adeno-ilişkili virüs (AAV), replikasyon yapamadığı (AAV replikasyonu için bir yardımcı virüse ihtiyaç duyar), düşük immünojenisite gösterdiği ve insanlarda bilinen bir hastalığa sebep olmadığı için gen terapisinde yaygın olarak tercih edilir (Martier ve Konstantinova, 2020). AAV vektörler, konağın genomuna başarılı bir şekilde entegre olmaktadır ancak bazı deneylerde insan hücrelerinin 19. Kromozomun uzun kolunda lokalize olan bir bölgeye spesifik olarak entegre olduğu görülmüştür. Böyle bir durumda AAV litik fazı yardımcı bir virüs tarafından uyarılmadığı sürece hedef genin ifadesi sessizleşir (McAlister ve Owens, 2010). AAV vektörlerinin önemli bir dezavantajı, yaklaşık 4.8 kb büyüklüğünde transgen kapasitesinin olmasıdır. Bu durum, AAV vektörü aracılığıyla gen dağıtımını deneylerinde kullanılacak olan terapötik genlerin çeşitliliğini büyük ölçüde kısıtlamaktadır (Nayerossadat, Maedeh ve Ali, 2012). AAV9 serotipinden

köken alan AAV vektörlerinin, kan-beyin bariyerini geçtiği ve nöral kök hücrelerini uyarabildiği bulunmuştur (Wang ve Gao, 2014). Bu çalışmalar, beyin ve omurilik hastalıkları için farklı tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine olanak tanımıştır.

1.5. Herpes Simpleks Virüs Vektörleri

Herpes simpleks virüs (HSV), 50 kb'ye kadar transgenik DNA taşıyabilme kapasitesiyle, rutin çalışmalarda kullanılan en büyük viral vektördür. Genel popülasyonda, adenovirüse benzer şekilde, HSV enfeksiyonuna karşı önceden var olan bir bağışıklık bulunmaktadır; bununla birlikte, HSV vektörleri konakçı bağışıklık sisteminden büyük ölçüde kaçabilir (Vannucci vd., 2013). HSV vektörlerinin en önemli özelliklerinden biri nöron hücrelerine doğal tropizm göstermeleridir. Bu özellik sinir sistemi bozukluklarının seçici tedavisinde, HSV vektörlerinin terapötik potansiyellerine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır (Marconi, Manservigi ve Epstein, 2010). Tablo 1'de gen terapisinde en yaygın kullanılan viral vektörlerin özellikleri gösterilmektedir.

Tablo 1. Gen Terapisinde Kullanılan Viral Vektörlerin Özellikleri

Vektör	Genom Boyutu (Kb)	Genom	Paketleme Kapasitesi (Kb)	Enfekte Ettiği Hücre Tipi	Entegrasyon Profili
Retrovirüs	7–11	RNA	8	Bölünen	Entegre olur
Lentivirüs	8	RNA	9	Bölünen ve bölünmeyen	Entegre olur
Adenovirüs	36	dsDNA	8–36	Bölünen ve bölünmeyen	Entegre olmaz
Adeno-ilişkili virüs	8.5	ssDNA	5	Bölünen ve bölünmeyen	%90'dan fazlası entegre olmaz, %10'dan azı bölgeye spesifik entegre olur
Herpes simpleks virüs-1	150	dsDNA	30–40	Bölünen ve bölünmeyen	Entegre olmaz

Kb: Kilobaz; **dsDNA:** Çift zincirli DNA; **ssDNA:** Tek zincirli DNA

2. NON-VİRAL VEKTÖRLER

Non-viral sistemler, viral sistemler dışındaki tüm fiziksel ve kimyasal sistemleri kapsamakta ve genellikle ya katyonik lipozomlar ve polimerler gibi kimyasal yöntemleri ya da gen tabancası, elektroporasyon, parçacık bombardımanı, sonoporasyon ve magnetofeksiyon gibi fiziksel yöntemleri içermektedir. Non-viral sistemlerin gen iletimindeki etkinliği viral sistemlerden çok daha azdır, ancak daha az maliyet gerektirmesi, bağışıklık sistemini daha az indüklemesi ve transgenik DNA boyutunda viral sisteme göre sınırlama olmaması, bu sistemleri gen iletimi için daha önemli hale getirmektedir (Nayerossadat, Maedeh ve Ali, 2012). Non-viral sistemler genellikle aşağıdaki nükleik asit tiplerini transfer etmek için kullanılmaktadır:

- ❖ Küçük DNA (Oligodeoksinükleotidler) veya kimyasal olarak sentezlenen ilişkili moleküller
- ❖ Büyük DNA molekülleri (Plazmid DNA)
- ❖ RNA (Ribozimler, siRNA, shRNA, mRNA) (Ramamoorth ve Narvekar, 2015)

2.1. Fiziksel Temelli Non-viral Vektörler

İn vitro ve in vivo gen iletiminde kullanılan fiziksel yöntemler, hedeflenen hücrelere DNA girişinin kolaylaştırılması için mekanik, elektrik, ultrasonik, hidrodinamik veya lazer bazlı enerji ile hücre zarında geçici penetrasyon oluşturulması esasına dayanmaktadır (Nayerossadat, Maedeh ve Ali, 2012).

2.1.1. Çıplak DNA Enjeksiyonu

Çıplak DNA'nın lokal olarak enjeksiyonu ilk olarak 1990'da intramüsküler olarak ve daha sonra karaciğer, deri ve beyin dahil olmak üzere diğer birçok dokuda gösterilmiştir. Çıplak DNA enjeksiyonu güvenli ve basit bir yöntem olmasına rağmen, gen iletiminde oldukça düşük bir etkinliğe sahiptir. Günümüzde, transferrin, suyla karışmayan çözücüler, iyonik olmayan polimerler, surfaktanlar veya nükleaz inhibitörleri gibi farklı ajanlar ile gen ekspresyonunun artırılması için çalışmalar yürütülmektedir (Al-Dosari ve Gao, 2009; Nayerossadat, Maedeh ve Ali, 2012).

2.1.2. Hidrodinamik Gen Transferi

Hidrodinamik gen transferi, endotelyal ve parankimal hücre geçirgenliğini arttırmak için kılcal damarlarda kontrollü olarak hidrodinamik basıncın kullanıldığı bir uygulamadır (Suda ve Liu, 2007). Liu ve ark.'ları ve Zhang ve ark.'ları bir fare modelinde sistemik gen iletimi için hidrodinamiğe dayalı bir prosedür geliştirmişlerdir. Günümüze kadar olan bu süreçte, geniş bir uygulama yelpazesine sahip olan hidrodinamik gen transferi yöntemi, kemirgenlerde DNA ve RNA iletimi için kullanılan yaygın bir yöntem haline gelmiştir (Liu, Song ve Liu, 1999; Zhang, Budker ve Wolff, 1999). Son zamanlarda, hedef doğrulama ve gen fonksiyonu çalışmaları için küçük interferens RNA'nın (siRNA) iletimi için hidrodinamik gen transfer yöntemi kullanılmaktadır. İnsanlarda hidrodinamik gen transferinin ilk klinik testi, Amerikan Gen Terapisi Derneği'nin 9. yıllık toplantısında bildirilmiştir. Hücre içi DNA transferini kolaylaştırmak için hipertonic çözelti ve yükseltilmiş hidrostatik basınç kullanan önceki çalışmadan farklı olarak, hidrodinamik gen transferi, "çıplak" DNA ile büyük hacimli sıvının hızlı enjeksiyonuyla üretilen hidrodinamik basıncı birleştirerek bir kan damarı içinde genetik materyalleri parankim hücrelerine iletmektedir. Non-viral gen transferine yönelik bu yeni yaklaşım olağanüstü verimlilik ve rahatlık sağlamaktadır. Ayrıca bu yöntem viral vektörlerin transdüksiyon etkinliğini arttırmak için de kullanılmaktadır (Suda ve Liu, 2007).

2.1.3. Gen Tabancası

Balistik DNA transferi veya DNA kaplı parçacık bombardımanı olarak da adlandırılan gen tabancası yöntemi, ilk olarak 1987'de bitkilerde gen transferi için kullanılmıştır. Bu yöntemle, plazmid DNA, 1-3 µm çapındaki altın, tungsten veya gümüş parçacıkları ile kaplanır ve ardından basınçlı gazla yüksek hızlara ulaştırılarak hedef doku hücrelerine penetre olması sağlanır. Başlangıçta "biyolistik" adı verilen transgenik bitki üretmek için geliştirilen bu yöntem daha sonrasında özellikle DNA temelli immünizasyon veya aşılama için deri, mukoza veya cerrahi olarak eksize edilen doku materyalleri gibi memeli hücrelerine in vitro ve in vivo gen iletimi için kullanılan bir tekniğe modifiye olmuştur (Al-Dosari ve Gao, 2009; Nayerossadat, Maedeh ve Ali, 2012).

2.1.4. Elektroporasyon

Elektroporasyon, hedeflenen dokunun içine bir çift elektrot sokularak hücre membranının geçici olarak kararsız hale getirilmesidir, böylece kararsız hale getirilmiş zarı çevreleyen ortamda bulunan DNA molekülleri, hücrenin sitoplazmasına ve nükleoplazmasına penetre olabilmektedir. Ancak tranşen, elektroporasyona maruz bırakılan hücrelerin yalnızca %0,01'ine entegre olabilmektedir (Young ve Dean, 2015; Nayerossadat, Maedeh ve Ali, 2012). Kas, deri, kalp, karaciğer, akciğer ve damar sistemi dahil hemen hemen her doku elektroporasyon ile hedeflenebilmektedir (Young ve Dean, 2015). Bu yöntemde de bazı problemler vardır ki bunlardan en önemlisi elektrotların iç dokulara yerleştirilmesindeki cerrahi işlemin zorluğu ve dokuya uygulanan yüksek voltajın organa zarar vererek genomik DNA stabilitesini etkileyebilmesidir (McMahon ve Wells, 2004).

2.1.5. Sonoporasyon

Düşük frekanslı ultrason ışınlanması, hücre zarının mekanik bozulmasına neden olarak, kavitasyon kabarcıklarının yakınında büyük moleküllerin alınmasına izin vermektedir. Bu kabarcıkların çökmesi, hücre zarında küçük geçici delikler oluşturur ve geçici zar geçirgenliğini indükler. Ultrason kullanılarak hücre zarındaki bu küçük gözeneklerin oluşumu, DNA/RNA'nın hücreye transferini sağlamaktadır. Bu fenomen, sonoporasyon olarak bilinir ve gen terapisinde umut vaat eden bir gen dağıtım sistemidir (Tomizawa vd., 2013). Sonoporasyonun en büyük avantajı, bu sistemin güvenli ve noninvaziv olmasıdır ve cerrahi prosedür olmaksızın iç organlara ulaşabilmesidir. Son zamanlarda, ultrasonun kan-beyin bariyerinin geçirgenliğini artırabildiği gösterilmiştir (Sheikov vd., 2008).

2.1.6. Magnetofeksiyon

Magnetofeksiyon, non-viral biyokimyasal (katyonik lipidler veya polimerler) ve fiziksel (elektroporasyon, gen tabancası vb gibi) transfeksiyon sistemlerinin avantajlarına sahipken düşük etkinlik ve toksisite gibi sınırlamaları da ortadan kaldıran basit ve etkili bir transfeksiyon yöntemidir. Bu yöntemde manyetik alanlar, nükleik asit içeren parçacıkları hedef hücrelere yoğunlaştırmak için kullanılmaktadır. Bu şekilde manyetik kuvvet, uygulanan tüm vektör dozunun hücreler üzerinde çok hızlı bir şekilde yoğunlaşmasını sağlar, böylece hücrelerin %100'ü önemli bir vektör dozu ile

temas eder. Bu sistem, her tür nükleik asit ile (DNA, siRNA, dsRNA, shRNA, mRNA, ...), non-viral transfeksiyon sistemleri ve virüslere uyarlanabilir (Liang vd., 2004; Nayerossadat, Maedeh ve Ali, 2012).

2.2. Kimyasal Temelli Non-Viral Vektörler

Kimyasal temelli non-viral vektörler, fiziksel temelli non-viral vektörlerle karşılaştırıldığında daha yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Genellikle negatif yüklü nükleik asidin katyonik lipozom/misel veya katyonik polimerlere ait polikatifonik nanomerik parçacıklar tarafından sıkıştırılmasıyla meydana gelen nanomerik komplekslerdir. Katyonik bir lipozom veya misel ile nükleik asitler arasındaki nanomerik kompleks, lipopleks; katyonik bir polimer ile nükleik asitler arasında oluşan nanomerik kompleks ise polipleks olarak adlandırılır. Farklı özellikteki hücrelere, katyonik parçacıkların hedeflenmesi için bir lipid ankoruna (lipoplekslerde) veya bir DNA bağlayıcı katyonik polimere (poliplekslerde) proteinler, antikorlar, küçük kimyasal bileşikler, karbonhidratlar, peptit ligandları ve vitaminler kovalent olarak eklenebilir. Bu ligandlardan bazıları, vektörlerin etkinliğini 10-1000 arasında artırabilir. Bu nanomerik kompleksler genellikle nükleik asitleri degradasyondan koruyacak kadar kararlı bir formda üretilirler ve genellikle endositoz yoluyla hücre içerisine girmektedirler. Katyonik non-viral vektörler, viral vektörlerle karşılaştırıldığında çok daha fazla avantaja sahiptirler. Bu vektörler, yalnızca biyolojik lipidlerden yapıldıkları için düşük toksisite ve antijenite göstermekle birlikte, daha az insersiyonel onkogenез riski taşırlar. Uzun süreli eksprese olurlar ancak viral vektörlere göre düşük verimliliğe sahiptirler (Nayerossadat, Maedeh ve Ali, 2012). Bu bölümde başlıca en yaygın kullanılan 2 katyonik partikül incelenecektir: Katyonik lipozomlar ve katyonik polimerler.

2.2.1. Katyonik Lipozomlar

Lipozomlar, hem hidrofilik hem de hidrofobik ortamlar sağlayan lipid çift katmanlı küresel zarlardır. Lipozom yapısı ilk olarak 1961 yılında İngiliz hematolog Alec D. Bangham tarafından tanımlanmıştır. Terminoloji açısından lipozom, sırasıyla yağ ve vücuda atfedilen “Lipos” ve “Soma” kelimelerinden türetilmiştir. İlaç, aşı/gen iletimi, biyosensör üretimi, teşhis ve gıda ürünleri uygulamaları gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadırlar (Nakhaei vd., 2021). İlk tek değerli katyonik lipid olan DOTAP’ın, Felgner ve ark.’ları

tarafından sentezlendiği 1987 yılından günümüze kadar, in vitro veya in vivo gen iletimi için yüzlerce yeni katyonik lipozom/misel sistemi geliştirilmiştir. Bir lipopleks oluşturulurken, plazmit DNA ve lipozom solüsyonunun uygun bir tamponda karıştırılması gerekmektedir. Lipozomların gen transfer verimliliği, lipozomun boyutuna, yapısına ve hatta miktarına, transgenik DNA ile katyonik lipozom arasındaki yük oranına, yardımcı lipidin varlığına, yapısına ve oranına ve hücre tipine bağlıdır (Immordino, Dosio ve Cattel, 2006).

2.2.2. Katyonik Polimerler

Polietilen imin veya PEI, yüksek transfeksiyon etkinliklerine sahip olduğu belirlenen en eski polimerlerdendir ve geleneksel olarak polimer aracılı transgen gen iletimi için altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu aktivite, kısmen protonlanmış polikasyonların, ATPaz proton pompası tarafından hücre içi endositik veziküllere taşınan protonları emdiği "proton süngeri" etkisinden kaynaklanmaktadır. Bu durum, klorür iyonlarının veziküllere akmasına yol açarak endositik veziküllerin ozmotik basıncın artmasıyla şişerek yırtılmasına neden olmaktadır. PEI'nın, lizozomal zarların stabilizasyonunu bozma yeteneği, PEI-DNA komplekslerinin (polipleksler) asidik endolizozomal veziküllerdeki degradasyondan kaçmasını sağlamaktadır. Böylece, hücre hatlarında transgenin yüksek miktarda eksprese olmasına olanak tanınır (Barua vd., 2011).

3. NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA GEN TEMELLİ TEDAVİLERİN SPESİFİK UYGULAMALARI

Bu bölümde, yaygın görülen nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için geliştirilen gen terapilerini tartışacağız.

3.1. Spinal Musküler Atrofi

Spinal musküler atrofi (SMA), ilerleyici tarzda motor nöron kaybı ile sonuçlanan nörodejeneratif bir hastalıktır. Otozomal resesif geçişli kalıtsal bir hastalık olan SMA'nın yaklaşık olarak insidansı 10.000 canlı doğumda 1'dir ve bu olguların %60'ında SMA tip-1 görülmektedir (Mendell vd., 2021). Hayatta kalma motor nöron geni 1'de (SMN1) görülen mutasyon ve delesyonlar SMA hastalığına neden olmaktadır. İnsan SMN geni 5. kromozomun q13.2 bölgesinde bulunan SMN1 ve bu genin ters dönmüş bir

kopyası olan SMN2 geninden meydana gelmektedir. Bu genlerden SMN1 geni telomerik kopyayı, bu gen ile yüksek derecede homoloji gösteren SMN2 geni ise sentromerik kopyayı oluşturmaktadır. SMN2 geninin 7. ekzonunda meydana gelen nokta mutasyonu bu genin fonksiyonel bir protein üretmesine engel olmaktadır. Bu yüzden SMN1 geninde meydana gelen mutasyon ve delesyonlarda, SMN2 geni tek başına hastalığı engellemede yeterli olmamaktadır (Kashima, Rao, ve Manley, 2007).

Onasemnogene abeparvovec, insan SMN geninin tam uzunlukta bir kopyasını taşıyan ve kan beyin bariyerini geçebilen rekombinant AAV serotip 9 vektörü bazlı gen terapisinin tek bir intravenöz infüzyonudur. Onasemnogene abeparvovec'in SMA tip 1 hastalarında etkinliği ve güvenilirliği, 5 Mayıs 2014 ile 15 Aralık 2017 arasında yürütülen 2 yıllık, açık etiketli, faz 1 bir çalışmasında (START) değerlendirilmiştir. Veriler, 3 hastada 1 kerelik onasemnogene abeparvovec düşük doz infüzyonunun veya 12 hastada terapötik doz infüzyonunun geçmiş kontrollerde gözlemlenenden daha uzun sağkalımla sonuçlandığını göstermiştir. Düşük doz kohortundaki 3 hastadan ikisi ve terapötik doz kohortundaki tüm hastalar, 24 aylık olduklarında kalıcı ventilasyona ihtiyaç duymadan hayatta kalmışlardır. Terapötik doz kohortundaki hastalar eski kohortlarla karşılaştırıldığında motor fonksiyonun önemli ölçüde iyileştiği bulunmuştur. 12 hastanın 11'i beş saniyeden uzun desteksiz oturduğu ve 2 çocuğun ayağa kalktığı ve bağımsız olarak yürüdüğü rapor edilmiştir (Mendell vd., 2017). Potansiyel güvenlik riskleri, uygulamadan sonra dar bir pencerede ortaya çıksa da, onasemnogene abeparvovec ile ilişkili uzun vadeli riskler bugüne kadar hala bilinmemektedir. Bu hastalarda bu ilacın güvenliği ve etkinliği incelenmeye devam etmektedir.

3.2. Alzheimer Hastalığı

Demansın en önemli nedeni olan Alzheimer hastalığı (AH), bilişsel bozukluklar, davranışsal ve psikotik semptomlar, ilerleyici bilişsel gerileme, oryantasyon bozukluğu, davranış değişiklikleri ve ölüm ile karakterize edilen karmaşık, heterojen ve ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır (Perkoviç ve Pivac, 2019; Khan, Barve ve Kumar, 2020). Dünya Sağlık Örgütünün verilerine göre şu anda dünya çapında yaklaşık 47 milyon insan demansdan muzdarip ve 2050 yılına kadar bu sayının üç kattan fazla (~131 milyon)

artacağı tahmin edilmektedir (Tiwari vd., 2019). Hastalığın insidansı yaşla birlikte artmakta ve 65 yaş üstü bireylerin yaklaşık %5-8'i, 85 yaş üstü bireylerin ise %25-50'si bu hastalıktan etkilenmektedir (Khan, Barve ve Kumar, 2020). Klinik olarak, hücre dışı amiloid plakların (amiloid- β peptit ($A\beta$) plakları) ve hiper fosforile tau proteininden oluşan ve nöronal işlev bozukluğuna neden olan hücre içi nörofibriler yumakların (NFT) varlığı ile karakterize edilmektedir (Tiwari vd., 2019). 14. kromozomda (14q24.3) lokalize Presenilin1 (PS1), 1. kromozomda (1q31-q42) lokalize Presenilin 2 (PS2), 21. kromozomda (21q21.2) lokalize APP (amiloid prekürsör protein) ve 19. kromozomda (19q13.2) lokalize APOE genlerinin AH gelişiminde rol oynadığı rapor edilmiştir. APOE, daha çok geç başlangıçlı AH'den sorumlu tutulurken, APP, PS1 ve PS2 erken başlangıçlı AH'den sorumludur (Özpak, Pazarbaşı ve Keser, 2017).

Sinir büyüme faktörü (NGF), AH'de fonksiyonu eski haline getirme ve dejenere olan kolinerjik nöronları koruma potansiyeline sahip endojen bir nörotrofik faktör proteindir. Açık etiketli bir klinik araştırmada, NGF geninin iletimi için rekombinant AAV2-NGF gen dağıtım sistemi tasarlanmış ve değişik dozlarının güvenliği, tolere edilebilirliğini ve ilk etkinliği değerlendirilmiştir. AH'li on deneğe, Meynert'in çekirdek bazaline stereotaktik olarak bilateral AAV2-NGF verilmiştir. Bu deneme, AAV2-NGF'nin Meynert'in nükleus bazaline iki taraflı stereotaktik uygulamasının uygulanabilir, iyi tolere edilebilir ve uzun vadeli, biyolojik olarak aktif NGF ekspresyonu üretebildiğini göstermiştir (Rafii vd., 2014). Shimada ve ark.'ları 2013 yılında yayınladıkları bir çalışmada (Shimada vd., 2013), amiloid beta proteinini hedef alan bir antikor kodlayan AAV vektörünü transgenik farelere uygulamış ardından vektör kan-beyin bariyerini geçerek beyne ulaşmıştır. Deney sonuçları transgenik farelerde bu antikorun $A\beta$ plaklarının birikimini azalttığını göstermiştir. Diğer bir çalışmada, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF)-2 veya IGF-1'i, AH fare modelinin hipokampusüne iletmek için AAV sistemi kullanılmıştır ve IGF2 ve IGF-1'in davranışsal eksiklikleri kurtardığı, dendritik omurga oluşumunu desteklediği ve normal hipokampal uyarıcı sinaptik iletimi geri yüklediği gözlemlenmiştir. IGF-2'yi aşırı eksprese eden ancak IGF-1'i eksprese etmeyen Tg2576 farelerinin beyinlerinde amiloid seviyesinin önemli bir azalma gösterdiği bulunmuştur (Pascual-Lucas vd., 2014).

3.3. Parkinson Hastalığı

Parkinson Hastalığı (PH), orta beyinde bulunan ve çözünmeyen alfa-sinüklein kümelerini içeren sitoplazmik inklüzyonlar olan Lewy cisimcikleri ile ilişkili olarak substantia nigra (SN) pars compacta (SNpc)'da dopaminerjik nöronların kaybı ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın insidansı yılda 5/100.000 ila 35/100.000 yeni vaka arasında değişmektedir (Simon, Tanner ve Brundin, 2020). Dünya genelinde vaka sayısının 7 milyondan fazla olduğu ve 2040 yılına kadar bu sayının yaklaşık 13 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (Jankovic ve Tan, 2020). PH'nin klinik tanısı, öncelikle yavaş ilerleyen asimetric istirahat tremoru ve bradikinezi gibi motor özelliklere dayanırken anosmi, kabızlık, depresyon ve REM uykü davranış bozukluğu gibi motor olmayan özellikler yıllar öncede gelişebilmektedir (Simon, Tanner ve Brundin, 2020). En önemli risk faktörleri arasında yaş, erkek cinsiyeti ve bazı çevresel faktörler yer almaktadır. Vakaların büyük çoğunluğunda hastalığın etiyolojisi bilinmemekle birlikte farklı genetik faktörler de tanımlanmıştır. Ailesel PH formları, vakaların sadece %5-15'ini oluştururken, bu aileler üzerinde yapılan çalışmalar, hastalığın patogenezi hakkında ilginç bilgiler sağlamaktadır (Balestrino ve Schapira, 2019). Bu hastalık ile ilişkili olduğu düşünülen CHCHD2, FBXO7, VPS35, VPS13C, DNAJC13, EIF4G, PINK1, DJ1, GIGYF2, ATP13A2, PLA2G6, DNJAC6 ve SYNJ gibi pek çok gen tanımlanmış olup çalışmalar özellikle PARK- SNCA (PARK 1, 4), PARK- LRRK2 (PARK 8), PARK- VPS35 (PARK 17), PARK- CHCHD2 (PARK 22), PARK- Parkin (PARK 2), PARK- PINK1 (PARK 6) ve PARK-DJ1(PARK 7) genleri üzerine yoğunlaşmıştır (Jankovic ve Tan, 2020; Tolosa vd., 2021). PH'de, mitokondriyal işlev bozukluğu, oksidatif stres, protein agregasyonu, bozulmuş otofaji ve nöroinflamasyon gibi mekanizmalar çevresel ve genetik faktörlerin etkisiyle ortak bir yolda birleşir. Bu sebeple PH'nin tedavi stratejileri arasında davranışsal veya çevresel risk faktörleri gibi değiştirilebilir faktörleri azaltmak için PH ile ilişkili genlerin mekanizmalarını veya çevresel maruziyetlerini hedef alan ilaçların geliştirilmesi oldukça önemlidir (Simon, Tanner ve Brundin, 2020).

PH için AAV2 aracılı gen terapisinin klinik deneylerinde şimdiye kadar iki tedavi yöntemi kullanılmıştır. Birincisi, hastalığın seyrini değiştirmek yerine klinik semptomları iyileştirmeyi amaçlayan semptomatik tedavilerdir. İkincisi hastalık sürecinden etkilenen hücrel fonksiyonları eski haline

getirmeye odaklanan nörorestoratif tedavilerdir. Semptomatik tedavi için gen transferinde kullanılmak üzere 2 strateji geliştirilmiştir. Bu genlerden ilki glutamattan γ -aminobutirik asidin (GABA) sentezini katalize eden glutamik asit dekarboksilaz (GAD), ikincisi levodopayı dopamine çeviren aromatik L-amino asit dekarboksilaz (AADC) enzimidir bu enzim dopamin sentezi için sınırlayıcı görevi görmektedir. Nörorestoratif tedaviler, bir nörotrofik faktörün, ya glial türevli nörotrofik faktör (GDNF) ya da neurturin (NRTN)'in in vivo gen transferini içermektedir (Sudhakar ve Richardson, 2019).

AAV2-GAD gen tedavisi, lokal GABA inhibisyonunu artırmak ve bu bazal gangliyon düğümündeki patolojik aşırı aktiviteyi düzeltmek amacıyla GAD'yi subtalamik çekirdeğe (STN) iletmeye odaklanmıştır. AAV2-GAD'nin girişimsel MRI kılavuzluğunda konveksiyonla güçlendirilmiş iletim (iMRI-CED) yoluyla PH hastalarının STN'sine iletiildiği faz I ve faz II denemeleri gerçekleştirilmiştir. Faz I denemesinin sonuçlarına göre denekler infüzyondan 12 ay sonra, Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği (UPDRS) skorlarına göre iyileşmeler göstermiştir. FDG-PET taramalarında STN aktivitesinde bir azalma olduğu görülmüştür, bu sonuçta gen transferinin etkinliğini doğrular niteliktedir. Faz II denemesinden 6 ay sonra hastalar PH'nin motor semptomları için iyileşmeler gösterdi, ancak STN'nin derin beyin stimülasyonunu takiben elde edilebilecek olan sonuçlardan daha büyük bir ölçüde değildir (Kaplıtt vd., 2007; LeWitt vd., 2011). AAV2-AADC gen tedavisi, hAADC enziminin anatomik olarak fokal replasmanının sağlandığı bir ön ilaç yaklaşımıdır. Preklinik çalışmalar, MPTP ile lezyon oluşturulmuş primatlarda hAADC gen iletiminin, davranış derecelendirme puanlarında istatistiksel olarak anlamlı uzun vadeli iyileştirmeler ürettiğini, levodopa gereksinimlerini önemli ölçüde düşürdüğünü ve levodopa yan etkilerini azalttığını göstermiştir (Bankiewicz vd., 2006). Preklinik ve klinik çalışmalarda GDNF geni iletimi için iki paradigma geliştirilmiş ve değerlendirilmiştir: doğrudan protein infüzyonları ve AAV aracılı gen transferi. Klinik çalışmalarda, GDNF proteininin intrastriatal infüzyonları, pozitif açık etiketli faz I bulgularına rağmen, çift kör faz II testinde birincil sonlanım noktalarını karşılayamadığı için donanım komplikasyonları geliştikten sonra durduruldu ve beyin omurilik sıvısında rekombinant GDNF'ye karşı nötralize edici antikolar saptanmıştır (Salvatore vd., 2006).

3.4. Huntington Hastalığı

Huntington hastalığı (HH), belirgin anormal hareketler, psikiyatrik semptomlar ve bilişsel eksiklikler ile karakterize otozomal dominant geçiş gösteren nörodejeneratif bir hastalıktır. Dünya çapında HH prevalansı 2,7/100,000'dir (Pan ve Feigin, 2021). Hastalık, 4. kromozomun 1. ekzonunda aşırı sayıda trinükleotit CAG tekrarının mutant huntington proteini (mHtt) oluşturmasından kaynaklanmaktadır (Sudhakar ve Richardson, 2019). Huntington proteininin işlevi tam olarak açıklığa kavuşturulmamış olsa da, protein trafiği, veziküllerin taşınması ve seçici otofaji gibi çeşitli hücrel olaylarda kritik roller oynadığı düşünülmektedir (Kim vd., 2021). CAG tekrar genişlemesi, mutant HTT'nin anormal şekilde katlanmasına ve beyin hücrelerinde birikmesine neden olan proteinin N-terminalinde genişlemiş bir poliglutamin (polyQ) kodlar. CAG tekrarının 40 veya daha fazlasına genişlemesi, her zaman erişkin başlangıçlı HH'ye yol açarken, juvenil HH'li hastaların başlangıç yaşı 20'den azdır ve bu hastalar genellikle 55'ten fazla CAG tekrarı olan bir mutasyonu kalıtsal olarak almışlardır (Tabrizi, Ghosh, ve Leavitt, 2019). mHtt'nin ifadesi, nöronal fizyolojinin ilerleyici şekilde bozulmasına yol açmaktadır. Motor semptomların ortaya çıkmasından önce kaudat, putamen, globus pallidus ve subtalamik çekirdekler dahil olmak üzere bazal ganglion çekirdeklerinde ve ayrıca subkortikal beyaz cevherde saptanabilir atrofi mevcuttur. Hastalık ilerledikçe kortikal, talamik ve hipotalamik bölgelerde ve nihayetinde tüm beyinde önemli nöronal kayıplar da gözlenmektedir. Çoğu nörodejeneratif hastalığın aksine, HH'de tüm hastalık vakalarından tek bir mutasyon sorumludur (Tabrizi ve diğerleri 2022). Bugüne kadar, HH için hastalığı modifiye edici tedavileri belirlemede hiçbir klinik çalışma başarılı olamamıştır ve bu nedenle mevcut terapötik stratejiler, öncelikle semptomatik tedaviye yöneliktir (Kim vd., 2021).

Viral vektörlerin belirli beyin bölgelerine iletilmesi, iki taraflı intraparakimal infüzyonla sağlanabilir. HH'de en ciddi etkilenen beyin bölgesi Striatum (kaudat/putamen)'dur ve AAV aracılı iletim için en yaygın hedefdir, ancak HH tüm beyni etkiler ve etkili tedaviler muhtemelen kortekse ve etkilenen diğer beyin bölgelerine iletimi gerektirebilir (Valles vd., 2021). Keeler ve ark. (2016)'nın yaptığı bir çalışmada bir AAV9-yeşil floresan protein (GFP)-miRHtt vektörünün, Q140/Q140 knock-in farelerin striatal nöronlarındaki HTT mRNA seviyeleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada farelere, 6 veya 12. Haftada, iki taraflı AAV9-GFP-miRHtt veya AAV9-GFP striatal aktarımlar yapılmıştır ve 6 aylıkken striata Htt mRNA seviyeleri için değerlendirilmişlerdir. Sonuçlara bakıldığında ise, AAV9-GFP-miRHtt'nin intrastriatal infüzyonunun, hücre başına mutant HTT mRNA kopyalarının sayısında kısmi bir azalmaya yol açtığı ve striatal HTT mRNA ekspresyonunu yaklaşık %50 oranında azalttığı belirlenmiştir (Keeler vd., 2016). Bir diğer çalışmada, insan HTT'sini (AAV5-miHTT) hedefleyen bir mikroRNA'yı eksprese eden bir AVV vektörünün zQ175 knock-in HH farelerine enjeksiyonu sonucu striatum ve kortekste HTT agregasyonunun azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, bu genetik manipülasyonun, R6/2 farelerinin rotarod performansını ve sağkalımını (4 haftaya kadar) önemli ölçüde iyileştirdiği gözlemlenmiştir (Spronck vd., 2019). Potansiyel faydalarına rağmen, AAV iletiminde önemli sınırlamalar vardır. Örneğin, viral vektöre karşı immün yanıt ortaya çıkabilir ve tekrarlanan uygulama genellikle mümkün değildir. Viral iletim, geri döndürülemez ve tek bir uygulama yapılabilmektedir bu nedenle bir bireyde doz düzeltilmesi mümkün değildir (Valles vd., 2021). Farklı bir gen terapisi deneyinde, Huang ve ark., HTT geninin 1. ekzonunu hedefleyen kısa bir hairpin RNA'yı (shRNA) eksprese eden yüksek kapasiteli bir adenoviral (HC-Ad) vektör geliştirmişlerdir. In vitro olarak bu vektörün, nöronal ve nöronal olmayan hücre hatlarında Htt ifadesini verimli bir şekilde inhibe ettiği bulunmuştur. Aynı zamanda, bu vektörle gen transferinden sonra, HH patolojisinin ayırt edici bir özelliği olan Htt-immünoreaktif (IR) agregasyonlarının sayısının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Daha da önemlisi, shRNA tarafından agregat oluşumunun zayıflaması, R6/2 transgenik fare modellerinde bu adenoviral vektörün striatumuna stereotaksik enjeksiyondan sonra in vivo olarak da gözlenmiştir. Her ne kadar shRNA'lar genellikle miRNA biyogenez yolunun doygunluğu nedeniyle toksik olarak kabul edilseler de siRNA'larla karşılaştırıldığında, shRNA'lar daha az "hedef dışı" etki ve daha uzun süreli yaklaşım nedeniyle daha az toksik kabul edilmektedir. Bununla birlikte, shRNA'nın hücresel ekspresyonunu kontrol etmek konusunda hala teknik zorluklar yaşanmaktadır (Huang ve Kochanek, 2005; Kim vd., 2021). Bu sonuçlar gibi ümit verici birçok sonuca rağmen, HH tedavisine yönelik genetik yaklaşımların çoğu henüz emekleme aşamasındadır ve kullanımlarının önündeki tolere

edilebilirlik, erişilebilirlik vb. gibi potansiyel engeller sebebiyle kullanım öncesi optimizasyon gerektirmektedir (Shonnon, 2020).

3.5. Amyotrofik Lateral Skleroz

Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS), omurilik ve beyindeki motor nöronların ilerleyici dejenerasyonu ile karakterize, zayıflatıcı bir nöromusküler hastalıktır. Bu motor nöronların dejenerasyonu, nöromusküler denervasyona, istemli iskelet kaslarında atrofiye ve son noktada felç ve ölüme yol açmaktadır. ALS'nin dünya çapındaki insidansının ~5/100.000 olduğu tahmin edilmektedir (Evans ve Holzbaur, 2019). Dünya genelinde, ALS'nin ortalama başlangıç yaşı 62'dir ve ALS'li hastalarda hayatta kalma prognozu genellikle 2 ila 5 yıl olarak belirlenmiştir. ALS sporadik ve ailesel olmak üzere 2 ana başlıkta sınıflandırılmaktadır (Hulisz, 2018). ALS vakalarının çoğu (%90-95) aile öyküsü olmaksızın sporadiktir (sALS). Bununla birlikte, bazı vakalarda, tüm vakaların %5-10'unu temsil eden bir ailesel genetik mutasyon öyküsü (fALS) mevcuttur. İlginç bir şekilde, fALS hastalarında bulunan tipik mutant genler, bazı sALS vakalarında da bulunmaktadır. Bugüne kadar, fALS'nin yaklaşık üçte ikisinin ve sporadik hastalığın yaklaşık %10'nun genetik etiolojisinden sorumlu 30'dan fazla mutant gen tanımlanmıştır (Cappella vd., 2019). Yaygın olarak çalışılan genler arasında C9orf72, SOD1, FUS ve TDP-43 bulunmaktadır (Meyer, 2021). RNA metabolizmasındaki bozukluklar, bozulmuş protein homeostazı, nükleositol plazmik transport kusurları, bozulmuş DNA onarımı, eksitotoksikite, mitokondriyal işlev bozukluğu, oksidatif stres, aksonal taşıma bozulması, nöroinflamasyon, oligodendrosit işlev bozukluğu ve veziküler taşıma kusurları gibi birçok biyolojik sürecin hastalığın patogeneze etki ettiği düşünülmektedir (Mezjini vd., 2019). Motor nöronların sitoplazmasındaki protein birikintileri, ALS'nin moleküler bir özelliğidir. En yaygın protein agregatları, TDP-43'ün aşırı birikmesinden kaynaklanmaktadır (Meyer, 2021). ALS'nin etiolojisi henüz tam olarak bilinmemektedir bu yüzden bu hastalık için etkin bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır (Azzouz, 2006). Ancak, ALS patofizyolojisini anlamaya yönelik yapılan son çalışmalar ile, hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine imkan tanınmaktadır. Bu çalışmalardan en önemlileri genetik mutasyonları hedefleyen gen terapileridir (Amado ve Davidson, 2019).

Etkili olduğu bulunan gen terapisi denemelerinden biri, ALS'ye neden olduğu bilinen süperoksit dismutaz 1 (SOD1) geni ile yapılan çalışmalardır. Yapılan bir çalışmada, bu tedavinin güvenlik profili, SOD1'in antisens oligonükleotitlerin intratekal olarak uygulanmasıyla oluşturulmuştur. Başka bir çalışmada, sıçan motor korteksinde SOD1 geninin ekspresyonunu uyarması için AAV9-SOD1-shRNA kuyruk venine veya temporal vene enjeksiyon yolu ile verilmiştir. Her iki deneme de uzamış sağkalım ve gecikmiş hastalık başlangıcı olduğu gösterilmiştir. Kliniğe aktarılabilen başka bir çalışma, primatlar üzerinde yapılmış ve intratekal uygulama ile SOD1 geni başarılı bir şekilde baskılanmıştır (Miller vd., 2013; Thomsen vd., 2014).

5. SONUÇ

Nörodejeneratif hastalıklarda, nöral gen terapisinin geliştirilmesinde en uygun terapötik genlerin tanımlanması, potansiyel olarak toksik özellikteki genlerin ekspresyonunun düzenlenmesi ve yeni klinik stratejilerin geliştirilmesi büyük bir önem arz etmektedir. Gen terapisinde, terapötik etkinlik, hastalık patogenezi hakkındaki bilgilere ve gen ekspresyonunun gerekli zamansal ve bölgesel özgüllüğüne bağlıdır. Diğer bir zorluk, komşu bölgelere veya perivasküler boşluklara sızıntıyı önlerken hedef genin en eksiksiz şekilde iletimini sağlamaktır. Gen terapisi alanında yakın zamanda yeni bir teknolojik çağa girilmiştir; burada girişimsel MRI kılavuzluğunda konveksiyonla güçlendirilmiş iletim (iMRI-CED), vektör iletimini eş zamanlı olarak doğrulamak için altın bir standarttır. Bu gelişmiş beyin cerrahisi tekniğinin mevcudiyeti, Parkinson, Huntington ve Alzheimer hastalıkları dahil olmak üzere nörodejeneratif bozukluklar için geliştirilmekte olan umut verici preklinik tedavilerin tamamlanmasını hızlandırabilir.

KAYNAKÇA

- Al-Dosari, M. S., & Gao, X. (2009). Nonviral gene delivery: principle, limitations, and recent progress. *The AAPS journal*, 11(4), 671–681. <https://doi.org/10.1208/s12248-009-9143-y>
- Amado, D.A., & Davidson, B.L. (2019). Gene therapy for ALS: A review. *Molecular Therapy*, 29(12), 3345–3358. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.04.008>
- Anson D. S. (2004). The use of retroviral vectors for gene therapy-what are the risks? A review of retroviral pathogenesis and its relevance to retroviral vector-mediated gene delivery. *Genetic vaccines and therapy*, 2(1), 9. <https://doi.org/10.1186/1479-0556-2-9>
- Azzouz, M. (2006). Gene Therapy for ALS: Progress and prospects. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1762(11-12), 1122–1127. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.05.003>
- Balestrino, R., & Schapira, A.H.V. (2019). Parkinson disease. *European Journal of Neurology*, 27(1), 27–42. <https://doi.org/10.1111/ene.14108>
- Bankiewicz, K. S., Forsayeth, J., Eberling, J. L., Sanchez-Pernaute, R., Pivrotto, P., Bringas, J., Herscovitch, P., Carson, R. E., Eckelman, W., Reutter, B., & Cunningham, J. (2006). Long-term clinical improvement in MPTP-lesioned primates after gene therapy with AAV-hAADC. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy*, 14(4), 564–570. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2006.05.005>
- Barua, S., Ramos, J., Potta, T., Taylor, D., Huang, H. C., Montanez, G., & Rege, K. (2011). Discovery of cationic polymers for non-viral gene delivery using combinatorial approaches. *Combinatorial chemistry & high throughput screening*, 14(10), 908–924. <https://doi.org/10.2174/138620711797537076>
- Bulcha, J. T., Wang, Y., Ma, H., Tai, P. W. L., & Gao, G. (2021). Viral vector platforms within the gene therapy landscape. *Signal transduction and targeted therapy*, 6(1), 53. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00487-6>
- Bushman F. D. (2007). Retroviral integration and human gene therapy. *The Journal of clinical investigation*, 117(8), 2083–2086. <https://doi.org/10.1172/JCI32949>

- Cappella, M., Ciotti, C., Cohen-Tannoudji, M., & Biferi, M.G. (2019). Gene Therapy for ALS—A Perspective. *Int J Mol Sci*, 20(18), 4388. <https://doi.org/10.3390/ijms20184388>
- Ertl H. C. (2012). Progress in the development of hepatitis C virus vaccines. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy*, 20(4), 697–698. <https://doi.org/10.1038/mt.2012.30>
- Evans, C.S., & Holzbaur, E.L.F. (2019). Autophagy and Mitophagy in ALS. *Neurobiol Dis.*, 122, 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.07.005>
- Federici, T., Kutner, R., Zhang, X. Y., Kuroda, H., Tordo, N., Boulis, N. M., & Reiser, J. (2009). Comparative analysis of HIV-1-based lentiviral vectors bearing lyssavirus glycoproteins for neuronal gene transfer. *Genetic vaccines and therapy*, 7, 1. <https://doi.org/10.1186/1479-0556-7-1>
- Hacein-Bey-Abina, S., Von Kalle, C., Schmidt, M., McCormack, M. P., Wulffraat, N., Leboulch, P., Lim, A., Osborne, C. S., Pawliuk, R., Morillon, E., Sorensen, R., Forster, A., Fraser, P., Cohen, J. I., de Saint Basile, G., Alexander, I., Wintergerst, U., Frebourg, T., Aurias, A., Stoppa-Lyonnet, D., ... Cavazzana-Calvo, M. (2003). LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science (New York, N.Y.)*, 302(5644), 415–419. <https://doi.org/10.1126/science.1088547>
- Huang, B., & Kochanek, S. (2005). Adenovirus-mediated silencing of huntingtin expression by shRNA. *Human gene therapy*, 16(5), 618–626. <https://doi.org/10.1089/hum.2005.16.618>
- Hulisz, D. (2018). Amyotrophic Lateral Sclerosis: Disease State Overview. *Am J Manag Care.*, 24(15).
- Immordino, M. L., Dosio, F., & Cattel, L. (2006). Stealth liposomes: review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential. *International journal of nanomedicine*, 1(3), 297–315.
- Jankovic, J., & Tan E.K. (2020). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 91, 795–808. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2019-322338>
- Kaplitt, M. G., Feigin, A., Tang, C., Fitzsimons, H. L., Mattis, P., Lawlor, P. A., Bland, R. J., Young, D., Strybing, K., Eidelberg, D., & During, M. J. (2007). Safety and tolerability of gene therapy with an adeno-associated virus (AAV) borne GAD gene for Parkinson's disease: an

- open label, phase I trial. *Lancet* (London, England), 369(9579), 2097–2105. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60982-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60982-9)
- Kashima, T., Rao, N., & Manley, J. L. (2007). An intronic element contributes to splicing repression in spinal muscular atrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(9), 3426–3431. <https://doi.org/10.1073/pnas.0700343104>
- Keeler, A.M., Sapp, E., Chase, K., Sottosanti, E., Danielson, E., Pfister, E., Stoica L., Difiglia M., Aronin N., & Sena-Esteves, M. (2016). Cellular Analysis of Silencing the Huntington's Disease Gene Using AAV9 Mediated Delivery of Artificial Micro RNA into the Striatum of Q140/Q140 Mice. *J. Huntingt. Dis.*, 5, 239–248. <https://doi.org/10.3233/JHD-160215>
- Khan, S., Barve, K.H., & Kumar, M.S. (2020). Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol*, 18(11), 1106–1125. <https://doi.org/10.2174/1570159X18666200528142429>
- Kim, A., Lalonde, K., Truesdell, A., Welter, P.G., Brocardo, P.S., Rosenstock, T.R., & Gil-Mohapel, J. (2021). New Avenues for the Treatment of Huntington's Disease. *Int J Mol Sci.*, 22(16), 8363. <https://doi.org/10.3390/ijms22168363>
- Lee, C. S., Bishop, E. S., Zhang, R., Yu, X., Farina, E. M., Yan, S., Zhao, C., Zheng, Z., Shu, Y., Wu, X., Lei, J., Li, Y., Zhang, W., Yang, C., Wu, K., Wu, Y., Ho, S., Athiviraham, A., Lee, M. J., Wolf, J. M., ... He, T. C. (2017). Adenovirus-Mediated Gene Delivery: Potential Applications for Gene and Cell-Based Therapies in the New Era of Personalized Medicine. *Genes & diseases*, 4(2), 43–63. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2017.04.001>
- LeWitt, P. A., Rezai, A. R., Leehey, M. A., Ojemann, S. G., Flaherty, A. W., Eskandar, E. N., Kostyk, S. K., Thomas, K., Sarkar, A., Siddiqui, M. S., Tatter, S. B., Schwalb, J. M., Poston, K. L., Henderson, J. M., Kurlan, R. M., Richard, I. H., Van Meter, L., Sapan, C. V., Durr, M. J., Kaplitt, M. G., ... Feigin, A. (2011). AAV2-GAD gene therapy for advanced Parkinson's disease: a double-blind, sham-surgery controlled, randomised trial. *The Lancet. Neurology*, 10(4), 309–319. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70039-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70039-4)

- Liang, H. D., Lu, Q. L., Xue, S. A., Halliwell, M., Kodama, T., Cosgrove, D. O., Stauss, H. J., Partridge, T. A., & Blomley, M. J. (2004). Optimisation of ultrasound-mediated gene transfer (sonoporation) in skeletal muscle cells. *Ultrasound in medicine & biology*, 30(11), 1523–1529. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2004.08.021>
- Liu, F., Song, Y., & Liu, D. (1999). Hydrodynamics-based transfection in animals by systemic administration of plasmid DNA. *Gene therapy*, 6(7), 1258–1266. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3300947>
- Marconi, P., Manservigi, R., & Epstein, A. L. (2010). HSV-1-derived helper-independent defective vectors, replicating vectors and amplicon vectors, for the treatment of brain diseases. *Current opinion in drug discovery & development*, 13(2), 169–183.
- Martier, R., & Konstantinova, P. (2020). Gene Therapy for Neurodegenerative Diseases: Slowing Down the Ticking Clock. *Frontiers in neuroscience*, 14, 580179. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.580179>
- Massaro, G., Geard, A. F., Liu, W., Coombe-Tennant, O., Waddington, S. N., Baruteau, J., Gissen, P., & Rahim, A. A. (2021). Gene Therapy for Lysosomal Storage Disorders: Ongoing Studies and Clinical Development. *Biomolecules*, 11(4), 611. <https://doi.org/10.3390/biom11040611>
- McAlister, V. J., & Owens, R. A. (2010). Substitution of adeno-associated virus Rep protein binding and nicking sites with human chromosome 19 sequences. *Virology journal*, 7, 218. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-218>
- McMahon, J. M., & Wells, D. J. (2004). Electroporation for gene transfer to skeletal muscles: current status. *BioDrugs : clinical immunotherapeutics, biopharmaceuticals and gene therapy*, 18(3), 155–165. <https://doi.org/10.2165/00063030-200418030-00002>
- Mejzini, R., Flynn, L.L., Pitout, I.L., Fletcher, S., Wilton, S.D., & Akkari, P.A. (2019). ALS Genetics, Mechanisms, and Therapeutics: Where Are We Now? *Front Neurosci* 13, 1310. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01310>
- Mendell, J. R., Al-Zaidy, S. A., Rodino-Klapac, L. R., Goodspeed, K., Gray, S. J., Kay, C. N., Boye, S. L., Boye, S. E., George, L. A., Salabarria, S.,

- Corti, M., Byrne, B. J., & Tremblay, J. P. (2021). Current Clinical Applications of In Vivo Gene Therapy with AAVs. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 29(2), 464–488. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.12.007>
- Mendell, J. R., Al-Zaidy, S., Shell, R., Arnold, W. D., Rodino-Klapac, L. R., Prior, T. W., Lowes, L., Alfano, L., Berry, K., Church, K., Kissel, J. T., Nagendran, S., L'Italien, J., Sproule, D. M., Wells, C., Cardenas, J. A., Heitzer, M. D., Kaspar, A., Corcoran, S., Braun, L., ... Kaspar, B. K. (2017). Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *The New England journal of medicine*, 377(18), 1713–1722. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706198>
- Meyer, T. (2021). Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) – diagnosis, course of disease and treatment options. *Dtsch Med Wochenschr*, 146(24/25), 1613-1618. <https://doi.org/10.1055/a-1562-7882>
- Miller, T. M., Pestronk, A., David, W., Rothstein, J., Simpson, E., Appel, S. H., Andres, P. L., Mahoney, K., Allred, P., Alexander, K., Ostrow, L. W., Schoenfeld, D., Macklin, E. A., Norris, D. A., Manousakis, G., Crisp, M., Smith, R., Bennett, C. F., Bishop, K. M., & Cudkowicz, M. E. (2013). An antisense oligonucleotide against SOD1 delivered intrathecally for patients with SOD1 familial amyotrophic lateral sclerosis: a phase 1, randomised, first-in-man study. *The Lancet. Neurology*, 12(5), 435–442. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70061-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70061-9)
- Nakhaei, P., Margiana, R., Bokov, D. O., Abdelbasset, W. K., Jadidi Kouhbanani, M. A., Varma, R. S., Marofi, F., Jarahian, M., & Beheshtkhoo, N. (2021). Liposomes: Structure, Biomedical Applications, and Stability Parameters With Emphasis on Cholesterol. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 705886. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.705886>
- Nayerossadat, N., Maedeh, T., & Ali, P. A. (2012). Viral and nonviral delivery systems for gene delivery. *Advanced biomedical research*, 1, 27. <https://doi.org/10.4103/2277-9175.98152>
- Nayerossadat, N., Maedeh, T., & Ali, P. A. (2012). Viral and nonviral delivery systems for gene delivery. *Advanced biomedical research*, 1, 27. <https://doi.org/10.4103/2277-9175.98152>

- Özpak, L., Pazarbaşı, A., & Keser, N. (2017). Alzheimer Hastalığının Genetiği ve Epigenetiği. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 26(1), 34-49
<https://doi.org/10.17827/aktd.280520>
- Pan, L., Feigin, A., (2021). Huntington's Disease: New Frontiers in Therapeutics. *Curr Neurol Neurosci Rep* 21, 10.
<https://doi.org/10.1007/s11910-021-01093-3>
- Pascual-Lucas, M., Viana da Silva, S., Di Scala, M., Garcia-Barroso, C., González-Aseguinolaza, G., Mulle, C., Alberini, C. M., Cuadrado-Tejedor, M., & Garcia-Osta, A. (2014). Insulin-like growth factor 2 reverses memory and synaptic deficits in APP transgenic mice. *EMBO molecular medicine*, 6(10), 1246–1262.
<https://doi.org/10.15252/emmm.201404228>
- Perkovic, N.M., & Pivac, N. (2019). Genetic Markers of Alzheimer's Disease. In: Kim, YK. (eds) *Frontiers in Psychiatry. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1192. Springer, Singapore.
https://doi.org/10.1007/978-981-32-9721-0_3
- Rafii, M. S., Baumann, T. L., Bakay, R. A., Ostrove, J. M., Siffert, J., Fleisher, A. S., Herzog, C. D., Barba, D., Pay, M., Salmon, D. P., Chu, Y., Kordower, J. H., Bishop, K., Keator, D., Potkin, S., & Bartus, R. T. (2014). A phase1 study of stereotactic gene delivery of AAV2-NGF for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*, 10(5), 571–581.
<https://doi.org/10.1016/j.jalz.2013.09.004>
- Ramamoorth, M., & Narvekar, A. (2015). Non viral vectors in gene therapy- an overview. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 9(1), GE01–GE6. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/10443.5394>
- Salvatore, M. F., Ai, Y., Fischer, B., Zhang, A. M., Grondin, R. C., Zhang, Z., Gerhardt, G. A., & Gash, D. M. (2006). Point source concentration of GDNF may explain failure of phase II clinical trial. *Experimental neurology*, 202(2), 497–505.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.07.015>
- Samulski, R. J., & Muzyczka, N. (2014). AAV-Mediated Gene Therapy for Research and Therapeutic Purposes. *Annual review of virology*, 1(1), 427–451. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-031413-085355>

- Shannon, K.M. (2020). Recent Advances in the Treatment of Huntington's Disease: Targeting DNA and RNA. *CNS Drugs.*, 34, 219–228. <https://doi.org/10.1007/s40263-019-00695-3>
- Sheikov, N., McDannold, N., Sharma, S., & Hynynen, K. (2008). Effect of focused ultrasound applied with an ultrasound contrast agent on the tight junctional integrity of the brain microvascular endothelium. *Ultrasound in medicine & biology*, 34(7), 1093–1104. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2007.12.015>
- Shimada, M., Abe, S., Takahashi, T., Shiozaki, K., Okuda, M., Mizukami, H., Klinman, D. M., Ozawa, K., & Okuda, K. (2013). Prophylaxis and treatment of Alzheimer's disease by delivery of an adeno-associated virus encoding a monoclonal antibody targeting the amyloid Beta protein. *PloS one*, 8(3), e57606. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057606>
- Simon, D.K., Tanner, C.M., & Brundin, P. (2020). Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics and Pathophysiology. *Clin Geriatr Med.*, 36(1): 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2019.08.002>
- Spronck, E.A., Brouwers, C.C., Vallès, A., Haan, M., Petry, H., Van Deventer, S.J., Konstantinova, P., & Evers, M.M. (2019). AAV5-miHTT Gene Therapy Demonstrates Sustained Huntingtin Lowering and Functional Improvement in Huntington Disease Mouse Models. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.*, 13,334–343. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2019.03.002>
- Suda, T., & Liu, D. (2007). Hydrodynamic gene delivery: its principles and applications. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy*, 15(12), 2063–2069. <https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300314>
- Sudhakar, V., & Richardson, R. M. (2019). Gene Therapy for Neurodegenerative Diseases. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 16(1), 166–175. <https://doi.org/10.1007/s13311-018-00694-0>
- Tabrizi, S.J., Estevez-Fraga, C., Roon-Mom, W.M.C., Flower, M.D., Scahill, R.I., Wild, E.J., Muñoz-Sanjuan, I., Sampaio, C., Rosser, A.E., Leavitt, B.R. (2022). Potential disease modifying therapies for Huntington's

- disease, lessons learned and future opportunities. *Lancet Neurol.*, 21(7), 645–658. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(22\)00121-17](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00121-17)
- Tabrizi, S.J., Ghosh, R., & Leavitt, B.R. (2019). Huntingtin Lowering Strategies for Disease Modification in Huntington’s Disease. *Neuron*, 101(5), 801-819. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.01.039>
- Thomsen, G. M., Gowing, G., Latter, J., Chen, M., Vit, J. P., Staggenborg, K., Avalos, P., Alkaslasi, M., Ferraiuolo, L., Likhite, S., Kaspar, B. K., & Svendsen, C. N. (2014). Delayed disease onset and extended survival in the SOD1G93A rat model of amyotrophic lateral sclerosis after suppression of mutant SOD1 in the motor cortex. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 34(47), 15587–15600. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2037-14.2014>
- Tiwari, S., Atluri, V., Kaushik, A., Yndart, A. & Nair, M. (2019). Alzheimer’s disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *Int J Nanomedicine*, 14: 5541–5554. <https://doi.org/10.2147/IJN.S200490>
- Tolosa, E., Garrido, A., Scholz, S.W., & Poewe, W. (2021). Challenges in the diagnosis of Parkinson’s disease. *Lancet Neurol*, 20(5), 385–397. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00030-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00030-2)
- Tomizawa, M., Shinozaki, F., Motoyoshi, Y., Sugiyama, T., Yamamoto, S., & Sueishi, M. (2013). Sonoporation: Gene transfer using ultrasound. *World journal of methodology*, 3(4), 39–44. <https://doi.org/10.5662/wjm.v3.i4.39>
- Vallès, A., et al. (2021). Widespread and sustained target engagement in Huntington’s disease minipigs upon intrastriatal microRNA-based gene therapy. *Sci. Transl. Med.* 13, eabb8920. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abb8920>
- Vannucci, L., Lai, M., Chiuppesi, F., Ceccherini-Nelli, L., & Pistello, M. (2013). Viral vectors: a look back and ahead on gene transfer technology. *The new microbiologica*, 36(1), 1–22.
- Wang, D., & Gao, G. (2014). State-of-the-art human gene therapy: part I. Gene delivery technologies. *Discovery medicine*, 18(97), 67–77.
- Wong, L. F., Goodhead, L., Prat, C., Mitrophanous, K. A., Kingsman, S. M., & Mazarakis, N. D. (2006). Lentivirus-mediated gene transfer to the

- central nervous system: therapeutic and research applications. *Human gene therapy*, 17(1), 1–9. <https://doi.org/10.1089/hum.2006.17.1>
- Young, J. L., & Dean, D. A. (2015). Electroporation-mediated gene delivery. *Advances in genetics*, 89, 49–88. <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2014.10.003>
- Zhang, G., Budker, V., & Wolff, J. A. (1999). High levels of foreign gene expression in hepatocytes after tail vein injections of naked plasmid DNA. *Human gene therapy*, 10(10), 1735–1737. <https://doi.org/10.1089/10430349950017734>

BÖLÜM 14

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA HOMOSİSTEİNİN ROLÜ

Prof. Dr. Tülin BAYRAK ¹
Prof. Dr. Ahmet BAYRAK ²

¹ Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.
bayrakt09@gmail.com, Orcid ID: 0000-0002-3596-0488

² Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.
abayrak@odu.edu.tr., Orcid ID: 0000-0002-1243-2172

GİRİŞ

Homosistein (Hcy), metiyonin metabolizmasından üretilen, kükürt içeren, protein yapısında yer almayan bir amino asittir. Plazmada artan Hcy seviyesi, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilir. Bununla birlikte, plazmadaki yüksek Hcy konsantrasyonu, merkezi sinir sisteminin çeşitli hastalıkları ile ilişkilendirilmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, Hcy konsantrasyonları ile nörodejeneratif hastalık riski arasında doza bağlı bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Hcy sentezindeki ilk basamak S-Adenozil metiyonin (SAM) oluşumudur. SAM bütün hücrelerde evrensel metil vericisidir. SAM sentezinin azalmasına (yani hipometilasyon) bağlı olarak metilasyon durumunda düzensizlik, beynin yapısal bütünlüğü için önemli olan nörotransmitter ve protein sentezinin bozulmasına, vasküler hastalıklar ve nörodejeneratif bozukluklara neden olabilir (Škovierová ve diğerleri, 2016). Bununla birlikte, Hcy'nin N- metil-D-aspartat reseptörü (NMDA) reseptörlerinin aktivasyonu, apoptoz indükleyici, vasküler yaralanma, düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve trombosit agregasyonunu indükleyerek nörotoksik bir ajan olarak hareket ettiği öne sürülmüştür (Sharma ve diğerleri, 2015). B12, B6 vitamini ve folik asit, Hcy metabolizmasına katılan enzimlerin kofaktörüdür. B12, B6 vitamini ve folik asit eksikliklerinin vücutta yüksek Hcy konsantrasyonuna yol açacağı bildirilmiştir.

1. HOMOSİSTEİN METABOLİZMASI

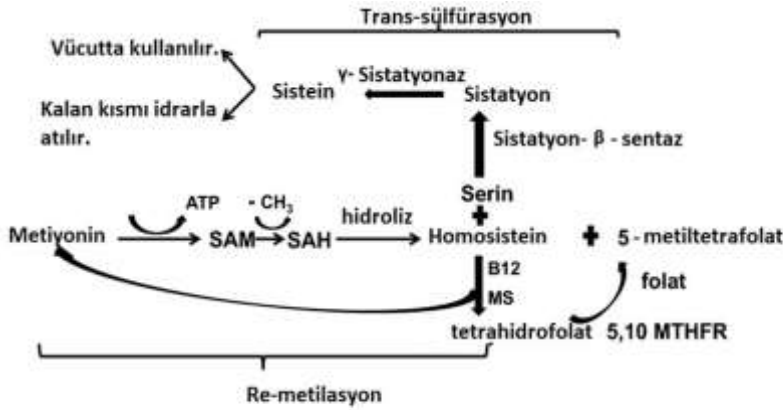
Hcy, sülfür içeren ve protein yapısına katılmayan bir aminoasittir. Hcy, esansiyel bir aminoasit olan metiyoninin demetilasyonu ile oluşur. Gıdalarla vücuda alınan metiyonin, folat ile ilişkili olan metiyonin döngüsüne girer ve bir metil grubunu kaybederken yapısına giren ATP ile S-Adenozil metiyonine (SAM) dönüşür. Hcy sentezindeki ilk basamak SAM oluşumudur ve SAM geniş kapsamlı bir metil vericisidir. Hem farklı bileşiklerin hücresel biyosentezinde (kreatin, epinefrin, karnitin, fosfolipidler, proteinler, nükleik asitler, poliaminler vb.) hem de DNA ve RNA metilasyonu, kromatin modelleme, histonların posttransyonal modifikasyonu gibi epigenetik düzenlemelerde metil vericisi olarak kullanılır. Dolayısıyla SAM nöronal metabolizma ve normal sinir sistemi işlevleri için büyük önem taşımaktadır. SAM'ın metil grubu DNA metil transferaz enzimi aracılığıyla koparılarak S-adenozin homosistein (SAH) oluşturulur. SAH, tüm SAM'a bağlı transmetilasyon reaksiyonlarının ürünüdür. SAM'a bağlı transmetilasyondan

sonra SAH, SAH hidrolaz tarafından hızla adenozin ve Hcy'ne metabolize edilir, bu da potansiyel olarak Hcy konsantrasyonunu artırır (Kerr, 1972, Škovierová ve diğerleri, 2016).

Vücutta Hcy iki ana yoldan metabolize edilerek düzeyleri dengede tutulmaya çalışılır. Bu yollar; remetilasyon yolu ve transsülfürasyon yoludur (Kerr, 1972, Beltowski 2005, Jakubowski ve diğerleri, 2000). Remetilasyon yolunda B12 vitamini bağımlı metiyonin sentaz (MS) enzimi kataliziyle N- 5-Metil tetrahidrofolattan (5-metil THF) bir metil grubu homosisteine aktararak metiyonin sentezlenir (Şekil 1). Vitamin B12, metiyonin sentaz enziminin temel kofaktörüdür. Vücuttaki çoğu dokuda metil vericisi N- 5-Metil THF iken karaciğerde Hcy'nin büyük kısmı metil vericisi olarak betaini kullanıp, betain-homosistein metil transferaz (BHMT) enzimi aracılığıyla remetilize edilir. Hcy'nin BHMT'ye bağlı remetilasyonu başlıca karaciğer, böbrek ve lenste meydana gelirken, folik asit ve B12 vitaminine bağlı yol evrensel olarak tüm dokularda bulunur (Şekil 1).

Hcy'nin son olarak metabolize edildiği yol ise sisteine (Cys) transsülfürasyonudur. Metiyoninin fazlası olduğu durumlarda veya sistein sentezi gerekli olduğunda Hcy katabolik transsülfürasyon yoluna girer. Bu yolda Hcy, serin ile reaksiyona girerek sistatyonin oluşturur. Reaksiyon sistatyonin β -sentaz ile katalize edilir ve kofaktör olarak vitamin B6 kullanılır. Sistatyonin daha sonra sistatyonin γ -liyaz enzimi ile sisteine dönüştürülür ve sistein de sülfatlara dönüştürülerek idrarla atılır (Kerr, 1972, Beltowski, 2005; Jakubowski ve diğerleri, 2000, Škovierová ve diğerleri, 2016).

Hcy tüm dokularda oluşur. Bununla birlikte, transsülfürasyon yoluyla detoksifikasyonu karaciğer, böbrek, ince bağırsak, pankreas ve lenste gerçekleşir. Beyin ve yağ dokusu sistatyonin β -sentaz içerir, ancak sistatyonin γ -liyaz içermez. Ayrıca, merkezi sinir sistemi BHMT'den yoksundur, bu nedenle Hcy'nin Met'e dönüştürülmesi için folik asit ve B12 vitaminine bağlı yola bağımlıdır, bu da beyni artan Hcy seviyelerine karşı daha yüksek hassasiyete maruz bırakır (Sunden ve diğerleri, 1997).



Şekil-1: Homosistein metabolizması (Sharma, 2015)

Folik asit ve vitamin B12 eksikliğinde metiyonin sentaz aktivitesi inhibe olduğu için plazma homosistein konsantrasyonları yükselmektedir. Hcy'nin metiyonine dönüştürülememesi sonucu hücreSEL SAM konsantrasyonları da azalmakta ve buna bağlı olarak merkezi sinir sistemindeki metilasyon reaksiyonları bozulmaktadır (Castro ve diğerleri, 2006). Yapılan çalışmalarda Alzheimer hastası kişilerin BOS ve beyin dokularında azalmış SAM/SAH oranları tespit edilmiştir (Morrison ve diğerleri, 1999). Metilasyon reaksiyonlarının gerçekleşememesi sonucu nöradrenalin, serotonin gibi nörotransmitterlerin sentezi azalmaktadır. Nöronal hücre zarlarındaki fosfolipidlerin metilasyonunun azalması ile hücre bütünlüğü bozulabilmektedir. Ayrıca tau proteinlerini defosforile eden enzim olan protein fosfataz 2A'nın aktive olması için de metilasyonu gereklidir ve metilasyonun azalması durumunda hiperfosforile tau proteini artışı görülmektedir (Sontag ve diğerleri, 2014). Beyinde Hcy metabolizması sadece folat bağımlı remetilasyon yolu ile gerçekleştiği için, folik asit ve B12 eksikliğinden en çok etkilenen organ beyindir (Škovierová ve diğerleri, 2016).

Hcy metabolizmasında bazı anahtar enzimlerin genetik defektleri de plazma düzeylerini etkileyebilmektedir. Bunlardan en önemlisi metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimidir ki, bu enzim N5,N10-Metilen THF'in tersinmez olarak N5-Metil THF'a dönüşümünü katalizler. MTHFR'nin en yaygın gen polimorfizmi C677T'dir. TT genotipinde olan bireylerin, CC ve CT genotipinde olan bireylere göre plazma total Hcy konsantrasyonları önemli derecede daha yüksektir. Çünkü TT genotipi enzimin termolabil hale gelmesine

ve böylece aktivitesinin azalmasına neden olmaktadır. MTHFR aktivitesinin azalması, 5-Metil THF konsantrasyonlarını düşürmekte ve buna bağlı olarak da Hcy düzeylerini yükseltmektedir (Ni ve diğerleri, 2017).

Hcy'nin hem vasküler yapılar hem de nöronlar üzerinde yaptığı etkileri ile nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde etkili olduğu düşünülmektedir. Birçok çalışmada Hcy'nin vasküler disfonksiyon gelişiminde bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalarda yüksek Hcy düzeyleri ile serebrovasküler ve periferik damar hastalıkları arasında pozitif korelasyon olduğu görülmüştür (Sachdev, 2005).

2. HOMOSİSTEİNİN TOKSİSİTESİ

Yapılan çalışmalarda Hcy toksisitesine odaklanan farklı hipotezler geliştirilmiştir. Ancak tüm çabalara rağmen bu hipotezlerden hiçbiri Hcy biyotoksitesini net bir şekilde açıklayamamaktadır. Hcy biyotoksitesini ile ilgili olarak üç ana yol literatürde tartışılmıştır: (i) oksidatif stres indüksiyonu (ii); eksitotoksite; ve (iii) homosisteinilasyon olarak bilinen protein yapı modifikasyonları (Škovierová ve diğerleri, 2016).

2.1. Homosistein ve Oksidatif Stres

İlk hipotezlerden biri, Hcy'nin toksisitesinden Hcy'nin tiyol grubunu içeren redoks reaksiyonlarında oluşan hidrojen peroksitin (H₂O₂) sorumlu olduğudur. Oksidatif stres, çoğunlukla albümin olmak üzere plazma proteinlerine veya diğer düşük moleküler ağırlıklı plazma tiyollerine veya ikinci bir Hcy molekülüne disülfid yoluyla bağlanan Hcy'nin serbest tiyol grubunun oksidasyonu sırasında üretilir. Hcy'nin plazmada otooksidasyona uğradığı ve bu esnada hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikali gibi çeşitli reaktif oksijen radikallerinin yapımını artırdığı bilinmektedir. Oluşan reaktif radikaller lipidlerin, proteinlerin, karbonhidratların ve nükleik asitlerin oksidasyonunu indükleyerek endotel disfonksiyonuna veya damar duvarı hasarına, ardından trombosit aktivasyonuna ve trombüs oluşumuna yol açabilir (Petras ve diğerleri, 2014, Faraci ve Lentz, 2004). Vasküler hasar mekanizmasının temelinde de bu radikallerin bulunduğu düşünülmektedir (Çelik ve diğerleri, 2017). Organizmada serbest radikallere en duyarlı yapılar lipidler olduğu için membran lipidleri de peroksidasyona uğramaktadır. Bunun sonucunda membran hasarı oluşumu ve membran geçirgenliğindeki bozukluklar ile hücre ölümü meydana gelebilmektedir. Hcy ayrıca hücre içi glutatyon peroksidaz enziminin ekspresyonunu azaltmakta (Durmazve Dikmen, 2007) ve vasküler endotel hücreleri oksidatif hasara karşı savunmasız

hale getirmektedir (Çelik ve diğerleri, 2017). Damar endotelinde güçlü bir vazodilatör olan nitrik oksit (NO)'in sentezi ve biyolojik olarak kullanılabilirliği de Hcy tarafından azaltılmaktadır. Azalmış NO düzeyleri trombotik olayların ana sebeplerinden biridir. Yüksek Hcy düzeyleri nitrik oksit sentezinin güçlü bir endojen inhibitörü olan asimetrik dimetil arjinin (ADMA) sentezinde artışa neden olarak bu etkilerini göstermektedir (Obeid ve Herrmann, 2006). Tüm bu etkileri ile Hcy vasküler hasarda önemli bir rol oynamakta ve serebrovasküler hasar mekanizmasına katkıda bulunmaktadır.

2.2. Bir Nörotoksin Olarak Homosistein

Hcy'nin beyin dokusu üzerindeki toksik etkisi, Hcy eliminasyonu için iki ana metabolik yolun beyinde olmamasından kaynaklanır: betain aracılı Hcy'nin Met'e dönüşümü ve Hcy'nin Cys'e transsülfürasyonu. Ek olarak Hcy, glutamat reseptörlerinin her iki grubu, metabotropik (grup I ve III) ve iyonotropik (-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionat (AMPA)) reseptörlerinin yanı sıra N- metil-D-aspartat reseptörü (NMDA) için bir agonist görevi görür (Boldyrev ve diğerleri, 2013). Bu reseptörlerin aşırı uyarılması, artan sitoplazmik kalsiyum seviyesi, daha yüksek serbest radikal üretimi ve apoptoza yol açan kaspazların aktivasyonu ile sonuçlanır (Manolescu ve diğerleri, 2010, Boldyrev ve diğerleri, 2013, Mattson ve Shea, 2003). Nöronal hücrelerin Hcy'ne maruz kalması NMDA reseptörü indüksiyonu, hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazların (ERK'ler), mitojenle aktive olan protein kinazın (MAPK) ve diğer NMDA reseptörü agonistleri tarafından tetiklenen p38 MAPK'nın geçici aktivasyonuna bağlı olarak ölüme yol açabilir (Poddar ve Paul, 2013, Kovalska ve diğerleri, 2015). Hcy'nin toksik etkilerine sadece nöronal hücreler değil, glial hücreler de maruz kalmaktadır (Škovierová ve diğerleri, 2015). Ayrıca, Hcy sıklıkla hücre içi Ca²⁺ mobilizasyonu ve endoplazmik retikulum stresini uyurabilir. Bu durum apoptotik olayların gelişimi, beyin parankimasında hücre dışı matriksin yeniden şekillenmesi ve endotel disfonksiyonu ile sonuçlanabilir (Petras ve diğerleri, 2014, Lehotsky ve diğerleri, 2015, Mattson ve Shea, 2003). İnsanlarda artan düzeyde Ca²⁺, mitokondri membran potansiyelini bozarak mitokondriye zarar verir ve ATP üretimi baskılanır. Ayrıca, sitokrom c'nin mitokondriden sızması ve reaktif oksijen türleri, apoptozun ayırt edici özelliği olan DNA parçalanmasına yol açan kaspaz 3 yolunu aktive eder (Blahovcova ve diğerleri, 2015, Huang ve diğerleri, 2001).

SAM düzeylerinin azalmasından dolayı DNA metilasyonunun bozulması da hücreyi apoptoza götüren mekanizmalardan birini

oluşturmaktadır (Obeid ve Herrmann, 2006). Ayrıca Hcy kaynaklı oksidatif stres hücrelerde NF-kappa B (NF-kB) aktivitesini artırabilmektedir (Sachdev, 2005). NF-kB, tüm hücrelerde sessiz halde bulunan bir transkripsiyon faktörüdür ve sadece aktive olduğunda nükleusa geçerek hücre ölüm yolaklarını aktive eden patolojik süreçleri başlatır. Yapılan çalışmalarda Hcy'nin HERP (homosistein ile indüklenebilir ER stres proteini) proteininin ekspresyonunu da artırabildiği gösterilmiştir. HERP, nöronların ve diğer hücre tiplerinin ER zarında lokalize olmuş bir stres tepki proteindir ve indüksiyonu apoptoza neden olabilmektedir (Chan ve diğerleri, 2004).

Hcy'nin kan-beyin bariyerini geçtiği bildirildiğinden, yüksek düzeyde Hcy, olgun nöronlar üzerinde doğrudan nörotoksik bir etkiye neden olabilir. Normalde nöral kök hücre proliferasyonu, olgun beyin yanı sıra olgunlaşmamış beyin gelişiminde çok önemli bir rol oynar. Bununla birlikte, Hcy, nöral hücre farklılaşmasının embriyonik gelişimi sırasında önemli bir hücresel süreç olan DNA metilasyonunu değiştirerek nöral kök hücre proliferasyonunu azaltabilir. Hcy'deki artış, SAM'a bağlı metiltransferaz reaksiyonlarının yan ürünü olan SAH seviyesinde artışa yol açacaktır. DNA metiltransferaz (DNMT), DNA metilasyonu için önemli bir enzimdir ve CpG dinükleotit kalıntısına sitozin bazı ekler. DNMT, SAH için yüksek bir afiniteye sahiptir. Bu durum DNMT'nin aktivitesinde bir azalmaya yol açacak ve bu da sonuçta DNA hasarına, hücre ölümüne ve gen ekspresyonunda değişikliğe yol açacaktır.

Bu mekanizmalar ile Hcy'nin, nöronal hücre ölümüne neden olarak nörodejeneratif süreçlerde rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca bazı çalışmalarda Hcy'nin tau fosforilasyonu ve β -amiloid oluşumuna da katkı yaptığı belirtilmektedir. Kruman ve arkadaşları 2002'de yaptıkları çalışmada; amiloid öncü proteini (APP)'yi aşırı ifade eden transgenik farelerin nöron kültürlerinde yüksek Hcy ve düşük folat düzeylerinin A β toksisitesini artırdığını göstermişlerdir (Kruman ve diğerleri, 2002). Zhang ve arkadaşları ise 2008'de ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada hipokampusu Hcy enjeksiyonunun beyinde tau fosforilasyonunu artırdığını göstermişlerdir (Zhang ve diğerleri, 2008).

2.3. Protein Homosisteinilasyonu

Hcy, proteinlerin sistein kalıntılarına disülfid bağıyla bağlanabilir. Bu duruma "proteinin S-homosisteinilasyonu" denilmektedir. Öte yandan homosistein, plazmada kimyasal olarak reaktif bir tiyoester olan, Hcy-tiyolaktone (HTL) da dönüşmektedir. Hcy yapısal olarak metiyonine benzediği için yanlışlıkla metiyonil-tRNA sentetaz tarafından önce homosistein adenilata,

daha sonra da bu yapının düzenlenmesiyle HTL'ye çevrilebilir (Jakubowski, 2000 Beltowski, 2005). Normal fizyolojik koşullarda HTL oluşum miktarı çok azdır. Ancak vitamin B12, folat eksikliği, çeşitli gen değişimleri gibi etkenlere bağlı olarak Hcy/Met oranının artmasıyla HTL oluşumu da artmaktadır. HTL, proteinlerin lizin kalıntılarının serbest amino gruplarıyla tepkimeye girer. Bu olaya “protein-N-homosisteinlenmesi” (N-homosisteinilasyon) denmektedir (Jakubowski, 2000, Beltowski, 2005). Proteinlerin homosisteinilasyonu, protein yapısının bozulmasına, protein inaktivasyonuna ve hücre hasarına neden olmaktadır. Protein homosisteinilasyonunun derecesi, artan plazma Hcy düzeyi ile orantılıdır. Tripsin, myoglobin ve sitokrom c'nin in vitro homosisteinlenmesi sonucu agregasyonları gösterilmiştir (Beltowski, 2005). Protein hasarı ve agregasyonu sonucu amiloid benzeri yapılar oluşumu alzheimer hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. Amiloid β -peptit (veya A β , 39-43 amino asit içeren bir peptit), hücre sağkalımı ve sinaptik fonksiyonlar dahil olmak üzere çeşitli hücrel aktivitelere olan fizyolojik bir üründür (Pearson ve Peers., 2006). Amiloid β -peptit, transmembran amiloid öncü proteininin (APP) β - ve γ -sekretazlar tarafından ardışık bölünmesinden kaynaklanır (Sharma ve diğerleri, 2015). Alzheimer hastalığı (AD), amiloid-beta (A β) peptitlerinin ve bir tau protein formunun birikmesinden kaynaklanan nörodejeneratif bir hastalıktır. Bu çok faktörlü hastalığın birincil nedenleri, beta-sekretaz (BACE-1) ve gama-sekretaz'ın enzimatik etkisi ile amiloid öncü proteininden (APP) ayrılan bir peptit olan A β 'nin birikmesidir (Mudher ve Lovestone, 2002). Tau, nöronal hücrelerin hücre iskeletinde bulunan bir mikrotübüle bağlı proteindir (MBP). Çeşitli izoformlarının olduğu bilinmektedir (Goedert ve diğerleri, 1989). Tau proteinleri, mikrotübül proteinlerine (MTP) bağlanır ve nöronal hücre bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur. Tau proteininin hiperfosforilasyonunun, tauopatiler olarak adlandırılan bir grup patolojiye katkıda bulunduğu gösterilmiştir ve en yaygın tauopati alzheimer hastalığıdır (Sharma ve diğerleri, 2015). Tau'nun mikrotübül bağlama tekrarlarındaki (MTBR'ler) pozitif yüklü lizin, tübülünün negatif yüklü C-terminali ile etkileşime girer (Mandelkow ve diğerleri, 1996). Tau'nun MTP'ye bağlanma yeteneği, herhangi bir mutasyon veya lizin kovalent modifikasyonu (özellikle MTBR'lerdeki lizinler) tarafından orta derecede bozulur (Hong ve diğerleri, 1998). Son bulgular, *in vitro* olarak tau proteininin lizin kalıntılarının HTL ile modifikasyonunun tübülün oluşum dinamiğini değiştirdiğini göstermiştir (Sharma ve diğerleri, 2015 Karima ve diğerleri, 2012). Ayrıca *in vitro* endotel hücrelerinde ve trofoblast hücre kültüründe HTL'nin Hcy'den çok daha düşük dozlarda apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Perla-Kaján ve diğerleri, 2007).

Genetik veya beslenme kaynaklı hiperhomosisteinemi HTL ve N-Hcy-protein birikimi büyük oranda artmaktadır.

Sonuç olarak son yıllarda yapılan çalışmalar, hiperhomosisteinemi durumunun çeşitli nörodejeneratif hastalıklar için bağımsız risk faktörü olduğunu göstermektedir. Çeşitli kanıtlar, HTL ile modifiye edilmiş proteinlerin amiloidojenik dönüşümünün, hiperhomosisteinemi ile ilişkili nörodejenerasyon için nedensel bir faktör olabileceğini göstermiştir. Şu anda, betain, vitamin-B12 ve folik asit takviyeleri, serum Hcy seviyelerini düşürmek için yegane önemli tedaviler olmuştur. Bunun yanı sıra diyet kısıtlamasının da hafif homosisteinemi durumlarında Hcy düzeylerini düşürmede iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Sharma ve diğerleri, 2015). Hcy'nin neden olduğu toksisitenin yeni bir mekanizmasının, protein N-homosisteinilasyonu olarak adlandırılan bir süreçte HTL tarafından proteinlerin modifikasyonu olduğu, bu da modifiye edilmiş proteini kümelenmiş/amiloidojenik hale getirdiği açıktır. Bu nedenle, bu toksik Hcy/HTL'yi tamponlayarak hücre/serum proteinleri ile reaksiyona girmelerini önleyen ajanlar, şiddetli hiperhomosisteinemi koşullarında terapötik müdahale için umut verici ilaçlar olabilir. Ayrıca, şu anda protein agregasyonunun önlenmesi için kullanımda olan terapötik ajanlar, en azından HTL kaynaklı protein agregasyonunu ve toksisiteyi önlemede umut verici sonuçlar sağlayabilir.

KAYNAKÇA

- Beltowski J. (2005). Protein homocysteinylation: a new mechanism of atherogenesis? *Postepy Hig Med Dosw (Online)*.;59:392-404.
- Blahovcova, E., Richterova, R., Kolarovszki, B., Dobrota, D., Racay, P., Hatok, J. (2015). Apoptosis-related gene expression in tumor tissue samples obtained from patients diagnosed with glioblastoma multiforme. *Int. J. Mol. Med.* 36, 1677–1684
- Boldyrev, A.A., Bryushkova, E., Mashkina, A., Vladychenskaya. (2013). E. Why is homocysteine toxic for the nervous and immune systems? *Curr. Aging Sci.* 6, 29–36.
- Castro, R., Rivera, I, Blom, H J., Jakobs C., Almeida. I. T. (2006). Homocysteine metabolism, hyperhomocysteinaemia and vascular disease: an overview. *J Inherit Metab Dis* Feb;29(1):3-20.
- Chan K., Chui S.H., Wong D.Y., Ha W.Y., Chan C.L., Wong R.N. (2004). Protective effects of Danshensu from the aqueous extract of *Salvia miltiorrhiza* (Danshen) against homocysteine-induced endothelial dysfunction. *Life Sci.* Nov 12;75(26):3157-71.
- Çelik N., Vurmaz A., Kahraman A. (2017). Protective effect of quercetin on homocysteine-induced oxidative stress. *Nutrition.* Jan;33:291-296.
- Durmaz A., Dikmen N . (2007). Homocysteine effects on cellular glutathione peroxidase (GPx-1) activity under in vitro conditions *J Enzyme Inhib Med Chem.* Dec;22(6):733-8.
- Faraci, F.M., Lentz, S.R. (2004). Hyperhomocysteinemia, oxidative stress, and cerebral vascular dysfunction. *Stroke*, 35, 345–347.
- Goedert, M., Spillantini, M. G., Jakes, R., Rutherford, D., Crowther, R.A. (1989). Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease *Neuron*, 3 , pp. 519-526
- Hong, M., Zhukareva, V., Vogelsberg-Ragaglia, V., Wszolek, Z., Reed, L., Miller, B. I., Geschwind, D. H., Bird, T.D., McKeel, D., Goate, A., Morris, J.C., Wilhelmsen, K.C., Schellenberg, G. D., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M. (1998). Mutation-specific functional impairments in distinct tau isoforms of hereditary FTDP-17 *Science*, 282, pp. 1914-1917
- Huang, R.F., Huang, S.M., Lin, B.S., Wei, J.S., Liu, T.Z. (2001). Homocysteine thiolactone induces apoptotic DNA damage mediated by increased intracellular hydrogen peroxide and caspase 3 activation in HL-60 cells. *Life Sci.* 68, 2799–2811.

- Jakubowski, H. (2000). Homocysteine thiolactone: metabolic origin and protein homocysteinylation in humans. *J Nutr.Feb*;130(2S Suppl):377S-381S.
- Karima, O., Riazi, G., Khodadadi, S., Aryapour, H., Khalili, M. A., Yousefi, L., Moosavi-Movahedi, A.A. (2012). Altered tubulin assembly dynamics with N-homocysteinylated human 4R/1N tau in vitro *FEBS Lett.*, 586 , pp. 3914-3919
- Kerr, S.J. (1972). Competing methyltransferase systems. *J Biol Chem*; 247:4248–52.
- Kovalska, M., Kovalska, L., Tothova, B., Mahmood, S., Adamkov, M., Lehotsky, J. (2015). Combination of hyperhomocysteinemia and ischemic tolerance in experimental model of global ischemia in rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 66, 887–897.
- Kruman, I. I., Kumaravel, T. S., Lohani, A., Pedersen, W. A., Cutler, R.G., Kruman, Y., Haughey, N., Lee, J., Evans, M., Mattson, M.P. (2002). Folic acid deficiency and homocysteine impair DNA repair in hippocampal neurons and sensitize them to amyloid toxicity in experimental models of Alzheimer's disease *J Neurosci Mar* 1;22(5):1752-62.
- Lehotsky, J., Petras, M., Kovalska, M., Tothova, B., Drgova, A., Kaplan, P. (2015). Mechanisms involved in the ischemic tolerance in brain: Effect of the homocysteine. *Cell. Mol. Neurobiol.* 35, 7–15.
- Mandelkow, E. M., Schweers, O., Drewes, G., Biernat, J., Gustke, N., Trinczek, B., Mandelkow E. (1996). Structure, microtubule interactions, and phosphorylation of tau protein *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 777 pp. 96-106
- Manolescu, B.N., Oprea, E., Farcasanu, I.C., Berteanu, M., Cercasov, C. (2010). Homocysteine and vitamin therapy in stroke prevention and treatment: A review. *Acta Biochim. Pol.* 57, 467–477.
- Mattson, M.P., Shea, T.B. (2003). Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci.* 26, 137–146.
- Morrison L.D., Smith, D.D., Kish S.J. (1999). Brain S-adenosylmethionine levels are severely decreased in Alzheimer's disease *J. Neurochem.*, 67, pp. 1328-1331
- Mudher, A., Lovestone, S. (2002). Alzheimer's disease-do tauists and baptists finally shake hands? *Trends Neurosci*;25:22–6.
- Ni J., Zhang L., Zhou T., Xu WJ., Xue JL., Cao N., Wang X.J. (2017). Association between the MTHFR C677T polymorphism, blood folate

- and vitamin B12 deficiency, and elevated serum total homocysteine in healthy individuals in Yunnan Province, China. *Chin Med Assoc. Mar*;80(3):147-153.
- Obeid R., Herrmann W. (2006). Mechanisms of homocysteine neurotoxicity in neurodegenerative diseases with special reference to dementia. *FEBS Lett. May 29*;580(13):2994-3005.
- Pearson H. A., Peers C. (2006). Physiological roles for amyloid beta peptides *J. Physiol.*, 575, pp. 5-10
- Perla-Kaján J., Twardowski T., Jakubowski H. (2007). Mechanisms of homocysteine toxicity in humans. *Amino Acids.*;32(4):561-72.
- Petras, M., Tatarkova, Z., Kovalska, M., Mokra, D., Dobrota, D., Lehotsky, J., Drgova, A. (2014). Hyperhomocysteinemia as a risk factor for the neuronal system disorders. *J. Physiol. Pharmacol.*65, 15–23.
- Poddar, R., Paul, S. (2013). Novel crosstalk between ERK MAPK and p38 MAPK leads to homocysteine-NMDA receptor-mediated neuronal cell death. *J. Neurochem.* 124, 558–570.
- Sachdev P.S. (2005) Homocysteine and brain atrophy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. Sep*;29(7):1152-61
- Sharma, G. S., Kumar, T., Dar, T. A., Singh, L.R.. (2015). Protein N-homocysteinylation: From cellular toxicity to neurodegeneration *Biochim Biophys Acta* 1850(11):2239-45.
- Sharma M., Tiwari M., Tiwari R.K. (2015). Hyperhomocysteinemia: Impact on Neurodegenerative Diseases. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 117(5):287-96.
- Škovierová, H., Mahmood, S., Blahovcová, E., Hatok, J., Lehotský, J., Murín, R. (2015). Effect of homocysteine on survival of human glial cells. *Physiol. Res.* 64, 747–754.
- Škovierová H, Vidomanová E, Mahmood S, Sopková J, Drgová A, Červeňová T, Halašová E, Lehotský J. (2016). The Molecular and Cellular Effect of Homocysteine Metabolism Imbalance on Human Health. *Int J Mol Sci.* 20;17(10):1733
- Sontag, J.M., Sontag E. (2014) Protein phosphatase 2A dysfunction in Alzheimer's disease. *Front. Mol. Neurosci.* 11;7:16.
- Sunden, S.L., Renduchintala, M.S., Park, E.I., Miklasz, S.D., Garrow, T.A. (1997). Betaine-homocysteine methyltransferase expression in porcine and human tissues and chromosomal localization of the human gene. *Arch. Biochem. Biophys.*345, 171–174.

Zhang C.E., Tian Q., Wei W., Peng J.H., Liu G.P., Zhou X.W., Wang Q., Wang D.W., Wang. (2008). Homocysteine induces tau phosphorylation by inactivating protein phosphatase 2A in rat hippocampus. *JZ.Neurobiol Aging*. 29(11):1654-65.

BÖLÜM 15

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA OTOFAJİ

Dr. Öğr. Üyesi Saim SEZER SONDAŞ¹

¹ Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Bölümü Malatya, Türkiye.
saime.sondas@ozal.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-7849-3445

GİRİŞ

Nörodejeneratif hastalıklar, genel anlamda nöronların fonksiyonel ve yapısal olarak kaybını hatta ölümünü de içine alan hastalık grupları içerisinde yer almaktadır. En iyi bilinen nörodejeneratif hastalık örnekleri arasında Alzheimer, Parkinson, Huntington hastalığı ve ölümcül ailesel uykusuzluk sayılabilir. Nörodejeneratif hastalıklar aynı zamanda nöronlar içinde kümelenmiş proteinlerin birikmesi ile karakterize edilmektedir. Bu biriken proteinler, kusurlu protein yığılmasına sebep olduğunda daha da şiddetlenen bir fenomen olan toksisiteye neden olmaktadır. Otofaji, bu protein kümelerini temizleyebilen, temel bir hücresel yıkım ve geri çevirim yoludur. Pek çok nörodejeneratif hastalık otofaji bozuklukları ile ilişkilendirilmiştir ve hastalığa sebep olan birikimlerin çökelmeye sebep olmuş protein kümelerden kaynaklandığı söylenmektedir. Eğer otofajiye sebep olan yıkım yollarında bir bozukluk, duraksama ya da ekstra bir durum olursa sinir hücreleri de bu durumdan etkilenmektedir ve bu durum sinir hücrelerinde de anormallikler ve sinyal kaybı görülmesine neden olabilmektedir. Bu bölümde nörodejeneratif hastalıkların oluşum ve gelişimini, otofajinin moleküler aşamalarını, otofajik yolları, akış bozulduğunda meydana gelen bozuklukların nörodejeneratif hastalıklarla bağlantılarının üzerinde durmayı amaçlıyoruz.

1.NÖRODEJENERATİF HASTALIKLAR

Nörodejeneratif hastalıklar öncelikle nöron kaybı ile karakterize edilen, dünya çapında 50 milyon kişiyi etkilediği düşünülen bir hastalık grubudur. Modern bilim, tıbbi veya cerrahi bir çözüm oluştursa da sonuç tam olarak istenilen düzeyde olamamıştır (Lamprey ve ark. 2022; Wang and Lu, 2022). Nörodejeneratif hastalıkların etiyolojileri ve patogenezi karmaşık ve çeşitlidir. Bunlar arasında protein agregasyonları, genetik mutasyonlar ve enfeksiyonlar sayılabilir. Merkezi sinir sisteminde immün yanıtın kronik aktivasyonunun keşfi ile hastalarda ve hayvan modellerinde yüksek inflamatuvar faktör seviyeleri, nöroinflamasyonun nörodejeneratif hastalıkların karmaşık patogenezinde dikkate değer bir rol oynadığını düşündürmektedir. Nöro-enflamasyonun temel patolojik işaretleri, inflamatuvar mediyatörlerin düzenlenmesi ve salınmasının da eşlik ettiği merkezi sinir sisteminde bağışıklık hücreleri, mikroglia ve astrositlerin aktivasyonu ve proliferasyonu olduğu söylenmektedir (Jiang ve ark., 2022).

Armstrong 2020'de yayınladığı bir derlemede nörodejeneratif hastalığın patogenezi ve fenotiplerinin çeşitliliğini açıklamak için bir hipotez önerdiğini söylemekte ve bu hipotezi yedi ana maddeye dayandırmaktadır. Bunlar: 1) nörodejeneratif hastalık, birden fazla hastalıkla ilişkilidir, 2) risk faktörlerinin en önemlisi yaştır, 3) yaşlanma nöroanatomi yolları farklı şekilde etkiler, 4)

bu yolların dejenerasyonu patojenik proteinlerin oluşumuyla sonuçlanır, 5) patojenik proteinler anatomik yollar boyunca yayılır, 6) ailesel ve sporadik hastalık formlarının fenotipleri benzerdir ve 7) nörodejeneratif hastalık, heterojenite, örtüşen fenotipler ve çoklu patoloji ile karakterize edilir. Çoğu nörodejeneratif hastalık vakasının, aralarındaki etkileşimlerin çok faktörlü olduğu varsayılmaktadır (Armstrong, 2020).

Nörodejeneratif bozukluklar özellikle yaşlılarda, klinik bir endişe kaynağı olmaya devam etmektedir (Lamprey ve ark., 2022). Yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıkların artan bir halk sağlığı sorunu olduğu bugün hala kabul gören bir durumdur. Nörodejeneratif hastalıkların etiolojisinde ve ilerlemesinde yer alan patofizyolojik mekanizmaların bütüncül sistem düzeyinde anlaşılması, gelişmiş önleyici tedbirlere ve farmakolojik tedavi stratejilerine yol açabilmesi açısından son derece önemlidir. Nörodejeneratif hastalıklar, dejenere olan nöronların tiplerine ve beyin içindeki uzamsal organizasyonlarına bağlı olarak zihinsel ve fiziksel bozukluklarla sonuçlandığı artık bilinmektedir. Serebral korteksteki piramidal nöronların kaybı, Alzheimer hastalığında (AD) gözlenen bilişsel bozukluklardan sorumluyken, substantia nigra'daki dopaminerjik nöronların kaybı, Parkinson hastalığına (PD) bağlı motor değişikliklere neden olduğu bu duruma örnek olarak verilebilmektedir (Bloomingdale ve ark., 2022). Alzheimer ve Parkinsona ek olarak multipl skleroz (MS), amyotrofik lateral skleroz (ALS) ve Huntington hastalığı (HD) da nörodejeneratif hastalıklar olarak sayılmakla birlikte, bunlara ek olarak, akut yaralanma kronik nörodejenerasyonu şiddetlendirebildiği, sistemik nöroinflamatuvar yanıtları artırabildiği ve hatta merkezi sinir sistemini (CNS)'de etkileyebilir olduğu düşünülmektedir (Xiao ve ark., 2021). Nörodejeneratif hastalıklar arasındaki fenotipik farklılıklara rağmen, hücresel ve moleküler düzeyde benzerlikler de bulunmaktadır. Bu benzer özellikler; bozulmuş proteostaz, oksidatif ve endoplazmik retikulum stresi, metabolik işlev bozukluğu ve nöroimmün sistem değişiklikleri olarak sıralanabilmektedir (Bloomingdale ve ark., 2022). Nörodejeneratif hastalıkların ortak özelliği, nöronlarda agrega eğilimli proteinlerin sitoplazmik birikmesi olduğu söylenmektedir. İstenmeyen, hasarlı, yanlış katlanmış ve kümelenmiş proteinlerin çıkarılması, bu hastalıkların tedavi aşamalarında da önemli bir odak noktası olduğunu göstermektedir (Wang and Lu, 2022). Nörodejeneratif hastalıklardaki bir diğer patolojik özelliğinde nöral hasar olduğu söylenebilir. Ancak bu tür hasarlar nörotropik viral enfeksiyonlar, inme, genetik beyaz cevher hastalıkları ve paraneoplastik bozuklukların ardından da görülmektedir. Farklı etiyojilere rağmen örneğin enfeksiyonlar, genetik mutasyonlar, travma ve protein agregasyonları, nöronal hasar sıklıkla merkezi sinir sisteminde doğuştan gelen bir bağışıklık tepkisinin kronik aktivasyonu ile ilişkili olduğunu

göstermektedir. Bağışıklık sisteminin, gelişim sırasında beynin şekillenmesinde ve hasara aracılık etmenin yanı sıra rejenerasyon ve onarımda da görevli olduğuna dair farkındalığın arttırmaya başladığı söylenebilmektedir (Stephenson ve ark., 2018).

2.OTOFAJİNİN MOLEKÜLER MEKANİZMALARI

Otofajinin, proteinler, lipitler ve tüm organeller dahil olmak üzere hücrel içeriklerin, doku ve organizma homeostazında çok önemli bir rol oynayan lizozomal litik enzimler tarafından parçalandığı katabolik bir süreç olduğu söylenmektedir (Fujikake ve ark. 2018; Cui ve ark., 2022). Bu süreç, hücre içi bileşenlerin parçalanmaları için lizozoma nasıl iletildiğine bağlı olarak üç farklı otofajik yol sınıflandırılmıştır. Bu yollar; makrotofaji, mikrotofaji ve şaperon aracılı otofaji (CMA)'dir. Bunlar arasında, makrotofaji (bundan sonra otofaji olarak anılacaktır) en kapsamlı şekilde incelenir. Makrotofaji otofaji, Otofajik hücre ölümünü oluşturan temel mekanizmadır. Proteinler ve organeller dahil olmak üzere çeşitli sitoplazmik materyalleri tutan, fagofor olarak adlandırılan hilal şeklindeki bir zar yapısının oluşumu ile başlatılır. Fagoforlar uzar ve kargoları çevreleyen otofagozom adı verilen çift zarlı bir yapı oluşturur. Otofagozomlar daha sonra mikrotübüller boyunca perinükleer bölgeye taşınır ve kargoların parçalanması için otolizozomlar oluşturmak üzere lizozomlarla birleşirler. Mikrotofajide, küçük parçacıkların membranda oluşan girintiyle lizozom içine alınıp degradasyonunun yapılmasıdır. Öte yandan, şaperon aracılı otofaji ise HSC70'i (ısı şoku protein 70 kompleksi) ve lizozomla ilişkili zar proteininin (LAMP2A) multimerizasyonunu içeren oldukça düzenlenmiş ve parçalayıcı bir olaydır (Karadağ, 2016; Guo ve ark., 2018; Cui ve ark., 2022). Spesifik hücrel proteinlerin CMA tarafından zamanında parçalanması, glikoz ve lipid metabolizması, strese hücrel yanıt ve yaşlanmayla ilişkili bozuklukların önlenmesi için kritik öneme sahip olduğu söylenebilmektedir (Kaushik ve Cuervo, 2018; Cui ve ark., 2022).

Otofaji süreçleri, birkaç evrimsel olarak korunmuş genler (ATG; otofaji ile ilgili genler) tarafından düzenlenmektedir. ATG genlerinin ve bunların ürünleri olan ATG proteinlerinin tanımlanması, otofaji mekanizmasının moleküler diseksiyonu için de zemin hazırlamaktadır. Elektron mikroskopunda, ATG proteinlerinin floresan protein etiketlemesi dahil, otofaji analizi için güvenilir yöntemler belirlenmiş ve bu araştırma alanının genişletilmesi hızlandırılmıştır. Yani otofajinin, günümüzde temel yaşam bilimleri ve tıbbi araştırmalarda en sıcak konulardan biri haline geldiği söylenebilmektedir (Nakatogawa, 2020).

Otofaji, hücre tiplerinin çoğunda yapısal olarak aktiftir ve sitozolik bileşenlerin düşük seviyelerdeki (bazal otofaji olarak adlandırılır) devri için

esastır. Ek olarak, otofaji, besin yoksunluğu da dahil olmak üzere çeşitli stresler tarafından güçlü bir şekilde indüklenmektedir. Otofaji başlangıçta seçici olmayan bir şey olarak tanımlansa da günümüzde bozulma sisteminin, kargoyu seçici olarak ayırdığı söylenmektedir (seçici otofaji olarak anılır). Seçici otofaji sırasında hücreler, belirli hücre içi patojenleri (ksenofaji), lizozomlar (lizofaji), mitokondri (mitofaji) ve endoplazmik retikulum (ER) fragmanları (ER-faji) ve protein agregatları (agrefaji) gibi işlevsiz organelleri derhal uzaklaştırmaktadır. Bu seçici otofaji kargoları, p62/SQSTM1, NDP52, OPTN, TAX1BP1 gibi bir dizi kargo reseptörü ile etkileşime giren LC3/Atg8 (mikrotübül ile ilişkili proteinler 1A/1B hafif zincir3/Otofaji ile ilgili protein 8) proteinleri tarafından bağlanır. Seçici otofaji, hücre içi kalite kontrolü için özellikle anlamlıdır (Chu, 2019; Cui ve ark., 2022). Otofaji, yapısal olarak düşük seviyelerde işlev görür, ancak besin açlığı, büyüme faktörünün geri çekilmesi, DNA hasarı, anormal proteinlerin birikmesi ve organel hasarı gibi çeşitli hücresel stresörler tarafından da yüksek oranda indüklenmektedir. Fizyolojik ve patolojik bağlamda otofaji, amino asitlerin, lipidlerin, besinlerin ve metabolitlerin müteakip geri dönüşümü için gereksiz veya hasarlı hücresel bileşenlerin bozulmasını kolaylaştırarak hücreleri korudukları söylenebilmektedir (Fujikake ve ark. 2018). Yani otofaji, nöroproteksiyonda önemli bir rol oynayan hücrelerdeki proteinleri veya hasarlı organelleri uzaklaştırmak için bozulma yollarından biridir. Otofajinin farklı aşamaları, otofaji ile ilgili genler tarafından düzenlenmesine ek olarak, transkripsiyon faktörü gibi birçok molekülde bu süreçte yer almaktadır. Tam otofaji süreci, otofajinin dinamik dengesinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır ve hücre içi madde ve enerji metabolizmasının homeostazı için çok önemlidir. Otofaji dengesi, nörodejeneratif hastalıklarda bozulur ve çeşitli dejenerasyon bozukluklarına neden olmaktadır. Bu bozukluklar, çeşitli moleküller yollarla otofajinin düzenlenmesi ile hafifletilebilir veya tedavi edilebilir duruma getirilmesi açısından önemlidir (Dou ve ark., 2023).

Otofaji aynı zamanda da, yanlış katlanmış proteinler ve hasarlı organeller dahil olmak üzere hücre altı bileşenlerin bozulmasını kontrol eden filogenetik olarak korunmuş bir mekanizmadır. Pek çok nörodejeneratif hastalığın ilerlemesinin, yanlış katlanmış proteinlerin toplanmasından kaynaklandığı ve bu nedenle, otofajik aktivitenin hastalık şiddetini bir dereceye kadar etkilediği düşünülmektedir. Bazı nörodejeneratif hastalıklarda, otofajik aktivitenin baskılanması hastalığın ilerlemesini hızlandırmaktadır. Otofajinin uyarılmasının potansiyel olarak hastalık şiddetini azaltabileceği göz önüne alındığında, otofajiye neden olan çeşitli bileşikler geliştirilmekte ve bunların etkinliği, nörodejeneratif hastalıklarda da araştırılmaya devam etmektedir (Fujikake ve ark., 2018; Guo ve ark., 2018).

2.1. Mitofaji ve Nörodejenerasyon

Mitokondriyal düzensizlik, Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda rol oynadığı bilinmektedir. Mitokondri, bir süreç olan makrotofaji ile bozulur, lizozomlara iletilmek üzere sitoplazmik yükün membranöz otofajik vakuollere ayrılmasını sağlar. İlginç bir şekilde, mitokondriyal fisyon, Parkinson hastalığında bazı nörotoksinler tarafından ortaya çıkan otofajik nörodejenerasyona eşlik eder. Ayrıca mitokondriyal parçalanma ve artan otofaji diğer nörodejeneratif hastalıklarda da görülmektedir. Mitokondrinin otofagozomlara dahil edilmesinin, açlık sırasında gözlemlendiği gibi, önceden rastgele bir süreç olduğuna inanılıyordu. Özellikle mitokondriyal olarak lokalize kinazlar, oksidatif mitokondriyal hasarı da içeren modellerde önemli bir rol oynayabilmektedirler. Düzgün düzenlenmiş otofaji, homeostatik ve nöroprotektif bir rol oynarken, aşırı veya eksik otofaji, nörodejeneratiye katkıda bulunabilecek bir "otofajik stres" durumu yaratabilmektedir (Dagda ve ark., 2009).

PRKN geni, PINK1 (PTEN kaynaklı kinaz 1)'deki kinaz aktivitesine bağlı olan mitokondriyal kalite kontrol yoluna aracılık eden bir E3 ubiquitin (Ub) ligaz olan Parkin'i kodlamaktadır. Aynı zamanda, PINK1'deki mutasyonlar, ailesel Parkinson ve nöropsikiyatrik bozukluklarla ilişkilidir. Aşırı eksprese edilmiş PINK1'nin nöroprotektif olmasına rağmen, PINK1 işlevinin kaybına nöronal tepkiler hakkında çok az şey bilinmektedir. Son çalışmalar; PINK1 ve Parkin genlerinin işlevini kaybeden, hasarlı mitokondrilerde biriktiğini göstermiştir. Bu biriken proteinler, übikitilasyon ve fosforilasyon gibi posttranslasyonel değişikliklere neden olmakta ve mitokondrileri yıkım için işaretlemektedir. Dahası otofagozom membranı tarafından seçici olarak çevrelenmesinde de rol oynamakta ve otofajiyi tetiklemektedir. PINK1 işlevinin kaybı aynı zamanda da hem sporadik hem de ailesel Parkinson hastalığı oluşmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca PINK1 ve Parkin, mitokondriyal homeostazı sürdürmek için farklı mekanizmalar ile de işbirliği yapabilmektedir (Dagda ve ark., 2009; Kocatürk ve Gözüaçık, 2017; Stevens ve ark., 2023).

2.1.1. PINK1-Parkin Yolağı

Hasarlı mitokondri, ubiquitin tarafından etiketlenebilir ve PINK1-parkin yolundan derecelendirilebilir ve temizlenebilir. Bozulmuş mitokondriyal membran potansiyeli azalır, mitokondriyal dış zarında PINK1 proteininin birikmesine yol açar, ubiquitin fosforilasyonu ile E3 ubiquitin ligazı Parkin57'yi alır ve aktive eder, mitokondriyal dış zar proteinini ubiquitinleştirir. Ubiquitin-proteazom ve otofaji yolu ile daha da bozulur. Ubiquitin proteazom sistemi, PINK1-Parkin aracılı mitokondriyal otofajinin tamamlanmasını teşvik

ederek mitokondriyal dış zar proteinlerinin parçalanmasında da önemli bir rol oynamaktadır. Transkripsiyon faktörü EB (TFEB)'nin mitokondriyal depolarizasyondan sonra PINK1-Parkin aracılı mitokondriyal otofajiye de dahil olduğu bulunmuştur. Parkin'in işe alınması, mTOR (Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi) ve ATG7'den bağımsız olan ancak bazı moleküllerin katılımını gerektiren TFEB tarafından düzenlenmektedir ve ancak süreç daha fazla çalışma ile desteklenmelidir (Dou ve ark., 2022).

Ek olarak; mitokondri hasarının ya da hasarlı mitokondrinin yetersiz temizlenmesinin nihayetinde Parkinson hastalığına zemin hazırladığını göstermektedir. PTEN kaynaklı kinaz 1 ve PRKN'deki (PARK2 veya Parkin) mutasyonlar, otozomal resesif hastalığın en yaygın nedenlerinden biri olarak tanımlanmıştır. Mitofajiyi bozarak erken başlangıçlı Parkinson hastalığı, yetersiz mitokondriyal kalite kontrolüne yol açar. Mitokondri depolarizasyonu üzerine, PINK1 mitokondri üzerinde stabilize olur ve sitoplazmik Parkin'i hasarlı mitokondriye alır. PINK1 ve Parkin işbirliği içinde ubiquitilasyonu ve otofagozom/otolizozom oluşumunu kolaylaştırmak için bir dizi otofaji adaptörünü katalize eder. Dopaminerjik nöronlar özellikle mitokondri disfonksiyonuna karşı savunmasızdır. Fare model sisteminde, endojen Parkin, tercihen dopaminerjik nöronları mitokondri fonksiyon bozukluğundan korur. PINK1 ve Parkin'i etkileyerek mitofajiyi bozan ve Parkinson hastalığına neden olan başka faktörler de vardır. LRRK2 (Lösinden zengin tekrarlı serin/trypton kinaz 2) mutantları, PINK1 / Parkin ve fisyon destekleyici protein Drp1 arasındaki protein-protein etkileşimlerini bozar ve LRRK2 substratı Rab10'un mitofaji reseptörü optineurin ile etkileşimini etkileyerek mitofajiyi bozar. LRRK2'deki mutasyonların, PINK1 ve Parkin ile aynı yolda birleşebileceğini göstermektedir (Cui ve ark., 2022).

2.1.2. Diğer Mitokondriyal Otofaji Yolları

Çeşitli transmembran reseptörleri (BNIP3L; BCL2 Etkileşen Protein 3 gibi), PINK1-Parkin olmayan yol yoluyla mitofajiye aracılık edebilir. Bu transmembran reseptör proteinleri, LC3'e bağlanabilen ve mitokondriyal otofajiyi indükleyebilen LIR (LC3 etkileşimli bölge) alanlarını içerir. Kortikal nöronlarda ve nöroblastomlarda, kardiyolipinin aracılık ettiği PINK1-Parkin olmayan yolakta mitofaji gözlenmektedir. Mitokondri hasar gördüğünde, kardiyolipin iç zardan mitokondriyal dış zara maruz kalır ve otofaji yoluyla anormal mitokondriyi parçalamak için doğrudan LC3 ile etkileşime girer. Kardiyolipine ek olarak, seramidler ve steroidler de mitofajinin düzenlenmesine katkı sağlar. Bu nedenle, mitofaji ile ilgili moleküller, nörodejenerasyonda önemli bir rol oynayabilir. Mitofajinin işlev bozukluğu nöronal hasara da neden olmaktadır. Öte yandan, bu mitofaji ile ilişkili

moleküllerin düzenlenmesi, mitokondriyal işlev bozukluğunun etkisini azaltabilmektedir. Ayrıca mitofaji ile ilgili moleküller, nörodejenerasyon hastalığının hayvan modellerini oluşturmak için de kullanılabilir (Dou ve ark., 2022).

3.OTOFAJİ HOMEOSTAZI VE NÖRODEJENERASYON

Tüm otofaji süreci yani hücre içi yıkım mekanizması birkaç basamakta gerçekleşir; otofajik keseciğin (otofagozom) çekirdeklenmesi (oluşumunu), otofajik zarların uzaması ve hedefin zarlar ile çevrenmesi, yıkıma hazırlanması, oluşan yapının lizozomlarla birleşmesi, ve daha sonra da lizozomal enzimlerin yardımıyla yıkımın gerçekleşmesidir. Bu adımlardan herhangi birindeki herhangi bir anormallik, otofaji işlev bozukluğuna yol açacaktır. Nöronlardaki otofagozomlar, esas olarak, sinaptik veziküllerin sentezi ve metabolizması ile yakından ilgili olan, büyüyen veya sinaptik bağlantılara sahip olan akson uçlarında oluşmaktadır (Kocatürk ve Gözüaık, 2017; Dou ve ark., 2023).

Yeni üretilen otofajik veziküller, endolizozom belirteçleri LAMP1 ve Rab17'yi elde etmek için hızla sintaksin-17 ile birleşir. Veziküller, maddeleri akson terminalinden çekirdeğe mikrotübüller aracılığıyla taşımak için dineine bağımlıdır ve lizozomlarla füzyonla parçalanırlar. Çalışmalar, birçok nörodejeneratif hastalığın lizozomal işlev bozukluğu ile de ilişkili olabileceğini göstermiştir. Araştırmacılar, Alzheimer hastalığına sahip modellerinde bir lizozom birikimi kütlesi buldular, otofagozomların ve lizozomların anormal taşınmasının veya bozulmasının dejeneratif hastalıklarda önemli bir rol oynayabileceğini söylemektedirler. Ayrıca, transkripsiyon faktörü EB (TFEB)'nin otofagozomların ve lizozomların aksonal taşınmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca, aktive edilmiş TFEB, dineine bağlanan ve lizozomal taşıma üzerinde kalıcı bir etki gösteren lizozomal transmembran proteinlerini kopyalayabilmektedir (Dou ve ark., 2023).

Normal otofaji sürecinde, sentezi ve yıkımı otofagozomlar dinamik bir denge içindeyken, nörodejeneratif hastalıklarda otofaji sürecinin çoklu ara süreçleri anormal olabilir. Otofagozomların taşıma, füzyon ve bozulma etkinliğindeki azalma ve sürekli dış uyurımın neden olduğu otofaji talebindeki artışın tümü, hücre içi otofaji basıncının artmasına neden olmaktadır. Otofaji sentezi ve yıkımı arasındaki dinamik denge bozulduğunda, otofaji stresi oluşacak ve anormal otofajiye neden olacaktır. Bu nedenle, nöron gövdesi ile akson arasında mikrotübüller aracılığıyla çok sayıda maddenin taşınması gerekmektedir. Bununla birlikte, nöronlar enerji değişikliklerine karşı hassastır. Normal bir otofaji seviyesinde bile, enerji tükenmesi veya Beclin1/Bcl-2 dengesizliği, otofaji basıncı arttığında hücre ölümüne neden olabilmektedir (Dou ve ark., 2023). Parkinson hastalığı, orta beyinin nigrostri atumundaki

dopaminerjik nöronların dejenerasyonu, nöron gövdesi veya sinapslardaki hasardan kaynaklanan otofaji stresine bağlı olabileceği de düşünülmektedir (Dou ve ark., 2023).

4.SONUÇ

Nörodejeneratif hastalıklar, çağımızda kalp hastalıkları ve kanserlerden sonra en sık görülen, sinir sistemi nöronlarının geri dönüşümsüz olarak dejenere olması ile karakterize hastalıklar arasında yer almaktadır. Günümüz teknolojisinde ve güncel tedavi yöntemleriyle iyileştirilmeleri bugün için pek mümkün değildir. Otofaji, hücrede proteinlerin, hasarlı organellerin, hücre atıklarının ve birçok zararlı bileşenin yok edilmesinden sorumlu olduğundan otofajik yollardaki aksamaların nörodejenerasyon gibi çeşitli hastalıklarla bağlantısı otofaji araştırmalarının insan sağlığı için önemini artırmaktadır. Örneğin, temelinde hasarlı organellerin parçalanması, DNA hasarının önlenmesi ve oksidatif stresin azaltılması gibi çeşitli etkilerinin yer aldığı bulgular, otofajinin toksik proteinlerin temizlenmesindeki rolünün, nörodejeneratif hastalıkların önlemedeki kritik rolünü göstermektedir. Bu bağlamda insan otofaji mekanizmalarının nasıl çalıştığını nasıl düzenlendiğini bilmek önemlidir. Dahası otofajik sinyal yollarının önemini gösteren çalışmalar hızla sürmekle birlikte, bu yolların hem temel bilimlerde hem de klinik bilimlerde daha iyi anlaşılması gerekmektedir. Yeni tanı ve tedavi yöntemlerinin bulunması ve nörodejeneratif hastalıklar gibi insan sağlığını tehdit eden hastalıklara bilinçli ve moleküler temeli yüksek çözümler bulunmasına yol açacaktır. Otofajik mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması, hastalıklara uygulanacak yeni ilaç tedavilerinin de önünü açacaktır.

KAYNAKLAR

- Armstrong, R. (2020). What causes neurodegenerative disease? *Folia Neuropathol*; 58 (2): 93-112 doi: <https://doi.org/10.5114/fn.2020.96707>.
- Bloomingtondale, P., Karelina, T., Ramakrishnan, V., Bakshi, S., Véronneau-Veilleux, F., Moye, M., Sekiguchi, K., Meno-Tetang, G., Mohan, A., Maithreye, R., Thomas, V. A., Gibbons, F., Cabal, A., Bouteiller, J.-M., Geerts, H. (2022). Hallmarks of neurodegenerative disease: A systems pharmacology perspective. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 11(11):1399-1429. doi: 10.1002/psp4.12852.
- Chu, C.T. (2019). Mechanisms of selective autophagy and mitophagy: Implications for neurodegenerative diseases. *Neurobiol Dis.*; 122: 23–34. doi:10.1016/j.nbd.2018.07.015.
- Cui, M., Yoshimori, T., Nakamura, S. (2022). Autophagy system as a potential therapeutic target for neurodegenerative diseases. *Neurochemistry International* 155; 105308. doi: 10.1016/j.neuint.2022.105308.
- Dagda, R.K., Cherra, S.R., Kulich, S.M., Tandon A., Park, D., and Chu, C.T. (2009). Loss of PINK1 function promotes mitophagy through effects on oxidative stress and mitochondrial fission. *J Biol Chem*. 2009;284(20):13843-13855. doi: 10.1074/jbc.M808515200.
- Dou, C., Zhang Y., Zhang, L., Qin, C. (2023). Autophagy and autophagy-related molecules in neurodegenerative diseases. *Animal Model Exp Med*. 2023 Feb; 6(1): 10–17. doi: 10.1002/ame2.12229.
- Fujikake, N., Shin, M., and Shimizu, S. (2018). Association Between Autophagy and Neurodegenerative Diseases. *Front Neurosci*. 2018; 12: 255. doi: 10.3389/fnins.2018.00255.
- Guo, F., Liu, X., Cai, H., Le, W (2018). Autophagy in neurodegenerative diseases: pathogenesis and therapy. *Brain Pathology* 28(1); 3–13. doi: 10.1111/bpa.12545.
- Jiang, Z., Yin, X., Wang, M., Chen, T., Wang, Y., Gao, Z., Wang, Z. (2022). Effects of Ketogenic Diet on Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *Aging Dis.*;13(4):1146-1165. doi: 10.14336/AD.2021.1217.F.
- Karadağ, A., (2016). Otofaji: Programlı Hücre Ölümü. *Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi*, Cilt 15, Sayı 2.
- Kocatürk, N.M., Gözüaçık, D. (2017). Otofaji ve Nörodejeneratif Hastalıklar. *Türkiye Klinikleri J Pharmacol-Special Topics* ;5(1):11-20.
- Lamprey, R.N.L., Chaulagain B., Trivedi R., Gothwal, A., Layek B., Singh J. (2022). A Review of the Common Neurodegenerative Disorders: Current Therapeutic Approaches and the Potential Role of Nanotherapeutics. *Int J Mol Sci.*, 6;23(3):1851. doi: 10.3390/ijms23031851.

- Nakatogawa, H., 2020. Mechanisms governing autophagosome biogenesis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 21, 439–458. doi: 10.1038/s41580-020-0241-0.
- Stephenson, J., Nutma, E., van der Valk, P., Amor, S (2018). Inflammation in CNS neurodegenerative diseases. *Immunology.* 154(2):204-219. doi: 10.1111/imm.12922.
- Stevens, M.U., Croteau, N., Eldeeb, M.A., Antico, O., Zeng Z.W., Toth, R., Durcan T.M., Springer, W., Fon, E.A., Muqit, M.M., Tremp J.F. (2023). Structure-based design and characterization of Parkin-activating mutations. *Life Sci Alliance.* 20;6(6):e202201419. doi: 10.26508/lsa.202201419.
- Wang, Y.T., Lu, J.H. (2022). Chaperone-Mediated Autophagy in Neurodegenerative Diseases: Molecular Mechanisms and Pharmacological Opportunities *Cells*;11(14):2250. doi: 10.3390/cells11142250.
- Xiao, Y., Shu-Kun Wang, Yuan Zhang, Abdolmohamad Rostami , Anshel Kenkare, Giacomo Casella, Zeng-Qiang Yuan, Xing Li. (2021) Role of extracellular vesicles in neurodegenerative diseases. *Progress in Neurobiology* 201, 102022.

BÖLÜM 16

OKSİDATİF STRESİN NÖRODEJENERASYON ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT¹

¹ Tokat Gaziosmapaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı,
Tokat, TÜRKİYE.nihan.bozkurt08@gmail.com, Orcid ID: 0000-00020-2283-0828

1. GİRİŞ

Nörodejenerasyon, sinir sisteminin veya sinir hücrelerinin (nöron) işlevini, yapısını veya her ikisini birden kaybettiği patolojik durumlar olarak tanımlanmaktadır. Genellikle nörodejeneratif hastalıklar çok sayıda nedene bağlı olarak ortaya çıkar ve hızlı bir şekilde ilerler. Bu bağlamda, sinir sistemi hastalıkları üç kategoride sınıflandırılabilir: 1. Sinir sistemi ile sınırlı patolojiler ve birincil nöronal hastalıklar; 2. Beyin neoplazmi veya beyin ödemi ve kanama gibi sinir sistemiyle sınırlı olan ancak birincil nöronal hastalıklar olmayan patolojiler; ve 3. Sinir sistemine zarar veren sistemik zararlı faktörlerin neden olduğu patolojiler. Bu sınıflandırmaya dayanarak, Alzheimer hastalığı (AH), Parkinson hastalığı (PH), Huntington hastalığı (HH) ve Amiyotrofik lateral skleroz (ALS) dahil olmak üzere yüzlerce sinir sistemi bozukluğu, nörodejeneratif bozukluk içerisinde değerlendirilir (Przedborski; 2008). Günümüzde dünya çapında etkilenmiş birey sayısı 20 milyonu bulan nörodejeneratif hastalıklarının epidemiyolojik araştırmaları, son on yılda hastalık sıklığının tanımlayıcı çalışmalarından çok risk faktörlerinin analitik çalışmalarına doğru kaymıştır (Mayeux 2003).

Nöronların yüksek oksijen konsantrasyonuna maruz kalması, beyinde yaşa bağlı olarak biriken metal iyon konsantrasyonu, hücresel süperoksit üretiminin birincil kaynağı olan mitokondrilerin beyinde diğer organlara oranla daha fazla bulunması gibi birçok nedenle beynin oksidatif hasara duyarlılığının fazla olmasının yanı sıra yapılan çalışmalar, nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasında oksidatif stres ajanlarının rolünü gündeme getirmiştir (Kaymak ve Aydın; 2021).

Bu bölümde Alzheimer Hastalığı, Parkinson Hastalığı, Huntington hastalığı ve Amiyotrofik lateral skleroz gibi yaygın nörodejeneratif hastalıklarda oksidatif stres ajanlarının rolü ve etki mekanizmaları incelenmiştir.

2. OKSİDATİF STRES VE SERBEST RADİKALLER

Dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip olmaları nedeniyle kararsız ve reaktif moleküller olan serbest radikaller kısa ömürlü moleküllerdir ve kararlı forma geçebilmek için, elektron verici ya da alıcı gruplarla güçlü bir şekilde reaksiyona girerler (Kumar ve Ratan, 2016; Örsöğlü, 2022). Bu tür reaksiyonlar, kararlı grupların yapısını bozarak serbest radikallerinin oluşumuna yol açmaktadır (Örsöğlü, 2022).

Belirli seviyede serbest radikal oluşumu fizyolojik bir durumdur ve süreçte hücre proliferasyonu, vücut savunması, hücre farklılaşması ve düz kasların kontrolü aşamasında kilit rol oynar. Artan serbet radikallerin seviyesi ise lipid, protein ve DNA gibi organizma için hayati öneme sahip

biyomoleküller üzerinde yapısal değişikliklere neden olmaktadır (Örsoğlu, 2022).

Normal fizyolojik koşullarda, hücrelerde devamlı oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidanlar arasında kurulan dengenin toksik özellik gösteren ROS lehine bozularak hücrede süperoksit radikallerinin birikmesi oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır. Bu durum protein, lipid ve nükleik asit hasarı ve bu hasara bağlı gelişen işlev bozukluğu, hücre içi sinyal yollarının düzensizliği ve hatalı hücre ölümüne sebep olan bir dengesizliktir (Amit ve Rajin, 2016). İlerleyici tipte olan bu hasarlar özellikle yaşlanmaya bağlı nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasında etkilidir (Aslankoç ve ark., 2019).

PH, ALS ve inme gibi hem akut hem de kronik nörodejeneratif hastalıklarda oksidatif stresin etkileri belirgindir. Reaktif oksijen türlerinin artan üretimi, endojen antioksidan savunmalarını elimine ederek, oksidatif hasara ve hücre ölümüne yol açar. Bu hastalıklarda bulunan bazı biyokimyasal değişiklikleri ve nöropatolojinin geliştirildiği doku kültürü ve hayvan modellerinde oksidatif stresin nöronal hücre ölümünde kritik rol oynadığı deneysel olarak kanıtlanmıştır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimler, nörodejenerasyon modellerinde terapötik etkinlik göstermiştir (Pong, 2003).

Oksidatif stress; hücre zarlarında ve lipid, protein, nükleik asit ve lipoproteinler gibi biyomoleküllerde yıkıcı değişiklikler meydana getirir. Artan ROS üretimi, hücre içi serbest Ca^{+2} seviyesinde artış, otofaji, uyarıcı amino asitlerin salınması, apoptoz ve çeşitli nörolojik bozukluklara yol açan protein agregatlarının birikmesine neden olur. Ayrıca ROS solunum zinciri kompleks IV'ün hem grubu içeren sitokrom c oksidaz I molekülüne ve ayrıca kompleks I, II ve III'ün bileşenlerine zarar verir. Mitokondride, ROS'un aşırı üretimi DNA'da, hücre zarlarında ve proteinlerde oksidatif strese neden olabilir ve bu da mitokondriyal hasara yol açar. Oluşan bu mitokondriyal oksidatif stres ayrıca sitozole sitokrom c serbestlenmesine sebep olur ve bu da çeşitli nörodejeneratif hastalıkların oluşmasına ve apoptoza yol açar (Hassan ve ark., 2022).

Yüksek dozda serbest radikal ve ROS'un lipidlerle reaksiyona girmesi, oksidatif stresin biyoaktif belirteci olan lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Membran yapısında bulunan lipidlerin, oksidasyona karşı daha duyarlı olması, lipid peroksidasyonu sonucu oluşan radikallerin hücre membranının akışkanlığını ve geçirgenliğini değiştirmesine sebep olmaktadır (Hassan ve ark., 2022).

Oksidatif hasar sonucu çeşitli reaktif gruplar içeren protein ürünleri, hem hücre zar yapısına hem de birçok hücrel fonksiyona zarar verebilir. Bu

tip oluşumlar; hücre içi sinyal iletimin ve enzim aktivitesinin bozulmasına, protein denatürasyonuna, proteoliz duyarlılığının bozulmasına, proteinlerinde fonksiyon kaybına neden olur. Ayrıca serbest radikaller; apoptozi, gen regülasyonu, DNA’da zincir kırıkları ve tamiri gibi birçok süreç üzerinde de olumsuz etkilere sahiptir. (Hassan ve ark., 2022; Örsöğlü, 2022).

3. NÖRODEJENARATIF HASTALIKLARDA OKSİDATIF STRES

3.1. Oksidatif Stres ve Alzheimer Hastalığı

En yaygın nörodejeneratif bozukluk olan AH, günlük yaşam aktivitelerini önemli ölçüde bozan; davranışsal ve bilişsel işlevlerde düşüşle karakterize en zorlu nörodejeneratif hastalıklardan biridir (Liu ve ark., 2017; Kaymak & Aydın, 2021). Amiloid-beta plaklarının ($A\beta$) ve nörofibriler yumakların (NFT'ler) birikmesi ve bir mikrotübül bağlayıcı protein olan tau'nun hiperfosforilasyonu ile karakterize edilir (Kamat ve ark., 2016; Liu ve ark., 2017). $A\beta$ plak agregasyonu, demansın en yaygın nedeni olan AH'nin patogeneğinde merkezi bir rol oynamaktadır. $A\beta$ plaklar, lipit çift tabakasına girebilen ve hidrojen peroksit üretebilen küçük oligomerlerdir. Hidrojen peroksit, Fe ve Cu gibi redoks-aktif geçiş metali iyonlarının varlığında, hidroksil radikallerinin oluşumuna yol açar. Bu reaksiyon daha sonra lipit peroksidasyonunu başlatır ve protein ve diğer biyomoleküllerin oksidatif hasarına neden olur. Ayrıca oksidatif stres ve lipit peroksidasyonu AH'nin ilerlemesi sırasında $A\beta$ plak birikimini indükleyebilmektedir (Shichiri, 2014). $A\beta$ plakları, endoplazmik retikulumda (ER) depolanan kalsiyum iyonlarını (Ca^{+2}) tüketerek sitozolik Ca^{+2} 'un aşırı artışına neden olur. Buna bağlı olarak ROS'un hücreler içinde aşırı birikmesi, ROS'a bağlı gelişen oksidatif stresin, AH patogenezindeki önemini göstermektedir (Liu ve ark., 2017).

AH hastalarında gözlenen şiddetli oksidatif stress aynı zamanda N-metil-D-aspartat tipi glutamat reseptörlerinin (NMDAR'lar) aşırı aktivasyonuna bağlıdır (Liu ve ark., 2017). Amiloid öncü protein (APP) metabolizmasının bozulmasına bağlı olarak $A\beta$ üretiminin artması; yumak oluşumu, nöron kaybı, sinaps kaybı ve nörotransmisyon bozukluğu ile doğrudan ilişkilidir. Bu değişiklikler, Nmetil-D-aspartat reseptörü (NMDA) aktivasyonu ve sonuçta AH patolojisine neden olan oksidatif stres ile ilişkilidir (Kamat ve ark., 2016). Bu aktivasyon, hücre geçirgenliğini ve ardından ROS/RNS'nin nörotoksik seviyelerinin oluşumunu uyararak aşırı Ca^{+2} akışına yol açar. ROS, JNK/stresle aktive olan protein kinaz yollarının aktivasyonuna katılır. Bu kaskadların aktivasyonu ise tau proteinlerinin hiperfosforilasyonuna ve $A\beta$ plak kaynaklı hücre ölümüne neden olmaktadır (Liu ve ark., 2017).

Aβ proteinleri, NADPH oksidazın aktivasyonu yoluyla doğrudan serbest radikal oluşumunu da başlatabilir. Aβ plak kaynaklı ROS aşırı üretimi, hücrel sinyal yollarını değiştirir ve p38 mitojenle aktive edilmiş protein kinazın (MAPK) aktivasyonu ile tau hiperfosforilasyonunu başlatır. Hiperfosforile edilmiş tau proteinlerinin anormal birikimi ise, hücre içi nörofibriler yumakların oluşumuna yol açar (Liu ve ark., 2017).

Ayrıca Aβ plaklar, hücrel apoptotik yollara da katılarak bu süreçte önemli bir rol oynamaktadır (Liu ve ark., 2017). Yaşa bağlı ortaya çıkan mitokondriyal oksidatif stres apoptozla ilişkilidir (Yamaguchi ve ark., 2009). AH'de mitokondriyal elektron taşıma enzimlerindeki en yaygın kusur, ROS üretiminde artışa, enerji depolarında azalmaya ve enerji metabolizmasında bozulmaya yol açan sitokrom c oksidaz eksikliğidir (Cardosa ve ark., 2004). Özellikle nitrik oksid (NO), başta sitokrom c oksidaz olmak üzere birkaç anahtar enzim aktivitelerini inhibe eder ve ATP tükenmesine neden olarak mitokondriyal/hücrel solunumu ve diğer fonksiyonları bozar (Kamat ve ark., 2016). Özellikle Aβ plaklar, kalsinörinin aktivitesini artırarak Bcl-2 ile ilişkili ölüm yollarını tetikleyerek sitokrom c'nin mitokondriden salınımına yol açmasının yanı sıra doğrudan kaspazlarla da birleşip nöron apoptozunu indükleyebilir (Liu ve ark., 2017).

Yaşlanma, enflamasyon, çevresel stres ve çeşitli beslenme faktörleri, artmış Aβ plak üretimine yol açan oksidatif stresi indükleyebilir. Enflamasyon; sitokinlerin, ROS seviyelerinin ve hücrel toksisitenin artışına bağlı olarak AH ilerleyişini artırabilir. Oksidatif Stres; kimyasallar ve radyasyon gibi çeşitli çevresel faktörler tarafından da indüklenebilir. Örneğin, aşırı demir birikimi durumunda ROS oluşumu artar. Aβ plaklar, serbest radikaller üretmek için metal iyonlarıyla etkileşime girebilir. Cu²⁺/Zn²⁺ bağlı Aβ potansiyel antioksidan özelliklere sahip süperoksit dismutaza (SOD) benzer bir yapıya sahiptir. Bu nedenle, Cu²⁺ ve Zn²⁺ takviyesi, Aβ ile indüklenen ROS oluşumunu ve metal katalizli Aβ birikimini azaltmak için yeni bir strateji olarak öne sürülmektedir. AH için olası terapötik stratejiler, Aβ oligomerlerinin ve fosforile olan tau düzeyinin azaltılmasını, oksidatif stresin azaltılmasını ve epigenetik değişikliklerin kontrol edebilmesini hedeflemektedir (Liu ve ark., 2017).

AH patofizyolojisinde nöronal dejenrasyonda bir diğer etkili yol ise dokuda serbest radikal aracılı hasarın en önemli sonuçlarından biri olan lipid peroksidasyonudur (Montine ve ark., 2002). Bu mekanizmada, hidroksil radikalleri, membran fosfolipitlerinin yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asidi yan zincirinden hidrojen atomlarını kopararak membran fosfolipitlerini peroksi radikaline dönüştürür. Böylece membran fosfolipitlerinin iki tabakalı yapısının bozulmasıyla akışkanlık azalır ve zara bağlı proteinlerde yapısal

hasar meydana gelir ve çeşitli iyonların hücreye düzensiz geçişine izin verir (Montine ve ark., 2002; Kaymak ve Aydın, 2021).

Lipit peroksidasyonunun en yaygın ürünleri, 4-hidroksi-2-heksenal (HHE), malondialdehit (MDA), ve 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) gibi kimyasal olarak reaktif aldehytlerdir. Lipid peroksidasyonundan kaynaklanan reaktif aldehytlere biyolojik olarak aktiftir ve lipit peroksidasyonunun sitotoksik etkilerinin çoğu, elektrofilik lipid peroksidasyon ürünleri tarafından artırılır. Bunlar, glutatyonun tükenmesini, yapısal proteinlerde işlev kaybını, enzim aktivitelerinde azalmayı ve hücre ölümünün indüklenmesini içerir. Lipid peroksidasyonundan kaynaklanan reaktif aldehytlere maruz kalmanın ardından iyon kanalı, taşıyıcı ve ikinci haberci sistem aktivitelerindeki değişiklikler meydana gelir. Tüm bu olaylar, nörotransmitter sisteminin etkinliğini ve işlevini azaltarak AH sürecini başlatır (Montine ve ark., 2002; Kaymak ve Aydın, 2021).

AH patogeneğinde glutamat hidroksi radikalinin aşırı bulunması; ve hidroksil radikalinin birikmesine yol açan süperoksit dismutaz (SOD) 'ın aşırı üretimi önemli bir yer tutmaktadır. Hücre içi serbest radikallerin birikmesinin dışında, süperoksit dismutaz ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonlarındaki değişiklikler, AH olguların merkezi sinir sistemi ve periferik dokularında tespit edilmiştir (Kaymak ve Aydın, 2021).

AH tedavileri çoğunlukla nöroprotektif, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip bileşiklere dayanır. JNK ve NF- κ B gibi ROS aracılı kaskadları hedefleyen ilaçlarla (Örn; E vitamini) pozitif sonuçlar alınmıştır. ROS ile ilgili birkaç nöroprotektif terapötik strateji, AH tedavisinde olumlu etkiler göstermeye devam etmektedir. Örneğin, nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2) aracılı antioksidan yanıt elemanı (ARE) yolu, oksidatif strese karşı temel bir koruyucu mekanizma olarak bilinir. Nrf2'nin ARE'ye bağlanması, oksidatif detoksifikasyon için birlikte çalışabilen birkaç antioksidan genin ekspresyonunu senkronize bir şekilde aktive eder. Endojen antioksidanların transkripsiyonel manipülasyonu, AH semptomlarını hafifletmede büyük umutlar verebilir (Liu ve ark., 2017).

3.2. Oksidatif Stres ve Parkinson Hastalığı

Parkinson Hastalığı (PH), beyin substantia nigra pars compacta adı verilen orta beyin bölgesindeki dopaminerjik nöron kaybı ile karakterize en yaygın nörodejeneratif hastalıklardandır (Blesa ve ark., 2015). 65 yaş üstü popülasyonun yaklaşık %1-2'si PH'dan etkilenir (Zhang ve ark., 2000) ve bu oran 85 yaş üstü bireylerde %4'e çıkar (Liu ve ark., 2017). Hastalık patogeneğinde hem sporadik hem de ailesel formlarda oksidatif stresin hücresel işlev bozukluğuna ve nihai hücre ölümüne yol açan ortak mekanizma

olduğu düşünülmektedir (Blesa ve ark., 2015). Dopaminerjik nöronların dejenerasyonuna neden olan patolojik mekanizmalar, ROS veya diğer serbest radikallerin aşırı birikimi, katekolamin metabolizmasındaki değişiklikler, mitokondriyal elektron taşıyıcı zincir (METC) işlevindeki değişiklikler ile ilişkilendirilmiştir (Blesa ve ark., 2015; Liu ve ark., 2017).

Mitokondri; hücre metabolizma, kalsiyum dengesi, redoks sinyalizasyonu, hücre çoğalması ve ölümü gibi önemli fonksiyonlara katılır (Aslan & Karahalil, 2019). Mitokondriyal disfonksiyon, Parkinson hastalığında artan ROS oluşumu ile yakından ilişkilidir. Nöronal aktivite için enerji kaynağı olan oksidatif fosforilasyon aynı zamanda hastalığın oluşmasında etkisi bulunan serbest radikallerin çoğalmasına yol açan süperoksit ve hidrojen peroksitin de ana kaynağıdır. Solunum zinciri Kompleks I, oksijenden ROS üretiminden sorumludur ve Parkinsonlu hastalarda Kompleks I'de aktivite kaybı aşırı ROS oluşumuna neden olur ve olumsuz nöral apoptozu tetikler (Liu ve ark., 2017). Yapılan çalışmalarda bu aktivite kaybının, oksidatif stres ve mitokondriyal membran potansiyelinin korunmasında kritik bir rol oynayan PTEN kaynaklı kinaz 1'in (PINK1) mutasyonu ile ilişkisi gösterilmiştir (Zuo ve ark., 2013).

PINK1 dışında α -sinüklein, DJ-1, parkin, ve lösin açısından zengin tekrar kinaz 2 (LRRK2) gibi farklı mutasyonların da PH gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir (Blesa ve ark., 2015). Bu mutasyonlar potansiyel olarak mitokondriyal disfonksiyona neden olarak aşırı ROS üretimine ve oksidatif strese duyarlılığın artmasına neden olmaktadır (Jiang ve ark., 2004). Parkin ve PINK1, mitokondride lokalizedir ve PINK1, hasarlı mitokondrinin dış zarında birikerek Parkin'in bu hasarlı mitokondriye geçişine aracılık eder. Parkin mutasyonu mitokondriyal kompleks I aktivitesini bozar. Yetersiz Parkin sentezi ise, oksidatif strese karşı duyarlılığı artırır (Saini ve ark., 2010). Dolayısıyla insanlarda PINK1 ve parkin mutasyonları mitokondriyal kusurlara ve solunum zinciri anormalliklerine yol açar (Piccoli ve ark., 2008). α -sinüklein birikmesi ise mitokondriyal kompleks I aktivitelerini etkileyerek ATP sentezi ve mitokondriyal işlev bozukluğuna yol açmaktadır (Liu ve ark., 2017).

Ailesel erken başlangıçlı PH'ye neden olduğu bilinen başka bir gen DJ-1'dir. DJ-1, mitokondriyal alt birimlere bağlanır kompleks I aktivitesini düzenler. DJ-1'in bir kısmı iç mitokondri matriksinde ve zarlar arası boşlukta bulunmasına rağmen, DJ-1'in mitokondriye translokasyon derecesi oksidatif stress ile uyarılır ve oksidatif stres kaynaklı hücre ölümüne karşı koruyucu özelliğindedir (Junn ve ark., 2009).

3.3. Oksidatif stress ve Huntington Hastalığı

Huntington hastalığı (HH), mutant huntington (mHtt) proteininin N' terminalinde anormal derecede bir poliglutamin tekrarına dönüşen, huntington (HTT) genindeki değişken uzunluktaki CAG tekrarların neden olduğu, ölümcül, ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır (Johri & Beal; 2012; Kumar & Ratan, 2016). Hastalığın patolojisi, protein agregasyonu, transkripsiyonel düzensizlik, kusurlu enerji metabolizması, oksidatif stres, eksitotoksisite ve inflamasyon gibi mutant huntingtin proteini için toksik fonksiyon kazanımına neden olur (Kumar & Ratan, 2016). Bu değişiklikler, HH'deki normal dışı motor ve bilişsel durumları etkiler (Liu ve ark., 2017). Yapılan çalışmalar, HH'de gözlenen nöronal dejenerasyona aracılık etmede oksidatif stres ve buna bağlı gelişen mitokondriyal disfonksiyonun rolünü desteklemektedir (Johri & Beal, 2012).

Bu hastalığın beyindeki enerji seviyelerine etkisi ile ilişkili çalışmalarda, HH hastalarında azalmış glikoz kullanımı ve artmış laktat seviyelerinin gözlenmesi, HH'nin enerji seviyelerini düşürdüğü teorisini desteklemektedir. Ayrıca, oksidatif hasar, glukoz taşıyıcı (GLUT)-3'ün azalmış ekspresyonu ile ilişkilidir ve buna bağlı olarak glukoz alımında inhibisyon ve laktat birikimi gözlenmektedir (Covarrubias-Pinto ve ark., 2015; Liu ve ark., 2017).

mHtt mitokondriyal fonksiyon bozukluğunda önemli bir rol oynamaktadır. mHtt'nin N-terminali mitokondriyal membranlarla etkileşime girerek mitokondriyal kalsiyum anormalliklerine neden olmasının yanı sıra, mHtt'nin solunum kompleksi II üzerinde de doğrudan inhibe edici etkileri vardır (Panov ve ark., 2002). Mitokondriyal elektron taşınmasının inhibisyonu hem ROS seviyesinde artışa ve hem de ATP üretiminin azalmasına neden olabilir. Son yıllarda, HH'de ortaya çıkan mitokondriyal hasar, oksidatif stresin gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenazın (GAPDH) katalitik aktivitesini etkisizleştirilmesi ile ilişkilendirilmiştir. İnaktif GAPDH (iGAPDH), hasarlı mitokondri ile birleşerek lizozomal yol aracılığı ile seçici bozunmaya yönlendirmek için bir sinyal molekülü görevi görür. mHtt'nin varlığında ise iGAPDH, mitokondriyal dış zarda mHTT'nin uzun poliglutamini ile anormal bir şekilde etkileşime girmesi iGAPDH'nin bozunma sinyalinin bloke eder. Sonuç olarak, hasarlı mitokondri lizozom tarafından yutulamaz ve mHtt eksprese edilen hücrelerde uygunsuz şekilde birikerek hücre ölümüne yol açar (Liu ve ark., 2017). Dolayısıyla hem mitokondriyal değişiklikler hem de ROS seviyesinin artışı, striatum ve kortekste daha fazla oksidatif stres ve nöronal hücre kaybıyla sonuçlanır. Yapılan çok sayıda çalışma da artan oksidatif belirteç seviyeleri ile geri dönüşümsüz nöronal hasar arasındaki bağlantıyı desteklemektedir (Zuccato ve ark., 2010).

Nörorehabilitasyon egzersizinin HH'de yararlarını belirlemeyi amaçlayan bir çalışmada oksidatif hasarın biyobelirteçleri olduğu bilinen 8-hidroksi-2 deoksiguanozin (8-OHdG) ve nörona özgü enolaz (NSE) konsantrasyonları izlenmiştir. Ayrıca nöronlardaki oksidatif hasarın potansiyel bir periferik biyobelirteci olabileceği düşünülen SOD1 seviyesi, HH hastalarında kontrole kıyasla önemli ölçüde artmaktadır. Çalışma sonunda NSE ve 8-OHdG seviyelerinde belirgin şekilde azalma gözlenirken, SOD1 seviyeleri yüksek kalmıştır, bu da SOD1'in serbest radikalleri ortadan kaldırılmasında olası nöro-koruyucu rolünü akla getirmektedir (Ciancarelli ve ark., 2015; Liu ve ark., 2017).

3.4. Oksidatif Stres ve Amyotrofik Lateral Skleroz

Amyotrofik lateral skleroz (ALS), omuriliğin ön boynuzunda ilerleyici motor nöron kaybı ile karakterize sporadik ve ailesel olguları tanımlanmış nörodejeneratif bir hastalıktır. Genellikle 50-60 yaşlarında ortaya çıkan Sporadik ALS (sALS)'nin başlangıcı bilinmemektedir (Liu ve ark.,2017). Ailesel ALS'de ise, vakaların yaklaşık %25'i kromozom 21'de lokalize SOD1'deki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. SOD1 geninde 100'den fazla farklı mutasyon, ailesel ALS ile ilişkilendirilmiştir. Bu mutasyonların çoğunda, SOD1 enzim aktivitesinin normal veya yüksek olması SOD1 mutasyonlarının bir işlev kaybı değil, toksik bir işlev kazanımından kaynaklandığını düşündürmektedir (Simpson ve ark., 2003). Bu toksisite yanlı katlanmış SOD1 formlarından kaynaklanabileceği gibi, SOD1'in pro-oksidan protein üreten bir ROS olmasından da kaynaklanabilir (Kaymak & Aydın, 2021). SOD1, aşırı süperoksit radikalini, hücre sel solunumu, enerji metabolizmasını ve post-translasyonel modifikasyonu modüle eder. SOD disfonksiyonu antioksidan kapasitede bir kayba yol açar ve mutant SOD1 proteininin fonksiyon kazanımı, motor nöron hastalıklarında önemli ölçüde rol oynamaktadır. Bastow ve ark., mutant SOD1'in maya modelinde hücrelerin amino asit biyosentezini bozabileceğini ve ALS'deki nöral dejenerasyona sebep olan hücre sel yıkıma aracılık edebileceğini göstermiştir (Liu ve ark., 2017).

SOD1, NADPH oksidazı (Nox) etkinleştiren endozomlar içindeki ilişki yoluyla doğrudan Rac1'i düzenler. Redoksozomlar olarak da adlandırılan Nox içeren endozomlar, NF-κB yoluyla proinflamatuvar sinyallerin düzenlenmesinde önemlidir. Nox, hücre sinyal iletiminde, enzim regülasyonunda ve antibakteriyel etkide önemli roller oynayan moleküler oksijenden O₂•- oluşturur (Liu ve ark., 2017). Mutant SOD1, ALS'de motor nöron kaybına neden olabilen Nox2 bağımlı ROS üretiminde artışa neden olur (Marangoz & Erdoğan, 2020). Mutant SOD1, motor nöronlarda ve

destekleyici glial hücrelerin aktivitesinde sinyal iletimini değiştirerek motor nöron dejenerasyonuna ve ailesel ALS'nin ilerlemesine katkıda bulunabilir. Ayrıca, mutant SOD1'i ifade eden astrositler, glutamat taşıyıcı (GLT) 1'in ifadesini azaltarak motor nöronlarda hücre dışı glutamat ve glutamat toksisitesinin artmasına yol açar. (Foran ve ark., 2011).

Bunların dışında ALS'de sistemik olarak artmış oksidatif stress, lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit ve DNA hasarı belirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, ALS'li hastaların beyin omurilik sıvısında (BOS) ve plazmasında önemli ölçüde artışına neden olmaktadır (Simpson ve ark., 2003).

4. SONUÇ

Normal aerobik hücresele metabolizma sonucu oluşan serbest radikaller, antioksidan sistem tarafından dengelenir ve kurulan bu denge serbest radikallere bağılı hücresele kayıpların önlenmesinde kritik bir rol oynar. Bununla birlikte, antioksidanların dengesiz savunma mekanizması, serbest radikallerin aşırı üretimi ve birikmesi ve buna bağılı oluşan çeşitli hücresele düzensizlikler Alzheimer Hastalığı, Parkinson Hastalığı, Huntington Hastalığı gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklara yol açmaktadır. Nörodejeneratif bozukluklarda oksidatif stresin etkisi bilinmesine rağmen, halen spesifik patogenezele belirsizlikler mevcuttur. Yapılacak daha ayrıntılı çalışmalar nörolojik hastalıklarda yer alan mekanizmaların tam olarak anlaşılmasına yardımcı olmasının yanı sıra ve terapötik hedeflerin açığa çıkarılmasında da etkili olacaktır.

5. KAYNAKLAR

- Aslan, S. N. & Karahalil, B. (2019). Oksidatif Stres ve Parkinson Hastalığı. *J. Fac. Pharm. Ankara / Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 43(1), 94-116.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E. Ş. & Yilmaz, B. (2019). Oksidatif Stres Durumunda Antioksidan Enzimlerin Rolü - Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx). *Med J SDU/SDÜ Tıp Fak Derg*, 26(3), 362-369 doi: 10.17343/sdutfd.566969.
- Blesa J., Damas, I. T., Varela, A. Q. & Jackson-Lewis, V. R., (2015). Oxidative Stress and Parkinson's Disease. *Frontiers in Neuroanatomy*,9.
- Cardoso, S. M., Rego, A. C., Penacho, N. & Oliveira, C.R. (2004) Apoptotic cell death induced by hydrogen peroxide in NT2 parental and mitochondrial DNA depleted cells. *Neurochem Int*, 45,693–698.
- Ciancarelli, I., AmicisDe, D., MassimoDi, C., et al. (2015). Influence of intensive multifunctional neurorehabilitation on neuronal oxidative damage in patients with Huntington's disease. *Functional Neurology*, 30, 47–52.
- Covarrubias-Pinto, A., Moll, P., Solis-Maldonado M., et al. (2015). Beyond the redox imbalance: oxidative stress contributes to an impaired GLUT3 modulation in Huntington's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 89, 1085–1096.
- Foran, E., Bogush, A., Goffredo, M., et al. (2011). Motor neuron impairment mediated by a sumoylated fragment of the glial glutamate transporter EAAT2. *Glia*, 59, 1719–1731.
- Hassan, W., Noreen,H., Rehman, S., Kamal, M. A. & Rocha, J. B. T., (2022). Association of Oxidative Stress with Neurological Disorders. *Curr Neuropharmacol*, 20(6), 1046–1072. doi: 10.2174/1570159X19666211111141246.
- Jiang, H., Ren, Y., Zhao, J. & Feng, J. (2004). Parkin protects human dopaminergic neuroblastoma cells against dopamineinduced apoptosis. *Human Molecular Genetics*, 13, 1745–1754.
- Johri, A., and Beal, M. F. (2012). Antioxidants in Huntington's disease. *Biochim Biophys Acta*, 1822(5), 664–674. doi:10.1016/j.bbdis.2011.11.014.
- Junn, E., Jang, W. H., Zhao, X., Jeong, B. S. & Mouradian, M. M. (2009). Mitochondrial localization of DJ-1 leads to enhanced neuroprotection. *J. Neurosci. Res*, 87, 123–129. doi: 10.1002/jnr.21831.
- Kamat, P. K., Kalani, A., Rai, S., Swarnkar, S., Tota, S., Nath, C. & Tyagi, N. (2016). Mechanism of Oxidative Stress and Synapse Dysfunction in the

- Pathogenesis of Alzheimer's Disease: Understanding the Therapeutics Strategies. *Mol Neurobiol*, 53, 648–661.
- Kaymak, G. & Aydın, H. (2021). Nörodejeneratif Hastalıklarda Oksidatif Stresin Rolü. *Osmangazi Tıp Dergisi Osmangazi Journal of Medicine*, 696-704.
- Kumar, A. & Ratan, R. R. (2016). Oxidative Stress and Huntington's Disease: The Good, The Bad, and The Ugly. *Journal of Huntington's Disease* 5, 217–237. Doi: 10.3233/JHD-160205.
- Liot, G., Valette, J., Pepin, J., Flament, J. & Brouillet, E. (2017). Energy defects in Huntington's disease: why "in vivo" evidence matters. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 483 (4), 1084–1095.
- Liu, Z., Zhou, T., Ziegler, C. A., Dimitrion, P. & Zuo, L. (2017). Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2525967, 11. <https://doi.org/10.1155/2017/2525967>
- Mayeux, R. (2003). Epidemiology of Neurodegeneration. *Annu. Rev. Neurosci*, 26, 81–104.
- Montine, T. J., Neely, M. D., Quinn, J. F., Beal, M. F., Markesbery, W. R., Roberts, L. J. & Morrow, J. D. (2002). Lipid Peroxidation in Aging Brain And Alzheimer's Disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(5), 620–626.
- Örsoğlu, Ö. Z. (2022). Oksidatif Stres Kaynaklı Nöron Hasarında Antioksidanların Koruyucu Etkisinin İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- Panov, A. V., Gutekunst, C. A., Leavitt, B. R., et al. (2002). Early mitochondrial calcium defects in Huntington's disease are a direct effect of polyglutamines, *Nature Neuroscience*, vol. 5, 731–736.
- Piccoli, C., Sardanelli, A., Scrima, R., Ripoli, M., Quarato, G., D'Aprile, A., et al. (2008). Mitochondrial respiratory dysfunction in familiar parkinsonism associated with PINK1 mutation. *Neurochem. Res.*, 33, 2565–2574. doi: 10.1007/s11064-008-9729-2.
- Pong, K. (2003). Oxidative stress in neurodegenerative diseases: therapeutic implications for superoxide dismutase mimetics, *Expert Opin Biol Ther*, 3(1), 127-39. doi: 10.1517/14712598.3.1.127.
- Przedborski, S. (2008). Neurodegeneration. In: Gendelman, H.E., Ikezu, T. (eds) *Neuroimmune Pharmacology*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-0-387-72573-4_17.
- Saini, N., Oelhafen, S., Hua, H., Georgiev, O., Schaffner, W. & Büeler, H. (2010). Extended lifespan of *Drosophila parkin* mutants through

- sequestration of redox-active metals and enhancement of anti-oxidative pathways. *Neurobiol. Dis*, 40, 82–92. doi: 10.1016/j.nbd.2010.05.011.
- Shichiri, M. (2014). The role of lipid peroxidation in neurological disorders. *J. Clin. Biochem. Nutr*, 54(3), 151–160.
- Simpson, E. P., Yen, A.Y. & Appel, S. H. (2003). Oxidative Stress: a common denominator in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Current Opinion in Rheumatology*, 15(6), 730-736..
- Yamaguchi, R. & Perkins, G. (2009). Dynamics of mitochondrial structure during apoptosis and the enigma of Opa1. *Biochim Biophys Acta* 1787, 963–972.
- Zhang, Y., Dawson, V. L. & Dawson, T. M. (2000). Oxidative Stress and Genetics in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Neurobiology of Disease*, 7, 240–250.
- Zuccato, C, Valenza, M., & Cattaneo, E. (2010). Molecular Mechanisms and Potential Therapeutical Targets in Huntington's Disease. *Physiol Rev*, 90: 905–981, doi:10.1152/physrev.00041.2009.
- Zuo, L. & Motherwell, M.S. (2013). The impact of reactive oxygen species and genetic mitochondrial mutations in Parkinson's disease, *Gene*, 532, 18–23.

BÖLÜM 17

SPİNA BİFİDA GELİŞİMİNDE ROL ALAN MOLEKÜLER MEKANİZMALAR

Dr. Öğr. Üyesi Semih TAN¹
Seçil TAN²

¹ Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.

semihtan@odu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-5609-9594

² Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Kanser Moleküler Biyolojisi, Denizli, Türkiye.

ornek@email.com, Orcid ID: 0000-0002-5609-9594

GİRİŞ

Spina bifida (SB), merkezi sinir sisteminin en yaygın doğumsal kusurudur. Bu hastalığın temelleri tam olarak anlaşılammış olsa da, bu hastalığın genetik ve moleküler temellerinde büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Ayrıca spina bifida tedavisi, doğumdan sonra kusurun cerrahi olarak kapatılmasından günümüzün en gelişmiş intrauterin onarımına kadar büyük ilerlemeler kaydetmiştir.

Hayatta kalınabilir olsa da, kusur, etkilenen herkes için ömür boyu sürecek bir sakatlığın habercisidir. Miyelomeningosel (MMC), SB'nin en şiddetli formudur ve bir beyin omurilik sıvısı torbası içinde yer alan ekstrüde bir omurilik ile karakterize edilir. Çok daha az ciddi bir kusur olan kapalı nöral tüp defektleri (NTD'ler) mevcuttur ve genellikle spina bifidanın kendisinden daha düşük morbidite ile ilişkilidir (Avagliano et al., 2019).

NTD'ler hakkındaki anlayışımız son birkaç on yılda önemli ölçüde iyileşmiştir, ancak oluşum mekanizması, önleyici tedbirler ve iyileştirici tedaviler hakkındaki sorular devam etmektedir. Bu konjenital malformasyonun etiyolojisi ve patogenezinde çevresel, genetik ve maternal faktörler arasındaki karmaşık bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Harris & Juriloff, 2010). Şu anda, genetik bileşenin NTD riskinin yaklaşık %60-70'ine katkıda bulunduğu düşünülmektedir ve bu nedenle insanlarda ek genetik lokusların tanımlanması devam eden bir çalışma alanıdır (Blom, Shaw, den Heijer, & Finnell, 2006). Bu, spontane, kimyasal olarak indüklenen ve nakavt varyasyonlardan değişen tek başına NTD'lerin murin modelinde tanımlanan yaklaşık 250 gen tarafından vurgulanmaktadır (Hassan, Du, Lee, Wang, & Farmer, 2022).

1. NORAL TÜP GELİŞİMİ

Nöral tüp, bir embriyonun gelişimi sırasında oluşan geçici bir yapıdır; beyin ve omurilikten oluşan merkezi sinir sisteminin öncüsüdür. İnsan embriyolarında, bu sürecin tamamı döllenmeden sonraki 17. ve 28. günler arasında gerçekleşir (Hassan et al., 2022). Normal bir nöral tüp oluşturmak için gerekli aktiviteler arasında apoptoz, nöral krest migrasyonu, nöroepitelyal proliferasyon, apikal hücre iskeleti mikrofilamentlerinin kasılması ve dorsolateral bükülme noktalarında esneme yer alır (Blom et al., 2006). Embriyogenez sırasındaki herhangi bir sapma, nöral tüp yetmezliğine ve bunun sonucunda bir NTD'ye neden olabilir. Nöral tüpün kapanması, nöral tüpün

dorsal orta hat boyunca sıralı katlanması, yükselmesi, kapanması ve kaynaşması ile özetlenebilir ve nöronal olmayan dokunun nöral tüpün kendisinden işlevsel olarak ayrılmasına olanak tanır. Tüm bu süreç ve olay dizisi, nörolasyon olarak adlandırılır ve birincil ve ikincil nörolasyon olarak alt bölümlere ayrılabilir (Hassan et al., 2022; Schoenwolf & Smith, 1990).

Birincil nörolasyon sırasında, beyin ve omurilik, özellikle medulladan orta lomber genişlemeye uzanan segmentler oluşur. Birincil nörolasyon, nöral plakanın orta hat boyunca şekillendirilmesinden, katlanmasından ve kaynaşmasından sorumludur (Hassan et al., 2022; Schoenwolf & Smith, 1990). Fare embriyolarında, birincil nörolasyon eylemi, servikal omurga ile gelecekteki arka beyin arasındaki sınırdan başlatılır. Kapanış bu noktadan itibaren çift yönlü olarak yayılır. Ön beyin ve orta beynin sınırında ikinci bir kapanma orijin bölgesi ortaya çıkar; bu kapanma da çift yönlü olarak yayılıyor. Üçüncü bir kapanma olayı da ön beynin rostral ucundan kaynaklanır. Bu başlatma bölgelerinin üçü arasındaki kapanma, kranial ve spinal nörolasyonun tamamlanmasına yol açar, böylece kapalı bir ön ve arka beyin nöroporu sağlar (Hassan et al., 2022; Schoenwolf & Smith, 1990). Farelerde görüldüğü gibi bu olayların, bazı önemli farklılıklar dışında insan embriyolarında benzer olduğu ileri sürülmektedir (Copp, 2005; O'Rahilly & Müller, 2002).

Birincil nörolasyon sırasında nöral tüpün kapanmasındaki sapmalar, SB dahil bir dizi NTD'ye yol açabilir. Nörolasyonun süresiz doğası, hataların nerede meydana geldiğine ve nöral tüpün ne kadarının kaynaşmamış kaldığına bağlı olarak belirli kusurlara yol açar. Belirtildiği gibi, üç kapatma bölgesinin toplamı tam bir kranial ve spinal nörolasyon ve dolayısıyla kapalı bir ön ve arka beyin nöroporu ile sonuçlanır. İlk kapanma bölgesindeki kusurlar, orta beynin uzunluğu boyunca alt omurgaya kadar olan kusurlara yol açarak, kraniorakşizis (beynin yokluğu ve omurgada bitişik bir kemik kusuru olan kranial kubbenin yokluğu) olarak bilinen bir durum yaratır. Anensefali (beynin, kafatasının ve kafa derisinin büyük bölümlerinin yokluğu), kranial nörolasyon sürecindeki başarısızlık veya anormalliklerden kaynaklanır (Hassan et al., 2022).

Sekonder nörolasyon, distal lomber kord, konus medullaris ve filum terminale'yi içeren omuriliğin alt kısmından sorumludur. Bu süreç kanalizasyon ve geriye dönük farklılaşmadan oluşur. Kanalizasyon, nöral tüpün arka nöropora doğru kaudal olarak uzandığı süreçtir. Notokord ve nöral epitel

birleştiğinde kaudal bir hücre kütleli oluşur. Bu hücre kütleli içinde, çok sayıda mikrokist birleşir ve ependim astarlı tübüler bir yapı oluşturur, bunlar daha sonra yukarıdan nöral tüple birleşerek sürekli bir birincil nöral tüp oluşturur. İnsanlarda nöral tüpün gelişimi ve kapanması gebe kaldıktan 28 gün sonra tamamlanır. 38. günden sonra kaudal nöral tüp boyunca kontrollü hücre nekrozu olur, bu da distal lomber kord, konus medullaris ve filum terminale oluşumuyla sonuçlanır. Bu geriye dönük farklılaşma süreci, kaudal hücre kütlelerinin çoğunun çıkarılmasından sorumludur (Detrait et al., 2005; Hassan et al., 2022). Sekonder nörolasyondaki bozukluklar ayrıca kaudal agenezi, presakral kistler, arka bağırsak anormallikleri, kaudal lipomlar ve çok sayıda anorektal ve genitoüriner anomaliler dahil olmak üzere diğer konjenital lezyonlara yol açabilir (Kim, Lee, & Wang, 2020). Daha yakın zamanda adlandırılmış bir lezyon, cul-de-sac'a devam eden uzun omurilik benzeri bir yapı olarak tanımlanan retansiyon medüller kord (RMC), sekonder nörolasyonun ya tamamen ya da kısmen durmasına atfedilmiştir (Hassan et al., 2022; Pang, Zovickian, & Moes, 2011). Altta yatan bir konu gibi görünüyor, ancak işlevsiz bir bileşen var. Başlangıçta nadir oldukları düşünülse de, klinik ortamda daha sık karşılaşırlar ve daha önce bahsedilen konjenital lezyonlarla ilişkilendirilebilirler. Sekonder nörolasyon bozuklukları olan hastalar tipik olarak inkontinans, sık üriner sistem enfeksiyonları, nörojenik mesane ve ürodinamik anormalliklerin yanı sıra nörolojik defisitlerle kendini gösterir (Hassan et al., 2022).

NTD'ler için önerilen iki mekanizma vardır. İlk olarak, nöral tüp, hücresel davranıştaki anormallikler (verimsiz proliferasyon, düzensiz hücre ölümü ve zayıf kolektif hücre hareketi) nedeniyle kapanmaz. İkincisi, kapalı nöral tüp, muhtemelen kritik hücre-hücre adezyon bağlantılarındaki bir arıza nedeniyle yeniden açılır (Padmanabhan, 2006; Yamaguchi et al., 2011).

2. SPİNA BİFİDA GELİŞİMİ

Beyin ve omuriliği içeren merkezi sinir sisteminin gelişimi, sıralı kalınlaşma, yükselme, rostrokaudal uzantının eşlik ettiği mediolateral yakınsama ve son olarak nöral tüpü (NT) oluşturmak için adezyona uğrayan düz bir hücre tabakası ile başlayan karmaşık bir süreçtir. Birbirine bağlı bu süreçlerin bozulması, bu sistemi etkileyen en yaygın konjenital malformasyon olan ve önemli komplikasyonlarla ilişkili olan nöral tüp defektlerine (NTD'ler)

neden olur. NTD'ler iki ana formda ortaya çıkabilir: açık lezyon NTD olan spina bifida (SB) aperta ve daha yaygın olarak SB occulta olarak bilinen kapalı lezyon NTD.

2.1 Spina Bifida Gelişimindeki Genetik Faktörler

Aile öyküsü SB gelişimi için bir risk faktörü olmasına rağmen, nüks paternleri tek bir genetik bölgeye atfedilmez. Bunun yerine, SB, çoklu lokuslardaki varyantların bir kombinasyonunun neden olduğu ve çoklu genleri içeren karmaşık bir özelliktir(Mitchell et al., 2004).

Etkilenen gene bağlı olarak, insanlarda SB kalıtım kalıpları değişir. Çalışmalar, VANGL1 geni, VANGL2 geni, FUZ geni, CELSR1 geni ve TBXT geni dahil olmak üzere çoklu lokuslarda SB ve diğer NTD'lerin otozomal dominant kalıtımını göstermiştir(Bartsch et al., 2012; Hassan et al., 2022; Kibar et al., 2007; Lei et al., 2014; Morrison et al., 1996). Tek genlerin tanımlanmasına rağmen, giderek daha yeni kanıtların omnigenik bir spina bifida modeline işaret ettiğini ve insan spina bifidasının bir dizi genetik varyanttan ve bunların çevresel faktörlerle etkileşiminden kaynaklandığını öne sürdüğünü not etmek önemlidir(Boyle, Li, & Pritchard, 2017; Seo et al., 2011).

VANGL1 geninin çeşitli heterozigot yanlış anlamlı mutasyonları tanımlanmış ve insanlarda çeşitli NTD'ler ile ilişkilendirilmiştir(Kibar et al., 2007). Marello ve ark. tarafından yapılan bir incelemede, VANGL1'in nadir varyantları ile NTD'ler arasında güçlü bir ilişki önerildi. Ayrıca, Lei ve ark. ve Kibar ve ark. çeşitli NTD formlarına sahip popülasyonlarda VANGL2 genini sıraladı ve VANGL2 genindeki mutasyonların insan fetüslerini NTD'lere yatkın hale getirebileceğini öne sürdü(Kibar et al., 2007; Lei et al., 2014). Diğer çalışmalar, NTD'lerle ilişkili VANGL2 işlevini etkileyen dolaylı mutasyonlar önerdi. CELSR1'in heterozigot çerçeve kayması mutasyonu Kaliforniya'da 192 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada genin SB ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Lei et al., 2014). Mekanizması, CELSR1 proteini ile VANGL2 geni arasındaki etkileşime dayanmaktadır, çünkü mutasyon, hücreden hücreye temas için VANGL2'nin daha az görev almasına neden olur. FUZ genindeki diğer heterozigot yanlış anlamlı mutasyonlar tanımlanmış ve İtalyan popülasyonundaki NTD'lerle ilişkilendirilmiştir; araştırma ekibi, FUZ geninde silia oluşumuna, hücre yönlü hareketine veya her ikisine birden müdahale eden beş yanlış anlamlı mutasyon buldu(Seo et al., 2011).

Spina bifida için risk faktörleri olan diğer mutant genler, CCL2 genini içerir. CCL2 geni , interlökin-1-beta ile in vitro tedaviden sonra monosit kemotaktik protein-1 (MCP) ekspresyon seviyelerini kontrol eder(Rovin, Lu, & Saxena, 1999). Araştırma çalışmaları, birinci trimester hipertermisinin spina bifidada iki kat artışla ilişkili olduğunu göstermiştir (Chambers, Johnson, Dick, Felix, & Jones, 1998). Bu nedenle, enflamasyon ve yüksek vücut ısısı, özellikle kemokinler gibi moleküller tarafından yapılan sinyaller, spina bifidaya neden olabilir. Jensen ve ark. CCL2 A(-2518)G promotörünün polimorfizminin spina bifida ile ilişkili olduğunu bulmuş ve bunun alellerin enfeksiyona karşı daha az yoğun sistemik ve lokal tepkisinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir(Hassan et al., 2022; Jensen, Etheredge, Brown, Mitchell, & Whitehead, 2006) .

Ayrıca, bir TBXT mutant geni, spesifik olarak transmisyon alel varyantı TIVS7-2 de meningo-myelosele ile ilişkilendirilmiştir(Morrison et al., 1996). TBXT, T geni tarafından kodlanır ve omurgalılarda arka mezodermin oluşumu, farklılaşması ve aksel gelişim için hayati öneme sahiptir. Daha ileri çalışmalar, mutant TIVS7-2'nin artmış SB riski ile ilişkili olduğunu gösterse de, patolojik mekanizma belirsizliğini koruyor (Jensen et al., 2004).

Folat takviyesinin insanlarda NTD'leri %70'e kadar önlediği gösterildiğinden, homosistein-folat metabolizmasında yer alan enzimlerin gen mutasyonları da insanlarda kapsamlı bir şekilde incelenmiştir(Blencowe, Cousens, Modell, & Lawn, 2010; Rosenthal et al., 2014). Bu metabolik enzimler, metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), metiyonin sentaz (MS), kobalamin koenzim sentezi ve sistatyonin b-sentazı (CBS) içerir. MTHFR1 genindeki SNP R653Q polimorfizmi, İrlanda ve İtalya popülasyonlarındaki NTD'lerde gözlenmiştir(Brody et al., 2002; De Marco et al., 2006; Parle-McDermott et al., 2006). Diğer çalışmalar, MTHFR 677 CT değişimi ile birlikte MTHFR 1298 AC'nin spina bifida riskini artırdığını göstermiştir (Akar, Akar, Deda, & Arsan, 2000). MS ve 5-Metiltetrahidrofolat-Homosistein Metiltransferaz Redüktaz (MTRR) polimorfizminde de benzer etkiler gözlenmiştir. Doolin ve ark. MS 2756A-G polimorfizmi ve MTRR 66A-G polimorfizmindeki varyantların, maternal genotipe göre spina bifida riskini artırdığı sonucuna varmıştır (Doolin et al., 2002). Genetik-besin etkileşimi de dikkate alınmıştır. Christensen ve ark. MTHFR polimorfizmi ve düşük folat durumunun kombine olarak NTD'ler için her iki değişkenin tek başına olduğundan daha büyük bir risk ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Christensen

et al., 1999). Ayrıca MTRR genindeki 66A-G polimorfizminin anne ve çocuklarda düşük serum B12 seviyeleri ile birleştiğinde spina bifida riskini artırdığı gösterilmiştir (Wilson et al., 1999) .

Yeni nesil tam ekzom dizilimi (NGS), daha önce insanlarda SB'de yer almayan yeni aday genlerdeki varyantların tanımlanmasına izin verdi. NGS yoluyla, SHROOM3 , PAX3 , GRHL3 ve MYO1E genlerinin fonksiyon kaybı de novo varyantları NTD'lerin gelişimi ile bağlantılıdır; önerdikleri mekanizmalar, proteini kesen varyantın ve transkripsiyon faktörü kusurlarının oluşumunu içerir (Lemay et al., 2017; Lemay et al., 2019; Lemay et al., 2015). Son zamanlarda, RXR γ , DTX1 ve COL15A1 genlerindeki nadir ve yeni de novo varyantlar ve X'e bağlı resesif varyantlar ARHGAP36 , TKTL1AMOT , GPR50 ve NKRF'nin de NTD'lere katkıda bulunduğu bulunmuştur (Azzarà et al., 2021). Ayrıca, ekzom dizilimi ile, PCP yolunun genlerini SB ve kraniorakşizis gelişimine bağlayan daha fazla kanıt vardır. Tanımlanan genler CELSR1 , PRICKLE1 , FZD6 , SCRIB , PTK7 , VANGL1 ve yeni genler FREM2 ve DISP2'yi içerir(Beaumont et al., 2019; Lei & Finnell, 2016; Lei et al., 2019; Lei et al., 2013; Robinson et al., 2012). NTD'lerin genetik karmaşıklıkları ve omnigenik doğası nedeniyle, klinik açıdan önemli genetik hedefler kişiden kişiye değişiklik gösterecektir. Bu nedenle, genom dizilimi, NTD'lerdeki genetik etkilerin ve SB için hassas tıbbın daha iyi anlaşılmasına yönelik çok önemli bir adımdır.

2.1.1 Düzlemsel (Plenar) Hücre Polaritesi ve Yakınsak Uzatma (Convergent Extention (CE))

Düzlemsel (Plenar) hücre polaritesi (PCP), hücrelerin bir epitel düzlemi içinde tekdüze oryantasyonla geliştiği bir süreçtir [249]. PCP yolu standart olmayan bir Wnt yoludur [225 , 250 – 252]. Wnt11 ve Wnt5a gibi çeşitli Wnt moleküllerinin PCP yolunda rol oynadığı bilinmektedir [250 , 253].

PCP sinyalinin, örneğin hücreyel çıkıntı, hücre-hücre adezyonu ve hücre-matriks adezyonu gibi hücre iskeleti aktivitesi için birincil olarak gerekli olduğu ileri sürülmüştür (Keller, 2002). Deri gelişimi, vücut kılı oryantasyonu, iç kulaktaki duyu epitelinin polarizasyonu ve gastrulasyon sırasında mezenkimal hücre popülasyonlarının yönlendirilmiş hareketi, omurgalılarda uygun PCP sinyalleme gerektiren süreçler arasındadır (Dabdoub et al., 2003; Goodrich & Strutt, 2011; Keller, 2002; Wallingford, Fraser, & Harland, 2002).

Omurgalılarda, CE için PCP yolunun işlevi gerekli görünmektedir. Lamellipodia, CE'yi yönlendirdiği gösterilen hücre tipi olmuştur. Bu geniş tabaka benzeri çıkıntılar, mediolateral interkalasyona neden olan bitişik mezodermal hücreler üzerinde çekiş uygular (Harrington, Hong, & Brewster, 2009; Lowery & Sive, 2004; Shih & Keller, 1992). PCP sinyali, hücre-içi PCP bileşenlerini asimetrik olarak yeniden dağıtarak bu hücrelerin polarizasyonuna neden olan hücre iskeleti organizasyonunun düzenlenmesine neden olur (Klein & Mlodzik, 2005). Ayrıca, sinyal kaskadının bileşenleri lamellipodia'da birleşir veya asimetrik olarak ifade edilir (Mohd-Zin, Marwan, Abou Chaar, Ahmad-Annur, & Abdul-Aziz, 2017).

CE olarak bilinen bu net hücre hareketinde yer alan genler arasında, PCP davranışını kontrol eden 2 asimetrik moleküler sistem, "çekirdek" genler ve "Fat-Dachsous" PCP sistemi bulunmaktadır (Mohd-Zin et al., 2017). "Çekirdek" genler, çok geçişli transmembran proteinlerini oluşturur: Frizzled (Fzd-3, -6 ve -7), Van Gogh (Vangl-1 ve -2), Flamingo (Celsr-1, -2 ve -3) ve sitozolik bileşenler, Disheveled (Dvl-1, -2 ve -3), Diego (Inversin) ve Prickle (Pk-1 ve -2) (Vladar, Antic, & Axelrod, 2009). Fat-Dachsous (Ft-Ds) yolu, ligandı olarak görev yapan büyük protokadherinler Ft ve Ds'yi ve Golgi'de yerleşik bir transmembran kinaz olarak Four-jointed (Fj)'i içerir (Matis & Axelrod, 2013). PCP sisteminin aşağısında PPE (Planar Polarity Effector) genleri bulunur: Inturned (In), Fritz (Frtz) ve Fuzzy (Fy). Multiple Wing Hairs (mwh), düzenleyiciler olarak Wnt4, Wnt5a, Wnt7a ve Wnt11 ile hem PCP hem de PPE'nin aşağı akışında (downstream) rol alır (Mohd-Zin et al., 2017).

Celsr-1'deki mutasyonlar, Crash faresinde kraniorachischisis'e neden olur. Dvl-1/Dvl-2, Dvl-2/Dvl-3, Dvl-2/Vangl-2 ve Fzd-3/Fzd-6 çift nakavt fareler ayrıca ciddi NTD formlarına sahiptir, özellikle kranioraşizis ve eksensefali. Vangl-1 ve Vangl-2 bileşik heterozigot, kranioraşizis sergiler. Çekirdek olmayan PCP genleri ayrıca Protein Tirozin Kinaz 7 (PTK7), Scribbled PCP proteini, daire kuyruklu fare fenotipinden sorumlu gen, Scrib ve Beta-Catenin 1'in Dağılık Bağlanma Antagonisti (Dact-1) dahil fare mutantlarında ciddi NTD sergiler. Bu genlerin tümü, PCP yolunda yer almıştır. Yakınsak uzantının başarısızlığı, açık bir nöraksis (orta beyinden alt omurgaya kadar tüm nöral tüp açıkta kalır) ve daha yaygın olarak kranioraşizis ile sonuçlanır (Mohd-Zin et al., 2017).

2.2 Maternal Faktörler

Maternal diyabet ve obezitenin her ikisi de NTD'ler için artan bir riskle ilişkilendirilmiştir (Anderson et al., 2005; Hendricks, Nuno, Suarez, & Larsen, 2001). Hiperglisemi ve hiperinsülineminin teratojenik etkilerinin, nöral plakanın nöroepitelyumunda artan hücre ölümüne katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Yazdy, Mitchell, Liu, & Werler, 2011). Diyabet ve obezite olan anneler için sırasıyla 2 ila 10 ve 1,5 ila 3,5 kat risk artışı vardır; annenin vücut kitle indeksi arttıkça risk de artıyor gibi görünmektedir (Avagliano et al., 2019). Ayrıca, bu risk sadece tip 2 diyabetli (insüline dirençli) çocuklarında değil, aynı zamanda tip 1 diyabetli (insüline bağımlı) annelerin çocuklarında da mevcuttur; doğum öncesi danışmanlık ve bakım bu popülasyonda çok önemlidir (Evers, de Valk, & Visser, 2004; Taylor & Davison, 2007). Ek olarak, annenin yetersiz beslenme durumu NTD riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir; folat, çinko ve B12 eksikliklerinin tümü ilgili risk faktörleridir; ancak folat eksikliği en fazla desteğe sahiptir (Ray & Blom, 2003; Velie et al., 1999). Alkol ve kafein kullanımı da potansiyel risk faktörleriydi. Yukarıda belirtildiği gibi, ister ateş ister çevresel faktörlerden olsun, maternal hiperterminin gelişmekte olan embriyo üzerinde teratojenik bir etkiye sahip olduğu varsayılmıştır (Hassan et al., 2022). Moretti ve diğerleri tarafından sistematik bir inceleme ve meta-analiz yapmış, matemat hipertermiden etkilenen gebeliklerde NTD'ler için 1.92 (%95 CI = 1.61-2.29) gibi önemli ölçüde artmış olasılık oranı bulmuşlardır. Isı kaynağı anne ateşinden saunaya ve hatta egzersize kadar değişse de, artan riskin sabit kaldığı görülmüştür (Moretti, Bar-Oz, Fried, & Koren, 2005).

2.2.1 Gebelikte Kullanılan İlaçlar

NTD'lerden sorumlu en iyi bilinen ilaç, bir antiepileptik ilaç (AED) olan valproattır (valproik asit). Bu ilk olarak, nöbet bozukluğu nedeniyle valproat ile tedavi edilen kadınlarla bu gebeliklerde spina bifida oluşumu arasındaki ilişkiyi fark eden Robert ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (Robert & Guibaud, 1982). Mekanizmanın, protein asetilasyon ve deasetilasyon dengesini bozarak nörolasyon başarısızlığına yol açan bir histon deasetilaz inhibitörü olarak valproatın etkisine ikincil olduğu düşünülmektedir. Bunun mekanizmasının Wnt sinyal yolundaki bir bozulmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ek çalışmalar, diğer AEI'leri (karbamazepin, fenitoin ve lamotrijin) araştırmış ve

valproatın gelişmekte olan fetüs için en ciddi risk profiline sahip olmaya devam ettiğini bulmuştur; risk doza bağımlı gibi görünmektedir ve mümkünse valproattan kaçınılması, aksi takdirde dozunu sınırlandırılması tavsiye edilmektedir (Hassan et al., 2022).

2.3 Folat Metabolizmasının Etkileri

Folatlar, esas olarak meyvelerde ve yeşil yapraklı sebzelerde bulunan, suda çözünen temel vitaminlerin bir sınıfını ifade eden folik asit bileşikleridir(Naderi & House, 2018). Folik asit, kimyasal kararlılığı nedeniyle çoğunlukla farmasötiklerde ve diyet takviyelerinde kullanılan sentetik bir bileşiktir. “Folat” şemsiye terimi, ister doğal ister sentetik olsun, tüm bu bileşikler ifade eder. Folik asit (pteroilglutamat), folatın en oksitlenmiş şeklidir ve biyolojik olarak aktif olabilmesi için indirgenmesi gerekir. Bu işlem, aynı enzim (dihidrofolat redüktaz) aracılığıyla, önce dihidrofolata, ardından aktif formu olan tetrahidrofolata olmak üzere iki adımda gerçekleşir. Tüm proliferatif hücreler folatı bu şekilde kullanır(Naderi & House, 2018). Tek bir karbon biriminin eklenmesi ve indirgeme adımları, plazmada bulunan baskın form olan 5-metiltetrahidrofolatı (5-MTHF) üretir (Hassan et al., 2022).

Folat takviyesinin NTD'leri nasıl kurtardığına dair kesin mekanizma belirsizdir, ancak bir hipotez, nöral plak ve nöral kıvrımın nöroepitelyumundaki hücre büyümesindeki bir bozukluğu düzeltme yeteneği etrafında odaklanmaktadır. Nöroepitelyumun büyüme hızı göz önüne alındığında, bu büyümeyi kolaylaştırmak için karşılanması gereken yüksek oranda nükleik asit sentezi vardır. Folatın aktif formu olan 5-MTHF, nükleik asit sentezinde kritik bir bileşendir ve tetrahidrofolatın glisin parçalama sistemi (GCS) aracılığıyla 5-MTHF'ye dönüştürülmesiyle üretilir. GCS, en belirgin glisin ve serin katabolik yollarının bir parçası olan ve birkaç C1'den biri olan 5-MTHF'nin oluşumunu sağlayan bir dizi enzimdir.omurgalı biyosentezinde donörler; aynı zamanda nöroepitelyumda yüksek oranda ekspresye edilir (Beaudin & Stover, 2009; Ichinohe et al., 2004). Folatın metabolizmadaki birincil işlevlerinden biri, tek karbon gruplarını taşımaktır. Bu karbon grubu değişimleri, DNA sentezi ve DNA ve RNA modifikasyonu dahil olmak üzere bir dizi biyosentetik molekülün ve işlemin modifikasyonu veya biyosentezi için kullanılır; folat, tek karbonlu birimlerin vericisi veya alıcısı olarak hareket eder ve bu süreçlerde yer alan bir koenzim olarak işlev görür. Bu reaksiyonlar, sitozol, çekirdek ve

mitokondri arasındaki birbirine bağlı yollar yoluyla meydana gelen folat aracılı tek karbon metabolizması olarak kategorize edilir (Lan, Field, & Stover, 2018).

Memelilerde folat, plazmadan (5-MTHF olarak) folat reseptörleri tarafından endositoz yoluyla sitozole alınır. Hücreye girdikten sonra, bu folat formunun hücreden ayrılmasını önleyen ilave glutamat kalıntıları eklenir (poliglutamasyon) . Folatın nöroepitelyal ve nöral krest hücrelerine taşınmasında yer alan bir proteini kodlamaktan sorumlu bir gen olan FOLR1 , murin modelinde incelenmiştir; proteinin kendisi öncelikle koroid pleksus, böbrek, yumurtalıklar ve plasentanın epitel hücrelerinde ifade edilir. FOLR1'in fonksiyonel inaktivasyonu ortamında kafatası, nöral tüp ve kalp dokusundaki kusurlar not edildi (Piedrahita et al., 1999; Taparia, Gelineau-van Waes, Rosenquist, & Finnell, 2007). Bununla birlikte, bu kusurlar, heterozigot embriyolar folat ile takviye edildiğinde kurtarıldı, ancak 5-MTHF'yi alma yeteneğinin azalması, ilave folat sağlanarak yerine konulabilir (Zhao et al., 2001).

Ek olarak, folat takviyesinin, DNA metilasyonu gibi epigenetik süreçlerin modülasyonu yoluyla NTD'leri önlediği düşünülmektedir. Metilasyonun rolü, erken embriyogenez sırasında ortaya çıkan yoğun kromatin metilasyonu dikkate alındığında özellikle önemlidir (Borgel et al., 2010). Metilasyon döngüsündeki bozulmalar, değişen S-adenosilmetionin ve S-adenosilhomosistein seviyelerine yol açabilir. Metilasyon döngüsünde, S-adenosilmetionin anahtar metil grubu donörüdür; S-adenosilhomosistein, S-adenosilmetiyoninden bir metil grubunun kaybıyla üretilir (Hassan et al., 2022; Selhub, 1999). Yüksek S-adenosilhomosistein seviyeleri, metiltransferazların güçlü bir inhibitörüdür ve homosisteine dönüşüm yoluyla temizlenir. S-adenosilmetiyonin ve S-adenosilhomosistein oranı S-adenosilmetiyonin'e doğru itilirse, hücre artık sürekli metilasyon için hazırlanmaz (Blom et al., 2006). Linden ve ark. metilasyon inhibitörleri ile tedavi edildiğinde civciv embriyolarında ön nöroporun genişlediğini göstermiştir (van der Linden et al., 2008). Toriyama ve meslektaşları, metilasyon bozulmasının normal nöral tüp kapanmasını da tehlikeye attığını ve nöral tüpün kapanmasında yer alan önemli bir hücre iskeleti süreci olan ciliogenesis'teki işlev bozukluğu ile ilişkili olabileceğini gösterdi (Toriyama, Toriyama, Wallingford, & Finnell, 2017). Metilasyon girişiminin nöralasyon ve ek yollar üzerindeki etkileri halen araştırılmaktadır.

Belirtildiği gibi, 1-karbon parçalarının transferleri, homosistein gibi temizlenmesi gereken metabolik yan ürünlerle sonuçlanır. Steegers-Theunissen ve ark. önceki gebelikleri NTD'lerden etkilenen bir grup kadında, normal folat seviyelerine rağmen yüksek homosistein plazma konsantrasyonlarına sahip olduğunu göstermiştir, bu belki de homosistein seviyelerinin disfonksiyonel folat metabolizmasının bir belirteci olduğunu göstermektedir(Brouwer et al., 2000). Metilentetrahidrofolat redüktaz genindeki spesifik bir mutasyon, C677 T, yüksek plazma homosistein konsantrasyonlarının bilinen bir nedenidir; bu polimorfizmin NTD'li yavruların annelerinde kontrollere göre daha sık görüldüğü görülmüştür(Kirke et al., 2004). Homosisteinin rolünü daha da açıklığa kavuşturmak için Yang ve ark. sistematik bir inceleme ve meta-analiz gerçekleştirdi; NTD'lerden etkilenen yavruları olan annelerde anne plazmasında biraz daha yüksek bir homosistein düzeyi kaydettiler. Bununla birlikte, kan örnekleme zamanının heterojenliğinin yanı sıra folat takviyesinin varlığı veya yokluğunun hesaba katılması gereken karıştırıcı unsurlar olduğunu belirtmişlerdir (Yang, Li, Wan, & Du, 2017). Homosistein metabolizmasının NTD oluşumuna gerçek bağlı katkısı devam etmektedir ve daha fazla çalışma garanti edilmektedir.

Çevresel faktörler de SB'nin gelişiminde önemli bir rol oynar. Anne sigara içme, alkol tüketimi, folik asit eksikliği, bazı ilaçların kullanımı, yüksek vücut sıcaklığı, radyasyon maruziyeti ve enfeksiyonlar gibi faktörler SB riskini artırabilir. Özellikle, folik asit eksikliği SB riskini önemli ölçüde artırır ve bu nedenle hamile kadınlara folik asit takviyesi önerilir(Moretti et al., 2005; Padmanabhan, 2006; Ray & Blom, 2003; Robert & Guibaud, 1982; Velie et al., 1999; Yazdy et al., 2011).

SB'nin gelişimindeki bu genetik ve çevresel faktörlerin karmaşıklığı nedeniyle, SB'nin tam olarak anlaşılması ve etkili önleme ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Genomik çalışmalar, SB ile ilişkili genetik varyantların daha iyi tanımlanmasına ve SB'nin moleküler mekanizmalarının anlaşılmasına katkıda bulunabilir. Ayrıca, çevresel faktörlerin SB riski üzerindeki etkilerini daha iyi anlamak ve bu risk faktörlerini minimize etmek önemlidir. Bu çalışmaların sonuçları, SB'nin önlenmesi, tanısı ve tedavisi için daha etkili stratejilerin geliştirilmesine yardımcı olabilir.

Sonuç olarak, spina bifida gelişiminde genetik ve çevresel faktörlerin karmaşık bir etkileşimi olduğu görülmektedir. Birden fazla genin ve çevresel etkenlerin bir araya gelmesiyle spina bifida riski artar. Bu bilgiler, spina bifida önleme ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde yardımcı olabilir. Ancak, spina bifida'nın tam olarak anlaşılması ve etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Akar, N., Akar, E., Deda, G., & Arsan, S. (2000). Spina bifida and common mutations at the homocysteine metabolism pathway. *Clin Genet*, 57(3), 230-231. doi:10.1034/j.1399-0004.2000.570310.x
- Anderson, J. L., Waller, D. K., Canfield, M. A., Shaw, G. M., Watkins, M. L., & Werler, M. M. (2005). Maternal obesity, gestational diabetes, and central nervous system birth defects. *Epidemiology*, 16(1), 87-92. doi:10.1097/01.ede.0000147122.97061.bb
- Avagliano, L., Massa, V., George, T. M., Qureshy, S., Bulfamante, G. P., & Finnell, R. H. (2019). Overview on neural tube defects: From development to physical characteristics. *Birth Defects Research*, 111(19), 1455-1467. doi:https://doi.org/10.1002/bdr2.1380
- Azzarà, A., Rendeli, C., Crivello, A. M., Brugnoletti, F., Rumore, R., Ausili, E., . . . Gurrieri, F. (2021). Identification of new candidate genes for spina bifida through exome sequencing. *Childs Nerv Syst*, 37(8), 2589-2596. doi:10.1007/s00381-021-05153-4
- Bartsch, O., Kirmes, I., Thiede, A., Lechno, S., Gocan, H., Florian, I. S., . . . Horn, F. (2012). Novel VANGL1 Gene Mutations in 144 Slovakian, Romanian and German Patients with Neural Tube Defects. *Mol Syndromol*, 3(2), 76-81. doi:10.1159/000339668
- Beaudin, A. E., & Stover, P. J. (2009). Insights into metabolic mechanisms underlying folate-responsive neural tube defects: a minireview. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 85(4), 274-284. doi:10.1002/bdra.20553
- Beaumont, M., Akloul, L., Carré, W., Quélin, C., Journal, H., Pasquier, L., . . . David, V. (2019). Targeted panel sequencing establishes the implication of planar cell polarity pathway and involves new candidate genes in neural tube defect disorders. *Hum Genet*, 138(4), 363-374. doi:10.1007/s00439-019-01993-y
- Blencowe, H., Cousens, S., Modell, B., & Lawn, J. (2010). Folic acid to reduce neonatal mortality from neural tube disorders. *Int J Epidemiol*, 39 Suppl 1(Suppl 1), i110-121. doi:10.1093/ije/dyq028

- Blom, H. J., Shaw, G. M., den Heijer, M., & Finnell, R. H. (2006). Neural tube defects and folate: case far from closed. *Nat Rev Neurosci*, 7(9), 724-731. doi:10.1038/nrn1986
- Borgel, J., Guibert, S., Li, Y., Chiba, H., Schübeler, D., Sasaki, H., . . . Weber, M. (2010). Targets and dynamics of promoter DNA methylation during early mouse development. *Nat Genet*, 42(12), 1093-1100. doi:10.1038/ng.708
- Boyle, E. A., Li, Y. I., & Pritchard, J. K. (2017). An Expanded View of Complex Traits: From Polygenic to Omnigenic. *Cell*, 169(7), 1177-1186. doi:10.1016/j.cell.2017.05.038
- Brody, L. C., Conley, M., Cox, C., Kirke, P. N., McKeever, M. P., Mills, J. L., . . . Swanson, D. A. (2002). A polymorphism, R653Q, in the trifunctional enzyme methylenetetrahydrofolate dehydrogenase/methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase/formyltetrahydrofolate synthetase is a maternal genetic risk factor for neural tube defects: report of the Birth Defects Research Group. *Am J Hum Genet*, 71(5), 1207-1215. doi:10.1086/344213
- Brouwer, I. A., van Dusseldorp, M., Thomas, C. M., van der Put, N. M., Gaytant, M. A., Eskes, T. K., . . . Steegers-Theunissen, R. P. (2000). Homocysteine metabolism and effects of folic acid supplementation in patients affected with spina bifida. *Neuropediatrics*, 31(6), 298-302. doi:10.1055/s-2000-12953
- Chambers, C. D., Johnson, K. A., Dick, L. M., Felix, R. J., & Jones, K. L. (1998). Maternal fever and birth outcome: a prospective study. *Teratology*, 58(6), 251-257. doi:10.1002/(sici)1096-9926(199812)58:6<251::Aid-tera6>3.0.Co;2-1
- Christensen, B., Arbour, L., Tran, P., Leclerc, D., Sabbaghian, N., Platt, R., . . . Rozen, R. (1999). Genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase, folate levels in red blood cells, and risk of neural tube defects. *Am J Med Genet*, 84(2), 151-157. doi:10.1002/(sici)1096-8628(19990521)84:2<151::aid-ajmg12>3.0.co;2-t
- Copp, A. J. (2005). Neurulation in the cranial region--normal and abnormal. *J Anat*, 207(5), 623-635. doi:10.1111/j.1469-7580.2005.00476.x

- Dabdoub, A., Donohue, M. J., Brennan, A., Wolf, V., Montcouquiol, M., Sassoon, D. A., . . . Kelley, M. W. (2003). Wnt signaling mediates reorientation of outer hair cell stereociliary bundles in the mammalian cochlea.
- De Marco, P., Merello, E., Calevo, M. G., Mascelli, S., Raso, A., Cama, A., & Capra, V. (2006). Evaluation of a methylenetetrahydrofolate-dehydrogenase 1958G>A polymorphism for neural tube defect risk. *J Hum Genet*, 51(2), 98-103. doi:10.1007/s10038-005-0329-6
- Detrait, E. R., George, T. M., Etchevers, H. C., Gilbert, J. R., Vekemans, M., & Speer, M. C. (2005). Human neural tube defects: developmental biology, epidemiology, and genetics. *Neurotoxicol Teratol*, 27(3), 515-524. doi:10.1016/j.ntt.2004.12.007
- Doolin, M. T., Barbaux, S., McDonnell, M., Hoess, K., Whitehead, A. S., & Mitchell, L. E. (2002). Maternal genetic effects, exerted by genes involved in homocysteine remethylation, influence the risk of spina bifida. *Am J Hum Genet*, 71(5), 1222-1226. doi:10.1086/344209
- Evers, I. M., de Valk, H. W., & Visser, G. H. (2004). Risk of complications of pregnancy in women with type 1 diabetes: nationwide prospective study in the Netherlands. *Bmj*, 328(7445), 915. doi:10.1136/bmj.38043.583160.EE
- Goodrich, L. V., & Strutt, D. (2011). Principles of planar polarity in animal development. *Development*, 138(10), 1877-1892.
- Harrington, M. J., Hong, E., & Brewster, R. (2009). Comparative analysis of neurulation: first impressions do not count. *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*, 76(10), 954-965.
- Harris, M. J., & Juriloff, D. M. (2010). An update to the list of mouse mutants with neural tube closure defects and advances toward a complete genetic perspective of neural tube closure. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 88(8), 653-669. doi:10.1002/bdra.20676
- Hassan, A. S., Du, Y. L., Lee, S. Y., Wang, A., & Farmer, D. L. (2022). Spina Bifida: A Review of the Genetics, Pathophysiology and Emerging Cellular Therapies. *J Dev Biol*, 10(2). doi:10.3390/jdb10020022
- Hendricks, K. A., Nuno, O. M., Suarez, L., & Larsen, R. (2001). Effects of hyperinsulinemia and obesity on risk of neural tube defects among

- Mexican Americans. *Epidemiology*, 12(6), 630-635. doi:10.1097/00001648-200111000-00009
- Ichinohe, A., Kure, S., Mikawa, S., Ueki, T., Kojima, K., Fujiwara, K., . . . Sato, K. (2004). Glycine cleavage system in neurogenic regions. *Eur J Neurosci*, 19(9), 2365-2370. doi:10.1111/j.0953-816X.2004.03345.x
- Jensen, L. E., Barbaux, S., Hoess, K., Fraterman, S., Whitehead, A. S., & Mitchell, L. E. (2004). The human T locus and spina bifida risk. *Hum Genet*, 115(6), 475-482. doi:10.1007/s00439-004-1185-8
- Jensen, L. E., Etheredge, A. J., Brown, K. S., Mitchell, L. E., & Whitehead, A. S. (2006). Maternal genotype for the monocyte chemoattractant protein 1 A(-2518)G promoter polymorphism is associated with the risk of spina bifida in offspring. *Am J Med Genet A*, 140(10), 1114-1118. doi:10.1002/ajmg.a.31212
- Keller, R. (2002). Shaping the vertebrate body plan by polarized embryonic cell movements. *Science*, 298(5600), 1950-1954.
- Kibar, Z., Torban, E., McDearmid, J. R., Reynolds, A., Berghout, J., Mathieu, M., . . . Gros, P. (2007). Mutations in VANGL1 associated with neural-tube defects. *N Engl J Med*, 356(14), 1432-1437. doi:10.1056/NEJMoa060651
- Kim, K. H., Lee, J. Y., & Wang, K. C. (2020). Secondary Neurulation Defects-1 : Retained Medullary Cord. *J Korean Neurosurg Soc*, 63(3), 314-320. doi:10.3340/jkns.2020.0052
- Kirke, P. N., Mills, J. L., Molloy, A. M., Brody, L. C., O'Leary, V. B., Daly, L., . . . Scott, J. M. (2004). Impact of the MTHFR C677T polymorphism on risk of neural tube defects: case-control study. *Bmj*, 328(7455), 1535-1536. doi:10.1136/bmj.38036.646030.EE
- Klein, T. J., & Mlodzik, M. (2005). Planar cell polarization: an emerging model points in the right direction. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 21, 155-176.
- Lan, X., Field, M. S., & Stover, P. J. (2018). Cell cycle regulation of folate-mediated one-carbon metabolism. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 10(6), e1426. doi:10.1002/wsbm.1426
- Lei, Y., & Finnell, R. H. (2016). New Techniques for the Study of Neural Tube Defects. *Adv Tech Biol Med*, 4(1). doi:10.4172/2379-1764.1000157

- Lei, Y., Kim, S. E., Chen, Z., Cao, X., Zhu, H., Yang, W., . . . Finnell, R. H. (2019). Variants identified in PTK7 associated with neural tube defects. *Mol Genet Genomic Med*, 7(4), e00584. doi:10.1002/mgg3.584
- Lei, Y., Zhu, H., Duhon, C., Yang, W., Ross, M. E., Shaw, G. M., & Finnell, R. H. (2013). Mutations in planar cell polarity gene SCRIB are associated with spina bifida. *PLoS One*, 8(7), e69262. doi:10.1371/journal.pone.0069262
- Lei, Y., Zhu, H., Yang, W., Ross, M. E., Shaw, G. M., & Finnell, R. H. (2014). Identification of novel CELSR1 mutations in spina bifida. *PLoS One*, 9(3), e92207. doi:10.1371/journal.pone.0092207
- Lemay, P., De Marco, P., Emond, A., Spiegelman, D., Dionne-Laporte, A., Laurent, S., . . . Kibar, Z. (2017). Rare deleterious variants in GRHL3 are associated with human spina bifida. *Hum Mutat*, 38(6), 716-724. doi:10.1002/humu.23214
- Lemay, P., De Marco, P., Traverso, M., Merello, E., Dionne-Laporte, A., Spiegelman, D., . . . Capra, V. (2019). Whole exome sequencing identifies novel predisposing genes in neural tube defects. *Mol Genet Genomic Med*, 7(1), e00467. doi:10.1002/mgg3.467
- Lemay, P., Guyot, M. C., Tremblay, É., Dionne-Laporte, A., Spiegelman, D., Henrion, É., . . . Kibar, Z. (2015). Loss-of-function de novo mutations play an important role in severe human neural tube defects. *J Med Genet*, 52(7), 493-497. doi:10.1136/jmedgenet-2015-103027
- Lowery, L. A., & Sive, H. (2004). Strategies of vertebrate neurulation and a re-evaluation of teleost neural tube formation. *Mechanisms of development*, 121(10), 1189-1197.
- Matis, M., & Axelrod, J. D. (2013). Regulation of PCP by the Fat signaling pathway. *Genes & development*, 27(20), 2207-2220.
- Mitchell, L. E., Adzick, N. S., Melchionne, J., Pasquariello, P. S., Sutton, L. N., & Whitehead, A. S. (2004). Spina bifida. *Lancet*, 364(9448), 1885-1895. doi:10.1016/s0140-6736(04)17445-x
- Mohd-Zin, S. W., Marwan, A. I., Abou Char, M. K., Ahmad-Annuar, A., & Abdul-Aziz, N. M. (2017). Spina Bifida: Pathogenesis, Mechanisms, and Genes in Mice and Humans. *Scientifica*, 2017, 5364827. doi:10.1155/2017/5364827

- Moretti, M. E., Bar-Oz, B., Fried, S., & Koren, G. (2005). Maternal hyperthermia and the risk for neural tube defects in offspring: systematic review and meta-analysis. *Epidemiology*, 16(2), 216-219. doi:10.1097/01.ede.0000152903.55579.15
- Morrison, K., Papapetrou, C., Attwood, J., Hol, F., Lynch, S. A., Sampath, A., . . . Edwards, Y. H. (1996). Genetic mapping of the human homologue (T) of mouse T(Brachyury) and a search for allele association between human T and spina bifida. *Hum Mol Genet*, 5(5), 669-674. doi:10.1093/hmg/5.5.669
- Naderi, N., & House, J. D. (2018). Recent Developments in Folate Nutrition. *Adv Food Nutr Res*, 83, 195-213. doi:10.1016/bs.afnr.2017.12.006
- O'Rahilly, R., & Müller, F. (2002). The two sites of fusion of the neural folds and the two neuropores in the human embryo. *Teratology*, 65(4), 162-170. doi:10.1002/tera.10007
- Padmanabhan, R. (2006). Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects. *Congenit Anom (Kyoto)*, 46(2), 55-67. doi:10.1111/j.1741-4520.2006.00104.x
- Pang, D., Zovickian, J., & Moes, G. S. (2011). Retained medullary cord in humans: late arrest of secondary neurulation. *Neurosurgery*, 68(6), 1500-1519; discussion 1519. doi:10.1227/NEU.0b013e31820ee282
- Parle-McDermott, A., Kirke, P. N., Mills, J. L., Molloy, A. M., Cox, C., O'Leary, V. B., . . . Scott, J. M. (2006). Confirmation of the R653Q polymorphism of the trifunctional C1-synthase enzyme as a maternal risk for neural tube defects in the Irish population. *Eur J Hum Genet*, 14(6), 768-772. doi:10.1038/sj.ejhg.5201603
- Piedrahita, J. A., Oetama, B., Bennett, G. D., van Waes, J., Kamen, B. A., Richardson, J., . . . Finnell, R. H. (1999). Mice lacking the folic acid-binding protein Folbp1 are defective in early embryonic development. *Nat Genet*, 23(2), 228-232. doi:10.1038/13861
- Ray, J. G., & Blom, H. J. (2003). Vitamin B12 insufficiency and the risk of fetal neural tube defects. *Qjm*, 96(4), 289-295. doi:10.1093/qjmed/hcg043
- Robert, E., & Guibaud, P. (1982). Maternal valproic acid and congenital neural tube defects. *Lancet*, 2(8304), 937. doi:10.1016/s0140-6736(82)90908-4

- Robinson, A., Escuin, S., Doudney, K., Vekemans, M., Stevenson, R. E., Greene, N. D., . . . Stanier, P. (2012). Mutations in the planar cell polarity genes CELSR1 and SCRIB are associated with the severe neural tube defect craniorachischisis. *Hum Mutat*, 33(2), 440-447. doi:10.1002/humu.21662
- Rosenthal, J., Casas, J., Taren, D., Alverson, C. J., Flores, A., & Frias, J. (2014). Neural tube defects in Latin America and the impact of fortification: a literature review. *Public Health Nutr*, 17(3), 537-550. doi:10.1017/s1368980013000256
- Rovin, B. H., Lu, L., & Saxena, R. (1999). A novel polymorphism in the MCP-1 gene regulatory region that influences MCP-1 expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 259(2), 344-348. doi:10.1006/bbrc.1999.0796
- Schoenwolf, G. C., & Smith, J. L. (1990). Mechanisms of neurulation: traditional viewpoint and recent advances. *Development*, 109(2), 243-270. doi:10.1242/dev.109.2.243
- Selhub, J. (1999). Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr*, 19, 217-246. doi:10.1146/annurev.nutr.19.1.217
- Seo, J. H., Zilber, Y., Babayeva, S., Liu, J., Kyriakopoulos, P., De Marco, P., . . . Torban, E. (2011). Mutations in the planar cell polarity gene, Fuzzy, are associated with neural tube defects in humans. *Hum Mol Genet*, 20(22), 4324-4333. doi:10.1093/hmg/ddr359
- Shih, J., & Keller, R. (1992). Cell motility driving mediolateral intercalation in explants of *Xenopus laevis*. *Development*, 116(4), 901-914.
- Taparia, S., Gelineau-van Waes, J., Rosenquist, T. H., & Finnell, R. H. (2007). Importance of folate-homocysteine homeostasis during early embryonic development. *Clin Chem Lab Med*, 45(12), 1717-1727. doi:10.1515/cclm.2007.345
- Taylor, R., & Davison, J. M. (2007). Type 1 diabetes and pregnancy. *Bmj*, 334(7596), 742-745. doi:10.1136/bmj.39154.700417.BE
- Toriyama, M., Toriyama, M., Wallingford, J. B., & Finnell, R. H. (2017). Folate-dependent methylation of septins governs ciliogenesis during neural tube closure. *Faseb j*, 31(8), 3622-3635. doi:10.1096/fj.201700092R
- van der Linden, I. J., Heil, S. G., van Egmont Petersen, M., van Straaten, H. W., den Heijer, M., & Blom, H. J. (2008). Inhibition of methylation and

- changes in gene expression in relation to neural tube defects. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 82(10), 676-683. doi:10.1002/bdra.20509
- Velie, E. M., Block, G., Shaw, G. M., Samuels, S. J., Schaffer, D. M., & Kulldorff, M. (1999). Maternal supplemental and dietary zinc intake and the occurrence of neural tube defects in California. *Am J Epidemiol*, 150(6), 605-616. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a010059
- Vladar, E. K., Antic, D., & Axelrod, J. D. (2009). Planar cell polarity signaling: the developing cell's compass. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 1(3), a002964.
- Wallingford, J. B., Fraser, S. E., & Harland, R. M. (2002). Convergent extension: the molecular control of polarized cell movement during embryonic development. *Developmental cell*, 2(6), 695-706.
- Wilson, A., Platt, R., Wu, Q., Leclerc, D., Christensen, B., Yang, H., . . . Rozen, R. (1999). A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B12) increases risk for spina bifida. *Mol Genet Metab*, 67(4), 317-323. doi:10.1006/mgme.1999.2879
- Yamaguchi, Y., Shinotsuka, N., Nonomura, K., Takemoto, K., Kuida, K., Yosida, H., & Miura, M. (2011). Live imaging of apoptosis in a novel transgenic mouse highlights its role in neural tube closure. *J Cell Biol*, 195(6), 1047-1060. doi:10.1083/jcb.201104057
- Yang, M., Li, W., Wan, Z., & Du, Y. (2017). Elevated homocysteine levels in mothers with neural tube defects: a systematic review and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 30(17), 2051-2057. doi:10.1080/14767058.2016.1236248
- Yazdy, M. M., Mitchell, A. A., Liu, S., & Werler, M. M. (2011). Maternal dietary glycaemic intake during pregnancy and the risk of birth defects. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 25(4), 340-346. doi:10.1111/j.1365-3016.2011.01198.x
- Zhao, R., Russell, R. G., Wang, Y., Liu, L., Gao, F., Kneitz, B., . . . Goldman, I. D. (2001). Rescue of embryonic lethality in reduced folate carrier-deficient mice by maternal folic acid supplementation reveals early neonatal failure of hematopoietic organs. *J Biol Chem*, 276(13), 10224-10228. doi:10.1074/jbc.c000905200

BÖLÜM 18

SPİNA BİFİDA

Dr. Öğr. Üyesi Halil YILMAZ¹

¹Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Ana Bilim Dalı, Ordu, Türkiye.
halilyilmaz@odu.edu.tr, ORCID: 0000-0002-8234-4901

1. SPİNA BİFİDA TANIMI VE TİPLERİ

Latince de ayrıık omurga anlamına gelen spina bifida hamilelik döneminde nöral tüpün kaudalde kapanmaması sonrası meydana gelen nöral tüp defektidir. Spina bifida occulta, meningesel ve myelomeningesel olmak üzere üç tipi olduğu belirtilmekle birlikte bazı kaynaklarda buna ek olarak kapalı nöral tüp defekti diye dördüncü bir tipten bahsedilmektedir (Avagliano ve ark., 2019). Spina bifidanın genel yerleşim yeri olarak lumbal bölgelerde bulunmasına rağmen nadir görülmekle birlikte servikal veya orta torakal bölgede görülebilmektedir.

1.1. Spina Bifida Occulta

Gizli anlamına gelen ‘‘oculta’’ kelimesinden türetilmiştir. Bir veya daha fazla omurun kapanmadığı durumlarda görülmekte olup, spina bifidanın en hafif ve en yaygın görülen formudur. Genel olarak herhangi bir belirti vermez. Nörolojik değerlendirme açısından asemptomatik olduğu için röntgen grafilerinde tesadüfi olarak bulunur (<https://www.ninds.nih.gov/health-information/disorders/spina-bifida>). Omur kapanma defektinin olduğu yerde tipik olarak deride kıllanma, şişlik veya doğum lekesi gibi görülebilir. Diğer kapanma defektlerinin aksine alfa protein (AFP) düzeyinde artış görümediği için intrauterin hayatta tarama testinden kaçabilir.

1.2. Kapalı Nöral Tüp Defekti

Bu grup spina bifidada omuriliği kaplayan yağ kemik veya zarlarda malformasyon görülmektedir. Bu tip spina bifida hasarı olan çocuklara genellikle cerrahi işlem uygulanmaktadır. Spina bifidası olan bireylerde bacak kaslarında kuvvet kaybı, mesane ve bağırsak kontrolünde zayıflık görülmektedir. Yaşın ilerlemesi ile birlikte bulgularda artışlar olduğu söylenebilir. Birçok kaynakta bu tip spina bifida meningesel grubuna dahil edilir.

1.3. Meningesel

Spina bifidanın en az görülen tipi olup posterior meningesel veya meningeal kist olarak da isimlendirilir. Bu tip spina bifidada, meninksler omurlar arasındaki boşluktan dışarı doğru fitiklaşarak deri altında torba şeklinde görülür. Meninksler arasında beyin omurilik sıvısı (BOS) bulunmasına rağmen sinir dokusu bulunmaz (Brea & Munakomi, 2023)

1.4. Meningomyelose

Spina bifida tipleri arasında en ciddi nörolojik komplikasyonlara yol açan ve sınırları en fazla en fazla etkileyendir. Spinal kanalın bir kısmı fıtıklaşan kesenin içine girer. Nöral tüpün 26. güne kadar kaudalde kapanması gerekirken, bu kapanmanın tam olmaması nedeniyle BOS, omurilik veya devamındaki sinir kökleri meninksler ile birlikte kanal dışına çıkarak nöral keseyi oluşturur (Sahni ve ark., 2023). Spina bifida'nın en ağır türü olan meningomyelosede malformasyonlar sadece omurilikle sınırlı kalmayabilir. BOS'un hidrocefaliye yol açmaması için VP şant yerleştirilir. Beyincik vermesinin omurilik kanalına inmesi ile birlikte Arnold-Chiari malformasyonu görülür. Myelomeningoselli hastaların çoğunda bu deformite görülmesine rağmen vakaların 1/3'ünde semptomatik bulgu verir (Blound ve ark., 2021).

2. SPİNA BİFİDA ETYOLOJİSİ

Spina bifidanın etyolojisi tam olarak çözülememekle birlikte spina bifidalı bir bebek doğma olasılığını artıran faktörler vardır. Spina bifida için risk faktörleri: folik asit eksikliği, aile öyküsü, ilaç kullanımı, genetik şartlar, obezite ve diyabet olarak sıralanabilir (Copp ve ark., 2015).

2.1. Folik Asit Eksikliği

Hamilelik sırasında gebenin yeteri düzeyde folik asit almaması spina bifida riskini en fazla artıran etkidir. Hamilelik döneminde veya hamilelik öncesinde brokoli, bezelye kahverengi pirinç gibi besinler ile doğal yollardan folik asit alınabileceği gibi eczanelerden folik asit tabletleri de alınarak temin edilebilir. Hamilelik öncesi dönemde tablet folik asit takviyesinin oluşabilecek vakaların %70'ini engelleyebileceği tahmin edilmektedir. B9 vitamini olarak da bilinen folik asit, sinir sistemi gelişimi esnasında fetal beyin ve omurilik gelişimine katkıda bulunan en önemli çevresel faktörlerdendir (Atta ve ark., 2016).

2.2. Aile Öyküsü

Aile bireylerinden birinde spina bifida görülmesi veya daha önce spina bifidalı bir çocuk sahibi olmak, aileye yeni katılacak çocuklarda spina bifida görülme olasılığını artırmaktadır. Aile öyküsünde spina bifida varsa doktor tarafından reçete edilmesi kadesiyle gebelik öncesi ve gebelik sırasında ilk 12

hafta boyunca yüksek doz folik asit kullanmak bu risk faktörünü azaltmak için çok önemlidir (Alriksson-Schmidt ve ark., 2013).

2.3. İlaç Kullanımı

Epilepsi ve bipolar bozukluk gibi hastalıklarda kullanılan valproat ve karpomezapin içerikli ilaçların gebelik sürecinde kullanılmasının spina bifidalı çocuk sahibi olma ihtimalini artırdığı bildirilmektedir. Farelerde yapılan bir çalışmada gebeliğin 9. gününde ardışık valproat dozları verilmiş ve bu farelerin yavrularında düşük insidansla açık spina bifidanın, yüksek insidansla da spina bifidanın olduğu rapor edilmiştir. Valproatın moleküler mekanizması bilinmemekle birlikte folat mekanizması ile etkileşime girerek bu mekanizmayı inhibe edici özelliğe sahip olduğu düşünülmektedir (Nau, 1994). Farklı çalışmalarda maternal valproat kullanımının bebeklerde spina bifida riskini artırdığı başka çalışmalarla belirtilmesiyle birlikte, valproata alternatif olarak kullanılan karpomezapin de gözlem altına alınmıştır. Gebelik döneminde karbamezapin tedavisi alan 107 kadından 3 tanesinin spina bifida defekti ile doğduğu başka bir çalışmada rapor edilmiştir (Roza, 1991). Her iki ilacında spina bifida riskini % 1-2 oranına taşıdığı görülmüştür. Bu gerçeğe rağmen bazı nörologlar karbamezapin ve valproatın diğer epileptik ilaçların başarısız olduğu güçlü epilepsi hastalıklarının tedavilerinde kullanıldığını ve bu iki ilaçtan da vazgeçemeyeceğini beyan etmektedirler (Finnell ve ark., 2021).

Genetik şartlar: Nöral tüp defekti ile ilişkili genetik risk faktörleri:

- Nöral tüp defekti olan ebeveyn veya kardeş
- Trizomiler 18 ve 13
- Meckel-Gruber sendromu (böbrek kistleri, nöral tüp defektleri ve polidaktili)
- Roberts, Jarcho-Levin (Endemik olarak Porto Rico'da)
- HARD sendromu (Hidrocefali, agyria ve retinal displazi)
- VACTERAL ve VATER bağlantıları
- Diğerleri arasında X'e bağlı nöral tüp defektleri
- Normal nöral tüp oluşumunu bozan amniyotik bantlar (Sahni ve ark., 2022).

3. SPİNA BİFİDA EPİDEMİYOLOJİSİ

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) her yıl 1427 çocuk spina bifida defekti ile doğmakta, bu da her 2758 doğumdan 1 tanesinin spina bifida ile doğduğunu göstermektedir. Irksal olarak bakıldığında spina bifida defekti ile doğan çocukların en fazla Hispaniklerde (3.80/10000 canlı doğum), ikinci sırada Hispanik olmayan beyazlarda (3.09/10000 canlı doğum) en az ise siyah ırka sahip olanlarda (2.73/10000 canlı doğum) olduğu görülmektedir (<https://www.cdc.gov/ncbddd/spinabifida/data.html>).

Türkiye' de yapılan çalışmalarda her 1000 canlı doğumdan 3 tanesinin nöral tüp defekti ile doğduğunu göstermektedir. Bölgesel olarak baktığımızda en az nöral tüp defekti vakalarının Batı Anadolu'da (2.17/1000 canlı doğum), en yüksek vakaların ise Kuzey (4.32/1000 canlı doğum) ve Doğu Anadolu'da (4.54/1000 canlı doğum) olduğu görülmektedir (Tunçbilek ve ark., 2004).

Türkiye nöral tüp defekti insidansının anne eğitimine göre kategorilendirildiğinde eğitimi olmayan grupta 9.1/1000 canlı doğuma kadar yükseldiği, yüksek okul mezunu annelerin spina bifida defektli çocuk sahibi olma sıklığının da 1.9/1000 canlı doğuma kadar düştüğü görülmektedir. Yaş skalasına göre irdelendiğinde ise 35-39 yaş grubu annelerin 5.6/1000 canlı doğum oranında spina bifida defektli çocuk sahibi olduğu görülmüştür (Tunçbilek ve ark., 2004).

Türkiye ortalaması verilerinin ABD verilerinin yaklaşık 10 katı olduğu görülmektedir. Bu Türkiye'de spina bifida konusu hakkında hala alınması gereken çok yol olduğunu göstermektedir. Doğurganlık yaşının artması ve eğitim durumunun düştüğü durumlarda bu oranda giderek artmaktadır. Bu ortalamaların aşağı çekilmesi için gebelik öncesi planlama yapılmasının ve folik asit yüklemesinin kritik öneme sahip olduğu düşünülebilir.

4. SPİNA BİFİDADA BELİRTİLER VE SEMPTOMLAR

4.1. Fiziksel Problemler

Spina bifida da görülecek fiziksel problemler, spina bifidanın olduğu omurilik hattı, spina bifidanın tipi, beyin ve beyincik ile ilgili semptom verip vermediği durumlarda farklılık göstermektedir. Genellikle lumbal bölgede olan spina bifidada, omuriliğin sakral bölgesinden innerve olan kaslarda paralizi ve

sakral bölgeden köken alan parasempatik liflerin innerve ettiği organlarda distoni görülmektedir.

En yaygın görülen fiziksel sorunlar

- Bacak kaslarında güçsüzlük ve paralizi
- Club foot deformitesi
- Kalça eklem dislokasyonu
- Skolyoz
- Mesane kontrolü zayıflığı
- Bağırsak kontrolü zayıflığı ((Mitchell ve ark., 2004))

Spina bifida ek Chiari II malformasyonu görülen vakalarda düzgün oküler takipte bozulma, dismetri (mesafe tayin edememe), vestibulo-okuler reflekslerde patolojik azalma, nistagmus ve oftalmopleji görülmektedir (Juraneck ve Salman, 2010).

4.2. Lateks Alerjisi

Spina bifida defektli çocuklarda lateks alerjisinin görülmesi 1980'li yılların sonlarına doğru görülmeye başlanmıştır. 1980'li yılların sonlarında HIV tehditinin artması ile birlikte lateks ürünlere talep ciddi bir şekilde artış gösterdi. Özellikle okul ve hastane gibi yerlerde lateksten imal edilmiş ürünlerle tanışan spina bifida defektli çocuklarda anafilaksiye varacak kadar şiddetli alerjiler ortaya çıkmaya başladı. Bu alerjik etkiden korumak için lateks alerji kılavuzu oluşturuldu. Bu kılavuz ile lateks alerjisine karşı kesin bir tıbbi çözüm bulunana kadar lateks kökenli proteinlerin spina bifidalı çocuklar ile temasını kesmek, günlük yaşamları boyunca lateks ürünlerden kaçınarak hem bireysel hem de toplumsal bilinç oluşturmak amaçlanmıştır. Lateks alerjisi olan çocukların yanlarına alerjiye karşı tıbbi uyarı taşıyıcıları (bilezik, kişisel telefon uygulamaları, acil telefon rehberi bulundurması) anafilaksi durumlarında hayati rol oynamaktadır (Meneses ve ark., 2020).

4.3. Nörolojik Problemler

Meningomyoel tip spina bifida'sı olan bireylerde çok yüksek oranda Chiari II malformasyonu görülmektedir. Bu tip lezyonda beyincik kafatası arka kısmından üst servikal vertebraların olduğu kısma göre yer değiştirmektedir. Beyinciğin bu yer değiştirmesi BOS akışını engellemeye yol açar ve böylece meningomyoel tip bireylerde hidrosefali görülmesine neden olur.

Chiari II malformasyonunun nedeni kesin olarak bilinmemekle birlikte günümüzde “birleşik teori” ismini alan teori en genel anlamda kabul edilen olmuştur. Bu teoriye göre BOS omurilik defektinden intrauterin çevreye sızar. Embriyolojik ventrikuler sistem BOS birikmesiyle oluşan basınç ile şişer. Nöral tüpteki bu gedik, BOS ‘un dışarı sızmasına, BOS dışarı sızdığı için de ventrikuler sistemi dolduracak olan basıncın oluşmamasını sağlar. Böylece fossa cranii posterior’un kemik katmanını sağlayan yapılar yeterince büyüme katedemez. Fossa cranii posterior’daki nöral doku büyüdükçe kendisine yer bulamamaya başlar ve beyinciğe dikey aşağı doğru bir basınç uygulanır. Sonuç olarak beyincik hem üst omurlar hizasına herniasyon gösterir hem de hacminde küçülme meydana gelir (Hepp ve ark., 2021; Juranek ve Salman, 2010; Stevenson, 2004)

Spina bifida meningoyoloselli olan çocukların karşılaştığı diğer bir nörolojik problem ise sağ ve sol beyin yarım küreleri arasında bağlantıyı sağlayan corpus callosum’un normal gelişimini tamamlayamamasıdır. Meningoyoloselli çocukların %52’ si kısmi corpus callosum agnezisi %44’ünün corpus callosum hipoplazisine sahip olurken yalnızca %4 meningomyoloselli çocukta normal corpus callosum gelişiminin tamamlandığı görülmüştür (Fletcher ve ark., 2005).

Meningomyoloselli çocukların hemen hepsinde hidrosefali görülmektedir. Hidrosefalinin oluşturduğu bu beyin anomalisi sinir hücrelerinin göç haritasını bozmakta ve böylece hücre grupları anormal pozisyonlara yerleşebilirler. Özellikle üçüncü ventrikül yakınlarındaki periventriküler beyaz maddenin demiyelinizasyonu, beyin kan akışında azalmalar ve ince kan damarlarının harabiyeti gibi beyinsel hasarlar da görülebilmektedir ((Wills, 1993).

4.4. Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu

Meningoyoloselli ve şant takılmış hidrosefalili çocuklarda dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu (DEHB) hakkında bazı çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çeşitli ölçümlerde şant takılan hidrosefalili çocuklar da yüksek oranda dikkatsiz tip grubuna girdiği belirlenmiştir (Burmeister ve ark., 2005).

Spina bifidalı çocuklar daha sık ve daha erken yaşta DEHB tanısı almış ve dikkat sorunları yaşadıkları tespit edilmiştir. Bu bulgu, daha erken semptom

gelişimi, daha fazla ebeveyn farkındalığı veya hizmet sağlayıcılarla daha fazla temastan kaynaklanıyor olabilir. DEHB veya dikkat sorunları olanlar arasında, uyarıcı ilaçların spina bifidalı çocuklar için yararlı olmayabileceğini gösteren araştırmalara rağmen, bu çocuklara reçete edilme olasılığı daha yüksektir. Spina bifidalı çocuklar için DEHB farmakolojik tedavisinin etkinliği konusunda daha fazla araştırma yapılması önerilmektedir (Wasserman ve ark., 2016).

4.5. Eğitim Öğretim ile İlgili Sorunlar

Spina bifidalı çocukların öğrenme güçlüğü üzerinde yapılan çalışmada heceleme, yazma ve sayısal verilerin ifadesinde oldukça güçlük çektikleri ve klasik eğitimin yetersiz kaldığı ortaya konmuştur (Mayes ve Calhoun, 2006).

Spina bifida yüksek oranda matematiksel öğrenim güçlüğünün olduğu bir nöral tüp defektidir. Spina bifidalı çocukların görsel-uzaysal işlemede yetersiz kalmaları okul öncesi ve okul çağında matematiksel bilgi dağarcığının gelişmemesine neden olmaktadır (English ve ark., 2009).

5. SPİNA BİFİDADA TEDAVİ YÖNTEMLERİ

Günümüz tıbbında Spina bifidanın neden olduğu sinir hasarının bilinen bir tedavisi bulunmamaktadır. Standart tedavi doğumdan sonra cerrahi işlem yapmaktır. Bu ameliyat sinir dokusunun daha fazla hasar görmesini ve enfeksiyon kapmasını engellemeyi amaçlar; pediatrik beyin-sinir cerrahları sırttaki keseyi kapatmak için operasyon yapar. Omurilik ve sinir kökleri omurganın içine geri konur ve meninkslerle kaplanır. Ek olarak, hidrosefalide olduğu gibi, beyinde üretilen fazla beyin omurilik sıvısı için sürekli bir drenaj sağlamak üzere cerrahi olarak serebral şant takılabilir. Bu çocuklar henüz gelişim döneminde olduğu için ventrikulo-atrial (VA) şantlar tercih edilmez. BOS fazlasını periton boşluğuna aktarmak için centrikülo-peritoneal (VP) şant tercih edilir (Sawin ve ark., 2015).

6.ÇOCUKLUK DÖNEMİ TIBBİ KONSÜLTASYON

6.1.Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon

Fiziksel tıp ve rehabilitasyonu uzmanları ile fizyoterapistler, spina bifidalı çocukların yaşam boyu rehabilitasyon çalışmalarını kontrol eder. Alt ekstremitede oluşan güçsüzlük ve paraliziler için kas kısalıklarını azaltma, kas güçlendirme, ortez kullanımı ve üst ekstremitte güçlendirme ile spina bifidalı

çocukların hayat kalitesini artırmaya çalışır. Fizyoterapistler, spina bifidalı çocukların mobilizasyonu için tekerlekli sandalye, walker, yürüme yardımcıları gibi ekipmanların kullanılmasını öğretir.

6.2. Ortopedi ve Travmatoloji

Ortopedistler; kemik, eklem ve kas cerrahilerini gerçekleştirirler.

6.3. Beyin ve Sinir Cerrahi

Beyin ve sinir cerrahları; doğumdan sonra nöral kesenin ameliyatı, hidrosefali için şant takılması gibi cerrahileri yönetirler.

6.4. Nöroloji

Nörologlar; epilepsi nöbeti geçiren çocukların veya sinir sistemi bozukluklarına karşı medikal tedavi görevini üstlenirler.

6.5. Üroloji

Ürolog ve nefrologlar; böbrek hasarı, idrar inkontinansı, mesane disfonksiyonlarını tedavi ederler.

6.6. Göz Hastalıkları

Göz hekimleri; göz ve görme ile ilgili komplikasyonlarda görev alırlar.

6.7. Dental Tedavi

Diş hekimleri ve ortodontistler; diş tellerinin takılması, diş komplikasyonlarının giderilmesi ve çene eklemine fonksiyonelliğini artırmak için çalışırlar.

Spina bifidalı çocuklar doğum anından itibaren tıp dünyası ile tanışmakta ve hastalığının seyrine göre sürekli olarak tıbbi bakıma ihtiyaç duymaktadırlar. Spina bifidalı çocuklar tüm bu yaşadıkları olumsuzluklara rağmen genellikle dışa dönük sosyal bireylerdir. Spina bifidalı bireylerdeki bu duruma kokteyl-parti sendromu denilir. 5 yaşındaki spina bifidalı çocukların %40'ında kokteyl parti sendromu varken bu durum 10 yaşındaki spina bifidalı çocuklarda %20'ye düşmektedir (Tew ve Laurence, 1979).

KAYNAKÇA

- Alriksson-Schmidt, A. I., Thibadeau, J. K., Swanson, M. E., Marcus, D., Carris, K. L., Siffel, C., & Ward, E. (2013). The natural history of spina bifida in children pilot project: research protocol. *JMIR research protocols*, 2(1), e2. <https://doi.org/10.2196/resprot.2209>
- Atta, C. A., Fiest, K. M., Frolkis, A. D., Jette, N., Pringsheim, T., St Germaine-Smith, C., Rajapakse, T., Kaplan, G. G., & Metcalfe, A. (2016). Global Birth Prevalence of Spina Bifida by Folic Acid Fortification Status: A Systematic Review and Meta-Analysis. *American journal of public health*, 106(1), e24–e34. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2015.302902>
- Avagliano, L., Massa, V., George, T. M., Qureshy, S., Bulfamante, G. P., & Finnell, R. H. (2019). Overview on neural tube defects: From development to physical characteristics. *Birth defects research*, 111(19), 1455–1467. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1380>
- Blount, J. P., Maleknia, P., Hopson, B. D., Rocque, B. G., & Oakes, W. J. (2021). Hydrocephalus in Spina Bifida. *Neurology India*, 69(Supplement), S367–S371. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.332247>
- Brea, C. M., & Munakomi, S. (2023). Spina Bifida. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Burmeister, R., Hannay, H. J., Copeland, K., Fletcher, J. M., Boudousquie, A., & Dennis, M. (2005). Attention problems and executive functions in children with spina bifida and hydrocephalus. *Child Neuropsychology*, 11(3), 265–283. <https://doi.org/10.1080/092970490911324>
- Copp, A. J., Adzick, N. S., Chitty, L. S., Fletcher, J. M., Holmbeck, G. N., & Shaw, G. M. (2015). Spina bifida. *Nature reviews. Disease primers*, 1, 15007. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.7>
- English, L. H., Barnes, M. A., Taylor, H. B., & Landry, S. H. (2009). Mathematical development in Spina bifida. *Developmental Disabilities Research Reviews*, 15(1), 28–34. <https://doi.org/10.1002/ddrr.48>
- Finnell, R. H., Caiaffa, C. D., Kim, S. E., Lei, Y., Steele, J., Cao, X., Tukeman, G., Lin, Y. L., Cabrera, R. M., & Wlodarczyk, B. J. (2021). Gene Environment Interactions in the Etiology of Neural Tube Defects. *Frontiers in genetics*, 12, 659612. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.659612>
- Fletcher, J. M., Copeland, K., Frederick, J. A., Blaser, S. E., Kramer, L. A., Northrup, H., Hannay, H. J., Brandt, M. E., Francis, D. J., Villarreal, G., Drake, J. M., Laurent, J. P., Townsend, I., Inwood, S., Boudousquie, A., & Dennis, M. (2005). Spinal lesion level in spina bifida: A source of neural and cognitive heterogeneity. *Journal of Neurosurgery*, 102

- PEDIATRICS*(SUPPL. 3), 268–279.
<https://doi.org/10.3171/ped.2005.102.3.0268>
- Hepp, Z. S., Haas, V. M., Latal, B., Meuli, M., Möhrlen, U., Schauer, S. M., Steinfeld, R., Padden, B. A., & Wille, D. A. (2021). Early childhood neurodevelopmental outcome after open prenatal spina bifida aperta repair. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 63(11), 1302–1307. <https://doi.org/10.1111/dmcn.14993>
- Juraneck, J., & Salman, M. S. (2010). Anomalous development of brain structure and function in spina bifida myelomeningocele. In *Developmental Disabilities Research Reviews* (Vol. 16, Issue 1, pp. 23–30). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/ddrr.88>
- Mayes, S. D., & Calhoun, S. L. (2006). Frequency of reading, math, and writing disabilities in children with clinical disorders. *Learning and Individual Differences*, 16(2), 145–157. <https://doi.org/10.1016/j.lindif.2005.07.004>
- Meneses, V., Parenti, S., Burns, H., & Adams, R. (2020). Latex allergy guidelines for people with spina bifida. In *Journal of Pediatric Rehabilitation Medicine* (Vol. 13, Issue 4, pp. 601–609). IOS Press BV. <https://doi.org/10.3233/PRM-200741>
- Mitchell, L. E., Scott Adzick, N., Melchionne, J., Pasquariello, P. S., Sutton, L. N., & Whitehead, A. S. (2004). Spina bifida. *Lancet*, 364(9448), 1885–1895. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17445-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17445-X)
- Nau, H. (1994). Valproic acid-induced neural tube defects. Ciba Foundation symposium, 181, 144–160. <https://doi.org/10.1002/9780470514559.ch9>
- Sahni, M., Alsaleem, M., & Ohri, A. (2023). Meningomyelocele. In StatPearls. StatPearls Publishing.. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536959/>
- Sawin, K. J., Liu, T., Ward, E., Thibadeau, J., Schechter, M. S., Soe, M. M., Walker, W., & NSBPR Coordinating Committee (2015). The National Spina Bifida Patient Registry: profile of a large cohort of participants from the first 10 clinics. *The Journal of pediatrics*, 166(2), 444–50.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.09.039>
- Stevenson K. L. (2004). Chiari Type II malformation: past, present, and future. *Neurosurgical focus*, 16(2), E5. <https://doi.org/10.3171/foc.2004.16.2.6>
- Rosa F. W. (1991). Spina bifida in infants of women treated with carbamazepine during pregnancy. *The New England journal of medicine*, 324(10), 674–677. <https://doi.org/10.1056/NEJM199103073241006>
- Tew, B., & Laurence, K. M. (1979). The clinical and psychological characteristics of children with the "cocktail party" syndrome. *Zeitschrift für Kinderchirurgie und Grenzgebiete*, 28(4), 360–367.

- Tunçbilek, E., Üniversitesi, H., Fakültesi, T., & Profesörü, P. (2004). Türkiye'deki yüksek nöral tüp defekti sýklýđý ve önlemek için yapılabilecekler. In *Çocuk Sađlýđý ve Hastalýkları Dergisi* (Vol. 47).
- Wasserman, R. M., Stoner, A. M., Stern, A., & Holmbeck, G. N. (2016). ADHD and attention problems in children with and without spina bifida. *Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation*, 22(4), 253–259. <https://doi.org/10.1310/sci2204-253>
- Wills, K. W. (1993). Neuropsychological Functioning in Children With Spina Bifida and/or Hydrocephalus. *Journal of Clinical Child Psychology*, 22(2), 247–265. https://doi.org/10.1207/s15374424jccp2202_11



ISBN: 978-625-367-109-9