



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNTRASEREBROVENTRİKÜLER A β ₄₂ PEPTİDİ UYGULAMASIYLA
SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL ALZHEİMER HASTALIĞI
MODELİNDE KANNABİDİOL'ÜN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

ARDA CAN AYDIN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. HATİCE KÜBRA ELÇİOĞLU

2021-İSTANBUL

I. BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Arda Can AYDIN

II. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca benden desteğini esirgemeyen tez danışmanım **Prof. Dr. Hatice Kübra Elçioğlu**'na saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine eğitimim süresince yaptıkları değerli katkıları için teşekkür ederim. **Arş. Gör. Ayşe Nur Hazar-Yavuz**'a tez çalışmam boyunca yaptığı yardımlar için teşekkür ederim.

Her adımında destekçim ve en değerli varlığım olan sevgili eşim **Nur Aydın**'a, İleride büyüdüğünde kendisine hatıra kalacağını düşündüğüm canım **Oğlum Baran**'a.

Bu süreçte beni maddi, manevi destekleyen sevgili babam **Özcan Aydın**, değerli annem **Meryem Aydın**'a ve özellikle maddi destekleri için kardeşim **Dilara Aydın**'a saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu yola çıkmamdaki en önemli sebep olan sevgili babaannem **Sacide Aydın**'a en derin saygılarımı sunarım.

III. İÇİNDEKİLER

I. BEYAN	I
II. TEŞEKKÜR	II
III. İÇİNDEKİLER.....	III
IV. SİMGELER ve KISALTMALAR.....	IV
V. ŞEKİL LİSTESİ	V
1. ÖZET.....	1
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER.....	5
4.1. Demans.....	5
4.1.1. Alzheimer Hastalığı	5
4.2. Alzheimer Hastalığı: Genetik ve Epigenetik.....	7
4.3. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi	8
4.3.1. Amiloid Kaskad Hipotezi.....	9
4.3.2. Nöronal Sitoiskelet Hipotezi	12
4.3.3. Alzheimer Hastalığı Kolinerjik Hasar Hipotezi	13
4.3.4. Alzheimer Hastalığı Oksidatif Stres Hipotezi.....	14
4.4. Alzheimer Hastalığında Apolipoprotein E ϵ -4 Allelinin Rolü.....	17
4.5. <i>Cannabis sativa</i>	18
5. GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
5.1. Deney Hayvanları.....	21
5.2. Hayvanların gruplandırılması:	21
5.3. Vücut Ağırlığı Ölçümü	21
5.4. AH'nin İndüklenmesi ve Deney Protokolü.....	21
5.5. Davranış Testleri	22
5.5.1. Açık Alan Testi	23

5.5.2. Yeni Obje Tanıma Testi	23
5.5.3. Pasif Sakınma Testi.....	24
5.5.4. Morris'in Su Tankı Testi	25
5.6. Sıçanların Dekapitasyonu.....	27
5.7. Elisa Analizi	27
6. BULGULAR.....	28
6.1. Açık Alan Testi Bulguları	28
6.2. Pasif Sakınma Testi Bulguları.....	30
6.3. Morris'in Su Tankı Testi Bulguları.....	31
6.4. Biyokimyasal Analiz Bulguları.....	32
6.4.1. İnterlökin-1 β (IL-1 β) aktivitesi	32
6.4.2. Tümör nekroz faktör- α (TNF- α) aktivitesi.....	34
7. TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	36
8. KAYNAKLAR	40
9. EKLER.....	52
EK 1: Etik Kurul Onayı.....	52
EK 2: Kongre Bildirisi	53
10. ÖZGEÇMİŞ.....	55

IV. SİMGELER ve KISALTMALAR

AH: Alzheimer Hastalığı
AD: Alzheimer's Disease
 $A\beta_{42}$: Amiloid Beta 42
İ.c.v.: İntraserebroventriküler
NFY: Nörofibriler Yumak
ACh: Asetilkolin
APP: Amiloid Prekürsör Protein
PS₁: Presenilin 1
PS₂: Presenilin 2
APOE: Apolipoprotein E
ChaT: Kolin Asetil Transferaz
CAT: Katalaz
GSH-Px: Glutasyon peroksidaz
K: Kontrol Grubu
A: Alzheimer Grubu
AC: Alzheimer + Kannabidiol Grubu

V. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Alzheimer hastalığının prevelansı

Şekil 2. Amiloid prekürsör proteinin kesilme basamakları

Şekil 3. Amiloid kaskad hipotezi ile ilgili diğerk mekanizmalar

Şekil 4. Açık Alan Testi

Şekil 5. Yeni Obje Tanıma Testi

Şekil 6. Pasif Sakınma Testi

Şekil 7. Morris'in Su Tankı Testi

Şekil 8. Açık alan testine ait merkez bölgede geçirilen sürenin fark skoru grafiğı

Şekil 9. Açık alan testine ait merkez bölgeye girilen ilk zaman grafiğı

Şekil 10. Açık alan testine ait yapılan süslenme sayısı

Şekil 11. Açık alan testine ait yapılan şahlanma sayısı

Şekil 12. Pasif sakınma testi, karanlık bölgeye geçiş için geçen süre

Şekil 13. Morris water maze testinde 1. gün ve 4. gün arasındaki platforma ulaşma süreleri ortalamaları

Şekil 14. Morris water maze testinde hedef kadranda geçirilen toplam zaman grafiğı

Şekil 15. Hipokampus IL-1 β grafiğı

Şekil 16. Korteks IL-1 β grafiğı

Şekil 17. Hipokampus TNF- α grafiğı

Şekil 18. Korteks TNF- α grafiğı

İntraserebroventriküler A β ₄₂ Peptidi Uygulamasıyla Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Kannabidiol'ün Etkilerinin İncelenmesi

Öğrenci Adı: Arda Can Aydın

Danışmanı: Prof. Dr. Hatice Kübra Elçioğlu

Anabilim Dalı: Farmakoloji (ECZ)

1. ÖZET

Amaç: Alzheimer Hastalığı (AH) serebral korteks, hipokampus gibi kognitif fonksiyonları olan bölgelerde, amiloid beta (A β) plak oluşumunu sağlamaktadır. AH olan bireylerde glutamerjik yolların dejenere olması korteks ve hipokampusta asetilkolin birikmesine neden olarak A β plak oluşmasına neden olmaktadır. Çalışmamızda glutamat reseptör blokörü olan CBD'nin AH tedavisindeki etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Sprague Dawley sıçanlar kontrol, A β ₄₂ ile AH indüklenmiş Alzheimer ve Alzheimer+CBD olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Sıçanlara Morris'in su tankı, yeni obje tanıma, açık alan ve pasif sakınma testleri yapılarak sıçanların kognitif fonksiyonları değerlendirilmiştir. Alzheimer grubuna uygulama yapılmazken, Alzheimer +CBD grubuna tedavi amacıyla intraserebroventriküler (i.c.v.) olarak günde 10 mg/kg CBD 2 hafta süre ile uygulanmıştır. Dekapitasyonunun ardından hipokampus ve prefrontal korteks bölgeleri çıkarılarak dokularda ELISA ile interleukin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) gibi inflamatuvar sitokinlerin biyokimyasal ölçümleri yapılmıştır.

Bulgular: CBD uygulanan grup ile Alzheimer grubu karşılaştırıldığında Pasif sakınma testinde karanlık bölmeye geçiş süresinde anlamlı bir düşüş, Morris'in su tankı testi performansında ise anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. Beyinde hipokampusta IL-1 β ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinlerin düzeylerinin azaldığı görülürken, kortekste ise sadece TNF- α 'nın azaldığı bulunmuştur.

Sonuçlar: CBD'nin A β ₄₂'nin i.c.v. enjeksiyonuyla oluşturulan AH modelinde beyindeki inflamasyon kaynaklı öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki bozuklukları anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, kannabidiol, öğrenme ve bellek, intraserebroventriküler A β ₄₂ peptidi, oksidatif hasar

Investigation of the Effects of Cannabidiol in Experimental Alzheimer's Disease Model Induced in Rats with Intracerebroventricular A β ₄₂ Peptide Administration

Student: Arda Can Aydın

Supervisor: Prof. Dr. Hatice Kübra Elçioğlu

Department: Pharmacology

2. SUMMARY

Objective: Alzheimer's Disease (AD) causes amyloid beta (A β) plaque formation in regions such as the cerebral cortex, hippocampus which have cognitive function. The degeneration of glutamergic pathways in individuals with AD causes acetylcholine accumulation in the cortex and hippocampus, leading to the formation of A β plaque. In our study, the effects of CBD, a glutamate receptor blocker, in the treatment of AD were investigated.

Materials and Methods: Sprague Dawley rats were divided into 3 groups as control, A β ₄₂ and AD-induced Alzheimer and Alzheimer+CBD. Cognitive functions of rats were evaluated by performing Morris's water tank, new object recognition, open field and passive avoidance tests on rats. While the application was not applied to the Alzheimer group, 10 mg/kg CBD per day was administered intracerebroventricular (i.c.v.) for 2 weeks for the treatment of the Alzheimer+CBD group. After decapitation, the hippocampus and prefrontal cortex regions were removed and biochemical measurements of inflammatory cytokines such as interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were performed in tissues by ELISA.

Results: When the CBD group and the Alzheimer group were compared, there was a significant decrease in the transition time to the dark compartment in the passive avoidance test, and a significant decrease in Morris's water tank test performance. While the levels of inflammatory cytokines such as IL-1 β and TNF- α decreased in the hippocampus, it was found that only TNF- α decreased in the cortex.

Conclusion: It has been found that CBD significantly reduce the inflammation-induced learning and memory dysfunctions in the A β ₄₂ i.c.v. induced AD model.

Keywords: Alzheimer's disease, cannabidiol, learning and memory, intracerebroventricular A β ₄₂ peptide, oxidative damage

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Alzheimer hastalığı (AH) orta ve geç yaş popülasyonunda görülen ilerleyici demans tablosu ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre bugün dünya çapında yaklaşık 50 milyon kişinin demansının olduğu bilinmekte ve bu sayının 2030 yılında 82 milyonu, 2050 yılında ise 152 milyonu aşması beklenmektedir. Demansın ekonomik maliyeti de oldukça fazladır, demansın dünya çapındaki maliyetinin 2018 verilerine göre 1 trilyon dolar olduğu ve 2030 yılında bu maliyetin 2 trilyon dolara ulaşacağı düşünülmektedir. AH Türkiye’de 65 yaş öncesi orta yaş popülasyonuna sahip 30.000-40.000 kişide görülürken, geç yaş popülasyonu olan 65 yaş üstünde toplumun %5’ini etkilemekte, 85 yaş üstü popülasyonunun ise %30-50’sinde etkili olmaktadır.

AH patolojik olarak bilişsel fonksiyon bozukluklarına ve nöronal kayba eşlik eden ekstraselüler A β plakların, intraselüler NFY birikimiyle oluşan bir hastalık olarak karakterize edilir. Ailesel ve sporadik AH nedenlerine göre farklılık gösterebilir, hastalığın bu noktadan itibaren ilerlemesi aynı görünmektedir. Bu değişiklikler nöroinflamasyona ve oksidatif strese neden olur, bu da nörodejenerasyonu güçlendiren ve sonunda bilişsel azalmaya yol açan nörotoksikite oluşumuna neden olmaktadır.

AH’nin görüldüğü serebral korteks, hipokampus, entorhinal korteks ve ventral striatum gibi kognitif fonksiyonlarda görev alan bölgelerde belirgin şekilde görülen sinaptik kayıplar ve nöron ölümü ile karakterize edilen oldukça karmaşık bir hastalıktır. Hastalarda beyin parankima bölgesinde görülen temel histopatolojik bulguları; hücre dışı yerleşimli amiloid plaklar, hücre içinde tau protein kümelerinden oluşan nörofibril yumaklar, glial aktivasyon ve inflamasyon izleri oluşturmaktadır. AH’de kognitif olmayan semptomlar için yaygın olarak antipsikotikler, antidepresanlar, anksiyolitikler ve hipnotikler kullanılmakla birlikte kognitif semptomlar için galantamin, donepezil ve rivastigmin gibi asetilkolinesteraz inhibitörleri ayrıca glutamat reseptör blokörü memantin onaylanmıştır. Bu ilaçların hastalık için yeterli olmaması ve çok fazla miktarda yan etkilerinin olması nedeniyle yeni ilaçların klinik araştırmaları devam etmektedir.

Literatürde *Cannabis sativa* ve etkili bileşiklerinin AH üzerine etkilerine dair kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır ve bunların çoğu bitkilerin etki mekanizmasını aydınlatma yönünden yeterli değildir. CBD; AH'de in vitro ve in vivo modellerde faydalı etkileri bilinen psikotropik olmayan bir kannabinoiddir. Yapılan çalışmalarda AH oluşturulan hayvan modellerinde CBD'nin anksiyete, ajitasyon, psikoz, saldırganlık, depresyon, ağrı, oksidatif stres ve enflamasyonu azalttığı öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki bozukluğu düzelttiği belirtilmiştir. Araştırmamızda kullanmayı planladığımız CBD'nin yapılan literatür çalışmalarında çoğunlukla epilepsi hastalığı ve ağrıyı azalttığı için kronik ağrı ve kanser hastalığında, enflamatuvar barsak hastalıkları, Angelman sendromu, Multipl Sklerozis, Amyotrofik Unilateral Skleroz, HIV tedavisinde kullanıldığı görülmüştür.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda CBD'nin AH üzerine etkileri çalışılmış olmakla birlikte, bu çalışmada kullanacağımız i.c.v A β ile indüklenen AH modelindeki etkileri henüz çalışılmamıştır. A β_{42} 'nin i.c.v. enjeksiyonu sonucunda AH'nin beyinde gelişen patolojiye benzer bilişsel bozukluklar ve histopatolojik değişiklikler oluşturduğu bildirilmesinden hareketle çalışmamızda AH modeli oluşturmak için bu yöntem seçilmiştir. A β_{42} uygulaması ile AH oluşturduğumuz hastalık grubumuzda, kontrol grubuna kıyasla yeni obje tanıma, pasif sakınma ve Morris'in su tankı testleri aracılığıyla öğrenme-bellek fonksiyonlarında bozulma, sıçan beyinde yapılan biyokimyasal değerlendirmeler yapılmıştır. Tedavi amacıyla CBD uygulanarak öğrenme-bellek fonksiyonları üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Ayrıca yapılan bir diğer davranış testi olan açık alan testi ile de uygulanan model ve CBD'nin hayvanlarda lokomotor aktiviteyi değiştirme durumu incelenmiştir.

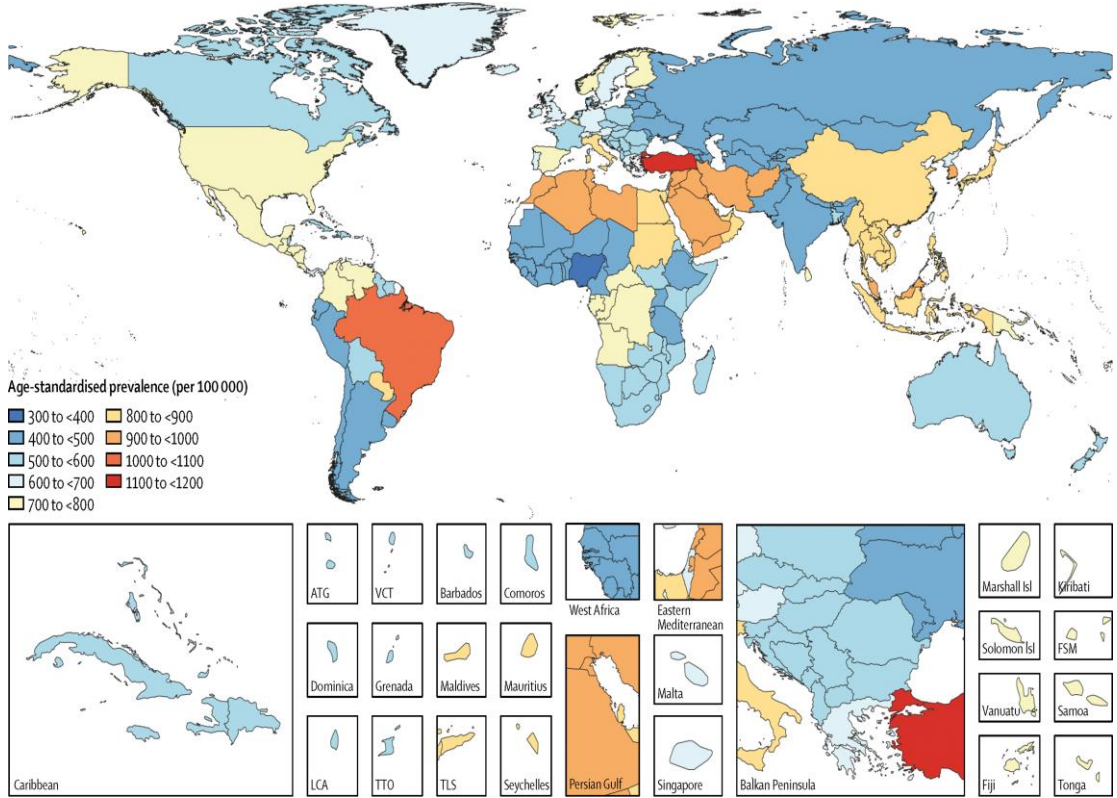
4. GENEL BİLGİLER

4.1. Demans

Demans, en yaygın bilinen tanımıyla günlük aktiviteleri gerçekleştirme becerisinde düşüşe yol açan, bilişsel bozukluk veya bilişsel gerileme sendromudur. Demansın birçok farklı nedeni ve birçok farklı türü vardır. Demans ile Alzheimer hastalığı insanlar tarafından sık sık karıştırılsa da Alzheimer hastalığı demansın alt türüdür ve vasküler demansla birlikte vakaların çoğunu oluşturur. Hafıza kaybında artış, düşünme hızında düşüş, zihinsel keskinlik ve çabuklukta yavaşlama, kelimelerin yanlış kullanımı veya konuşma güçlüğü gibi dil bozuklukları, ruh halinde dengesizlik, günlük aktivitelerin yapılmasında zorluk gibi semptomları bulunmaktadır.

4.1.1. Alzheimer Hastalığı

AH orta ve geç yaş popülasyonunda görülen ilerleyici demans tablosu ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization) verilerine göre bugün dünya çapında yaklaşık 50 milyon kişinin demansının olduğu bilinmekte ve bu sayının 2030 yılında 82 milyonu, 2050 yılında ise 152 milyonu aşması beklenmektedir (Şekil 1). Demansın ekonomik maliyeti de oldukça fazladır, demansın dünya çapındaki maliyetinin 2018 verilerine göre 1 trilyon dolar olduğu ve 2030 yılında bu maliyetin 2 trilyon dolara ulaşacağı düşünülmektedir (<https://www.alzint.org>, Kasım 2020). Türkiye’de 65 yaş öncesi orta yaş popülasyonuna sahip 30.000-40.000 kişide görülürken, geç yaş popülasyonu olan 65 yaş üstünde toplumun %5’ini etkilemekte, 85 yaş üstü popülasyonunun ise %30-50’sinde etkili olmaktadır. (<https://www.alzheimerdernegi.org.tr>, Kasım 2020). AH patolojik olarak bilişsel fonksiyon bozukluklarına ve nöronal kayba eşlik eden ekstraselüler A β plakların, intraselüler NFY birikimiyle oluşan bir hastalık olarak karakterize edilir (Celeste ve ark., 2015). Ailesel ve sporadik AH nedenlerine göre farklılık göstersede, hastalığın bu noktadan itibaren ilerlemesi aynı görünmektedir. Bu değişiklikler nöroinflamasyona ve oksidatif strese neden olur, bu da nörodejenerasyonu güçlendiren ve sonunda bilişsel azalmaya yol açan nörotoksisite oluşumuna neden olmaktadır.



Şekil 1. Alzheimer hastalığının prevalansı (GBD, 2016)

Psikiyatrist ve nöropatolog olan Alois Alzheimer (14 Haziran 1864- 19 Aralık 1915) ilk kez “presenil dementia” adlı çalışmasını yayınlamış ve ardından bu hastalık ünlü psikiyatrist Emil Kraepelin tarafından “Alzheimer hastalığı” olarak adlandırılmıştır. Alois Alzheimer Frankfurt’ta çalışmaları sırasında tuhaf davranışları olan ve kısa süreli hafıza kaybı yaşayan olan 51 yaşındaki Auguste Deter ile karşılaşmış ve Nisan 1906’da Deter ölünce dosyasını ve otopsi için beyinini Munich’e, Kraepelin’in laboratuvarına getirtmiştir burada gerçekleştirdiği yeni boyama teknikleri ile hastanın beyininde “amyloid” plakları ve “neurofibrillary” yumakları gözlemlemiştir. Kasım 1906 da ilk kez hastalığın patolojisini ve klinik semptomlarını kongrede sunmuştur. Dr. Alois Alzheimer’ın 1907’de yaptığı yol gösterici çalışmalardan bu yana nöropatologlar gerçekleştirdikleri otopsi çalışmalarında hastaların beyininde amiloid plaklar ve NFY oluştuğunu belirlemiş ve hastalığa bu patolojilerin neden olduğunu belirtmişlerdir (Celeste ve Alison, 2015). Amiloid plakların beyin parankimasında ve serebral kan damarlarında bulunan hücre dışı Aβ birikimleri olduğu göstermişlerdir.

Anormal olarak oluşan amiloid plak birikiminin yanı sıra hücre içinde senil plakların ve NFY birikiminin derecesine ve nöron kaybına baēlı hastalık gelişimi gözlenmektedir. NFY'ler, belirli nöronal popölasyonlarda mikrotüböl baēlayıcı protein tau'nun hiperfosforilasyonundan kaynaklanan eşleştirilmiş sarmal filamentlerden oluşur (Trojanowsk ve ark., 1993). Tau'nun hiperfosforilasyonu, mikrotüböl baēlanma kapasitesinin azalmasına ve mikrotüböl birleşiminin bozulmasına yol aēar, bunların her ikisi de yumak oluşumunda kritik erken olaylar olarak kabul edilir (Bramblett ve ark., 1993; Alonso ve ark., 1996).

4.2. Alzheimer Hastalıēı: Genetik ve Epigenetik

AH, çok faktörlöl ve karmaşık bir nörodejeneratif hastalıktır. Yaşlılar arasında demansın ana nedenlerindendir. Hastalık için en belirgin risk faktörlöl olan yaşlanmanın yanı sıra, yapılan epigenetik ēalıřmalarda Alzheimer oluşumunda bireyin sosyal yaşantısında hastalık oluşumuna neden olduēunu göstermiştir. Bunlar düşük eēitim seviyesi, genç yaştaki düşük zihinsel aktivite ve ilerleyen yaştaki azalmış zihinsel ve fiziksel aktivite hastalık oluşumundaki nedenlerdir. Genetik aēıdan bakıldıēında AH, otozomal dominant kalıtım ile hastaların %2-3'ünü oluşturan nadir bir ailesel forma ve genetik yatkınlıkla birlikte spesifik çevresel maruziyetlerin hastalıēın oluşmasına katkıda bulunduēu çok faktörlöl, sporadik bir forma bürünebilir (Frazer ve ark., 2009). Mutasyon genlerini iēeren çoklu genetik kusurlar, AH'nin gelişimiyle ilişkilendirilmiştir.

AH'nin genetiēi, semptomlar ilk ortaya ēıktıēında etkilenen bireylerin yaşına baēlı olarak 65 yaşından önce erken bařlangıēlı AH olarak gelişirken, sporadik hastalık tipi genellikle 65 yaşın üzerindeki bireylerde yaşamın ilerleyen dönemlerinde ortaya ēıkar ve geē bařlangıēlı AH olarak adlandırılır (Blennow ve ark., 2006). AH'deki genetik mutasyonlar, AH vakalarının çok küçük bir kısmını oluşturmaktadır (%5) ve bu kısım genellikle erken bařlangıēlı AH varyantından sorumludur (Mastroeni ve ark., 2009).

Diğer taraftan, geç başlangıçlı AH'nin oluşması, çevresel faktörler ve apolipoprotein E (APOE) geninin en fazla etkiye sahip olduğu bir dizi duyarlılık geni arasındaki etkileşimle bağlantılı görünmektedir.

Erken başlangıçlı AH 65 yaşından önce ortaya çıkar ve tüm AH vakalarının yaklaşık %5'ini temsil etmektedir (Sherrington ve ark., 1995). Yapılan çalışmalarda erken başlangıçlı AH'nin nedeni araştırıldığında, kromozom 21'deki Aβ'nin öncül proteinini (APP) kodlayan gen, kromozom 14'teki presenilin 1 (PSEN1) ve presenilinden kaynaklandığı bulunmuştur. Kromozom 14 üzerinde presenilin 2 (PSEN2) en yaygın mutasyon gösteren genidir ve toksik Aβ₄₂'nin miktarını arttırdığı görülmüştür (Levy ve ark., 1995). APP geninin aşırı üretilmesi, Aβ₄₂'de sentezini tetikleyerek plak oluşumunu arttırmaktadır.

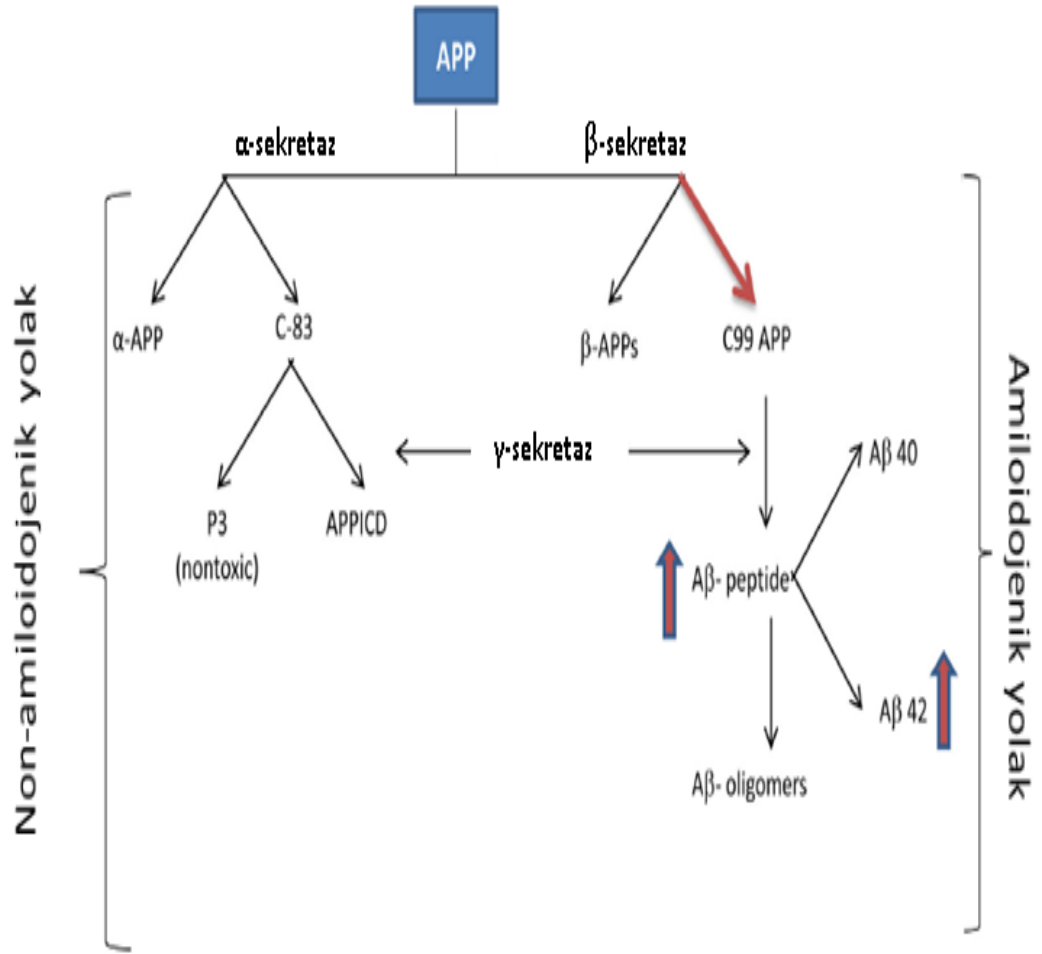
APP'yi kodlayan gen, kromozom 21'de bulunur. Bu nedenle, trizomi 21'li yetişkinler (Down sendromu) 40 yaşından sonra hayatta kalırlarsa AH'nin karakteristik nöropatolojik özelliklerini gösterirler (Rovelet ve ark., 2006). Trizomi 21'deki APP geninin fazlalığı, APP üretiminin artmasına ve dolayısıyla normal insanlara kıyasla fazla serebral amiloid plak oluşumuna neden olmaktadır. Geç başlangıçlı AH'de 65 yaş sonrası için diğer potansiyel risk faktörleri kafa travması, hiperlipidemi, hipertansiyon, diyabetes mellitus, homosisteinemi ve obezite olarak belirlenmiş olmakla birlikte (Kim ve ark., 2002, Witting ve ark., 2004), bunların bazıları hakkında çelişkili sonuçlar olduğunu belirtmek gerekir (Di ve ark., 2005).

4.3. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi

AH'de gerçekleştirilen patolojik çalışmalarda gözlemlenen beyin parankimasında ekstraselüler olarak yerleşmiş amiloid plaklar, hücre içinde tau protein kümelerinden oluşan NFY, glial aktivasyon ve enflamasyonlar görülmektedir (Di ve ark., 2005, Johnson ve ark., 1992). Bu sonuçlara bakılarak hastalığın patogenezinde birçok mekanizma öne sürülmüştür. Bunlarda en önemlileri ise; amiloid kaskad hipotezi, kolinerjik hasar hipotezi, nöronal sitoskelet hipotezi ve oksidatif stres hipotezi (Devane ve ark., 1992, Schmid ve ark., 1985) şeklinde sıralanmaktadır.

4.3.1. Amiloid Kaskad Hipotezi

AH'nin kesin nedeni önemli bir tartışma konusu olmasına rağmen, amiloid kaskad hipotezi AH için en iyi tanımlanmış ve en çok çalışılan kavramsal çerçeve olmaya devam etmektedir. Başlangıçta 1907'de Alois Alzheimer tarafından tarif edildiği gibi amiloid plakların varlığı, AH'nin belirleyici özelliği olarak kabul edilmiştir. APP'nin proteolitik olarak türetilmiş ürünleri (Glennner ve Wong, 1984) olarak plakların ana bileşenleri olan A β peptidlerinin tanımlanması ve uygulama geninin klonlanması (Kang ve ark., 1987) hastalığın biyokimyasal ve moleküler seviyelerde incelenmesine olanak sağlamıştır. 90'lı yılların başında önerildiği gibi (Hardy ve Higgins, 1992; Selkoe, 1991), amiloid kaskad hipotezinin temeli, peptitlerin artan üretiminin veya azalmış klirensinin hastalığa neden olmasıdır. Hidrofobik A β ₄₀ ve A β ₄₂ peptidlerinin birikmesi, çözünmeyen plakların toplanmasına ve oluşumuna yol açmaktadır. Bu durum nöron için zararlı boyutlarda birikime neden olarak, nöronal ölüme sebep olmaktadır. AH'nin oluşumu bu hipotezle açıklanmaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. APP'nin kesilme basamakları (Gök, 2016)

Fakat yapılan çalışmalarla hipotezin geçerli olmadığı gösterilmiştir. İlk olarak, daha önce belirtildiği gibi, plak oluşumu insanlarda demans oluşumu ile ilişkili değildir (Terry ve ark., 1991) ve ciddi hafıza bozukluğu olan birçok AH, postmortem analizde Aβ plak göstermez. Deneylerde sağlıklı birey beyinde plaklar gözlemlenmeden çok önce bellek bozukluğu göstermektedir (Lesne ve ark., 2008). İkincisi, in vivo nörogörüntüleme tekniklerindeki son gelişmelerde (11C-P1b retansiyonu gibi), bilişsel olarak sağlıklı bireylerde de Aβ plakların var olabileceğini göstermiştir (Nordberg, 2008; Villemagne ve ark., 2008). Bu çalışmalar sonucu, sağlıklı bireylerde bulunan Aβ plakların patolojik olayları tetiklemediği ve insan vücudunda iyi huylu hatta koruyucu özelliklere sahip olabileceği düşüncesine yol açmıştır (Caughey ve Lansbury, 2003).

Ailesel AH vakalarının büyük bir kısmı PS1 genindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Çoklu yayılma alanlarına sahip bir membran proteini olan PS1, γ -sekretaz kompleksini oluşturmak için diğer üç membran proteini ile birleşmektedir. APP'den farklı olarak, PS1'deki ailesel AH mutasyonları molekülün tüm uzunluğu boyunca dağılmıştır. Bu mutasyonların çoğu, APP'nin bölünmesine neden olur ve bu da agregaya daha yatkın olan daha uzun A β_{42} peptidinin üretiminin artmasına neden olur (Suzuki ve ark., 1994). APP veya PS1'deki birçok ailesel AH mutasyonu A β_{42} 'de bir artışa neden olsada, PS1'deki bazı mutasyonlar A β_{42} seviyelerini arttırmaz, aksine A β_{40} seviyelerini düşürür. Bu görüş, artan 42/40 oranının genellikle AH'nin başlangıç yaşı ile ters ilişkili olduğu gözlemiyle desteklenmektedir (Bentahir ve ark., 2006).

Son olarak, A β 'nin yüksek orandaki çözünür agregatlarının (oligomerlerin) hastalığa neden olan patojenik ajanlar olduğu fikri çok ilgi çekmiştir (Glabe, 2005; Klein ve ark., 2001; Walsh ve Selkoe, 2004, 2007). Birçok grup, A β oligomerlerinin kötü karakterize edilmiş ancak biyokimyasal olarak farklı formlarını tanımlamış ve in vitro ve in vivo modeller kullanılarak toksisitelerini göstermiştir. Farklı oligomerik türler, Alzheimer uygulanan hayvan modellerinin beyinlerinden izole edilmiştir (Lesne ve ark., 2006). Ayrıca, Alzheimer'lı hastaların beyinlerinden izole edilen dimerik oligomerlerin uzun süreli potensiyasyonu güçlü bir şekilde inhibe ettiğini ve pikomolar aralıktaki IC50 değerleri ile uzun süreli depresyonu arttırdığını göstermiştir. Bu farklı oligomerlerin in vivo olarak nasıl oluştuğu veya A β_{42} oligomerlerinin A β_{40} oligomerlerden daha toksik olup olmadığı veya zararlı değişiklikleri nasıl tetikledikleri hakkında çok az şey bilinmektedir.

4.3.2. Nöronal Sitoiskelet Hipotezi

AH, hafıza, dil, yürütme fonksiyonları ve görsel-mekansal beceriler de dahil olmak üzere çoklu sistemleri etkileyen bilişte ilerleyici bir düşüş ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır (Mirra ve ark., 1991). AH'de farklı proteinlerin patojenik konformasyonu görülmektedir. Anormal olarak oluşan amiloid plak birikiminin yanı sıra hücre içinde senil plakların ve NFY birikiminin derecesine ve nöron kaybına bağlı hastalık gelişimi gözlenmektedir.

NFY'ler, belirli nöronal popülasyonlarda mikrotübül bağlayıcı protein tau'nun hiperfosforilasyonundan kaynaklanan eşleştirilmiş sarmal filamentlerden oluşur (Trojanowsk ve ark., 1993). Tau'nun hiperfosforilasyonu, mikrotübül bağlanma kapasitesinin azalmasına ve mikrotübül birleşiminin bozulmasına yol açar, bunların her ikisi de yumak oluşumunda kritik erken olaylar olarak kabul edilir (Bramblett ve ark., 1993; Alonso ve ark., 1996). AH'nin yeni ortaya çıkan bir özelliği, AH beyin nöronlarında apoptotik mekanizmaların belirgin bir şekilde aktivasyonudur. Apoptoz üç aşama ile karakterizedir (Takahashi ve ark., 1999; Metzstein ve ark., 1998):

- 1) Bax ve Bcl-2 gibi pro ve anti apoptotik proteinleri içeren bir düzenleme aşaması
- 2) Kaspaz olarak bilinen sistein aspartat proteaz ailesinin aktivasyonunun gerçekleştiği bir aktivasyon aşaması
- 3) Plazma zarında kabarcık oluşturma, nükleer yoğunlaşma ve DNA parçalanması ile karakterize bir aşamasıdır.

Her ne kadar hem NFY hem de apoptotik tip mekanizmalar AH'nin belirgin özellikleri olsada, bu yolların nedensel olarak ilişkili mi yoksa bağımsız mı olduğu sorusu çözülmemiş bir konu olmaya devam etmektedir. Bazı raporlar, NFY'ler ile DNA parçalanması ve aktive edilmiş kaspaz-3 dahil olmak üzere spesifik apoptotik belirteçler olduğunu göstermiştir.

4.3.3. Alzheimer Hastalığı Kolinerjik Hasar Hipotezi

Kolinerjik nörotransmisyon, bir dizi hastalık durumunda görev almaktadır. Bilişsel süreçlerde önemli bir rolü olduğu için, kolinerjik sistem, AH'de (Wilcock ve ark., 1982; Muir, 1997) dahil olmak üzere birçok demans formunda önemli bir faktör olarak işaret edilmektedir. Kolinerjik iletimdeki eksiklikler, kortikal ve hipokampal işleme bilgileri de dahil olmak üzere biliş ve davranışın tüm yönlerini potansiyel olarak etkileyebilir (Bartus, 1997). Kortekse kolinerjik girdilerin bozulması, dikkati ve devam eden davranışla ilgili karar verme için gerekli olan öğretici ipuçlarının kullanımını bozabilir (Muir ve ark., 1992). Ayrıca, Ca₃ kolinerjik reseptörlerin bloke edilmesinin bilgi ve hafızanın kodlanmasını bozduğu gösterilmiştir (Rogers ve ark., 2004).

Bilişsel değişikliklere ek olarak, AH hastalarında apati ve depresyon da dahil olmak üzere psikiyatrik semptomlar sıklıkla görülmektedir. Kolinerjik nöronların kaybının ve bunun sonucunda dopaminerjik iletimdeki bozulmanın AH ile ilişkili psikiyatrik semptomların altında yatan ana faktörler olabileceği öne sürülmüştür (Rosenberg ve ark., 2015; Martorana ve ark., 2014). Yapılan çalışmalarla bu hipotezi doğrulayarak, M4 nakavt farelerinin çekirdeğinde dopamin akışının arttığı gösterilmiştir. Bu bulgular için olası bir açıklama, laterodorsal tegmental çekirdekten ve pedunculopontinus çekirdeğinden çekirdek accumbens'e kadar olan kolinerjik nöronal projeksiyonların M4 otoresptörleri aracılığıyla dopamin salınımını düzenleyebilmesidir. İlginç bir şekilde, nucleus accumbens, nucleus bazalis'e yansıtılabilir ve kolinerjik nörotransmisyonu kontrol edebilir (Jeon ve ark., 2010).

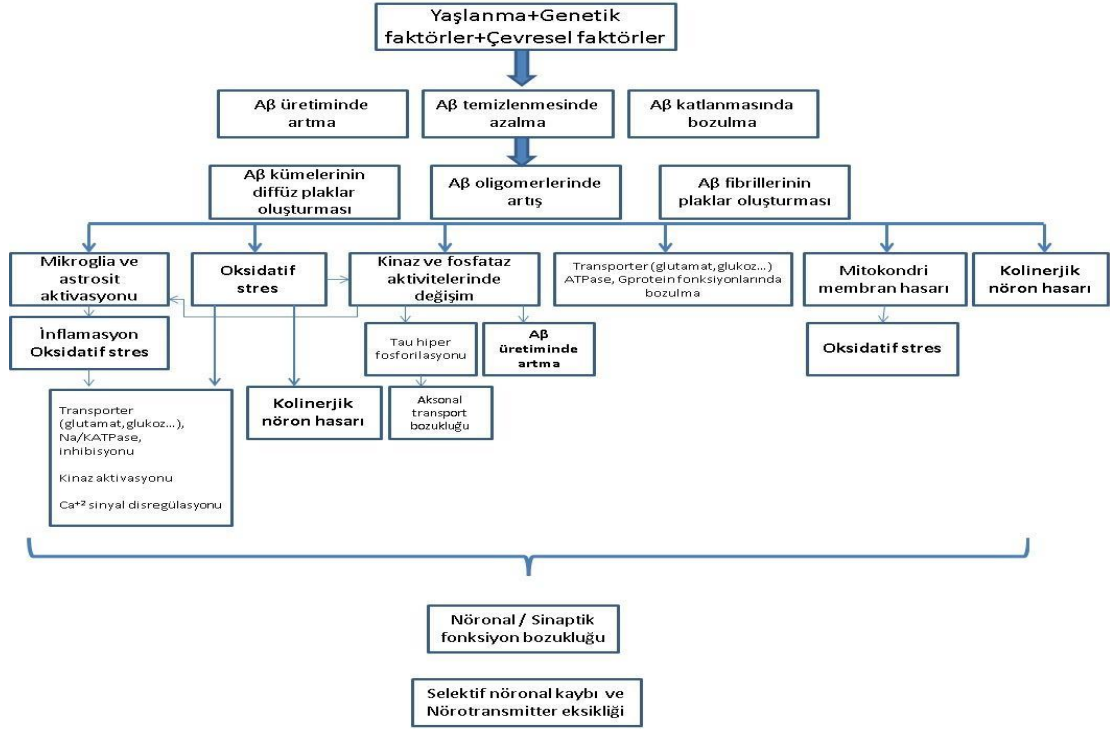
Merkezi sinir sisteminde kolinerjik sistemin önemini vurgulayan kolinerjik nöronal kayıp, özellikle bazal ön beyinde, sadece AH'de değil, aynı zamanda Parkinson hastalığında, Down sendromu, amiotrofik lateral skleroz, ilerleyici supranükleer palsi ve olivopontoserebellar atrofi ve Huntington hastalığı ile ilişkili görülmektedir (Ferrante ve ark., 1987; Aquilonous ve ark., 1975). Kısa süreli hafızanın bozulması, AH hastalarının yaşadığı ilk belirtilerden biridir.

Hastalar yavaş yavaş kötüleşir ve uzun süreli hafıza kaybı, konfüzyon, dil bozuklukları ve uyku-uyanıklık döngüsü, ruh hali değişimleri, vücut fonksiyonlarının kaybı ve ölüm gibi diğer semptomlar göstermeye başlar (Waldemar., 2007). Hastalığın hızlı ilerlemesi, etkilenen birey, aile üyeleri, bakıcılar ve toplum için büyük bir etkiye sahiptir.

Kolinerjik sinapsların özellikle A β oligomerlerinin erken nörotoksitesinden etkilendiği gösterilmiştir ve sinaptik kaybın bilişsel bozukluğun ana korelasyonu olduğu gösterilmiştir (Terry ve ark., 1991; Selkoe, 2002).

4.3.4. Alzheimer Hastalığı Oksidatif Stres Hipotezi

Beynin oksidatif strese karşı özellikle savunmasız olduğu nispeten düşük antioksidan seviyeleri, yüksek konsantrasyonda çoklu doymamış yağ asitleri ve beynin artan oksijen ihtiyacı ile açıklanmaktadır (Evans, 1993). Literatürde, Alzheimer hastalığının etiyopatogenezinde serbest radikallerin yer alabileceğine dair güçlü kanıtlar vardır (Ferreiro ve ark., 2012; Marsh ve ark., 2010; Baldeiras ve ark., 2008; Greilberger ve ark., 2008). Aşırı antioksidan oluşumu ile vücutta savunmayı uyaran ve antioksidan rezervlerinin tükenmesine neden olan aşırı serbest radikallerin birikimine neden olmaktadır (Şekil 3). Bu bağlamda, yapılan çalışmalarda hem Alzheimer tipi demans hem de hafif bilişsel bozukluğu olan hastalarda merkezi sinir sistemi ve periferik dokularda daha yüksek düzeyde lipid peroksidasyon ürünleri görülmektedir (Baldeiras ve ark., 2008; Greilberger ve ark., 2008).



Şekil 3. Amiloid kaskad hipotezi ile ilgili diğer mekanizmalar (Gök, 2016)

Antioksidan enzimatik bariyerdeki azalma, ana antioksidan enzimlerin, glutatyon peroksidazın ve süperoksit dismutazın spesifik aktivitesinde bir azalma ile (Padurariu ve ark., 2010) gösterilmiştir. Bu nedenle, demansta tanımlanan reaktif oksijen türlerinin artan üretimi, çok fazla antioksidanın "tüketilmesine" ve antioksidan sistemin vücudu "oksidatif saldırıya" karşı koruma kapasitesinin azalmasına neden olabilir. Böylece, antioksidan filtrenin azaltılması, yeni serbest radikallerin birikmesine izin verir, böylece bir "kısır döngü" oluşarak hastalıkların ilerlemesini tetikler (Baldeiras ve ark., 2008).

Aşırı serbest radikaller, lipid peroksidasyon reaksiyonları yoluyla kısmen biyokimyasal düzeyde açıklanabilen tipte nörodejeneratif patolojik değişikliklere neden olabilir. Ayrıca, oksidatif stresin DNA seviyesindeki hasarla ilişkili olduğu göz önüne alındığında, DNA yapısının oksitlenmiş azotlu bazlarını tanımlayan, bunları ortadan kaldıran ve değiştirilmemiş azotlu bazlarla değiştiren bir DNA enzimatik onarım sisteminden de bahsedebiliriz (Atamna ve ark., 2000).

Demansta oksidatif stres teorisini destekleyen diğer argümanlar, Alzheimer hastalığının erken evrelerinde bazı geçiş metalleri, özellikle demir gibi artan redoks aktif kaynaklarıyla ilgilidir (Smith, 2006). Alzheimer hastalığında terapötik bir potansiyel sunan bu tür ajanlar olan çeşitli bakır veya demir şelatörleri (örneğin desferoksamina) (Huang ve ark., 2004) tarafından uygulanan olumlu etkiyi gösteren birçok çalışma vardır. Alzheimer tipi demansta serbest radikal seviyelerini artırabilecek nedenler çeşitlidir. Alzheimer hastalığında reaktif oksijen türlerinin birikmesinin nedenleri aşağıda verilmektedir: mitokondriyal disfonksiyonlar, büyük olasılıkla solunum zinciri kusurlarına ve sonuç olarak aşırı oksijensiz radikallerin oluşumuna yol açan, hücre dışı amiloid β ($A\beta$) birikintileri, enflamasyonları indükleyen ve ROS'un bir başka potansiyel kaynağı olan mikrogliya'nın aktive olmasıdır. Ek olarak, redoks aktif metallerinin $A\beta$ kaynaklarına bağlanması hidrojen peroksit oluşumunun doğrudan reaksiyonuna neden olabilir (Beal, 2005).

Böylece, serbest radikaller mitokondriyal biyokimyasal reaksiyonlar, β amiloid plakları tarafından oluşturulan mikrogliyal aktivasyon ile, aynı zamanda demans etkilenen beyinlerde tanımlanan enflamatuvar reaksiyonlarda üretilebilir. Ek olarak, Alzheimer demansında mitokondrinin rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Alzheimer hastalığı ile ilişkili süreçlerde mitokondrinin önemi hem enerji metabolizması hem de çeşitli apoptotik yollar üzerinde yapılan kontrol yoluyla sinir hücresi sağkalımındaki temel rolü ile açıklanabilir. Bu şekilde, mitokondrinin ROS üretmenin en önemli yeri olduğu düşünülmektedir (Richter ve ark., 1995). Serbest radikallerin yüksek miktarlardaki sentezi hem fonksiyondaki anormallikler hem de mitokondriyal membran bütünlüğünde değişiklikler meydana geldiğinde hücresel yaşlanma sürecinde artar.

Mitokondriyal membran defektleri sırayla aşırı serbest radikaller tarafından üretilir, membran yapısı aynı zamanda bir lipid doğasıdır ve bu nedenle lipid peroksidasyonuna oldukça duyarlıdır.

4.4. Alzheimer Hastalığında Apolipoprotein E ϵ -4 Allelinin Rolü

Diğer genlerdeki polimorfizmler (APP veya PS lokuslarından farklı olan) ve A β peptidlerinin üretimi üzerinde herhangi bir etkiye sahip görünmeyen polimorfizmler de AH geliştirme riskini arttırdığı yapılan çalışmalarda görülmüştür (Blacker ve ark., 1998; Dodel ve ark., 2000; Roses, 1996). AH için geç başlangıçlı AH için bu genleri karakterize eden APOE'nin E4 alelinin, AH için önemli bir risk faktörü oluşturduğu kabul edilmektedir ve geç başlangıçlı AH geliştiren hastaların yüzde otuz ila ellisinde görülmektedir (Roses, 1996).

APOE, esas olarak karaciğerde sentezlenen ve APOE içeren plazma lipoprotein parçacıklarının reseptörlerin düşük yoğunluklu olduğu lipoproteine (LDL) bağlanması yoluyla, lipoprotein metabolizmasının bir aracı olarak periferde işlev gören dolaşımdaki 34-kDa'luk salgı proteinidir. Merkezi sinir sistemi (MSS) içinde, APOE esas olarak astrositler ve mikroglia tarafından sentezlenir ve salgılanır.

Önemi ise beyindeki diğer plazma apolipoproteinlerinin yokluğuyla başlar (Weisgraber ve ark., 1996). Beyin APOE'sinin membran onarımı ve sinaptik plastisite sırasında lipid ve kolesterolün yeniden dağıtılmasında ve beyin omurilik sıvısında APOE içeren lipoproteinlerin taşınmasında rol oynadığı bilinmektedir (Mauch ve ark., 2001; Roheim ve ark., 1979).

İnsanlarda, üç ortak APOE aleli bulunmaktadır: ϵ 2, ϵ 3 ve ϵ 4. Sadece bir veya iki amino asit (ϵ 2 Cys¹¹²Cys¹⁵⁸; ϵ 3 Cys¹¹²Arg¹⁵⁸, ϵ 4Arg¹¹²Arg¹⁵⁸) ile farklılık gösteren üç APOE izoformu, AH geliştirme riskinde en az yirmi kat fark sağlar (ϵ 4> ϵ 3> ϵ 2). ϵ 4 alel frekansının nispeten düşük olduğu Japonya'da bile, AH ile ilişkisi kurulmuştur (Yamanaka ve ark., 1998). Sonuç olarak APOE alelleri, AH'nin en yaygın görülen geç başlangıçlı formu için önemli genetik risk faktörleri arasındadır. ϵ 4 ve ϵ 2 alelleri sırasıyla AH geliştirme riskini artırır ve azaltır.

Yapılan çalışmalarda, AH'nin iki temel nöropatolojik özelliği olan amiloid birikintileri ve nöritik plaklar oluşturmak için A β peptidlerinin birikmesi ve fibrilizasyonunda APOE için kritik bir rolü desteklemektedir.

Mutasyona uğramış bir APP transgenini (APPV717F transgenik fareleri) aşırı eksprese eden çeşitli transgenik fare suşlarını kullanarak, fare ve insan APOE izoformlarının çeşitli kombinasyonları ile birlikte, APOE'nin izoform bağımlı etkileri gösterilmiştir. APOE'nin amiloid birikimi ve nöritik plak oluşumu üzerindeki etkilerinin altında yatan hücrel mekanizmalar hala tam olarak anlaşılamamıştır, ancak büyük olasılıkla APOE ile a_2 arasında metabolizmayı veya a_2 'nin temizlenmesini veya her ikisini de değiştiren doğrudan bir etkileşimi içerir. APOE esas olarak glia'da (hem astrositler hem de mikroglia) ifade edildiğinden ve glial aktivasyon AH'nin belirgin bir özelliği olduğundan (özellikle nöritik plaklar da dahil olmak üzere A β birikintileri etrafında), APOE'nin kısmen AH patogeneğinde “nöroinflamasyon” oluşturduğu gözlenmektedir. Sonuç olarak, glial aktivasyonu ve APOE ekspresyonunu (özellikle APOE4) azaltan ilaçlar, amiloid birikimini ve nöritik plak oluşumunu inhibe etmektedir (Bales ve ark., 2002).

4.5. *Cannabis sativa*

Hint keneviri bitkisinin (*Cannabis sativa*, *C. sativa*) kullanımı Asya'da çok eskilere dayanmaktadır. Tıbbi ve tıbbi olmayan amaçlarla yüzyıllardır kullanılmıştır. Tedavi edici özelliklerine Çin Farmakopesinde milattan önce yaklaşık 200'lü yıllarda değinilmesine rağmen, *C. sativa* kökenli kimyasal etken maddelerin (kannabinoidlerin) yapılarının ve farmakolojik etki mekanizmalarının aydınlatılmasına özellikle son 100 yılı kapsayan zaman diliminde yapılan yoğun çalışmalar ışık tutmuştur.

Yapılan çalışmalarda, *C. sativa*'da 538 doğal bileşik tanımlanmıştır (Johnson ve ark., 1992). *C. sativa* “kannabinoid” adı verilen ve kimyasal olarak 21 karbonlu alkoloid içeren bir bitkidir. Farmakolojik açıdan aktif bileşenlerinin başında Δ^9 -tetrahidrokannabinol (Δ^9 -THC), CBD, kannabigerol (CBG) ve kannabinol gelmektedir. Kannabinoid terimi kannabinoid reseptörlerini aktive edebilen bütün bu maddeler için kullanılmaktadır (Devane ve ark., 1992).

1992 yılında ilk olarak domuz beyinde endojen bir lipid olan araşidoniletanolamin keşfedilmiş ve Kannabinoid Reseptör Tip 1 (CB1)'e bağlandığı gösterilmiştir (Schmid ve ark., 1985). Bu endojen lipide keyif ve mutluluk verici anlamına gelen “Ananda” ile kimyasal yapısındaki “amid”in birleşimi olarak Anandamid ismi verilmiştir. Anandamid beyinde araşidonik asitten üretilen bir kannabinoid nörotransmitterdir (Natarajan ve ark., 1984). Çoğunlukla yağ asidi amid hidrolaz (FAAH) enzimi tarafından parçalanır ve yok edilir. Anandamid vücutta bağışıklık sisteminde görev alır; beyinde, hafıza, uyku düzeni, ağrı hissi vb. fonksiyonlarda da etkili olduğu bildirilmiştir (Maccarrone ve ark., 1998; Sugiura ve ark., 2006; Varma ve ark., 2001).

Anandamid motivasyon ve memnuniyet duygusunun oluşumunda da rol almaktadır. Anandamidin ilk endokannabinoid olarak tanımlanmasından sonra yine bir araşidonik asit türevi olan ester yapısındaki 2-araşidonil gliserol (2-AG) bulunmuştur. 2-AG kannabinoidin beyinde sinyal görevine ilave olarak, çeşitli metabolik süreçlerde de görev almasından dolayı, genellikle, dokulardaki ve hücrelerdeki seviyeleri, anandamidden daha yüksektir (Kim ve ark., 2002). Endokannabinoidlerin eksitotoksisteyi, kalsiyum akışını ve enflamasyonu önleyerek nöroprotektif rol oynadıkları ve iskemik ataklar sırasında beyindeki nöronal hasarı azalttıkları bildirilmiştir (Witting ve ark., 2004; Di ve ark., 2005).

Bu sistemin sinaptik plastisite, nöroinflamasyon ve nörodejenerasyon, davranış ve duygudurum bozuklukları, uyku döngüsünün düzenlenmesi, bağışıklık fonksiyonu dâhil olmak üzere çeşitli patolojik durumlar ve yaşlanma süreçleriyle ilgili etkilerinin olduğu belirtilmiştir.

Epilepsi, travmatik beyin hasarı, felç, multipl skleroz, Parkinson, Huntington, amiotrofik unilateral skleroz ve AH gibi kronik nörodejeneratif hastalıklarda da nöroprotektif rollerinin olduğu gösterilmiştir (Matsuda ve ark., 1990; Gerard ve ark., 1991).

Çalışmamızda kullanmayı planladığımız CBD majör psikoaktif etkilere sahip *C. sativa*'nın önemli bileşiklerinden biridir. CBD ve Δ^9 -THC arasındaki yapısal benzerliğe rağmen; CBD, kannabinoid reseptörleri için düşük bir agonizme sahiptir; özellikle CB1 ve CB2 reseptörlerinin allosterik negatif modülatörü olarak kabul edilir. Mevcut çalışmalar CBD'nin adenosin reseptörleri, glisin reseptörleri, opioid reseptörleri, serotonin reseptörleri, endokannabinoid olmayan G protein-bağlı reseptörleri, nikotinik asetilkolin reseptörlerine etki ettiğini göstermektedir.

Yapılan literatür çalışmalarında, CBD'nin AH, Parkinson hastalığı, epilepsi, kanser ve infertilite gibi hastalıklarda tedaviye yönelik araştırmaların devam ettiği görülmektedir.

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma 50.2019.mar protokol kodu ile ‘Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul’ tarafından onaylanmıştır (Ek 1).

Çalışmada kullanılan hayvanlar:

Türü: Rattus	Cinsi: Norvegicus
Suşu: Sprague	Cinsiyeti: Erkek/Dişi
Yaşı: 3-4 aylık	Ağırlığı: 220-260 g

5.2. Hayvanların gruplandırılması:

Deneyde kullanılan sıçanlar aşağıdaki gruplara ayrılmıştır:

- Kontrol Grubu (K): Sitrata tamponu uygulanan grup (n=6)
- Alzheimer Grubu (A): A β ₄₂ uygulanan grup (n=6)
- Alzheimer +CBD Grubu (AC): A β ₄₂+ CBD uygulanan grup (n=6)

5.3. Vücut Ağırlığı Ölçümü

Deneyde kullanılan sıçanlar i.c.v. A β ₄₂ peptidi enjeksiyonundan önce ve sonra ayrıca davranış deneylerinin sonunda tartılmıştır.

5.4. AH'nin İndüklenmesi ve Deney Protokolü

Hastalık modeli oluşturma amacıyla A β ₄₂ çözeltisi hazırlanmasında A β ₄₂ peptidi'nin 1 mg'ı 250 µl distile suda çözülmüştür. Fibril benzeri yapılar ve oligomerler oluşması için 72 saat 37°C'deki etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Tüm sıçanlara serum fizyolojik içinde çözülerek hazırlanan Ketamin (100 mg/kg) ve Ksilazin (5 mg/kg) intraperitoneal yolla uygulanarak anestezi oluşturulmuştur. AH modeli oluşturulan sıçanlara (A, AC) A β ₄₂ peptidi (2,2 nmol, 10 µl) i.c.v. olarak uygulanmıştır. Anestezik madde verildikten sonra stereotaksik cihaza yerleştirilen

sıçanların kafası cihaza sabitlendirilmiştir. Kafa derisi gözler hizasından esneye kadar kesilip üzerindeki periost sıyrılmıştır.

İ.c.v. uygulama şekli beyin için olan uygulamalarda kullanılmaktadır. Sterotaksi cihazı altında anestezi yapılan ve başı fıkse edilen sıçanda insiyon ile açığa çıkan bregma belirlenir. Paxinos & Watson sıçan beyin atlasına göre girilecek yerin koordinatları (AP, DV, L) hesaplanıp giriş yapılır.

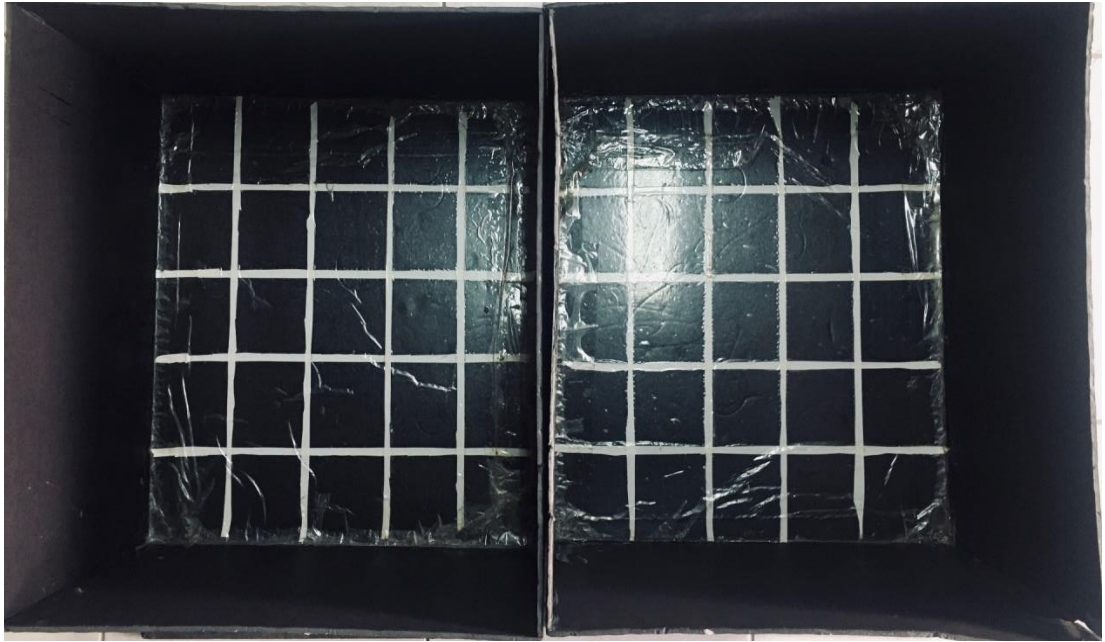
Kanülü sabitlemek için, kanülün çevresi akrilik ile sıvandı. Bu sıvama işlemi kafatası üzerine takılı olan vidaları ve kafatasının bir kısmını kapsayacak şekilde çevreye doğru genişletiletti. Akrilik çimento kuruyup sertleşinceye kadar beklenmiştir. Stereotaksik cerrahi ile kanüllerin yerleştirilmesini takiben sıçanların kendilerini toparlamaları için 1 hafta beklendi. Bir haftalık dinlenme sürecinin ardından A ve AC grubu hayvanları tekrar anestezi edilerek A β ₄₂ peptidi (2,2 nmol, 10 μ l) takılan kanül içerisinden Hamilton mikroiğnesi (26 G) yardımıyla 1 μ l/dk hızında enjekte edilmiş ve enjektör 5 dakika boyunca belirlenen bölgede bırakılmıştır. Kontrol grubunda bulunan sıçanlara 10 μ l fizyolojik Sitrata tamponu i.c.v. olarak enjekte edilmiştir (Calzavara ve ark., 2009). Ardından bekleme süresi olmadan ertesi gün davranış testlerine geçilmiştir.

- Kontrol (yalancı operasyon) Grubu (K): Unilateral ventriküllere toplam 10 μ l Sitrata tamponu uygulanmıştır. Ameliyat sonrası bir haftalık iyileşme döneminden sonra i.c.v. olarak 2 hafta boyunca her gün tedavi yerine 10 μ l sitrat tamponu verilmiştir.
- Alzheimer Grubu (A): Unilateral ventriküllere toplam 2,2 nmol/10 μ l A β ₄₂ uygulanmıştır. Ameliyat sonrası bir haftalık iyileşme döneminden sonra i.c.v. olarak 2 hafta boyunca her gün tedavi yerine 10 μ l sitrat tamponu verilmiştir.
- Alzheimer+CBD Grubu (AC): Unilateral ventriküllere toplam 2,2 nmol/10 μ l A β ₄₂ uygulanmıştır. Ameliyat sonrası bir haftalık iyileşme döneminden sonra i.c.v. olarak 2 hafta boyunca her gün 10 μ l hacminde 10 mg/kg CBD verilmiştir.

5.5. Davranış Testleri

5.5.1. Açık Alan Testi

İyileşme döneminin ardından çalışmanın 7. gününde açık alan testi, hayvanların diğer öğrenme-bellek testlerinden önce uygulanmış ve hayvanların lokomotor aktiviteleri ve anksiyete olup olmadığı bu test ile değerlendirilmiştir. Açık alan testi 50x50x30 cm siyah pleksiglastan yapılmış bir düzeneğe yapılmıştır. Deneye hayvan test düzeneğine periferik bölgenin köşesinden konularak başlanılmıştır. 5 dakika süre ile hayvanların hareketleri kamera ile kayıt altına alınmıştır. Kayıt altına alınan videolarda hayvanların şahlanma sayısı, çizgi geçme sayısı lokomotor aktivitelerini değerlendirmek için kullanılmıştır. Şahlanma sayısı ve çizgi geçme sayısının yanında süslenme sayısı, merkez bölgeye ilk geçiş süresi ve merkez bölgede geçirilen süre de hayvanların anksiyete durumlarını değerlendirmek için kullanılmıştır (Bevins ve Besheer, 2006).



Şekil 4. Açık Alan Testi

5.5.2. Yeni Obje Tanıma Testi

Çalışmanın 8. gününde yeni obje tanıma testi 50x50x30 cm boyutlarında siyah pleksiglas malzemeden yapılmış bir düzenekte yarı karanlık ortamda uygulanmıştır. Her bir hayvan teste alınmadan önce objeler ve düzeneğin etanolle temizlenmiştir. Her bir hayvan 60 dakika arayla 3 dakika süresince düzeneğe yerleştirilmiştir. İlk yerleştirme tanıma evresi olarak adlandırılmıştır. Bu süreçte aynı iki nesne test düzeneğine yerleştirilmiş ve 3 dakika boyunca hayvan düzenekte serbestçe gezinerek bu nesneleri tanıması sağlanmıştır. 3 dakika süre dolduğunda hayvan düzenekten alınarak kafesine konulmuştur (T1). 60 dakika sonra aynı hayvan tekrar düzeneğe alınmış ve T1'de görmüş olduğu objelerden bir tanesi değiştirilerek 3 dakika boyunca yeniden serbestçe gezinmesi sağlanmıştır. Her iki periyod da kamera sistemi yardımıyla kayıt altına alınmış ve hayvanların T2'de her iki objeye olan ilgileri skorlandırılmıştır. Hayvanın yeni objeye karşı olan ilgisinin eski objeye karşı olan ilgisine oranı bu hayvanın öğrenme ve bellek fonksiyonunun bir ölçüsü olarak kabul edilmiştir (Abdel ve ark., 2011).



Şekil 5. Yeni Obje Tanıma Testi

5.5.3. Pasif Sakınma Testi

Çalışmanın 9.-10. günlerinde pasif sakınma testi uygulanmıştır. Aparat, üzerinde aralarında geçiş kapısı bulunan bir duvarla ayrılmış aydınlık ve karanlık olmak üzere iki farklı bölmeden (her biri 20x25x30) oluşmaktadır. Bölmelerden biri ışık yardımıyla aydınlık tutulmaktadır. Test kazanma ve sakınma olmak üzere 2 ardışık gün uygulanmıştır. Kazanma deneyinde, her bir sıçan tek tek ışıklı bölmeye yerleştirilmiştir ve karanlık bölmeye geçtiğinde ızgara zemini üzerinden ayaklarına elektrik şoku uygulanmıştır. Sıçan hızlı bir şekilde alınmış ve kafesine konulmuştur. Sakınma deneyi 24 saat sonra gerçekleştirilmiş olup, sıçanlar yine ışıklı bölmeye konulmuştur. Işıklı bölmeye konduktan sonra karanlık bölmeye geçiş süresi kaydedilmiştir. 3 sn süre ile 0.5 mA elektrik şoku uygulanmıştır. 300 saniye içerisinde karanlık bölmeye geçmeyen hayvanların testi sona erdirilmiş ve geçiş süresi 300 saniye kabul edilmiştir (Bevins ve Besheer, 2006).



Şekil 6. Pasif Sakınma Testi

5.5.4. Morris'in Su Tankı Testi

Çalışmanın 11.-15. günleri arasında Morris'in su tankı testi uygulanmıştır. Su tankı çapı 160 cm, yüksekliği 35 cm olan dairesel bir tanktan oluşmaktadır. Tank çalışmanın yapılabilmesi için hayali iki dik kesişen çap ile dört eşit kadrana ayrılmış şekilde bölünmüştür. Tank içerisinde ortamla aynı renkte (görüntüyle ilgili yanlış sonuç oluşmaması için) 10x10x10 cm ölçülerinde bir kaçış platformu içermektedir. Bu platform çalışma boyunca havuzun sabit bir kadranda ve su yüzeyinin 1,5 cm altında tutulmuştur. Platformun gözükmemesi için su doğal boyalarla renklendirilmiş ve suyun sıcaklığı 22 ± 2 °C dereceye getirilmiştir. Sıçanlar yüzleri duvara bakar bir halde kaçış alanı bulunmayan bir kadranın kenarında bir başlangıç noktasına yavaşça bırakılmıştır. 75 saniye içerisinde kaçış platformunu bulamayan hayvanlar kibarca platforma yönlendirilmiş ve 20 saniye boyunca üzerinde kalması sağlanarak platformu öğrenmesi sağlanmıştır. Hayvanlara 4 ardışık gün boyunca yaklaşık 10'ar dakika ayırarak 4 deneme yapılmış ve bu süre zarfında platforma ulaşmak için geçen süre değerlendirilmiştir. 5. gün platform yerinden kaldırılmış, sıçanların daha önce platformun bulunduğu kadranda ne kadar süre geçirdiği hesaplanmak üzere prob denemesi gerçekleştirilmiştir. Hayvanlar çalışmayı sonlandırmadan önce 60 saniye boyunca serbest bir şekilde yüzmeye bırakılarak prob çalışmaları başlatılmıştır. Bu test uzaysal öğrenme ve hafızanın bir ölçüsü olarak kabul edilmiştir. Datalar video kamera ile kaydedilmiştir (Bevins ve Besheer, 2006).



Şekil 7. Morris'in Su Tankı Testi

5.6. Sıçanların Dekapitasyonu

Deney hayvanları tüm testler bittikten sonra giyotin kullanılarak sakrifiye edilmiştir.

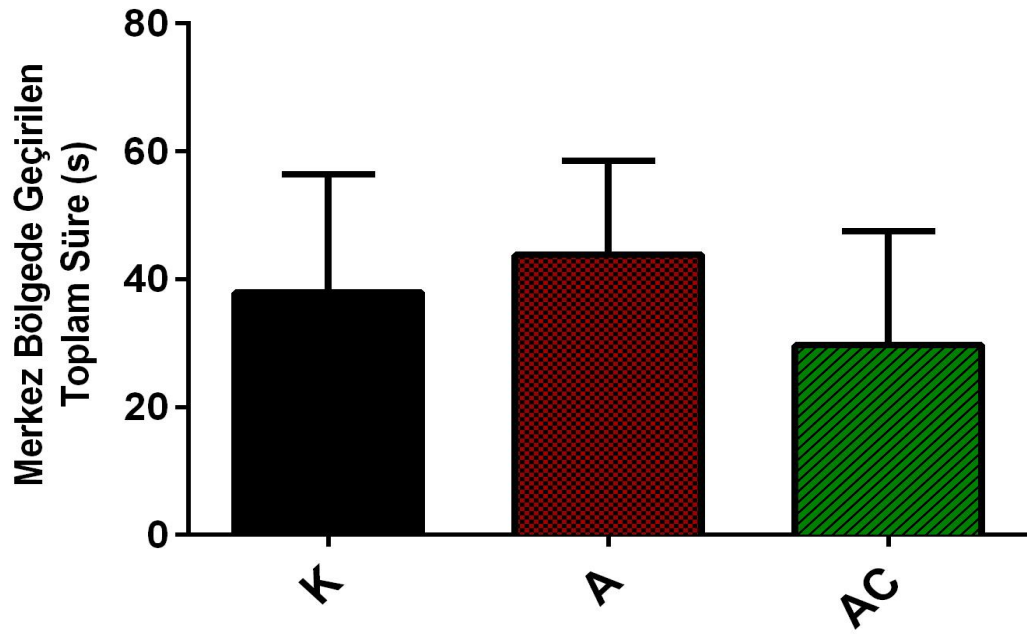
5.7. Elisa Analizi

Sıçanların hipokampuslarından ve kortekslerinden elde edilen doku homojenatlarında üreticinin (Bioassay Technology Laborator, Korain Biotech Co., Ltd (Shanghai, China)) belirlemiş olduğu protokole uygun olarak İnterlökin-1 β aktivitesi ile Tümör nekroz faktör- α aktivitesi ölçülmüştür. Absorbans ölçümleri 450 nm dalga boyunda yapılmıştır.

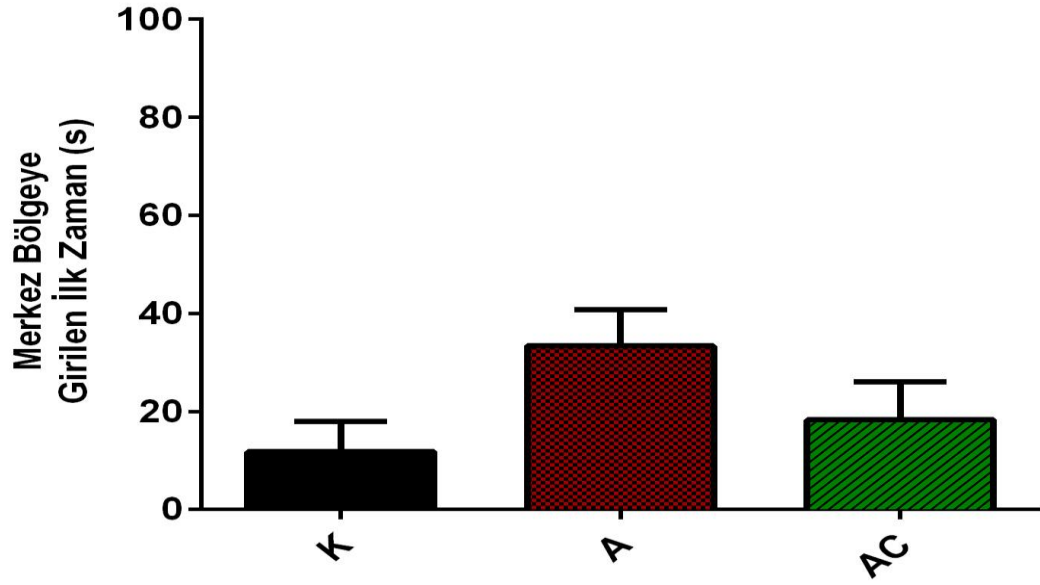
6. BULGULAR

6.1. Açık Alan Testi Bulguları

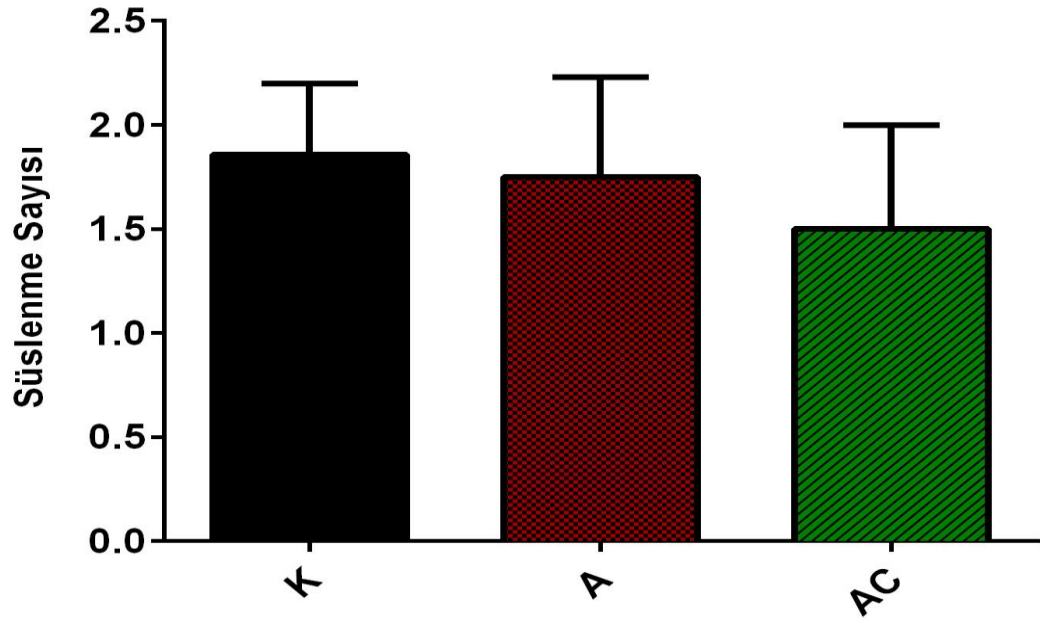
Açık alan testi verilerine göre merkez bölgede geçirilen toplan süre, merkez bölgeye girilen ilk zaman, şahlanma sayısı ve süslenme sayısı grafikleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı gözlenmektedir.



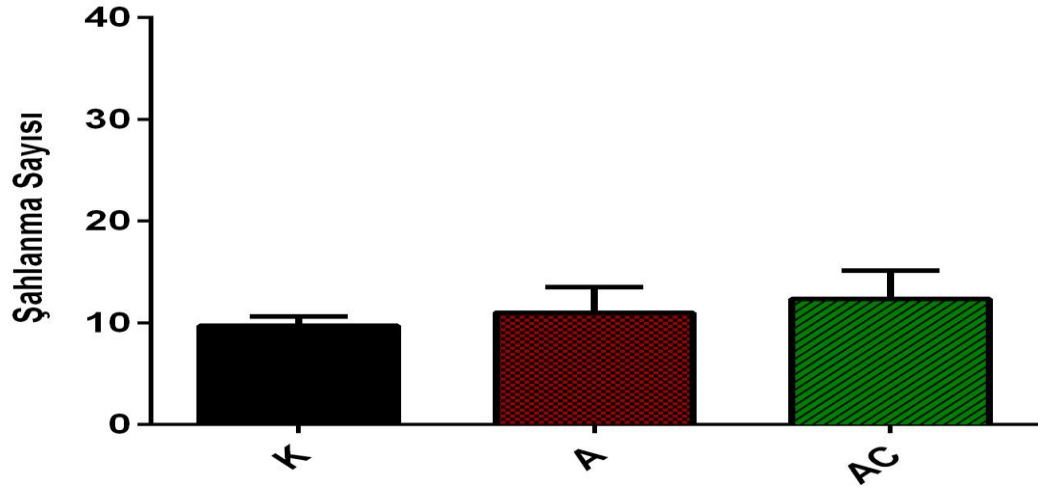
Şekil 8. Açık alan testine ait merkez bölgede geçirilen sürenin fark skoru grafiği. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi kullanılmıştır.



Şekil 9. Açık alan testine ait merkez bölgeye girilen ilk zaman grafiği (s). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi kullanılmıştır.



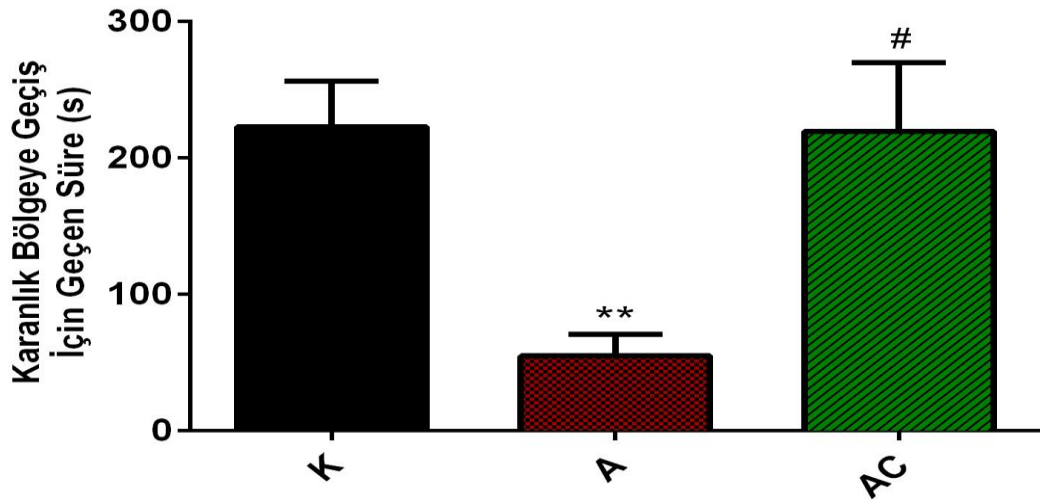
Şekil 10. Açık alan testine ait yapılan süslenme sayısı. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi kullanılmıştır.



Şekil 11. Açık alan testine ait yapılan şahlanma sayısı. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi kullanılmıştır.

6.2. Pasif Sakınma Testi Bulguları

Pasif sakınma testi verilerine göre, Alzheimer grubu, Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında karanlık bölgeye geçiş için gereken sürede anlamlı azalma görülürken ($p < 0.01$); Alzheimer+Cannabidiol grubu ile Alzheimer grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir artış bulunmuştur ($p < 0.05$) (şekil 12).

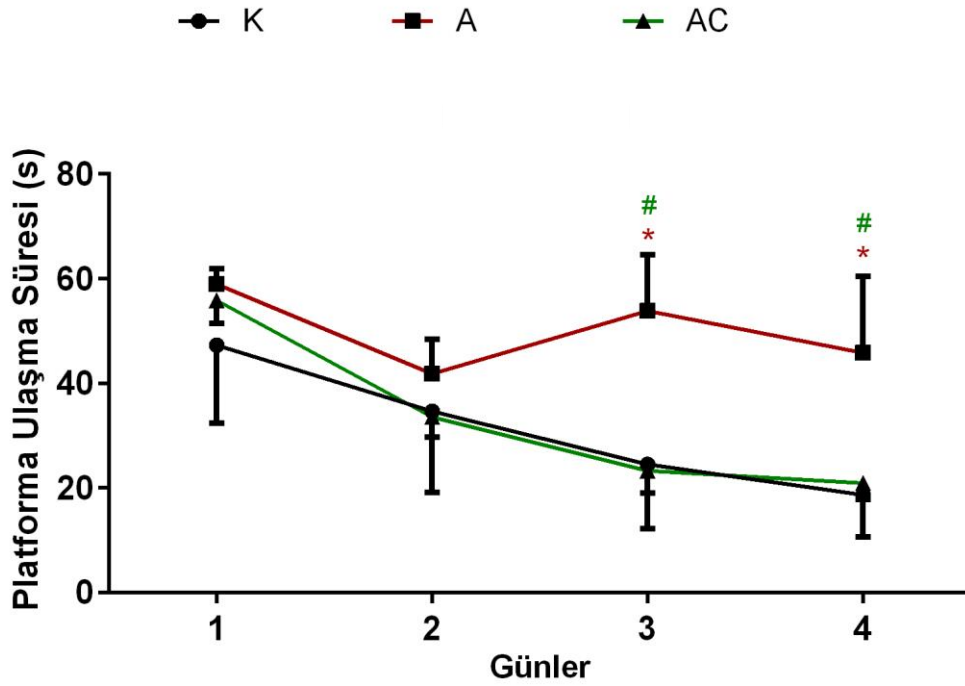


Şekil 12. Pasif sakınma testi, karanlık bölgeye geçiş için geçen süre (s). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi kullanılmıştır.

** $p < 0.01$ K grubuna göre, # $p < 0.05$ A grubuna göre.

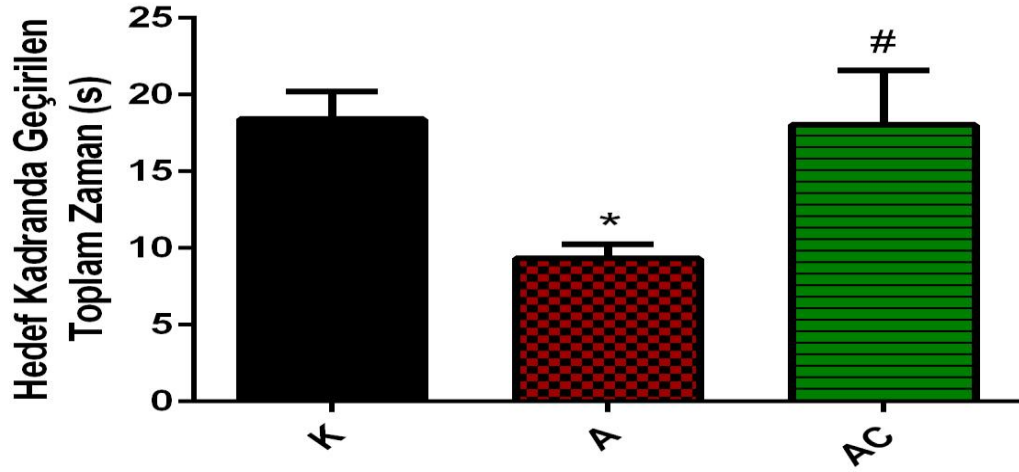
6. 3. Morris'in Su Tankı Testi Bulguları

Morris'in su tankı testinde havuz içindeki platforma ulaşma süreleri ve hedef kadranda geçirilen toplam zaman grafiklerle gösterilmiştir (Şekil 13 ve 14). Alzheimer grubunun kontrol grubuna göre Morris'in su tankı testinde platforma daha uzun sürede ulaşırken ($p<0.05$); CBD ile tedavi edilen Alzheimer grubunun ise platformu daha kısa sürede bulduğu görülmüştür ($p<0.05$) (Şekil 13). Hedef kadranda geçirdikleri süreler değerlendirildiğinde Alzheimer grubu ile kontrol grubunda bu süre azalırken ($p<0.05$), Alzheimer grubu ile Alzheimer+Cannabidiol gruplarında ise sürenin uzadığı saptanmıştır ($p<0.05$).



Şekil 13. Morris water maze testinde 1. gün ve 4. gün arasındaki platforma ulaşma süreleri ortalamaları (s). İstatistiksel analiz için iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi kullanılmıştır.

$p<0.05$ K grubuna göre, # $p<0.05$ A grubuna göre.



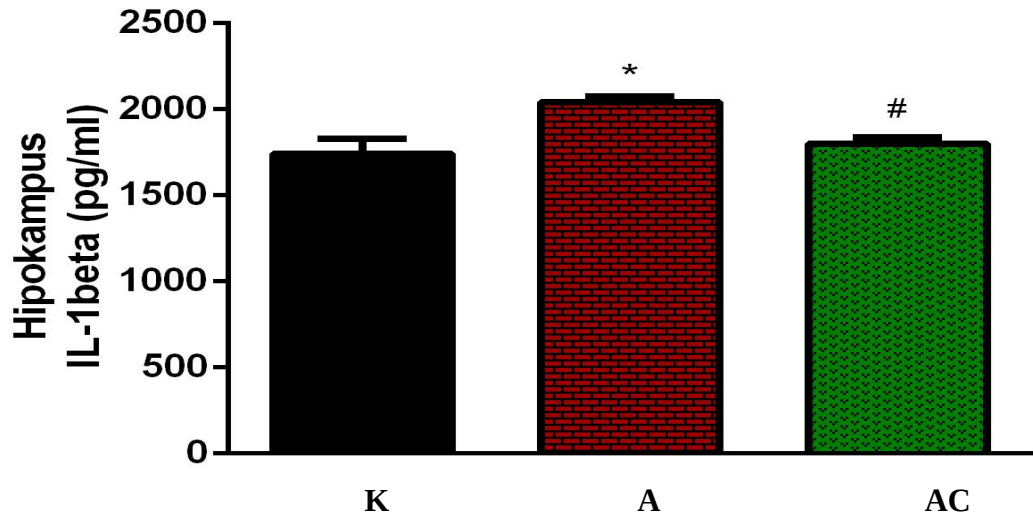
Şekil 14. Morris water maze testinde hedef kadranda geçirilen toplam zaman grafiği (s). İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi kullanılmıştır.

* $p < 0.05$ sırasıyla K ve A grubuna göre.

6.4. Biyokimyasal Analiz Bulguları

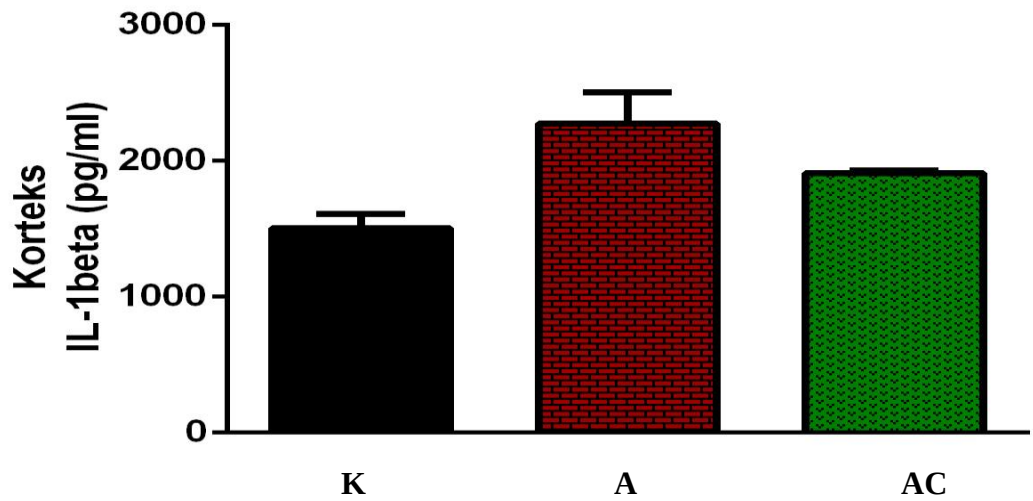
6.4.1. İnterlökin-1 β (IL-1 β) aktivitesi

Deneyde kullanılan sıçanların beyin dokularından elde edilen örneklerde ELİSA yöntemiyle IL-1 β 'nın düzeyleri belirlenmiştir. Hipokampus dokularında yapılan IL-1 β aktivitesi ölçümlerinde Kontrol grubu ile Alzheimer grubu karşılaştırıldığında Alzheimer grubunda anlamlı bir artış görülürken ($p < 0.005$) CBD uygulanan Alzheimer grubunda ise anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0.005$) (Şekil 15). Bundan farklı olarak korteks dokusunda IL-1 β aktivitesi ölçümlerinde tüm gruplar arasında anlamlı fark gözlemlenmemiştir (Şekil 16).



Şekil 15. Hipokampus IL-1 β grafiği. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi kullanılmıştır.

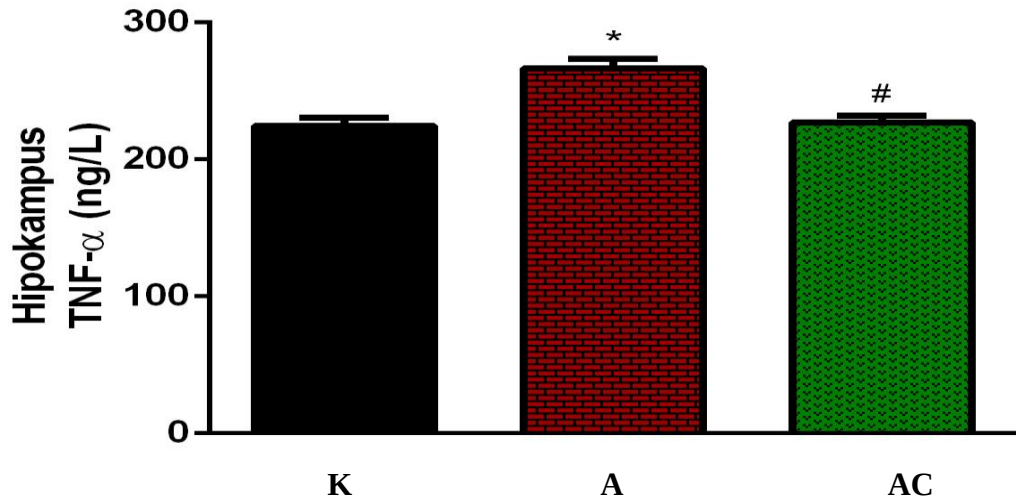
* $p < 0.05$ sırasıyla K ve A grubuna göre.



Şekil 16. Korteks IL-1 β grafiği. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi kullanılmıştır.

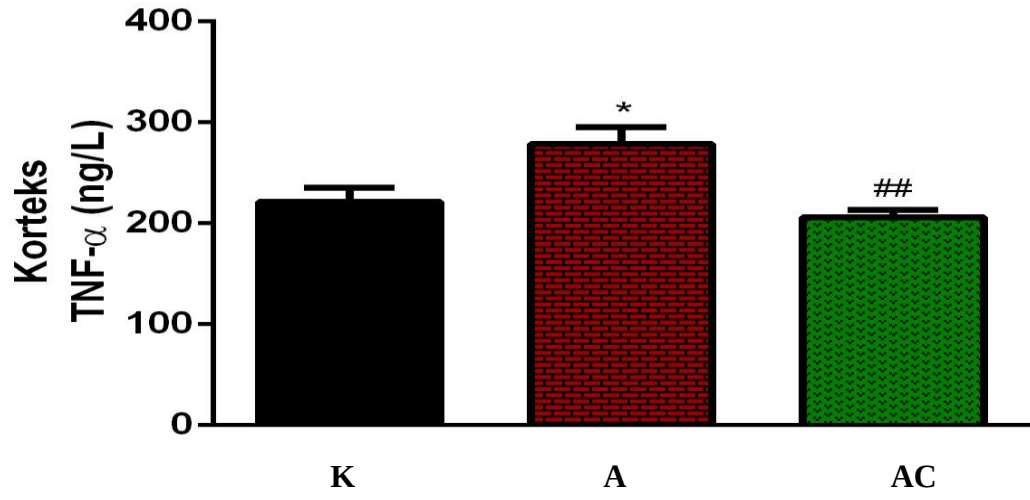
6.4.2. Tümör nekroz faktör- α (TNF- α) aktivitesi

Deneyde kullanılan sıçanların beyin dokularından elde edilen biyokimyasal analizlerin sonucunda TNF- α aktivitesinin ölçümlerinin düzeyleri aşağıda belirlenmiştir. Hipokampus ve korteks dokularında yapılan TNF- α aktivitesi ölçümlerinde Alzheimer grubu ile CBD grubunun karşılaştırıldığında gruplar arası anlamlı bir artış gözlenirken ($p<0.05$); Alzheimer ve Alzheimer+Cannabidiol grupları arasında ise anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0.05$, $p<0.001$) (Şekil 17, 18).



Şekil 17. Hipokampus TNF- α grafiği. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi kullanılmıştır.

* $p<0.05$ sırasıyla K ve A grubuna göre.



Şekil 18. Korteks TNF- α grafiği. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post hoc testi kullanılmıştır.

$p < 0.01$ K grubuna göre, * $p < 0.05$ AC grubuna göre.

7. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

AH orta ve geç yaş popülasyonunda ortaya çıkan ilerleyici demans tablosu ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. DSÖ verilerine göre bugün dünya çapında yaklaşık 50 milyon kişinin demansının olduğu bilinmekte ve bu sayının 2030 yılında 82 milyonu, 2050 yılında ise 152 milyonu aşması beklenmektedir. Türkiye’de 65 yaş öncesi AH, 30.000-40.000 kişide görülürken 65 yaş üstünde toplumun %5’ini etkilemekte, 85 yaş üstü popülasyonunun ise %30-50’sinde görülmektedir. AH ile ilişkili olan patolojik faktörler arasında ekstraselüler A β plakların agregasyonu, intraselüler NFY birikimi, oksidatif stres ve inflamasyon en başta gelir. Bu değişiklikler nöroinflamasyon ve oksidatif strese neden olarak nörodejenerasyonu güçlendirmekte ve sonuçta kognitif fonksiyonlarda azalmaya yol açarak nörotoksisite oluşturmaktadır.

En yaygın nörodejeneratif hastalıklardan biri olan AH yaşlı bireylerde görülen demans vakalarının %80’ini teşkil etmektedir. AH histopatolojik olarak hücre dışında biriken amiloid plaklar ve hücre içinde gözlenen NFY ile karakterize edilmektedir. Amiloid plaklar A β peptidlerinin polimerize olarak fibriller şeklinde β -yaprak formunda birikiminden oluşmaktadır. Daha önceki araştırmalarda A β peptidlerinin ya doğrudan hücre yüzeyindeki fonksiyonel protein kompleksleri ile etkileşerek ya da dolaylı olarak astrosit ve mikrogliya aktivasyonu ile normal fizyolojik süreçleri bozarak nörodejeneratif değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir.

Çalışmamızın bulguları değerlendirildiğinde açık alan testi verilerine göre merkez bölgede geçirilen toplan süre, merkez bölgeye girilen ilk zaman, şahlanma sayısı ve süslenme sayısı grafikleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı gözlenmektedir. Pasif sakınma testi sonuçlarına incelendiğinde; Alzheimer grubu, Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında karanlık bölgeye geçiş için gereken sürede anlamlı azalma görülürken; Alzheimer+Cannabidiol grubu ile Alzheimer grubu karşılaştırıldığında ise anlamlı bir artış bulunmuştur.

Morris'in su tankı testinde; Alzheimer grubu kontrol grubuna göre platforma daha uzun sürede ulaşırken; CBD ile tedavi edilen Alzheimer grubunun ise platformu daha kısa sürede bulduğu görülmüştür. Hedef kadranda geçirdikleri süreler değerlendirildiğinde Alzheimer grubu ile kontrol grubunda bu süre azalırken, Alzheimer grubu ile Alzheimer+Cannabidiol gruplarında ise bu sürenin uzadığı ölçülmüştür. Deneyde kullanılan sıçanların beyin dokularından elde edilen örneklerde ELİSA yöntemiyle IL-1 β ve TNF- α 'nın düzeyleri belirlenmiştir. Hipokampus dokularında yapılan IL-1 β ve TNF- α aktivitesi ölçümlerinde Kontrol grubu ile Alzheimer grubu karşılaştırıldığında Alzheimer grubunda anlamlı bir artış görülürken; CBD uygulanan Alzheimer grubunda ise anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bundan farklı olarak Korteks dokusunda ise sadece Alzheimer grubunda TNF- α azalırken; Alzheimer+CBD grubunda anlamlı bir artış gözlemlenmiştir.

Pasif sakınma testi emosyonel öğrenme ve bellek işlevini değerlendirmede kullanılan bir testtir. Aydınlik bölmeye konan deneğin elektrik şoku uygulanan karanlık bölmeye geçiş süresinin kısalması emosyonel öğrenme ve belleğin bozulduğunu göstermektedir. Bu çalışmada da görüldüğü gibi A β ₄₂ peptidi kullanılarak oluşturulan Alzheimer grubunda geçiş süresinin; kontrol ve CBD tedavisi uygulanmış Alzheimer grubuna göre anlamlı derecede, azaldığı görülmüştür. Bu çalışmada A β ₄₂ peptidi uygulamasının deneklerde geçiş süresini azalttığı ve bu durumunda emosyonel öğrenme ve bellek bozukluğunu ifade ettiği görülmüştür. Diğer taraftan AH indüklenen sıçanlara CBD verildiğinde kognitif işlevlerinin fonksiyonların düzeldiği gözlenmiştir.

Yapılan deneysel çalışmalarda; sıçanlarda üç boyutlu öğrenme ve bellek fonksiyonlarının araştırılmasında Morris'in su tankı testi kullanılmaktadır. Bu testte deneğin çevrede sabit konumda duran nesneler yardımıyla, yüzme havuzunda sabit bir çeyrekte gizlenmiş olan platformu bulabilme yeteneği araştırılır. Çevredeki nesneler yardımıyla konumu saptama, yani üç boyutlu öğrenme ve bunu belleğe kaydetme ile normal bir sıçanın ilerleyen test günlerinde daha kısa süre içerisinde platforma ulaşması beklenir.

Deney günü platform kaldırıldığında platformun bulunduğu çeyrekte harcadığı zaman, buraya ilk yönelme zamanı ve katettiği mesafeden sıçanın öğrenme becerisi ile ilgili bilgi edindiği belirtilmiştir (Işık ve ark., 2009). Çalışmamızda yapılan Morris'in su tankı testinde; Alzheimer grubu kontrol grubuna göre platforma daha uzun sürede ulaşırken; CBD ile tedavi edilen Alzheimer grubunun ise platformu daha kısa sürede bulduğu görülmüştür. Hedef kadranda geçirdikleri süreler değerlendirildiğinde Alzheimer grubu ile kontrol grubunda bu süre azalırken, Alzheimer grubu ile Alzheimer+Cannabidiol gruplarında ise bu sürenin uzadığı saptanmıştır. Bulgularımızı değerlendirdiğimizde CBD uygulaması yapılan Alzheimer grubunda tek başına Alzheimer hastalığı oluşturulan gruba göre öğrenme ve bellek yeteneklerinin düzeldiği gözlemlenmiştir.

AH'de proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , IL-1 (özellikle IL-1 β) ve IL-6'nın beyin hipokampusunda ve kortekste arttığı ve inflamasyon oluşturduğu bildirilmiştir. Bu bölgede oluşan TNF- α 'nın amiloid plak oluşumuna neden olduğu ve bu durumun da öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki bozukluklara aracılık ettiği belirtilmiştir (Zhu ve ark., 2014). Dahası önceki çalışmalarda artan sitokin ekspresyonunun bilişsel bozuklukların ortaya çıkışını hızlandırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle AH tedavisinde kognitif bozuklukların önlenmesi önemli hedeflerden biridir. Yapılan diğer bir çalışmada oluşturulan nöron hasarına karşı CBD'nin, koruyucu bir yanıt oluşturmak için glutamat salınmasını engellediği (Mackie, 2006), yine başka bir çalışmada A β ₄₂ peptidi kullanılarak AH oluşturulan sıçanlara CBD verilmiş ve beyin hasarından kaynaklanan motor ve kognitif bozulmaları iyileştirdiği bildirilmiştir (Thomas ve ark., 2007). Deneyimizde sıçanların hipokampus dokularında IL-1 β ve TNF- α aktivitesi ölçümlerinde Kontrol grubu ile Alzheimer grubu karşılaştırıldığında Alzheimer grubunda anlamlı bir artış görülürken CBD uygulanan Alzheimer grubunda ise bu sitokin seviyelerinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Korteks dokusunda ise IL-1 β aktivitesi ölçümlerinde tüm gruplar arasında anlamlı fark gözlemlenmezken, TNF- α 'da Alzheimer grubuna göre Alzheimer+CBD grubunda anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir.

CBD'nin adenosin geri alımını inhibe edebileceğine (Schmid ve ark., 1985) ve Adenosin A_{2A} reseptörünün dolaylı aktivasyonu yoluyla TNF- α ve IL-1 β seviyelerini azaltabileceğine dair kanıtlar vardır (Srikanth ve ark., 2011; Cohen ve ark., 2011; Zhang ve Sulzer, 2004). AH olan bireylerde glutamerjik yolların dejenere olmasından dolayı glutamat oksitlenmekte; bu durumda biriken glutamat, Ca⁺²'un hücre içine alınmasını sağlayarak nöronların ölümüne yol açmaktadır. Böylece glutamerjik aktivitenin azalması korteks ve hipokampüste ACh salıverilmesinde azalmaya yol açarak A β plak oluşmasını kolaylaştırmaktadır. Farmakolojik açıdan bakıldığında, CBD kannabinoid reseptörlerinin kısmi agonistidir ayrıca CB1 reseptör aracılı psikoaktif etkilerin modülatörüdür. Yakın zamanda yapılan çalışmalar da CBD'nin hipokampal nörojenezi paradoksal olarak desteklediği, AH hayvan modellerinde meydana gelen nörodejeneratif süreçleri önlediği, enflamasyon kaynaklı bilişsel hasarlardan koruduğu ve öğrenme ve bellek fonksiyonlarını geri kazandırdığı gösterilmiştir (Abdel ve ark., 2011).

Bizim çalışmamızın sonuçlarını incelediğimizde i.c.v. A β ₄₂ uygulaması ile oluşturduğumuz AH modelinde hastalığın neden olduğu bellek, konuşma, yüksek serebral işlevler ve görsel-uzaysal becerilerin ortadan kalkması gibi beyin hasarına karşı uygulanan CBD'nin bu kognitif fonksiyonlarda düzelmeye neden olduğu bulunmuştur.

CBD ile tedavi edilen deney grubunun AH oluşturulan gruba göre kognitif fonksiyonlarında düzelme oluşturduğu; beyinde gelişen nörodejeneratif süreçleri ve enflamasyonu önlediği görülmüştür.

8. KAYNAKLAR

Abdel-Aal, R.A., A.A. Assi, and B.B. Kostandy, Rivastigmine reverses aluminum-induced behavioral changes in rats. *Eur J Pharmacol*, 2011. 659(2-3): p. 169-76.

Alonso AC, Grundke-Iqbal I, Iqbal K: Alzheimer's disease hyperphosphorylated tau sequesters normal tau into tangles of filaments and disassembles microtubules. *Nat Med* 1996, 2:783–787

Atamna H, Cheung I, Ames BN: A method for detecting abasic sites in living cells: Age-dependent changes in base excision repair. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:686–691.

Baldeiras I, Santana MT, Garrucho R, Pascoal A, Rodrigues D, Duro CR Oliveira: Peripheral oxidative damage in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2008; 15:117–128.

Bales K. R., J.C. Dodart, R.B. DeMattos, D.M. Holtzman, and S.M. Paul: Apolipoprotein E, Amyloid, and Alzheimer Disease. *Neuroscience Discovery Research, Lilly Research Laboratories* 2002;2 (6).

Beal MF: Oxidative damage as an early marker of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2005; 26:585-6.

Bertram L, Lill CM, Tanzi RE: The Genetics of Alzheimer Disease: Back to the Future. *Neuron* 2010, 68(2):270-281.

Bentahir M, Nyabi O, Verhamme J, Tolia A, Horre K, Wiltfang J, et al. Presenilin clinical mutations can affect gamma-secretase activity by different mechanisms. *J Neurochem* 2006;96:732–42.

Bevins, R.A. and J. Besheer, Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'. *Nat Protoc*, 2006. 1(3): p. 1306-11.

Bero AW, Yan P, Roh JH, Cirrito JR, Stewart FR, Raichle ME, Lee JM, Holtzman DM: Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid-beta deposition. *Nat Neurosci* 2011, 14(6):750-756.

Blacker, D., Wilcos, M.A., Laird, N.M. et al. Alpha-2 macroglobulin is genetically associated with Alzheimer disease. *Nature Genetics* 19, 357–360 (1998).

Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H (2006) Alzheimer's disease. *Lancet* 368, 387-403.

Bramblett GT, Goedert M, Jakes R, Merrick SE, Trojanowski JQ, Lee VM: Abnormal tau phosphorylation at Ser396 in Alzheimer's disease recapitulates development and contributes to reduced microtubule binding. *Neuron* 1993, 10:1089 –1099

Calzavara, M.B., et al., Neuroleptic drugs revert the contextual fear conditioning deficit presented by spontaneously hypertensive rats: a potential animal model of emotional context processing in schizophrenia? *Schizophr Bull*, 2009. 35(4): p. 748-59.

Celeste M Karch, Alison M Goate. Alzheimer's Disease Risk Genes and Mechanisms of Disease Pathogenesis. 2015 Jan 1;77(1):43-51. doi: 10.1016/j.biopsych.2014.05.006. Epub 2014 May 17.

Cisse M, Halabisky B, Harris J, Devidze N, Dubal DB, Sun B, Orr A, Lotz G, Kim DH, Hamto P et al: Reversing EphB2 depletion rescues cognitive functions in Alzheimer model. *Nature* 2011, 469(7328):47-52.

Cohen TJ, Guo JL, Hurtado DE, Kwong LK, Mills IP, Trojanowski JQ, Lee VM: The acetylation of tau inhibits its function and promotes pathological tau aggregation. *Nature communications* 2011, 2:252.

Caughey B, Lansbury PT. Protofibrils, pores, fibrils, and neurodegeneration: separating the responsible protein aggregates from the innocent bystanders. *Ann Rev Neurosci* 2003;26:267–98.

Chen HK, Liu Z, Meyer-Franke A, Brodbeck J, Miranda RD, McGuire JG, Pleiss MA, Ji ZS, Balestra ME, Walker DW et al: Small molecule structure correctors abolish detrimental effects of apolipoprotein E4 in cultured neurons. *The Journal of biological chemistry* 2012, 287(8):5253-5266.

Çınar R., Çınar Ö.G., Kannabinoid tip 1 reseptör (CB1) ve terapötik yaklaşımlara genel bakış 1, *MÜSBED* 2011;1(2):149-154

Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*.1992;258(5090):1946-1949.

Di S, Boudaba C, Popescu IR, Weng FJ, Harris C, Marcheselli VL, Bazan NG, Tasker JG. Activity-dependent release and actions of endocannabinoids in the rat hypothalamic supraoptic nucleus. *J Physiol*. 2005;569(Pt 3):751-760.

Di S, Malcher-Lopes R, Marcheselli VL, Bazan NG, Tasker JG. Rapid glucocorticoid-mediated endocannabinoid release and opposing regulation of glutamate and gamma-aminobutyric acid inputs to hypothalamic magnocellular neurons. *Endocrinology*. 2005;146(10):4292-4301.

Douglas CL, Baghdoyan HA, Lydic R: Postsynaptic muscarinic M1 receptors activate prefrontal cortical EEG of C57BL/6J mouse. *Journal of neurophysiology* 2002, 88(6):3003-3009.

Dodel, R.C., Du, Y., Bales, K.R., et al. Alpha-2 macroglobulin and the risk of Alzheimer's disease. *Neurology* 54, 438–442 (2000).

Dumanis SB, Tesoriero JA, Babus LW, Nguyen MT, Trotter JH, Ladu MJ, Weeber EJ, Turner RS, Xu B, Rebeck GW et al: APOE4 decreases spine density and dendritic complexity in cortical neurons in vivo. *J Neurosci* 2009, 29(48):15317-15322.

Evans PH: Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull* 1993; 49:577–87.

Ferreiro E, Baldeiras I, Ferreira IL, Costa RO, Rego AC, Pereira CF, Oliveira CR: Mitochondrial- and endo- plasmic reticulum-associated oxidative stress in Alzheimer's disease: from pathogenesis to biomarkers. *Int J Cell Biol* 2012; 735206.

Frazer KA, Murray SS, Schork NJ, Topol EJ (2009) Human genetic variation and its contribution to complex traits. *Nat Rev Genet* 10, 241-251.

Gerard CM, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M. Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem J.* 1991;279 (Pt 1):129-134.

Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1984b;120:885–90.

Glabe CC. Amyloid accumulation and pathogenesis of Alzheimer's disease: significance of monomeric, oligomeric and fibrillar A β . *Subcell Biochem* 2005;38:167–77.

Greilberger J, Koidl C, Greilberger M, Lamprecht M, Schroecksnadel K, Leblhuber F, Fuchs D, Oetl K: Malondialdehyde, carbonyl proteins and albumindisulphide as useful oxidative markers in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Free Radic Res* 2008; 42:633–638.

Gök D. K., Deneyisel Alzheimer Modelinde Olaya İlişkin Potansiyeller Ve Oksidan Stres Değişikliklerine Rosmarinik Asidin Etkileri Ve Mekanizması. AKDÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2016, Antalya (Danışman: Prof. Dr. Piraye Yargıçoğlu).

Hardy J. *J Neurochem*, The amyloid hypothesis for Alzheimer's disease: a critical reappraisal. 2009;110(4):1129–34.

Hardy J. A. and Higgins G. A., Alzheimer's disease, the amyloid cascade hypothesis. (1992) *Science* 286, 184–185.

Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002; 297:353–6. [PubMed: 12130773]

Higley MJ, Soler-Llavina GJ, Sabatini BL: Cholinergic modulation of multivesicular release regulates striatal synaptic potency and integration. *Nat Neurosci* 2009, 12(9):1121-1128.

Huang Xi, Cuajungco MP, Atwood CS, et al.: Cu(II) potentiation of Alzheimer abeta neurotoxicity. Correlation with cell-free hydrogen peroxide production and metal reduction. *J Biol Chem* 2004; 274:37111–37116.

Işık A.T, Çelik T, Ulusoy G, Öngörü Ö, Elibol B, Doruk H, Bozoğlu E, Kayir H, Mas M.R, Akman Ş. Curcumin ameliorates impaired insulin/IGF signalling and memory deficit in a streptozotocin-treated rat model. *AGE* (2009) 31:39–49.

Jarrett JT, Berger EP, Lansbury PT: The Carboxy Terminus of the Beta- Amyloid Protein Is Critical for the Seeding of Amyloid Formation- Implications for the Pathogenesis of Alzheimers-Disease. *Biochemistry-U*s 1993, 32(18):4693-4697.

Johnson MR, Rice KC, Howlett A, Melvin LS, Herkenham M. The cannabinoid receptor-pharmacologic identification, anatomical localization and cloning. *NIDA Res Monogr.* 1992; 119:86-90.

Jones PB, Adams KW, Rozkalne A, Spires-Jones TL, Hshieh TT, Hashimoto T, von Armin CA, Mielke M, Bacskai BJ, Hyman BT: Apolipoprotein E: isoform specific differences in tertiary structure and interaction with amyloid-beta in human Alzheimer brain. *PloS one* 2011, 6(1):e14586.

Karran E, Mercken M, De Strooper B: The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2011, 10(9):698-U1600.

Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, et al. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987;325:733–6.

Kozlowski H, Janicka-Klos A, Brasun J, Gaggelli E, Valensin D and Valensin G: Copper, iron, and zinc ions homeostasis and their role in neurodegenerative disorders (metal uptake, transport, distribution and regulation). *Coord Chem Rev* 253: 2665-2685, 2009.

Kim J, Basak JM, Holtzman DM: The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron* 2009, 63(3):287-303.

Kim J, Isokawa M, Ledent C, Alger BE. Activation of muscarinic acetylcholine receptors enhances the release of endogenous cannabinoids in the hippocampus. *J Neurosci.* 2002;22(23):10182- 10191.

Klein WL, Krafft GA, Finch CE. Targeting small Abeta oligomers: the solution to an Alzheimer's disease conundrum? *Trends Neurosci* 2001;24:219–24.

Lesne S, Kotilinek L, Ashe KH. Plaque-bearing mice with reduced levels of oligomeric amyloid-beta assemblies have intact memory function. *Neuroscience* 2008;151:745–9.

Lesne S, Koh MT, Kotilinek L, Kaye R, Glabe CG, Yang A, et al. A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. *Nature* 2006;440: Mutat 1998;11:183–90. 352–7.

Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995;269:973e7.

Li G, Bien-Ly N, Andrews-Zwilling Y, Xu Q, Bernardo A, Ring K, Halabisky B, Deng C, Mahley RW, Huang Y: GABAergic interneuron dysfunction impairs hippocampal neurogenesis in adult apolipoprotein E4 knockin mice. *Cell stem cell* 2009, 5(6):634-645.

Maccarrone M, van der Stelt M, Rossi A, Veldink GA, Vliegthart JF, Agro AF. Anandamide hydrolysis by human cells in culture and brain. *J Biol Chem.* 1998;273(48):32332-32339.

Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature.*1990;346(6284):561-564.

Mackie K., Cannabinoid receptors as therapeutic targets, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 46 (2006) 101e122.

Mastroeni D, McKee A, Grover J, et al. Epigenetic differences in cortical neurons from a pair of monozygotic twins discordant for Alzheimer's disease. *PLoS One*

2009;4:e6617.

Mauch, D., Nagler, K., Schumacher, S. et al. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science* 294, 1354–1357 (2001).

Metzstein MM, Stanfield GM, Horvitz HR: Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future. *Trends Genet* 1998, 14:410 – 416

Morris M, Maeda S, Vossel K, Mucke L: The many faces of tau. *Neuron* 2011, 70(3):410-426.

Mirra SS, Heyman A, McKeel D, Sumi SM, Crain BJ, Brounlee LM, Vogel FS, Hughes JP, VanBelle G, Berg L: The consortium to establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD) part II. Standardization of the neuropathological assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 1991, 41:479 – 486

Natarajan V, Schmid PC, Reddy PV, Schmid HH. Catabolism of N-acyl ethanolamine phospholipids by dog brain preparations. *J Neurochem.* 1984;42(6):1613-1619.

Nordberg A. Amyloid plaque imaging in vivo: current achievement and future prospects. *Eur J Nucl Med Mol Imag* 2008;35(Suppl. 1):S46–50.

Owen MJ, James LA, Hardy JA, Williamson R, Goate AM. Physical mapping around the Alzheimer disease locus on the proximal long arm of chromosome 21. *Am J Hum Genet* 1990;46:316–22.

Padurariu M, Ciobica A, Dobrin I, Stefanescu C: Evaluation of antioxidant enzymes activities and lipid peroxidation in schizophrenic patients treated with typical and atypical antipsychotics. *Neurosci Lett* 2010; 479:317-20.

Palop JJ, Mucke L: Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks. *Nat Neurosci* 2010, 13(7):812-818.

Pastor P, Roe CM, Villegas A, Bedoya G, Chakraverty S, Garcia G, et al. Apolipoprotein Epsilon4 modifies Alzheimer's disease onset in an E280A PS1 kindred. *Ann Neurol*. 2003; 54:163–9. [PubMed: 12891668]

Richter C, Gogvadze V, Laffranchi R, Schlapbach R, Schweizer M, Suter M, Walter P, Yaffee M: Oxidants in mitochondria: From physiology to diseases. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1271:67–74.

Roses, A.D. Apolipoprotein E alleles as risk factors in Alzheimer's disease. *Ann. Rev. Med.* 47, 387–400 (1996).

Roheim, P.S., Carey, M., Forte, T., and Vewga, G.L. Apolipoprotein in human cerebrospinal fluid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76, 4646–4649 (1979).

Rovelet-Lecrux A, Hannequin D, Raux G, Le Meur N, Laquerriere A, Vital A, et al. APP locus duplication causes autosomal dominant early-onset Alzheimer disease with cerebral amyloid angiopathy. *Nat Genet* 2006;38:24–6.

Selkoe DJ. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron* 1991;6: 487–98.

Schmid PC, Zuzarte-Augustin ML, Schmid HH. Properties of rat liver N-acylethanolamine amidohydrolase. *J Biol Chem*. 1985;260(26):14145- 14149.

Srikanth V, Maczurek A, Phan T, Steele M, Westcott B, Juskiw D, Munch G: Advanced glycation endproducts and their receptor RAGE in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2011, 32(5):763-777.

Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995;375:754e60.

Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, et al. Amyloid- beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med* 2008;14:837–42.

StrozykD: Launer LJ, Adlard PA, Cherny RA, Tsatsanis A, Volitakis I, Blennow K, Petrovitch H, White LR and Bush AI: Zinc and copper modulate Alzheimer Abeta levels in human cerebrospinal fluid. *Neurobiol Aging* 30: 1069-1077, 2009.

Sleegers K, Brouwers N, Gijselinck I, Theuns J, Goossens D, Wauters J, et al. APP duplication is sufficient to cause early onset Alzheimer's dementia with cerebral amyloid angiopathy. *Brain* 2006;129:2977–83.

Smith MA: Oxidative stress and iron imbalance in Alzheimer disease: how rust became the fuss! *J Alzheimers Dis* 2006; 9:305-8.

Sugiura T, Kishimoto S, Oka S, Gokoh M. Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Prog Lipid Res.* 2006;45(5):405-446.

Suzuki N, Cheung TT, Cai XD, Odaka A, Otvos Jr L, Eckman C, et al. An increased percentage of long amyloid beta protein secreted by familial amyloid beta protein precursor (beta APP717) mutants. *Science (New York, NY)* 1994;264:1336–40.

Takahashi A: Caspase: executioner and undertaker of apoptosis. *Int J Hematol* 1999, 70:226 –232

Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, Hill R, et al. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol* 1991;30:572–80.

Thomas A, Baillie GL, Phillips AM, Razdan RK, Ross RA, Pertwee RG (2007). Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB(1) and CB(2) receptor agonists in vitro. *Br J Pharmacol* 150: 613–623.

Trojanowski JQ, Schmidt ML, Shin RW, Bramblett GT, Goedert M, Lee MY: From pathological marker to potential mediator of neuronal dysfunction and degeneration in Alzheimer's disease. *Clin Neurosci* 1993, 1:184 –191

Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother.* 2003; 57(3-4): 145- 155

Varma N, Carlson GC, Ledent C, Alger BE. Metabotropic glutamate receptors drive the endocannabinoid system in hippocampus. *J Neurosci.* 2001;21(24):RC188.

Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MTD, Mazura M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39: 44-84.

Valko M, Morris H and Cronin MT; ValkoM: Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 12: 1161-1208, 2005.

Villemagne VL, Fodero-Tavoletti MT, Pike KE, Cappai R, Masters CL, Rowe CC. The ART of loss: Abeta imaging in the evaluation of Alzheimer's disease and other dementias. *Mol Neurobiol* 2008;38:1–15.

Walsh DM, Selkoe DJ. Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. *Neuron* 2004;44:181–93.

West HL, Rebeck GW, Hyman BT. Frequency of the apolipoprotein E epsilon 2 allele is diminished in sporadic Alzheimer disease. *Neurosci Lett.* 1994; 175:46–8. [PubMed: 7970208]

Weisgraber, K. and Mahley, R. Human apolipoprotein E: The Alzheimer's disease connection. *FASEB J.* 10, 1485–1494 (1996).

Witting A, Walter L, Wacker J, Moller T, Stella NP2X7 receptors control 2-arachidonoylglycerol production by microglial cells. *P Natl Acad Sci USA.* 2004;101(9):3214-3219.

Wonnacott S: Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends Neurosci* 1997, 20(2):92-98.

Yamanaka, H., Kamimura K., Tanahashi H., Takahashi, K., Asada, T. and Tabira, T. Genetic risk factors in Japanese Alzheimer's disease patients: alpha1-ACT, VLDLR, and APOE. *Neurobiol. Aging* 9, S43–46 (1998).

Younkin SG. Evidence that A beta 42 is the real culprit in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1995;37:287–8.

Zhang H, Sulzer D: Frequency-dependent modulation of dopamine release by nicotine. *Nat Neurosci* 2004, 7(6):581-582.

Zhu B, Wang ZG, Ding J, Liu N, Wang DM, Ding LC, Yang C. Chronic lipopolysaccharide exposure induces cognitive dysfunction without affecting BDNF expression in the rat hippocampus. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2014; 7: 750-754.

9. EKLER

EK 1: Etik Kurul Onayı



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	50.2019_mar	ÇALIŞMA	TEZ
	PROJE ADI	İntraserebroventriküler Aβ 42 Peptidi Uygulamasıyla Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Kannabidiol'ün Etkilerinin İncelenmesi		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Prof. Dr. Kübra Elçioğlu		
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER		
	DESTEKLEYİCİ			
KARAR BİLGİLERİ	TARİH	05. 08. 2019		
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekeceği, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişikliği (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.			
KURUL ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma sonuçlarını incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.			
Hayvan türü ve sayısı				
ÜYELER				
Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/EK Üyeliği	Onaylanan Proje ile ilişkisi	İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi HADYEK Başkanı	Yok	
Prof.Dr. Levent KABASAKAL	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Prof.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji- Embriyoloji AbD	M.Ü. Tıp Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Doç. Dr. Dilek AKAKIN	Histoloji- Embriyoloji AbD	M.Ü. Tıp Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Dr. Öğr. Üyesi Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Sağlık Hizmetleri MYO HADYEK Üyesi	Yok	
Vet. Hek. Deniz Mukaddes Türet	Veteriner Hekim	DEHAMER Sorumlu Veteriner HADYEK Üyesi	Yok	
Alper Şimşek	Serbest	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Yok	
Cihanşah MURATOĞLU	Serbet Danışmanlık	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Yok	

**ULUSLARARASI TIP BİLİMLERİ
VE MULTİDİSİPLİNER YAKLAŞIMLAR KONGRESİ**

**INTERNATIONAL CONGRESS ON MEDICAL SCIENCES
AND MULTIDISCIPLINARY APPROACHES**

20-21 ŞUBAT 2021

www.tipbilimlerikongresi.org

Poster Kongre Bildirisi, 1. Uluslararası Tıp Bilimleri Ve Multidisipliner Yaklaşımlar Kongresi, 20-21 Şubat 2021, İstanbul, Türkiye.

TAM METİN SÖZEL SUNUMLAR

İNTRASEREBROVENTRİKÜLER ASS 42 PEPTİDİ UYGULAMASIYLA SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİNDE KANNABİDİOL'ÜN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Arda Can AYDIN, Hatice Kübra ELÇİOĞLU

Türkiye

Öz: Alzheimer Hastalığı (AH) özellikle serebral korteks, hipokampus, entorhinal korteks ve ventral striatum gibi kognitif fonksiyonları olan bölgelerde, amiloid beta (A β) plak ve nörofibriler yumak (NFY) oluşumları ile karakterize bir hastalıktır. AH olan bireylerde glutamerjik yolların dejenere olmasından dolayı glutamat oksitlenmekte; bu durumda biriken glutamat, Ca²⁺'un hücre içine alınmasını sağlayarak nöronların ölümüne yol açmaktadır. Böylece glutamerjik aktivitenin azalması korteks ve hipokampüste asetilkolin salıverilmesinde azalmaya yol açarak A β plak oluşmasını kolaylaştırmaktadır. Çalışmamızda glutamat reseptör blokörü olan CBD'nin AH tedavisindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada 300-400 g ağırlığında Sprague Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar, Kontrol, Alzheimer ve Alzheimer + CBD olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. AH modeli A β 42'nin intraserebroventriküler (i.c.v.) enjeksiyonu ile oluşturulmuştur. Sıçanlara Morris'in su tankı, yeni obje tanıma, açık alan ve pasif sakınma testleri yapılarak sıçanların kognitif fonksiyonları değerlendirilmiştir. Kontrol grubundaki sıçanlara sitrat tamponu uygulanmıştır. A β 42 ile AH indüklenmiş, gruplardan birincisine tedavi amacıyla günde 10 mg/kg CBD 2 hafta süre ile i.c.v. olarak uygulanırken ikinci gruba ise CBD'nin çözütücüsü olan sitrat tamponu uygulanmıştır. Hayvanların dekapitasyonunun ardından beyin hipokampus ve prefrontal korteks bölgeleri çıkarılarak dokuların bir kısmında ELISA ile interlökin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) gibi inflamatuvar sitokinlerin biyokimyasal ölçümleri yapılmış, diğer doku kısımları ise formaldehite alınarak histopatolojik incelemeler yapılmıştır. Yapılan çalışmada A β 42'nin i.c.v. enjeksiyonu Pasif sakınma testinde karanlık bölmeye geçiş süresinde anlamlı bir düşüşe, Morris'in su tankı testi performansı ise anlamlı bir azalmaya neden olmuştur. CBD tedavisi uygulanan grup ile Alzheimer grubu karşılaştırıldığında beyinde hipotalamusta IL-1 β ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinlerin düzeylerinin azaldığı görüldükçe, kortekste sadece TNF- α 'nın azaldığı bulunmuştur. Sonuç olarak CBD'nin A β 42'nin ile oluşturulan AH modelinde beyindeki inflamasyon kaynaklı öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki bozuklukları önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. CBD'nin faydalı etkileri ile ilgili yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer Hastalığı, Kannabidiol, İntraserebroventriküler A β 42 Peptidi, Oksidatif Hasar

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı	ARDA CAN	Soyadı	AYDIN
Doğum Yeri	ZONGULDAK	Doğum Tarihi	12.09.1993
Uyruğu	TÜRKİYE CUMHURİYETİ	Tel	05423652892
E-mail	ardacanaydn@gmail.com		

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	-
Lisans	Bülent Ecevit Üniversitesi	2017
Lise	Kilimli Atatürk Anadolu Lisesi	2012

İş Deneyimi

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
	Biyolog	Bülent Ecevit Üniversitesi	2012-2017
	Biyolog	İstanbul Üniversitesi	2017

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İyi	Orta	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu #

YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office (Word, Powerpoint, Exel)	İyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.

EK: Diğer Bilimsel Faliyetler (yayın, kongre bildirisi vs.)

- Arda Can Aydın, Ayşe Nur Hazar-Yavuz, Hatice Kübra Elçioğlu. *Cannabis sativa*'nın Alzheimer hastalığındaki etkileri, 3. Nörobilim Kongresi NİŞANTAŞI ÜNİVERSİTESİ, Aralık-2019.
- Arda Can Aydın. *Cannabis Sativa And Alzheimer's Disease*, 2. Multidisipliner Nörodejenerasyon Kongresi, ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ, Kasım- 2020.
- Arda Can Aydın, Hatice Kübra Elçioğlu. İntraserebroventriküler A β ₄₂ Peptidi Uygulamasıyla Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Kannabidiol'ün Etkilerinin İncelenmesi, İSTANBUL, 1. International Congress on Medical Sciences and Multidisciplinary Approaches, 2021.
- Arda Can AYDIN, Hatice Kübra ELÇİOĞLU. Cannabis Sativa'nın Geçmişi ve Geleceği. TürkFarmakope dergisi 2019, 4(2): 83-94.
- Arda Can AYDIN. Alzheimer Hastalığı ve Demans, Journal of Literature Pharmacy Sciences 2020;9(2):125-36.