T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

# ENDOTEL VE TROMBOSİT FONKSİYONLARININ DEMANS İLE OLAN İLİŞKİSİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE ARAŞTIRILMASI

GÜLSEL AYAZ

DANIŞMAN
PROF. DR. TURGUT ULUTİN

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

İSTANBUL-2020

**TEZ ONAYI**

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)

# 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 olmadığı beyan ederim.

Gülsel AYAZ

(İmza)

# İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

# TEŞEKKÜR

Lisans, yüksek lisans, doktora eğitimim boyunca yetişmemde emeği geçen başta danışman hocam sayın Prof. Dr. Turgut ULUTİN olmak üzere nezdinde tüm kıymetli hocalarıma, laboratuvar deneylerimde deneyimlerini paylaşarak projemde destek olan Doç. Dr. Duygu Gezen AK ve Doç. Dr. Erdinç DURSUN'a, klinik tecrübelerini bizimle paylaşarak tez projeme yaptığı değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Başar BİLGİÇ'e, her daim desteğiyle yanımda olan sevgili Doç. Dr. Umut Can KÜÇÜKSEZER ve Prof. Dr. Hüseyin SÖNMEZ Hocam'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmam boyunca verdikleri manevi destek için Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü değerli mezunları ve mensuplarına, yanımda olan can dostlarıma teşekkür etmeyi bir borç biliyorum.

Göstermiş olduğu sabır ve anlayıştan dolayı sevgili eşim Yalçın'a, biricik kızım ve canım oğluma sonsuz sevgilerimi sunuyorum.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2018-30745

Gülsel AYAZ

İstanbul - 2020

# İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... ii
BEYAN ..... iii
İTHAF ..... iv
TEŞEKKÜR ..... v
İÇİNDEKİLER ..... vi
TABLOLAR LİSTESİ ..... x
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... xi
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... xiv
ÖZET ..... xvi
ABSTRACT ..... xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ ..... 1
2. GENEL BİLGİLER ..... 3
2.1. Trombositler ..... 3
2.1.1. Trombositlerin Yapısal Bölümleri ..... 5
2.1.1.1. Periferal Bölge ..... 5
2.1.1.2. Sol Jel Bölgesi ..... 6
2.1.1.3. Organel Bölgesi ..... 7
2.1.1.4. Membran Bölgesi ..... 8
2.1.2. Trombositte Yer Alan Organeller ..... 8
2.1.2.1. Trombositte Yer Alan Granüller ve İçerikleri ..... 9
2.1.2.1.1. Alfa Granülleri (AG) ..... 9
2.1.2.1.2. Dens Granüller (DG) ..... 9
2.1.2.1.3. Mikroperoksizom ..... 10
2.1.2.1.4. Lizozom ..... 10
2.1.3. Trombositlerin Aktivasyon Mekanizması ..... 10
2.1.3.1. Trombosit Adezyonu ..... 11
2.1.3.2. Trombosit Sekresyonu ..... 12
2.1.3.3. Trombosit Agregasyonu ..... 14
2.1.3.4. Trombosit Fonksiyonları ve Aktivasyonu ile İlgili Moleküler Mekanizmalar ..... 15

2.1.3.4.1. Trombosit Membran Reseptörleri ..... 17
2.1.4. Endotel ..... 19
2.1.4.1. Endotel ve Trombosit Arasındaki İlişki ..... 20
2.1.4.2. Endotel ve Koagülasyonun Düzenlenmesi ..... 22
2.1.4.3. Antiplatelet Ajanlar ve Sinyal Yolakları ..... 23
2.1.5. von Willebrand Faktör ..... 25
2.1.5.1. vWF'nin Genel Özellikleri ..... 25
2.1.5.2. vWF Boyutunun Belirlenmesi ve Konformasyonu ..... 27
2.1.5.3. ADAMTS13 ..... 27
2.1.5.4. vWF'nin Biyolojik Etkileri ..... 27
2.1.5.5. vWF ve Trombosit Yapışması ..... 28
2.1.5.6. vWF ve Subendotelyal Matriks Arasındaki Etkileşimler ..... 28
2.1.5.7. vWF Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesini Etkileyen Moleküler Yolaklar ..... 29
2.2. MikroRNA ..... 30
2.2.1. MikroRNA Biyogenezi ..... 30
2.2.2. Hastalalıkların Moleküler Mekanizmasının Araştırılmasında miRNA'ların Rolü ..... 32
2.2.3. miR-24 ..... 32
2.2.4. miR-26 ..... 34
2.2.4.1. miR-26 Aile Üyelerinin Genomik Lokalizasyonu ..... 34
2.2.4.2. miR-26 ve Endotel Hücre Arasındaki İlişki ..... 35
2.3. Demans ..... 35
2.3.1. Alzheimer Hastalığı ve Alzheimer Tipi Demans ..... 40
2.3.1.1. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi ..... 41
2.3.1.2. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi ..... 41
2.3.2. Amiloid Kaskad Hipotezi ve Amiloid Prekürsör Proteini ..... 42
2.3.2.1. Amiloid Prekürsör Protein İfadesi ..... 44
2.3.2.2. Amiloid Öncü Proteinlerin İşlenmesi ..... 46
2.3.2.3. SAPPα ve sAPPβ'nin İşlevleri ..... 48
2.3.2.4. Aβ Peptidinin Fonksiyonları ..... 49
2.3.2.5. AICD'nin İşlevleri ..... 50
2.3.3. Alzheimer Hastalığı ile İlişkili Genetik Faktörler ..... 52

2.3.4. Alzheimer Hastalığı ve Trombosit İlişkisi .....53
3. GEREÇ ve YÖNTEM .....55
3.1. Olgular .....55
3.1.1. Çalışmaya Alınma Ölçütleri.....55
3.1.2. Çalışmadan Dışlanma Ölçütleri .....55
3.2. Çalışmada Kullanılan Yöntemler.....56
3.2.1. Trombosit Fonksiyon Tayini için Lumiagregometre ile Trombosit Agregasyon Testi.....56
3.2.2. ELISA Yöntemi .....57
3.2.2.1. Glikoprotein 1b (CD42b) için ELISA Protokolü .....57
3.2.2.2. vWF için ELISA Protokolü.....59
3.2.2.3. Total RNA İzolasyonu .....62
3.2.2.4. RNA Miktarı ve Saflığının ölçülmesi .....63
3.2.3. Normalizasyon .....63
3.2.4. cDNA Sentezi .....63
3.2.4.1. Poli A Reaksiyonu.....64
3.2.4.2. Ligasyon Reaksiyonu .....64
3.2.4.3. Terstranskripsiyon (RT) Reaksiyonu .....65
3.2.4.4. miR-Amp Reaksiyonu.....65
3.2.5. cDNA'ların Sulandırılması .....66
3.2.6. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR).....66
3.2.6.1. Normalizasyon .....66
3.2.6.2. Kullanılan qRT- PCR Primer ve Taqman Probları .....66
3.2.6.3. qRT- PCR Reaksiyon Karışımının Hazırlanması .....67
3.2.6.4. qRT-PCR Sıcaklık Döngüsü .....67
3.3. Çalışmada Kullanılması Öngörülen İstatistiksel Yöntemler.....68
4. BULGULAR.....69
4.1. Alzheimer Tipi Demans ve Kontrol Gruplarına İlişkin Demografik Veriler .....69
4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Biyokimyasal ve Moleküler Parametrelerin Karşılaştırılması .....70
4.3. MR Fazekas 0-1 Olan Hasta ve Kontrol Gruplarına İlişkin Parametrelerin Karşılaştırılması .....71

4.4. MR Fazekas 0-1 Durumuna Göre ASA Kullanan ve Kullanmayan Hastaların Parametrelerinin Karşılaştırılması .....72
4.5. MR Fazekas 2-3 Durumuna Göre ASA Kullanan ve Kullanmayan Hastaların Parametrelerinin Karşılaştırılması .....73
4.6. Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Parametrelerin Grafikleri.....74
4.7. Fazekas 0-1 Olan Kontrol ve Hasta Grubuna İlişkin Grafikler .....80
4.8. MR Fazekas 0-1 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre İlgili Parametrelerin Grafikleri .....87
4.9. MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre Grafikleri.....94
4.10. Kontrol Grubuna ait Korelasyon Testi Sonuçları .....101
4.10.1. Kontrol Grubu hsa-miR26a-5p ile hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri Arasındaki Korelasyon.....101
4.10.2. Kontrol Grubuna ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verilerinin Korelasyonu .....102
4.10.3. Kontrol Grubuna ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verilerinin Korelasyonu .....103
4.10.4. Kontrol Grubuna ait GP1b (ng/ml) ile vWF (ng/ml) Verilerinin Korelasyonu .....104
4.11. Hasta Grubuna ait Korelasyon Testi Sonuçları.....105
4.11.1. Hasta Grubu hsa-miR26a-5p ile hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri Arasındaki Korelasyon.....105
4.11.2. Hasta Grubu hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (% Amplitud) Arasındaki Korelasyon .....106
4.11.3. Hasta Grubuna ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verileri Arasındaki Korelasyonu.....107
4.11.4. Hasta Grubuna ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verilerinin Korelasyonu .....108
5. TARTIŞMA .....110
KAYNAKLAR .....119
ETİK KURUL KARARI .....149
FORMLAR .....151
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....154
ÖZGEÇMİŞ .....155

# TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Trombosit Yapısındaki Granüllerin İçerikleri ..... 8
Tablo 2-2: Trombosit Reseptör ve Ligandları ..... 19
Tablo 2-3: Endotelden Salgılanan Moleküller ..... 20
Tablo 2-4: Demans Hastalıklarının Sınıflandırılması ..... 38
Tablo 3-1: Poli A Reaksiyon Karışımı ..... 64
Tablo 3-2: Poli A Reaksiyon Sıcaklık Döngüsü ..... 64
Tablo 3-3: Ligasyon Reaksiyon Karışımı ..... 64
Tablo 3-4: Ligasyon Reaksiyon Sıcaklık Döngüsü ..... 64
Tablo 3-5: Terstranskripsiyon (RT) Reaksiyon Karışımı ..... 65
Tablo 3-6: Terstranskripsiyon (RT) Reaksiyon Sıcaklık Döngüsü ..... 65
Tablo 3-7: miR-Amp Reaksiyon Karışımı ..... 65
Tablo 3-8: miR-Amp Reaksiyon Sıcaklık Döngüsü ..... 65
Tablo 3-9: qRT- PCR Reaksiyon Karışımı ..... 67
Tablo 3-10: qRT-PCR Sıcaklık Döngüsü ..... 67
Tablo 4-1: Hasta ve Kontrol Gruplarına İlişkin Demografik Bilgiler ..... 69
Tablo 4-2: Hasta ve Kontrol Gruplarına İlişkin Biyokimyasal ve Moleküler Belirteçler ..... 70
Tablo 4-3: MR Fazekas 0-1 Olan Hasta ve Kontrol Gruplarına İlişkin Parametrelerin Karşılaştırılması ..... 71
Tablo 4-4: MR Fazekas 0-1 Durumuna Göre ASA Kullanan ve Kullanmayan Hastaların Parametrelerinin Karşılaştırılması ..... 72
Tablo 4-5: MR Fazekas 2-3 Durumuna Göre ASA Kullanan ve Kullanmayan Hastaların Parametrelerinin Karşılaştırılması ..... 73

# ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Periferik Yayma Kandaki Trombosit Görüntüsü ..... 4
Şekil 2-2: Trombositlerin Yüksek Rezolüsyonlu Elektron Mikroskobu ile Görüntülenmesi ..... 4
Şekil 2-3: Trombositin Yapısal Bölümleri ..... 5
Şekil 2-4: Trombosit Fonksiyonları ..... 12
Şekil 2-5: Trombosit Membran Resöptörleri ve Sinyal Yolakları ..... 18
Şekil 2-6: Antiplatelet Ajanlar ve Sinyal Yolakları ..... 24
Şekil 2-7: von Willebrand Faktör Biyogenezi ..... 25
Şekil 2-8: miRNA Biyogenezi ..... 31
Şekil 2-9: Amiloid Kaskad Hipotezi ..... 43
Şekil 2-10: APP'nin 21. Kromozomdaki Lokalizasyonu ..... 45
Şekil 2-11: APP'nin Amiloidojenik Olmayan Yol ve Amiloidojenik Yol ile Proteolitik İşlenmesi ..... 47
Şekil 3-1: Glikoprotein 1b (CD42b) için ELISA Protokolü ..... 58
Şekil 3-2: vWF için ELISA Protokolü ..... 60
Şekil 4-1: Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Değerleri ..... 74
Şekil 4-2: Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Trombosit Agregasyonu (% Amplitüd) Değerleri ..... 75
Şekil 4-3: Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Plazma vWF (ng/ml) Düzeyleri ..... 76
Şekil 4-4: Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Plazma GP1b (ng/ml) Düzeyleri ..... 77
Şekil 4-5: Hasta ve Kontrol Gruplarına ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri ..... 78
Şekil 4-6: Hasta ve Kontrol Gruplarına ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri ..... 79
Şekil 4-7: MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Grubuna ait MMSE Skorları ..... 80
Şekil 4-8: MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Grubuna ait Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Değerleri ..... 81
Şekil 4-9: MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Grubuna ait Trombosit Agregasyonu % Amplitüd Değerleri ..... 82

Şekil 4-10: MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Grubuna ait Plazma GP1b (ng/ml) Düzeyleri ..... 83
Şekil 4-11: MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Grubuna ait Plazma vWF (ng/ml) Düzeyleri ..... 84
Şekil 4-12: MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Gruplarına ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri ..... 85
Şekil 4-13: MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Gruplarına ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri ..... 86
Şekil 4-14: MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre MMSE Skorları ..... 87
Şekil 4-15: MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Değerleri ..... 88
Şekil 4-16: MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre Trombosit Agregasyonu % Amplitüd Değerleri ..... 89
Şekil 4-17: MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre Plazma GP1b (ng/ml) Düzeyleri ..... 90
Şekil 4-18: MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre Plazma vWF (ng/ml) Düzeyleri ..... 91
Şekil 4-19: MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri ..... 92
Şekil 4-20: MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri ..... 93
Şekil 4-21: MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre MMSE Skorları ..... 94
Şekil 4-22: MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Değerleri ..... 95
Şekil 4-23: MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre Trombosit Agregasyonu %Amplitüd Değerleri ..... 96
Şekil 4-24: MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre Plazma GP1b (ng/ml) Düzeyleri ..... 97
Şekil 4-25: MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre Plazma vWF (ng/ml) Düzeyleri ..... 98

Şekil 4-26: MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri ..... 99
Şekil 4-27: MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri ..... 100
Şekil 4-28: Kontrol Grubu hsa-miR26a-5p ile hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri Arasındaki Korelasyon ..... 101
Şekil 4-29: Kontrol Grubuna ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verilerinin Korelasyonu ..... 102
Şekil 4-30: Kontrol Grubuna ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verilerinin Korelasyonu ..... 103
Şekil 4-31: Kontrol Grubuna ait GP1b (ng/ml) ile vWF (ng/ml) Verilerinin Korelasyonu ..... 104
Şekil 4-32: Hasta Grubu hsa-miR26a-5p ile hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri Arasındaki Korelasyon ..... 105
Şekil 4-33: Hasta Grubu hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (% Amplitud) Arasındaki Korelasyon ..... 106
Şekil 4-34: Hasta Grubuna ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verileri Arasındaki Korelasyonu ..... 107
Şekil 4-35: Hasta Grubuna ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verileri Arasındaki Korelasyon ..... 108

## SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

| | |
|---|---|
| AA | Araşidonik Asit |
| ADP | Adenozin difosfat |
| AG | Alfa Granül |
| AH | Alzheimer Hastalığı |
| ASA | Asetil Salisilik Asit |
| ATP | Adenozin trifosfat |
| $Ca^{+2}$ | Kalsiyum |
| cAMP | Siklik adenozin monofosfat |
| cGMP | Siklik guanozin monofosfat |
| COX | Siklooksijenaz |
| COX 2 | Siklooksijenaz 2 |
| Ct | Döngü eşik değerleri |
| DAG | Diaçilgliserol |
| DG | Dens Granül |
| DTS | Dens Tubuler Sistem |
| EDTA | Etilendiamin tetra asetik asit |
| EH | Endotel Hücre |
| ELISA | Enzimle işaretli immun yöntem |
| ET | Endotelin |
| GMP-140 | Granül Membran Proteini-140 |
| GP | Glikoprotein |
| GP1b | Glikoprotein 1b |
| GPIIb/GPIIIa | Glikoprotein 2b-3a kompleksi |
| LCD | Lewy Cisimcikli Demans |
| miRNA | Mikro RNA |
| MMSE | Mini Mental Durum Testi |
| mRNA | Mesajcı RNA |
| MSS | Merkezi Sinir Sistemi |
| NO | Nitrik oksit |

| | |
|---|---|
| PAF | Platelet Aktive Edici Faktör |
| PBS | Fosfat tuz tampon |
| PDGF | Trombosit kaynaklı büyüme faktörü |
| PGI2 | Prostasiklin |
| PKA | Protein kinaz A |
| PKC | Protein kinaz C |
| PLC | Fosfolipaz C |
| pre-miRNA | Prekürsör miRNA |
| PRI | Trombosit reaksiyon indeksi |
| pri-miRNA | Primer miRNA |
| PSGL-1 | P-selektin glikoprotein ligandı-1 |
| RISC | RNA ile indüklenen susturucu |
| rRNA | Ribozomal RNA |
| siRNA | Short interfering RNA |
| snoRNA | Küçük nükleolar RNA |
| SNP | Tek nükleotid polimorfizmi |
| snRNA | Küçük nüklear RNA |
| sP-selektin | Çözünebilir P-selektin |
| TF | Doku faktörü |
| TFP | Trombositten fakir plazma |
| tRNA | Taşıyıcı RNA |
| $TxA_2$ | Tromboksan A2 |
| TZP | Trombositten Zengin Plazma |
| VaD | Vasküler Demans |
| vWF | von Willebrand Faktör |

# ÖZET

AYAZ, G. (2020). Endotel ve Trombosit Fonksiyonlarının Demans ile Olan İlişkisinin Moleküler Düzeyde Araştırılması. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi. İstanbul.

Demans, günlük yaşamda bozuk bir işlevle sonuçlanabilecek, bilişsel fonksiyonlardaki gerileme olarak tanımlanır. Demansın en sık görülen sebeplerinden biri olan Alzheimer Hastalığı (AH), bilişsel ve bellek gerilemesi ile karakterize, kronik ilerleyici kompleks nörodejeneratif bir hastalıktır. Günümüzde göreceli olarak yaşlı nüfusun artması, AH insidansını ve prevalansını, ayrıca bu hastalıkla ilişkili toplumdaki ekonomik ve sosyal maliyetleri arttırmaktadır. Alzheimer dünya genelinde yaklaşık 26 milyon kişiyi etkilemektedir ve bu hastalığın prevalansının 2050 yılına kadar dört kat artacağı düşünülmektedir.

Vasküler risk faktörlerinin AH'na bağlı demans gelişiminin patofizyolojisinde önemli rol aldıkları ve trombositlerin bu süreçte etkili oldukları ileri sürülmektedir. Vasküler dokudaki damar endotel yüzeyinden salgılanan çeşitli aracı maddeler veya endotel hasarı, trombosit fonksiyonlarının aktivasyonunu değiştirmektedir. Aktive olan trombositler ise yüzey membranlarında bulunan çeşitli proteinler, salgıladıkları kimyasallar ve çeşitli mediatörler aracılığı ile endotel ile ilişki kurarlar. Yapılan çalışmalarda başlıca tromboz ve hemostaz mekanizmalarında yer alan trombositlerin, Alzheimer hastalığının patofizyolojisinin araştırılmasında biyobelirteç olarak kullanılması önerilmektedir.

Bu tez projesi, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji polikliniğine başvuran, fazekas skorlamasına göre çeşitli düzeylerde ak madde dejenerasyonu bulunan (fazekas 0-1, fazekas 2-3) Alzheimer tipi demans gösteren 43 hasta ile birinci derece akrabalarında herhangi bir nörodejeneratif hastalığı bulunmayan 45 sağlıklı gönüllü bireyden oluşmuştur.

Gönüllülerden venöz kan örnekleri alınarak, trombosit fonksiyonlarının endotel ile olan ilişkisini protein düzeyinde araştırmak için endotel hasarı biyobelirteçlerinden biri olan von Willebrand Faktor (vWF) proteini ve endotel hasar sonrası trombositlerin vWF'e bağlanarak endotele yapışmasını sağlayan glikoprotein 1b (GP1b) düzeylerini ELISA yöntemi ile tespit ettik. GP1b aktivasyonunun düzenlenmesini moleküler düzeyde

araştırmak için bu proteini regüle edebileceği öngörülen mir26a-5p'yi, vWF'ü incelemek için mir24-3p seviyelerini qRT- PCR ile belirledik. Ayrıca trombosit fonksiyonlarını adenozin difosfat (ADP) uyaranı vererek lumiagregometre yöntemi ile tayin ettik. Bu çalışmada bir taraftan trombosit ve endotel fonksiyonlarının Alzheimer tipi demans patofizyolojisinde ne şekilde rol oynadığını araştırırken diğer yandan belirlediğimiz hedef proteinlerin hastalıkla olan ilişkisini moleküler düzeyde incelemek için bu proteinler ile ilgili mikroRNA (miRNA)'ların göreceli ekspresyon seviyelerini tespit ettik.

Çalışmamızda Alzheimer tipi demansda, trombosit fonksiyonları ile birlikte araştırdığımız hsa-mir24-3p ve hsa-miR26a-5p'nin hasta gruplarımızda düşük düzeyde ifade edildiğini bulduk. Trombosit fonksiyon belirteçlerinden, trombosit agregasyon eğim (Ω) değerleri ile hsa-mir24-3p ve hsa-miR26a-5p göreceli ekspresyon seviyeleri incelendiğinde, hasta ve kontrol gruplarında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bu bulgulara göre, hsa-miR24-3p ve hsa-miR26a-5p'nin hem hasta hem de kontrolde trombosit fonksiyon testlerinden trombosit agregasyon eğim değerleriyle pozitif korele olması araştırdığımız her iki miRNa'nın hastalıktan bağımsız olarak, trombositin adezyon ve sekresyon fonksiyonları üzerine etkili olabileceğini göstermektedir.

Bulgularımızın literatüre önemli katkılar sağlayacağını ve gelecekte tedavi için yeni stratejiler geliştirmede etkili olacağını düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Trombosit, Demans, Alzheimer, von Willebrand Faktör, Glikoprotein 1b, ADP

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2018-30745

## ABSTRACT

AYAZ, G. (2020). Investigation of the relationship between endothelial and platelet functions with dementia at a molecular level. İstanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Department of Medical Biology. PhD Thesis. Istanbul.

Dementia is defined as the decline in cognitive functions, which may result in impaired function in daily life. Alzheimer's Disease (AD), in which dementia is most common, is a chronic progressive complex neurodegenerative disorder characterized by cognitive and memory impairment. Today, the relative increase in the elderly population increases the incidence and prevalence of AD and the economic and social costs associated with this disease. Alzheimer's affects approximately 26 million people worldwide, and the prevalence of this disease is thought to increase four fold by 2050.

It is known that vascular risk factors play an important role in the pathophysiology of dementia due to Alzheimer's disease and that platelets are effective in this process. Various mediators or endothelial secretions secreted from the vascular endothelial surface in the vascular tissue alter the activation of platelet functions. Activated platelets, on the other hand, are associated with endothelium by means of various proteins present in the surface membranes, the chemicals they secrete and various mediators. It has been suggested that thrombocytes, which are mainly involved in the mechanisms of thrombosis and hemostasis, can be used as biomarkers in the pathophysiology of Alzheimer's disease.

In this thesis project, 43 patients who applied to the Istanbul University Faculty of Medicine Neurology outpatient clinic with various levels of white matter degeneration (Fazekas 0-1, Fazekas 2-3) according to Fazekas scoring with Alzheimer's type dementia and 45 first degree relatives who did not have any neurodegenerative disease which consisted of a healthy volunteer individual, were investigated.

We determined the levels of von Willebrand Factor (vWF) protein which is one of the biomarkers of endothelial damage and Glycoprotein1b-alpha levels that adhere to endothelial damage of platelets by binding to vWF to obtain venous blood samples from volunteers to investigate the relationship of platelet functions with the endothelium at the protein levels. We detected with by ELISA method.

We determined mir26a-5p, which was predicted to be able to regulate this protein to investigate the regulation of GP1b activation at the molecular level, and miR24-3p

levels to examine vWF by qRT-PCR. In addition, we determined platelet functions by lumiagregometer method by giving ADP stimulus. According to the findings of our study, we observed that the miRNAs we investigated were expressed at a low level in our patient groups and that there was a correlation between the platelet aggregation slope values of these miRNAs.

In our study, we found that hsa-mir24-3p and hsa-miR26a-5p, which we investigated with platelet functions in Alzheimer's type dementia, were expressed at a low level in our patient groups. When the platelet aggregation slope (Ω) values with hsa-mir24-3p and hsa-miR26a-5p relative expression levels were examinated, a significant positive correlation was found in the patient and control groups. According to these findings obtained from our study, hsa-miR24-3p and hsa-miR26a-5p correlated positively with platelet aggregation slope values from both platelet function tests in both patient and control, adhesion and secretion functions of platelet independent of disease, shows that it can be effective on.

We think that our findings will contribute significantly to the literature and will be effective in developing new strategies for treatment in the future.

Key Words: Platelet, Dementia, Alzheimer, von Willebrand Factor, Glycoprotein 1b, ADP

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. TDK-2018-30745

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Trombositler kanın en küçük hücresel elemanları olup, tromboz, hemostaz ve koagulasyon mekanizmalarında yer alan başlıca hücrelerdir (1). Vasküler dokudaki damar endotel yüzeyinden salgılanan çeşitli aracı maddeler veya endotel hasarı, trombosit fonksiyonlarının aktivasyonunu değiştirmektedir (2, 3). Aktive olan trombositler, yüzey membranlarında bulunan çeşitli proteinler ve salgıladıkları çeşitli mediatörler aracılığıyla endotel ile ilişki kurarlar (4). Endotel ve trombosit arasında ilişki kuran bu proteinlerden Glikoprotein Ib (GP-1b) ve von Willebrand Faktör (vWF) birçok hastalıkta çalışılmış olup, bu proteinlerin hastalıklarla olan ilişkisine ait moleküler alt mekanizmalarında henüz tam olarak aydınlatılmayan kısımlar mevcuttur. Vasküler risk faktörlerinin Alzheimer hastalığının patofizyolojisinde önemli rol aldıkları ve trombositlerin bu süreçte etkili oldukları ileri sürülmektedir (5). Alzheimer hastalığının patofizyolojisini açıklamak için yapılan araştırmalarda trombositlerin biyobelirteç olarak kullanılabileceğine işaret eden çeşitli veriler mevcuttur (6, 7, 8, 9).

Bu doktora tez projesinde radyodiyagnostik görüntüleme tekniği ile saptanabilen vasküler bozuklukları, demiyelizasyon ve glioliz gibi nörodejeneratif hasarın düzeyini gösteren, çeşitli düzeylerdeki ak madde dejenerasyonu olan Alzheimer tipi demans hastalarında ve sağlıklı bireylerde trombosit fonksiyonları, trombosit fonksiyonlarının demans şiddeti ile ilişkisi olup olmadığı ve trombositlerin endotel ile olan ilişkileri protein düzeyinde araştırılmıştır. Çalıştığımız proteinlerin düzenlenmesini moleküler seviyede incelemek için bu proteinler ile ilişkili olabileceğini düşündüğümüz miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin tespit edilmesi de amaçlanmıştır.

Projemizde trombosit fonksiyonları ADP uyaranı vererek lumiagregometre cihazı ile çalışılmıştır. Endotel ve trombosit arasında ilişki kuran proteinlerden GP-1b aktivasyonunun düzenlenmesini moleküler düzeyde araştırmak için bu yolakta etkili olabileceğini düşündüğümüz miRNA'lardan mir26a-5p ve von Willebrand Faktör'ü moleküler düzeyde incelemek için mir24-3p miRNA'larının seviyelerini qRT- PCR ile tespit edip, hastalıkla olan ilişkilerinin belirlemesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda Alzheimer tipi demansda, trombosit fonksiyonları ile birlikte araştırdığımız hsa-mir24-3p ve hsa-miR26a-5p'nin hasta gruplarımızda düşük düzeyde ifade edildiğini bulduk. Trombosit fonksiyon belirteçlerinden, trombosit agregasyon

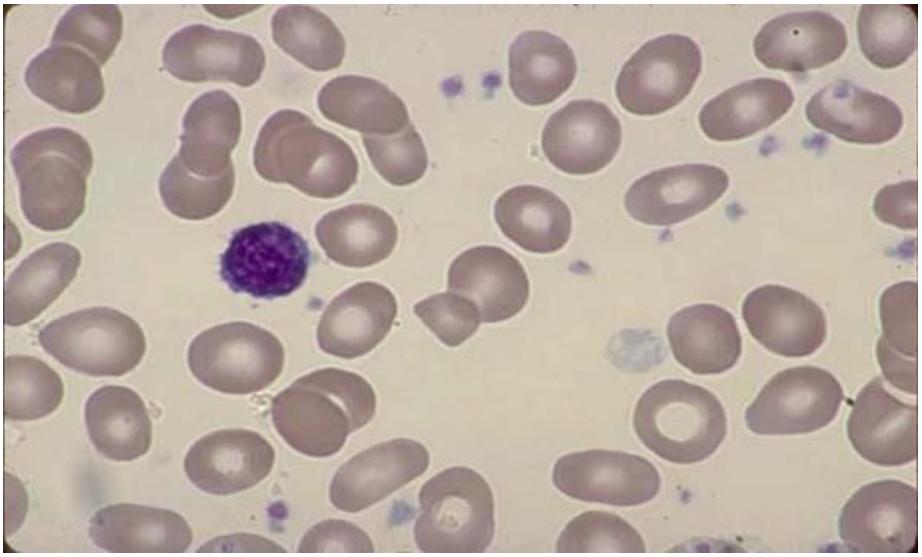
eğim (Ω) değerleri ile hsa-mir24-3p ve hsa-miR26a-5p göreceli ekspresyon seviyeleri incelendiğinde, hasta ve kontrol gruplarında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bu bulgulara göre, hsa-miR24-3p ve hsa-miR26a-5p'nin hem hasta hem de kontrolde trombosit fonksiyon testlerinden trombosit agregasyon eğim değerleriyle pozitif korele olması araştırdığımız her iki miRNa'nın hastalıktan bağımsız olarak, trombositin adezyon ve sekresyon fonksiyonları üzerine etkili olduğunu göstermektedir. Elde ettiğimiz bu bulguların demans patofizyolojisinde rol alan ve araştırmada çalıştığımız hedef proteinler ile ilişkili miRNA'ların literatüre önemli katkılar sağlayacağını ve bu bulgularımızın ileride tedaviye yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesinde etkili olacağı düşünülmektedir.

# 2. GENEL BİLGİLER

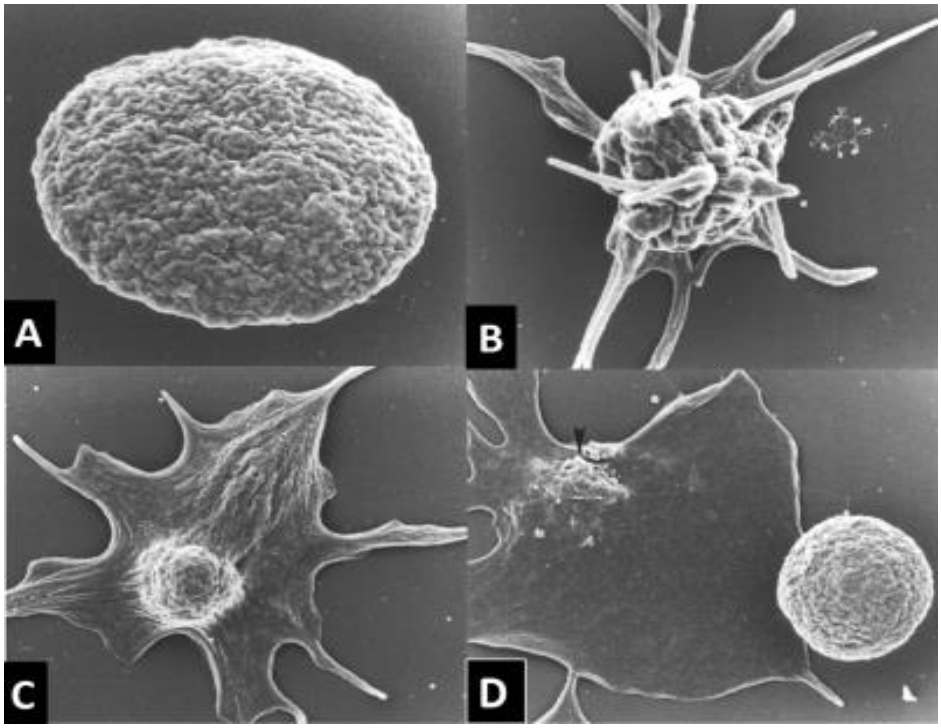
## 2.1. Trombositler

Trombositler ilk defa 1842 yılında, Addison, Dona ve Gerber tarafından kanın içinde, eritrositler ve lökositlerden farklı bir yapı olarak küçük yuvarlak hücre parçacıkları olarak tanımlanmıştır. Bu keşiften sonra 1860 yılında Zimmerman kandaki bu küçük yuvarlak partikülleri trombosit olarak adlandırmıştır. 1878 yılında Zimmerman ve Haryan tarafından trombositlerin kanın pıhtılaşmasında rol aldığı ortaya konulmuştur. İlk olarak trombositler kan içinde dolaşan hücre parçacıkları olarak tanımlanmıştır. Trombositin tanımlanmasından yaklaşık 40 yıl sonra 1882 yılında Bizzozero, trombositlerin kanın ayrı, şekilli bir elemanı olup, bunların kanama pıhtılaşma mekanizmasında aktif rol oynayan hücreler olduğunu ve bu hücrelerin megakaryositler tarafından üretildiğini ilk kez bildirmiştir (10). Pıhtılaşma sırasında trombositler bir araya gelerek üst üste yığınlar oluştururlar ve daha sonra bu yığılmış trombositler eriyerek homojen bir maddeye dönüşürler, bu değişim-dönüşüm ilk kez viskoz metamorfoz tabiri ilk kez Schimmelbush tarafından kullanmıştır (11). 1906'da Wright tarafından trombositlerin kemik iliğinde yer alan megakaryosit adı verilen hücrelerin parçalanması ile oluştuğu belirtilmiştir. Daha sonraları yapılan floresan antikor tekniği uygulamaları ile megakaryosit ve trombositlerin aynı antijenik yapıya sahip olduğu gösterildi ve mikrosinematografi tekniğiyle megakaryositlerin yapısı izlenip trombosit oluşum aşamalarının gözlenmesi sonucu trombositlerin megakaryositlerden köken aldığı kesinlik kazanmıştır (12).

Trombositler kemik iliğinde yer alan megakaryosit adı verilen 35-160 mikrometre çapındaki dev hücrelerin sitoplazmasından parçalanarak oluşan 2-4 mikrometre çapında, 0.5 μm genişlikte, renksiz ve anükleer hücrelerdir. Ortalama hacimleri 6-10 femtolitredir (13). Ortalama ömürleri 7-10 gündür. Normal şartlarda periferik kanda 150000-450000/$mm^3$ arasında trombosit bulunmaktadır. Trombosit sayının normal sınırların altında olmasına trombositopeni, üstünde olmasına ise trombositoz adı verilir. Yaklaşık olarak trombositlerin 2/3'ü (%66'sı) kanda, 1/3'ü (%34) ise dalakta bulunmaktadır. Ömrünü tamamlayan trombositler retiküloendotelyal sistem tarafından dolaşımdan uzaklaştırılırlar (14). Şekil 2.1'de periferik kanda yer alan trombositler görülmektedir.



**Şekil 2-1:** Periferik Yayma Kandaki Trombosit Görüntüsü
http://hematolojiatlasi.com/atlas_content.php?id=89




**Şekil 2-2:** Trombositlerin Yüksek Rezolüsyonlu Elektron Mikroskobu ile Görüntülenmesi

A) Dinlenme halindeki trombositlerin dış yüzeyi beyin giruslarına benzemekte, B) Trombosit aktivasyonunun erken evresi; dış yüzey hala diskoid şeklinde, C) Yayılmakta olan trombositin farklı bir erken evre görüntüsü, Hücre merkezindeki kıvrımlı görünüm giderek yok olmaya başlar ve psödopodların arası hücre sitoplazması ile dolmaya başlar. D) Yayılmış ve düzleşmiş olan aktive trombosit ile dış yüzeyi bol kıvrımlı olan aktive olmamış diskoid trombositin arasındaki fark - White J.G. 2008 ve arkadaşlarından alınmıştır (27).

### 2.1.1. Trombositlerin Yapısal Bölümleri

Dolaşımdaki trombositler disk şeklinde, yassı, düzgün konturlu, çekirdeği olmayan hücrelerdir. Yaşlandıkça yapıları değişen trombositlerin, dansiteleri azalır ve boyutları küçülür (15). Yapılan elektron mikroskopik incelemelerde trombositlerin :

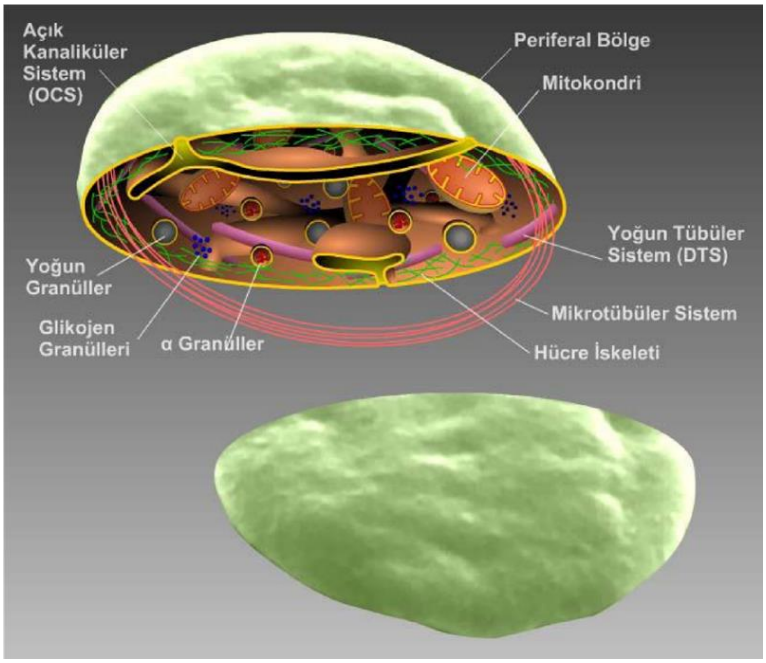
1- Periferal bölge

2- Sol jel bölgesi (hyalomer)

3- Organel bölgesi (granülomer)

4- Membran bölgesi olarak 4 ana kısımdan oluştuğu gösterilmiştir (16).

Şekil-2.3 Trombosit'in yapısal bölümleri gösterilmiştir.




**Şekil 2-3:** Trombositin Yapısal Bölümleri

(Platelet Research Laboratory. Last update: February 22, 2009.
(http://www.plateletresearch.org) alınmıştır.

#### 2.1.1.1. Periferal Bölge

Trombositlerin en dış tabakasındaki periferal bölge, trombositler tarafından uyaranlara karşı verilen kimyasal cevaplarda ve adezyonda görev alır. Bu bölge dış kabuk, ünit membran ve alt membran kısımlarından oluşmaktadır. Dış kabuk esas olarak glikokaliksden oluşur. Glikokaliste yer alan glikoproteinlerin trombosit adezyonunda ve agregasyonunda rol alan reseptör görevi gördüğü bilinmektedir. Glikokaliks tabakasında

yer alan reseptörlere, birçok farklı adezif, agrege edici ajanlar, bir takım inhibitörler ve prokoagülan faktörler bağlanır. Bu faktörler, selektinler (P-selektin gibi), integrinler (glikoprotein (GP) I, GP II, GP III, GP IV, GP V gibi), immünoglobulinlerin yanı sıra adenozin difosfat (ADP), kollajen, epinefrin, trombin, ristosetin gibi maddelerle etkileşen trombosit adezyon, agregasyon ve koagulasyonda rol alan reseptörleri de barındırmaktadır (17). Ünit membran olarak bilinen, periferal bölgedeki glikokaliksin hemen altında yer alan, çok önemli bir bileşen olan fosfolipid ağırlıklı trombosit plazma membranı bulunmaktadır. Bu membran yüksek rezolüsyonlu, düşük voltajlı elektron mikroskobu ile incelendiğinde kıvrımlı yapıda olduğu göze çarpar (18). Bu membran sıklıkla trombositin iç ortamını korumada, trombosit adezyonunda ve kontraksiyonunda görevli fosfolipitten zengin bir yapıdır. Fosfolipid membranın en önemli fonksiyonlarından biri, koagülasyon proteinlerinin reaksiyona girerek performans göstereceği yüzey alanını oluşturmaktır. Bu membran, faktör X'dan Xa'ya ve protrombinden trombine dönüşümün sağlandığı ve koagülasyon kaskadınının düzenlendiği alandır (18). Trombosit plazma membranı, ayrıca hücre dışından gelen sinyalleri alıp, bunların hücre içerisinde kimyasal sinyallere dönüştürülmesine uygun zemin hazırlamaktadır (18).

Açık kanaliküler sistem (OCS), trombositte periferal bölgede yer alan bir iç membran yapısıdır. OCS, trombosit tarafından üretilen mediyatörlerin dışarı atılmasını sağlar ve hücre dışında bulunan çeşitli maddelerin trombosit hücre içine alınmasını sağlayan hem içeri, hem dışarı transportta görev alan bir kanallar ağı sistemidir. Aktifleşen trombosit OCS aracılığı ile kendi ürünlerini dışarı boşaltır (17).

#### 2.1.1.2. Sol Jel Bölgesi

Sol jel bölgesi, trombosit yapısının araştırılmasına yönelik yapılan mikroskobik incelemelerde, gerek ışık mikroskobu gerekse faz kontrast mikroskobunda periferal bölgenin hemen altında bulunan ve trombositin hücre iskeletini oluşturan bölgedir. Trombositlerde ayrıca bu bölgede submembranöz flamentlere şekil vererek trombositin diskoid şeklinin korunmasında görev alan kontraktil proteinler bulunmaktadır. Kontraktil proteinler, trombosit aktivasyonunda, şekil değişikliğinde, aktifleşen trombositin psödopod uzantıların gelişiminde, hücrenin kasılarak granül içeriklerinin salınımında görev yapmaktadır (19).

Likid jele benzeyen, akışkan vizköz solüsyon biçimindeki bu yapı hyaloplazma olarak adlandırılan sol jel bölgesini oluşturur. Elektron mikroskobi ile yapılan incelemelerde organellerin fibröz materyalden oluşan ağ yapıdaki internal matrix içine gömülü olduğu gösterilmiştir (16). Trombositlerin asimetrik bir şekilde olması, ayrıca granüllerin hyaloplazma içindeki dağılımı sol jel bölgesinin vizköz bir yapı olduğu fikrini desteklemektedir. Membranın hemen altında yer alan kontraktil filaman sisteminden farklı olarak, trombositin hücre iskeletine destek olan mikrotubuler yapının haricinde ek olarak internal transformasyon, trombositin şekil değiştirmesi, pıhtının retraksiyonu ve hemostatik plağın kontraksiyonda görev yapan aktomiyozin filaman sistemi yer alır (16).

**2.1.1.3. Organel Bölgesi**

Organel bölgesi, farklı içerikleri olan bir takım granüller, lizozom, mitokondri gibi hücresel yapıları içeren bölgedir. Organeller, trombositlerin hücre içi metabolik aktivitelerinde rol oynamaktadır. Trombosite ait alfa granüller ve yoğun cisimcikler de organel bölgesinde yer alan yapılardır (17).

Trombositler 3 önemli sekretuvar yapı içermektedir. Bu yapılar α granüller, yoğun cisimcikler (δ granüller), ve lizozomlardır. Trombosit içinde yer yer multiveziküler cisimcikler de bulunmaktadır.

Alfa granülleri içerisinde, von Willebrand faktör (vWF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), trombosit faktör 4 (PF 4), beta tromboglobülin (β-TG), fibrinojen, fibronektin ve diğer pıhtılaşma faktörleri yer almaktadır. Ancak bu moleküller sadece trombositlerde bulunmamaktadır. Moleküllerden bazıları endotel hücrelerinden de salınır (vWF), bazıları plazmada da bulunmakta (fibrinojen) ve çok azı da trombosite spesifik (β-TG, PF 4) moleküllerdir (17). Ayrıca faktör V'i içeren koagulasyon faktörleri, yüksek molekül ağırlıklı kininojen, faktör XI ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 alfa granüllerinde yer almaktadır (19).

Trombositin dens granülleri, kalsiyum, serotonin ve ADP gibi nükleotidler içermektedir (17).

Diğer yapılar lizozom ve peroksizomdur. Lizozom hidrolitik enzimler içerirken, peroksizom katalaz enzimi içermektedir. Trombosit granülleri ve bunların içerikleri Tablo 2-1'de gösterilmiştir.

**Tablo 2-1:** Trombosit Yapısındaki Granüllerin İçerikleri

| **Alfa Granül**<br>**'Adezyon ve yenilenme molekülleri'** | **Dens Granül**<br>**'Pro-agregan moleküller'** | **Lizozomlar**<br>**'Temizleyen moleküller'** |
|---|---|---|
| **Proteoglikanlar:**<br>✓ Trombosite özgü: β TG, PF4<br>✓ Serglisin, HRGP<br>✓ PBP, CTAP-III,<br>✓ NAP-2<br>**Adezif glikoproteinler:**<br>✓ Fibronektin,Vitronektin, Trombospondin, vWF,<br>**Hemostaz ile ilgili faktör ve kofaktörler:**<br>✓ Fibrinojen, Faktör V, VII, XI, XIII<br>✓ Kininojenler,Plazminojen,ProteinS,<br>**Hücresel mitojenler:**<br>✓ PDGF, TGFb , ECGF, EGF, VEGF, IGF, İnterlökin-β<br>**Proteaz inhibitörleri:**<br>✓ α2-makroglobülin, α2-antitripsin vb…<br>**Ayrıca**<br>✓ İmmünglobülinler: IgG, IgA, IgM<br>✓ Albümin, GPIa/Multimerin | **Nükleotidler:**<br>✓ Adenin:ATP, ADP<br>✓ Guanin:GTP, GDP<br>**Aminler:**<br>✓ Serotonin (5-HT)<br>Histamin<br>**Bivalan katyonlar:**<br>✓ Kalsiyum<br>✓ Magnezyum<br>✓ Pirofosfat | **Asit proteazlar:**<br>✓ Katepsin D, E<br>✓ Karboksipeptidaz A, B<br>✓ Kolajenaz<br>✓ Asit fosfataz<br>✓ Arilsülfataz<br>**Glikohidrolazlar:**<br>✓ Heparinaz<br>✓ N-asetil-glukozaminidaz<br>✓ β-glukronidaz<br>✓ β-galaktozidaz<br>✓ β-glycerophosphatase Glukozidaz<br>✓ Fukozidaz<br>✓ Arabinozidaz, mannozidaz |

Francine Rendu ve ark. (2001) makaleden değiştirilerek alınmıştır (42).

### 2.1.1.4. Membran Bölgesi

Trombosite ait dördüncü bölge yoğun tübüler sistemleri içeren membran bölgesidir. Burada hücrenin kasılması için gereği olan kalsiyum bol miktarda bulunur. Bu bölge prostaglandin üretimi için gerekli olan enzimatik sistemler de bulundurmaktadır (17).

### 2.1.2. Trombositte Yer Alan Organeller

Trombositler, tromboz, hemostaz ve koagulasyonda önemli role sahip küçük, anükleer hücrelerdir. Nüvesi bulunmayan trombositler organellerini megakaryositlerden miras almışlardır. Trombosite ait organeller incelendiğinde, hücre membranı,

peroksizom, mitokondri, lizozom, granüller ve dens tübüler sisteme (DTS) ait yapılardan oluştuğu gözlenir (20).

Organellerini miras aldıkları megakaryositlerden elde edilirler. Dolaşımda trombositler, proteinleri sentezleyebilir ve beklendiği gibi, endoplazmik retikulum trombositlerde yoğun tüp sistemi (DTS) olarak adlandırılan, trombositlerde endoplazmik retikulum, otofogozomlar, endozomlar, lizozomlar da dahil olmak üzere çoğu ökaryotik hücrede bulunan birçok sitoplazmik organelleri içerir. Trombosite özgü organellere ek olarak: Alfa-granül, trombositlerdeki büyük protein deposu bölgesi ve yoğun granül (küçük-granüller), küçük molekül deposu bölgesi. Çoğu hücre tipinin aksine, yukarıda listelenen organellerin neredeyse tamamı, DTS, lizozomlar ve Golgi aparatı elemanlarını içeren sekresyonda yer almaktadır. Fizyolojik olarak, trombosit ekzositoz için hazırlanır ve kollajen, trombin veya tromboksan A2 gibi sinyallere cevap olarak organellerinin içeriğini hızlı bir şekilde serbest bırakmak üzere tetiklenebilir (20).

#### 2.1.2.1. Trombositte Yer Alan Granüller ve İçerikleri

Trombositler 4 farklı çeşit granül içerirler (21).

##### 2.1.2.1.1. Alfa Granülleri (AG)

Elektron mikroskopi ile yapılan incelemelerde alfa granül (AG), diğer granüllere oranla nispeten büyük ve sayısı fazladır (22). Normal dolaşımdaki trombositlerde hücre başına yaklaşık 50-80 adet AG düşer (23). Çapı 300-500 nm oval veya yuvarlak morfolojiye sahip AG'ler, trombosit hacminin yaklaşık %10'unu oluşturur (24). AG'in içinde başlıca koagülasyonda görevli vWF, trombospondin, Trombosit faktör 4, fibronektin depolanmaktadır. Trombosit aktivasyonu ile protein sentez ve ekspresyonu artmakta granül içeriği dışarı salınmaktadır (24).

##### 2.1.2.1.2. Dens Granüller (DG)

Yoğun cisimcik adı ile de bilinen dens granül (DG), her bir trombosit içinde yaklaşık 3 ila 8 adet bulunur (25). Etrafında halo bulunduran DG, 200-300 nm çapında olup, 6.1 pH derecesine sahip asidik granüllerdir (25). Yoğun cisimcikler pirofosfat ve tromosit aktivasyonunda çok önemli rol oynayan ATP, ADP'yi ayrıca kalsiyum, magnezyum, seratonin, granülofizin ve P-selektin içermektedir (26). Kalsiyum DG'ye elektron yoğun bir özellik sağlar ve bu granüller ek boyama olmadan EM ile görülebilir (27).

#### 2.1.2.1.3. Mikroperoksizom

Trombositte yer alan peroksizomlar, 90 nm çaplı olup, trombositlerde çok az miktarda bulunurlar. Hemostaz için peroksizom gerektiren metabolitlerin çoğu, sinyal iletim yollarında yer alır. Bunlar birincil safra asitleri; trombosit aktive edici faktör; plazmalojenler, N-açilglisinler ve N-açiltaurinler; doksaheksaenoik asit ve çoklu prostanoidlerdir (20, 30).

#### 2.1.2.1.4. Lizozom

Membran ve matrikste 175-200 adet bulunan granüllü yapılardır (28). Trombosit lizozomları, diğer hücredeki lizozomlar gibi parçalama ve sindirilme mekanizmalarında rol oynayan enzimleri içerir. Lizozom içerisinde proteinler, karbonhidrat ve lipitler bulunmaktadır. Protein parçalanması ile ilgi lizozomal enzimler, katepsinler, elastaz, kollajenaz, karboksipeptidaz, prolin karboksipeptidazdır. Karbonhidrat parçalayıcı lizozomal enzimler, glukosidaz, fukosidaz, galaktosidaz, glukuronidaz, mannosidaz, heksosaminidaz, arabinofuranosidazlardır. Ayrıca platelet lizozomları içerisinde fosfat esterlerini yarıklayan enzim asit fosfataz da bulunur. Lizozomların içinde en çok bulunan enzim asit hidrolazlardır. Lizozomal membranlar LAMP-1, LAMP-2 ve CD63'ü içerir (29).

### 2.1.3. Trombositlerin Aktivasyon Mekanizması

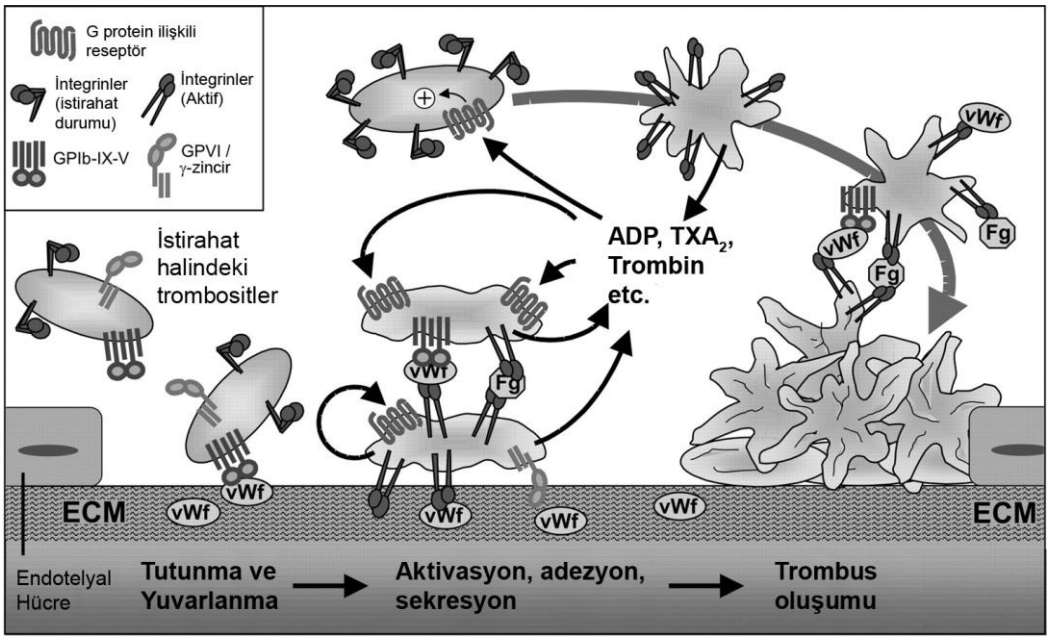
Tromboz ve hemostaz mekanizmasında kilit rol oynayan trombositlerin en önemli işlevi hasarlı damar bölgesine tutunmak veya damar duvarı yaralanmasını takiben aktifleşerek hemostatik tıkaç oluşturup kanamanın durdurulmasını sağlamaktır. Fizyolojik şartlar altında trombositler vasküler doku içerisinde birbirlerine ve endotele yapışmadan istirahat halinde dolaşırlar. Damar duvarında bir hasar meydana gelirse, bu durum trombositler için bir uyaran vazifesi görür. Trombositler hasarlı bölgeye çok kısa bir sürede ulaşırlar ve bu bölgeye yapışarak tutunurlar. Bu bölgedeki trombositler, diğer trombositler ile birleşip agregat oluştururlar ve hasarlı bölgeyi kapatarak hemostatik bir tıkaç oluştururlar (15). Trombositlerin uyaranlara verdikleri cevap iki türlü olur. Geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz cevaplar. Adezyon, trombosit şekil değişikliği ve primer hemostaz geri dönüşümlü iken trombositten madde salgılanması (sekresyon) ve buna bağlı gelişen agregasyon geri dönüşümsüz cevaplardır.

Trombositlerin hasarlı bölgedeki subendotel matrikse yapışması primer hemostazda ilk adımdır. Trombositler, membranda yer alan spesifik yapışkan glikoproteinleri (GP) yoluyla hücre dışı matriks proteinleri ile etkileşime girer. Biyokimyasal agonistlerin reseptörlerine bağlanması, reseptör çapraz bağları ve plazma zarındaki değişiklikler, zardan sitoplazmaya iletilen karmaşık bir sinyal zincirini indükler, bu da trombosit aktivasyonuyla sonuçlanır (dış sinyalleşme) (31). İstirahat halindeyken hyaloplazmada homojen dağılmış granüller ile diskoid şekilde bulunan trombositler, aktive oldukları zaman, hücre iskeleti proteinlerinin düzeninde bir değişiklik meydana gelir ve hücre zarından kaynaklanan pseudopodia formasyonu ile trombositlerde şekil değişikliği olur (32). Aktifleşen trombositten salgılanan Adenozin difosfat (ADP) ve serotonin gibi bazı salgı ürünleri, diğer trombositlerin hasarlı damar duvarına çağrılmasını ve daha fazla trombositin uyarılmasını güçlendirir. Trombositlerin aktivasyonu ve trombosit köprülerinin kurulması ve daha sonra bir araya getirilmesi için gerekli olan ana yapı fibrinojenin GPIIb / IIIa'ya bağlanması ile bağlantılıdır. Sekonder hemostaz sırasında, trombosit stimülasyonunun amplifikasyonu prokoagülan aktiviteye, trombin oluşumuna ve sonraki pıhtı retraksiyonu ile stabil bir trombosit tıkanıklığı oluşumuna neden olur.

#### 2.1.3.1. Trombosit Adezyonu

Trombositin hasarlı damar bölgesine yapışması zorlu kan akışı koşullarında gerçekleşir, trombositlerin vasküler hasar bölgelerinde durması için yavaşlamaları gerekir. Adezyonda ilk olarak yüksek moleküler ağırlıklı (1-10 MDa) multimerik plazma proteini von Willebrand faktörü (vWF), subendotel yüzeyindeki majör matriks proteini kollajenle birleşir ve ağırlıklı olarak yüksek kayma koşulları altında trombosit yapışması için bir substrat görevi görür. vWF multimerlerinin çoklu bağlanma bölgeleri, trombositler üzerinde GPIb / V / IX kompleksiyle ilk temasları sağlar; vWF monomerlerinin aksine, sadece dimer ve multimerler GPIb / V / IX kompleksini çapraz bağlayabilir ve aktive edebilir. GPIb / V / IX veya vWF molekülündeki yapısal değişikliklerin bu etkileşimleri düzenlediği düşünülmektedir. Fizyolojik koşullar altında, vWF'nin kollajene bağlanmasının GPIb / V / IX 'e bağlanmasını sağladığı varsayılır (33). Subendotel matriksine de entegre edilmiş olan modüler glikoprotein trombospondin-1 (TSP1), yüksek kayma koşullarında GPIb vasıtasıyla vWF'ye alternatif bir yapışma substratı olarak işlev göreceği tespit edilmiştir (34). PSGL1'e ek olarak GPIb / V / XI

kompleks endotel P-selektin ile endotelde aktive olmuş trombositlerin dönmesini sağlar (35, 36).




**Şekil 2-4:** Trombosit Fonksiyonları

Offermanns, S. (2006) ve ark.'dan değiştirilerek alınmıştır (68).

Statik veya düşük kayma koşulları altında, trombositler ağırlıklı olarak subendotelyumun kollajenine yapışır. Kollajen başlangıçta GPIb / IIa'ya bağlanır, bu integrin moleküllerinin birçoğunu çapraz bağlar ve bu şekilde trombositleri aktive eder (37). Trombosit GPIb / IIa'dan yoksun olan hastalarda kanama sorunları vardır (38). Adezyonda CD36 ve GPVI gibi diğer kollajen reseptörleri önemli rol oynarlar. Kollajen kaynaklı sinyallemede (39, 40), GPVI, ana sinyal reseptörü, immünoglobulin süper ailesinin bir üyesidir ve Fc reseptör g zincirine bağlanır. Sinyalleme yolu, lenfosit sinyalleme ile benzerdir (41). Endotele yapışma sonucu trombositlerin uyarılması, yayılması, GPIIb / IIIa'nın aktivasyonuna, çözünür fibrinojenin bağlanmasına olanak sağlayan ve granül salgılanmasına yol açan bir dizi mekanizmaları tetikler.

### 2.1.3.2. Trombosit Sekresyonu

Vasküler hücreler ile etkileşime giren trombositler aktifleşir ve fonksiyonu artar. Trombositlerin endotel yüzeyindeki agonistleriyle etkileşimi sonrasında hücre içinde çeşitli sinyal moleküllerin üretimi veya salınımı gerçekleşir. Trombosit hasarlı endotel yüzeyinde açığa çıkan kollajene ve vWF'e membranındaki GP1b reseptörleri aracılığı ile adeze olur. Endotel yüzeyinde immobilize edilmiş trombositlerin salgılanan birkaç ürünü,

agregat oluşturmak üzere çevreye toplanan ilave trombositleri uyarır. Trombositte yer alan Dens granüller (yoğun cisimcikler), ADP veya serotonin gibi önemli sekonder agonistleri içerir. Trombosit içinde yer alan ADP'nin yaklaşık% 50'si, trombosit aktivasyonundan sonra serbest bırakılan ancak tekrar doldurulamayan dens granüllerde depolanır. Buna karşılık, adenin nükleotitlerinin metabolik havuzu, yoğun cisimciklere bağlı değildir (42). ADP'nin trombosit aktivasyonunun önde gelen bir bileşeni olduğu tahmin edilmektedir (43). Trombosit yüzeyinde iki önemli ADP reseptörü vardır. $P_2Y_1$ reseptörü, intrasellüler $Ca^{+2}$ salınımı ve şekil değişikliği ile ilgili olup, geçici toplanmanın mobilizasyonuna aracılık eder (44). $P_2Y_{12}$ reseptörünün, trombosit sekresyonunu kuvvetlendirdiğine ve sürekli geri dönüşümsüz toplanmaya ve agregasyona katıldığı düşünülmektedir (45). ADPase / CD39, ADP ile trombosit aktivasyonunu sınırlanır (46). Kolajen stimülasyonundan sonra ikinci agregasyon (toplanma) dalgasının olmaması, ADP aracılı trombosit aktivasyonundaki bozuklukları karakterize eder. İyi bilinen güçlü bir vazokonstriktör olan Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), Gq-birleştirilmiş $5HT_2A$ reseptörüne bağlanır ve ADP ile birlikte trombosit tepkisi ile birlikte çoğalır. Ek olarak, serotonin, trombosit yüzeyi üzerinde fibrinojen ve trombospondin (TSP) gibi prokoagülan proteinlerin tutulumunu arttırmada prokoagülan rol oynayabilir (47). Yoğun tübüler sistemi, trombosit aktivasyonu sırasında mobilize olan bir $Ca^{+2}$ havuzunu içerir. $Ca^{+2}$ düzeyleri trombosit aktivasyonunda, trombosit çekiminde ve trombosit toplanmasında merkezi tetikleyicilerdir (48). Alfa-granülleri, büyük yapışkan proteinler (vWF, TSP1, vitronektin, fibronektin), mitojenik faktörler (PDGF, VEGF, TGFb), koagülasyon içerir.

Pıhtılaşma faktörleri (faktör V, VII, XI, XIII) ve trombosit aktivasyonundan hemen sonra salınan proteaz inhibitörlerini (protein C, PAI-1, TFPI) içerir. A-granül proteinlerinin bazıları megakaryositler tarafından sentezlenir (TSP1, b-tromboglobülin, trombosit faktörü (49); diğerleri ise plazmadan endositozla salınır (immünoglobulinler, fibrinojen, vitronektin). Çeşitli glikoproteinler, örneğin P-selektin (CD62P), dinlenme halindeki trombositlerinin alfa-granül zarı üzerinde lokalizedir. Salgılanması üzerine, granüler membranlar plazma membranı ile kaynaşır ve trombosit yüzeyinde CD62P açığa çıkarır. CD40L dahil P-selektin ve diğer aktivasyona bağlı glikoproteinler, nötrofiller ve monositler için trombosit bağlanmasına aracılık eder (50). Lökositler, subendotelyum üzerinde immobilize edilmiş trombositler üzerinde P-selektine bağımlı bir şekilde yuvarlanabilir (51).

### 2.1.3.3. Trombosit Agregasyonu

Trombositlerin agregasyonu, trombositlerin hemostatik bir tıkaçta birikmesiyle karakterize edilir. Bu işlemdeki merkezi trombosit reseptörü, aktive edilmiş trombositlerin fibrinojen köprüler aracılığıyla birbirine bağlayan GPIIb / IIIa (allB3-integrin)'dir. Dinlenme halinde trombosit yüzeyinde 40.000 ila 50.000 GPIIb / IIIa kompleksleri sunar. Aktif olmayan durumdaki trombositte bu integrin olmaz. Sadece bir trombositin uyarılması, alfa-granül ekzositozu yoluyla GPIIb / IIIa moleküllerinde bir artışa ve çözünebilir ligandların bağlanmasını mümkün kılan, yüzeysel alanda GPIIb / IIIa'nın aktivasyonuna yol açar. Öte yandan, uyarılmış trombositler üzerinde immobilize fibrinojen, trombositlerin GPIIb / IIIa ile istirahati için birincil agregasyonun çoğalmasına yol açan yapışkan bir substrat olarak görev yapar (52). GPIIb / IIIa'nın konformasyonundaki aktivasyona bağlı değişiklikler, biyofiziksel olarak veya spesifik antikorlarla tespit edilebilir. Ligandın GPIIb / IIIa'ya bağlanmasıyla konformasyonel değişiklikler olur. Bu değişiklikler GPIIIa'nın sitoplazmik tirozinlerinin fosforlanmasına neden olur.

Sitoplazmatik GPIIIa zincirinin sitoplazmik tirozinlerinin fosforilizasyonu reseptörde yapısal değişikliklere yol açar (53, 54). GPIIb / IIIa kompleksindeki disülfür değişiklikleri, ile fibrinojen köprüleri aracılığı ile trombositler diğer trombositlere bağlanır (55). Arteriyollerde ve sertleşmiş arterlerde olduğu gibi yüksek kayma ortamları, trombosit aktivasyonu / toplanması, kaymanın kendisi tarafından indüklenebilir (56). Bu durumda, trombositler ilk önce GP1b / V / IX kompleksi üzerinden vWF köprüleri ile bağlanır. Bu etkileşim GPIIb / IIIa (içeriden dışarıya sinyal verme) aktivasyonuna yol açar. Buna bağlı olarak stabil vWF-aracılı trombosit agregatları düşük yoğunluklu lipoproteinlere (LDL) aynı zamanda GPIIb / IIIa ligandı işlevi görür (57). Statin tedavisini bırakan hastaların plazmasında LDL seviyelerinin arttığı gözlenmiş ve bu yüksek LDL seviyelerinin trombosit hiperaktivitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. LDL ve buna karşılık gelen bir protrombotik durum arasındaki muhtemel bağlantı, statin kesilmesinden sonra artmış kardiyovasküler risk oranını açıklayabilir (58). Ayrıca, trombositler lökositleri ve T-hücrelerini büyüyen fişe alır. P-selectin / PSGL1 veya CD40L / CD40 ile etkileşimleri, trombüs büyümesini tetikleyen veya sınırlayan lökositlerin aktivasyonuna aracılık eder (59). Dolaşan trombosit-monosit agregatlarının, periferik damar cerrahisi sonrası greft tıkanıklığında rol oynaması buna örnek teşkil edebilir (60, 61). Trombositler üzerindeki GPIb ve lökositler üzerindeki Mac-1 ile

trombosit-lökosit birleşimlerinin oluşması, aktarılmış soğutulmuş trombositlerin aktif kümelenmiş GPIb / V / IX kompleksleri ile hızlı bir şekilde temizlenmesi olgusunun bir nedeni olabilir (62).

### 2.1.3.4. Trombosit Fonksiyonları ve Aktivasyonu ile İlgili Moleküler Mekanizmalar

Trombositler vasküler hemostazda anahtar rol oynar. Trombosit fonksiyonları, çeşitli hücre dışı sinyallere cevap veren sinyal yolları ile sıkı bir şekilde kontrol edilir. Sağlıklı endotel kısa ömürlü mediyatör prostasiklin (PGI2) ve nitrik oksidi (NO) serbest bırakır. PGI2, adenilat siklaz (AC) ile cAMP sentezini uyaran Gs heterotrimerik G-proteinine bağlanan bir G-protein bağlı reseptöre (GPCR) bağlanır. cAMP, PKA katalitik alt birimlerinin aktivasyonuna yol açan cAMP-bağımlı protein kinazın (PKA I ve II izoformları) düzenleyici alanlarına bağlanır ve çok sayıda substrat proteininin fosforilasyonuna yol açar (63). NO, plazma membranı boyunca yayılır ve aktive olur doğrudan gGMP üretmek için guanilat siklaz (sGC, NO - GC). cGMP, genellikle PKA tarafından fosforlananlarla özdeş olan substrat proteinlerini fosforize eden cGMP'ye bağımlı protein kinazı (izoform PKG ı) aktive eder (64). cAMP ve cGMP. PGI2 ve NO tarafından indüklenen sinyal yollarının, trombositleri hasar yokluğunda istirahat durumunda tuttuğu düşünülmektedir (65).

Buna karşılık, endotelde meydana gelen bir hasar, hücre dışı matriks protein kollajeninin açığa çıkması ve vasküler yaralanma sonrası trombositin von Willebrand faktörüne (vWF) bağlanması trombosit aktivasyonunu başlatır. Kollajen, Src familyası ve Syk tirozin kinazlar yoluyla sinyal veren VCF, GPIb / IX / V kompleksine bağlanan glikoprotein VI (GPVI) F Fc reseptör γ zincir kompleksi içeren immünorektor tirozin bazlı aktivasyon motifini (ITAM) uyarır. Paralel olarak, vasküler hasar ayrıca, trombositleri doğrudan trombin aktive eden ve çözünür fibrinojeni bir fibrin ağına dönüştüren trombin oluşumuna yol açan pıhtılaşma kaskadını tetikler. Aktive trombositler, spesifik GPCR'lere bağlanan ADP ve tromboksan $A_2$'yi ($TxA_2$)serbest bırakır. Bu reseptörlerin aşağısındaki sinyal olayları, çeşitli kinazların ve GPCR-bağlı heterotrimerik G-proteinlerinin ve ayrıca Ras ve Rho ailelerinin küçük G-proteinlerinin aktivasyonunu içerir. Dahası, kalsiyum iyonları ($Ca^{+2}$), daha sonra sinyalin çoğalmasına yol açan hücre içi depolardan salınmaktadır, sonuçta, zar ve sitoiskelet yeniden düzenlenmesi, granül salınımı ve integrin aktivasyonuna neden olmaktadır (66, 67).

Vasküler yaralanma yerlerinde hızlı bir şekilde aktive olma yeteneklerinden dolayı, trombositler, birincil hemostazda olduğu gibi arteriyel trombozda da önemli aktörlerdir. Ek olarak, vasküler sistemin aterosklerotik yeniden şekillenmesi de dahil olmak üzere kronik patolojik süreçlerde rol oynarlar. Trombositlerin damar duvarına primer yapışması büyük ölçüde G proteininin aracılık ettiği sinyalden bağımsız olmasına rağmen, daha sonra büyüyen trombosit trombüsüne ilave trombositlerin alınması, G proteinine bağlı reseptörler yoluyla etki eden ADP, tromboksan $A_2$ veya trombin gibi aracılar gerektirir. G proteinine bağlı reseptörler vasıtasıyla trombosit aktivasyonu, G proteinleri Gq, G13 ve Gi'nin aktivasyonu ile başlatılan 3 ana G protein aracılı sinyal yolunu içerir (68).

Trombosit aktivasyonunun bir sonraki aşaması sırasında, trombosit tıkacı dolaşımdan ilave trombositlerin alınması ve bunların integrin αIIb -3a aracılı agregasyonundan oluşur. Ek trombositlerin toplanmasına, trombosit yapışması başlatıldıktan ve trombosit yapışma reseptörleri yoluyla bir miktar trombosit aktivasyonu meydana geldikten sonra üretilen veya serbest bırakılan çeşitli yerel olarak biriken aracılar aracılık eder. Bu aracılar, aktive edilmiş trombositlerin yüzeyinde üretilen aktive edilmiş trombositlerden ve trombinden salgılanan veya salgılanan ADP / ATP ve tromboksan $A_2$'yi (Tx $A_2$) içerir. Bu dağılabilir mediatörler ortak olarak G proteinine bağlı reseptörler (GPCR'ler) yoluyla etkide bulunurlar. G protein aracılı sinyalleme yolaklarının aktivasyonu sayesinde, kendi oluşumlarını ve salımlarını daha da artırabilirler, böylece trombositlerin büyüyen trombüste hızlı aktivasyonunu ve alımını sağlamak için başlangıç sinyallerini güçlendiren pozitif geri besleme aracıları olarak hareket ederler (68).

Ana trombosit uyaranları ADP, Tx $A_2$ ve trombin, trombosit şeklindeki değişimi, degranülasyonu ve birleşik GPIIb-IIIa-aracılı agregasyonunu indüklemek için birçok G protein aracılı sinyalleme yolunu aktive ederek trombositleri büyüyen bir trombüs içine alır. Tx $A_2$ trombosit membranında yer alan araşidonik asit (AA)'den Siklooksijenenaz 1 (COX-1) enzimi aracılığıyla üretilir. ADP, Gq ve Gi'yi $P_2Y_1$ ve $P_2Y_{12}$ reseptörleri vasıtasıyla aktive ederken, Tx $A_2$ ve trombin esas olarak Gq ve $G_{12}$ / $G_{13}$'ü, $TxA_2$ reseptörü veya proteazla aktive edilmiş reseptörler PAR1 / PAR4 veya PAR3 / PAR4 üzerinden aktive eder. Tüm aracı moleküller sırayla trombin, Tx $A_2$ ve ADP oluşumunu ve salımını arttırabildiklerinden, etkileri çoğaltılır ve sonunda tüm ana G protein aracılı sinyal yolları

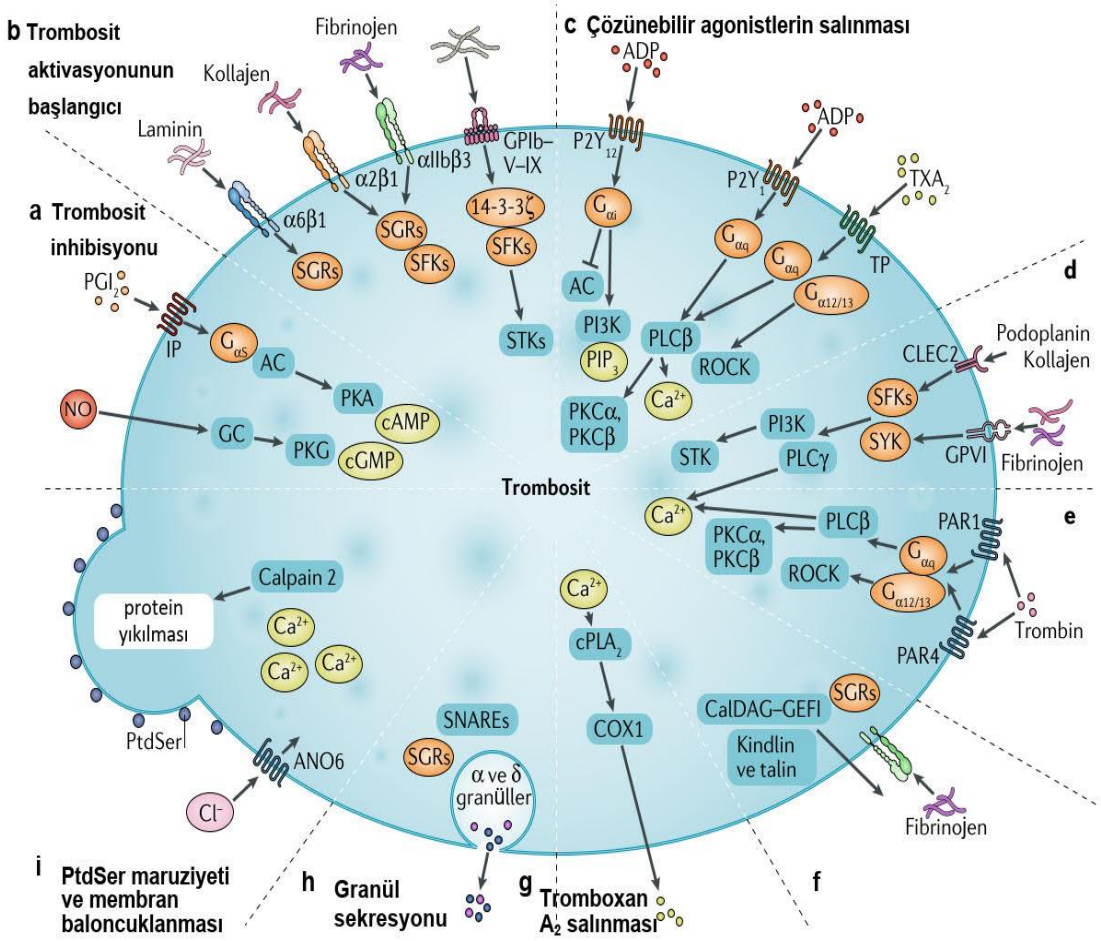
aktive edilir. Bu pozitif geri bildirim mekanizmaları, trombosit aktivasyonunda oynadığı rollerin bireysel G proteininin aracılık ettiği sinyal yollarında Gq, G13 ve $Gi_2$'nin trombosit aktivasyonunda önemli roller oynadığı gösterilmiştir (68).

Gq / $G_{11}$ G proteinleri ailesi reseptörleri, özellikle β2 ve β3 izoformları trombositlerde bulunan fosfolipaz C (PLC) β izoformlarına bağlar. PLC'nin aktivasyonu, sırasıyla serbest sitoplazmik $Ca^{+2}$ yükselmesine ve protein kinaz C'nin (PKC) aktivasyonuna yol açar ve PKC etkisi ile fosfotidilinozitol 4,5 bifosfat ($PIP_2$) yıkılır, yıkım sonrasında Inozitol tri fosfat ($IP_3$) ve diaçil gliserol (DAG) oluşur. Her ne kadar memeli organizmasındaki hücrelerin çoğu, hem Gq hem de $G_{11}$'i ifade etseler de, trombositler, sadece Gq içerdiklerinden bir istisnadır (69, 70). Şimdiye kadar, trombositlerde $G_{11}$ eksikliğinin fizyolojik bir önemi olmadığı bildirilmiştir. $G_{12}$ / $G_{13}$ ailesinin bir üyesi olan $G_{13}$'ün, Rho / Rho-kinaz aracılı yolunun en iyisi olduğu birkaç sinyal yolunu düzenlediği gösterilmiştir. Aktifleştirilmiş G $alfa_{13}$, Rho'ya özgü guanin nükleotit değişim faktörlerinin bir alt grubunu bağlar ve aktive eder: Trombositler üzerinde eksprese edilen Gi ailesinin ana üyesi olan $Gi_2$, reseptörleri inhibe edici bir şekilde adenilil siklazlara bağlar (71, 72). Ek olarak, G-tipi G proteinleri, G-protein aktivasyonu üzerine salınan ve kompleksleri için ana bir kaynaktır ve adenil siklazlar veya fosfatidilinositol 3-kinazlar ($PI_3K$'lar) dahil olmak üzere çeşitli kanallar veya enzimleri düzenler (73). Son enzim olan fosfotidilinozitol 3, 4 , 5 trifosfat, hücre içi sinyal yolaklarında yer alan serin / treonin kinaz, Akt / protein kinaz B (PKB) dahil olmak üzere birçok yolağı aktive eder (74, 75).

#### 2.1.3.4.1. Trombosit Membran Reseptörleri

Trombosit reseptörleri, çeşitli agonistler ve adeziv proteinler aracılığıyla trombositin dış çevresindeki yapılarla kontakt kurmasını sağlar. Trombosit yüzey reseptörleri, trombosit granülleri ile birlikte büyük ölçüde hücrenin spesifik kimliğini belirler. Bilindiği gibi trombositler anukleer hücrelerdir, çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda işlevlerini yerine getirmek için önceden sentezlenmiş moleküllerle donatılmışlardır. Trombositler değişik durumlara adapte olabilmek için fenotip değiştirebilirler. Birçok reseptör çeşidi trombosit granül membranında depolanır ve P-selektinde olduğu gibi sadece aktivasyondan sonra trombosit yüzey membranına çıkarlar. Son yıllarda gelişmiş teknoloji ve proteomik tekniğiyle trombosit reseptörleri ve fizyolojik rolleri hakkındaki bilgiler giderek artmaktadır. Trombosit reseptörlerinin

sadece hemostaz ve trombozda değil aynı zamanda inflamasyon, antimikrobiyal konak savunması, tümör büyümesi ve metastazı ve anjiogenez gibi süreçlerde de rol aldığı gösterilmiştir. Trombosit resöptörlerindeki bozukluktan dolayı meydana gelen hastalığın ilk tanımlanmasının üstünden yaklaşık 90 yıl geçmiştir. Buna benzer ikinci bir hastalık 60 yıldan daha uzun bir süre önce tanımlanmıştır. Bu hastalıklarla birlikte trombosit ve kusurlu reseptörleri ile ilgili yoğun çalışmalar yapılmıştır. Tablo 2.2'de Trombosit reseptörleri yapı ve işlevlerine göre sınıflandırılmıştır (76).




**Şekil 2-5:** Trombosit Membran Resöptörleri ve Sinyal Yolakları

van der Meijden, P. E (2019) makaleden değiştirilerek uyarlandı (136).

**Tablo 2-2:** Trombosit Reseptör ve Ligandları

| **Trombosit Reseptörleri** | | **Ligand** | **Etkileşime Girdiği Yapı** |
|---|---|---|---|
| integrinler | α5β1, α6β1 | subendotel ekstrasellüler matrix | hasarlı damar duvarı |
| | α2β1 | kollajen | hasarlı damar duvarı |
| gliko- proteinler | GPIbα | vWF | hasarlı damar duvarı |
| | | MAC-1 | lökositler |
| | GPIIb/IIIa (αIIbβ3) | MAC-1 | lökositler |
| | | fibrinojen, VWF | damar duvarı |
| | | fibrinojen, vitronektin | integrin αVβ3 endotelyal hücreler |
| | GPVI | kollajen | hasarlı damar duvarı |
| selektinler | PSGL-1 | P-selektin | endotelyal hücreler |
| | P-selektin | PSGL-1 | lökositler |
| diğerleri | CX3CR1 | CX3CL1 | endotelyal hücreler |
| | ICAM-2 | LFA-1 | lökositler |
| | JAM-A | JAM-A | damar duvarı |
| | JAM-C | MAC-1 | dendritik hücreler |
| çözünebilir faktörler | interlökin 1 | | endotelyal hücreler |
| | factor XII | | faktör XI |
| | vWF | | trombositler |
| | PAF | | çeşitli hücre tipleri |

Mezger M. (2015) ve ark.'dan düzenlenerek alınmıştır (76).

### 2.1.4. Endotel

Endotel, tüm vasküler yapıların iç yüzeyini kaplayan, bazal membranın üst kısmında yer alan tek katlı yassı epitel hücrelerinden oluşmuş bir dokudur. Endotel, trombositler ile lökositlerin damar duvarı ile etkileşmesini düzenler. Büyüme faktörleri ve tromboregülatör molekülleri sentezleyerek, hücre proliferasyonu ve damar tonusunu ayarlayan, fiziksel ve kimyasal uyaranlara cevap verebilen vasküler lümen ile vasküler düz kas arasında uzanan bir yapıdır. 10-15 µm genişliğindeki endotel hücreleri (EH),

yaklaşık 20-25 μm uzunluğunda olup, uzamış nukleusları ile damarın uzun ekseni boyunca dizilmişlerdir. Yetişkin bir insanda endotelin kapladığı alan yaklaşık 1-7 $m^2$ olup, ortalama 1 kg ağırlığa sahiptir (77).

Endotel, Nitrik oksit (NO), prostasiklin ($PGI_2$) gibi vazodilatörlerin yanısıra, Endotelin (ET) ve Platelet Aktive Edici Faktör (PAF) gibi vazokonstrüktörleri sentezleyip salgılayarak kas tonusunun, kan akımının ve kan basıncının düzenlenmesinde rol oynar. Endotelden salgılanan bazı moleküller aşağıdaki tabloda yer almaktadır (77).

**Tablo 2-3:** Endotelden Salgılanan Moleküller

| ***Vazokonstrüktörler*** | ***Vazodilatörler*** |
|---|---|
| Anjiyotensin II<br>Endotelin-1 (ET-1)<br>Platelet Aktive Edici Faktör (PAF)<br>Endotel Kökenli Konstrüktör Faktör (EKKF) | Nitrik Oksit<br>Adenozin<br>Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EKHF)<br>Endotel Kaynaklı Relaksan Faktör (EKRF)<br>Prostasiklin ($PGI_2$) |

EH'leri fizyolojik koşullar altında bozulmamış bir kan akışını sağlamak için tromboz ve trombolizisin düzenlenmesi, trombositlerin yapışmasını ve aktivasyonunu düzenleyen vasküler tonusda önemli bir rol oynar. Aynı zamanda endotel, vücut homeostazında, farklı moleküllerin kan damarları yoluyla transferinin düzenlenmesinde büyük önem taşır (78). Endotelin en temel işlemlerinden biri yarı geçirgen bir bariyer olmasıdır. Makromoleküllerin vasküler lümen ve vasküler düz kas arasında taşınmasını düzenler.

### 2.1.4.1. Endotel ve Trombosit Arasındaki İlişki

Fizyolojik koşullar altında trombositler sağlam ve inaktif endotellere yapışmadan dolaşırlar. EH ve kan arasında, glikokaliks olarak bilinen bir proteoglikan ve glikoprotein tabakası bulunur (79). Bu yapı endotel geçirgenliğini, trombositler ve lökositler gibi diğer hücrelerle endotel etkileşimlerini düzenler, temel olarak negatif yükü ile onları iter ve endotelin yapışma moleküllerine maruz kalmasını sınırlandırır. Ayrıca damar genişletici özelliklere sahip endotel hücrelerinde araşidonik asit (AA) metabolizmasının bir ürünü olan prostasiklin, hücre içi cAMP seviyelerini yükselterek trombosit agregasyonunu

inhibe eder (80). Bu madde nitrik oksitle (NO) sinerjistik bir etkiye sahiptir. NO, endotel kaynaklı en önemli gevşetici faktördür ve guanozin monofosfat (GMP) üretimini artırarak trombosit aktivasyonunu inhibe eder. Sonuç olarak, hücre içi $Ca^{+2}$ azalır ve GPIIb / IIIa trombosit reseptörünün integrinin, fibrinojene bağlanması engellenir (80). Endotelyum ayrıca, trombosit agregasyonunu destekleyen, vWF, fibronektin ve trombospondin gibi trombositler için yapışkan ko-faktörleri ve faktör V gibi pıhtılaşma faktörlerini eksprese eden $TxA_2$ gibi vazokonstrüktif ve pro-trombotik davranışa sahip maddeler de üretmektedir. Vazokonstrüktörler endotel kaynaklı vazodilatörlerin etkisine zıt yönde etki gösterirler. Bunlardan en önemlileri endotelin-1 (ET-1), anjiyotensin-II (ANG-II) ve vazokonstrüktör prostaglandinlerdir (80). Endotel disfonksiyonu, normal endotel fonksiyonunda, farklı uyaranların veya klinik durumların bir sonucu olarak oluşan bir rahatsızlıktır. Bu rahatsız edici denge, trombositlerin topaklanmasına ve endotele yapışmasına neden olabilir, böylece onu aktive eder ve lökosit yapışmasını teşvik eder, ayrıca intimal hiperplaziyi uyaran trombosit kaynaklı büyüme faktörlerini (PDGF'ler) serbest bırakır (81).

Hipertansiyon, diabetes mellitus, sigara ve dislipidemi gibi bir dizi patolojik uyaran endotel disfonksiyonu ve patofizyolojik süreçlerin tetiklenmesine neden olabilir. Oksidatif stres ve özellikle düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) birikimi, NO seviyelerinin düşmesine ve enflamatuar yolakların tetiklenmesine neden olur (82). Aynı zamanda okside LDL, EH'lerde ET-1 ekspresyonunu arttırır, vazokonstriksiyona ve fibroblastların ve vasküler düz kas hücrelerinin (VSMC'ler) çoğalmasına neden olur. Ek olarak, okside LDL, lökositlerin ve trombositlerin yapışmasını güçlendiren fibronektin, trombospondin ve diğer çeşitli glikoproteinlerin üretimini ve salgılanmasını arttırır (83).

Trombositler ve endotel hücreleri arasındaki ilk temasa, enflamatuar süreçler sırasında EH yüzeyinde eksprese edilen P-selektin (CD62P), E-selektin ve PSGL-1 aracılık eder (84). Trombosit yüzeyinde, hücrelere yapışmaya aracılık eden transmembran reseptörleri olan integrinlerin varlığı, bu bağlanmayı daha da arttırır, bu da trombositler ve EH'ler arasında daha stabil bir yapışmaya yol açar (85).

### 2.1.4.2. Endotel ve Koagülasyonun Düzenlenmesi

Endotel tabakası birbirinden farklı 4 mekanizma ile intravasküler koagülasyonun düzenlenmesinde rol alır.

-Tromboregülatör bileşiklerin üretilip salgılanması
- Prokoagülan proteinlerin inhibisyonu
- Fibrinolizisin düzenlenmesi
- Prokoagülan yollara katılma

Endotel hücresi yüksek molekül ağırlıklı kininojen (HMWK), Faktör V, Faktör VIII ve doku faktörü (TF) gibi bazı faktörleri üreterek koagülasyon kaskatında yer alır. Doku faktörü endotel hücrelerinden sentezlenir. Subendotelial bölgede yer alan doku faktörü prokoagülan bir enzimdir. Bu enzimin bazal sekresyon düzeyleri düşüktür. Herhangi bir uyarı yada hasar durumunda bu enzimin salınması yaklaşık 10 ile 40 kat yükselmektedir. Ayrıca endotel hücresinin membranında yüksek molekül ağırlığa sahip kininojen (HMWK), faktör VIII, IX, IXa, X ve Xa için bağlanma bölgeleri bulunmaktadır. Endotel hücresinin yüzeyinde Faktör VIII ve X'un bulunması bu hücrelerin faktör IX'a afinitesini düşürür. Böylece faktör IX'un aktivasyonu ve bağlanması gerçekleşir ve endotel yüzeyinde IXa-VII komplekslerinin oluşumu tetiklenir. Faktör IXa endotele bağlandıktan sonra yıkımı faktör VIII ve X tarafından inhibe edilir. Bu şekilde endotel bağımlı prokoagülan aktivitenin sürekliliği sağlanmış olur (86).

Endotel hücreleri bir takım tromboregülatör maddeler içinde kaynak hücrelerdir. Bu maddeler trombus oluşumunun erken fazlarında fizyolojik yanıtı düzenlerler. Bu maddelerin başında prostanoidler gelir. Prostaglandin $I_2$, trombosit agregasyonunu inhibe eder ve tromboksan $A_2$ bunun tersine agregasyonu arttırır. Bir diğer tromboregülatör madde EDRF/NO'tir. Nitrik oksit trombosit adhezyonunu ve aktivasyonunu önler. Endotel hücre yüzeyi ektonükleotidazları, bir diğer tromboregülatör faktördür. Bu maddeler adenozin difosfatı metabolize ederek trombositlerin kümelenmesini önler ve oluşan adenozin trombosit içinde cAMP düzeylerini arttırır ve sonuçta trombosit aktivasyonu inhibe olur (87).

Fizyolojik koşullarda damar sistemi içinde pıhtılaşmayı önleyici mekanizmalar incelendiğinde; hasarlı olmayan düzgün endotel ki bu intrensek pıhtılaşma yolunun aktifleşmesine engel olur, negatif yüklü glikokaliks tabakası; negatif yüklü trombositleri

ve endotelin iç tarafında absorbe olmuş olan mukopolisakkarit pıhtılaşma faktörlerini iterek pıhtılaşmanın aktivasyon mekanizmasına engel olur. Endotel membranında bağlı olarak duran trombomodulin proteini, trombini bağlamakla görevlidir. Trombomodulin ile prokoagulan trombinin bağlı olarak kalması pıhtılaşmayı yalnızca trombini ortamdan uzaklaştırarak engellemez, aynı zamanda trombomodulin-trombin kompleksi bir plazma proteini olarak bilinen protein C'yi de aktive eder ve protein C, Faktör V ve VIII'i inaktifleştirerek antikoagülan rol oynar. Endotel duvarında bir hasar meydana gelirse, düzgünlüğünü yitiren hasarlı endotelde hem glikokaliks tabakada hem de trombomodulin de kayıp oluşur; buna bağlı olarak hem trombositler hem de faktör XII aktive olur ve pıhtılaşmanın intrensek yolağı başlatılır. Endotel hasarı ile alt tabakadaki kollajen açığa çıkmış ise, trombositler ve faktör VII kollajene hızla adeze olur, aktivasyonun gücü daha da artar (87).

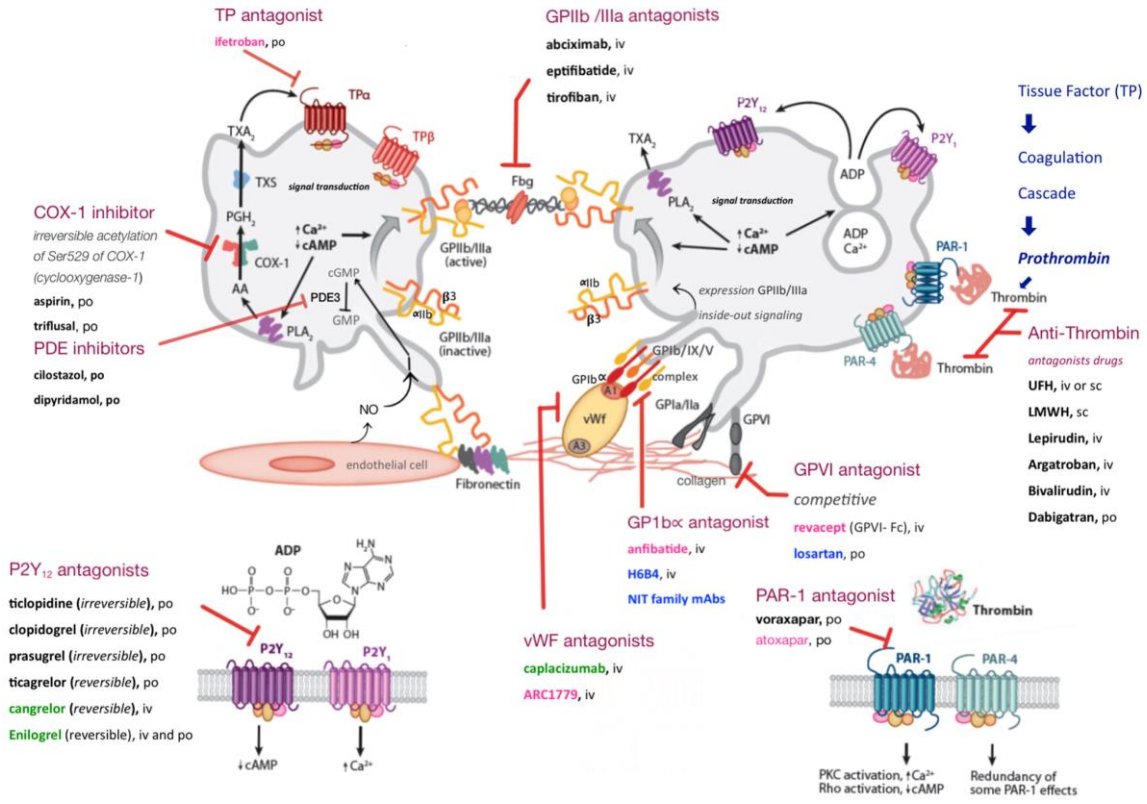
### 2.1.4.3. Antiplatelet Ajanlar ve Sinyal Yolakları

Son yirmi yılda trombositler, EH'ler ve monositler / makrofajlar arasındaki karmaşık etkileşimlerin, bir takım hastalıkların patofizyolojisinde yer aldıkları gösterilmiştir. Mevcut antiplatelet ilaçlar, sadece iyi bilinen antitrombotik etkilerinden dolayı değil, aynı zamanda trombosit enflamatuar etkisinin zayıflaması, diğer hücrelerde ve diğer yollarda $P_2Y_{12}$ aktivasyon etkilerinin engellenmesi yoluyla da klinik yararlar sunmaktadır (88).

Asetil salisilik asit (ASA), trombotik olayların önlenmesi için antiplatelet tedavisinin temeli olmaya devam etmektedir. ASA'nın, trombosit siklooksijenaz-1'in (COX-1) geri dönüşümsüz etkisizleştirilmesine bağlı olarak trombosit $TxA_2$ sentezinin inhibisyonu ile trombosit agregasyonunu önlediği düşünülmektedir. Trombosit türevli $TxA_2$ damar duvarı daralmasını arttırdığı ve vasküler hücrelerin proliferasyonunu arttırdığı için, ASA ile sentezinin inhibisyonunun trombositler ve vasküler duvar arasındaki etkileşimi dolaylı olarak etkileyebilir (89). Tromboksan $A_2$ reseptöründen (TP) yoksun olan hiperkolesterolemik fareler, ASA' nın anti-aterosklerotik bir aktivitesini düşündüren daha az ateroskleroz geliştirir (90). Birçok çalışma, enflamatuar belirteçlerin (CRP, M-CSF, MCP-1) ve pro-enflamatuar faktörlerin ($TxA_2$, S1P, sICAM) azaltılması dahil olmak üzere, bazıları düşük antiplatelet dozlarında bile olsa, ASA ile deneysel vasküler enflamasyonun IL1, IL-6'nın inhibe edildiğini göstermiştir (91). Klinik düzeyde, ASA ile trombosit inhibisyonunun, COX'a bağlı vazokonstriktörlerin

inhibisyonu yoluyla, aterosklerozu olan hastalarda asetilkolin kaynaklı periferik vazodilatasyonu modüle ettiği gösterilmiştir (92). Ek olarak, düşük doz ASA verilmesi, arteriyel hipertansiyonu olan hastalarda endotel bağımlı vazodilatasyonu iyileştirmiş görünmektedir (93).

Endotel ile birlikte trombositler inflamasyon ve aterosklerozun ilerlemesinde önemli bir role sahiptir. Günümüzde, trombositin inhibisyonunun endotel disfonksiyonunu azaltabileceği, damar duvarı inflamasyonunu azaltabileceği ve ateroskleroz progresyonunu ve aterotrombotik olayları azaltabileceği yaygın bir bilgidir. Trombosit inhibisyonunun ötesindeki antiplatelet ajanlarının, endotel ve damar duvarı, uyarlanmış antiplatelet rejimleri, ateroskleroz büyüklüğü, müdahalelerin tipine ve damar duvarı iltihabının muhtemel modifikasyonuna bağlı olarak farklı etkileşimler göstermesiyle ilgili olarak klinik düzeydeki sonuçların iyileştirilmesine yardımcı olabilir (94).




**Şekil 2-6:** Antiplatelet Ajanlar ve Sinyal Yolakları

Costa-Filho, R. C (2017) ve ark. değiştirilerek alınmıştır (137).

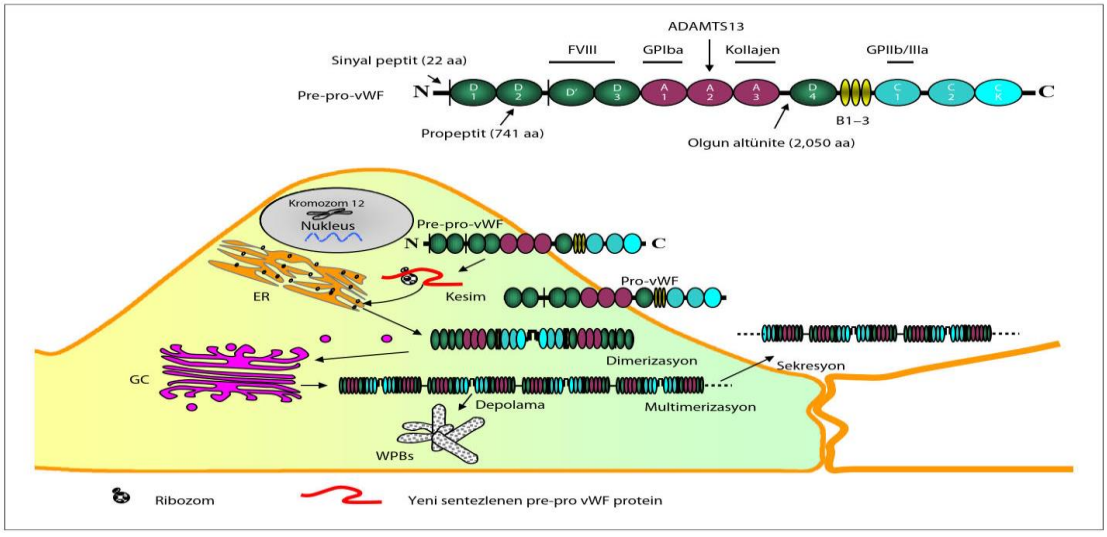
### 2.1.5. von Willebrand Faktör

von Willebrand faktör (vWF) ilk olarak 1971'de Zimmermann tarafından hemostazda rol alan yapışkan bir glikoprotein olarak tanımlandı. O zamandan beri vWF'ün, trombosit adezyonunda, trombositin kollajene yapışmasında ayrıca faktör VIII'in korumasında hayati bir rol oynadığı gösterilmiştir (95).

#### 2.1.5.1. vWF'nin Genel Özellikleri

von Willebrand Faktör (vWF) temel olarak tanımlanan iki biyolojik fonksiyona sahiptir. Trombositlerin yapışmasına ve toplanmasına aracılık etmek ve esansiyel kan pıhtılaşma faktörlerinde biri olan faktör VIII için bir konsorsiyum olarak hareket etmek (96). Son zamanlarda yapılan araştırmalarda vWF'nin sadece hemostaz, tromboz ve koagulasyonda değil aynı zamanda anjiyogenez, düz kas hücre farklılaşması ve tümör hücrelerinin metastazı, inflamasyon süreçlerinde de rol oynadığını gösteren kanıtlar sağlamıştır (97, 98).

vWF trombosit öncül hücreleri olarak bilinen megakaryositler ve endotel hücreleri tarafından üretilir ve öncü pre-pro-vWF formunda sentezlenir. Öncü pre-pro-vWF, aşağıdaki sırayla tekrar eden şekilde yapılandırılan dört tür alandan oluşur: D1-D2-D-D3-A1-A2-A3-D4-B1-B2-B3-C1C2-CK. D1 ve D2 alanları propeptit içerir ve olgun vWF'yi üretmek için proteolitik işlem sırasında yarılır (99). Olgun vWF'de kalan alanların her biri belirli işlevleri yerine getirir.




**Şekil 2-7:** von Willebrand Faktör Biyogenezi

Knowles, R. B (2019) ve ark.'dan değiştirilerek alınmıştır (94).

Pre-pro-vWF, bir 22-aa'lik bir sinyal peptidi, 741-aa büyük propeptid ve bir 891-aa büyük propeptit içeren 2.813 amino asitten (aa) ve olgun alt birimi oluşturan 2.050 aa'dan oluşur (100). Proteolitik işlem, vWF'nin endoplazmik retikuluma translokasyonunu kolaylaştıran sinyal peptidinin bölünmesini içerir. Endoplazmik retikulumda pro-vWF alt birimleri, C-terminal kalıntıları arasında oluşan disülfit bağları vasıtasıyla bir "kuyruk kuyruğu" şeklinde homodimerize olur. vWF dimerleri daha sonra büyük vWF peptidinin proteolitik çıkarılması gibi başka modifikasyonların yapıldığı Golgi kompleksine taşınır (101). N bağlı oligosakkaritler tarafından sülfatlanma yapılır ve O-bağlı glikosilasyon yapılır (102). Golgi kompleksinden geçerken vWF dimerleri, bitişik dimerlerde kendiliğinden propeptidlerin birleşmesi yoluyla multimerleşir. Golgi sonrası bölmede eş zamanlı olarak daha fazla multimerizasyon ve propeptit bölünmesi meydana gelir. Endotel hücreleri tarafından üretilen vWF ya yapısal olarak salgılanır ya da Weibel-Palade gövdelerinde saklanırken, megakaryositler tarafından üretilen vWF daha sonra trombositlerde alfa granüllerde depolanır. Enflamasyon gibi patolojik uyaranlara cevap olarak, vWF'nin dolaşım konsantrasyonu hızla artar. Depolanmış vWF'nin endotelyal hücrelerden salgılanması hem kurucu hem de düzenlenmiş bir yoldan meydana gelir (103). Bununla birlikte megakaryositler düzenleyici yoldan yoksundur ve bir kez uyarıldıklarında, vWF yapısal olarak salınır. Sayısız sekretatör ve inhibitör, vWF üreten hücre tipleri üzerindeki sekresyon etkilerine aracılık edebilir. Sekretagoglar iki ayrı gruba ayrılabilir: $Ca^{+2}$ agonistleri yükselterek ve cAMP agonistlerini yükselterek. En iyi bilinen üç vWF salgısı inhibitörü, nitrik oksit (NO), hidrojen peroksit ($H_20_2$) ve dopamindir (104, 105). vWF, birkaç yüz vWF monomerinden oluşan ultra büyük formda (ULvWF) plazmaya salgılanır. Sekresyondan sonra ULvWF, kan akışında, tamamen gerilme kuvvetleri veya çarpışmalar ve damar duvarı ile moleküler etkileşimler tarafından parçalanana kadar hareket eder. Bir fare modelinde, dolaşımdaki vWF ağırlıklı olarak karaciğer tarafından alınarak (yaklaşık% 40-60), geriye kalan dalak ve böbrek tarafından emildiği gösterilmiştir (106). van Schooten ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada makrofajların ve faktör VIII'in özellikle karaciğerde vWF'nin dolaşımdaki kandan uzaklaştırılmasına aracılık ettiğini göstermiştir. Bununla birlikte, vWF için kesin hücresel membran reseptörleri bilinmemektedir (107).

### 2.1.5.2. vWF Boyutunun Belirlenmesi ve Konformasyonu

vWF'nin biyolojik işlevi büyük ölçüde multimerlerinin boyutuna bağlıdır (108). Daha büyük multimerlerin trombositlere ve kollajene bağlanması ve dolaşımdaki kanda trombosit yapışmasını arttırması daha olasıdır (109). Bununla birlikte, vWF için kesin hücresel membran reseptörleri bilinmemektedir. Bu nedenle, ULvWF multimerleri, trombosit agregasyonunu indüklemede en büyük plazma vWF'den daha aktiftir. Pek çok proteolitik protein, pıhtılaşmayı desteklemek için mevcut ULvWF'yi hedeflediğinden, diğer işlemlerde işlev gören daha küçük vWF formlarını oluşturmak için ULvWF ile proteoliz arasında ince bir denge sağlanması şarttır.

### 2.1.5.3. ADAMTS13

vWF'ü kesen ADAMTS13, (trombospondin tip 1-motif 13 ile bir disintegrin benzeri ve metaloproteaz) hem insan plazmasından hem de faktör VIII / vWF konsantrasyonlarından saflaştırılmıştır (110). ADAMTS13 vWF'nin A2 bölgesini hedefler ve spesifik olarak Tyr1605-Met1606 (Şekil 1) arasındaki proteini ayırır, böylece ULvWF ve hiperaktif vWF multimerler, akan kandaki kesme kuvvetleri tarafından daha kolay açılabilen daha küçük ve daha az aktif formlara indirgenir. DNA molekülü rekombinant teknolojisini kullanan çalışmalar, iki alt grubun, D187-R193 ve D252-P256'nın, ADAMTS13'ün yarılma verimliliğine ve alan spesifikliğine katkıda bulunabileceğini göstermiştir (111). Zanardelli ve ark., 1874-22813 vWF kalıntılarında ADAMTS13 için bir bağlanma bölgesi tanımladılar ve bu parçanın çıkarılmasının vWF proteolizini önleyebileceğini belirledi (112).

### 2.1.5.4. vWF'nin Biyolojik Etkileri

İnsan vücudunda üç tür vWF vardır: çözünür plazma vWF, bazal membran vWF (hücre dışı matris vWF) ve hücresel vWF. Hemostasisin kontrolünde sadece daha büyük vWF multimerleri etkilidir. vWF, trombositin trombosit ve trombosit ile damar duvarındaki kollajen arasındaki etkileşimlere aracılık eden ve dolaşım sistemindeki bir faktör VIII taşıyıcısı olarak görev yapan üç ana hemostatik fonksiyona sahiptir. Son araştırmalar, vWF'nin anjiyogenez, düz kas hücresi proliferasyonu, tümör hücresi metastazı ve immün hücre regülasyonu dahil olmak üzere diğer hemostatik olmayan fonksiyonlara sahip olabileceğini göstermiştir (94).

### 2.1.5.5. vWF ve Trombosit Yapışması

Fizyolojik koşullar altında, dolaşımdaki trombositler, kan akışından, aşırı kanamayı önlemek için etki ettikleri yaralanma bölgelerine toplanır (113). vWF, vWF'de eksik olan vWD hastalarında trombosit aglütinasyon anormallikleri ile gösterildiği gibi, bu süreçte önemlidir. vWD hastaları bozulmuş trombosit tıkanması nedeniyle uzun bir kanama süresine sahiptir ve vWF konsantrelerinin transfüzyonu bu bozukluğu giderebilir (94).

Bir damar zarı yaralandığında, plazma vWF, dolaşımdaki trombositlerle iki zar reseptörü vasıtasıyla etkileşime girer: glikoprotein Ib (GPIb) ve glikoprotein IIb-IIIa (GPIIb-IIIa) kompleksi olarak bilinir (114). GPIb esas olarak trombosit damar duvar adezyonuna katılırken, GPIIb IIIa kompleksi hem trombosit damar duvar yapışması hem de trombositler arasındaki çapraz karışma ile ilgilidir. vWF, bu reseptörlerin her ikisine de bağlayarak trombosit yapışmasını destekleyen tek liganddır. Bununla birlikte, vWF varlığında trombositlerin kaymaya bağlı etkileşimi, kalpain ile inhibe edilebilen GpIb dökülmesine yol açabilir (115).

Mody ve diğ. (116) GPIb ve vWF A1 alanı arasında tersinir bağ bağlarının oluşumunun hidrodinamik kesme akışı ile oluşturulabileceğini öne sürdüler. Trombosit GPIb dışında, Huang ve ark. (117), integrin v3'ün canlı insan göbek ven endotel hücrelerinin (HUVEC'ler) immünofloresan mikroskopisi ile gözlemlendiği gibi vWF dizelerine bağlanabileceğini keşfetti.

### 2.1.5.6. vWF ve Subendotelyal Matriks Arasındaki Etkileşimler

Endotel hasarı, vasküler subendotel matriksini damar içeriğine açık hale getirir. Yaralanma bölgesindeki subendotelyal matriks proteinleri pıhtılaşma faktörleriyle karşılaştığında, trombüs oluşumu başlar. Bununla birlikte, bu işlem, vücudun trombositler arasındaki etkileşimler için yeterli vWF'nin mevcut olmasını sağlamaya çalışırken endotel vWF salgılanmasını tetikleyebilecek çevredeki yüksek kan akış hızlarına dayanmak zorundadır (118). Öte yandan, yüksek kayma gerilimi vWF içinde yapısal değişikliklere izin verir, bu da trombositler veya kollajen için bağlanma bölgelerinin açığa çıkmasına neden olabilir. vWF, özellikle kollajenler olmak üzere, hücre dışı matrikse trombosit yapışmasının başlatılmasında önemli bir rol oynar. Bu tür adezyona aracılık eden iki mekanizma vardır: fibrinin doğrudan GPIIb-IIIa kompleksine bağlandığı doğrudan bir mekanizma ve vWF'nin fibrin ve trombosit GPIb arasında bir köprü maddesi

olarak görev yaptığı dolaylı bir mekanizma. Statik koşullarda, silinmiş A3 alanıyla rekombinant çözünür vWF, silinmiş A1 ve bozulmamış vWF ile karşılaştırıldığında bir vWF ile karşılaştırıldığında, kolajen fibrillerine zayıf bağlanma kabiliyetine sahiptir (119).

vWF'nin Al alanı, temel olarak VI tipi kolajen (120) ile etkileşime girer, ancak daha az afinite ile, kollajen tip I ve III'e de bağlanabilir. A3 ayrıca kollajenlere, yani I ve III kollajen tiplerine de bağlanabilir (121). Akış koşulları, Bonnefoy ve ark. (119), A1 alanının, sağlam vWF, bir A1-silinmiş vWF ve bir A3-silinmiş vWF'nin bağlanma yeteneklerini karşılaştırarak kollajen liflerine trombosit alımını başlattığını buldu. Ayrıca, kollajen-vWF antagonisti H1786A-vWF'nin, A3'e değil, sadece A1 ile kollajene bağlandığını doğrulayabildiler.

Endotel hücre veya megakaryosit kaynaklı vWF'ye benzemeyen bir Faktör VIII taşıyıcısı olan faktör VIII, karaciğer hücreleri tarafından 2,351 aa'dan oluşan tek zincirli bir polipeptit olarak üretilir. Faktör VIII, içsel pıhtılaşma kademesinin bir kofaktörüdür ve eksikliği, hemofili A olarak ortaya çıkar. Bu fenomene aşağıdaki mekanizmalardan herhangi biri neden olabilir: (95) faktör VIII'in yapısal stabilizasyonu; (97) proteolitik bozunma için VIII faktörünü hedef alan fosfolipid bağlayıcı proteinlerin inhibisyonu; (98) pıhtılaşma yolunu stimüle etmek için, faktör VIII'in aktive edilmiş faktör IX'a bağlanmasının inhibe edilmesi ve (99) süpürücü hücre reseptörleri yoluyla faktör VIII hücresel alımının önlenmesi (98, 107, 122).

### 2.1.5.7. vWF Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesini Etkileyen Moleküler Yolaklar

Hemostaz ve trombozun merkezi bir bileşeni olan vWF gen ekspresyonunun, trombozu yönlendirmede yer alan anahtar hücreler olan endotelyal hücreler ve megakaryositlerle sınırlı olduğu anlaşılabilir (123). Önceki araştırmalar, vasküler ağaç içinde vWF proteini ve mRNA düzeylerinde bölgesel varyasyonların varlığını göstermiştir (124), bu da vWF geninin sistemik dolaşımın vasküler yataklarında farklı şekilde düzenlendiğini göstermektedir. Endotele özgü vWF promotörünün mekanizmasının karakterizasyonu, bir dizi cis etkili elementin ve vWF promotör aktivitesini düzenleyen trans-etkili faktörlerin tanımlanması ile sonuçlanmıştır. Transkripsiyon faktörlerinin GATA, Ets, H1 ve NFAT5'in transkripsiyon aktivatörleri olarak işlev gördüğü gösterilmiştir (125, 126), NF1 ve Oct-1 transkripsiyonun baskılayıcılarıdır (127, 128). İlginç bir şekilde, NFY, bağlanma bölgesine bağlı olarak

hem baskılayıcı hem de transkripsiyon aktivatörü olarak işlev görebilir (129). E4BP4, aktif vWF gen ekspresyonunu arttırarak vWF transkripsiyonunun negatif regülatörlerini diziler (130). Kesme gerilimi ayrıca bir polimorfik GT tekrarlama elementinin aracılık ettiği vWF promotör aktivitesini arttırır (131). Bir dizi zarif *in vitro ve in vivo* deneyler kullanarak, Aird ve ark., İlk vWF intronunun ekspresyon için önemli olduğunu, vWF'nin endotel hücresine spesifik ekspresyonu için gerekli intronik eklemeyle birlikte olduğunu göstermiştir (132, 133). vWF gen regülasyonunun odağı, promotörü ve ilgili transkripsiyon faktörleri yoluyla ağırlıklı olarak 5′UTR olmuştur. Grubumuz son zamanlarda vWF gen ekspresyonunun miRNA'lara rağmen 3′UTR'sinde de düzenlendiğini bildirmiştir (134, 135). MiR-24 ve miR-335'in insan vWF 3′UTR'yi hedeflediğini, miR-24 ve miR-146 ise fare vWF 3′UTR'yi hedeflediğini belirtilmiştir. Daha ilginç olarak, miR-24, $Ca^{+2}$ ve NO aracılı vWF salgılanmasını içerdiği bilinen histamin reseptörünü (HRH1) ve eNOS'u hedeflediği gösterilmiştir (135).

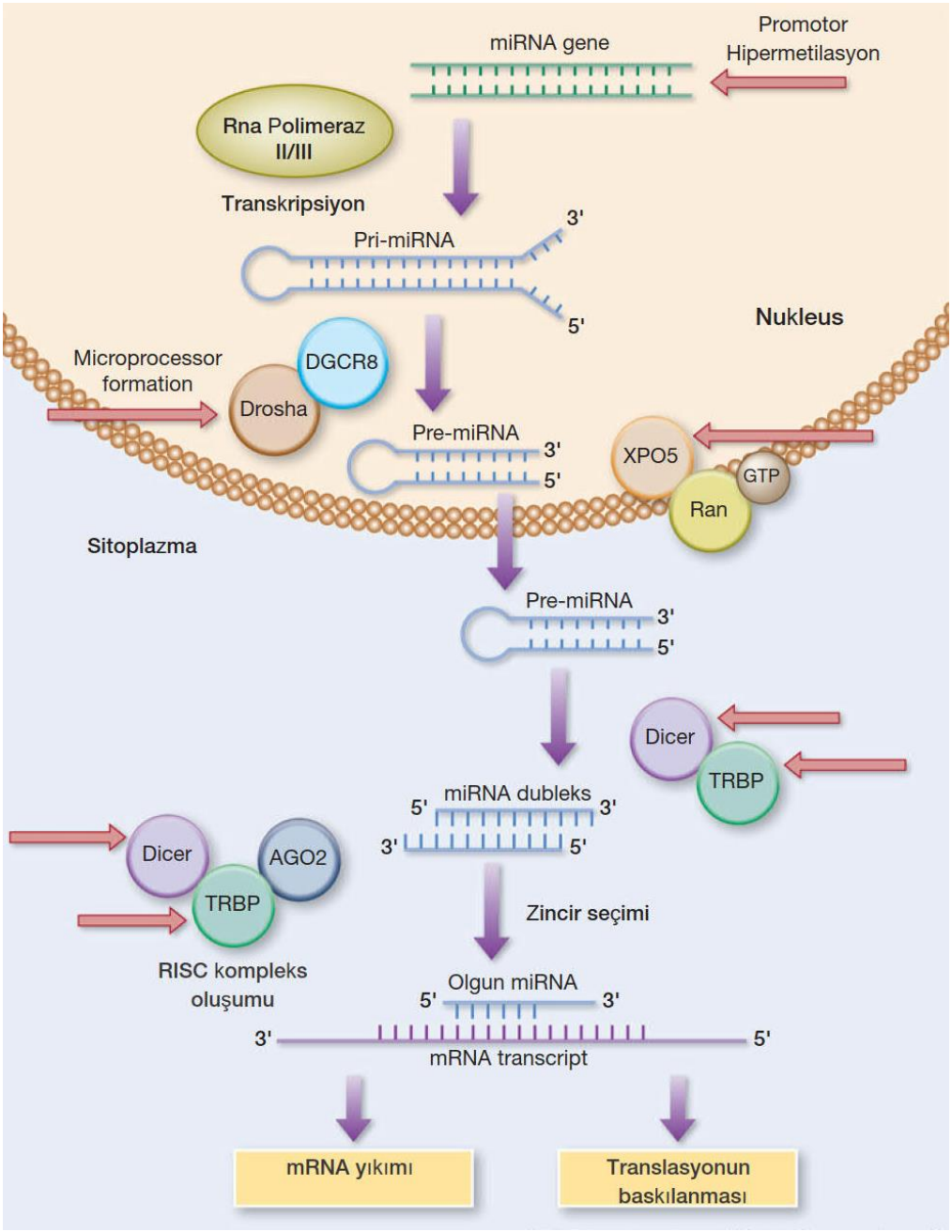
## 2.2. MikroRNA

MikroRNA'lar (miRNA'lar) küçük kodlamayan RNA'ların bir sınıfıdır. miRNA'lar yaklaşık 18-25 nükleotid uzunluğundadırlar ve ökaryotik somatik dokularda en çok ifade edilen kodlamayan RNA'lardır. Günümüzde, miRBase veritabanında 1500'den fazla olgun insan miRNA'sı tanımlanmıştır, miRBase 21 (http://www.mirbase.org/). miRNA'lar gen ifadesinin post-transkripsiyonel düzenleyicileridir. miRNA'lar gelişme, farklılaşma, apoptoz, hücre çoğalması ve hücre metabolizması gibi çok çeşitli biyolojik süreçlerin düzenleyicileri olarak işlev görürler (138, 139).

### 2.2.1. MikroRNA Biyogenezi

miRNA biyogenezi, RNA polimeraz II tarafından primer miRNA'ların (pri-miRNA'lar) transkripsiyonu ile başlar (140). Pri-miRNA'lar, nükleus içinde DGCR8 proteini ile kompleks oluşturan RNaz III enzim ailesi üyesi olan Drosha tarafından işlenir (141) ve 70 nükleotid uzunluğunda öncül miRNA (pre-miRNA) üretilir. Pre-miRNA, exportin 5 aracılığıyla sitoplazmaya taşınır (142). Başka bir RNaz III enzimi olan Dicer, yaklaşık 20bç'lik miRNA oluşturmak için sitoplazmada pre-miRNA'yı keser. Fonksiyonel miRNA zinciri RNA kaynaklı susturma kompleksi (RISC) kompleksi içerisine yerleşir (143). RISC kompleksi Dicer, TRBP ve AGO2 moleküllerinden oluşmaktadır. Aktif miRNA içeren RISC (miRISC) daha sonra hedef mRNA'ların 3'

transle olmayan bölgeleri (3′UTR'leri) hedef alır. Bu şekilde, miRNA'lar translasyonu baskılar ve/veya hedef genlerin yıkılmasını sağlar (144).




**Şekil 2-8:** miRNA Biyogenezi

Mulrane, L. (2013) ve ark. makaleden değiştirilerek alınmıştır (145).

miRNA'lar koruyucu veya hastalığı ilerletici etkiler gösterebilirler. miRNA'ların ifadelerindeki bozukluklar birçok insan hastalığı ile ilişkilendirilmiştir (146). miRNA'lar, kanser, metabolik bozukluklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli insan hastalıklarının patogenezinde rol oynarlar (147). Ek olarak, miRNA'ların çeşitli

hastalıklar için olası biyobelirteçler olduğu bildirilmiştir. miRNA'lar hücre-hücre iletişimine aracılık etmek için sinyal molekülleri olarak da işlev görürler (146).

miRNA'lar, doku spesifik fonksiyonlar gösterirler. miRNA'lar sinir sisteminde nöral farklılaşma, gelişme ve aktivite için gerekli olan gen ifadelerini düzenlerler. Bu nedenle, miRNA'ların manipülasyonu yeni terapötik fırsatlar sunabilir (147).

### 2.2.2. Hastalalıkların Moleküler Mekanizmasının Araştırılmasında miRNA'ların Rolü

MikroRNA'lar (miRNA'lar), hedef mRNA'lara bağlanarak gen susturma ve translasyonel baskıdaki rolleri ile küçük RNA molekülleridir. 1993 yılında keşfedildiğinden beri miRNA, türler arasında korunan tüm ökaryotik hücrelerde bulunur. Son yıllarda, miRNA'ların düzenlenmesi biyolojik süreçlerdeki rolleri ve retina bozukluğu, nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalık ve kanser gibi çeşitli insan hastalıklarının gelişimi ve ilerlemesi için kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. miRNA'lar teşhis ve prognostik biyobelirteçler için ve ilaç tepkisinin belirleyicileri olarak büyük bir potansiyele sahiptir (148).

MicroRNA'lar (miRNA'lar), hedef mRNA'ların susturulması veya bozulması yoluyla gen translasyonunu düzenleyen yaklaşık 22 nükleotit uzunluğunda küçük kodlanmayan RNA molekülleridir. Farklılaşma, proliferasyon, metabolizma, hemostaz, apoptoz veya inflamasyon dahil olmak üzere birçok biyolojik sürece ve birçok hastalığın patofizyolojisine katılırlar (149).

Yapılan geniş ölçekli bir çalışmada meme kanserli dokularda miR-16-5p'nin housekeeping gen olarak güvenle kullanabileceği bildirilmiştir (150).

### 2.2.3. miR-24

Çeşitli türlerde yüksek oranda korunmuş olan miR-24, insanda 9. kromozom üzerinde lokalize 9q22.32 (miR-24-1) ve 19. kromozom üzerinde 19p13.12 (miR-24-2) yer alır. Hem miR-24-1 hem de miR-24-2'nin olgun ürünü miR-24 olarak ifade edilir. (http://mirbase.org/cgi-bin/mature.pl?mature_acc=MIMAT0000123) miRNA'lar hücre proliferasyonu, apoptoz ve sinyal iletimi dahil olmak üzere çeşitli biyolojik fonksiyonları düzenler (151). Önceki çalışmalar miRNA'ların kardiyak hipertrofi (152), kalp yetmezliği (153), miyokard iskemisi (154) ve reperfüzyon (155) dahil olmak üzere bir dizi hastalığın patolojik süreçlerine katıldığını ileri sürmüşlerdir.

Yapılan çalışmalarda miR- 24'ün vasküler endotelyal hücrelere aracılık etmede hayati bir molekül olduğunu göstermiştir (156, 157). miR- 24- 3p'nin çeşitli kanser türlerinde hücre büyümesini ve metastazını düzenlemede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (158, 159).

Ek olarak miR - 24- 3p, kardiyomiyositlerde iskemi / reperfüzyon hasarında rol oynar. Bununla birlikte, koroner kalp hastalığında VSMC'lerde miR - 24- 3p'nin işlevi açıklanmalar devam etmektedir (160).

Hücre apoptozunda hayati roller oynayan, Bcl - 2 benzeri protein 11 (Bcl - 2L11; Bim), mitokondriden sitokrom c salınımını indükleyen Bcl 2 ailesinin pro - apoptotik bir üyesidir (161, 162). Yapılan çalışmalar Bcl - 2L11'in hücre büyümesi ve apoptozun biyolojik süreçlerine aracılık ettiğini bildirmiştir (163). MikroRNA- 24- 3p inhibisyonu, Bcl - 2 benzeri proteini hedefleyerek vasküler düz kas hücrelerinin hücre büyümesini önler (164).

miR-24 aracılı regülasyon modelinde, Aldoz redüktaz yoluyla vWF'ün biyosentezi ve sekresyonunun düzenlendiği bildirilmiştir. Bu yolakta hiperglisemi aldoz redüktaz enzim aktivitesini arttırır ve endotel hücrelerdeki ROS üretimi artar. Artan ROS miktarı fosforile c-Myc / c-Myc oranını değiştirir ve bu miR-24'ü baskılar. miR-24'ün baskılanması vWF, Furin ve HRHI ekspresyonlarını arttırır. Böylece vWF'ün ekspresyonunu, Furin bağımlı vWF olgunlaşması ve histaminle düzenlenmiş sekresyon yolağı hiperglisemiyle koordineli olarak yukarı yönde düzenlenir (165).

Yapılan araştırmalarda miR-24 inhibisyonunun miyokard enfarktüsü üzerine koruyucu faydalı terapötik etkileri olduğu gösterilmiştir (166, 167). Ek olarak yapılan çalışmalarda miyokard enfarktüsünde miR-24 mimik tedavisinin iyileşmeyi sağladığını bildiren farklı yayınlar da mevcuttur (168, 169).

vWF'nin hemostaz ve trombozdaki rolü göz önüne alındığında, diyabetik trombotik hastalıklar için miR-24 mimik, yeni bir miRNA bazlı ilaç olabileceğine dair fikirler öne sürülmüştür (165).

Diyabetik fare modeli ile yapılan çalışma sonuçlarına göre, miR-24'ün baskılanması, vWF'de artmış ifadeye ve tromboz eğilimine yol açabileceği belirtilmiştir. Ayrıca aldoz redüktaz yolağı üzerinde yapılan deneyler miR-24'ün vWF biyosentezinde olgunlaşma ve salgı aşaması gibi birden fazla olayı düzenlediği gösterilmiştir (170). miR-24 ile yapılan

farklı bir çalışmada düz kas hücre proliferasyonu ve vaskülarizasyon ile ilgili olarak düz kas hücrelerinde PDGF-BB reseptörü aracılığıyla mekanizması üzerinde miR-24'ün SMC'leri inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmada apoptoz ve otofaji ile ilgili olarak HMOX-1'in bu iki mekanizmayı indüklediği bildirilmiştir. Hipoksinin miR-24 ekspresyonunu arttırdığı yönünde bulgular verilmiştir (170).

### 2.2.4. miR-26

İnsan genomunda 2.000'den fazla olgun miRNA vardır (http://mirbase.org/cgi-bin/mature.pl?mature_acc=MIMAT0000123). miRNA'ların yaklaşık% 40'ı bağımsız transkripsiyon birimleri arasında bulunur (intergenik) veya protein kodlayan genlerin intronik sekanslarında ve intronik / eksonik kodlamayan RNA bölgelerinde (intronik) yer alır (171, 172). İntergenik miRNA genlerinin kendi promotorları ve sonlandırıcıları vardır, oysa intronik miRNA'ların çoğunluğu konakçı genleri ile aynı transkripsiyon elemanlarını paylaşır (173).

#### 2.2.4.1. miR-26 Aile Üyelerinin Genomik Lokalizasyonu

İnsan ve fare miR-26 ailesi miR-26a-1, miR-26a-2 ve miR-26b'yi oluşturur. miR-26a-1, 3. kromozomda lokalizedir, miR-26a-2, kromozom 12'de lokalizedir, miR-26b ise 2. kromozomda lokalizedir. miR-26a-1 ve miR-26a-2 için olgun miRNA aynı diziye sahiptir, sadece olgun miR-26b diğerlerine göre iki farklı nükleotid sekansına sahiptir (173).

MiR-26 ailesi üyeleri, karboksi terminal bölgesi RNA polimeraz II polipeptidinin proteinlerini kodlayan genlerin intronları içine yerleştirilir, bu aile CTDSPL, CTDSP2 ve CTDSP1 içeren küçük bir fosfataz (CTDSP) ailesidir. Bu ailenin üyeleri *in vitro* olarak RNA polimeraz II (RNAPII)'yi CDT'nin üzerindeki Ser-5'i defosforile ederek, nöronal olmayan hücrelerdeki nöronal gen transkripsiyonunu inhibe ederek transkripsiyonel co-represör gibi negatif düzenleme fonksiyonu gösterirler (174). CTDSP ailesi ayrıca SMAD1 ve SMAD2 / 3 için fosfataz görevi görebilir (175, 176).

Fizyolojik koşullar altında, miR-26 ailesi ve host genleri aynı anda ifade edilir. Ek olarak, miR-26 ailesi ve konakçı genleri, G1 / S faz geçişini engellemek için sinerjik olarak hareket eder. karaciğer, akciğer, meme ve serviksten elde edilen kanser hücresi hatlarında, Rb proteinini aktive eder. Ayrıca, hücre döngüsü ilerleme geni olan c-Myc, hem miR-26'yı hem de CTDSP'yi tümör hücre hatlarında azaltır (177).

### 2.2.4.2. miR-26 ve Endotel Hücre Arasındaki İlişki

miR-26a'nın endotel hücre biyolojisindeki rolünü ve anjiyogenezle olan bağlantılarını gösteren çalışmalar mevcuttur. Endotel hücrelerde (EH) anjiyogenez sırasında, pro- ve anti-anjiyojenik faktörler arasında ince bir denge vardır. Bozulmuş EH anjiyojenik tepkileri, geniş bir hastalığın alevlenmesi ile ilişkilendirilmiştir (178). miR-26 zayıf kardiyovasküler fonksiyon ve sonuçları içeren hastalık durumlarında (179) diyabetik yara iyileşmesi (180) ve nörodejeneratif bozukluklarda çalışılmıştır (181).

MicroRNA ailesi, miR-26, hücresel büyüme, gelişme ve aktivasyonun temel yönlerinin regülasyonlarında çeşitli roller oynar. Yapılan çalışmalarda kritik sinyal yollarını kontrol ederek miR-26 ailesinin kardiyovasküler hastalıktaki rolü araştırıldığında, BMP / SMAD1 sinyali yolağını inhibe ederek ve endotel hücre büyümesi, anjiyogenez ve MI sonrası etkileri gözlenmiştir. miR-26 ailesinin vasküler dokular da dahil olmak üzere diğer hücre tiplerinde ortaya çıkan çalışmaları düz kas hücreleri, kardiyak fibroblastlar ve kardiyomiyositlerde çeşitli kardiyovasküler onarım mekanizmaları için miR-26'nın etkilerinin olabileceği çalışmalar mevcuttur (178).

Demans çeşitlerinden biri olan AH patogenezinde miR-26b fonksiyonu araştırmak için yapılan çalışmalarda miR-26b, henüz bilinmeyen bir mekanizma ile AH / MCI'nin erken evrelerinde nöronlarda yukarı regüle edildiği gösterilmiştir. miR-26b, Rb1 ekspresyonunu doğrudan bağlayıp azalttığı ve bu yolla E2F1'in baskılanmasına neden olarak, hem hücre döngüsü hem de pro-apoptotik gen hedeflerinin transkripsiyonunu aktive ettiği yönünde bulgular tartışılmıştır (182).

## 2.3. Demans

Halk arasında bunama olarak da bilinen demans, etimolojik olarak Latincede mens (zihin) sözcüğünden köken alan (demens), zihnin yitirilmesi anlamındadır. Başka bir deyişle demans, var olan zihnin sonradan yitirilmesi yani erişkin merkezi sinir sisteminde hasar sonucu oluşan zihinsel faaliyetlerdeki bozulma biçiminde ifade edilebilir (183).

Genel anlamıyla demans unutkanlığın ön planda seyrettiği ve yanısıra bu duruma birçok bulgunun eşlik ettiği bir sendrom tanımı olarak kullanılmaktadır. Bir zihinsel bozulmanın demans olarak nitelendirilebilmesi için, tanımına göre, doğal seyri gereği hem kalıcı hem de sıklıkla ilerleyen bir şekilde seyretmelidir. Ayrıca demans tanısı konulabilmesi için hastada bilinç bulanıklığının olmaması gerekmektedir. Premorbid

seviyeye göre hastada zihinsel bir hasarın olması ayrıca bu hasarın birden çok alanı etkilemiş olması gerekmektedir. Bu alanlar, bellek, dil becerileri, konuşma, görsel mekansal beceriler, dikkat, algılama ve problem çözme yetenekleri, yürütücü faaliyetler, apraksi (önceden bilinen belli hedefe ve amaca yönelik hareketleri yapamaması durumu) ve agnozidir (Hastanın dokunduğu, gördüğü ve duyduklarını değerlendirememesi durumu). Demans tanısı için gerekli temel özelliklerden biri de, hastanın günlük yaşamla ilgili faaliyetlerinde önceki durumuna göre bozulmaların meydana gelmesidir (183).

Tüm bu bilgilerle birlikte, "demans'' erişkin MSS'de hasar oluşması sonucunda, herhangi bir bilinç bulanıklığı olmadan, birden çok kognitif alanda bozulma olması, bununla ilgili olarak günlük yaşamsal işlerin eskisine göre daha kötü düzeyde sürdürülmesine sebep olan, doğal gidişatı bakımından sıklıkla ilerleyici ve kalıcı klinik bir tablo şeklinde ifade edilebilir (183).

Demansta gözlenen sendromlar beyinle alakalı progresif dejeneratif hastalıklar ve vasküler hastalıkların bir sonucu olarak ortaya çıkar. Ayırıcı tanısında, metabolik sebeplerle oluşmuş kronik ensefalopati, hipoksi durumu ve travma değerlendirilip, dikkate alınmalıdır. Demansın tanımlanması amacı ile, bozulan gidişattan dolayı günlük yaşam etkilenmiş olmalı, hastanın önceki durumlarına kıyasla kognitif faaliyetlerde düşüş meydana gelmeli ve hafızanın bozulması ile birlikte birden çok kognitif alanda (yürütücü işlevlerin bozulması, agnozi, afazi apraksi) bozulmalar görülmelidir (183).

Demansın tüm tanımları için 3 temel bulgu gerekir:

1- Bireyin sosyokültürel düzeyi ve yaşından beklenmeyecek seviyede ilerleyen bir mental yıkım veya bozukluk görülmeli

2- Bu bozulma sadece bir tek nöropsikolojik defisit değil, kognitif fonksiyonların çoklu alanlarını ve bireyin kişiliği etkileyen (bellek, dil becerileri, dikkat ve görsel mekansal beceriler gibi) belirtiler göstermelidir.

3- Kişide bilinç bozukluğu bulunmamalıdır.

2015 Dünya Alzheimer Raporu, dünya çapında demans hastalarının sayısının her 20 yılda bir iki katına çıkacağını tahmin ediyor. Önceki sistematik gözden geçirmelerin tam bir güncellemesini gerçekleştirerek, 2015 raporu demans konusunda eylem için küresel bir çerçeve sağlamak için kilit önerilerde bulunmuştur. Raporda ayrıca, zaman içinde demansın görülme sıklığı ve görülme sıklığındaki son eğilimlere karşı ve bununla

ilgili kanıtların sistematik bir incelemesinin yanı sıra demansın daha geniş toplumsal etkisinin analizi de yer almaktadır. Bu rapora göre dünya genelinde 46 milyondan fazla insanın demansla yaşadığı, 2050 yılında demanslı kişi sayısının 131.5 milyona ulaşacağı tahmin edilmiştir (184).

2019 Dünya Alzheimer Raporu verilerinde, dünyada pek çok ülkeyi kapsayan büyük çaplı bir anket yapılarak, vaka incelemeleri ve uzman denemeleri üzerine anketin bulguları analiz edilmiştir. Yapılan bu anketin sonuçlarının, 2019 yılında farkındalık ve stigma çevresinde tüm dünyada demansla alakalı konuşmaların yeniden canlandırılıp, şekillendirilmesine yardımcı olacağı, demansla ilgili farkındalık yaratılacağına dair bilgiler yer almaktadır (185).

Yaşlılarda hastalıkların görülme sıklığı incelendiğinde demansın 6. sırada yer aldığı görülmektedir. Demans çeşitleri içerisinde, AH'na bağlı demans ilk sırada yer alırken, sırasıyla vasküler demans, Lewy Cisimcikli Demans (LCD) ve Frontotemporal demans (FTD) en yaygın demans çeşitleri olarak yer alır. Demanslar, başlıca primer ve sekonder olarak sınıflanırlar (183).

Primer grupta yer alan demansa yol açan nörodejeneratif hastalıklar, bilişsel faaliyetlerin temelini oluşturan limbik ve asosiyasyon bölgelerinde, nöron ve sinaps kaybına bağlı olarak bu bölgelerin işlevini bozar ve dejenerasyona sebep olur. Sıklıkla kendine özgü patolojik bulgu verir. Örneğin bu durum AH'da nörofibriler yumak ve senil plaklar iken, LCD'da ise Lewy cisimcikleri ile kendini gösterir. Belli bir yayılım aşamasında bu patogenez kliniğe demans olarak yansımaktadır. Yaşanan nörodejeneratif süreç, izole demans biçiminde gözlenebilir veya bu süreçte diğer sistemler de etkilenebilir. Primer demansın en sık nedeni Alzheimer Hastalığıdır. Vasküler demans ise sekonder demansın en sık rastlandığı demanstır (183).

**Tablo 2-4:** Demans Hastalıklarının Sınıflandırılması

| **Primer (Dejeneratif)** | **Sekonder** |
|---|---|
| Alzheimer hastalığı | Vasküler demans |
| Lewy cisimcikli demans | Multi-infarkt demans |
| Fronto-temporal demans | Binswanger hastalığı |
| FTD-davranışsal varyant | Stratejik infarkt demansı |
| İlerleyici tutuk afazi | CADASIL |
| Semantik demans | Normal basınçlı hidrosefali |
| FTD-ALS | Toksik-metabolik demanslar |
| Hareket bozukluğuyla birlikte | Wernicke-Korsakoff hastalığı |
| Parkinson hastalığı demansı | B12 vitamin eksikliği |
| Kortiko-bazal dejenerasyon | Hipotiroidi |
| Progresif supranükleer paralizi | Kronik karaciğer hastalığı |
| Huntington hastalığı | Organik çözücülere maruz kalma |
| Multi-sistem atrofiler | İlaçlar |
| Wilson hastalığı | İnfeksiyonlar |
| Nöroakantositoz | Herpes simpleks ensefaliti |
| Prion hastalıkları | Nörosifilis |
| Creutzfeldt-Jacob hastalığı | Kronik menenjitler |
| Gerstmann-Sträussler-Scheinker hastalığı | HIV-demans kompleksi |
| Fatal familyal insomni | Whipple hastalığı |
| Çeşitli pediyatrik demanslar | Kafa içi yer kaplayıcı hastalıklar |
| Kufs hastalığı | Neoplastik durumlar |
| Metakromatik lökodistrofi | Subdural hematom |
| Gaucher hastalığı | Otoimmun-inflamatuar hastalıklar |
| Niemann-Pick hastalığı | Multipl skleroz |
| Diğer ender demanslar | Behçet hastalığı |
| Limbik demans | Paraneoplastik limbik ensefalit |
| Poliglukozan cisimcik hastalığı | VGKC ve NMDAR kanalopatileri |
| Arjirofilik tahıl hastalığı | Granülomatöz anjitis |
| | Primer sinir sistemi vasküliti |
| | NAIM sendromu |

Bu tablo demansa sebep olan tüm nedenlerin sıralanması amaçlanmamıştır. Büyük bir kısmının adı geçmekle birlikte asıl amaç primer ve sekonder demans kavramlarına açıklık getirmektir. Kısaltmalar: VGKC: Voltaj kapılı potasyum kanalı; NMDAR: N-metil D-aspartat reseptörü; NAIM: Non-vaskülitik otoimmun meningoensefalit (183 nolu literatürden alınmıştır).

Nörodejenerasyon süreci, AH'de olduğu gibi limbik ve asosiyasyon alanlarıyla sınırlı kalıyorsa, izole demans veya ağırlıklı klinik tablo şeklinde gözlenir; bununla beraber motor sistemin dejenerasyona dahil olmasıyla, Parkinsonizm de görülen LCD, Huntington hastalığının belirtileri arasında yer alan kore, oluşan klinik tablonun ağırlıklı bir parçası olarak bazen demansın da önüne geçen hareket bozukluklarıyla ortaya çıkar. Ortaya çıkan klinik tabloya göre primer demanslar kendi içlerinde değerlendirildiğinde, ya primer izole demanslar veya motor bozukluklarla birlikte görülen primer demanslar şeklinde sınıflandırılabilirler (186).

Nörolojik, psikiyatrik ya da sistemik bir hastalığın seyri esnasında, mutad klinik gösterilerinin yanında demans da gözleniyorsa, oluşan bu demans biçimi sekonder demanslar adı altında sınıflandırılır. Sekonder demansların nedeni incelendiğinde sıklıkla bu nedeninin Vasküler Demans (VaD) olduğu gözlenmiştir. Vasküler Demansa yol açan sebepler araştırıldığında, büyük veya orta çaplı serebral arterlerde art arda meydana gelen tıkanıklar (MID), stratejik lokalizasyonu olan tekli infarktlar veya hipertansif serebral küçük damar hastalığı (Binswanger hastalığı) VaD'a yol açabilir (187). Nöronların normal şartlar altında fonksiyonunu yapabilmesi için gerekli olan, oksijenlenme seviyesi, ekstraselüler ortamdaki glukoz düzeyi, ortamın elektrolit dengesini veya hormonal durumunu değiştirebilecek herhangi bir metabolik veya sistemik bozukluk (diyabetes mellitus, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, hipotiroidi, karaciğer, kalp veya böbrek yetmezliği) veya sinaptik iletimin bozulmasına yol açan terapötik amaçlı herhangi bir ilaç uygulaması, çeşitli düzeylerde ağır metallere maruz kalınması durumunda toksik-metabolik ensefalopati görülür (188). Çoğunlukla AKD olarak görülen toksik-metabolik ensefalopatiler, kimi zaman daha yavaş seyreden bir tabloda demanla benzerlik gösterebilirler. İnflamasyonla seyreden süreçlerde örneğin (Primer MSS vasküliti, nöro-Behçet sendromu, sistemik lupus eritamatosus, paraneoplastik limbik ensefalit, granülomatöz anjiitis), infeksiyöz hastalıklar (HIV, Herpes simpleks ensefaliti, Tbc meningoensefaliti, Lyme, nörosifilis, Whipple, v.b), nörolojik hastalıklardan olan multipl skleroz, kronik subdural hematom, primer ya da sekonder beyin tümörleri, normal basınçlı hidrosefali gibi yer kaplayan lezyonların demansa yol açtıkları bilinmektedir (188). Psikiyatrik hastalık grubunda yer alan ve ileri yaşlarda görülen yaşlılık depresyonu, ağırlıklı biçimde kognitif ve motivasyonel bulgulardan oluşan bunun yanı sıra afektif bulgularını gizleyen bir demans (kimi yazarlara göre psödo-demans) tablosu

olarak ortaya çıkabilir. Primer demans sınıfında yer alan AH'na ait klinik tanı koyabilmek için hastada sekonder demans olmaması gerekmektedir (189).

### 2.3.1. Alzheimer Hastalığı ve Alzheimer Tipi Demans

Alzheimer hastalığı (AH) en yaygın görülen demans türüdür ve tipik olarak ilerleyici bir epizodik hafıza ve bilişsel işlev kaybıyla ortaya çıkar ve daha sonra apati, saldırganlık ve depresyon gibi davranış bozukluklarının eşlik ettiği dil ve görsel yetenek yetersizliklerine neden olur. Nöronal sitoplazmada hiperfosforile edilmiş tau proteini (P-tau) içeren, hücre dışında çözünmeyen amiloid peptidi (Aβ) ve hücre içi nörofibriler (NFT) plakların varlığı, hastanın beyinlerinde belirgin patofizyolojik nedendir (190).

Alzheimer hastalığı 100 yıldan daha uzun bir süre önce, ilk defa 1906 yılında Alman psikiyatrist ve nöropatalog Alois Alzheimer tarafından tanımlanmıştır. 1901-1903 yılları arasında 51 yaşındaki Auguste Deter isimli hastayı klinik olarak takip eden Alzheimer, 1906 yılında hastasının ölümünden sonra yapılan otopsi sırasında serebral korteksin normale göre incelmiş olduğu tespit edildi. Ayrıca gümüş boyama tekniği kullanarak beynin nöropatolojik incelenmesinde daha sonra amiloid plaklar olarak isimlendirilecek miliyer odakları ve ayrıca daha sonradan nörofibriler yumaklar ismini alan intraselüler fibril birikintileri belirleyerek hastanın beynindeki makroskobik ve mikroskobik değişimleri tanımlandı. Bu şekilde Auguste Deter ile ilk kez tanımlanan klinik olarak demans ile nöropatolojik olarak NFY ve AP hala bugün AH'nin ana diyagnostik triadını oluşturmaktadır (194).

Alzheimer, 3 Kasım 1906'da, Tubingen'deki Güneydoğu Alman Psikiyatristler Derneği'nin 37. toplantısı sırasında hastanın klinik ve nöropatolojik özelliklerini bildirisinde sundu. Auguste Deter'e ait bilgiler arasında hafıza kaybı, konuşma ve oryantasyon bozukluğu, halüsinasyonlar ve sanrılar bulunuyordu.

1913 yılında L. Alzheimer'in hocası ve çalışma arkadaşı aynı zamanda şizofreninin isim babası olarak bilinen Emil Kraepelin, Psychiatrie: Ein Lehrbuch für Studierende und Aerzte adlı o döneminin en ünlü ders kitabında 8. baskıda bu çeşit olguları Alzheimer olarak tasfir etti (183).

1984 yılında Glenner ve Wong β-Amiloid proteinin amino asit sekansını rapor etmişlerdir ve bu çalışma amiloid hipotezin başlangıcı kabul edilebilir (205).

### 2.3.1.1. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi

Alzheimer hastalığı (AH), dünya genelinde yaklaşık 47 milyon kişiyi etkilemektedir ve 2050 yılına kadar üç kattan (~ 131 milyon) daha fazla artış göstereceği tahmin edilmektedir (184).

Günümüzde ortalama yaşam süresi uzadığı için toplumlarda yaşlı nüfusun oransal olarak yükselmesine paralel olarak demansın görülme sıklığı artmaktadır ve 65 yaş üstü popülasyonda görülen demasın en sık nedeni Alzheimer hastalığıdır. Tüm demans olgularının yaklaşık % 65-70'ini oluşturan AH'nın prevalansı 65 yaş üzerinde % 6-10, 85 yaş üzerinde olan kişilerde %30-45 dir (191). 60 yaşından sonra prevalans her beş yılda bir iki katına çıkmaktadır. Prevalans pikine sekizinci dekatta rastlanır. AH kişilerin yaklaşık %43'ü 75-85 yaş aralığındadır (192).

Alzheimer hastalığı ve diğer demans (bunama) hastalıkları ülkemizde olduğu gibi özellikle hızla yaşlanan toplumlarda sık görülen bir sağlık problemidir. Türkiye Alzheimer Derneği 2019 verilerine göre Türkiye'de yaklaşık 900.000-1.000.000 demanslı kişi bulunduğu ve bunların yaklaşık üçte ikisinine yakın bir kısmının(~ 600.000) Alzheimer hastası olduğu belirtilmiştir. Ülkemizde şu an 65 yaşının üstünde 7 milyon kişinin olduğu ve bu sayının hızlı bir şekilde artacağı bildirilmektedir. Türkiye'de 2023 yılında yaklaşık her 10 kişiden bir kişi, 2050 yılında da her 5 kişiden bir kişinin 65 yaş üstünde olacağı tahmin edilmektedir. Alzheimer hastalığı erkeklere oranla kadınlarda daha sık görülmektedir (193).

### 2.3.1.2. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi

Alzheimer hastalığı (AH) ilerleyici demansa neden olan, kronik nörodejeneratif hastalıklar grubunda, görülme sıklığı ile ilk sırada yer almaktadır. Alzheimer hastalığının patogenezini açıklamak üzere yapılan çalışmalarda daha çok beynin kortikal ve limbik alanlarında, nöronal hücre dışında biriken çözünmeyen β-amiloid peptid (Aβ) plakları ve hiperfosforile τ-proteininden oluşan hücre içi nörofibriler yumaklar (NFT) üzerinde durulmuştur (194).

Anatomopatolojik açıdan AH, iki prototipik lezyonla karakterize edilir:

1) Hücre dışı lezyonlar olarak β-amiloid protein birikimi çekirdeğinden (Aβ42) oluşan senil plaklar

2) Fosforile tau proteininden (P-tau) oluşan ve intranöronal bulgular olan nörofibriler yumaklar (195).

B-amiloid proteininin birikmesi ayrıca kılcal damarlarda, damar duvar bileşenlerinin dejenerasyonuna ve kan akışının kötüleşmesine neden olabilir (196).

AH, tipik olarak ilerleyen bir epizodik hafıza kaybı ve bilişsel işlevsellik ile kendini gösterir, daha sonra dil ve görsel yetenek eksilir. Bu tür değişikliklere çoğu zaman apati, saldırganlık ve depresyon gibi davranış bozuklukları eşlik eder (197).

Vasküler ve fronto-temporal demans gibi diğer nedenler hariç, tipik hastalık özelliklerini karşılayan hastalar, olası bir AH tanısına sahiptir. Hastalığın kesin tanısı genellikle, yalnızca histolojik olarak nörofibrilerde dolaşmayı ve senil plakları göstermek olan postmortem inceleme ile gerçekleştirilir (198).

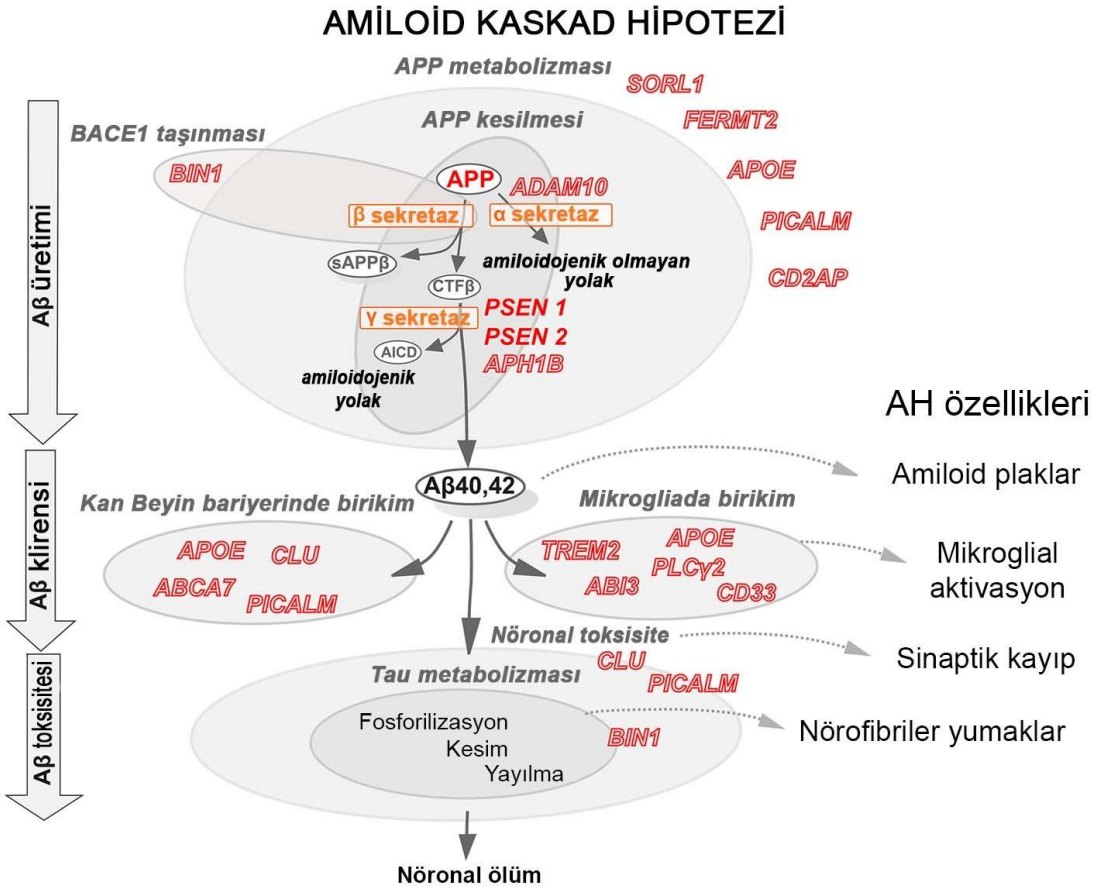
Her ne kadar bu değişikliklerin bilişsel düşüşe yol açtığı mekanizmalar hala tartışılsa da, bu birikintilerin eksitotoksisite süreçlerinden [nörotransmiterlerde nörotransmitter reseptörlerinin aşırı uyarılması], kalsiyum homeostazında, iltihaplanma ve nöronal faktörler ile enerjinin tükenmesinden kaynaklanan çöküntülere yol açtığı düşünülmektedir (199). Bu sürecin bir sonucu olarak, hafıza işlemlerinde, öğrenmede ve diğer bilişsel işlevlerde yer alan nöron ve sinapsların zararı, yukarıda bahsedilen bilişsel düşüşe yol açmaktadır (200).

Hastalığın patofizyolojisini açıklamaya yönelik yapılan araştımalarda bir çok hipotez ileri sürülmüştür. Bu hipotezlerden en çok üzerinde durulan belli başlı, amiloid kaskad hipotezi, tau hipotezi, kolinerjik hipotez ve inflamasyon hipotezi biçiminde sınıflandırılabilir (201).

### 2.3.2. Amiloid Kaskad Hipotezi ve Amiloid Prekürsör Proteini

1992'de Hardy ve Higgins'in hipotezi, ‘‘senil plakların ana bileşeni olan amiloid β proteininin (AβP) birikmesinin, Alzheimer patolojisinin etken maddesi olduğu ve nörofibrilerde dolaşmaların, hücre kaybının, damar hasarının ve demansın bu birikimin doğrudan bir sonucu olarak takip ettiğidir. ’’ (202). Bu sözler, ilk kez Alzheimer hastalığının patogenezinde ana olay olarak beyin parankiminde Amiloid beta peptitlerinin

birikimini ortaya koyarak 1992'de amiloid kaskadı hipotezinin ortaya çıkmasına sebep olmuştur (203).




**Şekil 2-9:** Amiloid Kaskad Hipotezi

Dourlen, P ve ark.'ları (2019) makaleden değiştirilerek alınmıştır (204).

Amiloid prekürsör proteini (APP), amiloid-β (Aβ) peptidinin oluşumuna dahil olması nedeniyle son 30 yıldaki en yoğun çalışılan proteinlerden biri olmuştur. Aβ peptidi, birikimi ve hücre dışı toplanması senil plaklara neden olan APP'nin ana proteolitik türevlerinden biridir (206). Beyindeki bu plakların oluşumu, AH'nın ana histopatolojik özelliğidir (207), ancak Down sendromu (208) veya travma ve beyin hasarı gibi diğer nörolojik durumlarda da ortaya çıkmaktadır (209).

Aβ peptidinin öncüsü olmasının yanı sıra APP'nin kendisi de AH'nin patolojik ilerlemesine katkıda bulunuyor gibi görünmektedir. APP genindeki mutasyonlar, AH vakalarının% 5'ini temsil eden ve erken yaşta (65 yaş öncesi) karakterize olan genetik geçişli erken evre AH'nin ortaya çıkması ile ilişkilidir (210). Ek olarak, birkaç çalışma APP'nin AH'nin hücresel ve moleküler değişiklik özelliklerini üreten, birkaç sinyal

yolunun düzensizliğine neden olduğunu göstermiştir (211). Bununla birlikte, AH'nin başlangıcında ve gelişiminde rol oynayan mekanizmalar hala iyi bilinmemektedir, çünkü esas olarak APP'nin fizyolojik işlevleri yeterince anlaşılmamıştır. APP, hem embriyoda hem de yetişkin beyninde, çok çeşitli işlemlerde rolünden dolayı multimodal bir protein olarak kabul edilir. Spesifik olarak APP, nöral kök hücrelerin çoğalmasında, farklılaşmasında ve olgunlaşmasında kilit bir rol oynuyor gibi görünmektedir. Ek olarak APP, fonksiyonel olarak farklı aktif fragmanlar üreten iki kanonik işleme yolu ile işlenebilir: bu işlem sonucunda, çözünür APP-alfa, çözünür APP-β, amiloid-β peptid ve APP hücre içi C-terminal alanı (AICD) oluşur. Bu fragmanların ayrıca, proliferasyon, nörogenez, gliogenez veya hücre ölümü süreçleri dahil olmak üzere sinir kök hücrelerinde çeşitli fonksiyonları modüle ettiği görülmektedir. Bununla birlikte, bu etkilere katılan moleküler mekanizmalar hala belirsizdir (212).

APP multimodal bir protein olarak tanımlanmıştır ve hücre içi taşınma, nöronal gelişim ve hücre sinyalizasyon süreçleri dahil olmak üzere geniş bir yelpazedeki biyolojik aktiviteyi düzenliyor gibi görünmektedir (213). Bu fonksiyonlar, APP'nin proteolitik işlenmesinden kaynaklanan farklı parçaların üretimi ile ilgili olabilir. Bu fragmanlar sadece Aβ peptidi değil aynı zamanda çözünür APP-α (sAPPα), çözünür APP-β (sAPPβ) ve APP hücre içi C-terminal alanı (AICD) dahil olmak üzere APP'nin amiloid olmayan türevlerini de içerir (214).

APP'nin AH'nin patogenezine katılımı giderek artmaktadır, ancak bu proteinin fizyolojik fonksiyonları hala yeterince anlaşılmamıştır. Embriyoda APP ifadesi, sinir sistemi gelişiminin erken aşamalarında yükselir (215), bu proteinin sinir büyümesi ve olgunlaşmasında önemli bir rolü olduğunu gösterir (216). Spesifik olarak APP, nöral kök hücrelerin (NSC'ler) çoğalmasında, farklılaşmasında ve olgunlaşmasında kilit bir rol oynuyor gibi görünmektedir (217, 218). Yetişkin beyninde APP de çokça ifade edilir ve yaralanma sonrası aksonal büyümenin düzenleyici bir proteini olarak rolünü de içeren çeşitli fonksiyonlar tanımlanmıştır (219) ve nöral progenitör hücrelerin (NPC) çoğalmasında etkili oldukları gösterilmiştir (220).

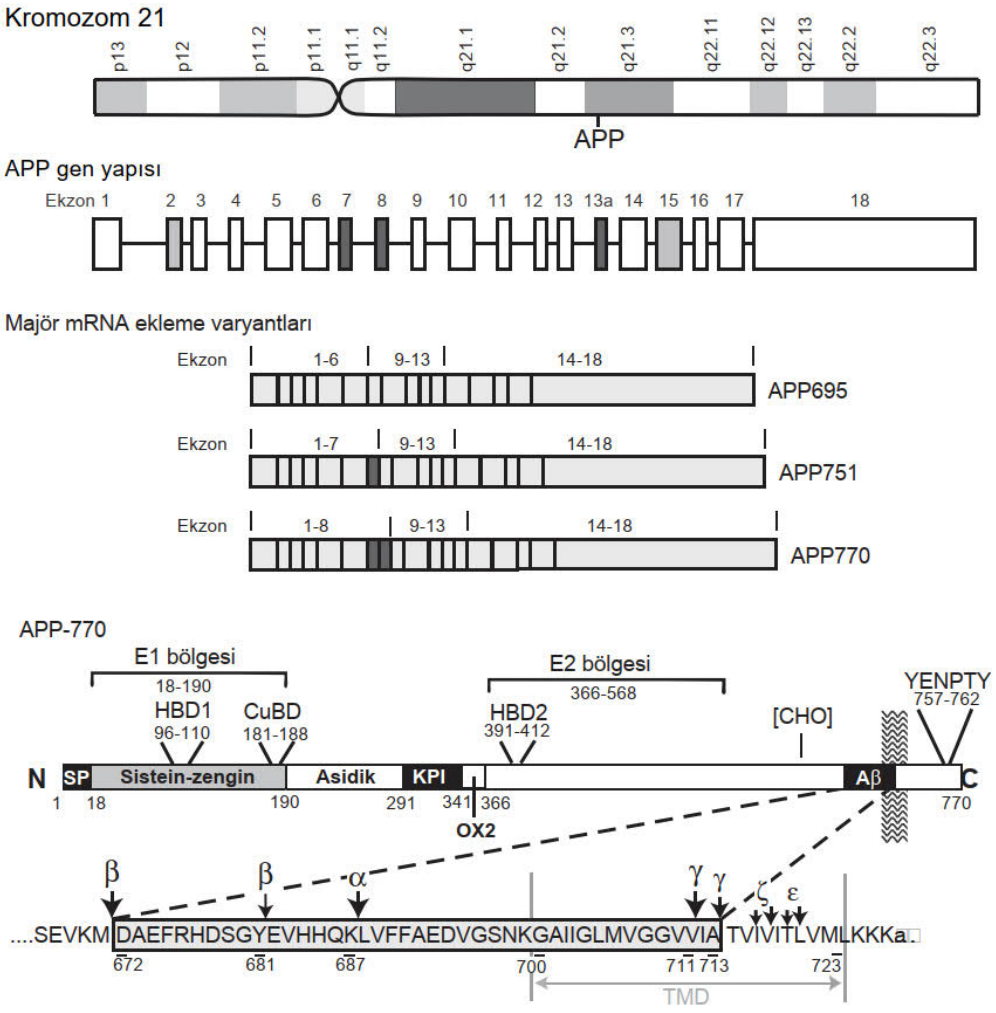
#### 2.3.2.1. Amiloid Prekürsör Protein İfadesi

APP, APP dışında, amiloid öncüsü benzeri protein 1 ve 2'yi (sırasıyla APLP1 ve APLP2) içeren küçük APP protein ailesine aittir. Hem APP hem de APLP'ler, N-terminalinde büyük bir hücre dışı alana ve C-terminalinde küçük bir hücre içi alana sahip

olan tek geçişli transmembran glikoproteinlerdir (221). Yüksek yapısal homolojiye, evrimsel olarak yüksek oranda korunmuş amino asit sekanslarına ve APLP'lere benzeyen veya benzer görünen biyolojik fonksiyonlara sahip olmasına rağmen, APP, APP'nin transmembran bölgesinde bulunan A peptidinin kodlama sekansını içeren ailenin tek üyesidir (216). Bu nedenle, APP, AH bağlamında daha kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır.

İnsanlarda APP, kromozom 21 (lokus 21q21.3) üzerinde bulunan tek bir gen tarafından kodlanır, 18 ekzondan oluşur ve yaklaşık 240 kb'lik bir mesafe içerir (222).

İnsan APP cDNA dizisi önce bir beyin dokusu kütüphanesinden klonlanmıştır (223). Memelilerdeki APP ailesi üç üyeden oluşur: APP, APP benzeri protein-1 (APLP1) ve APP benzeri protein-2 (APLP2) (224).




**Şekil 2-10:** APP'nin 21. Kromozomdaki Lokalizasyonu

Dawkins, E. ark. (2014), makaleden değiştirilerek alınmıştır (222).

Kromozom 21 üzerindeki konumu nedeniyle, birçok araştırmacı, APP geninin bu ekstra kopyasına Down sendromlu kişilerdeki bilişsel bozulma ve AH'nin erken başlangıcını ilişkilendirmiştir (225). Ek olarak yukarıda tartışıldığı gibi APP genindeki mutasyonlar (A673T mutasyonu hariç) erken evre başlangıçlı genetik geçişli AH'nin görünümü ile ilişkilidir (226), çünkü mutasyonların hemen hemen hepsi amiloidojenik yolağı dolayısıyla Aβ peptidinin üretimini tercih eder (227). Bu nedenle, APP geninin seviyelerindeki ve dizisindeki modifikasyonların patolojik olduğu göz önüne alındığında, fizyolojik fonksiyonları doğru beyin fonksiyonları için gerekli gibi görünmektedir.

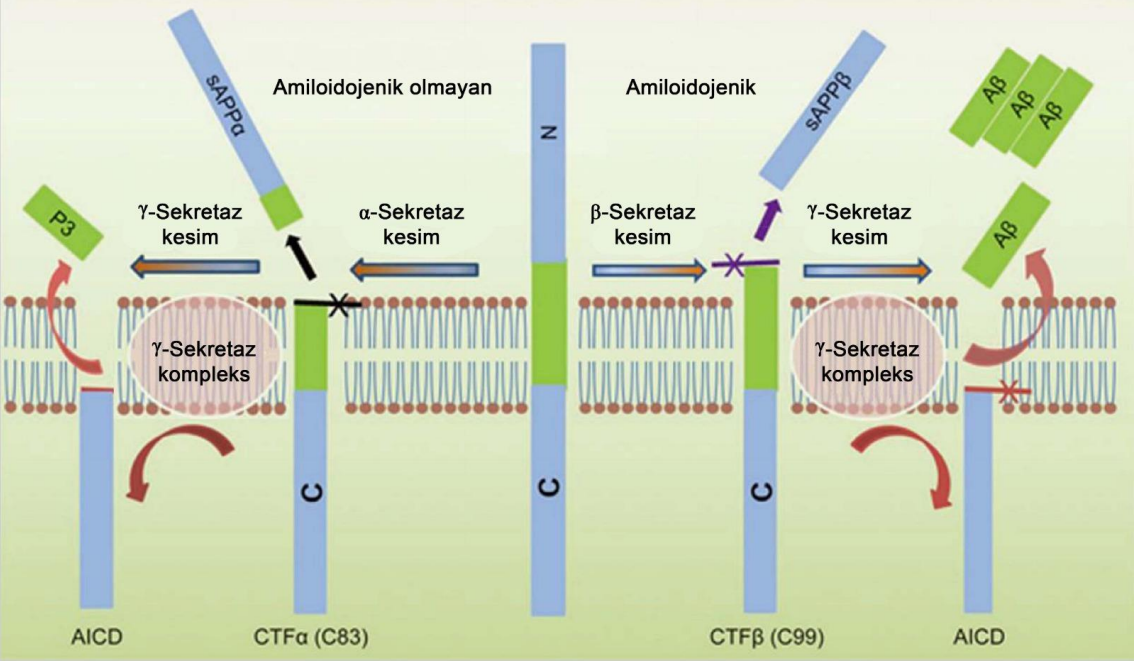
Transkripsiyon işlemi ile ilgili olarak, APP mRNA'nın alternatif eklenmesi, içerdiği amino asitlerin sayısı (639-770) ile tanımlanan yaklaşık on farklı izoforma yol açabilir (228). Üretilen ana izoformlar APP695, APP751 ve APP770'tir; APP695, ağırlıklı olarak merkezi sinir sisteminde (CNS) eksprese edilen izoformdur (229, 230). APP mRNA'sı ve proteinin kendisi, sinir sistemi, kas, karaciğer, bağışıklık sistemi, akciğer, böbrek ve tiroid bezi, dahil olmak üzere çok çeşitli dokularda her zaman eksprese edilir (231). Bununla birlikte, APP'nin farklı izoformları, farklı oranlarda ve farklı hücre tiplerinde ifade edilir. APP695, ağırlıklı olarak nöronlarda eksprese edilen izoformdur, APP751 ve APP770 ise ağırlıklı olarak periferik doku hücrelerinde eksprese edilir. Glial soy açısından, *in vitro* çalışmalarda, astrosit ve mikroglial kültürlerde APP'nin üç ana izoformunun ekspresyonunu belgelemiştir (213). Bu nedenle, bu ifadelerin yeni nöronların rezervuarlarındaki rejeneratif kapasiteyi sürdürmek için hayati önem taşıdığı için, APP ifadesini astrositlerde çalışmak da önemlidir (232).

#### 2.3.2.2. Amiloid Öncü Proteinlerin İşlenmesi

APP, genellikle endoplazmik retikulumda sentezlenir ve salgılama yolu boyunca hücre zarına taşınır. Bu yol, genellikle glikoproteinlerin, çok çeşitli proteinlerin zarına katlanmasından, translasyonundan sonra modifikasyonundan ve protein translokasyonundan sorumludur (233). APP durumunda, fosforilasyonlar, N-glikozilasyonlar, O-glikozilasyonlar, tirosin kalıntılarındaki sülfatlar ve palmitolasyonlar gibi translasyon sonrası modifikasyonlar, proteinin olgun formuna yol açar (228, 234).

Olgun APP oluşumundan sonra, iki kanonik işleme yoluna yol açan sekretaz adı verilen enzimlerle işlenebilir. Bu yollar, işlevleri spesifik ve bazı durumlarda karşıt olan farklı biyolojik olarak aktif proteolitik fragmanlar üretir.

Amiloidojenik olmayan yol hücre zarında meydana gelir ve Aβ peptidinin üretilmemesi ile karakterize edilir. Bu yolda, α-sekretaz, APP'yi A bölgesi içinde parçalayarak oluşumunu ve toplanmasını önler. Bu işlem sAPPα fragmanını üretir ve hücre-dışı ortama salıverir, C-terminal fragmanı alfa'yı (CTF83 veya C83 olarak da bilinir) hücre zarında bırakır. Daha sonra, gama sekretaz (γ-sekretaz) enzimatik kompleksi, çözünür peptit p3'ü hücre dışı ortama ve AICD fragmanını sitoplazmaya salıvererek C83 fragmanını parçalamaktadır (235, 236). İki kanonik işleme yolu olmasına rağmen, amiloidojenik olmayan yolun fizyolojik koşullar altında baskın olduğuna dikkat etmek önemlidir (237).




**Şekil 2-11:** APP'nin Amiloidojenik Olmayan Yol ve Amiloidojenik Yol ile Proteolitik İşlenmesi

Chen, G. F. ve ark (2017), makaleden değiştirilerek alınmıştır (238).

Öte yandan, amiloidojenik yol, Aβ peptidi üretimi ile karakterize edilir. Bu yolda β-sekretaz, APP'yi Aβ bölgesi dışında ayırır ve bu nedenle oluşumu engellenmez. sec-sekretaz sAPPβ fragmanını üretir ve hücre dışı ortama bırakır, kalan C-terminal fragmanı β (C99 olarak da bilinir) hücre zarında kalır. Daha sonra sec-sekretaz enzimatik kompleksi, C99 fragmanını parçalayarak Aβ peptidini hücre dışı ortama ve AICD fragmanını sitoplazmaya bırakmaktadır (235, 236). Bazı yazarlar, amiloidojenik yolun endozomlarda yer aldığını ve bu hipotezin giderek daha fazla kabul edildiğini öne sürmüşlerdir (239). Bu bölmeler, β-sekretaz aktivitesi için optimal olan daha düşük bir

pH'a (daha fazla asidik) sahip olmalarıyla karakterize edilir. Bu nedenle, APP'nin hücresel dağılımı, proteolitik işlemesini etkiliyor gibi görünmektedir. Amiloidojenik olmayan yol, APP'nin hücre zarı içinde birikmesi tarafından desteklenirken, amiloidojenik yol, APP, klatrin aracılı endositozun bir sonucu olarak endozomlarda biriktiğinde tercih edilir (216).

Araştırmalar, ubiquitinasyon gibi translasyon sonrası değişikliklerin APP klirensini ve işlemesini etkilediğini, bunun clathrin aracılı endositozunu inhibe ettiğini ve hücre zarındaki varlığını arttırdığını göstermiştir (240). Bu nedenle, bazı yazarlar ubiquitinasyonun farklı APP işlemlerinde anahtar faktör olarak önemini vurgulamaktadır. Bununla birlikte, APP'nin çeviri sonrası modifikasyonları, farklı sekretazların değişen aktivite seviyeleri de sorumlu olduğundan, farklı işlemlerinden yalnızca sorumlu değildir (241).

Gözlenebileceği gibi, APP proteolitik işleme, oldukça kontrollü ve modüle edilmiş bir işlemdir. Bu nedenle APP ve APP'nin normal fizyolojik seviyelerinde dengesizliği ve APP'nin türevlerinin düzenlenmesi, AH'nin başlangıcında yer alan ilk amiloidojenik değişikliklerden biri olabilir (242).

Yukarıda açıklanan kanonik işlem yollarına ek olarak, APP ayrıca kanonik olmayan birkaç yol içinde de işlenebilir. N-sekretaz yolu (243), δ-sekretaz yolu (244) ve meprin yolu (245) ek N-terminal türevlerinin bulunduğu keşfedilmiştir.

#### 2.3.2.3. SAPPα ve sAPPβ'nin İşlevleri

sAPPα, APP'nin amiloidojenik olmayan yolla proteolitik işlenmesinden sonra hücre dışı ortama salınan parçalardan biridir. Bu işleme yolu baskın olarak fizyolojik koşullar altında meydana gelir ve birçok yazar sAPPα fragmanını nöroprotektif ve nörotrofik fonksiyonlarla ilişkilendirir (246, 247, 248). sAPPβ, APP'nin proteolitik işlenmesinden sonra hücre dışı ortama salınan bir başka fragmandır, ancak bu durumda daha sonra Aβ peptidi amiloidojenik yolla serbest bırakılır. Bu işleme yolu ile ilgili olarak, çoğu çalışma Aβ peptidinin işlevlerini keşfetmeye odaklanmıştır, ancak sAPPβ'nin işlevleri hala tam olarak anlaşılmamıştır (249).

SAPPα ve sAPPβ'nin spesifik rolleri belirsizliğini koruyor. Birçok çalışma, *in vitro ve in vivo* olarak NPC'lerin çoğalmasında sAPPα'nın rolünü göstermiştir (250, 251, 252). Buna karşılık, sAPPβ, sAPPα'ya göre eş molar bir konsantrasyonda kullanıldığında, *in vitro* veya *in vivo* olarak NPC'lerde aynı proliferatif etkiyi ortaya çıkarmıyor gibi

görünmektedir (253). Son araştırmalar, APP'nin çözünür formlarının, *in vitro* bireysel nörosferlerin oluşumunu nasıl arttırdığını, fakat MGK'lerin büyümesini baskılayarak boyutlarını nasıl azalttığını göstermektedir. Benzer şekilde, aynı yazarlar, APP'nin çözünebilir formlarının yetişkin farelerin subventriküler zonundaki hücre sayısını kontrol ederek NSC'lerin büyümesini negatif olarak düzenlediğini belirlemiştir (254).

NSC / NPC'lerin proliferatif düzenleyicileri olarak muhtemel rollerin yanı sıra, insan embriyonik kök hücrelerinin nöronal farklılaşmasında sAPPα ve sAPPβ fonksiyonlarının işlevleri de tarif edilmiştir (255). Hücre fate spesifikasyon işlemlerinde, gliogenezi teşvik eden ve insan NSC'lerinin nörogenezini baskıladıkları gösterilmiştir (256). Ayrıca, indüklenmiş pluripotent kök hücrelerden türetilen nöronlarda ve astrositlerde yüksek sAPPα salgıları tespit edilmiştir, hücre farklılaşması sürecinde önemi ortaya konulmuştur (257).

Son zamanlarda, sAPPα fragmanının yetişkin fare beynindeki sinaptik plastisitesini, omurga yoğunluğunu ve bilişini modüle eden çeşitli sinaptik fonksiyonları düzenlediği de tarif edilmiştir. Bununla birlikte, bu etkiler sAPPβ fragmanı ile çoğaltılamaz (258).

Her iki çözünür fragmanın fizyolojik fonksiyonları hala iyi anlaşılmadığından, AH semptomlarından bazılarının, örneğin sAPPα seviyelerinde bir azalma veya sAPPα / sAPPβ oranının değişmesi sonucu meydana gelen fonksiyonel değişikliklerden kaynaklanıp kaynaklanmadığı bilinmemektedir. Bu nedenle, APP işlemesi sırasında hücre dışı ortama salgılanan her iki çözünür parçanın fizyolojik fonksiyonlarını bilmek önemlidir (259).

#### 2.3.2.4. Aβ Peptidinin Fonksiyonları

Aβ peptidi amiloidojenik yoldaki γ-sekretaz bölünmesinden sonra hücre dışı ortama salınır ve farklı toplanma durumlarında bulunabilir. Monomerik Aβ peptitlerinin oligomerler oluşturmak üzere toplandığı bilinmektedir, bu da daha sonra AH'deki yaşlılık plaklarının bir parçası olan fibriller oluşturmak için toplanabilmektedir. Bu farklı toplanma durumlarının, artan monomerik Aβ peptit konsantrasyonuyla üretildiği ve bunların, beyinde çeşitli etkiler yarattığı gösterilmiştir (274). Son kanıtlar, oligomerik ve fibriller formlarındaki A peptitlerinin, AH'de nörodejenerasyonun ana nedeni olduğunu desteklemektedir, çünkü bu toplama durumları en toksiktir (260, 261, 262).

Aβ peptidinin toplam durumu, işlevselliğini etkileyen tek faktör değil, aynı zamanda izoformudur. C99 fragmanının çoklu bölgelerde γ-sekretaz ile işlenmesi, ana Aβ izoformları, A40 ve Ap40 (40 ve 42 peptidleri) 'e daha da bölünen 43, 45, 46, 48, 49 ve 51 amino asitli bölünme fragmanları oluşturur. amino asitler, sırasıyla (214). Toplanma durumlarında olduğu gibi, farklı Aβ peptid izoformlarının fonksiyonel olarak çeşitli olduğu, daha uzun A  peptidlerinin (Aβ42 ve A43'ün) daha toksik olduğu ve kendi kendine toplanmaya yatkın olduğu, diğer taraftan Aβ40'ın göz önüne alınabileceği açıklanmıştır. Aβ40 anti-amiloidojenik ve hatta nöroprotektifdir(263).

Daha önce tarif edilen patolojik fonksiyonun yanı sıra monomerik Aβ40 ve Aβ42 peptidleri sağlıklı bireylerin beyinlerinde ve beyin omurilik sıvısında bulunur, bu ikisinin de fizyolojik olarak aktif bir işlevi olduğunu gösterir (264). Yapılan çalışmalarda yakın zamanda monomer Aβ42 peptidinin (1 uM konsantrasyonda), nörojenezi etkilemeden, özellikle çoğalan glial prekürsör havuzunun arttırılmasının insan NSC'lerinin çoğalmasını desteklediğini gösterilmiştir(265). Hem fare NSC'lerinde hem de sıçan NPC'lerinde de benzer etkiler tanımlanmıştır, burada monomerik Aβ42 peptidi (1.5 uM konsantrasyonda) ile tedavi, bu hücrelerin proliferasyonunu ve gliogenezini, nöronal farklılaşmayı teşvik eden monomerik Aβ40 peptidinin aksine sağlar (266, 267).

Ek olarak, bu proliferatif etki ayrıca, hücre sayısını önemli ölçüde artırabilen yüksek konsantrasyonlarda (10 uM) Aβ42 peptidinde fare NSC'lerinde de tarif edilmiştir (268). Bununla birlikte, yakın zamanda yapılan çalışmalar, 10 uM konsantrasyonunda Aβ42 peptidinin proliferasyonu tehlikeye soktuğu ve fare NSC'lerinin nöronal farklılaşmasını bloke ettiği durumun tersini göstermiştir. Muhtemel bir açıklama, yüksek konsantrasyonlarda (10 uM), monomerik Aβ peptitlerinin, proliferasyonunu azaltan, oligomerik durumunda Aβ42 peptidli insan NSC'lerinde yapılan çalışmalarda gözlenen etkilere benzeyen oligomerler oluşturmak üzere toplanabileceği olabilir. glial farklılaşma ve bu hücrelerin göç kapasitesini baskılamaktadır (269).

#### 2.3.2.5. AICD'nin İşlevleri

Diğer proteolitik fragmanların aksine, AICD her iki kanonik işleme yolunda γ-sekretaz ile ayrıldıktan sonra sitoplazmaya salınır. Bununla birlikte, AICD fragmanının sadece amiloidojenik yoldan geldiğinde transkripsiyonel olarak aktif olduğu görülmektedir (230, 270). AICD'nin AH'nin patolojik gelişimine katılımı geniş bir şekilde

belgelenmiştir ancak nükleer sinyalleşme, transkripsiyonel düzenleme, apoptoz ve DNA onarımındaki fizyolojik rolü hala tartışmalıdır (211).

Ap peptidi gibi, içerdiği amino asitlerin sayısına göre AICD59, AICD57, AICD51, AICD50 ve AICD31 dahil olmak üzere birçok AICD izoformu tarif edilmiştir (211). AICD57 / 59 izoformlarının, γ-sekretaz bölünmesinden kaynaklanan Aβ40 / 42 fragmanlarına karşılık geldiğine dikkat edilmelidir, ancak tespit edilen izoformlar esas olarak site-bölgesinde (rov-bölgesinde sekretaz klevajından kaynaklanan AICD50 / 51 fragmanlarıdır) (271, 272). Site-yerindeki bölünme, Notch reseptörlerinde γ-sekretazın neden olduğu bölünmeye benzer ve bu, Notch hücre içi C-terminal domeninin (NICD) oluşumuyla sonuçlanır (273). Bu nedenle, birçok kişi AICD'nin NICD parçasına benzer bir transkripsiyonel düzenleme fonksiyonuna sahip olduğuna inanmaktadır (274).

AICD'nin sitoplazmada parçalanmadığında, APP'nin kendisi, GSK3B (glikojen sentaz kinaz 3β; serine / dahil olmak üzere birçok genin ekspresyonunu düzenleyen Fe65 ve Tip60 ile transkripsiyonel olarak aktif bir kompleks oluşturabildiği tarif edilmiştir. Tau proteininin hiperfosforilasyonu ile ilişkili treonin kinaz (275), PTCH1 (Ptch1, protein yamalı homolog 1; Shh ligandlarının yokluğunda sonik kirpi (Shh) sinyalini baskılayan reseptör) (276). ), STMN1 (stathmin1; mikrotübüllerin dengesini bozarak mikrotübül dinamiklerini düzenleyen fosfoprotein) (277), NEP (neprilysin; Aβ peptidini bozan metaloproteaz) (278), TP53 (p53; tümör supresör proteini) kaspaz aktivasyonu ile apoptotik hücre ölümünü indükleyen) (279) ve SOX2 (SRY-box2; embriyonik gelişimi ve hücre kaderinin tayinini düzenleyen transkripsiyon faktörüdür (280).

SAPPa ve sAPPβ'den farklı olarak, AICD, fare NPC'lerinin *in vitro* çoğalmasını engelliyor gibi görünmektedir. Bazı yazarlar, AICD'nin, Shh sinyal yolunu ve hücre bölünmesini engelleyecek olan PTCH1 promotörünün transkripsiyonel düzenlemesini aktive ettiğini göstermektedir (276). Ek olarak, AICD'nin neden olduğu proliferatif defekt ayrıca hücre proliferasyonu, farklılaşması ve sinyalleme sinyallerini başlatan SOX2 (280) veya EGFR (epidermal büyüme faktörü reseptörü) üzerindeki negatif transkripsiyonel regülasyondan da kaynaklanabilir (281). İnsan NSC'lerinde yapılan çalışmalar, AICD'nin, nörojenezde yer alan çoklu genlerin ekspresyonunu bastırmaktan sorumlu olan bir mikroRNA olan miR-663'ün pozitif transkripsiyonel regülasyonu yoluyla bu hücrelerin nöronal farklılaşmasını baskıladığını göstermiştir (282).

İşlev kazanma çalışmaları, APP'nin insan KHD'lerinin farklılaşmasında, gliogenezi ve nörogenezi önleme konusunda olası bir ikili rolü olduğunu göstermektedir. Bu etkilere, AICD fragmanı aracılık edebilir, çünkü sonuçlar APP'yi aşırı eksprese eden hücrelerde nükleer düzeyde bu fragmanın yüksek seviyeleri gösterilmiştir (218). Ek olarak, yüksek AICD seviyelerine GSK3B de dahil olmak üzere birçok hedef geninin yüksek ekspresyon seviyelerinin eşlik ettiği gözlenmiştir. Bu nedenle, AICD fragmanının GSK3B'nin transkripsiyonunu düzenleyen ve nöron oluşumunu azaltan insan MGK'larındaki farklılaşma sürecinde yer alabilir (218).

İlginç bir şekilde, AICD'nin proliferasyon ve nörojenez sürecindeki etkilerinin, NS-sekretaz aktivitesinin bloke edilmesi ve böylece AICD oluşumunun fare NSC'lerinde inhibe edilmesi suretiyle tersine çevrilebileceğini göstermiştir (283). NSC / NPC'lerde hücre proliferasyonunu ve nörogenezini etkilemesine rağmen, AICD, hem TP53 gibi proapoptotik genlerin pozitif transkripsiyonel regülasyonu hem de AICD31 fragmanının üretilmesiyle, proapoptotik genlerin transkripsiyonel düzenlenmesi ile apoptoz ile ilişkilendirilmiştir ve apoptotik hücre ölümüne katkıda bulunur (284).

### 2.3.3. Alzheimer Hastalığı ile İlişkili Genetik Faktörler

Alzheimer hastalığı, ilk semptomların başlama yaşına göre sınıflandırılabilir. Erken başlangıçlı AH, 65 yaşın altındaki bireyleri etkiler ve AH vakalarının yaklaşık% 4-6'sını oluşturur, geç formdaki AH 65 yaş ve üstü bireyleri etkiler. Semptomların başlama yaşının yanı sıra, AH'nin erken ve geç formları diğer klinik, nöropsikolojik, nöropatolojik ve nörogörüntüleme değişkenlerinde farklılık gösterir (285).

Erken AH genellikle APP, PSEN1 ve PSEN2 genlerindeki (sırasıyla amiloid öncü protein, presenilin 1 ve presenilin 2 genleri) mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkarken, geç form AH esas olarak APOE genindeki (apolipoprotein E geni) özellikle ε4 alelin varlığı bir polimorfizmle ilişkilidir (286, 287).

APP geninde (21q21 kromozomunda bulunur) 30'dan fazla baskın mutasyon bulunmuştur ve erken başlangıçlı otozomal dominant AH vakalarının yaklaşık % 15'i ile ilişkilidir. PSEN1 genindeki mutasyonlar (14q24.3'te bulunur) erken başlangıçlı AH vakalarının % 80'i ile ilişkiliyken, vakaların % 5'i PSEN2 mutasyonları (1q31-q42'de bulunur) ile ilişkilidir (288). APP gen mutasyonlarının yanı sıra PSEN1 mutasyonlarının çoğu, Aβ 42 artan ekspresyonu, Aβ 40 azalması veya her ikisi ile Aβ 42/ Aβ 40 oranında bir artışa yol açar. Bu düzensizlik, amiloidojenik kaskadı destekleyen beyin dokusunda

erken Aβ birikimini desteklemektedir (289). Campion ve ark. tarafından gösterildiği gibi erken başlangıçlı AH patogenezinde rol oynayan APP, PSEN1 ve PSEN2 dışında başka genler olduğuna inanılmaktadır (290).

Apolipoprotein E (ApoE), kromozom 19 üzerinde bulunan APOE geni tarafından kodlanan lipid metabolizmasında, farklı frekanslarda (ε2:% 5–10, ε3:% 65–70 ve ε4:% 15-20) rol oynayan bir proteindir. Corbo ve Scacchi (1999) tarafından yapılan bir çalışma, farklı popülasyonlar arasında APOE alel dağılımında büyük bir değişkenlik olduğunu ve bazı Amerikan yerlilerinde ua2 frekansının Papuans'ta 0.145'e kadar değiştiğini göstermiştir (291). Yazarlar tarafından elde edilen ε 4 frekans 0.052 (Sardunyalı) ile 0.407 (Pigmeler) arasında değişmektedir. All4 alleli geç başlangıçlı AH için ana risk faktörüdür. Heterozigotlukta ε4 varlığı AH gelişme riskini 3 kat arttırırken, homozigotta risk 12 kat artar. Tersine, ε2 alel varlığı AH gelişmesi riskini azaltır (292, 293).

ApoE ile AH arasındaki ilişkinin nedenleri henüz tam olarak anlaşılamamasına rağmen, bazı mekanizmalar önerilmiş ve klinik ve *in vitro* çalışmalarda tutarlı sonuçlar sunulmuştur. Bu çalışmalar arasında bazıları, apoE'nin Aβ peptidine bağlanabildiğini göstermektedir. ApoE4 izoformu fibrillerdeki polimerizasyonunu ve birikmesini teşvik eden Aβ peptidine bağlanırken, apoE2 ve apoE3 formları bu peptidin klerensini artırmada daha etkilidir ve beyin dokusunda birikmesini azaltır (234). ApoE'nin nöroprotektif etkileri vardır ve apoE2 ve apoE3'ün apoE4'ten daha iyi performans göstermesiyle nöron gelişimi üzerinde etkili olabilir. Ek olarak, proteazla üretilen apoE fragmanlarının nöronal yaralanmaya yol açabilecek ve Aβ peptit birikimini destekleyebilecek toksik etkileri olduğu gözlenmiştir (294, 295).

### 2.3.4. Alzheimer Hastalığı ve Trombosit İlişkisi

Yaşlı popülasyonda, Alzheimer hastalığı yaygın bir nörodejeneratif bozukluktur ve tüm demans vakalarının yaklaşık % 70'ini oluşturur. Bu hastalığın nörodejeneratif süreçleri muhtemelen 20 yıl önce başlar. Alzheimer hastalağına ait belirtilerden biri olan senil plaklar β-amiloid peptitten oluşur. β-amiloid protein, amiloid öncü proteininin enzimatik işlenmesi ile oluşmaktadır ve bu peptit sadece beyin dokusunda değil, aynı zamanda nöronal olmayan diğer dokularda da bulunur (296).

İnsan kan dolaşımında bulunan beta-amiloid peptitin birincil kaynağı trombositlerdir, dolaşımdaki amiloid öncü proteinin ~ % 90'ı trombositler tarafından

üretilir (297) ve bu salgılanan peptitler Alzheimer hastalarının senil plaklarında bulunan yapılarla benzerdir (298).

Araştırmalar trombositlerin amiloid öncü proteine ve bu öncü proteinin işlenmesi için gerekli olan tüm enzimatik mekanizmalara sahip olduğunu bildirmiştir. Beyinde bulunan amiloid öncü proteinin enzimatik işlenme yolakları ve bu proteinin metabolizması için gerekli enzimler ile trombositlerdeki işlenme mekanizması aynıdır. Bu özelliklerinden dolayı trombositler, Alzheimer hastalığının bu yolakla ilgili moleküler mekanizmalarını araştırmak için iyi bir periferal örnek olabilir (299).

Alzheimer Hastalığı ve vasküler hastalıklar arasındaki çift yönlü korelasyonlar bulunmaktadır ve AH gelişiminde nöronal olmayan hücreler ve ekstranöronal Aβ peptit üretimi için önemli bir role işaret etmektedir. Hemostaz ve trombozdan sorumlu anükleer hücreler olan dolaşımdaki trombositler, vasküler hastalıklar ve AH arasındaki bağlantıyı araştırmak için iyi bir adaylardır. Trombosit alfa (α) granüllerinde yüksek konsantrasyonlarda amiloid protein prekürsörünün bulunduğu ve trombosit degranülasyonundan sonra kana salındığı iyi bilinmektedir (300).

Alzheimer Hastalarından izole edilen trombositlerde yapılan araştırmalarda, azalmış amiloid protein prekürsör oranı, alfa-sekretazdan β-sekretaza geçiş, amiloidojenik işleme ile sonuçlanan aktivite ve bunun sonucunda artmış trombosit aktivasyonu gözlenmiştir. Alzheimer hastalığında görülen damar hasarı, trombosit aktivasyonuna ve degranülasyonuna yol açabilir. Trombositler damar duvarı boyunca dolaşarak damar hasarına derhal müdahale ederler (296).

Trombositler esas olarak APP izoformları 751 ve 770'i eksprese eder. Bu izoformlar, pıhtılaşma kaskadı dahil olmak üzere serin proteazları inhibe ettiği bilinen 56 amino asit uzunluğunda Kunitz tipi serin proteaz inhibitörleri alanı KPI içerir (301, 302). Ek olarak, trombositler APP metabolizmasından ve Ap peptidlerinin üretilmesinden sorumlu tüm enzimatik makineleri ifade eder (303, 304).

Trombositler, amiloid oluşum mekanizmasında nöronal hücreler ile ortak özellikleri paylaştığı için, amiloid mekanizması ile ilgili nöronal patolojilerin incelenmesinde kullanılabilir (305).

# 3. GEREÇ VE YÖNTEM

## 3.1. Olgular

### 3.1.1. Çalışmaya Alınma Ölçütleri

Çalışmamız İ.Ü İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji polikliniğine başvuran, radyodiyagnostik MR görüntüleme tekniği ile saptanabilen, vasküler bozuklukları, demiyelizasyon ve glioliz gibi nörodejeneratif hasarın düzeyini gösteren, (fazekas 0-1 ve fazekas 2-3 skorlamasına göre) çeşitli düzeylerde ak madde dejenerasyonu olan, çalışma kriterlerine uyan 43 kişilik Alzheimer tipi demans hasta grubunda ve birinci derece akrabalarında herhangi bir nörodejeneratif hastalığı bulunmayan, 45 sağlıklı gönüllü bireyde gerçekleştirildi. Çalışma kapsamında trombosit fonksiyonlarının endotel ile olan ilişkisini protein düzeyinde araştırmak ve bu proteinlerin aktivasyonunun düzenlenmesinde etkili olabileceğini düşündüğümüz miRNA'ların bu yolakta hastalıkla, çalıştığımız protein düzeyleriyle ve trombosit fonksiyonlarıyla olan ilişkisini araştırdık.

Çalışmamız kapsamında trombosit fonksiyonlarını, invitro ADP uyaranı aracılığıyla lumiagregometre cihazında çalışarak, sonuçları eğim ve % amplitüd cinsinden hesaplayarak değerlendiridik. Trombosit fonksiyon deneylerimiz İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Protein Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalıştığımız hastalığın endotel ile olan ilişkisini protein düzeyinde araştırmak için belirlediğimiz 2 adet proteinden, Glikoprotein1b ve von Willebrand Faktör düzeylerini ELISA yöntemi ile tespit ettik. ELİSA deneylerimiz İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Yine aynı laboratuvarda Glikoprotein1b aktivasyonunun düzenlenmesini moleküler düzeyde araştırmak için bu yolakta etkili olabileceğini düşündüğümüz mir26a-5p, von Willebrand Faktör'ü moleküler düzeyde araştırmak için mir24-3p miRNA'larının seviyelerini incelemek üzere total RNA izolasyonu ardından cDNA sentezlenmesi ve qRT- PCR deneylerini gerçekleştirdik. Çalışmada housekeeping miRNA primeri olarak mir16-5p'yi kullandık.

### 3.1.2. Çalışmadan Dışlanma Ölçütleri

Dışlama kriterleri, Alzheimer tipi demansı olmayan demans hastaları, MR sonuçları değerlendirmesine göre kriterlere uygun olamayan hasta ve kontroller çalışma

dışı bırakılmıştır. Trombosit fonksiyon testleri için hasta ve kontrol gruplarında asetil salisilik asit (ASA), antiplatelet veya antikoagulant kullanan bireyler ayrı bir grup oluşturularak incelenmiştir. Aktif inflamatuar hastalığı olanlar çalışma dışı bırakılmıştır.

### 3.2. Çalışmada Kullanılan Yöntemler

Düz, sitrat ve EDTA'lı olmak üzere toplam 3 tüp kan alınarak, trombosit fonksiyonları lumiagregometre ile, trombosit ve endotel arasındaki aktivasyonu saptamak için glikoprotein1b (Gp1b), von Willebrant Faktör (vWF) düzeyleri ELISA yöntemi ile, miRNA seviyeleri kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile çalışıldı.

#### 3.2.1. Trombosit Fonksiyon Tayini için Lumiagregometre ile Trombosit Agregasyon Testi

Hasta ve kontrol guruplarına ait periferik kan 1/9 oranında % 3.8'lik sodyum sitrat ile karıştırıldı. 750 RPM 'de 15 dak. santrifüj edilerek üst fazdaki trombositten zengin plazma (TZP) ayrıldı. Kalan kısım 3000 RPM'de santrifüj edilerek trombositten fakir plazma (TFP) hazırlandı. TFP'dan 495 µl alınarak Lumiagregometri (Lumiagregometri Chronolog 500 USA cihazı kullanıldı) cihaza uyumlu cam küvetin içerisine konularak cihazın referans bölümüne yerleştirildi. TZP'dan ise 500 µl alınarak diğer bir cam küvete konulur ve cihazın 37 C 'lik inkübasyon bölümüne yerleştirildi. TZP 37 C de 3 dakika inkübasyondan sonra referans bölümünün karşısındaki optik dansite okuma bölümüne yerleştirilerek deney başlatıldı. TFP'ya gore daha bulanık ve koyu görünen TZP'nın içine, 1µM konsantrasyonda 5 µl ADP (Chronolog ADP kullanıldı) eklenerek trombositlerin uyarılması sağlandı. Uyarılan trombositlerin sekresyon (eğim) ve şekil değiştirerek akabinde oluşturdukları agregasyon (% amplitüd) fazları ayrı ayrı değerlendirilerek hesaplama yapıldı. Bulanık bir süspansiyon olan TZP'nın içinde ne kadar çok agregat oluşursa rengi o kadar açılır ve ışık geçirgenliği artar. Geçirgenlikteki artış indirekt olarak agregatlar oluştuğunu, dolayısı ile trombosit fonksiyonunun artmış olduğunu gösterir. Optik agregometri yöntemi halen günümüzde altın standart olarak kabul edilmesine rağmen, kan örneklerinin hazırlanmasında güçlükler, tetkik prosedürü bakımından yüksek oranda testi yapan kişiye bağımlı oluşu nedeni ile zor uygulanabilen bir yöntemdir. Bu sebeblerden dolayı çok yaygın olarak kullanılamamaktadır (306).

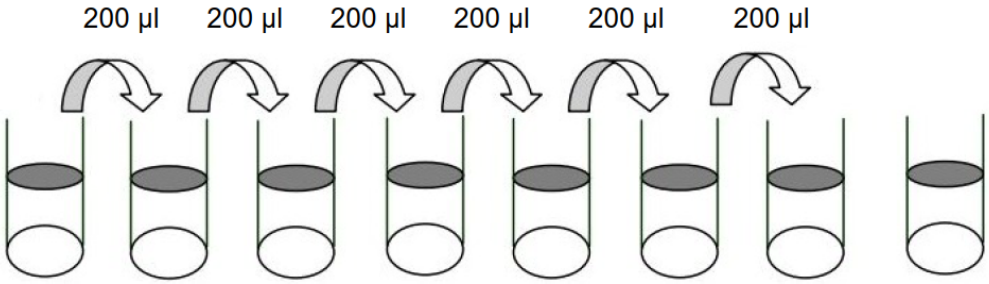
### 3.2.2. ELISA Yöntemi

#### 3.2.2.1. Glikoprotein 1b (CD42b) için ELISA Protokolü

RayBio Human CD42b ELISA Kit kullanıldı.

Reaktiflerin hazırlanması:

1) Kullanmadan önce tüm reaktifler ve örnekler oda sıcaklığına (18 - 25ºC) getirildi.
2) Yıkama Solüsyonu: 20 ml Wash Buffer Concentrate (20X) gözle görülen kristaller içeren solüsyon, çözülene kadar oda sıcaklığında hafifçe karıştırıldı. Sonrasında (20X) Concentrate Wash Buffer, distile su ile karıştırılarak (1X) Yıkama Solüsyonu 400 ml olacak şekilde hazırlandı. 4ºC'de 30 gün boyunca saklandı.
3) Assay Diluent B Buffer: Assay Buffer B Concentrate (5X) distile su ile karıştırılarak 1X Assay Diluent B Buffer olacak şekilde hazırlandı. 4ºC'de 30 gün boyunca saklandı.
4) Biotin-Conjugate: 1:100 oranında Assay Diluent B Buffer (1X) ile sulandırıldı. Sonrasında Biotin-Conjugate, Assay Diluent B Buffer (1X) ile 80 kat sulandırılarak hazırlandı. Dilüsyondan sonra 30 dakika içerisinde kullanıldı.
5) Streptavidin-HRP: 1:600 oranında Assay Diluent B Buffer (1X) ile sulandırılarak hazırlandı. Dilüsyondan sonra 30 dakika içerisinde kullanıldı.
6) Standartlar: Standartlar liyofilize olduğu için hazırlanmadan önce sulandırıldı ve 10-30 dakika bekletildi. 8 tane standart tüpü hazırlandı. Standartlar 1:2,5 oranında sulandırıldı. Her tüpe 300 µl Sample AssayDiluent C konuldu. 1. tüpe 600 µl sulandırılmış standarttan konuldu. Daha sonra 1. tüpten 200 µl alınıp 2. tüpe aktarıldı. Bu şekilde her tüp için devam edildi.




| | Std1 | Std2 | Std3 | Std4 | Std5 | Std6 | Std7 | Zero Standard |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diluent volume | Item C + 600 µl | 300 µl | 300 µl | 300 µl | 300 µl | 300 µl | 300 µl | 300 µl |
| Conc. | 50 ng/ml | 20 ng/ml | 8 ng/ml | 3.200 ng/ml | 1.280 ng/ml | 0.512 ng/ml | 0.205 ng/ml | 0 ng/ml |

**Şekil 3-1:** Glikoprotein 1b (CD42b) için ELISA Protokolü

(https://www.raybiotech.com/?subcats=Y&pcode_from_q=Y&pshort=Y&pfull=N&pname=Y&pkeywords=Y&search_performed=Y&match=all&cat_search=Y&cid=0&q=CD42b&dispatch=products.search)

Şekil 3-1'e ait ilgili link adresi şeklin altında verilmiştir

1. Örnekler: Çalışılacak her bir örnek Assay Diluent C ile 2 kat sulandırıldı.
2. Gp-1b proteinine ait monoklonal antikor ile kaplı 96 kuyucuklu plakaya ait stripler dikkatlice açıldı. Oda sıcaklığına geldikten sonra strip üstündeki parafilm kaldırılıp deney başlatıldı.
3. Hazırlanan standartlardan standart kuyularına 100 µl konuldu.
4. Blank kuyularına hiç birşey konulmadı.
5. Örnek kuyularına her bir örnekten 100 µl konuldu.
6. Standart ve örnekler konulduktan sonra 96 kuyulu plaka oda sıcaklığında 150 dakika boyunca hafifçe çalkanacak şekilde bekletildi. (Labnet Gyrotwister çalkalayıcı kullanıldı).
7. 2.5 saatlik inkübasyondan sonra, plak alınır ve kuyucukların içindeki sıvı boşaltıldı. Her seferinde her bir kuyucuğa 300 µl 1X Yıkama Tamponu konularak, 4 kez yıkama yapıldı. Son yıkamadan sonra iyi bir performans için her adımda sıvının uzaklaştırılması esastır. Son yıkamadan sonra, sıvı boşaltıldı, plaka ters çevrildi, kalan yıkama solusyonunu ve plak yüzeyindeki lekeleri uzaklaştırmak için temiz kağıt havlu kullanıldı.

8. Her bir kuyucuğa 1X hazırlanan biyotinli antikor (Reaktif Hazırlama adım 6) 100 µl eklendi.
9. Üzeri parafilm ile kaplanır ve oda sıcaklığında (18-25ºC) 1 saat hafifçe çalkalayarak inkübe edildi.
10. Streptavidin-HRP hazırlandı.
11. Parafilm kaldırılıp, plate içindeki sıvı boşaltıldı ve kuyucuklar 7. maddede olduğu gibi 4 defa yıkandı.
12. Tüm kuyulara hazırlanan Streptavidin-HRP solüsyonundan 100 µl konuldu.
13. Üzeri parafilm ile kaplanıp ve oda sıcaklığında (18-25ºC) 45 dakika hafif çalkalanarak inkübe edildi.
14. Parafilm kaldırılıp, plak içideki sıvı boşaltıldı ve kuyucuklar 7. maddede olduğu gibi 4 defa yıkandı.
15. Tüm kuyucuklara 100 µl TMB Substrate Solution konuldu.
16. Oda sıcaklığında (18-25ºC) 30 dakika karanlıkta hafifçe çalkalanarak inkübe edildi.
17. Tüm kuyucuklara 50 µl Stop Solution konulup, ELISA Reader ile (Thermo Multiscan Ex cihazı kullanılarak) kite uygun 450 nm dalga boyunda absorbansı okundu.

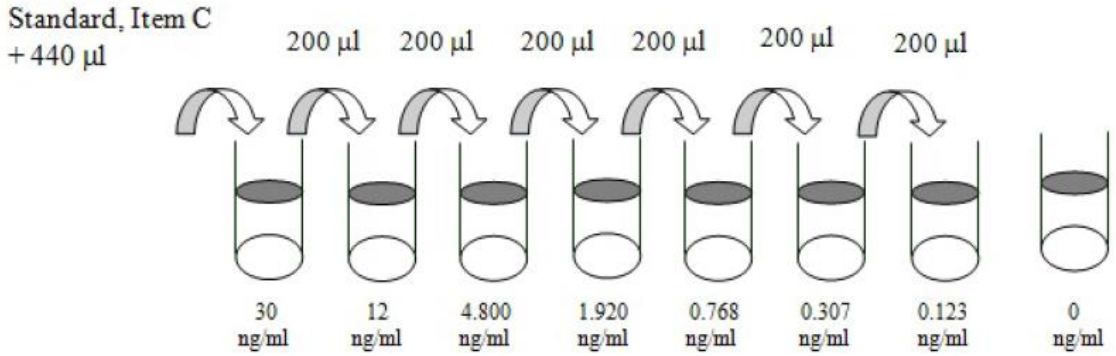
#### 3.2.2.2. vWF için ELISA Protokolü

Thermo Scientific Human vWF ELISA Kit kullanıldı.

Reaktiflerin hazırlanması:

- Kullanmadan önce tüm reaktifler ve örnekler oda sıcaklığına (18 - 25ºC) getirildi.
- Yıkama Solüsyonu: 20 ml Wash Buffer Concentrate (20X) gözle görülür kristaller içeren solüsyon, çözülene kadar oda sıcaklığında hafifçe karıştırıldı. Sonrasında (20X) Concentrate Wash Buffer, distile su ile karıştırılarak (1X) Yıkama Solüsyonu 400 ml olacak şekilde hazırlandı. 4ºC'de 30 gün boyunca saklandı.
- Assay Diluent B Buffer: Assay Buffer B Concentrate (5X) distile su ile karıştırılarak 1X AssayDiluent B Buffer olacak şekilde hazırlandı. 4ºC'de 30 gün boyunca saklandı.

- Biotin-Conjugate: 1:100 oranında Assay Diluent B Buffer (1X) ile sulandırıldı. Sonrasında Biotin-Conjugate, Assay Diluent B Buffer (1X) ile 80 kat sulandırılarak hazırlandı. Dilüsyondan sonra 30 dakika içerisinde kullanıldı.
- Streptavidin-HRP: 1:600 oranında Assay Diluent B Buffer (1X) ile sulandırılarak hazırlandı. Dilüsyondan sonra 30 dakika içerisinde kullanıldı.
- Standartlar: Standartlar liyofilize olduğu için hazırlanmadan önce sulandırılıp, 10-30 dakika bekletildi. 8 tane standart tüpü hazırlandı. Standartlar 1:2.5 oranında sulandırıldı. Her tüpe 300 µl Sample AssayDiluent A konuldu. 1. tüpe 440 µl sulandırılmış standarttan konuldu. Daha sonra 1. tüpten 200 µl alınıp 2. tüpe aktarıldı. Bu şekilde her bir tüp için devam edildi.




**Şekil 3-2:** vWF için ELISA Protokolü

(https://www.raybiotech.com/?subcats=Y&pcode_from_q=Y&pshort=Y&pfull=N&pname=Y&pkeywords=Y&search_performed=Y&match=all&cat_search=Y&cid=0&q=CD42b&dispatch=products.search)

Şekil 3-2'ye ait ilgili link adresi şeklin altında verilmiştir.

1. Örnekler: Çalışılacak her bir örnek Assay Diluent A ile 8000 kat sulandırıldı.
2. vWF proteinine ait monoklonal antikor ile kaplı 96 kuyucuklu plaka ait stripler dikkatlice açıldı. Oda sıcaklığına geldikten sonra strip üstündeki parafilm kaldırılıp deney başlatıldı.
3. Hazırlanan standartlardan standart kuyularına 100 µl konuldu.
4. Blank kuyularına hiç birşey konulmadı.
5. Örnek kuyularına her bir örnekten 100 µl konuldu.

6. Standart ve örnekler konulduktan sonra 96 kuyulu plaka oda sıcaklığında 150 dakika boyunca hafifçe çalkanacak şekilde bekletildi. (Labnet Gyrotwister çalkalayıcı kullanıldı).
7. 2.5 saatlik inkübasyondan sonra, plaka alındı ve kuyucukların içindeki sıvı boşaltırldı. Her seferinde her bir kuyucuğa 300 µl 1X Yıkama Tamponu konularak, 4 kez yıkama yapıldı. Son yıkamadan sonra iyi bir performans için her adımda sıvının uzaklaştırılması esastır. Son yıkamadan sonra, sıvı boşaltılıp, plaka ters çevrildi, kalan yıkama solusyonunu ve plaka yüzeyindeki lekeleri uzaklaştırmak için temiz kağıt havlu kullanıldı.
8. Her bir kuyucuğa 1X hazırlanan biyotinli antikor (Reaktif Hazırlama adım 6) 100 µl eklendi.
9. Üzeri parafilm ile kaplanıp, oda sıcaklığında (18-25ºC) 1 saat hafifçe çalkalayarak inkübe edildi.
10. Streptavidin-HRP hazırlandı.
11. Parafilm kaldırılıp, plate içindeki sıvı boşaltıldı ve kuyucuklar 7. maddede olduğu gibi 4 defa yıkandı.
12. Tüm kuyulara hazırlanan Streptavidin-HRP solüsyonundan 100 µl konuldu.
13. Üzeri parafilm ile kaplanıp, oda sıcaklığında (18-25ºC) 45 dakika hafif çalkalanarak inkübe edildi.
14. Parafilm kaldırılıp, plate içideki sıvı boşaltıldı ve kuyucuklar 7. maddede olduğu gibi 4 defa yıkandı.
15. Tüm kuyucuklara 100 µl TMB Substrate Solution konuldu.
16. Oda sıcaklığında (18-25ºC) 30 dakika karanlıkta hafifçe çalkalanarak inkübe edildi.
17. Tüm kuyucuklara 50 µl Stop Solution konuldu, ELISA Reader ile (Thermo Multiscan Ex cihazı kullanılarak) kite uygun 450 nm dalga boyunda absorbansı okundu.

### 3.2.2.3. Total RNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol örneklerinden total RNA izolasyonu, RNA izolasyon kiti (Qiagen Rneasy Plus Mini Kit (Qiagen 74134) kullanılarak yapıldı.

- Buffer RPE kullanılmadan önce, hacminin 4 katı etanol (%96-100) ilave edildi.

- Her 1 ml Buffer RLT için 10 µl β-merkaptoetanol eklenerek hazırlandı. Buffer RLT, β-merkaptoetanol ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 1 ay boyunca saklanabilir.

- Santrifüj (Hettich Santrifüj Mikro 22 kullanıldı) önceden +4 ˚C ye getirildi.

1. 1ml EDTA'lı kan örneği üstüne, 5 ml Buffer EL eklendi.
2. Her bir örnek 10-15 dakika buz üzerinde inkübe edildi. İnkübasyon sırasında örnekler 2 kez kısa süreli vortekslenerek karıştırıldı.
3. Örnekler 400 g'de +4 ºC'de 10 dakida santrifüj edildi ve supernatant tamamen atıldı.
4. Pelletin üstüne 2ml EL Buffer eklendi ve kısa bir süre vortekslendi.
5. Örnekler 400 g'de +4 ºC'de 10 dakida santrifüj edildi ve supernatant tamamen atıldı.
6. Pelletlerin üzerine 600 µl RLT Buffer eklenerek ve vortekslendi.
7. Lizat 2 ml toplama tüpü içerisindeki QIAshredder spin kolon içerisine doğrudan pipetlendi ve homojenizasyon için 18.000 RPM'de 2 dakika santrifüj edildi.
8. QIAshredder spin kolon atıldı ve homojenize lizat korundu.
9. Homojenize lizata 1:1 oranında 600 µl %70 etanol eklendi ve 20 sn pipetaj yapıldı. Etanol eklenmesini takiben çökelti oluşması deney prosedürünü etkilemez.
10. Bütün örnek 2ml'lik temiz bir toplama tüpü içindeki QIAmp spin kolona kenarlar ıslatılmadan konuldu. 11.000 RPM'de 15 saniye santrifüj edildi. En fazla konulabilecek örnek miktarı 700 µl'dir. Toplama tüpü sıvı ile birlikte atıldı.
11. QIAmp spin kolon yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne aktarıldı. Yıkama için QIAmp spin kolona 700 µl Buffer RW1 konuldu ve 11.000 RPM'de 15 saniye santrifüj edildi. Toplama tüpü sıvıyla birlikte atıldı.
12. QIAmp spin kolon yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne aktarıldı. Kolona 500 µl Buffer RPE konuldu. 11.000 RPM'de 15 saniye santrifüj edildi. Toplama tüpü sıvı ile birlikte atıldı.

13. Spin kolon dikkatlice açıldı ve 500 µl Buffer RPE konuldu, kapak kapatılarak 15.500 RPM de 3 dakika santrifüj edildi.
14. Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı ve eski toplama tüpü içindeki sıvı ile birlikte atıldı. 14.000 RPM'de 1 dakika santrifüj edildi.
15. Spin kolon 1.5 ml'lik yeni bir tüpe aktarıldı, doğrudan QIAmp membrane üzerine 40 µl RNase-free su konuldu ve 11.000 RPM'de 1 dakika santrifüj edildi.
16. Çözünmüş olan RNA, 1 gece -20$^{o}$C bekletildikten sonra, cDNA sentez edilene kadar -80$^{o}$C'de saklandı.

#### 3.2.2.4. RNA Miktarı ve Saflığının ölçülmesi

RNA izolasyonunun sonuçları 1'er µl RNA örneği NanoDrop$^{TM}$ 1000 (Thermo Fisher Scientific$^{TM}$ Delaware, **USA)** cihazına yüklenerek ölçüldü. RNA konsantrasyonu 260 nm'deki optik yoğunlunluğundan, saflığı da 260 nm / 280 nm'deki OD oranından tespit edildi. RNA konsantrasyonu ve saflığı aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplandı.

RNA konsantrasyonu ( ng / µl)= OD 260 nm x seyreltme faktörü x 40

RNA saflığı = OD 260 / OD 280 = 2

### 3.2.3. Normalizasyon

cDNA sentezi için RNA örneklerinin normalizasyonu

qRT-PCR'da her bir grup için eşit miktarda (20 ng) total RNA kullanılarak cDNA'ların sentezi yapıldı.

### 3.2.4. cDNA Sentezi

cDNA sentezi, Taqman Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit (Life Technologies A28007) cDNA sentez kiti kullanılarak yapıldı. Sentez 4 aşamada gerçekleştirildi:

1. basamak: Poli A kuyruğunun eklenmesi

2. basamak: Ligasyon

3. basamak: Ters transkripsiyon (RT) reaksiyonu

4.basamak: miRNA amplifikasyonu

### 3.2.4.1. Poli A Reaksiyonu

**Tablo 3-1:** Poli A Reaksiyon Karışımı

| **Reaksiyonun bileşenleri** | **Hacim** |
|---|---|
| 10x Poli A tampon | 0.5µl |
| ATP | 0.5µl |
| Poly A polimeraz | 0.3µl |
| $dH_2O$ | 1.7µl |
| Total RNA total hacim | 3µl |

**Tablo 3-2:** Poli A Reaksiyon Sıcaklık Döngüsü

| **Basamak** | **Sıcaklık** | **Süre** |
|---|---|---|
| **Poliadenilasyon** | 37ºC | 45 dak. |
| **Reaksiyon durdurulması** | 65ºC | 10 dak. |
| **Soğutma/saklama** | 4ºC | ∞ |

### 3.2.4.2. Ligasyon Reaksiyonu

**Tablo 3-3:** Ligasyon Reaksiyon Karışımı

| **Reaksiyonun bileşenleri** | **Hacim** |
|---|---|
| 5x DNA Ligaz tampon | 3µl |
| %50 PEG 8000 | 4.5µl |
| 25x Ligasyon adaptörü | 0.6µl |
| RNA ligaz | 1.5µl |
| $dH_2O$ | 0.4µl |

10µl ligasyon reaksiyonu karışımı + 5µl poli A reaksiyon ürünü

**Tablo 3-4:** Ligasyon Reaksiyon Sıcaklık Döngüsü

| **Basamak** | **Sıcaklık** | **Süre** |
|---|---|---|
| **Ligasyon** | 16ºC | 60 dak. |
| **Soğutma/saklama** | 4ºC | ∞ |

### 3.2.4.3. Terstranskripsiyon (RT) Reaksiyonu

**Tablo 3-5:** Terstranskripsiyon (RT) Reaksiyon Karışımı

| **Reaksiyonun bileşenleri** | **Hacim** |
|---|---|
| 5x RT tampon | 6µl |
| dNTP | 1.2µl |
| 20x Uni RT primer | 1.5µl |
| 10x RT enzimi | 3µl |
| $dH_2O$ | 3.3µl |

15µl RT reaksiyon karışımı + 15µl ligasyon reaksiyon ürünü

**Tablo 3-6:** Terstranskripsiyon (RT) Reaksiyon Sıcaklık Döngüsü

| **Basamak** | **Sıcaklık** | **Süre** |
|---|---|---|
| **Ters transkripsiyon (RT)** | 42ºC | 15 dak. |
| **Reaksiyon durdurulması** | 85ºC | 5 dak. |
| **Soğutma/saklama** | 4ºC | ∞ |

### 3.2.4.4. miR-Amp Reaksiyonu

**Tablo 3-7:** miR-Amp Reaksiyon Karışımı

| **Reaksiyonun bileşenleri** | **Hacim** |
|---|---|
| 2x miR-Amp Master karışımı | 25µl |
| 20x miR-Amp primer karışımı | 2.5µl |
| $dH_2O$ | 12.5µl |

40µl miR-Amp reaksiyon karışımı + 10µl RT reaksiyon ürünü

**Tablo 3-8:** miR-Amp Reaksiyon Sıcaklık Döngüsü

| **Basamak** | **Sıcaklık** | **Süre** | **Döngü sayısı** |
|---|---|---|---|
| **Enzim aktivasyonu** | 95ºC | 5 dak. | 1 |
| **Denaturasyon** | 95ºC | 3 sn. | 14 |
| **Bağlanma/Uzama** | 60ºC | 30 sn. | |
| **Reaksiyon durdurulması** | 99ºC | 10 dak. | 1 |
| **Soğutma/saklama** | 4ºC | ∞ | 1 |

### 3.2.5. cDNA'ların Sulandırılması

Alikotlanmış cDNA'lar qRT-PCR öncesi 10 katı kadar dd$H_2O$ ile sulandırıldı.

miRNA seviyeleri kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile saptandı.

### 3.2.6. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR)

cDNA sentezi yapıldıktan sonra qRT-PCR yöntemi ile hedef genlere ait miRNA miktarlarındaki değişimler saptandı. Yöntem, Roche LIGHTCYCLER 480 (Roche Applied Biosystems$^{TM}$, California, USA) cihazında, TaqMan Probları ve Lightcycler 480 Probe Master Mix kiti (Roche 04707494001, Roche Applied Biosystems$^{TM}$, California, USA) (Tablo 3-12) kullanılarak gerçekleştirildi. Her reaksiyonda kontaminasyon olasılığını kontrol etmek üzere kalıp cDNA içermeyen negatif kontrol kullanıldı. Reaksiyon 96 kuyulu plakalarda gerçekleştirildi. Her bir cDNA örneği için deneyler 2 kez tekrarlandı.

#### 3.2.6.1. Normalizasyon

miRNA ekspresyon analizlerine ait literatür taramasında referans gen seçimi konusundaki tartışmalar gittikçe artmaktadır. Araştırmacılar özellikle referans mRNA veya ribozomal RNA seçiminin uygun olmadığı, tercihen bir eksternal kontrolün veya çalışma sırasında dokuya ve uygulamalara spesifik ve uygulamalardan etkilenmeyen bir miRNA'nın kullanılmasının daha uygun olcağı konusunda görüş bildirmektedir. qRT-PCR'lara ait yeterli ham veri bir araya getirilip istatistiksel olarak analiz edildikten sonra eksternal bir referans genin iyi bir referans gen olup olmadığı saptacaktır.

#### 3.2.6.2. Kullanılan qRT- PCR Primer ve Taqman Probları

Taqman Advanced MicroRNA Assay hsa-miR16-5p, mir26a-5p, mir24-3p, kullanıldı. Hasta ve kontrol gruplarında çalışmayı planladığımız mir10a-5p ve hsa4296 miRNA'larına ait deneylerin ekspresyonları gözlenmedi. Dolayısıyla bu 2 miRNA verilerine hasta ve kontrol gruplarımızda ulaşamadık.

### 3.2.6.3. qRT- PCR Reaksiyon Karışımının Hazırlanması

20 µl'lik standart reaksiyonu hazırlamak üzere aşağıdaki işlemler takip edildi.

**Tablo 3-9:** qRT- PCR Reaksiyon Karışımı

| Reaksiyonun bileşenleri | Hacim |
|---|---|
| **Taqman Master Mix** | 10 µl |
| **Primer karışımı** | 1 µl |
| **PCR $dH_2O$** | 4 µl |
| **cDNA** | 5 µl |
| **Toplam Hacim** | 20 µl |

### 3.2.6.4. qRT-PCR Sıcaklık Döngüsü

LightCycler 480 cihazında gerçekleştirilen qRT-PCR'ın sıcaklık döngüsü aşağıdaki tabloda verildiği gibi uygulandı (Tablo 3-10).

**Tablo 3-10:** qRT-PCR Sıcaklık Döngüsü

| Program İsmi | Döngü sayısı | Analiz tipi |
|---|---|---|
| **Pre-İnkübasyon*** | 1 | - |
| **Pre-İnkübasyon*** | 1 | - |
| **Amplifikasyon**** | 40 | Kantitatif değerlendirme |
| **Soğutma***** | 1 | - |

| Sıcaklıklar (ºC) | İnkübasyon | Sıcaklık değişim oranı (ºC/sn) |
|---|---|---|
| **Pre-İnkübasyon** | | |
| **50 ºC** | 2 dk | 4.4 |
| **Pre-İnkübasyon** | | |
| **95 ºC** | 20 sn | 4.4 |
| **Amplifikasyon** | | |
| **95 ºC** | 3 sn | 4.4 |
| **60 ºC** | 30 sn | 2.2 |
| **Soğutma** | | |
| **40 ºC** | **10 sn** | **1.5** |

*Pre-İnkübasyon: Enzimi aktif hale getirir ve DNA'yı denatüre eder **Amplifikasyon: Hedef DNA'yı çoğaltır ***Soğutma: Termal bloğu soğutur.

### 3.3. Çalışmada Kullanılması Öngörülen İstatistiksel Yöntemler

Örneklerin qRT-PCR deneylerinden elde edilen Ct değerleri göreceli ekspresyon seviyelerini belirlemek üzere

$$\Delta Ct = 2^{(\text{Referans Genlerin geometrik ortalaması - Ct hedef Gen})}$$

formülüne konuldu. Hesaplamalar ve sonuçlara ait grafikler Microsoft Office Excel 2007 programında yapıldı.

Her deney grubuna ait ham veriler SPSS22 Software yazılımda veriler normal dağıldığında Independent Sample t-test (bağımsız örneklem t-testi) veriler normal dağılmadığında ise Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı. $p<0,05$ istatistiksel açıdan anlamlı fark olarak kabul edildi. Korelasyon istatistik analizi için normal dağılım gösteren gruplarda pearson korelasyon katsayısı, normal dağılım olmayanlarada spearman ro korelasyon katsayısı kullanıldı.Yazı içerisindeki ve şekillerde sunulan tüm datalar Ortalama (Standart Sapma-S.D) olarak verilmiştir.

# 4. BULGULAR

## 4.1. Alzheimer Tipi Demans ve Kontrol Gruplarına İlişkin Demografik Veriler

Çalışma Alzheimer Tipi Demans teşhisi olan, MR ve MMSE testleri bulunan hasta grubu (n:43) ve sağlıklı gönüllülerden oluşan kontrol grubu (n:45) ile gerçekleştirildi. Yaş, MMSE, MR Fazekas parametrelerinin farklılıklarının karşılaştırılmasında independent sample t-test (bağımsız örneklem t-testi) kullanıldı, cinsiyet ve ASA durumlarının hasta ve kontrol gruplarına göre karşılaştırılmalarında ise Fisher's Exact Test kullanılmıştır. Hasta ve kontrol gruplarına ait demografik veriler Ortalama (Standart Sapma) (S.D) olarak Tablo 4-1'de verildi.

**Tablo 4-1: Hasta ve Kontrol Gruplarına İlişkin Demografik Bilgiler**

| | **Kontrol (n=45)** | **Hasta (n=43)** | **p** |
|---|---|---|---|
| Yaş | | | |
| Ortalama(S.D) | 68.53(8.86) | 73.65(10.36) | 0.015* |
| Aralık | 53 - 93 | 54 - 90 | |
| Cinsiyet | | | |
| Kadın | 21(%46.7) | 25(%58.1) | 0.29 |
| Erkek | 24(%53.5) | 18(%41.9) | |
| MMSE | | | |
| Ortalama(S.D) | 28.76(1.72) | 15.62(6.28) | 0.00*** |
| Aralık | 22 - 30 | 4-30 | |
| MR Fazekas | | | |
| Fazekas 0-1 | 45(%100) | 23(%53.5) | 0.00*** |
| Fazekas 2-3 | _ | 20(%46.5) | |
| ASA Durumu | | | |
| Var | 10(%22.2) | 20(%46.5) | 0.024* |
| Yok | 35(%77.8) | 23(%53.5) | |

Hasta ve kontrol grubu arasındaki anlamlı değişiklikler *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 olarak ifade edilmiştir.

Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve Mini Mental State Exam (MMSE), MR Fazekas parametreleri bakımından anlamlı farklılık saptandı, asetil salisilik asit (ASA) kullanma durumu ile denek grupları arasında anlamlı ilişki tespit edildi.

## 4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Biyokimyasal ve Moleküler Parametrelerin Karşılaştırılması

Hasta ve kontrol gruplarına ait trombosit fonksiyon belirteçlerinden biri olan trombosit agregasyonu (eğim Ω) ve trombosit agregasyonu amplitüd (% genlik) değerleri, GP1b ve vWF biyokimyasal parametreleri, hsa-miR26a-5p ve hsa-miR24-3p moleküler ekspresyon düzeyleri Ortalama (Standart Sapma) (S.D) olarak Tablo 4-2'de verildi. Tüm karşılaştırmalar için independent sample t-test (bağımsız örneklem t-testi) kullanılmıştır.

**Tablo 4-2: Hasta ve Kontrol Gruplarına İlişkin Biyokimyasal ve Moleküler Belirteçler**

| | **Kontrol (n=45)** Ortalama(S.D) | **Hasta (n=43)** Ortalama(S.D) | **p** |
|---|---|---|---|
| **Trombosit Agregasyonu Eğim (Ω)** | 38.68(9.79) | 32.60(12.96) | 0.016* |
| **Trombosit Agregasyonu Amplitüd (%)** | 51.21(14.73) | 49.53(17.03) | 0.62 |
| **Gp1b (ng/ml)** | 31.55(5.61) | 34.73(6.65) | 0.018* |
| **vWF (ng/ml)** | 22098.16(9506.27) | 22239.23(8970.68) | 0.943 |
| **hsa-miR24-3p** | 4.12(3.02) | 3.06(2.86) | 0.097 |
| **hsa-miR26a-5p** | 1.49(0.87) | 0.94(0.51) | 0.001*** |

Hasta ve kontrol grubu arasındaki anlamlı değişiklikler *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 olarak ifade edilmiştir.

Kontrol ve hasta grupları arasında trombosit agregasyonu eğim (Ω), GP1b ve hsa-mir26a-5p parametreleri bakımından anlamlı farklılık tespit edildi.

Trombosit agregasyon eğimi kontrol grubuna göre hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu (p=0.016). GP1b düzeyleri kontrole göre hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0.018). hsa-mir26a-5p göreceli ekspresyon seviyesi kontrol grubuna kıyasla hasta grubunda istattistiksel olarak anlamlı derecede düşük tespit edildi (p=0.001). Diğer parametreler incelendiğinde istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmadı (Tablo4-2).

### 4.3. MR Fazekas 0-1 Olan Hasta ve Kontrol Gruplarına İlişkin Parametrelerin Karşılaştırılması

MR görüntüleme tekniği ile elde edilen sonuçların değerlendirilmesine göre Fazekas 0-1 olan hasta ve kontrol gruplarında tüm parametreler Ortalama (S.D) olarak Tablo 4-3'de verildi. Tüm karşılaştırmalar için independent sample t-test (bağımsız örneklem t-testi) kullanılmıştır.

**Tablo 4-3: MR Fazekas 0-1 Olan Hasta ve Kontrol Gruplarına İlişkin Parametrelerin Karşılaştırılması**

| | **Kontrol (n=45)** Ortalama(S.D) | **Hasta (n=23)** Ortalama(S.D) | p |
|---|---|---|---|
| **Fazekas 0-1** | | | |
| **Yaş** | 68.53(8.86) | 71.78(10.95) | 0.192 |
| **MMSE** | 28.76(1.72) | 15.73(5.74) | 0.00*** |
| **Trombosit Agregasyonu Eğim (Ω)** | 38.61(9.79) | 33.27(15.75) | 0.147 |
| **Trombosit Agregasyonu Amplitüd (%)** | 51.20 (14.73) | 50.12(18.49) | 0.793 |
| **Gp1b (ng/ml)** | 31.55(5.61) | 34.09(6.05) | 0.091 |
| **vWF (ng/ml)** | 22098.15(9506.27) | 22217.65(10780.88) | 0.963 |
| **hsa-miR24-3p** | 4.12(3.02) | 2.62(1.71) | 0.031* |
| **hsa-miR26a-5p** | 1.49 (0.87) | 0.92(0.59) | 0.006** |

Hasta ve kontrol grubu arasındaki anlamlı değişiklikler *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 olarak ifade edilmiştir.

Fazekas 0-1 olan hasta ve kontrol grubu deneklerde sırasıyla MMSE, hsa-mir24-3p ve hsa-mir26a-5p parametreleri bakımından anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Bu parametrelerin tümü sırasıyla hasta grubunda kontrole göre düşük bulunmuştur (p=.0.00, p=0.031, p=0.006). Tablo (4-3).

### 4.4. MR Fazekas 0-1 Durumuna Göre ASA Kullanan ve Kullanmayan Hastaların Parametrelerinin Karşılaştırılması

MR görüntüleme tekniği ile elde edilen sonuçların değerlendirilmesine göre Fazekas 0-1 olan hasta grubu ASA kullananlar ve kullanmayanlar olarak ayrılıp karşılaştırıldı ve tüm parametreler Ortalama (S.D) olarak Tablo 4-4'de verildi. Tüm karşılaştırmalar için independent sample t-test (bağımsız örneklem t-testi) kullanılmıştır.

**Tablo 4-4: MR Fazekas 0-1 Durumuna Göre ASA Kullanan ve Kullanmayan Hastaların Parametrelerinin Karşılaştırılması**

| | **ASA Yok (n=13)** Ortalama(S.D) | **ASA Var (n=10)** Ortalama(S.D) | p |
|---|---|---|---|
| **Fazekas 0-1** | | | |
| **Yaş** | 71.69(11.98) | 71.90(10.07) | 0.965 |
| **MMSE** | 16.07(5.83) | 15.22(5.91) | 0.74 |
| **Trombosit Agregasyonu Eğim (Ω)** | 43.70(9.86) | 19.65(10.58) | 0.00*** |
| **Trombosit Agregasyonu Amplitüd (%)** | 63.17(8.41) | 33.15(13.23) | 0.00*** |
| **Gp1b (ng/ml)** | 33.81(6.92) | 34.46(5.03) | 0.804 |
| **vWF (ng/ml)** | 19474.15(6283.93) | 25784.20(14368.55) | 0.22 |
| **hsamiR24-3p** | 3.14(1.91) | 1.94(1.18) | 0.094 |
| **hsamiR26a-5p** | 1.15(0.65) | 0.61(0.32) | 0.026* |

Hasta ve kontrol grubu arasındaki anlamlı değişiklikler *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 olarak ifade edilmiştir.

MR Fazekas 0-1 olan hastaların ASA kullanma durumlarına göre Trombosit Agregasyonu Eğim (Ω), Trombosit Agregasyonu Amplitüd (%) ve hsa-mir26a-5p parametreleri bakımından anlamlı farklılık saptanmıştır. MR Fazekas 0-1 olan ve ASA kullanan hastaların Trombosit Agregasyonu Eğim (Ω) ve % amplitüd değerleri, ASA kullanmayan hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu (p=0.00). Benzer şekilde ASA kullanan hasta grubuna ait hsa-mir26a-5p ekspresyon düzeyleri ASA kullanmayan hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı dercede düşük bulunmuştur (0.026). (Tablo 4-4).

### 4.5. MR Fazekas 2-3 Durumuna Göre ASA Kullanan ve Kullanmayan Hastaların Parametrelerinin Karşılaştırılması

MR görüntüleme tekniği ile elde edilen sonuçların değerlendirilmesine göre Fazekas 2-3 olan hasta grubu ASA kullananlar ve kullanmayanlar olarak ayrılıp karşılaştırıldı ve tüm parametreler Ortalama (Standart Sapma) (S.D) olarak Tablo 4-5'de verildi. Tüm karşılaştırmalar için independent sample t-test (bağımsız örneklem t-testi) kullanılmıştır.

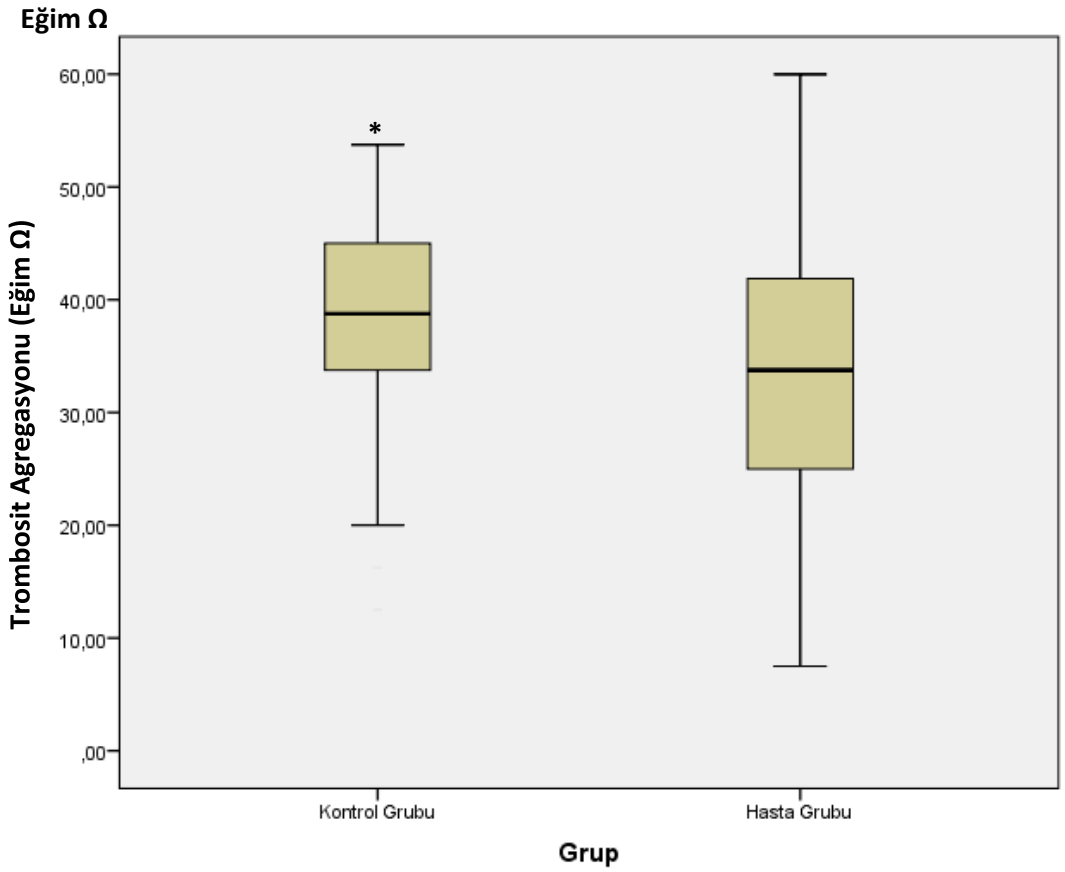
**Tablo 4-5: MR Fazekas 2-3 Durumuna Göre ASA Kullanan ve Kullanmayan Hastaların Parametrelerinin Karşılaştırılması**

| | **ASA Yok (n=10)** Ortalama(S.D) | **ASA Var (n=10)** Ortalama(S.D) | p |
|---|---|---|---|
| **Fazekas 2-3** | | | |
| **Yaş** | 74.00(11.49) | 77.60(7.04) | 0.409 |
| **MMSE** | 17.30(5.83) | 13.70(7.83) | 0.259 |
| **Trombosit Agregasyonu Eğim (Ω)** | 37.76(7.49) | 25.87(6.48) | 0.001*** |
| **Trombosit Agregasyonu Amplitüd (%)** | 59.27(9.73) | 38.37(13.40) | 0.001*** |
| **Gp1b (ng/ml)** | 35.29 (9.64) | 35.65(4.64) | 0.916 |
| **vWF (ng/ml)** | 24738.10(7064.08) | 19790.00(5284.36) | 0.093 |
| **hsa-miR24-3p** | 4.56(5.19) | 2.57(0.92) | 0.247 |
| **hsa-miR26a-5p** | 0.99(0.35) | 0.92(0.49) | 0.675 |

Hasta ve kontrol grubu arasındaki anlamlı değişiklikler *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 olarak ifade edilmiştir.

MR Fazekas 2-3 olan hastaların ASA kullanma durumlarına göre Trombosit Agregasyonu Eğim (Ω) ve Trombosit Agregasyonu Amplitüd (%) değerleri bakımından anlamlı farklılık saptanmıştır. ASA kullanan hasta grubunda, ASA kullanmayanlara göre hem eğim (Ω) hem de amplitüd % değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0.001). (Tablo 4-5).

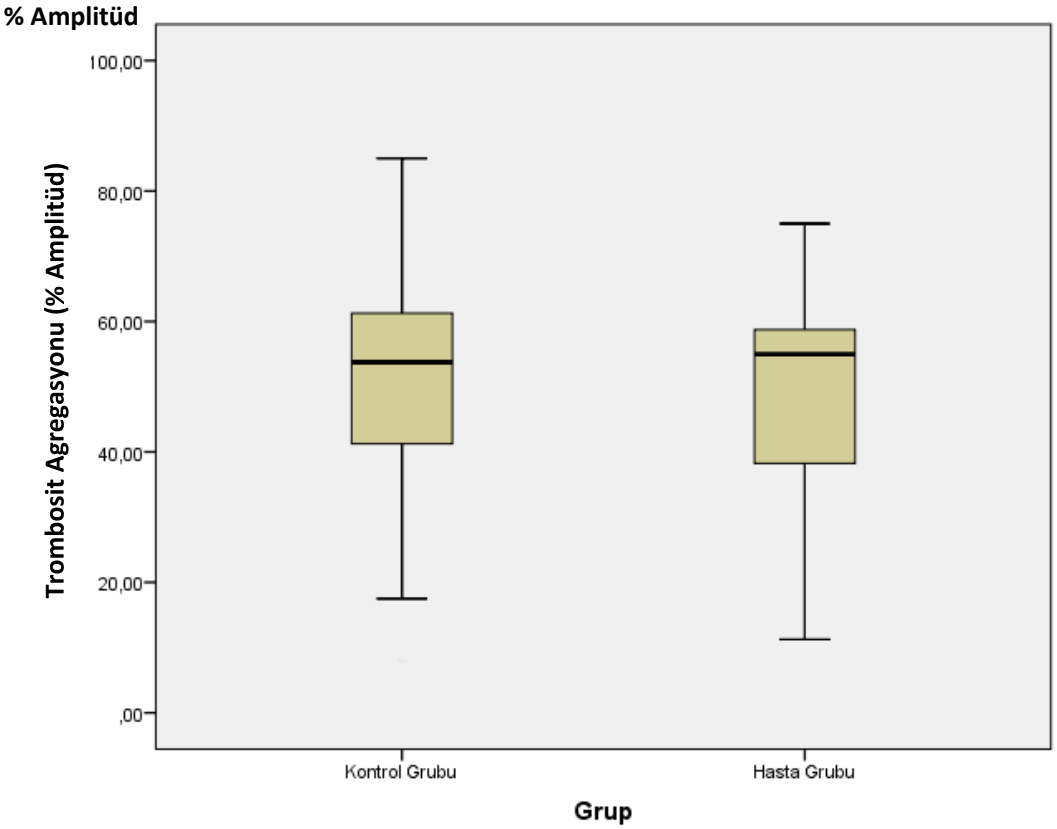
## 4.6. Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Parametrelerin Grafikleri




**Şekil 4-1:** Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Değerleri

*Kontrol grubu hasta grubuna göre anlamlı dercede yüksektir (p=0.016).

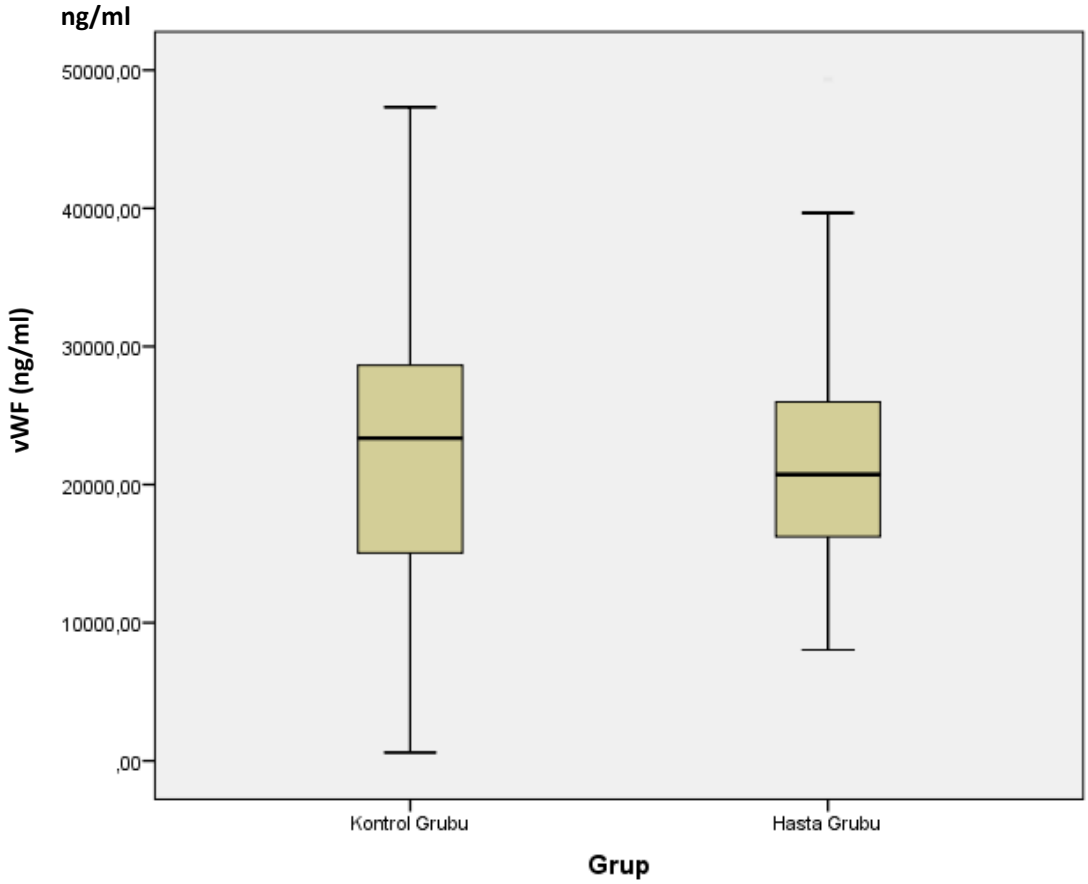
Hasta ve kontrol grubu arasında yapılan karşılaştırmada, Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) parametresi bakımından anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0.016). Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) değerleri hasta gubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır (p=0.016). Şekil 4-1, Tablo 4-2.




**Şekil 4-2:** Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Trombosit Agregasyonu (% Amplitüd) Değerleri

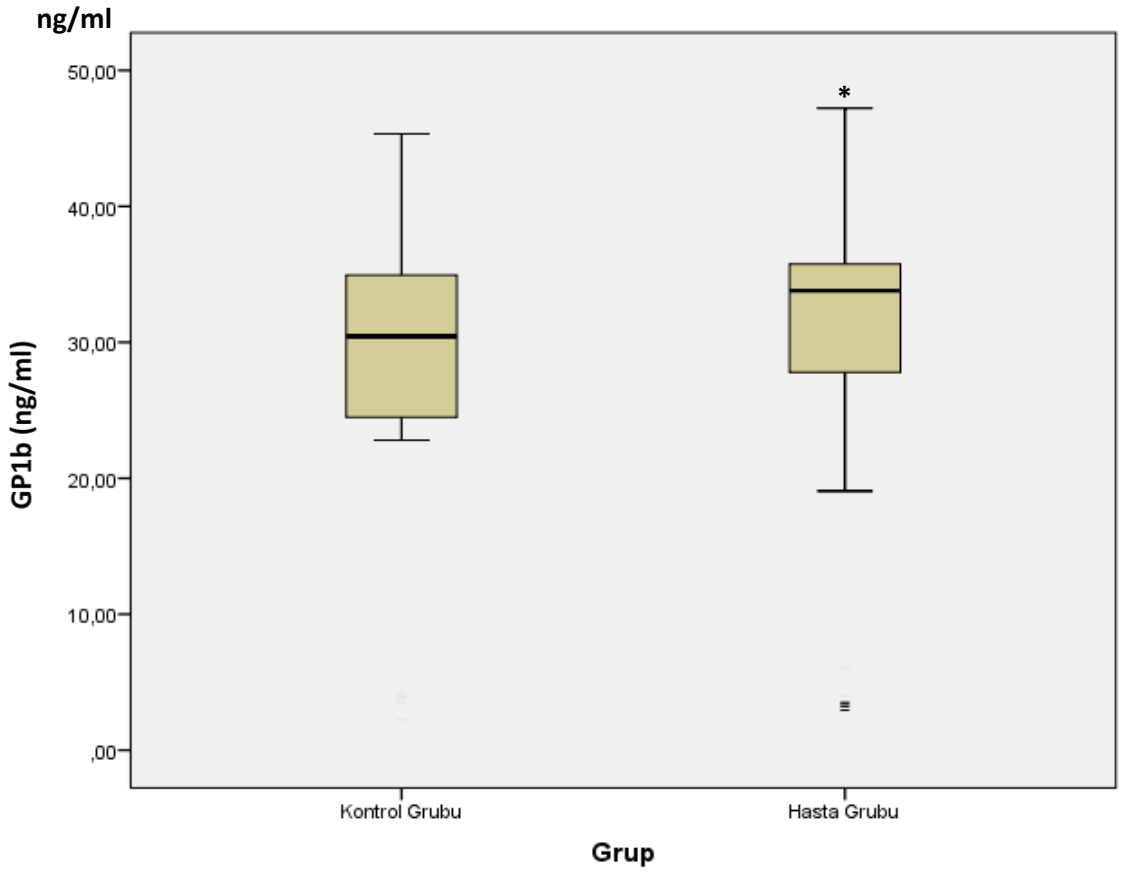
İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.62).

Kontrol ve hasta gruplarına ilişkin Trombosit Agregasyonu (% Amplitüd) değerleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0.62). Şekil 4-2 ve Tablo 4-2.




**Şekil 4-3:** Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Plazma vWF (ng/ml) Düzeyleri
İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.943).

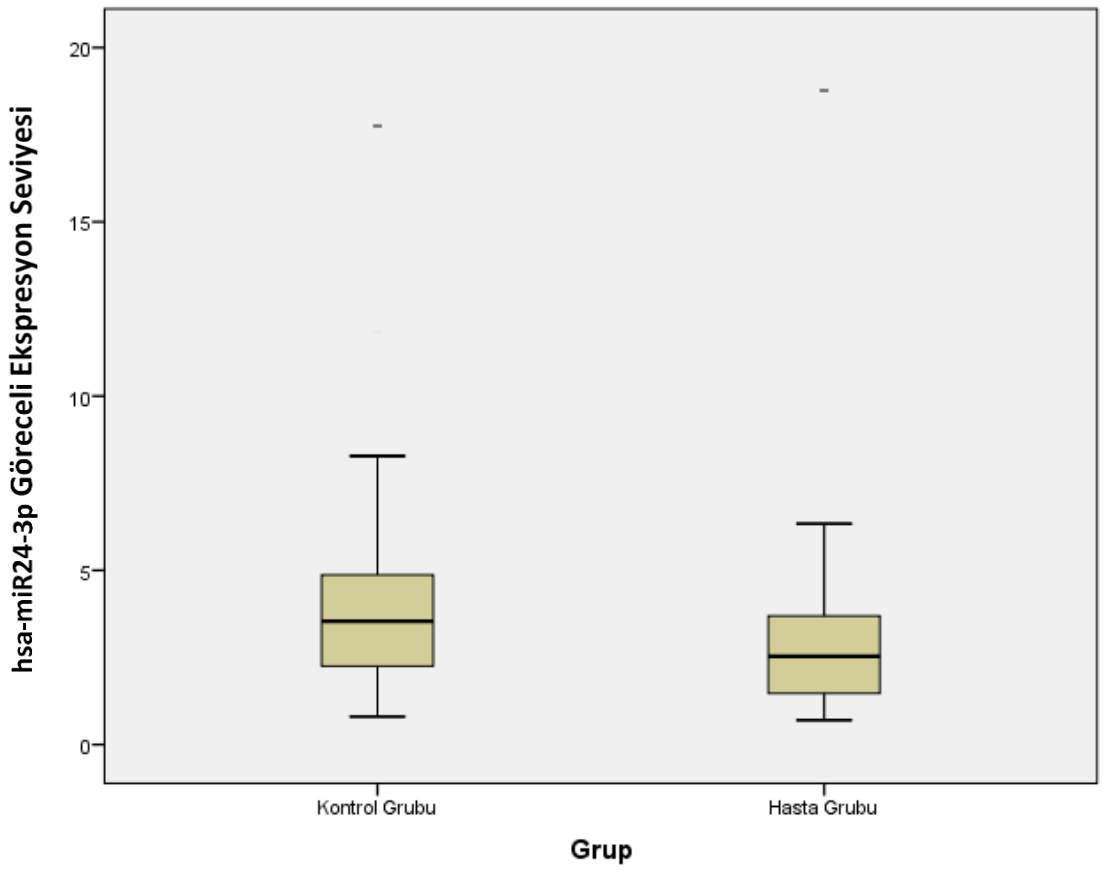
Kontrol ve hasta gruplarına ilişkin plazma vWF (ng/ml) düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0.943). Değerler Tablo 4-2'de gösterilmiştir.




**Şekil 4-4:** Hasta ve Kontrol Gruplarına ait Plazma GP1b (ng/ml) Düzeyleri

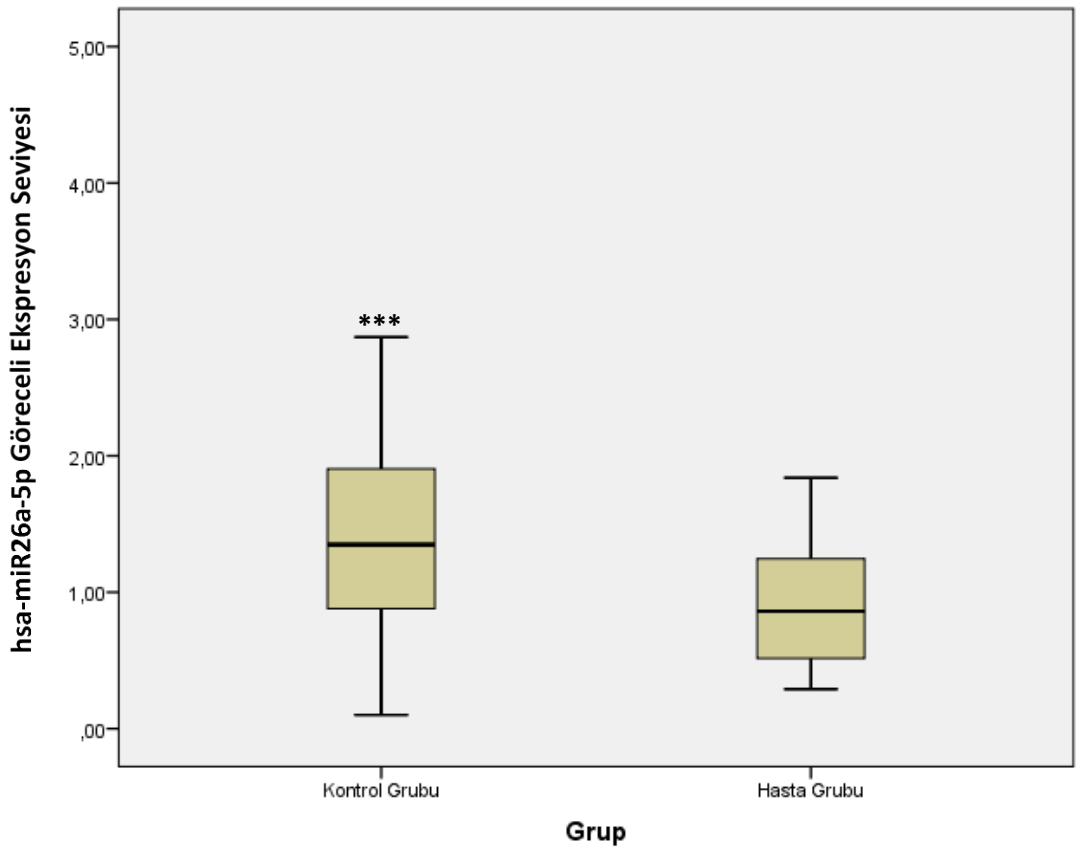
*Hasta grubu kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.018).

Hasta ve kontrol grupları arasında plazma GP1b (ng/ml) düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0.018). Sonuçlar hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.018). Değerler Tablo 4-2'de gösterilmiştir.




**Şekil 4-5:** Hasta ve Kontrol Gruplarına ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri İstatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0.097).

Kontrol ve hasta gruplarına ilişkin hsa-miR24-3p göreceli ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0.097). Değerler Tablo 4-2'de sunulmuştur.

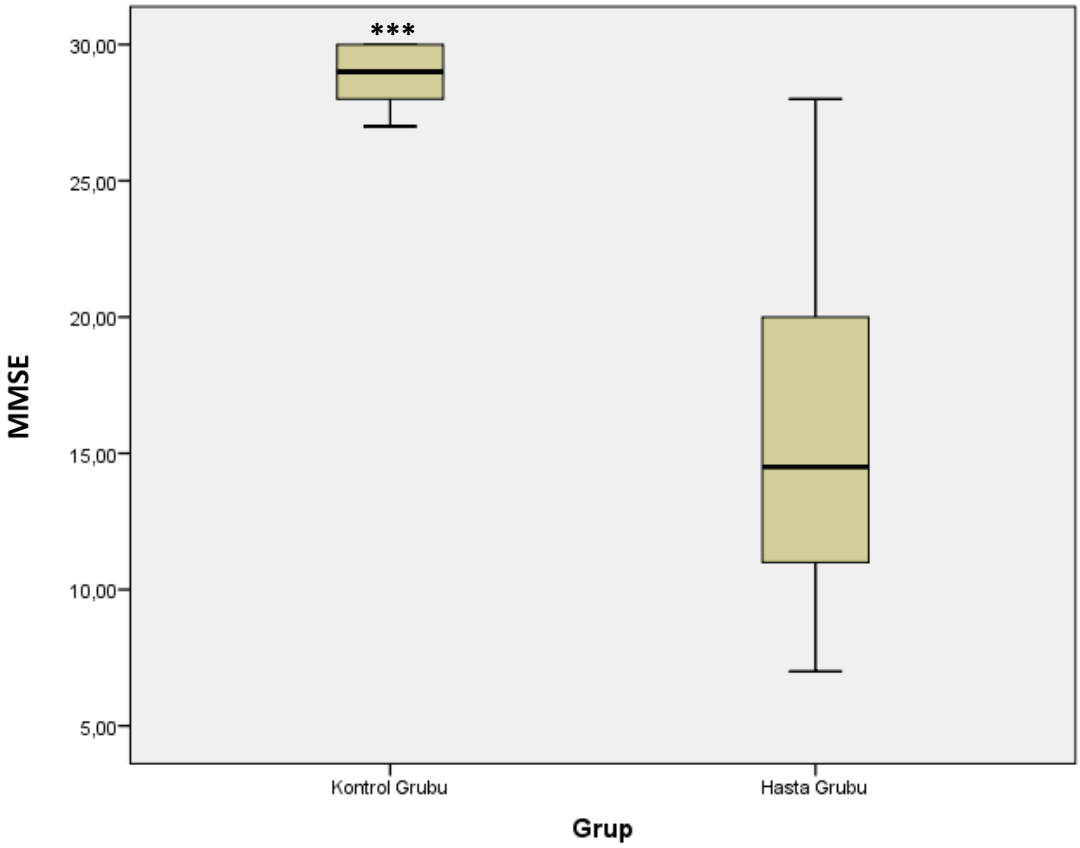



**Şekil 4-6:** Hasta ve Kontrol Gruplarına ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri

***Kontrol grubu hasta grubuna göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.001).

Hasta ve kontrol grupları arasında hsa-miR26a-5p düzeyleri bakımından anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0.001). Sonuçlar hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır (p=0.001). hsa-miR26a-5p göreceli ekpresyon düzeyleri Tablo 4-2'de verilmiştir.

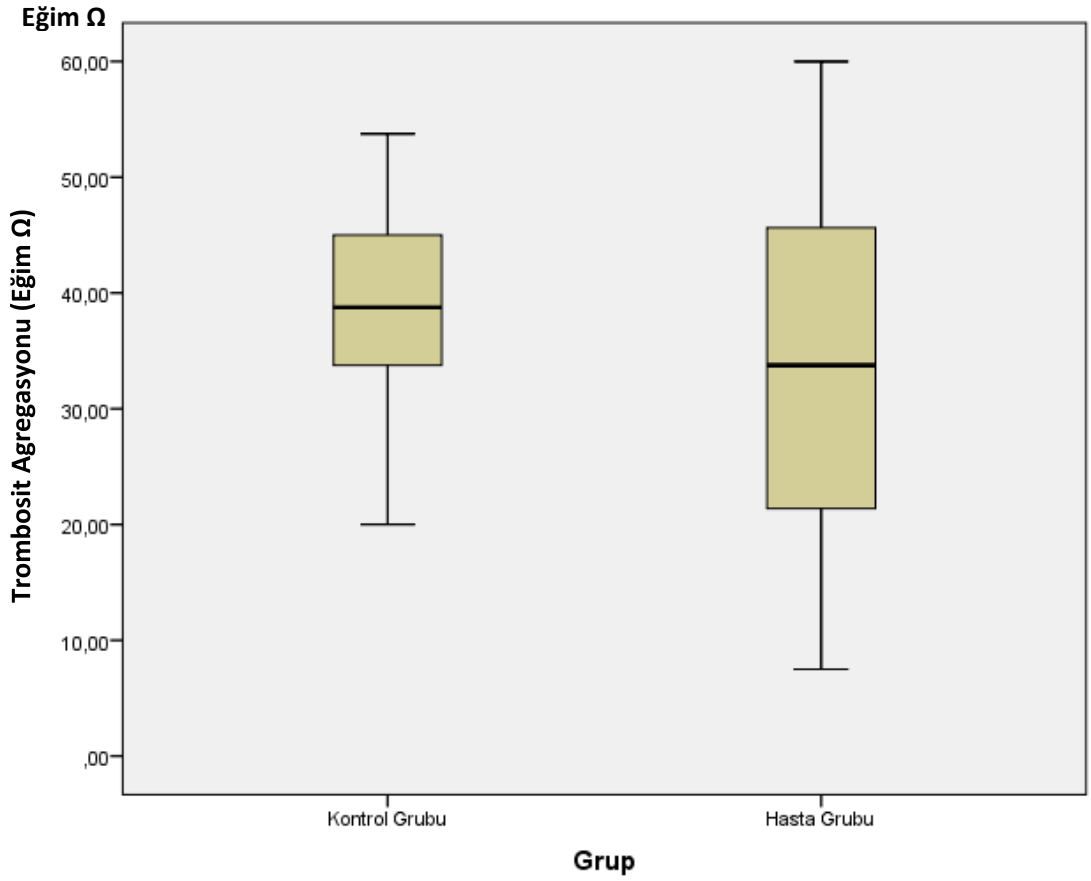
### 4.7. Fazekas 0-1 Olan Kontrol ve Hasta Grubuna İlişkin Grafikler




**Şekil 4-7:** MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Grubuna ait MMSE Skorları

***Kontrol grubu hasta grubuna göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.000).

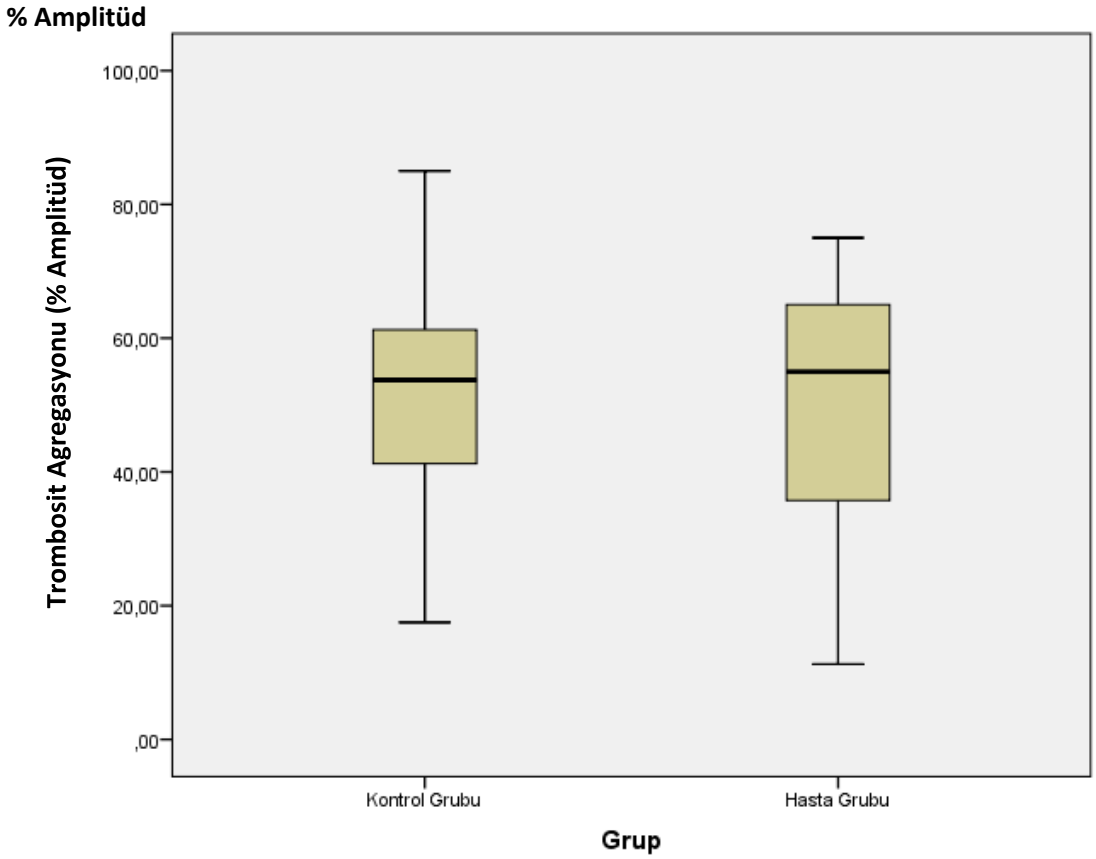
MR Fazekas 0-1 olan kontrol ve hasta gruplarına ilişkin MMSE skorları incelendiğinde kontrol grubu MMSE skorları, hasta grubuna göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.000). Skorlar Tablo 4-3'te verilmiştir.




**Şekil 4-8:** MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Grubuna ait Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Değerleri

İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.147).

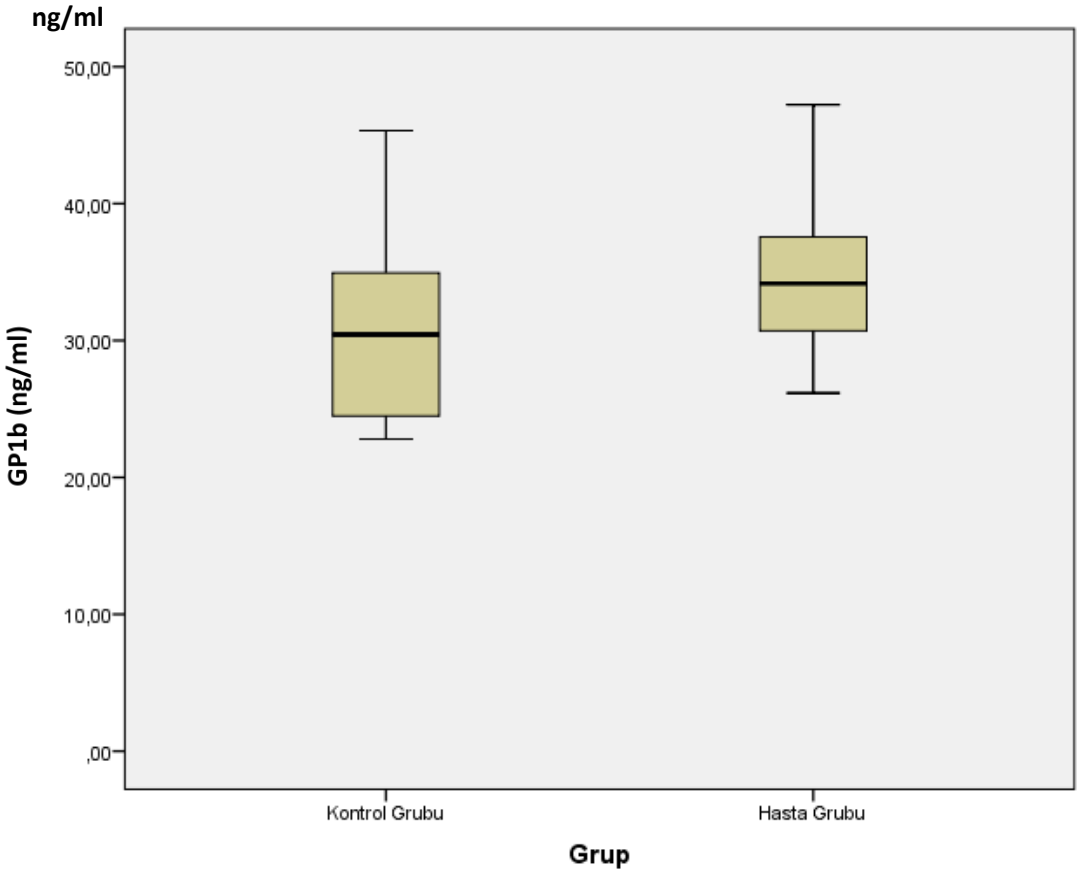
Fazekas 0-1 olan kontrol ve hasta gruplarına ilişkin Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0.147). Eğim değerler Tablo 4-3'te verilmiştir.




**Şekil 4-9:** MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Grubuna ait Trombosit Agregasyonu % Amplitüd Değerleri

İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.793).

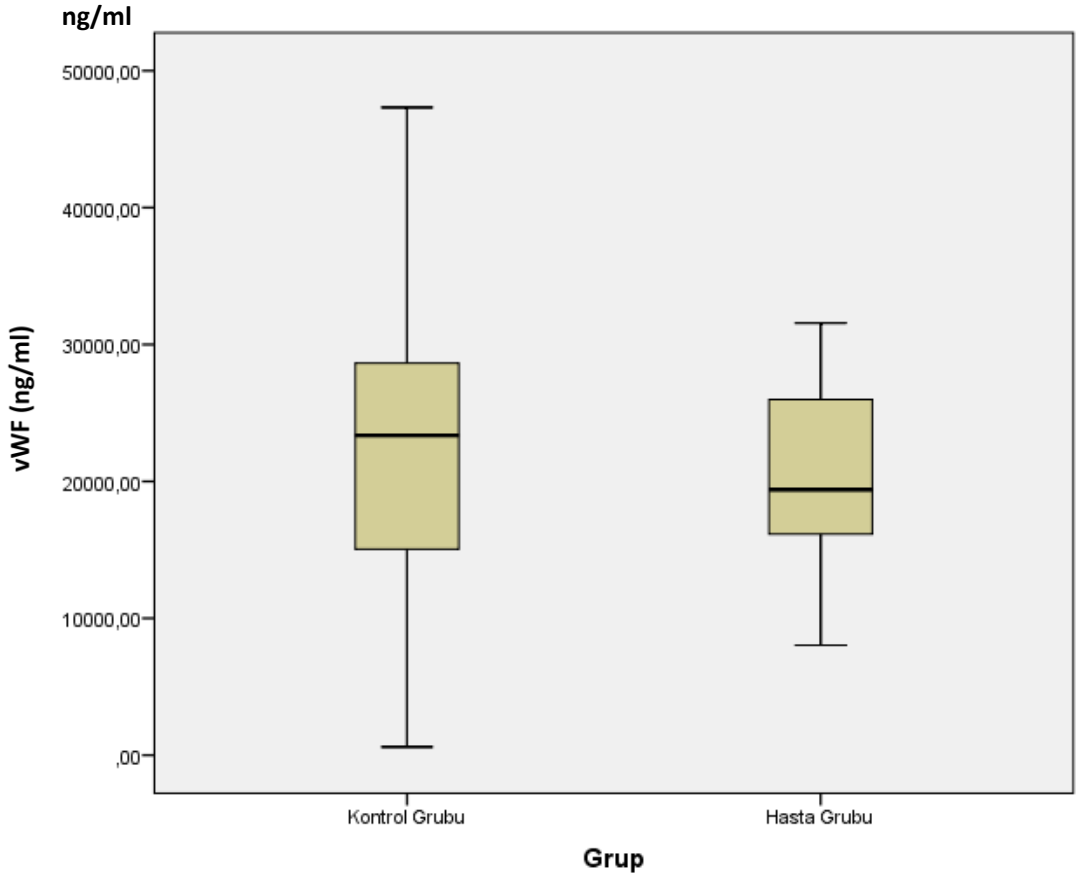
Fazekas 0-1 olan kontrol ve hasta gruplarına ilişkin Trombosit Agregasyonu % Amplitüd değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0.793). % Amplitüd değerleri Tablo 4-3'te verilmiştir.




**Şekil 4-10:** MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Grubuna ait Plazma GP1b (ng/ml) Düzeyleri

İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.091).

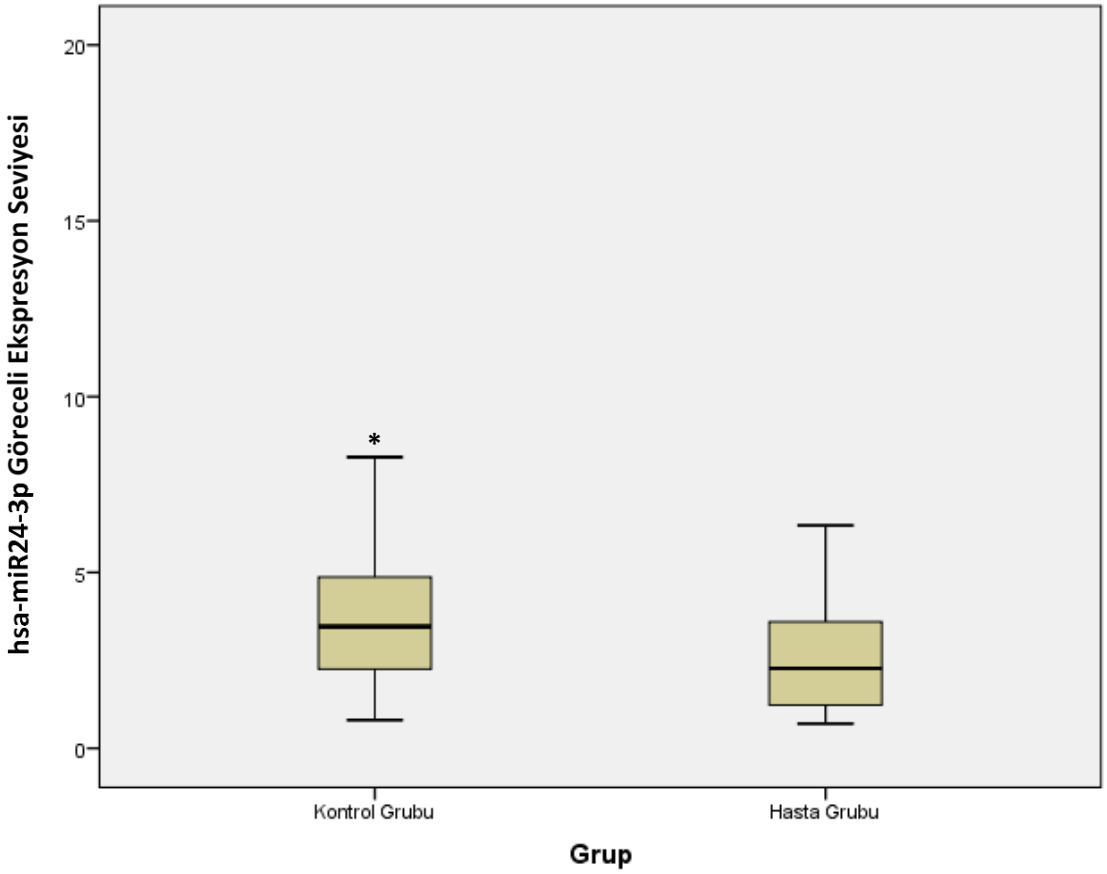
Fazekas 0-1 olan kontrol ve hasta gruplarına ilişkin plazma GP1b (ng/ml) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0.091). Plazma GP1b (ng/ml) düzeyleri Tablo 4-3'te verilmiştir.




**Şekil 4-11:** MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Grubuna ait Plazma vWF (ng/ml) Düzeyleri

İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.963).

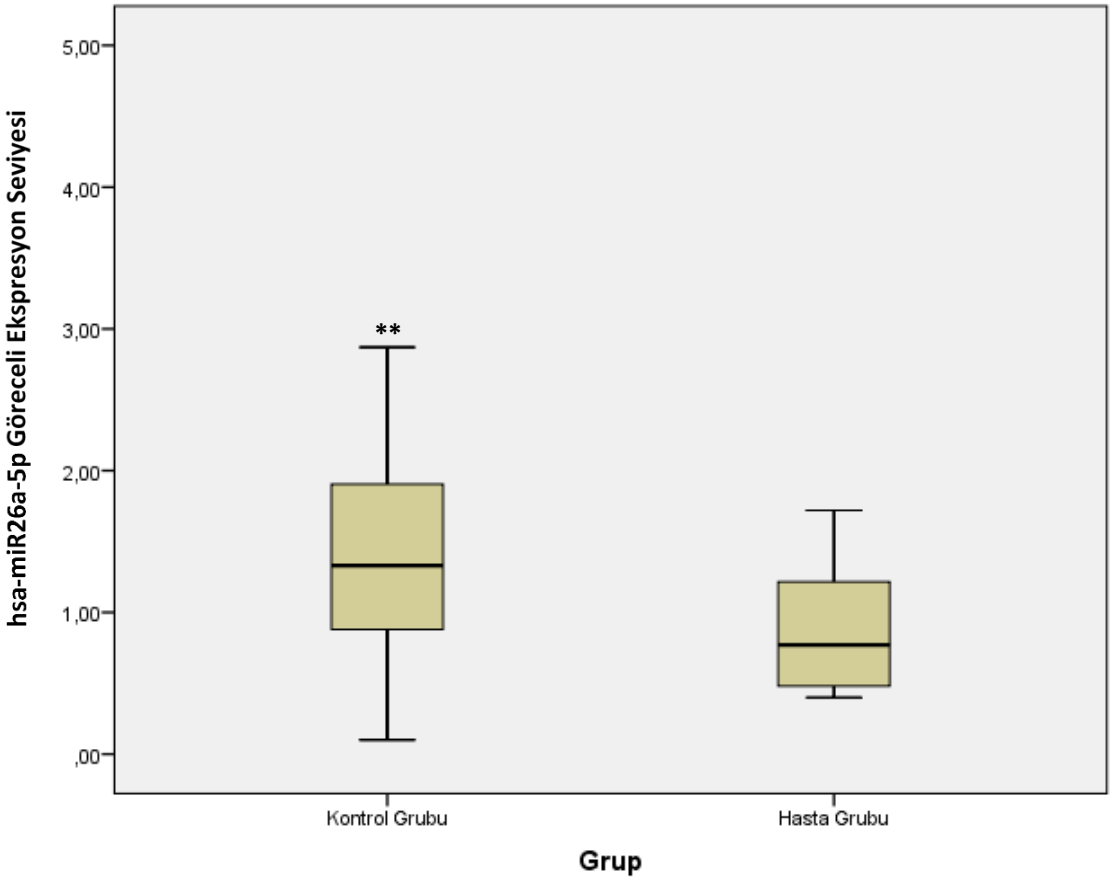
Fazekas 0-1 olan kontrol ve hasta gruplarına ilişkin plazma vWF (ng/ml) parametreleri arasında anlamlı istatistiksel bir farklılık saptanmamıştır (p=0.963). Plazma vWF (ng/ml) düzeyleri Tablo 4-3'te verilmiştir.




**Şekil 4-12:** MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Gruplarına ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri

*Kontrol grubu hasta grubuna göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.031).

MR Fazekas 0-1 olan kontrol ve hasta gruplarına ilişkin hsa-miR24-3p göreceli ekspresyon düzeyleri incelendiğinde hasta grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır (p=0.031). hsa-miR24-3p göreceli ekspresyon düzeyleri Tablo 4-3'te verilmiştir.

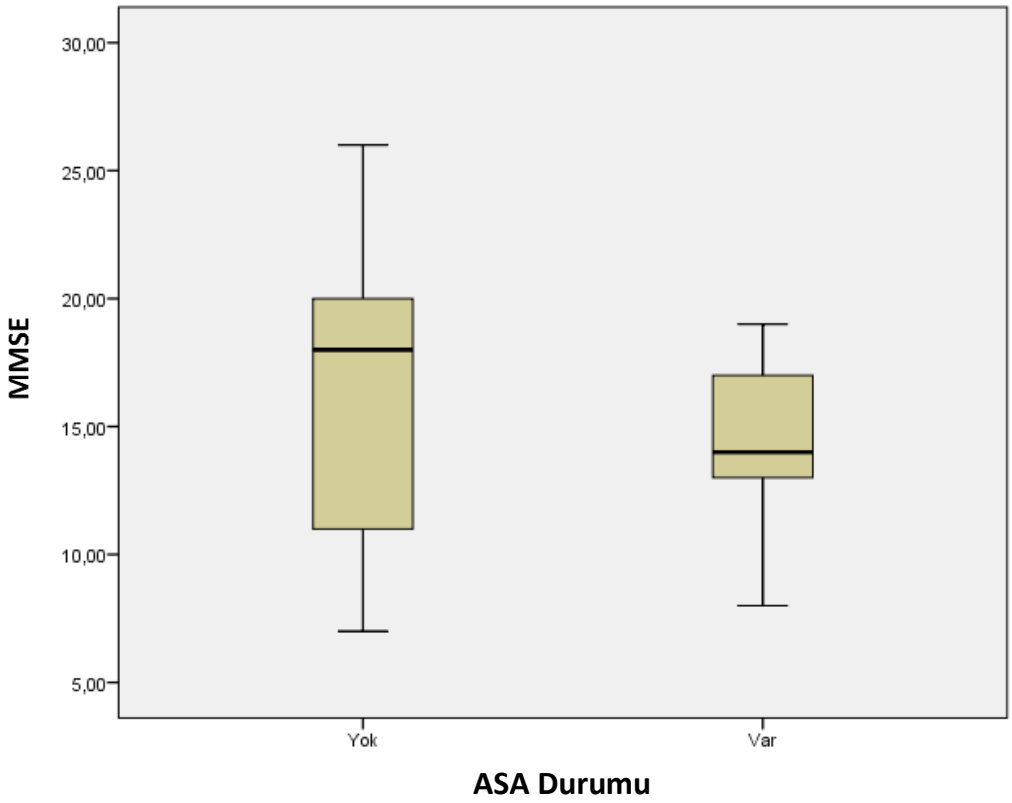



**Şekil 4-13:** MR Fazekas 0-1 Hasta ve Kontrol Gruplarına ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri

**Kontrol grubu hasta grubuna göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.006).

MR Fazekas 0-1 olan kontrol ve hasta gruplarına ilişkin hsa-miR26a-5p göreceli ekspresyon düzeyleri incelendiğinde hasta grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır (p=0.006). hsa-miR26a-5p göreceli ekspresyon düzeyleri Tablo 4-3'te verilmiştir.

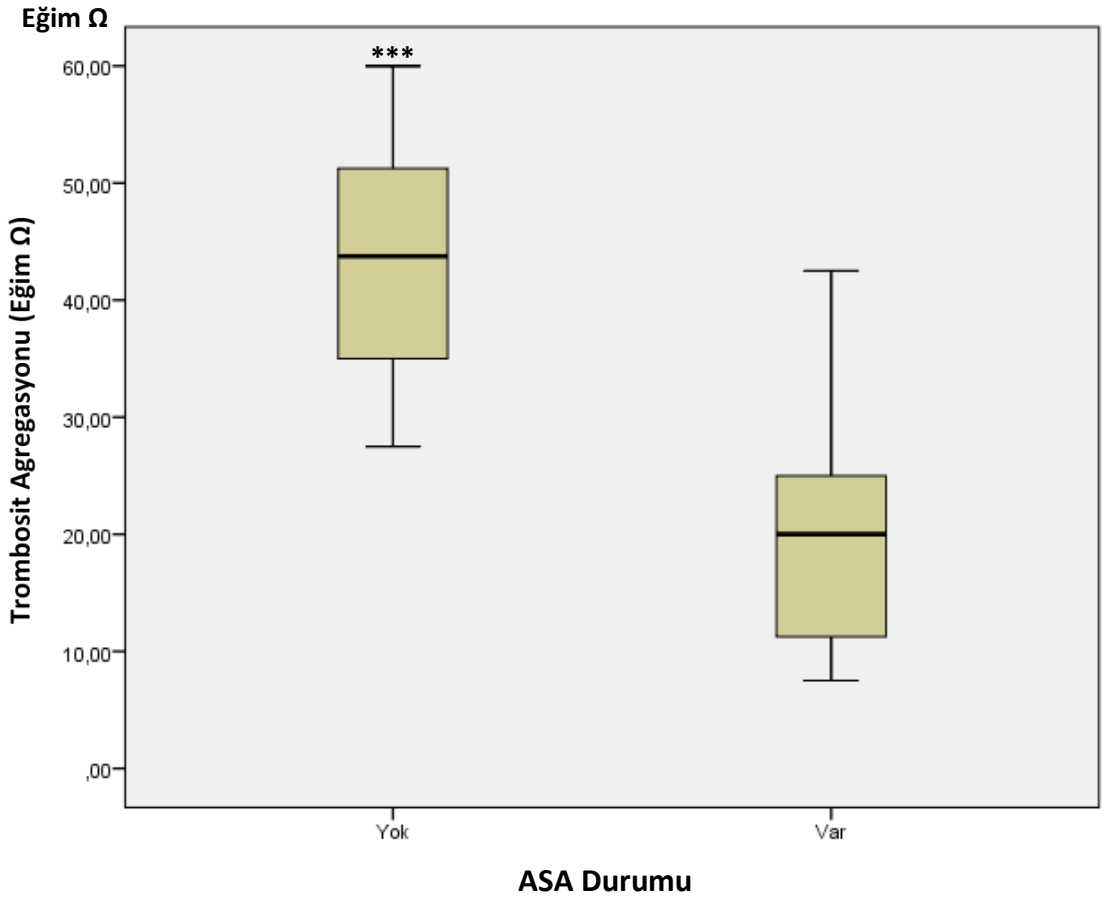
## 4.8. MR Fazekas 0-1 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre İlgili Parametrelerin Grafikleri




**Şekil 4-14:** MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre MMSE Skorları

İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.74).

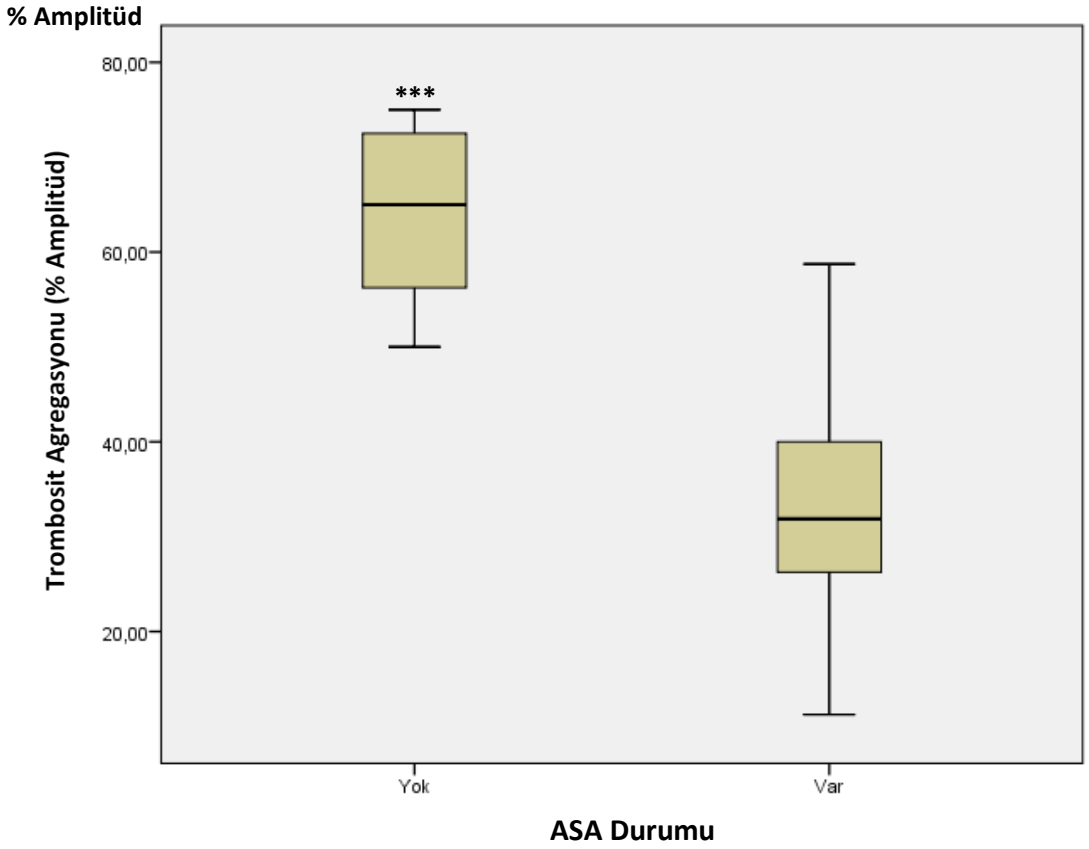
MR Fazekas 0-1 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların MMSE skorlarına ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p=0.74). MMSE skorları Tablo 4-4'te verilmiştir.




**Şekil 4-15:** MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Değerleri

***ASA kullanmayan grup, ASA kullanan gruba göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.000).

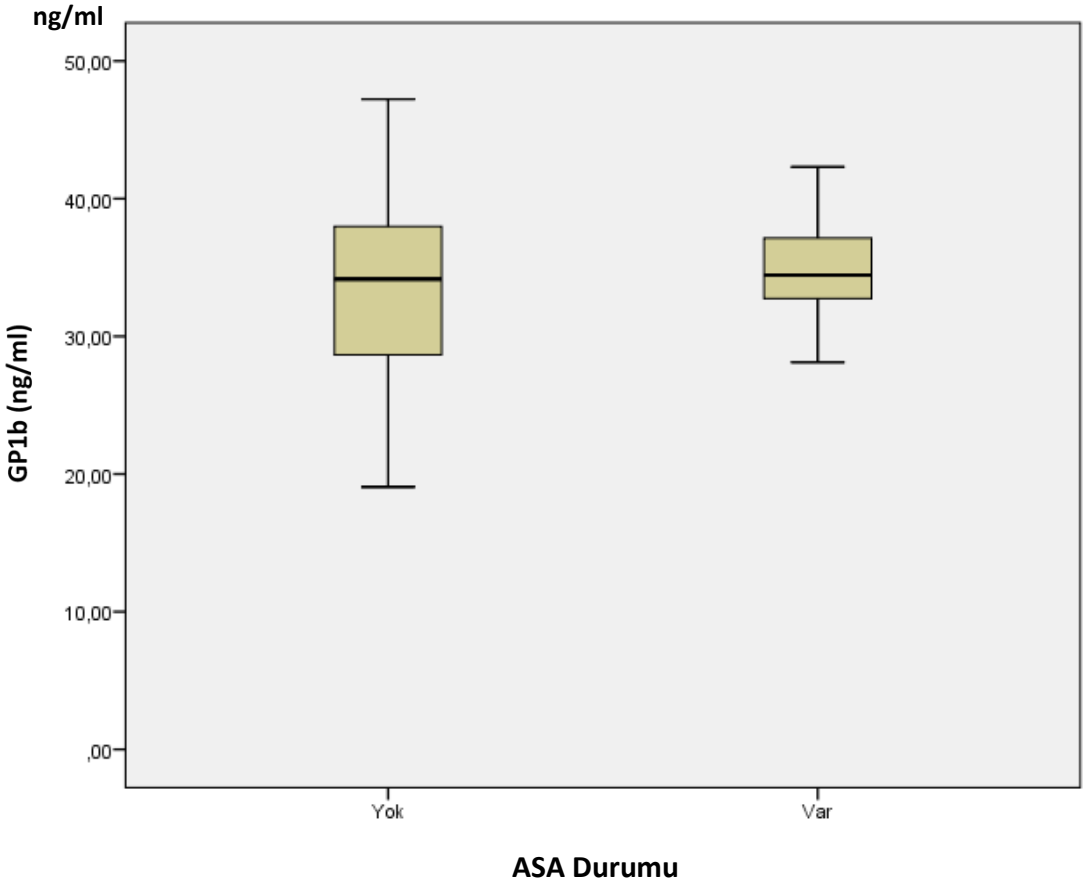
MR Fazekas 0-1 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) değerlerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmiştir. (p=0.000). ASA kullanmayan hasta grubunun Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) değerleri ASA kullanan hastalara göre ileri düzeyde anlamlı derecede yüksektir. Eğim değerleri Tablo 4-4'te verilmiştir.




**Şekil 4-16:** MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre Trombosit Agregasyonu % Amplitüd Değerleri

***ASA kullanmayan grup, ASA kullanan gruba göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.000).

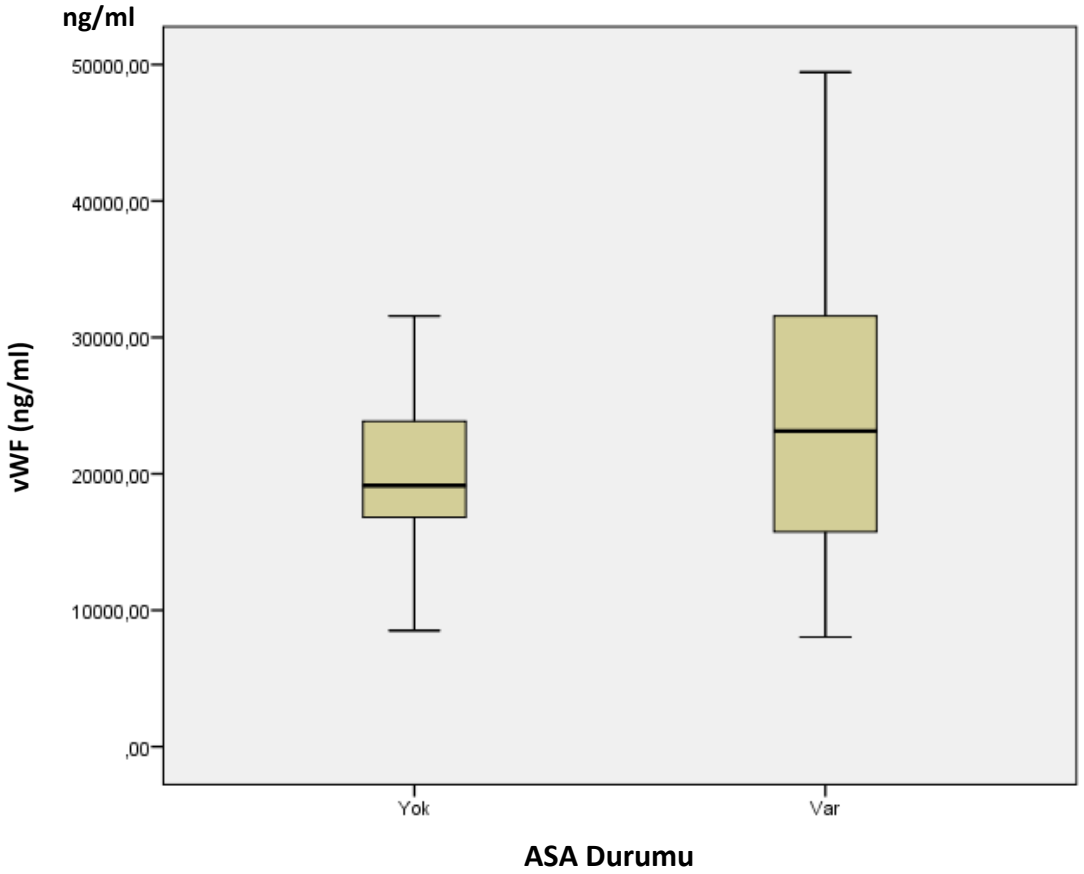
Fazekas 0-1 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların trombosit agregasyon % amplitüd parametrelerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmiştir (p=0.000). ASA kullanmayan hasta grubunun Trombosit Agregasyon % amplitüd değerleri ASA kullanan hastalara göre ileri düzeyde anlamlı derecede yüksektir. Amplitüd değerleri Tablo 4-4'te verilmiştir.




**Şekil 4-17:** MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre Plazma GP1b (ng/ml) Düzeyleri

İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (p=0.804).

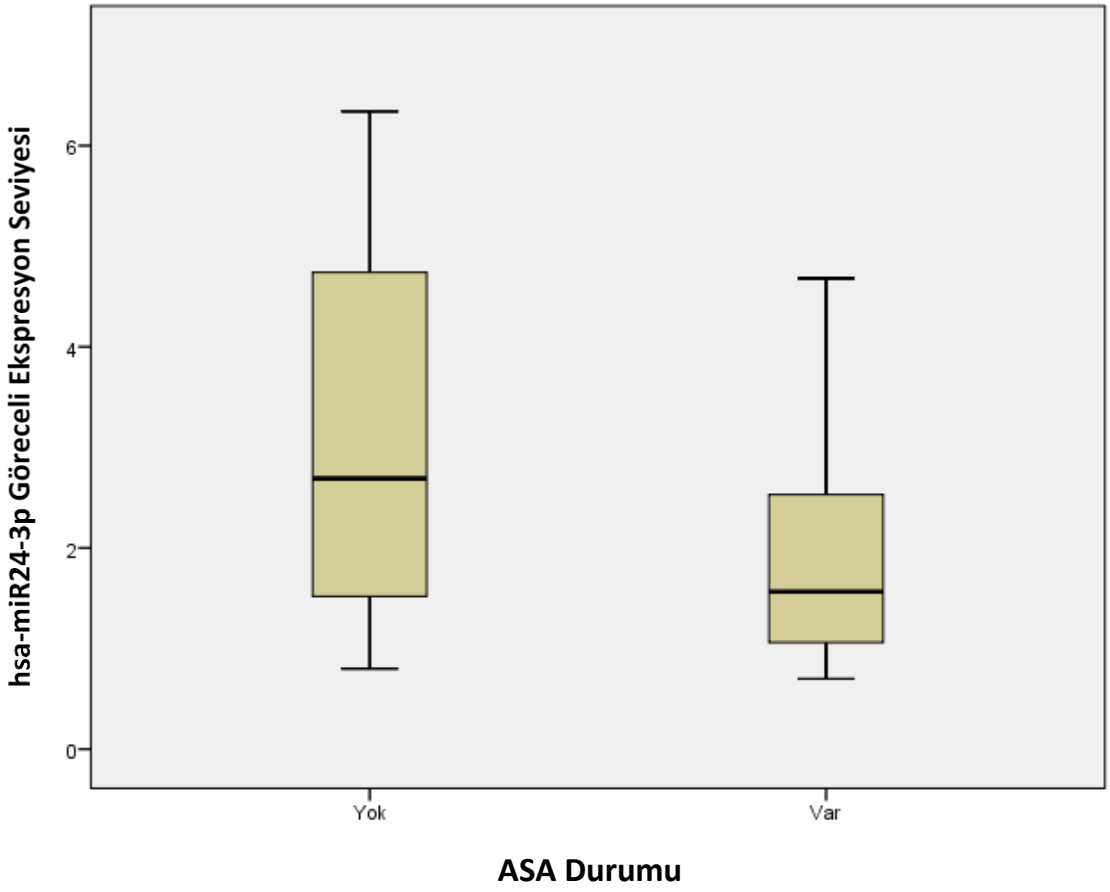
Fazekas 0-1 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların plazma GP1b (ng/ml) parametrelerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p=0.804). Değerler Tablo 4-4'te verilmiştir.




**Şekil 4-18:** MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre Plazma vWF (ng/ml) Düzeyleri

İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (p=0.22).

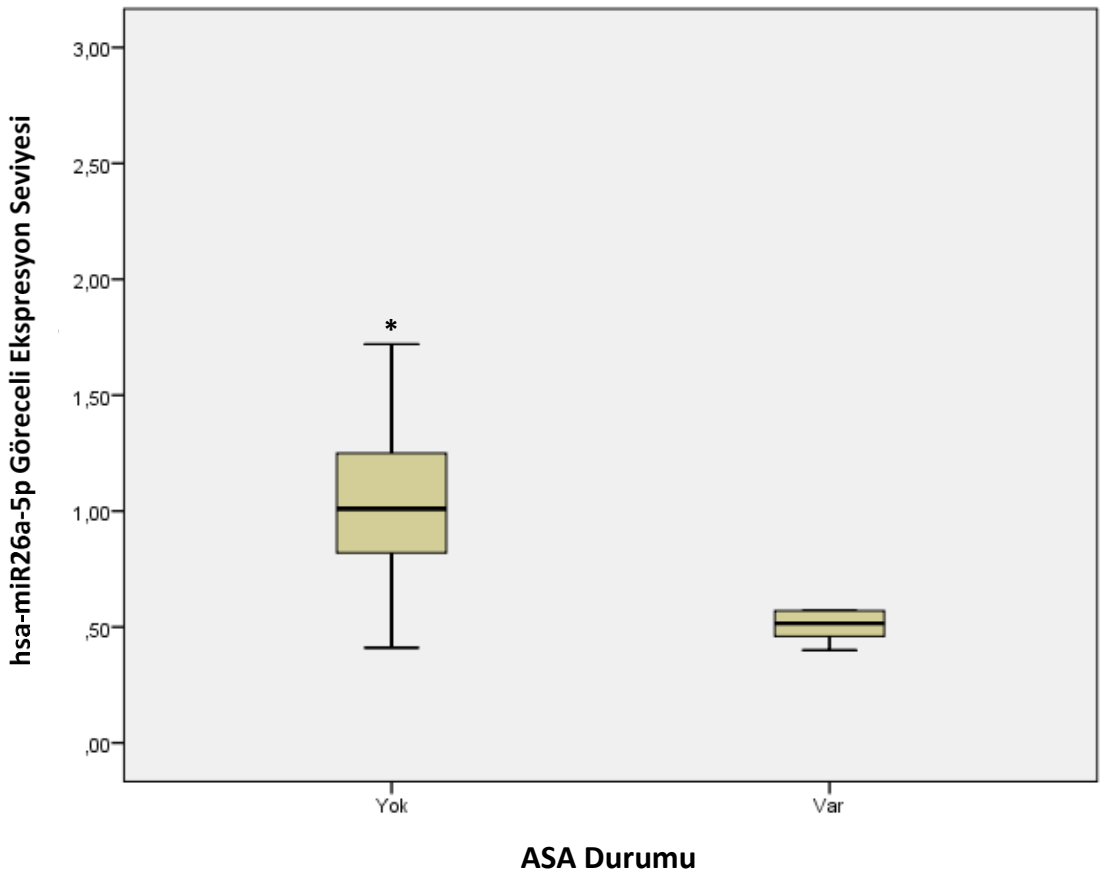
Fazekas 0-1 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların vWF (ng/ml) parametrelerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p=0.22). Değerler Tablo 4-4'te verilmiştir.




**Şekil 4-19:** MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri

İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.094).

Fazekas 0-1 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Düzeylerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p=0.094). Değerler Tablo 4-4'te verilmiştir.

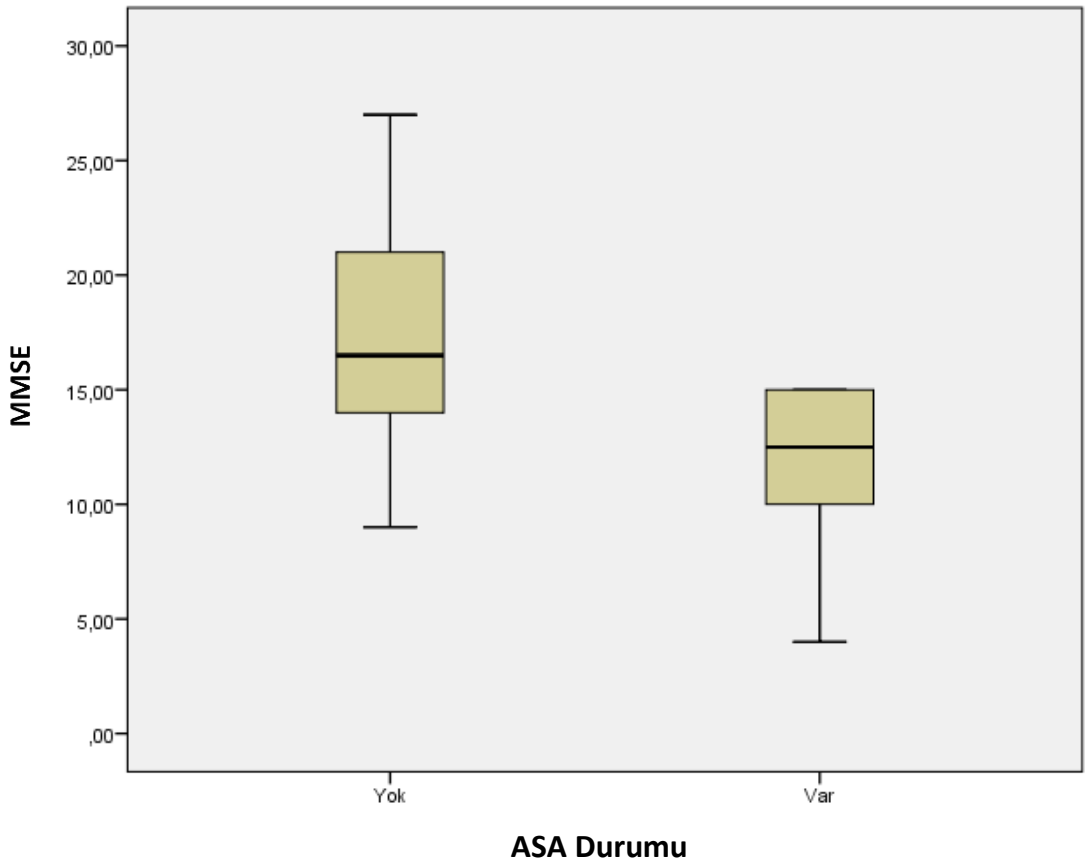



**Şekil 4-20:** MR Fazekas 0-1 Hasta Grubunun ASA Kullanma Durumuna Göre hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri

*ASA kullanmayan grup, ASA kullananlara göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.026).

Fazekas 0-1 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların hsa-miR26a-5p parametrelerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmiştir (p=0.026). ASA kullanmayan hasta grubunda hsa-miR26a-5p göreceli ekspresyon düzeyleri ASA kullananlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir. Değerler Tablo 4-4'te verilmiştir.

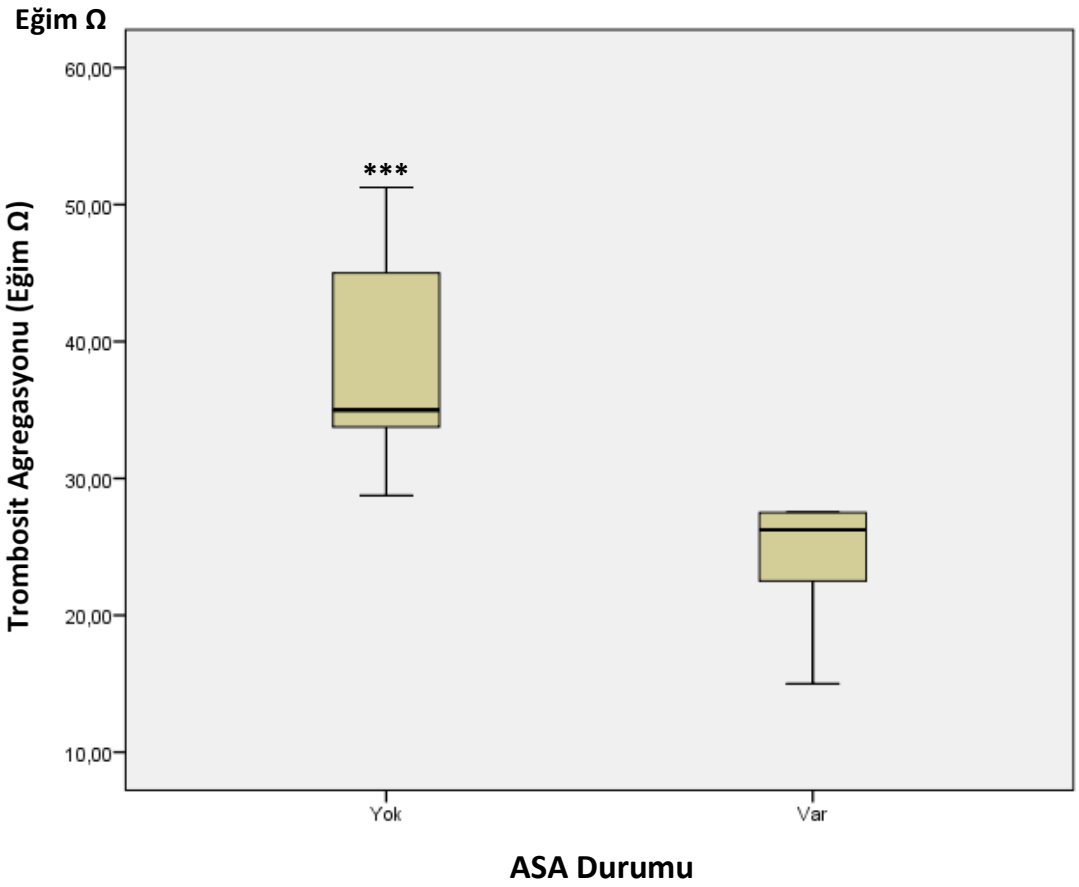
### 4.9. MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre Grafikleri




**Şekil 4-21:** MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre MMSE Skorları

İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.259).

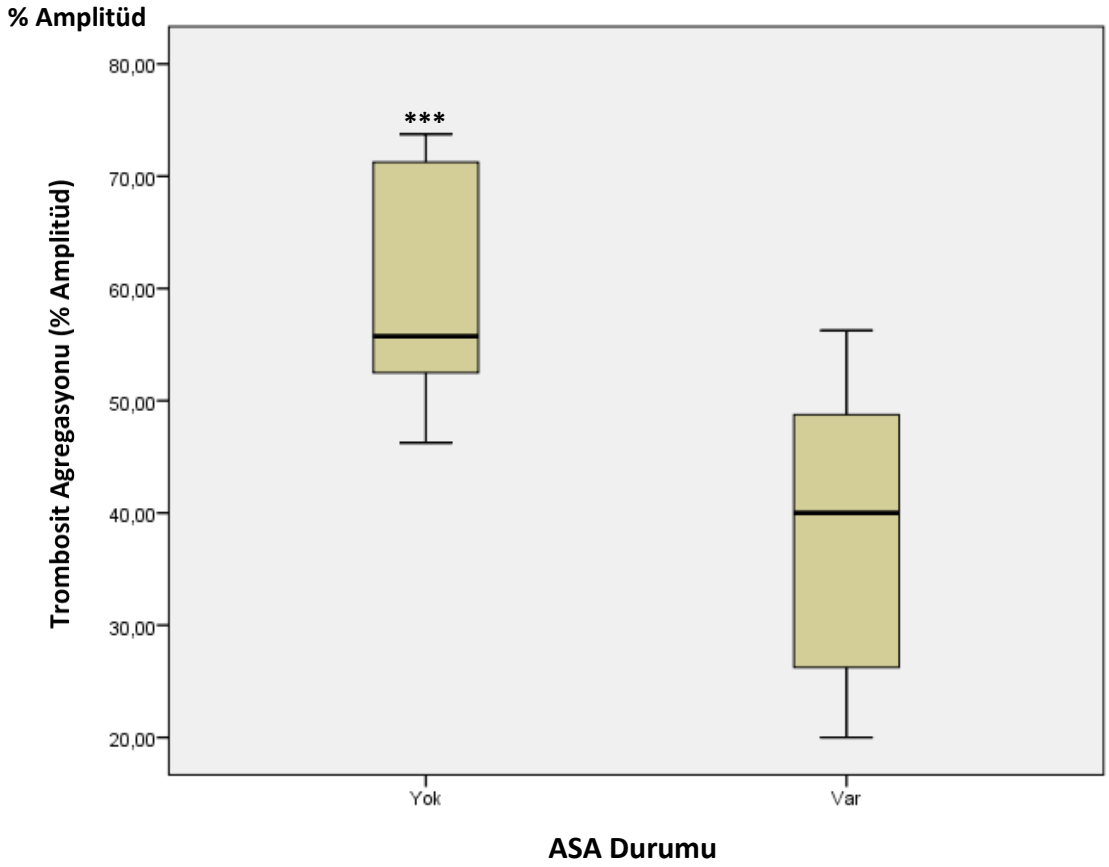
Fazekas 2-3 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların MMSE parametrelerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p=0.259). Değerler Tablo 4-5'te verilmiştir.




**Şekil 4-22:** MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Değerleri

***ASA kullanmayan grup, ASA kullananlara göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.001).

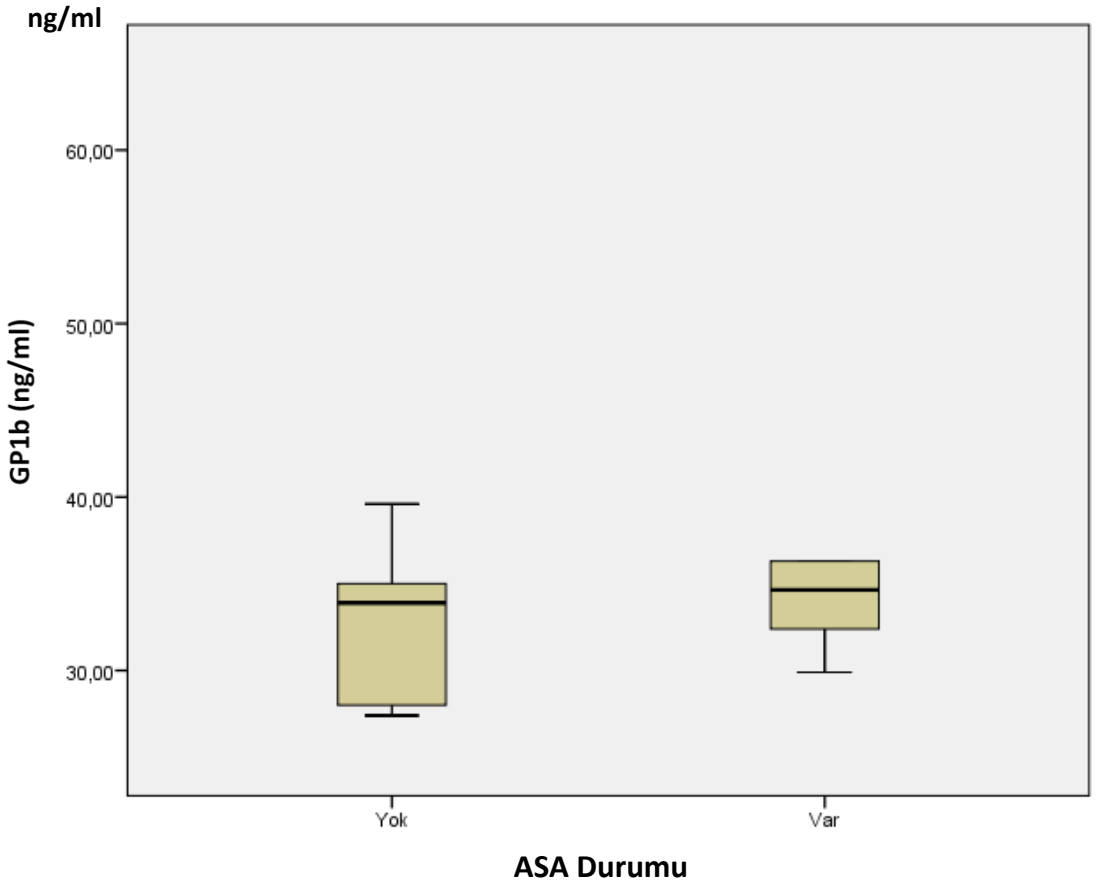
Fazekas 2-3 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların plt eğim parametrelerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmiştir (p=0.001). ASA kullanmayan hasta grubunun Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) değerleri ASA kullanan hastalara göre ileri düzeyde anlamlı derecede yüksektir. Eğim değerleri Tablo 4-5'te verilmiştir.




**Şekil 4-23:** MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre Trombosit Agregasyonu %Amplitüd Değerleri

***ASA kullanmayan grup, ASA kullananlara göre anlamlı derecede yüksektir (p=0.001).

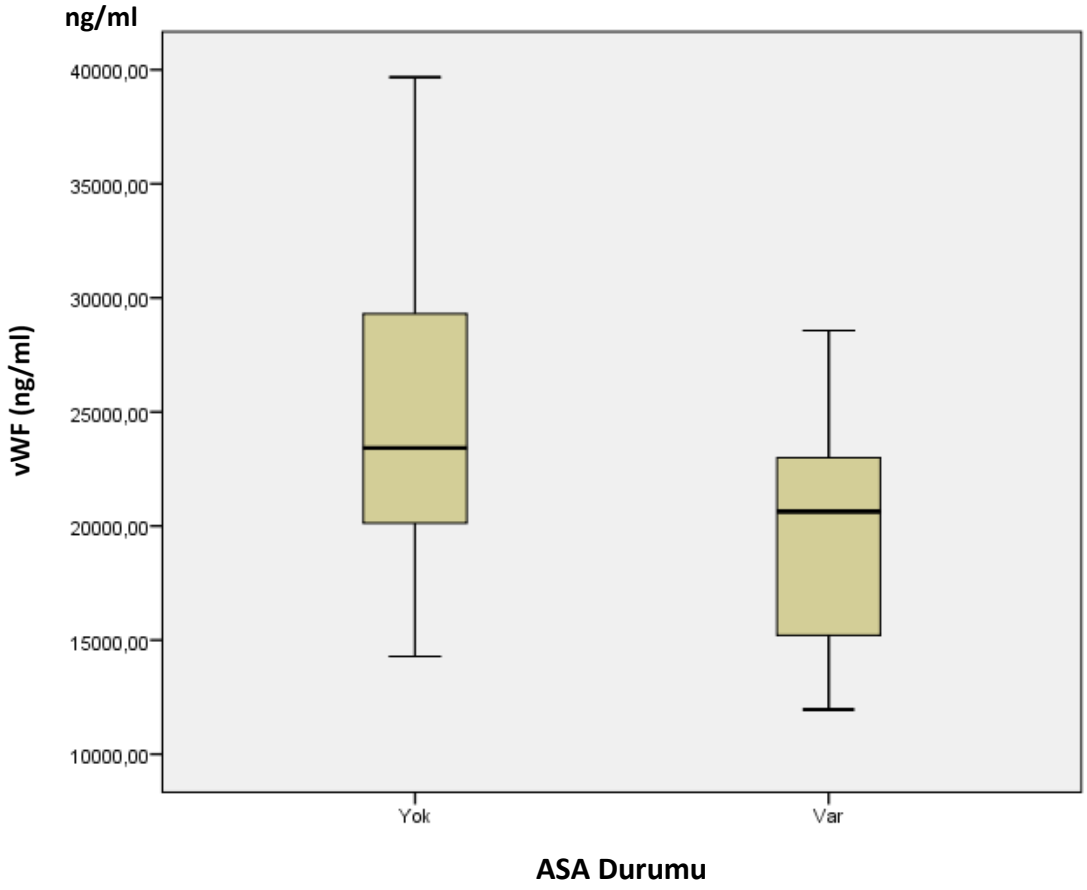
Fazekas 2-3 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların trombosit amplitüd parametrelerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmiştir (p=0.001). ASA kullanmayan hasta grubunun Trombosit Agregasyonu % amplitüd değerleri ASA kullanan hastalara göre ileri düzeyde anlamlı derecede yüksektir. Amplitüd değerleri Tablo 4-5'te verilmiştir.




**Şekil 4-24:** MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre Plazma GP1b (ng/ml) Düzeyleri

İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.916).

Fazekas 2-3 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların GP1b (ng/ml) parametrelerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p=0.916). Değerler Tablo 4-5'te verilmiştir.

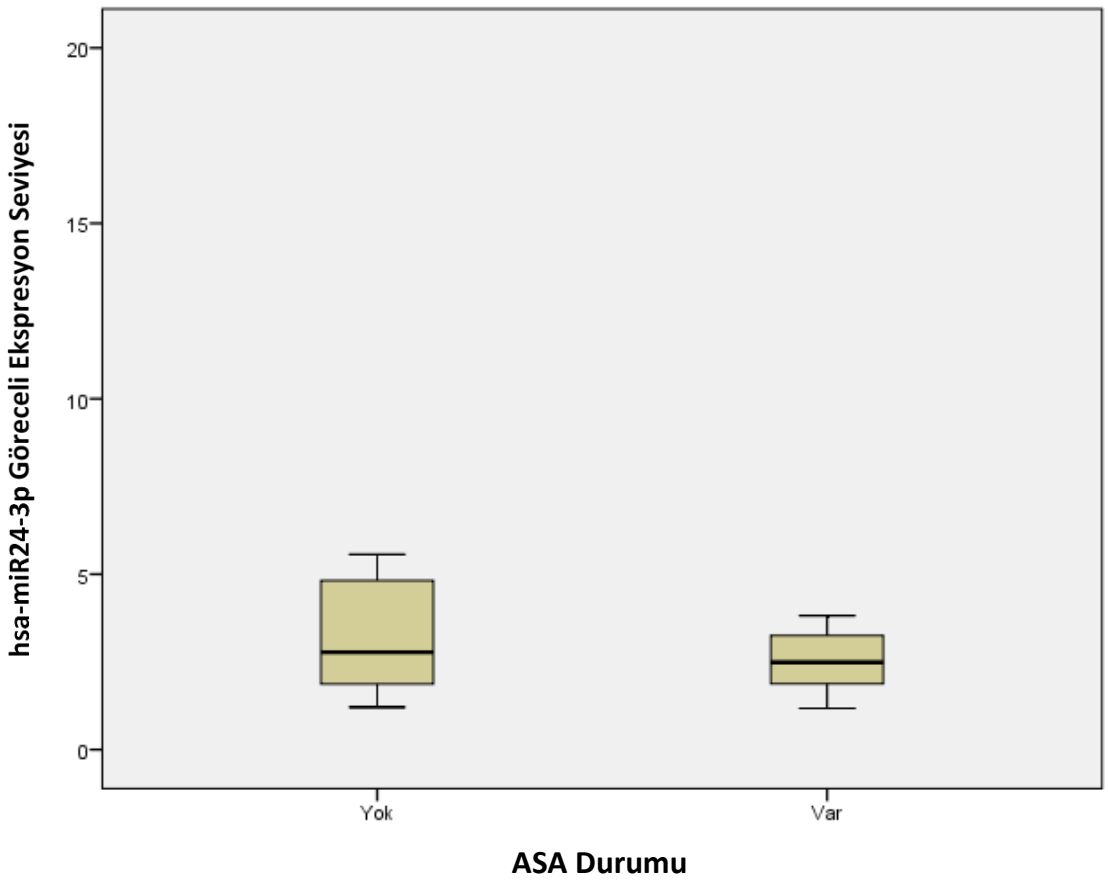



**Şekil 4-25:** MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre Plazma vWF (ng/ml) Düzeyleri

İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.093).

Fazekas 2-3 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların vWF (ng/ml) parametrelerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p=0.093).

Değerler Tablo 4-5'te verilmiştir.

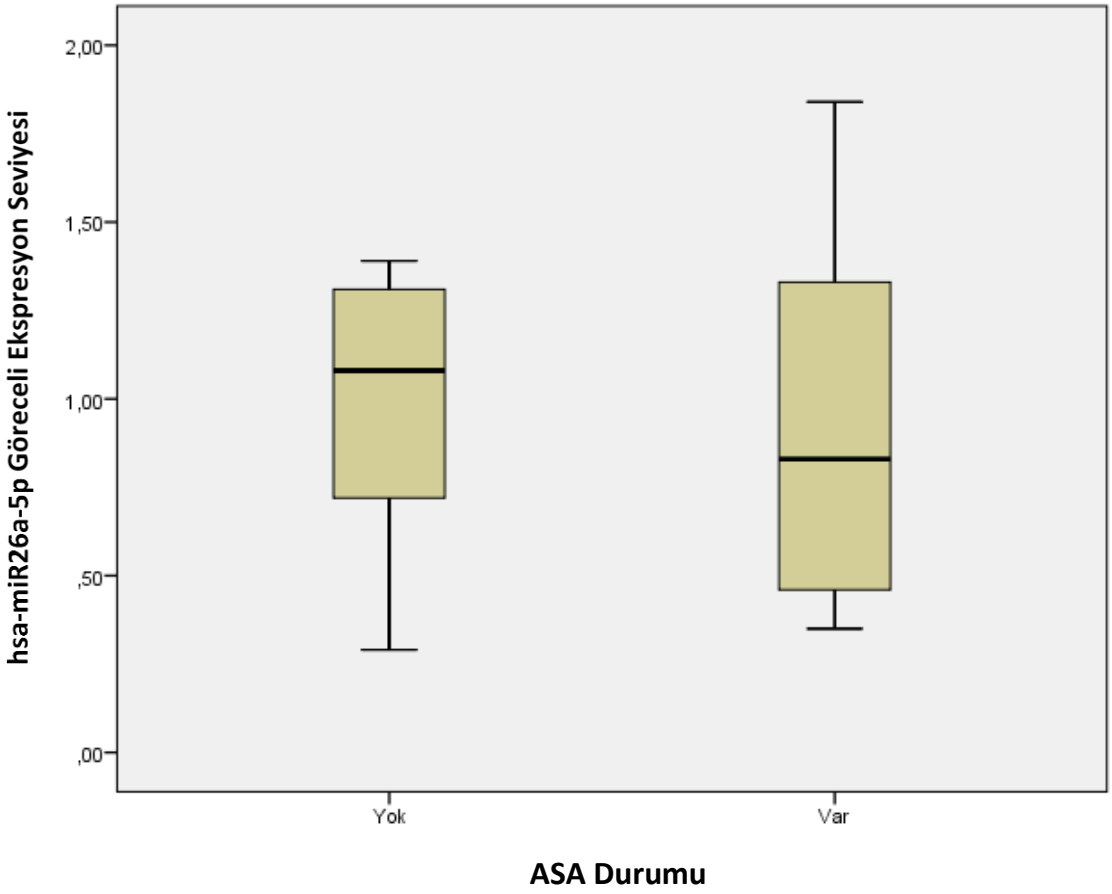



**Şekil 4-26:** MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri

İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.247).

Fazekas 2-3 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların hsa-miR24-3p göreceli ekspresyon düzeylerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p=0.247).

Değerler Tablo 4-5'te verilmiştir.




**Şekil 4-27:** MR Fazekas 2-3 Olan Hastalarda ASA Kullanma Durumuna Göre hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Düzeyleri

İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p=0.675).

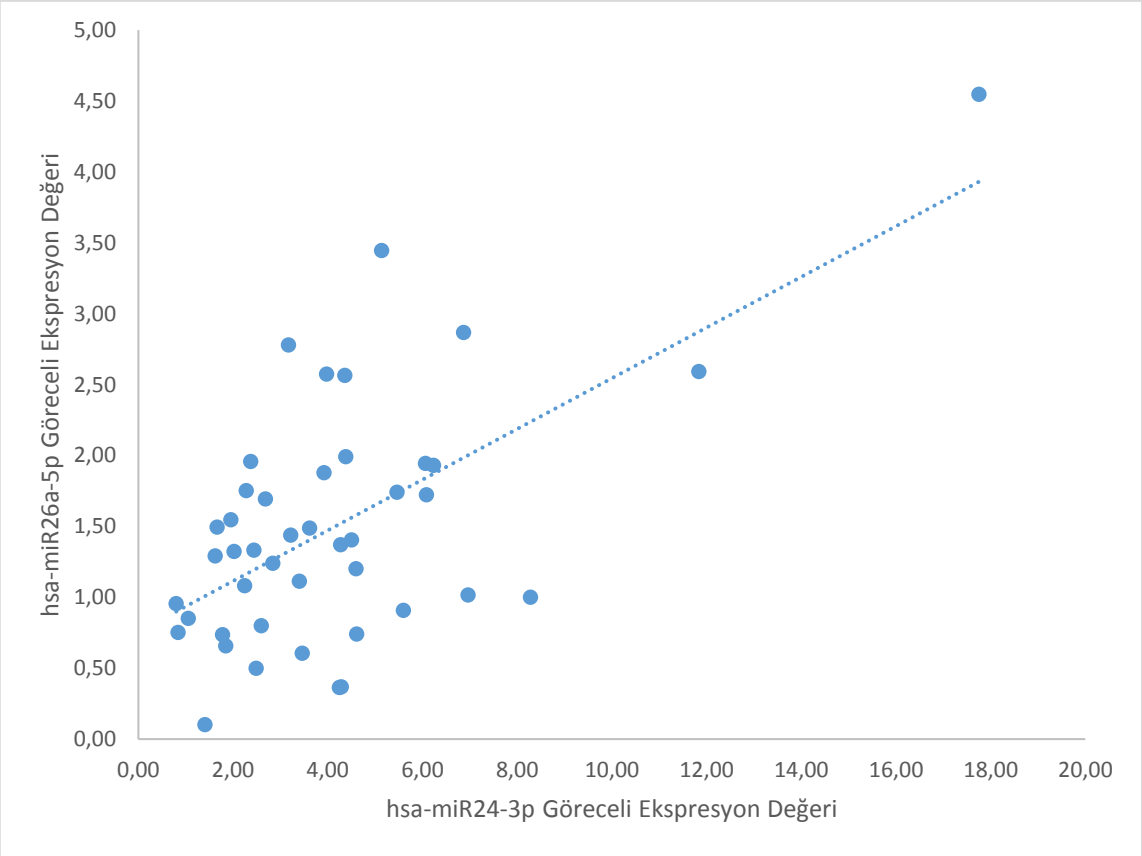
Fazekas 2-3 olan hastalarda ASA kullanan ve kullanmayan hastaların hsa-miR26a-5p göreceli ekspresyon düzeylerine ilişkin anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (p=0.675).

Değerler Tablo 4-5'te verilmiştir.

### 4.10. Kontrol Grubuna ait Korelasyon Testi Sonuçları

Kontrol grubuna ait biyokimyasal belirteçler, hsa-miR26a-5p ve hsa-mir24-3p göreceli ekspresyon değerleri normal dağılım gösteren gruplarda Pearson, normal dağılım göstermeyen gruplarda Spearman korelasyon testi ile karşılaştırıldı.

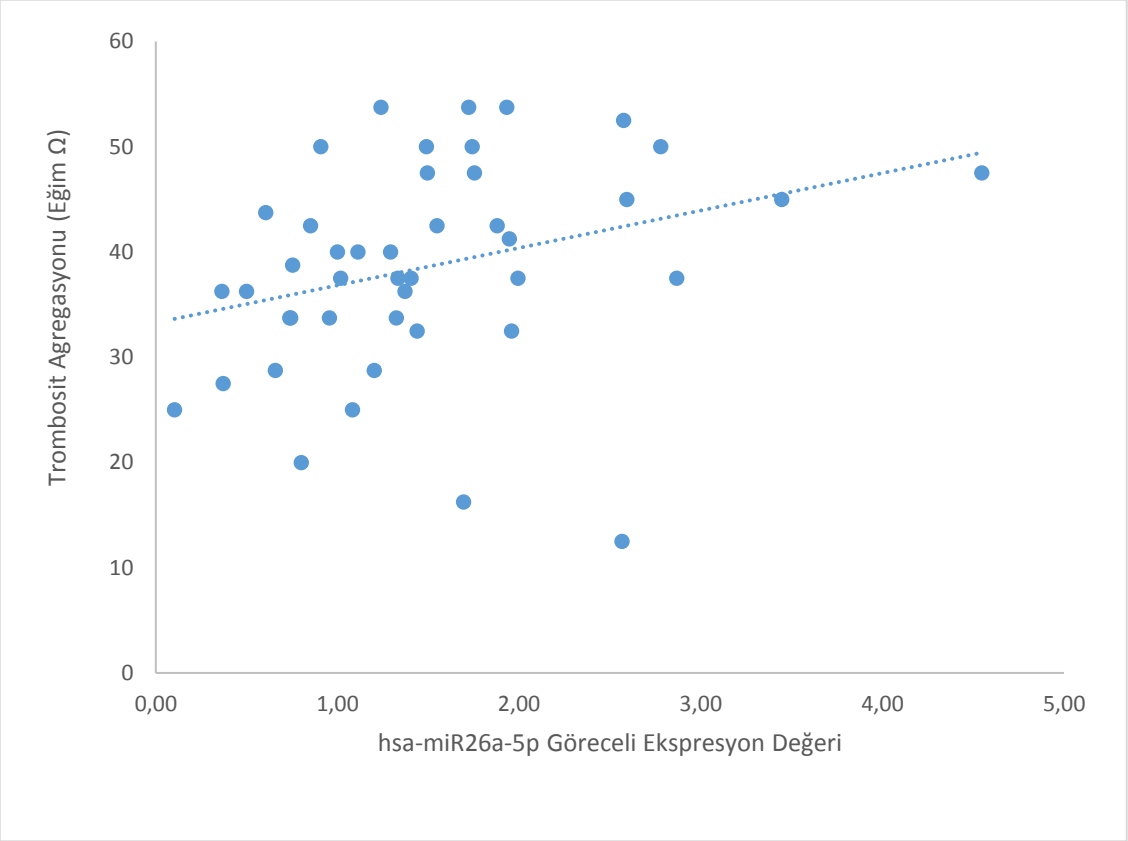
#### 4.10.1. Kontrol Grubu hsa-miR26a-5p ile hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri Arasındaki Korelasyon




**Şekil 4-28:** Kontrol Grubu hsa-miR26a-5p ile hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri Arasındaki Korelasyon

Kontrol grubunda hsa-miR26a-5p ile hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptandı (r=0.4149, p=0.0051, % 95 CI=0.1256-0.6392). (Şekil 4-28).

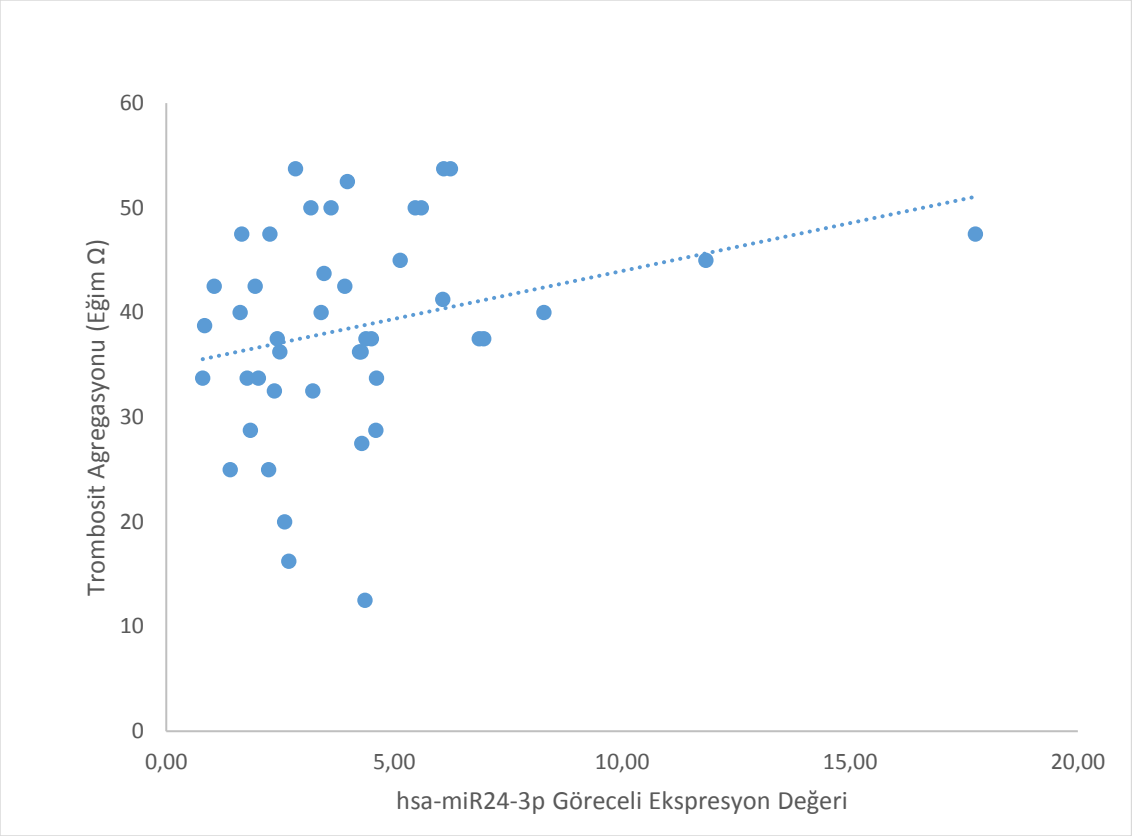
### 4.10.2. Kontrol Grubuna ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verilerinin Korelasyonu




**Şekil 4-29:** Kontrol Grubuna ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verilerinin Korelasyonu

Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) verileri ile hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptandı (r=0.3127, p=0.0388, %95 CI=0.0173-0.5578).

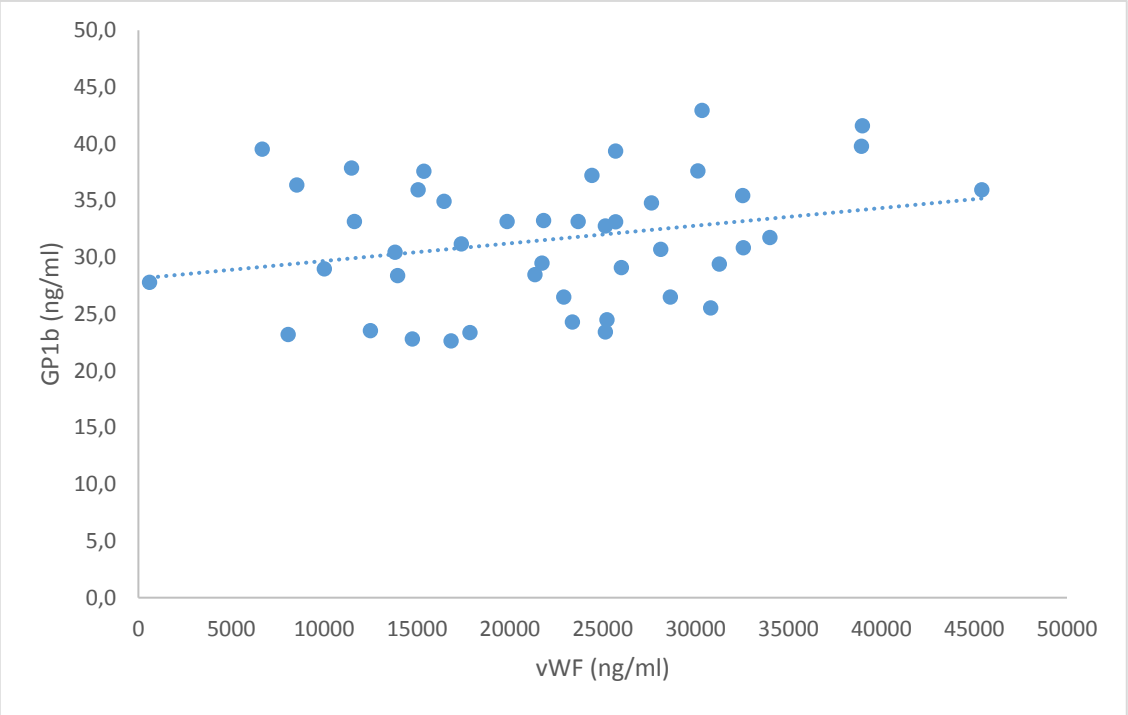
### 4.10.3. Kontrol Grubuna ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verilerinin Korelasyonu




**Şekil 4-30:** Kontrol Grubuna ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verilerinin Korelasyonu

Kontrol Grubuna ait hsa-miR24-3p ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) verileri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır (r=0.3015, p=0.0467, %95 CI= -0.0040 – 0.5556).

### 4.10.4. Kontrol Grubuna ait GP1b (ng/ml) ile vWF (ng/ml) Verilerinin Korelasyonu




**Şekil 4-31:** Kontrol Grubuna ait GP1b (ng/ml) ile vWF (ng/ml) Verilerinin Korelasyonu

Kontrol Grubuna ait GP1b (ng/ml) ile vWF (ng/ml) verileri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmamıştır (r= 0.2622, p= 0.0855, %95 CI= -0.0376 – 0.5188).

Kontrol Grubuna ait yaptığımız korelasyon analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı çıkmayan parametreler ve analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

-Kontrol grubuna ait hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile GP1b (ng/ml) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. (pearson r= 0.0794, p=0.6124, %95 CI = -0.2263 – 0.3710)

-Kontrol grubunda olan kişilerin hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile GP1b (ng/ml) düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. (pearson r= -0.0272, p=0.8623, %95 CI =-0.3250 – 0.2754)

-Kontrol grubunda olan kişilerin hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile vWF (ng/ml) düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. (pearson r= 0.1221, p=0.4354, %95 CI = -0.1851 – 0.4076)

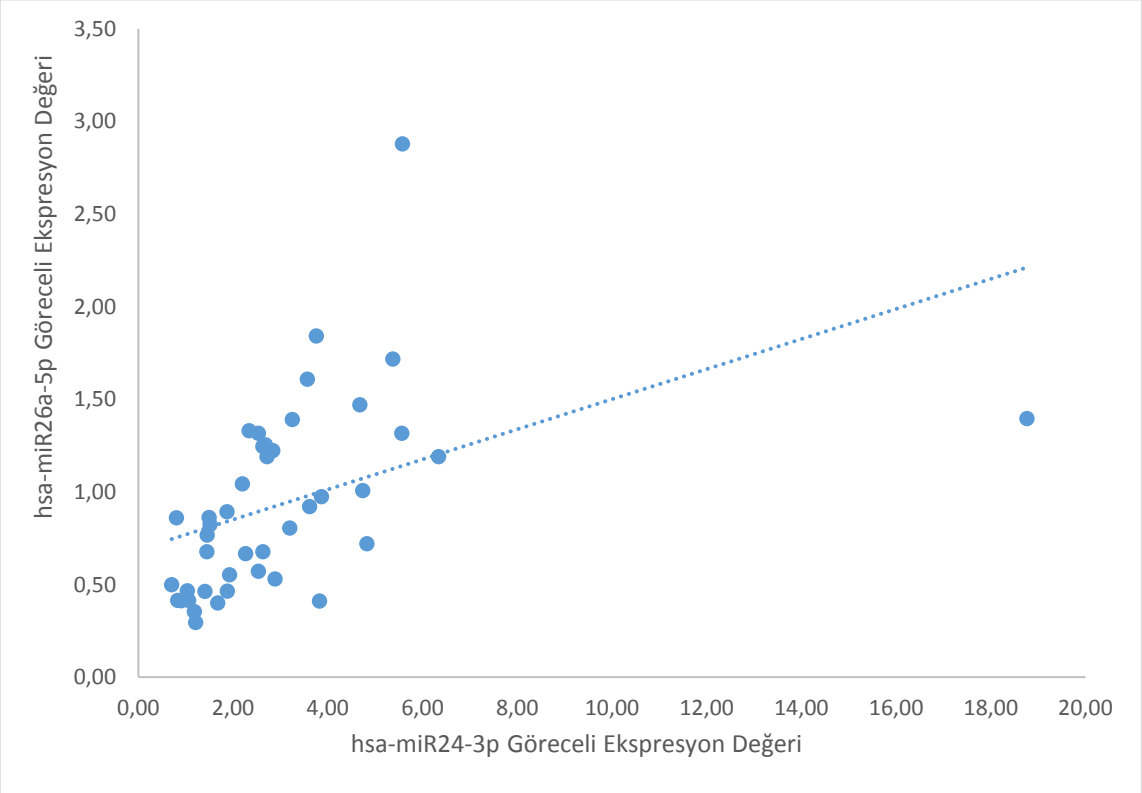
Kontrol grubunda olan kişilerin hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile vWF (ng/ml) düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (pearson r= -0.0807, p=0.6069, %95 CI = -0.3721 – 0.2252).

Kontrol grubunda olan kişilerin hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri trombosit agregasyon % amplitüd değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. (pearson r= 0.3003, p=0.0477, %95 CI = 0.0036 – 0.5483).

Kontrol grubunda olan kişilerin hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile trombosit agregasyon % amplitüd değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. (pearson r= 0.1349, p=0.3828, %95 CI = -0.1688 – 0.4152).

## 4.11. Hasta Grubuna ait Korelasyon Testi Sonuçları

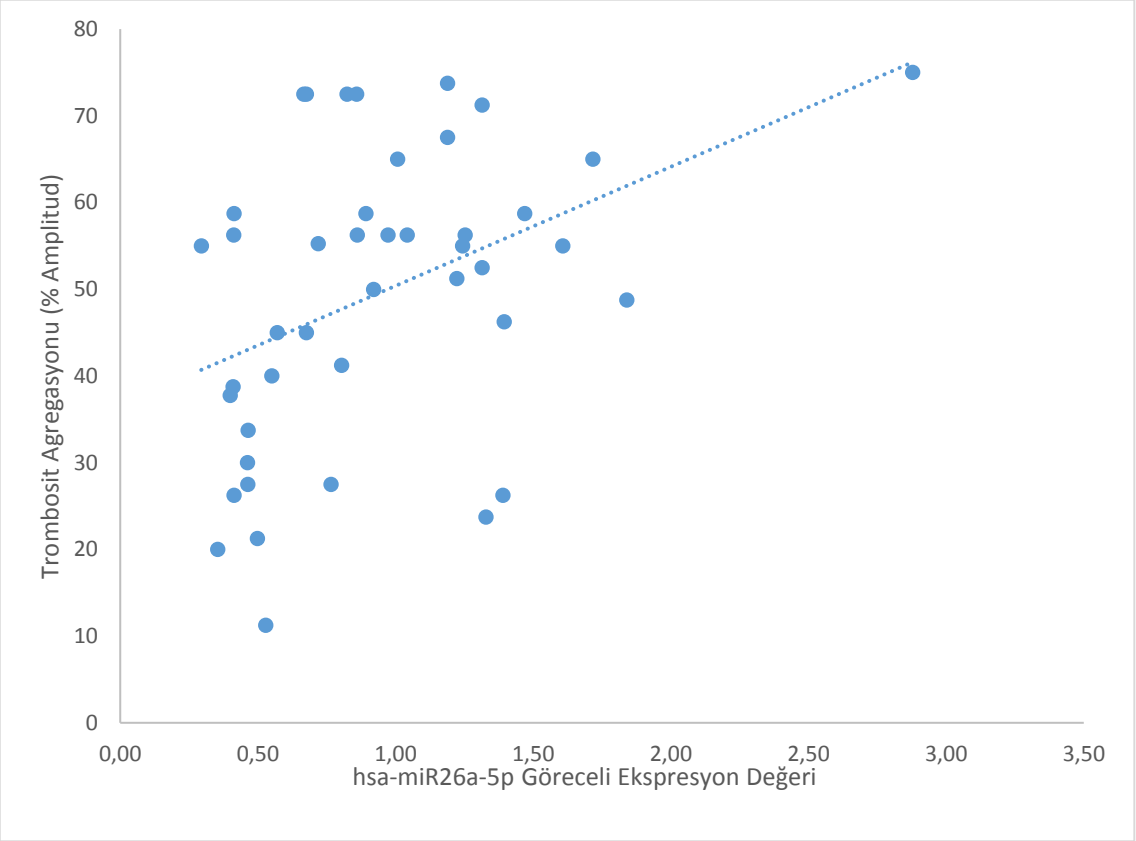
### 4.11.1. Hasta Grubu hsa-miR26a-5p ile hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri Arasındaki Korelasyon




**Şekil 4-32:** Hasta Grubu hsa-miR26a-5p ile hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri Arasındaki Korelasyon

Hasta Grubu hsa-miR26a-5p ile hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır (r= 0.6820, p= 0.0023, %95 CI = 0.4728 – 0.8184).

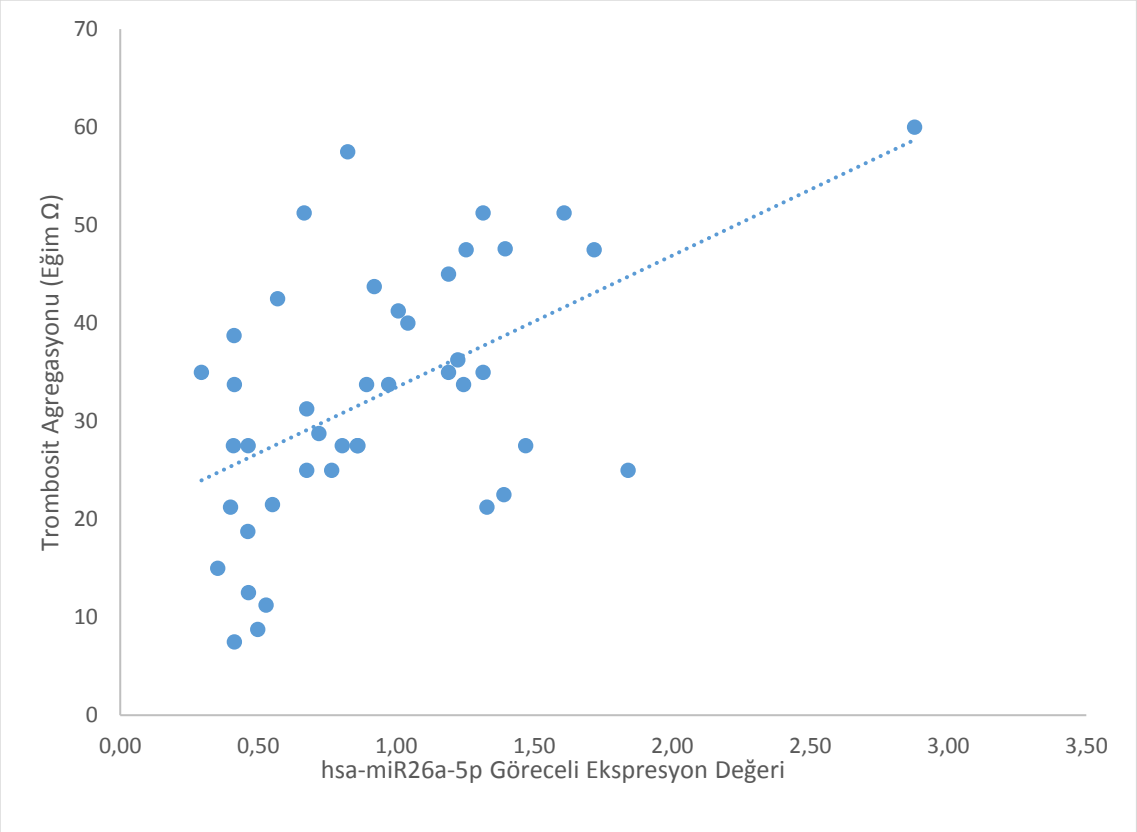
### 4.11.2. Hasta Grubu hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (% Amplitud) Arasındaki Korelasyon




**Şekil 4-33:** Hasta Grubu hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (% Amplitud) Arasındaki Korelasyon

Trombosit Agregasyonu (% Amplitud) değerleri ile hsa-mir26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır (r= 0.3796, p= 0.0120, %95 CI = 0.0803 – 0.6162).

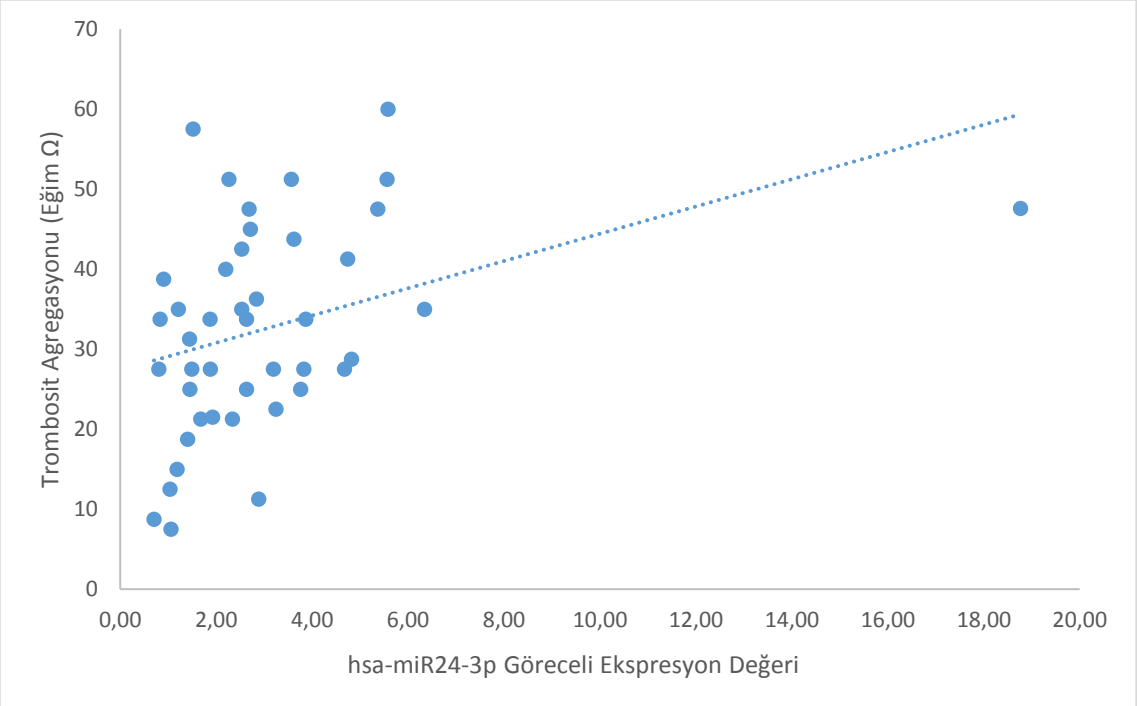
### 4.11.3. Hasta Grubuna ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verileri Arasındaki Korelasyonu




**Şekil 4-34:** Hasta Grubuna ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verileri Arasındaki Korelasyonu

Hasta grubuna ait hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) verileri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır (r= 0.5304, p= 0.0003, %95 CI = 0.2736 – 0.7167).

### 4.11.4. Hasta Grubuna ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verilerinin Korelasyonu




**Şekil 4-35:** Hasta Grubuna ait hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile Trombosit Agregasyonu (Eğim Ω) Verileri Arasındaki Korelasyon

Hasta grubunda trombosit agregasyonu (eğim Ω) değerleri ile hsa-mir24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır (r=0.4488, p= 0.0025, %95 CI = 0.1626 – 0.6654).

Hasta grubuna ait yaptığımız korelasyon analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı çıkmayan parametreler ve analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

Hasta grubunda yer alan kişilerin hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile GP1b (ng/ml) düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. (spearman r= -0.0035, p=0.9822, %95 CI = -0.3119 – 0.3055)

Hasta grubunda olan kişilerin hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile GP1b (ng/ml) düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. (pearson r= 0.1464, p=0.3490, %95 CI = -0.1611 – 0.4280)

Hasta grubunda olan kişilerin hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile vWF (ng/ml) düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (pearson r= 0.0522, p=0.7391, %95 CI = -0.2521 – 0.3473).

Hasta grubunda yer alan kişilerin hsa-miR26a-5p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile vWF (ng/ml) düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (pearson r= -0.1771, p=0.2559, %95 CI = -0.4534 – 0.1302).

Hasta grubunda olan kişilerin hsa-miR24-3p Göreceli Ekspresyon Değerleri ile trombosit amplitüd % değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (pearson r= 0.1600, p=0.3055, %95 CI = -0.1475 – 0.4393).

Hasta grubunda olan kişilerin vWF (ng/ml) düzeyleri ile GP1b (ng/ml) seviyeleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (pearson r= 0.0193, p=0.9021, %95 CI = -0.2827 – 0.3179).

# 5. TARTIŞMA

Trombositler, tromboz ve hemostazda başlıca rol oynayan anüklear hücrelerdir (13). Vasküler yapılardaki damarların iç yüzeyini döşeyen endotel hücreleri, koagulasyon faktörleri ve trombositler hemostatik sistemi oluşturarak, bir denge içinde çalışırlar (3). Yaşlanma ile birlikte meydana gelen fizyolojik değişiklikler, endotel disfonksiyonu veya endotel hasarı trombositlerin fonksiyonunu değiştirir (307). Trombosit fonksiyonundaki değişiklikler, trombositlerin aktif olarak rol aldığı ve etkileşim içinde oldukları biyolojik sistemlerdeki fizyolojik ve patolojik süreçleri tetikleyebilir. Trombositler depoladıkları, ürettikleri ve salgıladıkları aracı moleküller ile vasküler sistemle etkileşim halindedir (2, 5, 67, 78, 79, 80). Trombositlerin, vasküler sistemden etkilenen hastalıklarla ilgili örneğin hipertansiyon, kardiovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar, serebral amiloid anjiopati (CAA), diyabet, inflamasyon, kanser gibi patolojik süreçlerdeki rollerinin yanı sıra, fizyolojik süreçlerde ve yaşlanma ile ilgili etki mekanizmalarını incelemek üzere yapılan birçok araştırma bulunmaktadır (81, 82, 83, 88). Ayrıca literatürde, trombositlerin Alzheimer hastalığının patogenezinin araştırılmasına yönelik çalışmalarda rol model olarak kullanılabileceğine dair yayınlar mevcuttur (6, 7, 8, 9). Alzheimer tipi demans tüm dünyada yaşlı popülasyonda en sık görülen demans çeşididir (183). Nüfusun yaşlanmasına bağlı olarak tüm dünyada, Alzheimer tipi demansın insidansı ve prevalansı ve buna bağlı olarak hastalığın topluma getirdiği maliyetler giderek artmaktadır (184, 192). Alzheimer hastalığının patogenezini incelemeye yönelik yapılan çalışmalarda nöronal sitoplazmada hiperfosforile edilmiş tau proteini (P-tau) hücre içinde nörofibriler yumaklar (NFT) ve hücre dışında çözünmeyen amiloid peptit (Aβ)'den oluşan senil plakların varlığı, hastaların beyinlerinde saptanan patofizyolojik bulgulardır (194). Beyin dokusundaki senil plaklar Alzheimer hastalığının ana histopatolojik özelliğidir (207). Senil plakların yapısı incelendiğinde, amiloid prekürsör proteinin, gama sekretazlar tarafından kesilmesiyle oluşan amiloid beta'nın, senil plakların ana bileşeni olduğu görülmüştür (202, 206, 211). Trombositler periferik dolaşımdaki beta amiloidin öncül proteini olan APP'nin en önemli kaynağıdır (297). Yapılan araştırmalarda trombositlerin hem APP'yi hem de APP'nin kesilmesi ve işlenmesindeki tüm enzimleri ve APP'nin alternatif kesilmesiyle oluşan tüm kesim ürünlerini içerdiği gösterilmiştir (303). Trombositlerin alfa granüllerinin içinde yoğun bir biçimde çeşitli tipte APP'nin depolandığı ve bu granüllerin içeriğinin trombositin aktifleşmesiyle kan dolaşımına salındığı iyi bilinmektedir (304). APP üretimi ve enzimatik işlenme mekanizması

açısında nöron hücresiyle benzerlik gösteren trombositlerin, Alzheimer hastalığının patogenezinin araştırılmasında rol model olarak kullanılabileceği üzerinde önemle durulmaktadır (296, 299, 304, 305).

Bizler bu bilgilerden yola çıkarak planladığımız doktora tez projesinde, Alzheimer tipi demans ve kontrol gruplarında trombosit fonksiyonlarını araştırmak için, trombosit fonksiyonlarına ait belirteçlerinden biri olan adezyon ve sekresyon ayrıca agregasyon fazlarındaki değişiklikleri gözlemlemek amacıyla, 1mM konsantrasyonda 5 ul ADP uyaranı vererek lumiagregometre cihazında trombosit fonksiyonlarını *in vitro* olarak inceledik. Bulgularımıza göre trombosit agregasyon eğim ve amplitüd değerleri hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Trombosit agregasyon eğimi değerlerinin hasta grubunda anlamlı derecede düşük çıkması, hastalarda trombositin adezyonla ilgili fonksiyonlarına ve bu yolakta rol oynayan protein ve reseptörlerin fonksiyonlarına dair bilgi verebilir. Düşük agregasyon eğimi, trombositin fonksiyonunun azaldığı veya inhibe edildiği durumlara işaret eder. Total hasta ve kontrol grubunda ASA kullanımı trombosit fonksiyonlarını inhibe edip, kümülatif değerlendirmeyi negatif yönde etkileyebilir. Dolayısıyla hasta ve kontrol gruplarında ASA kullanan ve ASA kullanmayan bireylerin sonuçlarını ayrı ayrı değerlendirip karşılaştırdık.

Trombosit fonksiyonlarını, farklı hastalık gruplarında inceleyen çeşitli çalışmalar literatürde mevcuttur. 52 Preeklemsi vakası ve 27 sağlıklı gebe kontrolü ile yapılan bir çalışmada, trombosit agregasyonu eğim değerlerinin hastalarda, sağlıklı gebelere kıyasla düşük olduğunu tespit etmişlerdir (308). Çoğu zaman endotel fonksiyon bozukluğu ile seyreden preeklemsi hasta grubunda agregasyon eğimlerinin düşük olması, bizim çalışmamızdaki Alzheimer hasta grubundaki düşük eğim değerleri ile benzerdir. Esansiyel hipertansiyonu olan hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubunun karşılaştırıldığı başka bir çalışmada, hasta grubunda ortalama trombosit agregasyon düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek bulunmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir (309).

Bir başka çalışmada akut iskemik felç hastalarında aspirin tedavisi altında ADP aracılı trombosit fonksiyonları değerlendirilmiş ve düşük orta hafif cevap veren gruplar şeklinde sınıflamalar yapılmıştır. Sonuçta akut iskemik inme sonrası aspirin kullanan hastalarda ADP ile indüklenmiş trombosit agregasyon fonksiyonları zayıf olarak gözlenmiştir (310). Antitrombositer tedavinin öncüsü olarak kabul edilen aspirinin,

trombosit fonksiyonlarını inhibe eden etkisi ve bu inhibisyonun temel moleküler etki mekanizması iyi bilinmektedir (311). Aspirinin moleküler temel etki mekanizması incelendiğinde, COX-1 ve COX-2 (prostaglandin-PG- H sentaz-1 ve 2 olarak da ifade edilir) enzimlerinin aktivitesini geri dönüşümsüz olarak inhibe eder. İnhibisyon yeri COX-1 enziminin 529. noktasındaki serin (ser529), COX-2'de ise 516 noktasındaki serinin (ser516) asetillenmesi ile olur. Uyaranlar etkisi ile trombosit membranındaki fosfolipaz A2 enziminin aktivasyonu sonrası, araşidonik asit (AA) salınımı artar. COX-1 ve COX-2 izoenzimleri araşidonik asit (AA)'i PG $H_2$'ye dönüştürürler. $PGH_2$ bir ara ürün olup, $PGD_2$, E2 F2α, I2 ve $TxA_2$'nin öncüsüdür. Sonuçta aspirin etkisiyle PG'lerin oluşumu ve trombosit için bilinen en güçlü aggregan ve vazokonstriktör ajan olan $TxA_2$ oluşumu azalmaktadır. Aspirin, COX-1'i COX-2'ye göre daha çok inhibe eder. COX-2 inflamatuvar yanıt gösterebilen hücrelerde, COX-1 ise trombositlerde daha fazla oranda bulunur (311).

Fazekas skalası, genellikle kronik küçük damar iskemisine atfedilen beyaz madde T2 hiperintens lezyonlarının miktarını ölçmek için kullanılır (321). Bizim çalışmamıza dahil edilen hasta veya sağlıklı bireylerin beyin vasküler durumlarını tespit etmek üzere MR görüntüleri alınmış ve vasküler hasara bağlı beyaz madde lezyon miktarları Fazekas skoru ile saptanmıştır. Bizler de çalışmamızda, ASA'nın trombosit fonksiyonlarını Alzheimer hastalarında ne şekilde etkilediğini gözlemlemek için, MR Fazekas 0-1 ve MR Fazekas 2-3 Alzheimer hasta alt gruplarımızı oluşturup, ASA kullanan ve ASA kullanmayanlar olarak bulgularımızı değerlendirdik.

MR Fazekas 0-1 ile MR Fazekas 2-3 alt gruplarında ASA kullanan hastaların Trombosit Agregasyonu Eğim (Ω) ve % amplitüd değerleri, ASA kullanmayan hasta grubuna göre istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı derecede düşük bulundu (Tablo 4-4, 4-5) Elde ettiğimiz bulgular her iki grupta da ASA'nın antitrombositer etkisi ile uyumludur. ASA kullanımı hasta grubunda trombosit fonksiyonlarını istatistiksel olarak anlamlı derecede inhibe etmiştir.

Trombositlerin vasküler dokuda endotel hücreleri ile karşılıklı etkileşim içinde oldukları iyi bilinmektedir. Ayrıca vasküler risk faktörlerinin Alzheimer hastalığının patogenezini araştırmaya yönelik çeşitli çalışmalarda literatürde yer aldığı bilinmektedir (312, 313, 314). Alzheimer hastalığı patofizyolojisinin bir açıklaması olarak vasküler hipotez, amiloid kaskad hipotezine bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Bu hipotez, kan

damarlarını nöronal hasara ve bunamaya yol açan çeşitli patojenik yolların kaynağı olarak bulur. Kan-beyin bariyerinin organizasyonunun tahrip edilmesi, serebral kan akışının azalması ve enflamatuar bir bağlamın oluşturulması, bu faktörler beyinde β-amiloid peptitin birikmesini teşvik ettiği için sonraki nöronal hasarlardan sorumlu olacaktır. Nörodejenerasyon ve vasküler disfonksiyon yolakları arasındaki bağlantı, AH için tedavilere katkıda bulunacak yeni ilaç hedefleri ve terapötik yaklaşımlar sağlamıştır. AH'deki vasküler bileşenin hastalığın nedeni veya etkisi olup olmadığını belirlemek zordur, ancak şüphesiz vasküler patolojinin AH ile önemli bir ilişkisi vardır. Vasküler disfonksiyonun, AH'de bulunan bilişsel bozukluğu şiddetlendiren bir döngüdeki nörodejeneratif değişikliklerle sinerjik olarak hareket etmesi muhtemeldir (315).

Epidemiyolojik ve klinik çalışmalardan elde edilen kanıtlar, vasküler risk faktörlerinin AH'na dahil olabileceğini düşündürmektedir. Vasküler rahatsızlıkların AH patogenezine kesin katkısı hala net olmasa da, hastalıkla ilgili çeşitli biyokimyasal ve nöropatolojik veriler beyindeki kan akışının azalması ve beyin parankiminde bozulmuş mikrovasküler bütünlüğün doğrudan veya orta düzeyde rol oynadığı görüşünü güçlendirmektedir. AH'da trombosit anormallikleri ve hemostatik değişikliklere dikkat çeken yayınlar literatürde mevcuttur (316). Yapılan literatür taramasında erken evre AH'da trombosit amiloid öncü protein (APP) işleme bozukluklarının kanıtları ve trombomodulin ve sE-selektin serum düzeyleri endotel disfonksiyonunun hassas göstergelerini bildirilmiştir. Elde ettikleri bulgular doğrultusunda trombosit disfonksiyonunun ve mikrovaskülatür eksikliklerinin AH seyri sırasında oldukça erken ortaya çıktığını ve dolayısıyla AH ile ilişkili süreçler ve vasküler bozukluklar arasında daha fazla bağlantı olabileceğini ileri sürmektedir (316).

von Willebrand Faktör, endotel hasarı veya disfonksiyonu belirteci olarak birçok hastalıkta araştırılmış multimerik bir proteindir (95). Endotel hasarı veya disfonksiyon belirteci olmasının yanısıra vWF, trombositlerin GP1b reseptörleri aracılığı ile hasarlı damar duvarındaki endotel yüzeyine tutunmasını sağlar (115, 116, 101, 105). von Willebrand Faktör'ün eksikliği, vWF miktarının düşük veya vWF'ün defektif olmasıyla karakterize olup, kanama ve pıhtılaşma problemi yaratan epistaksis ve menoraji gibi değişken şiddette mukokütanöz kanama semptomlarına ve von Willebrand hastalığına yol açar (103), bu faktörün (vWF) fazlalığı ise endotel hasarı ile ilişkilendirilebilecek bir parametre olduğu için daha çok kardiyo vasküler hastalıklar (CVH), diyabet, akut koroner sendrom gibi hastalıklarda sıklıkla araştırılmıştır (135, 136). Trombositin endotel

yüzeyine bağlanması trombositin aktifleşerek granül içeriğini dolaşıma boşaltması ile sonuçlanır (42). Bizler çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarında ELISA yöntemi ile vWF (ng/ml) ve GP1b (ng/ml) plazma düzeylerini tespit ederek bu 2 proteinin hastalık patofizyolojisindeki rollerini ve trombosit fonksiyonları ile olan ilişkisini araştırdık. Elde ettiğimiz verilere göre hasta ve kontrol gruplarında ayrıca değerlendirdiğimiz alt gruplarımızda vWF (ng/ml) ve GP1b (ng/ml) düzeylerini tespit ettik. Total hasta ve kontrol gruplarını değerlendirdiğimiz bulgularımıza göre plazma GP1b düzeyleri kontrole göre hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 4-2). vWF (ng/ml) hasta grubunda kontrole göre nispeten yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 4-2). Hasta grubu içinde MR Fazekas 0-1 ile kontrol grubunu kıyasladığımız değerlendirmede her iki parametre de hasta grubunda kontrole göre yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. Bulgularımız Tablo 4-3'te ve Şekil 4-10 ve Şekil 4-11'de gösterilmiştir. Hasta gruplarında MR fazekas 0-1 sınıflandırmasına göre ASA'nın etkilerini incelediğimizde, MR Fazekas 0-1 grubunda ASA kulanan ve kullanmayan hastalarda vWF ve GP1b plazma düzeyleri açısından istatistiksel bir anlamlılık olmamasına rağmen vWF ve GP1b düzeyleri aspirin kullanmayan grupta, aspirin kullananlara göre daha düşük bulunmuştur. İlgili veriler Tablo 4-4 gösterilmiştir. Bulgularımız Şekil 4-17 ve Şekil 4-18'da grafik olarak verilmiştir.

Hasta gruplarında MR fazekas 2-3 sınıflandırmasına göre ASA'nın etkilerini incelediğimizde, MR Fazekas 2-3 grubunda ASA kulanan ve kullanmayanlarda vWF ve GP1b plazma düzeyleri açısından istatistiksel bir anlamlılık olmamasına rağmen vWF düzeyleri aspirin kullanmayan grupta, aspirin kullananlara göre nispeten daha yüksek bulunmuştur. İlgili veriler Tablo 4-5 gösterilmiştir. Fazekas 0-1 grubunda aspirin kullanmayan hastalarda, kullananlara göre veya Fazekas 2-3 grubunda vWF düzeyleri aspirin kullanmayan hastalarda, kullananlara göre anlamlı bir fark görülmemiştir. (Tablo 4-4, Tablo 4-5).

Yaptığımız literatür taramalarında vasküler hasar ve endotelyal disfonksiyon biyobelirteçlerinden olduğu bilinen ve endotel hücrelerinden sentezlenen vWF'ün Alzheimer hastalığındaki rolü üzerine yapılan bir çalışmada, 20 hasta ve 20 kontrolden oluşan gruplarda vWF değerleri ELISA yöntemiyle ölçülmüş, hasta grubunda kontrole göre vWF düzeyi yüksek çıkmasına rağmen, gruplar arasında herhangi bir anlamlı

farklılık görülmemiştir (317). Bu çalışmanın sonuçları bizim çalışma sonuçlarındaki Tablo 4-2 ‘de belirttiğimiz hasta-kontrol değerlendirmesi ile uyumludur.

Alzheimer hastalığı olan 95 kişi, Vasküler demansı (VaD) olan 55 kişi ve 154 sağlıklı kontrol grubunda hemostatik ve fibrinolitik parametrelerin yanısıra vWF düzeylerinin ELISA yöntemiyle araştırıldığı bir çalışmada, değerlendirilen vWF düzeyleri VaD grubunda AH’na göre daha yüksek bulunmasına rağmen her iki hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiş ve her iki demans grubundaki hastaların plazma vWF düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunun VWF düzeyleri, demans gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (318). Çalışmada vWF düzeylerinin demans gruplarında (hem vasküler demasda hem de Alzheimer tipi demansda) kontrole göre yüksek olması hasta gruplarında endotel disfonksiyonun kontrol grubuna göre daha fazla olduğuna işaret edebilir fakat tek başına vWF düzeyleri her iki demansı birbirinden ayırmak için uygun ve yeterli bir parametre değildir. Bu çalışmanın sonuçları, bizim çalışmamızın sonuçları ile uyumludur.

Trombositlerin GP1b reseptörleri aracılığı ile endotel üzerindeki vWF’e bağlandıkları bilinmektedir. Trombosit aktivasyon belirteçlerinden biri olan ve trombosit yüzeyinde yer alan GP1b, proteolitik yolla aktif trombositlerin yüzeyinden dökülüp soluble GP1b olarak çeşitli yöntemlerle kanda tespit edilebilir. Yaptığımız literatür taramalarında böbrek hastalığı olan ve homodiyaliz alan hastalarda morbidite ve mortalite oranlarının tespit edildiği büyük ölçekli bir çalışmada 671 kişilik hemodiyaliz ve 275 kişi sürekli ayaktan periton diyalizi alan hastalarda, endotel ve trombosit aktivasyon belirteçleri ELISA yöntemi ile tespit edilmiştir. Endotel aktivasyon belirteci olarak vWF düzeyleri, trombosit aktivasyon belirteçlerinden biri olarak da GP1b düzeyleri ELISA yöntemi ile saptanmıştır. Sonuç olarak yapılan çalışmada endotel disfonksiyon belirteçlerinden vWF hemodiyaliz hastalarında toplam mortalite ile pozitif korelasyon gösterirken, trombosit aktivasyon belirteçleri ile toplam mortalite, hemodiyaliz ve ayaktan peritonal diyaliz hastaları arasında ilişki bulunmadığı tespit edilmiştir (319).

Bizler de yaptığımız çalışmada Alzheimer tipi demans hastalarında ve kontrol gruplarında plazma GP1b düzeylerini ELISA yöntemiyle tespit ederek, bu proteinin hasta ve kontrol gruplarında ve ayırdığımız alt gruplardaki düzeylerini gözlemledik. Plazma vWF ve GP1b düzeylerinin çalıştığımız hastalıkla ilişkisi olup olmadığını araştırdık. Çalışmamızdaki bulgularımıza göre GP1b düzeylerinin, hasta grubunda kontrole kıyasla

istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit ettik. Hasta ve kontrol grubuna ait değerler Tablo 4-2'de verilmiştir. GP1b düzeyinin hasta grubunda kontrole göre anlamlı derecede yüksek olması trombositin artmış adezyon fonksiyonuna işaret edebilir. vWF'ün plazma düzeylerinin hasta grubunda kontrole göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Hasta gruplarındaki artmış plazma GP1b düzeylerin, endotel ve trombosit arasındaki ilişkisini daha net açıklamak için hasta ve kontrol gruplarında GP1b düzeyleri, trombosit yüzey GP1b ekspresyon seviyeleri ile karşılaştırılabilir. Bu bağlamda artmış plazma GP1b düzeylerinin hastalıkla olan ilişkisinin trombositle olan bağlantısı daha net açıklanabilir. Hasta grubunda plazma vWF düzeylerine göre, plazma GP1b düzeylerinde gözlemlediğimiz anlamlı artış, hastalarda trombositin GP1b ekspresyonu ile ilgili olabilir.

Yaptığımız çalışmada GP1b düzeylerini MR Fazekas 0-1 hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırdığımızda, bulgularımız hastalarda yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlıya yakın olarak değerlendirilmiştir. Bulgularımıza ait değerler Tablo 4-3'te verilmiş, Şekil 4-10'de grafik olarak gösterilmiştir. Çalışmamızda Fazekas 0-1 ve Fazekas 2-3 hasta gruplarında, ASA kullanan ve kullanmayan hastaları gruplandırıp yaptığımız incelemede gruplar arasında ASA kullanımı ile GP1b düzeyleri açısından herhangi farklılık gözlenmemiştir. Bulgularımıza ait değerler Tablo 4-4 ve 4-5'te verilmiş, Şekil 4-17 ve Şekil 4-24'te grafik olarak gösterilmiştir. Çalışmamızın bulgularına dair istatistiksel olarak GP1b plazma düzeylerinin, ASA kullanımı ve Fazekas sınıflandırması ile aralarında bağlantı olmadığını düşündürmektedir.

Yaptığımız literatür taramalarında, Alzheimer tipi demansda plazma GP1b düzeylerini farklı tekniklerle araştıran az sayıda makaleye rastlanmıştır. Dolayısıyla çalışmamız literatürdeki bu boşluğu da dolduracaktır (322).

Projemizde araştırdığımız biyobelirteçlerden biri olan miRNA'lar posttranskripsiyonel aşamada mRNA'ları hedef alarak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol alan molekülleridir. miRNA'lar hücre büyümesi, farklılaşması, gelişim, apoptoz, hücre metabolizması, stres adaptasyonu, hormon sinyalizasyonu gibi farklı fizyolojik ve biyolojik süreçleri yönetebilmektedir (320). hsa-miR24'ün vWF regüle edebileceği literatürde öne sürülmüş olup(165) benzer şekilde miR-26a'nın endotel hücre biyolojisindeki rolünü ve anjiyogenezle olan bağlantılarını gösteren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca miR26'nın zayıf kardiyovasküler fonksiyon ve sonuçları

içeren hastalık durumlarında (179), diyabetik yara iyileşmesi (180) ve nörodejeneratif bozukluklarda çalışıldığı bildirilmiştir (181). Bu sebeple yaptığımız çalışmada hsa-miR24-3p ve hsa-mir-26a-5p'nin ekspresyon düzeylerinin hasta ve kontrol gruplarında ne şekilde değiştiğini, hastalıkla ilgisini araştırdığımız proteinlerden vWF ve GP1b ile olan ilişkilerini inceledik. Bulgularımıza göre her 2 miRNA'nın göreceli ekspresyon düzeyleri hasta grubunda kontrole göre düşük bulunmuştur ve bu değerler hsa-miR-26a-5p'de istatistiksel olarak anlamlı derece düşüktür. Hasta ve kontrol gruplarına ilişkin göreceli miRNA düzeyleri Tablo 4-2'de verilmiş ve Şekil 4-5 ile 4-6'de grafik olarak gösterilmiştir.

MR Fazekas 0-1 olan hasta ve kontrol gruplarıda hsa-miR24-3p ve hsa-miR26a-5p göreceli ekspresyon seviyelerinin hasta grubunda kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı decede düşük olduğu bulunmuştur. (Tablo 4-3,Şekil 4-12, 4-13).

MR Fazekas 0-1 Durumuna göre ASA Kullanan ve Kullanmayan Hastaların miRNA göreceli ekspresyon düzeylerini karşılaştırdığımızda ASA kullananların kullanmayanlara göre ekspresyon seviyelerinin düştüğü, bu düşüşün hsa-miR26a- 5p'de istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür (Tablo 4-4, ve Şekil 4-19, 4-20).

Yapılan çalışmalarda miR-24'ün vasküler endotelyal hücrelere aracılık etmede hayati bir molekül olduğunu göstermiştir (156, 157).Yaptığımız literatür taramalarında miR24'ün vWF'ü represe ettiği gösterilmiştir (165). Bizler çalıştığımız hasta gruplarında kontrole kıyasla hsa-miR24-3p'nin göreceli ekspresyonun azaldığını fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediğini tespit ettik. Çalıştığımız Alzheimer tipi demansla ilgili hasta grubunda hsa-miR24-3p göreceli ekspresyonundaki bu azalmanın vWF (ng/ml) düzeyleri üzerine ne şekilde etki ettiğini incelemek amacı ile yaptığımız korelasyon analizinde Hasta grubunda olan kişilerin hsa-miR24-3p göreceli ekspresyon değerleri ile vWF (ng/ml) düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır Bu bulgumuz Xiang ark'ın ileri sürdüğü bilgi ile çelişmektedir. Hasta grubumuzda düşük eksprese olan hsa-miR24-3p, hasta grubundaki vWF (ng/ml) düzeylerini arttırmak yönünde etkili olmamıştır. Ayrıca kontrol grubunda olan kişilerin hsa-mir24-3p göreceli ekspresyon değerleri ile vWF (ng/ml) düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Kontrol grubuna ait yaptığımız korelasyon analiz sonuçlarına göre sağlıklı Kontrol grubunda hsa-miR26a-5p ile hsa-mir24-3p göreceli ekspresyon değerleri

arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptandı. (Şekil 4-28). Ayrıca Alzheimer tipi demans hastalığını çalıştığımız hasta grubumuzda hsa-miR26a-5p ile hsa-miR24-3p göreceli ekspresyon değerleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır. (Şekil 4-32). Her iki miRNA hastada ve kontrolde anlamlı yönde pozitif koreledir.

Kontrol grubuna ait yapılan korelasyon analiz sonuçlarından elde ettiğimiz verilere göre, hsa-miR24-3p ile trombosit agregasyonu (Eğim Ω) verileri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır. İlgili analiz sonucu Şekil 4-30'de gösterilmiştir. Yine kontrol gubuna ait korelasyon analiz sonuçlarımızı incelediğimizde trombosit agregasyonu (Eğim Ω) verileri ile hsa-miR26a-5p göreceli ekspresyon değerleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptandı (Şekil 4-29). İlgili korelasyon analiz sonuçları Şekil 4-29'da verilmiştir. Ayrıca Alzheimer tipi demansda çalıştığımız hasta grubunda trombosit agregasyonu (eğim Ω) değerleri ile hsa-miR24-3p göreceli ekspresyon değerleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır. Hasta grubuna ait korelasyon analiz sonuçlarımız Şekil 4-35'te verilmiştir. Ayrıca hasta grubuna ait hsa-miR26a-5p göreceli ekspresyon değerleri ile trombosit agregasyonu (Eğim Ω) verilerini incelediğimizde aralarında pozitif yönde anlamlı korelasyon olduğu saptanmıştır. Hasta grubuna ait ilgili değerler Şekil 4-34'te verilmiştir. Tüm bu bilgilerden yola çıkarak, trombosit fonksiyonlarını değerlendirmek için kullandığımız trombosit agregasyonu (Eğim Ω) değerleri ile çalıştığımız her iki miRNA'nın hem hasta hem de kontrol grubunda pozitif yönde korele çıktığını gözlemledik. Bu bilgiler bize hsa-miR24-3p ve hsa-miR26a-5p'nin trombositlerin adezyon ve sekresyon fonksiyonlarıyla ilgili bir moleküler yolakta ikisinin birden rol oynadığını düşündürmektedir. Yaptığımız literatür taramalarında trombositin adezyon ve sekresyon fonksiyonlarının araştırıldığı moleküler yolakta çalıştığımız her iki miRNA'yı içeren herhangi bir yayına rastlanmamıştır. Bu bulgularımız çalıştığımız alanda literatüre yeni katkılar yapacaktır. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre hsa-miR24-3p ve hsa-miR26a-5p'nin trombosit fonksiyonları üzerine, özellikle adezyon ve sekresyon fonksiyonlarıyla ilgili moleküler yolaklarla bağlantılı olduğunu öngörüyor, trombosit ve hastalıklarla ilgili bu yolakların aydınlatılmasına yönelik bundan sonraki araştırmalarda yaptığımız bu çalışmanın öncü olacağını ve yol göstereceğini umut ediyoruz. Elde ettiğimiz bulguların, alanda çalışma yapan araştırmacılar tarafından farklı hastalıkların mekanizmalarının araştırılmasında da denenmesini öneriyoruz.

## KAYNAKLAR


1. Ulutin, O. N. (1976). The platelets: Fundamentals and clinical applications. Kâğit ve Basim Isleri AS.
2. Siegel-Axel, D. I., & Gawaz, M. (2007, March). Platelets and endothelial cells. In Seminars in thrombosis and hemostasis (Vol. 33, No. 02, pp. 128-135). Copyright© 2007 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.
3. Caen JP, Rosa JP. Platelet-vessel wall interaction: from the bedside to molecules. Thromb Haemost 1995; 74:18-24.
4. Leytin, V., Allen, D. J., Gwozdz, A., Garvey, B., & Freedman, J. (2004). Role of platelet surface glycoprotein Ibα and P- selectin in the clearance of transfused platelet concentrates. Transfusion, 44(10), 1487-1495.
5. Ruggeri, Z. M. (2003). Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interactions. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 1(7), 1335-1342.
6. Catricala, S., Torti, M., & Ricevuti, G. (2012). Alzheimer disease and platelets: how's that relevant. Immunity & Ageing, 9(1), 20.
7. Donovan, L. E., Dammer, E. B., Duong, D. M., Hanfelt, J. J., Levey, A. I., Seyfried, N. T., & Lah, J. J. (2013). Exploring the potential of the platelet membrane proteome as a source of peripheral biomarkers for Alzheimer's disease. Alzheimer's research & therapy, 5(3), 32.
8. Gowert, N. S., Donner, L., Chatterjee, M., Eisele, Y. S., Towhid, S. T., Münzer, P., & Schaller, M. (2014). Blood platelets in the progression of Alzheimer's disease. PLoS One, 9(2), e90523.
9. Di Luca, M., Pastorino, L., Bianchetti, A., Perez, J., Vignolo, L. A., Lenzi, G. L., & Padovani, A. (1998). Differential level of platelet amyloid β precursor protein isoforms: an early marker for Alzheimer disease. Archives of neurology, 55(9), 1195-1200.
10. Bizzozero J. Ueber einen neuen formbestandheil des blutes und dessen rolle bei der thrombose und der blutgerinnung. Arch Pathol Anat Physiol, 1882: 90, 261–332.
11. Schimmelbusch G: Die bultplattchem und die blutgerrinnung wirchows. Arch. J. Path. Anat. 101:201, 1885.

12. Wintrobe, M., Lee, G.R., Roggs, D., Bithell, J., Forester, J.: Platelets and megakaryocytes. Clinical Hematology, 8th Edition, Lea and Febigel Company, USA, 355-379, 1981.
13. Ulutin, O.N. Platelet morphology. The Platelets, 1st Edition, Kağıt ve Basım İşleri A.Ş., Turkey, 7-36, 1976.
14. Normal platelets.Eds: Beutler E, Lichtman MA, Kipps TJ, Seligsohn A,Kaushanky K,Prchal JT. Williams Hematology.7th ed. McGraw-Hill Co. New York.2007. Part XI. Transfusion Medicine > Color Atlas XIII
15. Holmsen, H.: Physiological Functions of platelets. Annals of Medicine. 21:2330 (1989).
16. White JG. Platelets Structure. Platelets, Editor Alan D. Michelson, London, UK, Second Edition, 2007: 45-73
17. Selvadurai, M. V., & Hamilton, J. R. (2018). Structure and function of the open canalicular system–the platelet's specialized internal membrane network. Platelets, 29(4), 319-325.
18. White JG, Escolar G. Current concepts of platelet membrane response to surface activation. Platelets, 1993: 4, 175–198..
19. WFH (Nisan 2008). Sharathkumar A.A. ve Shapiro A. World Federation of Hemophilia. Treatment Of Hemophilia, Trombosit Function Disorders.(2 nd edition). Montréal: World Federation of Hemophilia, 1-15. Erişim: 14.05.2014, http://www.exodontia.info/files/Treatment_of_H_mophilia_2008._Trombosit_Function_Disorders.pdf
20. Yadav, S., & Storrie, B. (2017). The cellular basis of platelet secretion: emerging structure/function relationships. Platelets, 28(2), 108-118.
21. Advances in platelet granule biology Secil Koseoglu;Robert Flaumenhaft;
22. Sorting machineries: how platelet-dense granules differ from α-granules Yuanying Chen, Yefeng Yuan and Wei Li
23. King, S.M. and Reed, G.L. (2002) Development of platelet secretory granules. Semin. Cell Dev. Biol. 13, 293–302.
24. Blair, P. and Flaumenhaft, R. (2009) Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. Blood Rev. 23, 177–189.
25. Ambrosio, A.L. and Di Pietro, S.M. (2017) Storage pool diseases illuminate platelet dense granule biogenesis. Platelets 28, 138–146.

26. McNicol, A. and Israels, S.J. (1999) Platelet dense granules: structure, function and implications for haemostasis. Thromb. Res. 95, 1–18.
27. White, J.G. (2008) Electron opaque structures in human platelets: which are or are not dense bodies? Platelets 19, 455–466.
28. KA B. Wiliams Hematology. In: Hill M, editor. 4 th ed. New York; 1994. p.1531-43.
29. White JG. Platelets Structure. Platelets, Editor Alan D. Michelson, London, UK, Third Edition, 2013: 349-350.
30. Wanders, R. J. (2013). Peroxisomes in human health and disease: metabolic pathways, metabolite transport, interplay with other organelles and signal transduction. In Peroxisomes and their Key Role in Cellular Signaling and Metabolism (pp. 23-44). Springer, Dordrecht.
31. Shattil SJ, Ginsberg MH, Brugge JS. Adhesive signaling in platelets. Curr Opin Cell Biol 1994; 6:695–704.
32. Fox JE. The platelet cytoskeleton. Thromb Haemost 1993; 70:884–893.
33. Clemetson KJ, Clemetson JM. Platelet GPIb-V-IX complex. Structure, function, physiology, and pathology. Semin Thromb Hemost 1995;21:130–136.
34. Jurk K, Clemetson KJ, de Groot PG, et al. Thrombospondin1 mediates platelet adhesion at high shear via glycoprotein Ib (GPIb): an alternative/backup mechanism to von Willebrand factor. FASEB J 2003; 17: 1490–1492.
35. Frenette PS, Denis CV, Weiss L, et al. P-Selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is expressed on platelets and can mediate platelet-endothelial interactions in vivo. J Exp Med 2000; 191: 1413–1422.
36. Romo GM, Dong JF, Schade AJ, et al. The glycoprotein IbIX-V complex is a platelet counterreceptor for P-selectin. J Exp Med 1999; 190: 803–814.
37. Kehrel B. Platelet-collagen interactions. Semin Thromb Hemost 1995; 21:123–129.
38. Kehrel B, Balleisen L, Kokott R, et al. Deficiency of intact thrombospondin and membrane glycoprotein Ia in platelets with defective collagen-induced aggregation and spontaneous loss of disorder. Blood 1988; 71: 1074–1078.
39. Polgar J, Clemetson JM, Kehrel BE, et al. Platelet activation and signal transduction by convulxin, a C-type lectin from Crotalus durissus terrificus

(tropical rattlesnake) venom via the p62/GPVI collagen receptor. J Biol Chem 1997; 272: 13576–13583.

40. KehrelBE, Wierwille S,Clemetson KJ, etal.Glycoprotein VI is a major collagen receptor for platelet activation: it recognizes the platelet-activating quaternary structure of collagen, whereas CD36, glycoprotein IIb/IIIa, and von Willebrand factor do not. Blood 1998; 91: 491–499.
41. Clemetson JM, Polgar J, Magnenat E, Wells TN, Clemetson KJ. The platelet collagen receptor glycoprotein VI is a member of the immunoglobulin superfamily closely related to FcalphaR and the natural killer receptors. J Biol Chem 1999; 274: 29019–29024.
42. Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. Platelets 2001; 12: 261–273.
43. Gachet C. ADP receptors of platelets and their inhibition. Thromb Haemost 2001; 86: 222–232.
44. Fabre JE, Nguyen M, Latour A, et al. Decreased platelet aggregation, increased bleeding time and resistance to thromboembolism in P2Y1-deficient mice. Nat Med 1999; 5: 1199–1202.
45. Dorsam RT, Kunapuli SP. Central role of the P2Y(12) receptorinplatelet activation.JClinInvest, 2004; 113: 340–345.
46. Marcus AJ, Broekman MJ, Drosopoulos JH, et al. The endothelial cell ecto-ADPase responsible for inhibition of platelet function is CD39. J Clin Invest 1997; 99: 1351– 1360.
47. Dale GL, Friese P, Batar P, et al. Stimulated platelets use serotonin to enhance their retention of procoagulant proteins on the cell surface. Nature 2002; 415: 175–179.
48. Nesbitt WS, Giuliano S, Kulkarni S, Dopheide SM, Harper IS, Jackson SP. Intercellular calcium communication regulates platelet aggregation and thrombus growth. J Cell Biol 2003; 160: 1151–1161.
49. Kehrel B, Flicker E, Wigbels B, Osterfeld M, van de Loo J, Luscher EF. Thrombospondin measured in whole blood—an indicator of platelet activation. Blood Coagul Fibrinolysis 1996; 7: 202–205.

50. Singbartl K, Forlow SB, Ley K. Platelet, but not endothelial, P-selectin is critical for neutrophil-mediated acute postischemic renal failure. FASEB J 2001; 15: 2337–2344.
51. Furie B, Furie BC, Flaumenhaft R. A journey with platelet Pselectin: the molecular basis of granule secretion, signalling and cell adhesion. Thromb Haemost 2001; 86:214–221.
52. Lu¨scher EF, Weber A. The formation of the haemostatic plug—a special case of platelet aggregation. An experiment and a survey of the literature. Thromb Haemost 1993; 70: 234– 237.
53. Phillips DR, Law D, Scarborough RM. Glycoprotein IIb-IIIa in platelet aggregation: an emerging target for the prevention of acute coronary thrombotic occlusions. Arch Pathol Lab Med 1998; 122: 811–812.
54. Payrastre B, Missy K, Trumel C, Bodin S, Plantavid M, Chap H. The integrin alpha IIb/beta 3 in human platelet signal transduction. Biochem Pharmacol 2000; 60:1069– 1074.
55. Lahav J, Jurk K, Hess O, et al. Sustained integrin ligation involves extracellular free sulfhydryls and enzymatically catalyzed disulfide exchange. Blood 2002;100:2472–2478.
56. Morgenstern E, Kehrel BE, Matzdorff A, et al. How do platelets aggregate? [abstract]Ann Hematol 2001;80:48.
57. Ruggeri ZM. Mechanisms of shear-induced platelet adhesion and aggregation. Thromb Haemost 1993; 70:119–123.
58. Puccetti L, Pasqui AL, Pastorelli M, et al. Platelet hyperactivity after statin treatment discontinuation. Thromb Haemost 2003;90:476–482.
59. Falati S, Liu Q, Gross P, et al. Accumulation of tissue factor into developing thrombi in vivo is dependent upon microparticle P-selectin glycoprotein ligand 1 and platelet P-selectin. J Exp Med 2003; 197:1585–1598.
60. Huo Y, Schober A, Forlow SB, et al. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E. Nat Med 2003;9:61–67.
61. Esposito CJ, Popescu WM, Rinder HM, et al. Increased leukocyte-platelet adhesion in patients with graft occlusion after peripheral vascular surgery. Thromb Haemost 2003;90: 1128–1134.

62. Hoffmeister KM, Josefsson EC, Isaac NA, Clausen H, Hartwig JH, Stossel TP. Glycosylation restores survival of chilled blood platelets. Science 2003; 301:1531–1534.
63. Smolenski A. Novel roles of cAMP/cGMP- dependent signaling in platelets. J Thromb Haemost. 2012;10:167–76.
64. Walter U, Gambaryan S. cGMP and cGMP- dependent protein kinase in platelets and blood cells. Handb Exp Pharmacol. 2009;191:533–48.
65. Nagy, Z., & Smolenski, A. (2018). Cyclic nucleotide- dependent inhibitory signaling interweaves with activating pathways to determine platelet responses. Research and practice in thrombosis and haemostasis, 2(3), 558-571.
66. Brass LF, Tomaiuolo M, Stalker TJ. Harnessing the platelet signaling network to produce an optimal hemostatic response. Hematol Oncol Clin North Am. 2013;27:381–409.
67. Bye AP, Unsworth AJ, Gibbins JM. Platelet signaling: a complex interplay between inhibitory and activatory networks. J Thromb Haemost. 2016;14:918–30.
68. Offermanns, S. (2006). Activation of platelet function through G protein–coupled receptors. Circulation research, 99(12), 1293-1304.
69. Johnson GJ, Leis LA, Dunlop PC. Specificity of G alpha q and G alpha 11 gene expression in platelets and erythrocytes. Expressions of cellular differentiation and species differences. Biochem J. 1996;318 (p 3):1023–1031.
70. Offermanns S, Toombs CF, Hu YH, Simon MI. Defective platelet activation in G alpha(q)-deficient mice. Nature. 1997;389:183–186.
71. Hart MJ, Jiang X, Kozasa T, Roscoe W, Singer WD, Gilman AG, Sternweis PC, Bollag G. Direct stimulation of the guanine nucleotide exchange activity of p115 RhoGEF by Galpha13. Science. 1998;280: 2112–2114.
72. Fukuhara S, Chikumi H, Gutkind JS. RGS-containing RhoGEFs: the missing link between transforming G proteins and Rho? Oncogene. 2001;20:1661–1668.
73. Clapham DE, Neer EJ. G protein beta gamma subunits. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 1997;37:167–203.
74. Vanhaesebroeck B, Leevers SJ, Ahmadi K, Timms J, Katso R, Driscoll PC, Woscholski R, Parker PJ, Waterfield MD. Synthesis and function of 3-phosphorylated inositol lipids. Annu Rev Biochem. 2001;70:535– 602.

75. Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. Science. 2002;296: 1655–1657.
76. Mezger, M., Göbel, K., Kraft, P., Meuth, S. G., Kleinschnitz, C., & Langer, H. F. (2015). Platelets and vascular inflammation of the brain. Hämostaseologie, 35(03), 244-251.
77. Wong, B. W., Marsch, E., Treps, L., Baes, M., & Carmeliet, P. (2017). Endothelial cell metabolism in health and disease: impact of hypoxia. The EMBO journal, 36(15), 2187-2203.
78. Coenen, D. M., Mastenbroek, T. G., & Cosemans, J. M. (2017). Platelet interaction with activated endothelium: mechanistic insights from microfluidics. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 130(26), 2819-2828.
79. Sieve, I., Muenster-Kuehnel, A. K., & Hilfiker-Kleiner, D. (2018). Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases. Vascular pharmacology, 100, 26-33.
80. Magness, R. R., Rosenfeld, C. R., Hassan, A., & Shaul, P. W. (1996). Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. I. Effects of ANG II on PGI2 and NO in pregnancy. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 270(6), H1914-H1923.
81. Vanhoutte, P. M. (1993). Endothelial dysfunction and coronary heart disease. Interaction of endothelium and thrombocytes. Schweizerische Rundschau fur Medizin Praxis= Revue suisse de medecine Praxis, 82(42), 1161-1166.
82. Anderson, T. J., Gerhard, M. D., Meredith, I. T., Charbonneau, F., Delagrange, D., Creager, M. A., ... & Ganz, P. (1995). Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. The American journal of cardiology, 75(6), 71B-74B.
83. Konukoglu, D., & Uzun, H. (2016). Endothelial dysfunction and hypertension. In Hypertension: from basic research to clinical practice (pp. 511-540). Springer, Cham.
84. Furie, B., & Furie, B. C. (2004). Role of platelet P-selectin and microparticle PSGL-1 in thrombus formation. Trends in molecular medicine, 10(4), 171-178.
85. Wang, M., Hao, H., Leeper, N. J., & Zhu, L. (2018). Thrombotic regulation from the endothelial cell perspectives. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 38(6), e90-e95.

86. Chavakis T, Pixley RA, Isordia-Salas I, Colman RW, Preissner KT. A novel antithrombotic role for high molecular weight kininogen as inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1 function. J Biol Chem (2002) 277(36):32677–82. doi:10.1074/jbc.M204010200
87. García-Morales, V., Luaces-Regueira, M., & Campos-Toimil, M. (2017). The cAMP effectors PKA and Epac activate endothelial NO synthase through PI3K/Akt pathway in human endothelial cells. Biochemical pharmacology, 145, 94-101.
88. Hamilos, M., Petousis, S., & Parthenakis, F. (2018). Interaction between platelets and endothelium: from pathophysiology to new therapeutic options. Cardiovascular diagnosis and therapy, 8(5), 568.
89. Zucker TP, Bönisch D, Muck S, et al. Thromboxane A2 potentiates thrombin-induced proliferation of coronary artery smooth muscle cells. Adv Exp Med Biol 1997;433:387-90.
90. Kobayashi T, Tahara Y, Matsumoto M, et al. Roles of thromboxane A(2) and prostacyclin in the development of atherosclerosis in apoE-deficient mice. J Clin Invest 2004;114:784-94.
91. Hohlfeld T, Schrör K. Antiinflammatory effects of aspirin in ACS: relevant to its cardiocoronary actions? Thromb Haemost 2015;114:469-77.
92. Husain S, Andrews NP, David Mulcahy D, et al. Aspirin Improves Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis. Circulation 1998;97:716-20.
93. Monobe H, Yamanari H, Nakamura K, et al. Effects of low-dose aspirin on endothelial function in hypertensive patients. Clin Cardiol 2001;24:705-9.
94. Knowles, R. B., & Warner, T. D. (2019). Anti-platelet drugs and their necessary interaction with endothelial mediators and platelet cyclic nucleotides for therapeutic efficacy. Pharmacology & therapeutics, 193, 83-90.
95. Luo, G. P., Ni, B., Yang, X., & Wu, Y. Z. (2012). von Willebrand factor: more than a regulator of hemostasis and thrombosis. Acta haematologica, 128(3), 158-169.
96. De Meyer SF, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K: von Willebrand factor to the rescue. Blood 2009; 113: 5049–5057.

97. Petri B, Broermann A, Li H, Khandoga AG, Zarbock A, Krombach F: von Willebrand factor promotes leukocyte extravasation. Blood 2010; 116(22): 4712-4719.
98. Dasgupta S, Repesse Y, Bayry J, Navarrete AM, Wootla B, Delignat S, Irinopoulou T, Kamaté C, Saint-Remy JM, Jacquemin M, Lenting PJ, Borel-Derlon A, Kaveri SV, Lacroix-Desmazes S: vWF protects FVIII from endocytosis by dendritic cells and subsequent presentation to immune effectors. Blood 2007; 109: 610–612.
99. Ginsburg D, Handin RI, Bonthron DT, Donlon TA, Bruns GA, Latt SA, Orkin SH: Human von Willebrand factor (vWF): isolation of complementary DNA (cDNA) clones and chromosomal localization. Science 1985; 228: 1401–1406.
100. Allen S, Abuzenadah AM, Hinks J, Blagg JL, Gursel T, Ingerslev J, Goodeve AC, Peake IR, Daly ME: A novel von Willebrand diseasecausing mutation (Arg273Trp) in the von Willebrand factor propeptide that results in defective multimerization and secretion. Blood 2000; 96: 560–568.
101. Wagner DD, Marder VJ: Biosynthesis of von Willebrand protein by human endothelial cells: processing steps and their intracellular localization. J Cell Biol 1984; 99: 2123–2130.
102. Titani K, Kumar S, Takio K, Ericsson LH, Wade RD, Ashida K, Walsh KA, Chopek MW, Sadler JE, Fujikawa K: Amino acid sequence of human von Willebrand factor. Biochemistry 1986; 25: 3171–3184.
103. Wang JW, Valentijn KM, de Boer HC, Dirven RJ, van Zonneveld AJ, Koster AJ, Voorberg J, Reitsma PH, Eikenboom J: Intracellular storage and regulated secretion of von Willebrand factor in quantitative von Willebrand disease. J Biol Chem 2011; 286: 24180–24188.
104. Zarei S, Frieden M, Rubi B, Villemin P, Gauthier BR, Maechler P, Vischer UM: Dopamine modulates von Willebrand factor secretion in endothelial cells via D2–D4 receptors. J Thromb Haemost 2006; 4: 1588– 1595.
105. Lenting PJ, Pegon JN, Groot E, de Groot PG: Regulation of von Willebrand factor- platelet interactions. Thromb Haemost 2010; 104: 449–455.
106. Lenting PJ, Westein E, Terraube V, Ribba AS, Huizinga EG, Meyer D, de Groot PG, Denis CV: An experimental model to study the in vivo survival of von

Willebrand factor: basic aspects and application to the R1205H mutation. J Biol Chem 2004; 279: 12102–12109.

107. van Schooten CJ, Shahbazi S, Groot E, Oortwijn BD, Marijke Van den B, Ceclie VD, Lenting PJ: Macrophages contribute to the cellular uptake of von Willebrand factor and factor VIII in vivo. Blood 2005; 112: 1704– 1712.

108. Crawley JT, Groot RD, Xiang Y, Luken BM, Lane DA: Unravelling the scissile bond: how ADAMTS13 recognises and cleaves von Willebrand factor. Blood 2011; 118: 3212–3221.

109. Arya M, Anvari B, Romo GM, Cruz MA, Dong JF, McIntire LV, Moake JL, Lopez JA: Ultralarge multimers of von Willebrand factor form spontaneous high-strength bonds with the platelet glycoprotein Ib-IX complex: studies using optical tweezers. Blood 2002; 99: 3971–3977.

110. Furlan M, Robles R, Lämmle B: Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. Blood 1996; 87: 4223–4234.

111. Rens de G, David AL, Crawley JTB: The ADAMTS13 metalloprotease domain roles of subsites in enzyme activity and specificity. Blood 2010; 116: 3064–3072.

112. Zanardelli S, Chion AC, Groot E, Lenting PJ, Mckinnon TA, Laffan MA, Tseng M, Lane DA: A novel binding site for ADAMTS13 constitutively exposed on the surface of globular vWF. Blood 2009; 114: 2819–2828.

113. Andrews RK, Berndt MC: Platelet physiology and thrombosis. Thromb Res 2004; 114: 447–453.

114. Hoffmeister KM, Felbinger TW, Falet H, Denis CV, Bergmeier W, Mayadas TN, von Andrian UH, Wagner DD, Stossel TP, Hartwig JH: The clearance mechanism of chilled blood platelets. Cell 2003; 112: 87–97.

115. Cheng H, Yan R, Li S, Yuan Y, Liu J, Ruan C, Dai K: Shear-induced interaction of platelets with von Willebrand factor results in glycoprotein Ib shedding. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2009; 297: 2128–2135.

116. Mody NA, Lomakin O, Doggett TA, Diacovo TG, King MR: Mechanics of transient platelet adhesion to von Willebrand factor under flow. Biophys J 2005; 88: 1432–1443.

117. Huang J, Roth R, Heuser JE, Sadler JE: Integrin alpha(v)beta(3) on human endothelial cells binds von Willebrand factor strings under fluid shear stress. Blood 2009; 113: 1589– 1597.

118. Fuchs B, Budde U, Schulz A, Kessler CM, Fisseau C, Kannicht C: Flow-based measurements of von Willebrand factor (vWF) function: binding to collagen and platelet adhesion under physiological shear rate. Thromb Res 2010; 125: 239–245.

119. Bonnefoy A, Romijn RA, Vandervoort PAH, Van Rompaey I, Vermylen J, Hoylaerts MF: von Willebrand factor A1 domain can adequately substitute for A3 domain in recruitment of flowing platelets to collagen. J Thromb Haemost 2006; 4: 2151–2161.

120. Ridddell AF, Gomez K, Millar CM, Mellars G, Gill S, Brown SA, Sutherland M, Laffan MA, Mckinnon TA: Characterization of W1745C and S1783A: 2 novel mutations causing defective collagen binding in the A3 domain of von Willebrand factor. Blood 2009; 114: 3489–3496.

121. Romijn RA, Westein E, Bouma B, Schiphorst ME, Sixma JJ, Lenting PJ, Huizinga EG: Mapping the collagen-binding site in the von Willebrand Factor A3-domain. J Biol Chem 2003; 278: 15035–15039.

122. Bovenschen N, Mertens K, Hu L, Havekes L, van Vlijmen B: LDL receptor cooperates with LDL receptor-related protein in regulating plasma levels of coagulation factor VIII in vivo. Blood 2005; 106: 906–912.

123. Mancuso DJ, Tuley EA, Westfield LA, et al. Structure of the gene for human von Willebrand factor. The Journal of biological chemistry. 1989; 264:19514–19527.

124. Yamamoto K, de Waard V, Fearns C, Loskutoff DJ. Tissue distribution and regulation of murine von Willebrand factor gene expression in vivo. Blood. 1998; 92:2791–2801.

125. Liu J, Kanki Y, Okada Y, et al. A +220 GATA motif mediates basal but not endotoxin-repressible expression of the von Willebrand factor promoter in Hprt-targeted transgenic mice. Journal of thrombosis and haemostasis : JTH. 2009; 7:1384–1392.

126. Dmitrieva NI, Burg MB. Secretion of von Willebrand factor by endothelial cells links sodium to hypercoagulability and thrombosis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2014; 111:6485–6490.

127. Jahroudi N, Ardekani AM, Greenberger JS. An NF1-like protein functions as a repressor of the von Willebrand factor promoter. The Journal of biological chemistry. 1996; 271:21413–21421.
128. Schwachtgen JL, Remacle JE, Janel N, et al. Oct-1 is involved in the transcriptional repression of the von willebrand factor gene promoter. Blood. 1998; 92:1247–1258.
129. Peng Y, Jahroudi N. The NFY transcription factor functions as a repressor and activator of the von Willebrand factor promoter. Blood. 2002; 99:2408–2417.
130. Hough C, Cuthbert CD, Notley C, et al. Cell type-specific regulation of von Willebrand factor expression by the E4BP4 transcriptional repressor. Blood. 2005; 105:1531–1539.
131. Hough C, Cameron CL, Notley CR, et al. Influence of a GT repeat element on shear stress responsiveness of the VWF gene promoter. Journal of thrombosis and haemostasis : JTH. 2008; 6:1183–1190.
132. Ware J. Give me an intron: any intron. Blood. 2013; 121:4251–4252.
133. Yuan L, Janes L, Beeler D, et al. Role of RNA splicing in mediating lineage-specific expression of the von Willebrand factor gene in the endothelium. Blood. 2013; 121:4404–4412.
134. Grosser T. microRNA represses macromolecule. Blood. 2015; 125:3365–3366.
135. Xiang Y, Cheng J, Wang D, et al. Hyperglycemia repression of miR-24 coordinately upregulates endothelial cell expression and secretion of von Willebrand factor. Blood. 2015; 125:3377–3387.
136. van der Meijden, P. E., & Heemskerk, J. W. (2019). Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. Nature Reviews Cardiology, 16(3), 166-179.
137. Costa-Filho, R. C., & Bozza, F. A. (2017). Platelets: an outlook from biology through evidence-based achievements in critical care. Annals of translational medicine, 5(22).
138. R.C. Lee, R.L. Feinbaum, V. Ambros, The C. elegans heterochronic gene lin-4 en-codes small RNAs with antisense complementarity to lin-14, Cell 75 (5) (1993), 843–854.

139. B. Wightman, I. Ha, G. Ruvkun, Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-14 by lin-4 mediates temporal pattern formation in C. elegans, Cell 75 (5) (1993) 855–862.
140. Y. Lee, C. Ahn, J. Han, H. Choi, J. Kim, J. Yim, J. Lee, P. Provost, O. Rådmark, S. Kim, V.N. Kim, The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing, Nature 425 (6956) (2003) 415–419.
141. R.I. Gregory, K.P. Yan, G. Amuthan, T. Chendrimada, B. Doratotaj, N. Cooch, R. Shiekhattar, The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs, Nature 432 (7014) (2004) 235–240.
142. M.T. Bohnsack, K. Czaplinski, D. Gorlich, Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs, RNA 10 (2) (2004) 185–191.
143. M. Ha, V.N. Kim, Regulation of microRNA biogenesis, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 15 (8) (2014) 509–524.
144. J. Krol, I. Loedige, W. Filipowicz, The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay, Nat. Rev. Genet. 11 (9) (2010) 597–610.
145. Mulrane, L., McGee, S. F., Gallagher, W. M., & O'Connor, D. P. (2013). miRNA dysregulation in breast cancer. Cancer research, 73(22), 6554-6562.
146. Hayder, H., O'Brien, J., Nadeem, U., & Peng, C. (2018). MicroRNAs: crucial regulators of placental development. Reproduction, 155(6), R259-R271.
147. De Paola, E., Veronica, V., & Paronetto, M. P. (2018). Dysregulation of microRNA metabolism in motor neuron diseases: Nove biomarkers and potential therapeutics. Non-coding RNA research.
148. Vishnoi, A., & Rani, S. (2017). MiRNA biogenesis and regulation of diseases: an overview. In MicroRNA Profiling (pp. 1-10). Humana Press, New York, NY.
149. Mobarra, N., Shafiee, A., Rad, S. M. A. H., Tasharrofi, N., Soufi-Zomorod, M., Hafizi, M., ... & Soleimani, M. (2015). Overexpression of microRNA-16 declines cellular growth, proliferation and induces apoptosis in human breast cancer cells. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal, 51(6), 604-611.
150. Rinnerthaler, G., Hackl, H., Gampenrieder, S. P., Hamacher, F., Hufnagl, C., Hauser-Kronberger, C., ... & Greil, R. (2016). miR-16-5p is a stably-expressed housekeeping microRNA in breast cancer tissues from primary tumors and from metastatic sites. International journal of molecular sciences, 17(2), 156.

151. Nolan J, Stallings RL and Piskareva O: Assessment of basic biological functions exerted by miRNAs. Methods Mol Biol 1509: 11- 16, 2017.
152. Ooi JY, Bernardo BC and McMullen JR: The therapeutic potential of miRNAs regulated in settings of physiological cardiac hypertrophy. Future Med Chem 6: 205- 222, 2014.
153. Katz MG, Fargnoli AS, Williams RD, Kendle AP, Steuerwald NM and Bridges CR: MiRNAs as potential molecular targets in heart failure. Future Cardiol 10: 789- 800, 2014.
154. Wang H, Lu J, Wu S, Yang S, Wang L, Zhou H, Fu Y and Liu J: Effects of electroacupuncture at different acupoints on apoptosis and the expression of miRNAs in myocardial cells in rats model of myocardial ischemia. Zhongguo Zhen Jiu 36: 281- 286, 2016 (In Chinese).
155. Gottlieb RA and Pourpirali S: Lost in translation: MiRNAs and mRNAs in ischemic preconditioning and ischemia/reperfusion injury. J Mol Cell Cardiol 95: 70- 77, 2016.
156. Maegdefessel L, Spin JM, Raaz U, Eken SM, Toh R, Azuma J, Adam M, Nakagami F, Heymann HM, Chernogubova E, et al: miR- 24 limits aortic vascular inflammation and murine abdominal aneurysm development. Nat Commun 5: 5214, 2014.
157. Zheng Y, Li Y, Liu G, Qi X and Cao X: MicroRNA- 24 inhibits the proliferation and migration of endothelial cells in patients with atherosclerosis by targeting importin- α3 and regulating inflammatory responses. Exp Ther Med 15: 338- 344, 2018.
158. Zhu D, Zhang X, Lin Y, Liang S, Song Z and Dong C: MT1JP inhibits tumorigenesis and enhances cisplatin sensitivity of breast cancer cells through competitively binding to miR- 24- 3p. Am J Transl Res 11: 245- 256, 2019.
159. Yu G, Jia Z and Dou Z: miR- 24- 3p regulates bladder cancer cell proliferation, migration, invasion and autophagy by targeting DEDD. Oncol Rep 37: 1123- 1131, 2017.
160. Wei W, Peng J and Shen T: Rosuvastatin alleviates ischemia/reperfusion injury in cardiomyocytes by downregulating Hsa- miR- 24- 3p to target upregulated uncoupling protein 2. Cell Reprogram 21: 99- 107, 2019.

161. Chen J, Li HM, Zhang XN, Xiong CM and Ruan JL: Dioscin- induced apoptosis of human LNCaP prostate carcinoma cells through activation of caspase- 3 and modulation of Bcl- 2 protein family. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci 34: 125- 130, 2014.

162. Khawaja NR, Carre M, Kovacic H, Estève MA and Braguer D: Patupilone- induced apoptosis is mediated by mitochondrial reactive oxygen species through Bim relocalization to mitochondria. Mol Pharmacol 74: 1072- 1083, 2008.

163. Zhang H, Duan J, Qu Y, Deng T, Liu R, Zhang L, Bai M, Li J, Ning T, Ge S, et al: Onco- miR- 24 regulates cell growth and apoptosis by targeting Bcl- 2L11 in gastric cancer. Protein Cell 7: 141- 151, 2016.

164. Kim JH, Lee DK, Kim J, Choi S, Park W, Ha KS, Kim TH, Choe J, Won MH, Kwon YG and Kim YM: A miRNA- 101- 3p/Bim axis as a determinant of serum deprivation- induced endothelial cell apoptosis. Cell Death Dis 8: e2808, 2017.

165. Xiang, Y., Cheng, J., Wang, D., Hu, X., Xie, Y., Stitham, J., ... & Leslie, K. (2015). Hyperglycemia repression of miR-24 coordinately upregulates endothelial cell expression and secretion of von Willebrand factor. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 125(22), 3377-3387.

166. Fiedler J, Jazbutyte V, Kirchmaier BC, et al. MicroRNA-24 regulates vascularity after myocardial infarction. Circulation. 2011;124(6):720-730.

167. 51. Meloni M, Marchetti M, Garner K, et al. Local inhibition of microRNA-24 improves reparative angiogenesis and left ventricle remodeling and function in mice with myocardial infarction. Mol Ther. 2013;21(7):1390-1402.

168. Hu S, Huang M, Nguyen PK, et al. Novel microRNA prosurvival cocktail for improving engraftment and function of cardiac progenitor cell transplantation. Circulation. 2011;124(11 Suppl):27-34.

169. Qian L, Van Laake LW, Huang Y, Liu S, Wendland MF, Srivastava D. miR-24 inhibits apoptosis and represses Bim in mouse cardiomyocytes. J Exp Med. 2011;208(3):549-560.

170. Fiedler, J., Stöhr, A., Gupta, S. K., Hartmann, D., Holzmann, A., Just, A., ... & Thum, T. (2014). Functional microRNA library screening identifies the hypoxamir miR-24 as a potent regulator of smooth muscle cell proliferation and vascularization. Antioxidants & redox signaling, 21(8), 1167-1176.

171. Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. Genome research. 2004; 14:1902–1910.

172. Saini HK, Griffiths-Jones S, Enright AJ. Genomic analysis of human microRNA transcripts. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2007; 104:17719–17724.

173. Icli, B., Dorbala, P., & Feinberg, M. W. (2014). An emerging role for the miR-26 family in cardiovascular disease. Trends in cardiovascular medicine, 24(6), 241-248.

174. Yeo M, Lee SK, Lee B, Ruiz EC, Pfaff SL, Gill GN. Small CTD phosphatases function in silencing neuronal gene expression. Science. 2005; 307:596–600.

175. Sapkota G, Knockaert M, Alarcon C, Montalvo E, Brivanlou AH, Massague J. Dephosphorylation of the linker regions of Smad1 and Smad2/3 by small C-terminal domain phosphatases has distinct outcomes for bone morphogenetic protein and transforming growth factor-beta pathways. The Journal of biological chemistry. 2006; 281:40412–40419.

176. Wu Y, Evers BM, Zhou BP. Small C-terminal domain phosphatase enhances snail activity through dephosphorylation. The Journal of biological chemistry. 2009; 284:640–648.

177. Zhu Y, Lu Y, Zhang Q, et al. MicroRNA-26a/b and their host genes cooperate to inhibit the G1/S transition by activating the pRb protein. Nucleic acids research. 2012; 40:4615–4625.

178. Icli B, Wara AK, Moslehi J, et al. MicroRNA-26a Regulates Pathological And Physiological Angiogenesis by Targeting BMP/SMAD1 Signaling. Circulation research. 2013

179. Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. Cell. 2011; 146:873–887.

180. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. Lancet. 2005; 366:1736–1743.

181. Zlokovic BV. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. Nature reviews Neuroscience. 2011; 12:723–738.

182. Absalon, S., Kochanek, D. M., Raghavan, V., & Krichevsky, A. M. (2013). MiR-26b, upregulated in Alzheimer's disease, activates cell cycle entry, tau-

phosphorylation, and apoptosis in postmitotic neurons. Journal of Neuroscience, 33(37), 14645-14659.

183. Gürvit HI. Demans sendromu. Alzheimer hastalığı ve Alzheimer-dışı demanslar. İçinde: Bahar SZ, Öge EA, editörler. Nöroloji 1.baskı.İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004. p. 367-415.
184. Alzheimer's Association. 2015 Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimers Dement 2015;11:322-384.
185. Alzheimer's Disease International. (2019). World Alzheimer Report 2019: Attitudes to dementia
186. Gitler, A. D., Dhillon, P., & Shorter, J. (2017). Neurodegenerative disease: models, mechanisms, and a new hope.
187. Lambert, C., Zeestraten, E., Williams, O., Benjamin, P., Lawrence, A. J., Morris, R. G., ... & Markus, H. S. (2018). Identifying preclinical vascular dementia in symptomatic small vessel disease using MRI. NeuroImage: Clinical, 19, 925-938.
188. Kurita, A., Katayama, K., & Mochio, S. (1996). Neurophysiological evidence for altered higher brain functions in NIDDM. Diabetes Care, 19(4), 361-364.
189. Eker, E., & Noyan, A. (2004). Yaşlıda depresyon ve tedavisi. Klinik Psikiyatri, 2, 75-83.
190. Silva, M. V. F., Loures, C. D. M. G., Alves, L. C. V., de Souza, L. C., Borges, K. B. G., & das Graças Carvalho, M. (2019). Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. Journal of biomedical science, 26(1), 33.
191. Prince, M., Bryce, R., Albanese, E., Wimo, A., Ribeiro, W., & Ferri, C. P. (2013). The global prevalence of dementia: a systematic review and metaanalysis. Alzheimer's & dementia, 9(1), 63-75.
192. Qiu, C., Kivipelto, M., & von Strauss, E. (2009). Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention. Dialogues in clinical neuroscience, 11(2), 111.
193. Mielke, M. M., Vemuri, P., & Rocca, W. A. (2014). Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: assessing sex and gender differences. Clinical epidemiology, 6, 37.
194. Tiwari, S., Atluri, V., Kaushik, A., Yndart, A., & Nair, M. (2019). Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. International Journal of Nanomedicine, 14, 5541.

195. Shinohara M, Sato N, Shimamura M, Kurinami H, Hamasaki T, Chatterjee A, et al. Possible modification of Alzheimer's disease by statins in midlife: interactions with genetic and non-genetic risk factors. Front Aging Neurosci. 2014;6:71. doi: 10.3389/fnagi.2014.00071

196. Cortes-Canteli, M., Paul, J., Norris, E. H., Bronstein, R., Ahn, H. J., Zamolodchikov, D., ... & Strickland, S. (2010). Fibrinogen and β-amyloid association alters thrombosis and fibrinolysis: a possible contributing factor to Alzheimer's disease. Neuron, 66(5), 695-709.

197. Murray ME, Graff-Radford NR, Ross OA, Petersen RC, Duara R, Dickson DW. Neuropathologically defined subtypes of Alzheimer's disease with distinct clinical characteristics: a retrospective study. Lancet Neurol. 2011;10(9):785–796. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70156-9.

198. Kling MA, Trojanowski JQ, Wolk DA, Lee VM, Arnold SE. Vascular disease and dementias: paradigm shifts to drive research in new directions. Alzheimers Dement. 2013;9(1):76–92. doi: 10.1016/j.jalz.2012.02.007.

199. Kang S, Lee YH, Lee JE. Metabolism-centric overview of the pathogenesis of Alzheimer's disease. Yonsei Med J. 2017;58(3):479–488. doi: 10.3349/ymj.2017.58.3.479.

200. Mucke L. Neuroscience: Alzheimer's disease. Nature. 2009;461:895–897. doi: 10.1038/461895a

201. Chakrabarti, S., Khemka, V. K., Banerjee, A., Chatterjee, G., Ganguly, A., & Biswas, A. (2015). Metabolic risk factors of sporadic Alzheimer's disease: implications in the pathology, pathogenesis and treatment. Aging and disease, 6(4), 282.

202. Hardy J.A., Higgings G.A. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. Science. 1992; 256:184–185. [http://dx.doi.org/ 10.1126/science.1566067].

203. Ricciarelli, R., & Fedele, E. (2017). The amyloid cascade hypothesis in Alzheimer's disease: it's time to change our mind. Current neuropharmacology, 15(6), 926-935.

204. Dourlen, P., Kilinc, D., Malmanche, N., Chapuis, J., & Lambert, J. C. (2019). The new genetic landscape of Alzheimer's disease: from amyloid cascade to genetically driven synaptic failure hypothesis?. Acta neuropathologica, 1-16.

205. Tanzi, R. E., & Bertram, L. (2005). Twenty years of the Alzheimer's disease amyloid hypothesis: a genetic perspective. Cell, 120(4), 545-555.
206. Tharp WG, Sarkar IN. Origins of amyloid-β BMC Genomics. 2013;14:290.
207. Gouras GK, Olsson TT, Hansson O. β-Amyloid peptides and amyloid plaques in Alzheimer's disease. Neurotherapeutics. 2015;12:3–11
208. Lee NC, Chien YH, Hwu WL. A review of biomarkers for Alzheimer's disease in Down syndrome. Neurol Ther. 2017;6:69–81.
209. Johnson VE, Stewart W, Smith DH. Traumatic brain injury and amyloid-β pathology: a link to Alzheimer's disease? Nat Rev Neurosci. 2010;11:361–370.
210. Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. Biol Psychiatry. 2015;77:43–51.
211. Bukhari H, Glotzbach A, Kolbe K, Leonhardt G, Loosse C, Müller T. Small things matter: Implications of APP intracellular domain AICD nuclear signaling in the progression and pathogenesis of Alzheimer's disease. Prog Neurobiol. 2017;156:189–213.
212. Coronel, R., Palmer, C., Bernabeu-Zornoza, A., Monteagudo, M., Rosca, A., Zambrano, A., & Liste, I. (2019). Physiological effects of amyloid precursor protein and its derivatives on neural stem cell biology and signaling pathways involved. Neural regeneration research, 14(10), 1661.
213. Müller UC, Deller T, Korte M. Not just amyloid: physiological functions of the amyloid precursor protein family. Nat Rev Neurosci. 2017;18:281–298.
214. Chen GF, Xu TH, Yan Y, Zhou YR, Jiang Y, Melcher K, Xu HE. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. Acta Pharmacol Sin. 2017;38:1205–1235.
215. Kirazov E, Kirazov L, Bigl V, Schliebs R. Oncogenetic changes in protein level of amyloid precursor protein (APP) in growth cones and synaptosomes from rat brain and prenatal expression pattern of APP mRNA isoforms in developing rat embryo. Int J Dev Neurosci. 2001;19:287–296.
216. van der Kant R, Goldstein LS. Cellular functions of the amyloid precursor protein from development to dementia. Dev Cell. 2015;32:502–515.
217. Small DH, Hu Y, Bolós M, Dawkins E, Foa L, Young KM. β-Amyloid precursor protein: function in stem cell development and Alzheimer's disease brain. Neurodegener Dis. 2014;13:96–98.

218. Coronel R, Lachgar M, Bernabeu-Zornoza A, Palmer C, Domínguez-Alvaro M, Revilla A, Ocaña I, Fernández A, Martínez-Serrano A, Cano E, Liste I. Neuronal and glial differentiation of human neural stem cells is regulated by amyloid precursor protein (APP) levels. Mol Neurobiol. 2018 doi: 10.1007/s12035-018-1167-9.

219. Leyssen M, Ayaz D, Hébert SS, Reeve S, De Strooper B, Hassan BA. Amyloid precursor protein promotes post-developmental neurite arborization in the Drosophila brain. EMBO J. 2005;24:2944–2955.

220. Wang S, Bolós M, Clark R, Cullen CL, Southam KA, Foa L, Dickson TC, Young KM. Amyloid β precursor protein regulates neuron survival and maturation in the adult mouse brain. Mol Cell Neurosci. 2016;77:21–33.

221. Nguyen KV. The human β-amyloid precursor protein: biomolecular and epigenetic aspects. Biomol Concepts. 2015;6:11–32.

222. Dawkins, E., & Small, D. H. (2014). Insights into the physiological function of the β-amyloid precursor protein: beyond Alzheimer's disease. Journal of neurochemistry, 129(5), 756-769.

223. Kang, J., Lemaire, H. G., Unterbeck, A., Salbaum, J. M., Masters, C. L., Grzeschik, K. H., ... & Müller-Hill, B. (1987). The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. Nature, 325(6106), 733.

224. Wasco, W., Bupp, K., Magendantz, M., Gusella, J. F., Tanzi, R. E., & Solomon, F. (1992). Identification of a mouse brain cDNA that encodes a protein related to the Alzheimer disease-associated amyloid beta protein precursor. Proceedings of the National Academy of Sciences, 89(22), 10758-10762.

225. Sosa LJ, Postma NL, Estrada-Bernal A, Hanna M, Guo R, Busciglio J, Pfenninger KH (2014) Dosage of amyloid precursor protein affects axonal contact guidance in Down syndrome. FASEB J 28:195-205.

226. Jonsson T, Atwal JK, Steinberg S, Snaedal J, Jonsson PV, Bjornsson S, Stefansson H, Sulem P, Gudbjartsson D, Maloney J, Hoyte K, Gustafson A, Liu Y, Lu Y, Bhangale T, Graham RR, Huttenlocher J, Bjornsdottir G, Andreassen OA, Jönsson EG, et al. (2012) A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. Nature 488:96-99.

227. Van Dam D, De Deyn PP (2006) Drug discovery in dementia: The role of rodent models. Nat Rev Drug Discov 5:956-970.

228. Wang X, Zhou X, Li G, Zhang Y, Wu Y, Song W (2017a) Modifications and trafficking of APP in the pathogenesis of Alzheimer's disease. Front Mol Neurosci 10:294.

229. Chen J, Wang M, Turko IV (2013) Quantification of amyloid precursor protein isoforms using quantification concatamer internal standard. Anal Chem 85:303-307.

230. Nalivaeva NN, Turner AJ (2013) The amyloid precursor protein: A biochemical enigma in brain development, function and disease. FEBS Lett 587:2046-2054

231. Puig KL, Combs CK (2013) Expression and function of APP and its metabolites outside the central nervous system. Exp Gerontol 48:608-611.

232. Papadimitriou C, Celikkaya H, Cosacak MI, Mashkaryan V, Bray L, Bhattarai P, Brandt K, Hollak H, Chen X, He S, Antos CL, Lin W, Thomas AK, Dahl A, Kurth T, Friedrichs J, Zhang Y, Freudenberg U, Werner C, Kizil C (2018) 3D culture method for Alzheimer's disease modeling reveals interleukin-4 rescues Aβ42-induced loss of human neural stem cell plasticity. Dev Cell 46:85-101.

233. Barlowe CK, Miller EA (2013) Secretory protein biogenesis and traffic in the early secretory pathway. Genetics 193:383-410.

234. Buoso E, Lanni C, Schettini G, Govoni S, Racchi M (2010) Beta-amyloid precursor protein metabolism: focus on the functions and degradation of its intracellular domain. Pharmacol Res 62:308-317.

235. Haass C, Kaether C, Thinakaran G, Sisodia S. Trafficking and proteolytic processing of APP. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012;2:a006270

236. Grimm MO, Mett J, Stahlmann CP, Haupenthal VJ, Zimmer VC, Hartmann T. Neprilysin and Aβ clearance: impact of the APP intracellular domain in NEP regulation and implications in Alzheimer's disease. Front Aging Neurosci. 2013;5:98.

237. Agostinho P, Pliássova A, Oliveira CR, Cunha RA. Localization and trafficking of amyloid-β protein precursor and secretases: impact on Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis. 2015;45:329–347.

238. Chen, G. F., Xu, T. H., Yan, Y., Zhou, Y. R., Jiang, Y., Melcher, K., & Xu, H. E. (2017). Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. Acta Pharmacologica Sinica, 38(9), 1205.

239. Morel E, Chamoun Z, Lasiecka ZM, Chan RB, Williamson RL, Vetanovetz C, Dall'Armi C, Simoes S, Point Du Jour KS, McCabe BD, Small SA, Di Paolo G. Phosphatidylinositol-3-phosphate regulates sorting and processing of amyloid precursor protein through the endosomal system. Nat Commun. 2013;4:2250.

240. Watanabe T, Hikichi Y, Willuweit A, Shintani Y, Horiguchi T. FBL2 regulates amyloid precursor protein (APP) metabolism by promoting ubiquitination-dependent APP degradation and inhibition of APP endocytosis. J Neurosci. 2012;32:3352–3365.

241. Williamson RL, Laulagnier K, Miranda AM, Fernandez MA, Wolfe MS, Sadoul R, Di Paolo G. Disruption of amyloid precursor protein ubiquitination selectively increases amyloid β (Aβ) 40 levels via presenilin 2-mediated cleavage. J Biol Chem. 2017;292:19873–19889

242. Tijms BM, Vermunt L, Zwan MD, van Harten AC, van der Flier WM, Teunissen CE, Scheltens P, Visser PJ. Pre-amyloid stage of Alzheimer's disease in cognitively normal individuals. Ann Clin Transl Neurol. 2018;5:1037–1047.

243. Willem M, Tahirovic S, Busche MA, Ovsepian SV, Chafai M, Kootar S, Hornburg D, Evans LD, Moore S, Daria A, Hampel H, Müller V, Giudici C, Nuscher B, Wenninger-Weinzierl A, Kremmer E, Heneka MT, Thal DR, Giedraitis V, Lannfelt L, et al. η-Secretase processing of APP inhibits neuronal activity in the hippocampus. Nature. 2015;526:443–447.

244. Zhang Z, Song M, Liu X, Su Kang S, Duong DM, Seyfried NT, Cao X, Cheng L, Sun YE, Ping Yu S, Jia J, Levey AI, Ye K. Delta-secretase cleaves amyloid precursor protein and regulates the pathogenesis in Alzheimer's disease. Nat Commun. 2015;6:8762.

245. Jefferson T, Čaušević M, auf dem Keller U, Schilling O, Isbert S, Geyer R, Maier W, Tschickardt S, Jumpertz T, Weggen S, Bond JS, Overall CM, Pietrzik CU, Becker-Pauly C. Metalloprotease meprin beta generates nontoxic N-terminal amyloid precursor protein fragments in vivo. J Biol Chem. 2011;286:27741–27750.

246. Hick M, Herrmann U, Weyer SW, Mallm JP, Tschäpe JA, Borgers M, Mercken M, Roth FC, Draguhn A, Slomianka L, Wolfer DP, Korte M, Müller UC. Acute function of secreted amyloid precursor protein fragment APPsα in synapsis plasticity. Acta Neuropathol. 2015;129:21–37.

247. Plummer S, Van den Heuvel C, Thornton E, Corrigan F, Cappai R. The neuroprotective properties of the amyloid precursor protein following traumatic brain injury. Aging Dis. 2016;7:163–179.

248. Hefter D, Draguhn A. APP as a protective factor in acute neuronal insults. Front Mol Neurosci. 2017;10:22.

249. Hesse R, von Einem B, Wagner F, Bott P, Schwanzar D, Jackson RJ, Föhr KJ, Lausser L, Kroker KS, Proepper C, Walther P, Kestler HA, Spires-Jones TL, Boeckers T, Rosenbrock H, von Arnim CAF. sAPPβ and sAPPα increase structural complexity and E/I input ratio in primary hippocampal neurons and alter Ca2+ homeostasis and CREB1-signaling. Exp Neurol. 2018;304:1–13.

250. Caillé I, Allinquant B, Dupont E, Bouillot C, Langer A, Müller U, Prochiantz A. Soluble form of amyloid precursor protein regulates proliferation of progenitors in the adult subventricular zone. Development. 2004;131:2173–2181.

251. Demars MP, Bartholomew A, Strakova Z, Lazarov O. Soluble amyloid precursor protein: A novel proliferation factor of adult progenitor cells od ectodermal and mesodermal origin. Stem Cell Res Ther. 2011;2:36

252. Baratchi S, Evans J, Tate WP, Abraham WC, Connor B. Secreted amyloid precursor proteins promote proliferation and glial differentiation of adult hippocampal neural progenitor cells. Hippocampus. 2012;22:1517–1527.

253. Demars MP, Hollands C, Zhao Kda T, Lazarov O. Soluble amyloid precursor protein-α rescues age-linked decline in neural progenitor cell proliferation. Neurobiol Aging. 2013;34:2431–2440.

254. Sato Y, Uchida Y, Hu J, Young-Pearse TL, Niikura T, Mukouyama YS. Soluble APP functions as a vascular niche signal that controls adult neural stem cell number. Development. 2017;144:2730–2736.

255. Freude KK, Penjwini M, Davis JL, LaFerla FM, Blurton-Jones M. Soluble amyloid precursor protein induces rapid neural differentiation of human embryonic stem cells. J Biol Chem. 2011;286:24264–24274.

256. Kwak YD, Brannen CL, Qu T, Kim HM, Dong X, Soba P, Majumdar A, Kaplan A, Beyreuther K, Sugaya K. Amyloid precursor protein regulates differentiation of human neural stem cells. Stem Cells Dev. 2006;15:381–389.

257. Liao MC, Muratore CR, Gierahn TM, Sullivan SE, Srikanth P, De Jager PL, Love JC, Young-Pearse TL. Single-cell detection of secreted Aβ and sAPPα from human iPSCs-derived neurons and astrocytes. J Neurosci. 2016;36:1730–1746.

258. Richter MC, Ludewig S, Winschel A, Abel T, Bold C, Salzburger LR, Klein S, Han K, Weyer SW, Fritz AK, Laube B, Wolfer DP, Buchholz CJ, Korte M, Müller UC. Distinct in vivo roles of secreted APP ectodomain variants APPsα and APPsβ in regulation of spine density, synaptic plasticity, and cognition. EMBO J. 2018;37:e98335.

259. Mockett BG, Richter M, Abraham WC, Müller UC. Therapeutic potential of secreted amyloid precursor protein APPsα Front Mol Neurosci. 2017;10:30.

260. Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. EMBO Mol Med. 2016;8:595–608.

261. Wang MJ, Yi S, Han JY, Park SY, Jang JW, Chun IK, Kim SE, Lee BS, Kim GJ, Yu JS, Lim K, Kang SM, Park YH, Youn YC, An SSA, Kim S. Oligomeric forms of amyloid-β protein in plasma as a potential blood-based biomarker for Alzheimer's disease. Alzheimers Res Ther. 2017b;9:98.

262. Mroczko B, Groblewska M, Litman-Zawadzka A, Kornhuber J, Lewczuk P. Amyloid β oligomers (AβOs) in Alzheimer's disease. J Neural Transm (Vienna) 2018;125:177–191.

263. Kim J, Onstead L, Randle S, Prince R, Smithson L, Zwizinski C, Dickson DW, Golde T, McGowan E. Abeta40 inhibits amyloid deposition in vivo. J Neurosci. 2007;27:627–633.

264. Wirth M, Villeneuve S, Haase CM, Madison CM, Oh H, Landau SM, Rabinovici GD, Jagust WJ. Associations between Alzheimer disease biomarkers, neurodegeneration, and cognition in cognitively normal older people. JAMA Neurol. 2013;70:1512–1519.

265. Bernabeu-Zornoza A, Coronel R, Palmer C, Calero M, Martínez-Serrano A, Cano E, Zambrano A, Liste I. Aβ42 peptide promotes proliferation and gliogenesis in human neural stem cells. Mol Neurobiol. 2018 doi: 10.1007/s12035-018-1355-7.

266. Chen Y, Dong C. Abeta40 promotes neuronal cell fate in neural progenitor cells. Cell Death Differ. 2009;16:386–394.

267. Fonseca MB, Solá S, Xavier JM, Dionísio PA, Rodrigues CM. Amyloid β peptides promote autophagy-dependent differentiation of mouse neural stem cells: Aβ-mediated neural differentiation. Mol Neurobiol. 2013;48:829–840.

268. Itokazu Y, Yu RK. Amyloid β-peptide 1-42 modulates the proliferation of mouse neural stem cells: Upregulation of fucosyltransferase IX and notch signaling. Mol Neurobiol. 2014;50:186–196.

269. Lee IS, Jung K, Kim IS, Park KI. Amyloid-β oligomers regulate the properties of human neural stem cells through GSK-3β signaling. Exp Mol Med. 2013;45:e60.

270. Beckett C, Nalivaeva NN, Belyaev ND, Turner AJ. Nuclear signalling by membrane protein intracellular domains: The AICD enigma. Cell Signal. 2012;24:402–409.

271. Dimitrov M, Alattia JR, Lemmin T, Lehal R, Fligier A, Houacine J, Hussain I, Radtke F, Dal Peraro M, Beher D, Fraering PC. Alzheimer's disease mutations in APP but not γ-secretase modulators affect epsilon-cleavage-dependent AICD production. Nat Commun. 2013;4:2246.

272. Pinnix I, Ghiso JA, Pappolla MA, Sambamurti K. Major carboxyl terminal fragments generated by γ-secretase processing of the Alzheimer amyloid precursor are 50 and 51 amino acids long. Am J Geriatr Psychiatry. 2013;21:474–483.

273. Gu Y, Misonou H, Sato T, Dohmae N, Takio K, Ihara Y. Distinct intramembrane cleavage of the beta-amyloid precursor protein family resembling gamma-secretase-like cleavage of Notch. J Biol Chem. 2001;276:35235–35238.

274. Nagase H, Nakayama K. The intracellular domain of amyloid precursor protein is a potential therapeutic target in Alzheimer's disease. Curr Drug Discov Technol. 2014;11:243–258.

275. Kim HS, Kim EM, Lee JP, Park CH, Kim S, Seo JH, Chang KA, Yu E, Jeong SJ, Chong YH, Suh YH. C-terminal fragments of amyloid precursor protein exert neurotoxicity by inducing glycogen synthase kinase-3beta expression. FASEB J. 2003;17:1951–1953.

276. Trazzi S, Mitrugno VM, Valli E, Fuchs C, Rizzi S, Guidi S, Perini G, Bartesaghi R, Ciani E. APP-dependet up-regulation of PTCH1 underlies proliferation

impairment of neural precursor in Down syndrome. Hum Mol Genet. 2011;20:1560–1573.

277. Müller T, Schrötter A, Loosse C, Pfeiffer K, Theiss C, Kauth M, Meyer HE, Marcus K. A ternary complex consisting of AICD, FE65, and TIP60 down-regulates Stathmin1. Biochim Biophys Acta. 2013;1834:387–394.

278. Grimm MO, Mett J, Stahlmann CP, Grösgen S, Haupenthal VJ, Blümel T, Hundsdörfer B, Zimmer VC, Mylonas NT, Tanila H, Müller U, Grimm HS, Hartmann T. APP intracellular domain derived from amyloidogenic β- and γ-secretase cleavage regulates neprilysin expression. Front Aging Neurosci. 2015;7:77.

279. Herold S, Kumar P, Wichert SP, Kretzschmar B, Bähr M, Rossner MJ, Hein K. Neurodegeneration in autoimmune optic neuritis is associated with altered APP cleavage in neurons and up-regulation of p53. PLoS One. 2015;10:e0138852.

280. Sarlak G, Htoo HH, Hernandez JF, Iizasa H, Checler F, Konietzko U, Song W, Vincent B. SOX2 functionally interacts with βAPP, the βAPP intracellular domain and ADAM10 at a transcriptional level in human cells. Neuroscience. 2016;312:153–164.

281. Zhang YW, Wang R, Liu Q, Zhang H, Liao FF, Xu H. Presenilin/gamma-secretase-dependent processing of beta-amyloid precursor protein regulates EGF receptor expression. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104:10613–10618.

282. Shu R, Wong W, Ma QH, Yang ZZ, Zhu H, Liu FJ, Wang P, Ma J, Yan S, Polo JM, Bernard CC, Stanton LW, Dawe GS, Xiao ZC. APP intracellular domain acts as a transcriptional regulator of miR-663 suppressing neuronal differentiation. Cell Death Dis. 2015;6:e1651.

283. Giacomini A, Stagni F, Trazzi S, Guidi S, Emili M, Brigham E, Ciani E, Bartesaghi R. Inhibition of APP gamma-secretase restores Sonic Hedgehog signaling and neurogenesis in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. Neurobiol Dis. 2015;82:385–396.

284. Lu DC, Soriano S, Bredesen DE, Koo EH. Caspase cleavage of the amyloid precursor protein modulates amyloid beta-protein toxicity. J Neurochem. 2003;87:733–741.

285. Mendez MF. Early-onset Alzheimer disease. Neurol Clin. 2017;35(2):263–281. doi: 10.1016/j.ncl.2017.01.005.

286. Giri M, Zhang M, Lu Y. Genes associated with Alzheimer's disease: an overview and current status. Clin Interv Aging. 2016;11:665–681. doi: 10.2147/CIA.S105769.

287. Cacace R, Sleegers K, Van Broeckhoven C. Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. Alzheimers Dement. 2016;12(6):733–748. doi: 10.1016/j.jalz.2016.01.012.

288. Calero M, Gómez-Ramos A, Calero O, Soriano E, Avila J, Medina M. Additional mechanisms conferring genetic susceptibility to Alzheimer's disease. Front Cell Neurosci. 2015;9:138. doi: 10.3389/fncel.2015.00138.

289. Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Tsuang DW. Genetics of Alzheimer disease. J Geriatr Psychiatry Neurol. 2010;23(4):213–227. doi: 10.1177/0891988710383571.

290. Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, Dubois B, Belliard S, Puel M, et al. Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum. Am J Hum Genet. 1999;65:664–670. doi: 10.1086/302553.

291. Corbo RM, Scacchi R. Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world. Is APOE*4 a 'thrifty' allele? Ann Hum Genet. 1999;63(Pt 4):301–310. doi: 10.1046/j.1469-1809.1999.6340301.x.

292. Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis.Biol Psychiatry .2015;77(1):43–51. doi: 10.1016/j.biopsych.2014.05.006.

293. Mahley RW. Apolipoprotein E: from cardiovascular disease to neurodegenerative disorders. J Mol Med (Berl) 2016;94:739–746. doi: 10.1007/s00109-016-1427-y.

294. Kim J, Basak JM, Holtzman DM. The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. Neuron. 2009;63(3):287–303. doi: 10.1016/j.neuron.2009.06.026.

295. Hauser PS, Narayanaswami V, Ryan RO. Apolipoprotein E: from lipid transport to neurobiology. Prog Lipid Res. 2011;50(1):62–74. doi: 10.1016/j.plipres.2010.09.001.

296. Pluta, R., Ułamek-Kozioł, M., Januszewski, S., & Czuczwar, S. J. (2018). Platelets, lymphocytes and erythrocytes from Alzheimer's disease patients: the quest for blood cell-based biomarkers. Folia Neuropathol, 56(1), 14-20.

297. Chen M, Inestrosa CC, Ross GS, Fernandez HL. Platelets are the primary source of amyloid P-peptide in human blood. Biochem Biophys Res Comrnun. 1995;213:96–103.

298. Scheuner D, Eckman C, Jensen M, Song X, Citron M, Suzuki N, Bird TD, Hardy J, Hutton M, Kukull W, Larson E, Levy-Lahad E, Viitanen M, Peskind E, Poorkaj P, Schellenberg G, Tanzi R, Wasco W, Lannfelt L, Selkoe D, Younkin S. Secreted amyloid P-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. Nat Med. 1996;2:864–870.

299. Canobbio, I., Abubaker, A. A., Visconte, C., Torti, M., & Pula, G. (2015). Role of amyloid peptides in vascular dysfunction and platelet dysregulation in Alzheimer's disease. Frontiers in cellular neuroscience, 9, 65.

300. Kucheryavykh, L. Y., Dávila-Rodríguez, J., Rivera-Aponte, D. E., Zueva, L. V., Washington, A. V., Sanabria, P., & Inyushin, M. Y. (2017). Platelets are responsible for the accumulation of β-amyloid in blood clots inside and around blood vessels in mouse brain after thrombosis. Brain research bulletin, 128, 98-105.

301. Van Nostrand, W. E., Wagner, S. L., Suzuki, M., Choi, B. H., Farrow, J. S., and Geddes, J. W. (1989). Protease nexin-II, a potent antichymotrypsin, shows identity to amyloid beta-protein precursor. Nature 341, 546–549. doi: 10.1038/341546a0

302. Xu, F., Davis, J., Miao, J., Previti, M. L., Romanov, G., Ziegler, K., et al. (2005). Protease nexin-2/amyloid beta-protein precursor limits cerebral thrombosis. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 102, 18135–18140. doi: 10.1073/pnas.0507798102

303. Evin, G., Zhu, A., Holsinger, R. M., Masters, C. L., and Li, Q. X. (2003). Proteolytic processing of the Alzheimer's disease amyloid precursor protein in brain and platelets. J. Neurosci. Res. 74, 386–392. doi: 10.1002/jnr.10745

304. Catricalà, S., Torti, M., and Ricevuti, G. (2012). Alzheimer disease and platelets: how's that relevant. Immun. Ageing 9:20. doi: 10.1186/1742-4933-9-20

305. Veitinger M, Varga B, Guterres SB, Zellner M (2014) Platelets, a reliable source for peripheral Alzheimer's disease biomarkers? Acta Neuropathol Commun 2:65.

306. Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, Taite BB, Szalony JA, Page JD et al.; Assessment of platelet function assays. Am Heart J., 1998;135(5 Pt 2 Su):170–178.

307. Jones, Chris I. "Platelet function and ageing." Mammalian Genome 27.7-8 (2016): 358-366.

308. Güngör, Z. B., Ekmekçi, H., Tüten, A., Toprak, S., Ayaz, G., Çalışkan, O.. & Ulutin, T. (2017). Is there any relationship between adipocytokines and angiogenesis factors to address endothelial dysfunction and platelet aggregation in untreated patients with preeclampsia?. Archives of gynecology and obstetrics, 296(3), 495-502.

309. Ekmekçi, H., Ekmekçi, Ö. B., Erdine, S., Sönmez, H., Ataev, Y., Öztürk, Z., & Ulutin, T. (2009). Effects of serum homocysteine and adiponectin levels on platelet aggregation in untreated patients with essential hypertension. Journal of thrombosis and thrombolysis, 28(4), 418.

310. Cha, J. K., Jeon, H. W., & Kang, M. J. (2008). ADP- induced platelet aggregation in acute ischemic stroke patients on aspirin therapy. European journal of neurology, 15(12), 1304-1308.

311. Demir, M. ANTİTROMBOSİTER TEDAVİ.

312. De la Torre, J. C. (2002). Vascular basis of Alzheimer's pathogenesis. Annals of the New York Academy of sciences, 977(1), 196-215.

313. Pansari, K., Gupta, A., & Thomas, P. (2002). Alzheimer's disease and vascular factors: facts and theories. International journal of clinical practice, 56(3), 197-203.

314. Launer, L. J. (2002). Demonstrating the case that AD is a vascular disease: epidemiologic evidence. Ageing research reviews, 1(1), 61-77.

315. Rius-Pérez, S., Tormos, A. M., Pérez, S., & Taléns-Visconti, R. (2018). Vascular pathology: cause or effect in Alzheimer disease?. Neurología (English Edition), 33(2), 112-120.

316. Borroni, B., Akkawi, N., Martini, G., Colciaghi, F., Prometti, P., Rozzini, L., & Padovani, A. (2002). Microvascular damage and platelet abnormalities in early Alzheimer's disease. Journal of the neurological sciences, 203, 189-193.

317. Yavuz, B. B., Dede, D. S., Yavuz, B., Cankurtaran, M., Halil, M., Ulger, Z., & Ariogul, S. (2010). Potential biomarkers for vascular damage in Alzheimer’s

disease: Thrombomodulin and von Willebrand factor. The journal of nutrition, health & aging, 14(6), 439-441.

318. Hagnelius, N. O., Boman, K., & Nilsson, T. K. (2010). Fibrinolysis and von Willebrand factor in Alzheimer's disease and vascular dementia–a case-referent study. Thrombosis research, 126(1), 35-38.

319. Péquériaux, N. C., Fijnheer, R., Gemen, E. F., Barendrecht, A. D., Dekker, F. W., Krediet, R. T., ... & Roest, M. (2012). Plasma concentration of von Willebrand factor predicts mortality in patients on chronic renal replacement therapy. Nephrology Dialysis Transplantation, 27(6), 2452-2457.

320. Vimalraj, S., & Selvamurugan, N. (2012). MicroRNAs: synthesis, gene regulation and osteoblast differentiation. Curr Issues Mol Biol, 15(1), 7-18.

321. Dr Pir Abdul Ahad Aziz and Assoc Prof Frank Gaillard et al.(2019) Fazekas scale for white matter lesions

322. Kozubski, W., Swiderek, M., Kłoszewska, I., Watała, C., & Gwoździński, K. (1999). Platelet membrane fluidity and receptor exposition in patients with Alzheimer's disease. Neurologia i neurochirurgia polska, 33(6), 1275-1284.

.

# ETİK KURUL KARARI

Tarih ve Sayı: 04/01/2018-4180

* B E B V Z D P 9 6 *

T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Doktora Öğrencisi Gülsel AYAZ'ın etik kurul kararı A-33

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA**

İlgi :15.12.2017 tarih, 66018902-050.99-470676 sayılı yazı

Anabilim Dalınınız öğretim üyesi **Prof.Dr.Turgut ULUTİN'in** danışmanlığında **Doktora Öğrencisi Gülsel AYAZ'ın** yürütücülüğünde **Doç.Dr.Başar BİLGİÇ, Doç.Dr.Duygu Gezen AK, Doç.Dr.Erdinç DURSUN ve MSc.Merve ALAYLIOĞLU'nun** yardımcılıklarında **"Endotel ve Trombosit Fonksiyonlarının Demans ile Olan İlişkisinin Moleküler Düzeyde Araştırılması"** başlıklı Doktora Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri **02 Ocak 2018** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup;Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP ) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Emine Gülderen ŞAHİN
Bölüm Başkanı

**NOT:Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun ve Bilimsel Araştırma Projeleri Desteği onay belgesinin Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir.**

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak İçin:http://194.27.128.66/envision.Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE8VZDP96

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Güler SOYDANER Dahili : 22300
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL
Tel : 0 (212) 414 30 00 Faks : 0 (212) 632 00 33
e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbul.edu.tr

K-Q TSE-ISO-EN 9000

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır

| KARAR BİLGİLERİ | Karar No: A-33 | Tarih: 02 Ocak 2018 |
|---|---|---|
| | **Prof.Dr.Turgut ULUTİN'nin danışmanlığında ,Doç.Dr. Başar BİLGİÇ,Doç.Dr.Duygu GEZEN AK,Doç.Dr.Erdinç DURSUN ve MSc Merve ALAYLIOĞLU'nun yardımcılığında Dokt. Öğr. Gülsel AYAZ'ın yürütücülüğünde** yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir. | |

| ÇALIŞMA ESASI | İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu |
|---|---|

**ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI:** Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR

| ETİK KURUL ÜYELERİ | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Unvanı/Adı/Soyadı** | **Uzmanlık Alanı** | **Kurumu** | **Cinsiyet** | **İlişki *** | **Katılım **** | **İmza** |
| Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR (Başkan) | Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | E | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Prof. Dr. Mehmet Faik ÖZÇELİK (Başkan Yard.) | Genel Cerrahi | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | E | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Doç. Dr. Muhlis Cem AR (Raportör) | İç Hastalıkları Hematoloji | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | E | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Prof. Dr. Zeki ÖNGEN | Kardiyoloji | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | E | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Prof. Dr. Mahmut Reha BAYAR | Ruh Sağlığı ve Hastalıkları | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | E | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Prof. Dr. Öner SÜZER | Tıbbi Farmakoloji | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | E | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Prof. Dr. Nurten Uzun ADATEPE | Nöroloji | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | K | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Prof. Dr. Hakkı Oktay SEYMEN | Fizyoloji | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | E | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Prof. Dr. Oktay DEMİRKIRAN | Anesteziyoloji ve Reanimasyon | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | E | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Prof. Dr.Gülten DİNÇ | Tıp Tarihi ve Etik | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | K | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Doç. Dr. Suphi VEHİD | Halk Sağlığı | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | E | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Doç.Dr.Zeynep Hande TURNA | İç Hastalıkları Medikal Onkoloji | İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi | K | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Doç. Dr. Mutlu NİYAZOĞLU | İç Hastalıkları End./Metb./Diabet | İst. Eğitim ve Araştırma Hast. | E | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Avukat Ayfer DİKMEN | Ticaret ve Sağlık Hukuku | Serbest Hukuk Bürosu | K | E☐ H☒ | E☒ H☐ | |
| Zümrüt GAMLI | Emekli Öğretmen | Sivil Üye | K | E☐ H☒ | E☐ H☒ | MAZERETLİ |

* :Araştırma ile İlişki  ** :Toplantıda Bulunma

# FORMLAR

| TC Sağlık Bakanlığı | ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ | **Doküman Adı:** KADB-F.23-R.00 |
|---|---|---|
| | | **Yayın Tarihi:** 18.04.2013 |
| | | **Sayfa No:** 1/3 |
| | | **Onaylayan:** Daire Başkanı |

**1.**Bu çalışma bir doktora tez araştırma projesidir.

**2.**Araştırmamızda, trombosit fonksiyonlarının endotel ile olan ilişkisini protein düzeyinde araştırmak ve bu proteinlerin aktivasyonunun düzenlenmesinde hangi miRNA'ların bu yolakta etkili olduğunu saptamayı amaçlıyoruz.

**3.**Araştırmamız kapsamında araştırma sürecinde size aldığınız tedavi dışında herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır.

**4.**Zaten rahatsızlığınızdan dolayı başvurduğunuz ve kesin tanı alabilmeniz için gerekli olan rutin işlemler sırasında değerlendirmeniz yapılıp tanınız konulduktan sonra, yukarıda belirtilen araştırmayı yapabilmek için sizden kan talep ediyoruz.

**5.** Araştırmamızda, kan örneğinizi, trombosit fonksiyonlarının endotel ile olan ilişkisini protein düzeyinde araştırarak, hastalığın pato-fizyolojisinde rol oynayan miRNA'ları Moleküler Biyolojik yöntemler ile saptamak ve bu miRNA'ların hastalıkla ilgili ilişkisini belirlemek üzere yine Moleküler Biyolojik test yöntemlerinden yararlanarak kullanacağız.

**6.** Araştırma için sizden hiçbir ücret talep edilmeyecektir. Size de herhangi bir ücret ödenmeyecektir. Bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kurumundan (SGK'dan) herhangi bir ücret alınmayacaktır.

**7.** Araştırmaya katılmanız tamamen sizin isteğinize bağlıdır ve istediğiniz zaman herhangi bir cezaya ya da yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkınızı kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilirsiniz.

**8.** Araştırmaya katılımanız halinde İzleyiciler, Etik Kurul, Bakanlık ve diğer sağlık otoriteleri size ait orjinal tıbbi kayıtlara doğrudan erişebilecektir, bununla birlikte kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır, araştırmaya katılıp bu formu imzalamanız durumunda siz ya da yasal temsilciniz söz konusu erişime izin vermiş olacaksınız.

**9.**Kimliğinizi ortaya çıkaracak tüm kayıtlar gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanmayacak ve araştırma sonuçlarının yayınlanması durumunda dahi kimliğiniz gizli tutulacaktır.

**10.**Araştırma konusu kapsamında araştırmaya katılmaya devam isteğinizi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde size ya da yasal temsilcinize en kısa sürede-zamanında bilgi verilecek ve çalışmadan çıkabileceksiniz.

**11.**Araştırma hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir advers olay hakkında daha ayrıntılı bilgi edinebilmeniz için araştırmacılara; Proje Yürütücüsü MSc. Gülsel AYAZ'a 05335910363 numaralı telefonlardan günün 24 saatinde erişebileceksiniz.

**13.**Araştırmaya katılmanız durumunda sizden tedaviniz dışında gerekli olacak bir ek süre talebimiz yoktur

**14.**Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı 80 hasta ve 80 kontrol olmak üzere toplam 160 kişi belirlenmiştir.

**15.**Sizden edinilecek biyolojik materyal(kan örneğiniz) araştırma konumuz olan "Endotel ve Trombosit Fonksiyonlarının Demans ile Olan İlişkisinin Moleküler Düzeyde Araştırılması" başlıklı çalışmada verilerin demans patofizyolojisinde rol alan çeşitli hedef proteinler ile ilişkili miRNA'ların saptanmasının ileride tedaviye yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesinde etkili olacağını düşünüyoruz.

**16.**Sizden aldığımız biyolojik materyalin(Kan örneğiniz) analizi İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı bünyesinde çalışılacak ve yurtdışında herhangi bir çalışma yapılmayacaktır.

**17. "Endotel ve Trombosit Fonksiyonlarının Demans ile Olan İlişkisinin Moleküler Düzeyde Araştırılması"** "adlı araştırmanızda kullanılacak biyolojik örneklerimin;

| T.C. Sağlık Bakanlığı | ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ | **Doküman Adı:** KADB-F.23-R.00 |
|---|---|---|
| | | **Yayın Tarihi:** 18.04.2013 |
| | | **Sayfa No:** 3/3 |
| | | **Onaylayan:** Daire Başkanı |

Yukarıda bahsi geçen araştırmada ve ileride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

**18.** Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki bütün açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve açıklaması verilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırıcı tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum.

Evet

Hayır

**19**. Söz konusu araştırmaya hiçbir baskı olmaksızın kendi arzumla katıldığımı beyan ederim.

Evet

Hayır

**20.** Çalışmaya katılan kişinin;

Adı-soyadı ve imzası:

Tarih:

Telefon numarası:

**21**. Gönüllünün yasal temsilcisinin;

Adı-soyadı ve imzası:

Tarih:

Telefon numarası:

**22.** Araştırma ekibindeki Proje Yürütücüsü sorumlu araştırmacının;

Adı-soyadı ve imzası: MSc. Gülsel AYAZ

Tarih: 15.12.2017

Telefon numarası: 05335910363

# İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

## ENDOTEL VE TROMBOSİT FONKSİYONLARININ DEMANS İLE OLAN İLİŞKİSİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

| %11 | %7 | %3 | %8 |
|---|---|---|---|
| BENZERLIK ENDEKSI | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR | ÖĞRENCI ÖDEVLERI |

BIRINCIL KAYNAKLAR

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Submitted to Istanbul University<br>Öğrenci Ödevi | %1 |
| 2 | Submitted to Mersin Ãniversitesi<br>Öğrenci Ödevi | %1 |
| 3 | www.docstoc.com<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 4 | istanbulsaglik.gov.tr<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 5 | www.noropsikiyatriarsivi.com<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 6 | www.itfnoroloji.org<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 7 | Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)<br>Öğrenci Ödevi | <%1 |
| 8 | Submitted to TechKnowledge Turkey<br>Öğrenci Ödevi | <%1 |

# ÖZGEÇMİŞ

## Kişisel Bilgiler

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Adı** | Gülsel | **Soyadı** | AYAZ |
| **Doğ.Yeri** | İstanbul | **Doğ.Tar.** | 16.09.1975 |
| **Uyruğu** | TC | **TC Kim No** | 40786666632 |
| **Email** | gulsel.ayaz gmail.com | **Tel** | 05335910363 |

## Eğitim Düzeyi

| | **Mezun Olduğu Kurumun Adı** | **Mez. Yılı** |
|---|---|---|
| **Doktora** | İ.Ü Cerrahpaşa-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD | 2020 |
| **Yük.Lis.** | İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı | 2011 |
| **Lisans** | İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü | 1997 |
| **Lise** | Bakırköy Yahya Kemal Beyatlı Lisesi | 1992 |

## İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

| | **Görevi** | **Kurum** | **Süre (Yıl - Yıl)** |
|---|---|---|---|
| **1.** | Laboratuvar Teknik Elemanı | İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD | 2010-2012 |
| **2.** | Tıbbi Mümessil | Organon İlaçları A.Ş | 1997-2003 |
| **3.** | | | - |

| **Yabancı Dilleri** | **Okuduğunu Anlama*** | **Konuşma*** | **Yazma*** | **KPDS/ÜDS Puanı** | **(Diğer) Puanı** |
|---|---|---|---|---|---|
| **İngilizce** | İyi | İyi | İyi | 70 | |
| | | | | | |

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

| | **Sayısal** | **Eşit Ağırlık** | **Sözel** |
|---|---|---|---|
| **LES Puanı** | | | |
| **(Diğer) Puanı** | | | |

## Bilgisayar Bilgisi

| **Program** | **Kullanma becerisi** |
|---|---|
| | |
| | |
| | |

**Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri**

**Uluslararası SCI Yayın Listesi**

1- Demirci M1, Saribas S2, Ozer N2, Toprak S3, Caglar E3, Ortakoylu G3, Yuksel P2, Ayaz G4, Tokman HB2, Uysal O5, Dinc HO2, Ziver T6, Kocazeybek B7. Diagnostic performance of the RT-qPCR method targeting 85B mRNA in the diagnosis of pulmonary Mycobacterium tuberculosis infection. J Infect Public Health. 2018 Mar 8. pii: S1876-0341(18)30027-3. doi: 10.1016/j.jiph.2018.02.002

2-Güngör ZB, Ekmekçi H, Tüten A, Toprak S, Ayaz G, Çalışkan O, Sönmez H, Madazlı R, Donma O, Kucur M, Ulutin T, Balcı Ekmekçi Ö. Is there any relationship between adipocytokines and angiogenesis factors to address endothelial dysfunction and platelet aggregation in untreated patients with preeclampsia? Arch Gynecol Obstet. 2017 Jul 13. doi: 10.1007/s00404-017-4461-2.

3-Gungor ZB, Sipahioglu N, Sonmez H, Ekmekci H, Toprak S, Ayaz G, Gurel CB, Mutlu T, Ulutin T, Sipahioglu F, Ilerigelen B. Endothelial Dysfunction Markers in Low Cardiovascular Risk Individuals: Comparison of Males and Females. J Med Biochem. 2017 Jan 25;36(1):62-72. doi: 10.1515/jomb-2016-0030. eCollection 2017 Jan.

4-Sipahioglu NT, Ilerigelen B, Gungor ZB, Ayaz G, Ekmekci H, Gurel CB, Can G, Sonmez H, Ulutin T, Sipahioglu F. Relation of Biochemical Parameters with Flow-mediated Dilatation in Patients with Metabolic Syndrome. Chin Med J (Engl). 2017 Jul 5;130(13):1564-1569. doi: 10.4103/0366-6999.208231.

5-The association of MDR1 C3435T and G2677T/A polymorphisms with plasma platelet-activating factor levels and coronary artery disease risk in Turkish population. Ayaz G, Batar B, Kanigur G, Guven M, Onaran I, Karadag B, Ilerigelen B, Dirican A, Ulutin T. Gene. 2013 Sep 15;527(1):301-5. doi: 10.1016/j.gene.2013.06.046. Epub 2013 Jun 29

**Uluslararası ve Ulusal Sunum ve Posterler**

2017 Preeklamptik gebelerde trombosit fonksiyonları ile adipositokinler ve antianjiojenik faktörler arasındaki ilişkinin araştırılması XV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi poster

2017 Cigdem Bayram Gürel1, Gülsel Ayaz1, Handan Tuncel2, Tunaya Kalkan2, Nazmiye Kurşun3, Turgut Ulutin1Effects of constant magnetic field of platelet function. 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry (ICHC)"From Molecules to Diseases" 10.5505/2017ichc.PP-70 [Structure and function of the cell] May 18 - 21, 2017

2016 Association of MDR1C3435T and G2677T/A polymorphisms with plasma platelet activating factor levels and ADP_induced platelet functions in coronary artery disease patients (POSTER) 24th Biennial International Congress on Thrombosis, 4-7th May 2016, Istanbul, Turkey

2016 C. Bayram-Gurel, E. Korkmaz, S. Adin-Çinar, G. Ayaz, G. Kanigür, G. Deniz, T. Ulutin, B. Tutluoglu. Increased Platelet Actıvatıon And P-Selectın In Obstructıve Sleep Apnea Syndrome. Thrombosis Research. C0125. 141S1 (2016) S15.

2016 Increased Platelet Activation and P-Selectin in Obstuctive Sleep Apnea Syndrome (Uluslararası Ulusal Sözlü Sunum: Tıbbi Biyolog Dr.Çiğdem Bayram GÜREL) 24th Biennial International Congress on Thrombosis, 4-7th May 2016, Istanbul, Turkey

2016 Increased Thrombocyte Aggregation in Infants of Diabetic Mother cv (Uluslararası Ulusal sözlü Sunum: Tıbbi Biyolog Dr.Çiğdem Bayram GÜREL) Innovation in Medicine Summit-2, 5th-7th May 2016, Gaziantep, Turkey

2016 Invetigate the correlation of plasma platelet activating factor levels with MDR1 G2677T/A and C3435T polymorphisms in coronary artery disease patients (POSTER)) Innovation in Medicine Summit-2, 5th-7th May 2016, Gaziantep, Turkey

2015 Comparison of the Incidence of Dientamoeba fragilis in a Cohort of Paediatric Children With Allergic Asthma and Controls: Is it a Pathogen or Protector?

(POSTER) the 17th International Congress on Infectious Diseases which will be held in Hyderabad, India, from March 2 to 5, 2016.

2015 MDR-1 G2677A/T ve MDR-1 C3435T Genetik Polimorfizmleri ile Trombosit Aktive Edici Faktör Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Koroner Arter Hastalarında Araştırılması (Poster) 14. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 29 Ekim 2015 Fethiye/ MUĞLA

2015 Statik Manyetik AlanınTrombosit Agregasyonuna Etkisi (Poster) 14. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 29 Ekim 2015 Fethiye/ MUĞLA

2014 Relationship between adipocytokines, angiogenesis-related factors and ADP-induced platelet aggregation in patients with preeclampsia (Poster) The French Society of Biochemistry and Molecular Biology (FEBS- EMBO) FRANSA

2014 Koroner Arter Hastalarında MDR-1 C3435T G2677A/T Polimorfizmleri ile Plazma Trombosit Aktive Edici Faktör Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması (Poster) 8. Ulusal Tromboz Hemostaz ve Anjioloji Kongresi 9 Mayıs 2014, İSTANBUL

2014 Comparison of ADP- Induced Platelet Function in Patients with the Metabolic Syndrome and in Patients with low Cardiovascular Risk (Poster) New Routes for General Practice and Family Medicine / 19th. WONCA Europe Conference - Lisbon/ PORTUGAL

2014 İnvestigating the Corelation between Plasma Platelet Activating Factor Levels and MDR-1 C3435 and G2677T/A Polymorphisms in Coronary Artery Disease Patients (Poster) 23rd Biennial International Congress on Thrombosis/ Valencia / SPAIN 14-17 May.2014

2013 “Türk Popülasyonunda MDR-1 C3435 ve G2677A/T Polimorfizminin PlazmaTrombosit Aktive Edici Faktör Düzeyleri ve Kroner Arter Hastalığı Riski ile İlişkisi’’ (Poster sunum) XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim 2013 Kuşadası/ AYDIN

2013 ‘’Diyabetik Anne Bebeklerinde Artmış Trombosit Agregasyonu’’ (Poster sunum) XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim 2013 Kuşadası/ AYDIN

2013 “Obstruktif Uyku Apne Sendromunda Trombosit Aktivasyonu ve P- Selektin Arasındaki İlişki’’ (Poster sunum) XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim 2013 Kuşadası/ AYDIN

2012 Obstruktif Uyku Apne Sendromunun Şiddeti ile Trombosit Aktivasyonu ve P-Selektin Düzeyleri Artar (Ulusal sözlü bildiri) 4. DETAE Günleri, İstanbul Tıp Fakültesi, Çapa 14-15 Kasım 2012

2012 Association of MDR-1 gene polymorphism and plasma platelet activating factor levels in patients with coronary artery disease (Trombosis Research- 2012) (22nd Internationel Congress on Thrombosis) Nice –FRANSA,(Poster)

2011 Koroner Arter Hastalarinda MDR-1 Polimorfizmi ve PAF (Platelet Activating Factor) Düzeylerinin Hastalıkla Olan Ilişkisinin Arastırılması (Poster Sunum) XII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi / ANTALYA – 27-30 Ekim 2011

**Özel İlgi Alanları (Hobileri):**