

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ALZHEİMER HASTALIĞI'NIN BEYİN ANJİYOTENSİN
RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİ VE ANJİYOTENSİN RESEPTÖR
BLOKÖRLERİNİN BU İLİŞKİYE ETKİSİ**

Çağlar COŞARDERELİOĞLU SEÇER

**Tıbbi Biyoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ANKARA

2023

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALZHEİMER HASTALIĞI'NIN BEYİN ANJİYOTENSİN
RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİ VE ANJİYOTENSİN RESEPTÖR
BLOKÖRLERİNİN BU İLİŞKİYE ETKİSİ

Çağlar COŞARDERELİOĞLU SEÇER

Tıbbi Biyoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Pervin DİNÇER

ANKARA

2023

**ALZHEİMER HASTALIĞI'NIN BEYİN ANJİYOTENSİN RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİ VE
ANJİYOTENSİN RESEPTÖR BLOKÖRLERİNİN BU İLİŞKİYE ETKİSİ**

Öğrenci: Çağlar Coşardereioğlu Seçer

Danışman: Prof. Dr. Pervin Rukiye Dinçer

İkinci Danışman: -

Bu tez çalışması 17.04.2023 tarihinde jürimiz tarafından
" Tıbbi Biyoloji Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: *Prof. Dr. Murat Varlı*
(Ankara Üniversitesi)

Tez Danışmanı: *Prof. Dr. Pervin Rukiye Dinçer*
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: *Prof. Dr. Yunus Kasım Terzi*
(Başkent Üniversitesi)

Üye: *Prof. Dr. Erdem Karabulut*
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: *Prof. Dr. Rıza Köksal Özgül*
(Hacettepe Üniversitesi)

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

18 Nisan 2023

Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

18/04/2023

Çağlar COŞARDERELİOĞLU SEÇER

1 “*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*”

- (1) *Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.*
- (2) *Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.*
- (3) *Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir *.* Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. *Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir*

* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Pervin DİNÇER danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesi'ne göre yazıldığımı beyan ederim. The Memory and Aging Project için onay, The Institutional Review Board of Rush University Medical Center'dan L99032481-CR07 başvuru numarası ile alınmıştır. Bu araştırmanın izni ise The Institutional Review Board of The Johns Hopkins Medicine'dan IRB00229782 başvuru numarası ile alınmıştır.

Çağlar COŞARDÉRELİOĞLU SEÇER

TEŞEKKÜR

Başta yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan ve her zaman desteğini hissettiğim danışmanım Prof. Dr. Pervin Dinçer'e ve tez dönemim boyunca her konuda bana yol gösteren, bilimsel olarak gelişmeme büyük katkı sağlayan Prof. Dr. Peter Abadir'e teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunuyorum.

Örnek ve veri paylaşımı için Prof. Dr. David Bennett'a, Rush Üniversitesi'ne ve Johns Hopkins Üniversitesi'ne teşekkür ediyorum.

Ayrıca, yandal uzmanlık eğitimim sırasında bana bu yüksek lisansa başlama fırsatı sunan Ankara Üniversitesi Geriatri Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Murat Varlı'ya ve bu süreçte desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Sevgi Aras'a, Doç. Dr. Ahmet Yalçın'a ve Doç. Dr. Volkan Atmış'a çok teşekkür ediyorum.

Son olarak da tez dönemim boyunca her an desteğini hissettiğim, birlikte yeni şeyler öğrenip gelişmekten inanılmaz keyif aldığım eşim Görkem Seçer'e ve bugünlere gelmemde büyük emeği olan, bana inanan ve her zaman yanımda olan canım babam İsmet Coşardereioğlu ve canım annem Cemile Coşardereioğlu'na sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Çağlar Coşardereioğlu Seçer

ÖZET

Coşarderalioğlu Seçer, Ç., Alzheimer Hastalığı'nın beyin anjiyotensin reseptörleri ile ilişkisi ve anjiyotensin reseptör blokörlerinin bu ilişkiye etkisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2023. Alzheimer Hastalığı sıklığı giderek artan ve bilişsel işlevlerde azalma ile seyreden etiyolojisi henüz netleşmemiş nörodejeneratif bir hastalıktır. Günümüzde henüz kür sağlayacak bir tedavisi yoktur. Alzheimer Hastalığı (AH) insidansının Anjiyotensin tip 1 reseptör blokör (ARB) kullananlarda daha düşük olduğu çeşitli çalışmalarda gösterildikten sonra, beyin renin-anjiyotensin sistemi (RAS) ve Alzheimer Hastalığı ilişkisi önem kazanmıştır. Beyin renin anjiyotensin sistemi esas olarak üç reseptör alt tipi aracılığıyla hareket eder: AT₁R, AT₂R ve AT₄R. AT₁R, inflamasyonu ve oksidatif stresi destekler. AT₂R nitrik oksidi artırır. AT₄R, dopamin ve asetilkolin salınımı için önemlidir ve hafıza konsolidasyonuna aracılık ettiği gösterilmiştir. Bu tezde, kognitif olarak normal ve AH olan bireylerin postmortem frontal-korteks beyin örnekleri kullanılarak AH ile ilişkili beyin RAS farklılıklarının incelenmesi, bu farklılıkların beyin oksidatif stresi, inflamasyon, ayrıca amiloid-beta ve tangle patolojileri ile ilişkisi ve son olarak ARB'lerin bu ilişkiye etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Beyin RAS reseptörlerinin gen ve protein ifadeleri, oksidatif stres belirteci olarak protein karbonil seviyeleri ve inflamasyon belirteci olarak IL-6, TNF- α , IFN- γ ve IL-1 β seviyeleri ölçülmüştür. Sonuç olarak, Alzheimer hastalarının beyinlerinde AT₁R protein seviyeleri daha yüksek bulunmuştur. Beyin AT₁R seviyesinin, daha yüksek oksidatif stres ve amiloid-beta skorları ile korele olduğu saptanmıştır. Ayrıca, ARB kullanımı, kognitif olarak normal katılımcılarda daha yüksek AT₄R protein seviyeleri ve daha düşük oksidatif stres ve amiloid-beta skorları ile ilişkilendirilmiştir. ARB'lerle tedavi edilen Alzheimer hastalarının beyinlerinde oksidatif stres, inflamasyon veya tangle ve amiloid-beta yükünde anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu çalışma, AH ile ilişkili beyin patolojilerinde beyin RAS'ın rolü hakkında literatüre katkı sağlarken, kognitif bozukluğu olmayan bireylerde ARB'lerin olası koruyucu etkilerine AT₄R'ün aracılık ediyor olabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Alzheimer Hastalığı, Beyin, Beyin renin-anjiyotensin sistemi, Anjiyotensin reseptör blokörleri.

ABSTRACT

Coşardereelioğlu Seçer, Ç., The relationship between Alzheimer's disease and brain renin-angiotensin system and the effects of angiotensin receptor blockers on this relationship. Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Medical Biology Master Thesis, Ankara, 2023. Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease, that is characterized by a decline in cognitive function, and whose etiology is not yet fully understood. Recently, it has been shown that the incidence of AD is lower in individuals with a history of Angiotensin Receptor Blockers (ARBs) use. However the mechanistic relationship between the brain renin-angiotensin system (RAS) and AD remains unknown. The brain RAS mainly acts through three receptor subtypes: AT₁R, AT₂R, and AT₄R. AT₁R promotes inflammation and oxidative stress. AT₂R increases nitric oxide. AT₄R is essential for dopamine and acetylcholine release and mediates memory consolidation. The first part of this thesis aims to dissect the brain RAS differences associated with AD and assess how brain RAS levels correlate with brain oxidative stress, inflammation, as well as amyloid-beta and tangle pathologies. The second part of the thesis aims to analyze the effects of ARBs on brain RAS, oxidative stress, inflammation, as well as amyloid-beta and tangle pathologies in postmortem frontal-cortex brain samples of cognitively intact and AD individuals. To this end, gene and protein expressions of brain RAS receptors, protein carbonyl levels as a marker of oxidative stress, and levels of inflammatory markers such as IL-6, TNF- α , IFN- γ , and IL-1 β were measured. Our results showed higher protein levels of the AT₁R in the brains of AD participants. Brain AT₁R levels was correlated with higher oxidative stress and amyloid-beta scores. ARB use was associated with higher protein levels of AT₄R and lower oxidative stress and amyloid-beta scores in cognitively normal participants. No significant changes observed in oxidative stress, inflammation or tangle and amyloid-beta load in AD brains treated with ARBs. This study offers insight into the role of brain RAS in AD-related brain pathology and suggests a possible role for AT₄R in ARBs-mediated protective effects in cognitively intact individuals.

Keywords: Alzheimer's disease, Brain, Brain renin-angiotensin system, Angiotensin receptor blockers

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiii
TABLOLAR	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Alzheimer Hastalığı	5
2.1.1. Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisi	6
2.2. Renin-Anjiyotensin Sistemi	9
2.2.1. Klasik ve Lokal Renin-Anjiyotensin Sistemine Giriş	9
2.2.2. Beyin Renin Anjiyotensin Sistemi	9
2.2.3. Anjiyotensin Reseptörlerinin Hücre Tipine Göre İşlevleri	11
2.2.4. Beyin Renin-Anjiyotensin Sistemi ile Oksidatif Stres ve Nöroinflamasyon İlişkisi	16
2.3. Alzheimer Hastalığı ve Beyin Renin-Anjiyotensin Sistemi İlişkisi	19
2.4. Renin Anjiyotensin Sistemi Üzerinden Etki Gösteren İlaçlar ve Alzheimer Hastalığı	21
2.4.1. Anjiyotensin Reseptör Blokörleri Hayvan Çalışmaları	21
2.4.2. Anjiyotensin Reseptör Blokörleri İnsan Çalışmaları	22
2.5. Hipotez ve Amaç	23
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER	25
3.1. Gereçler	25
3.1.1. Bireyler	26
3.1.2. Fiziksel İşlev	27
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Beyin Örnekleri	27
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Serum Örnekleri	27

3.2. Yöntemler	27
3.2.1. İnsan Beyin Örneklerinden Protein İzolasyonu ve Miktar Tayini	27
3.2.2. Western Blot	27
3.2.3. İnsan Beyin Örneklerinden cDNA Hazırlanması	28
3.2.4. Kantitatif Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (kGZ-PZR)	28
3.2.5. Oksidatif Stres	29
3.2.6. Sitokinler	29
3.2.7. Amiloid-Beta Yükü ve Tangle Yoğunluğu	30
3.3. İstatiksel Analiz	30
4. BULGULAR	31
4.1. Alzheimer Hastalığı Olan Bireylerde Kognitif Bozukluğu Olmayan Bireylere Göre Renin Anjiyotensin Sistemi Farklılıkları	31
4.1.1. Demografik Özellikler	31
4.1.2. Alzheimer Hastalığı'nda Beyin RAS Ana Ligandı Anjiyotensinojen ve Katalitik Enzimlerin (Renin ve ACE) Gen İfade Düzeylerindeki Farklılıklar	32
4.1.3. Alzheimer Hastalığı'nda Anjiyotensin Reseptörlerinin Gen İfade ve Protein Seviyeleri Farkları	32
4.1.4. Anjiyotensin Reseptörleri ve Oksidatif Stres İlişkisi	35
4.1.5. Anjiyotensin Reseptörleri ve İnflamasyon İlişkisi	35
4.1.6. Anjiyotensin Reseptör Seviyeleri ile Amiloid-Beta Yükü ve Tangle Yoğunluğu İlişkisi	35
4.1.7. AT ₁ R Protein Seviyelerinin Oksidatif Stres Aracılığıyla Tangle Yoğunluğu Üzerine Etkisi	36
4.2. Anjiyotensin Reseptör Blokörü Kullanımının Normal Kognisyonu Bireylerin Beyinlerine Etkisi	37
4.2.1. Demografik Özellikler	37
4.2.2. Normal Kognisyonlu ARB Kullanan Bireylerde Kullanmayanlara Göre Beyin RAS Ana Ligandı Anjiyotensinojen ve Katalitik Enzimler (Renin ve ACE) Gen İfade Düzeylerindeki Farklılıklar	39
4.2.3. Normal Kognisyonlu Bireylerde ARB Kullanımının Anjiyotensin Reseptör Gen ve Protein İfade Düzeyleri Üzerine Etkisi	39
4.2.4. Normal Kognisyonlu Bireylerde ARB Kullanımının Oksidatif Stres ile İlişkisi	40
4.2.5. Normal Kognisyonlu Bireylerde ARB Kullanımının İnflamasyon ile İlişkisi	41
4.2.6. Normal Kognisyonlu Bireylerde ARB Kullanımının Amiloid-Beta Yükü ve Tangle Yoğunluğu ile İlişkisi	41
4.3. Anjiyotensin Reseptör Blokörü Kullanımının Alzheimer Hastalığı Olan Katılımcıların Beyinlerine Etkisi	42

4.3.1. Demografik Özellikler	42
4.3.2. ARB Kullanan Alzheimer Hastalarının Beyin RAS Ana Ligandı Anjiyotensinojen ve Katalitik Enzim (Renin ve ACE) Düzeylerindeki Farklılıklar	43
4.3.3. Alzheimer Hastalığı Olan Bireylerde ARB Kullanımının Anjiyotensin Reseptör Gen ve Protein İfade Düzeylerine Etkisi	44
4.3.4. Alzheimer Hastalığı Olan Bireylerde ARB Kullanımının Oksidatif Stres ile İlişkisi	45
4.3.5. Alzheimer Hastalığı Olan Bireylerde ARB Kullanımının İnflamasyon ile İlişkisi	45
4.3.6. Anjiyotensin Reseptör Seviyeleri ile Amiloid-Beta Yükü ve Tangle Yoğunluğu İlişkisi	46
4.4. Anjiyotensin Reseptör Blokörlerinin Normal Kognisyonlu ve Alzheimer Hastalarında Anjiyotensin Reseptörleri Üzerindeki Etki Farklılığı	46
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	54
6.1. Sonuçlar	54
6.2. Öneriler	55
6.3. Tezden Türetilen Yayınlar	55
7. KAYNAKLAR	57
8. EKLER	83
EK-1. Örnek Western Blot Bandları	83
EK-2. Orjinallik Ekran Çıktısı	84
EK-3. Dijital Makbuz	87
9. ÖZGEÇMİŞ	89

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ACEİ	Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü
AD	Alzheimer Demansı
AH	Alzheimer Hastalığı
AN-A	Aminopeptidaz-A
AN-N	Aminopeptidaz-N
Ang	Anjiyotensin
APP	Amiloid prekürsör protein
ARB	Anjiyotensin II tip 1 reseptör blokörü
AT₁R	Anjiyotensin II tip 1 reseptörü
AT₂R	Anjiyotensin II tip 2 reseptörü
ELİSA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
IFN-γ	İnterferon-gamma
IL-1β	İnterlökin 1-beta
IL-6	İnterlökin 6
ÇAG	Çeyrekler arası aralık (interquartile range)
KBB	Kan beyin bariyeri
mg	Miligram
ml	Mililitre
NFY	Nörofibriller yumaklar
NK	Normal kognisyon
NO	Nitrik oksit
PMI	Ölüm sonrası geçen süre (post-mortem interval)
RAS	Renin-anjiyotensin sistemi
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
rpm	Rounds per minute
TNF- α	Tümör nekrozis faktör- α
μl	Mikrolitre
°C	Derece santigrat

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1. Beyin renin-anjiyotensin sistemi ligand ve reseptörleri	11
2. Kognitif olarak normal olan ve Alzheimer Hastalığı olan katılımcılarda angiotensin II tip 1 reseptör gen ve protein ifade seviyeleri	34
3. Alzheimer hastalığı olan katılımcıların beyin renin anjiyotensin sistemlerindeki farklılıkların şekilsel gösterimi	35
4. Anjiyotensin II tip 1 reseptör seviyesi ile oksidatif stres ilişkisi	36
5. Anjiyotensin II tip 1 reseptör seviyesi ve amiloid-beta ilişkisi	37
6. Anjiyotensin II tip 1 reseptörünün oksidatif stres aracılı etkisi	38
7. Normal kognisyonlu ARB kullanan ve kullanmayan bireylerde anjiyotensin reseptör protein seviyeleri farkları	41
8. ARB kullanan ve kullanmayan normal kognisyonlu bireylerde protein karbonil seviyeleri farkı	42
9. Normal kognisyonlu bireylerde ARB kullanan ve kullanmayan grupta kalkanin korteks ve inferior temporal korteks amiloid-beta skorları	43
10. Alzheimer Hastalığı olan ARB kullanan ve kullanmayan bireylerde anjiyotensin reseptör protein seviyeleri farkları	46
11. Anjiyotensin tip 4 reseptörü ve sitokin seviyeleri arasındaki korelasyonu gösteren serpilme diyagramı	47
12. Anjiyotensin reseptör blokörü kullanan kognitif bozukluğu olmayan ve Alzheimer Hastalığı olan katılımcıların ARB kullanmayanlara göre farklılıklarının şekilsel gösterimi	48

TABLÖLAR

Tablo		Sayfa
1.	Katılımcı karakteristikleri	31
2.	Alzheimer Hastalığı Olan Katılımcılarda Kognitif Olarak Normal Olan Bireylere Göre AGT, REN ve ACE Gen İfadeleri	32
3.	Alzheimer Hastalığı Olan Katılımcılarda Kognitif Olarak Normal Olan Bireylere Göre AGTR1, AGTR2 ve LNPEP Gen İfadeleri	34
4.	Anjiyotensin reseptör blokör (ARB) kullanan ve kullanmayan normal kognisyonlu katılımcı karakteristik özellikleri	38
5.	Anjiyotensin Reseptör Blokör Kullanan Normal Kognisyonlu Bireylerin Kullanmayanlara Göre AGT, REN ve ACE Gen İfadeleri	39
6.	Anjiyotensin Reseptör Blokör Kullanan Normal Kognisyonlu Bireylerin Kullanmayanlara Göre AGTR1, AGTR2 ve LNPEP Gen İfadeleri	40
7.	Anjiyotensin reseptörü kullanan ve kullanmayan Alzheimer Hastalığı olan katılımcıların karakteristik özellikleri	43
8.	Anjiyotensin Reseptör Blokör Kullanan Alzheimer Hastalarının Kullanmayanlara Göre AGT, REN ve ACE Gen İfadeleri	45
9.	Anjiyotensin Reseptör Blokör Kullanan Alzheimer Hastalarının Kullanmayanlara Göre AGTR1, AGTR2 ve LNPEP Gen İfadeleri	45

1. GİRİŞ

Alzheimer Hastalığı, ilerleyici nöron kaybı ve kognisyonda bozulma ile seyreden karmaşık bir nörodejeneratif hastalıktır. Hastalığın patolojik karakteristikleri olarak nöron dejenerasyonu, ekstraselüler amiloid plaklar ve intranöronal nörofibriller yumaklar (NFY) tanımlanmıştır. Bu patolojik değişikliklerin hastalığın klinik semptomları başlamadan çok önce geliştiği birçok çalışmada gösterilmiştir (1,2). Hastalığın etiyojisi tam olarak netleşme de patogeneğinde inflamasyon ve oksidatif stresin önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar giderek artmaktadır (2–4). Epidemiyolojik çalışmalarda renin-anjiyotensin sistemi üzerinden etki gösteren ilaçlar ile Alzheimer Hastalığı arasındaki ilişkinin gösterilmesi ile henüz küratif bir tedavisi bulunmayan hastalık ile beyin renin-anjiyotensin sistemi ilişkisi önem kazanmıştır.

Renin-anjiyotensin sistemi (RAS) ilk olarak su ve elektrolit dengesini, sistemik vasküler direnci, aldosteron salınımını ve kardiyovasküler homeostazı düzenleyen endokrin sistemin bir parçası olarak tanımlanmıştır (5–7). Klasik RAS, renal afferent arteriyollerin jukstaglomerüler hücrelerinden renin salgılanmasıyla aktifleşir. İlk ve hız sınırlayıcı adım olarak renin, öncü molekül anjiyotensinojeni anjiyotensin (Ang) I'ye dönüştürür ve sentezlenen Ang I daha sonra çoğunlukla akciğer endotel hücrelerinde yerleşim gösteren anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından anjiyotensin II'ye dönüştürülür. Bu sistem içinde Ang II, anjiyotensin II tip 1 reseptörüne (AT₁R) ve anjiyotensin II tip 2 reseptörüne (AT₂R) bağlanarak birbirine zıt etkilere yol açan biyoaktif bir üründür (8–10).

Klasik endokrin RAS'ın ötesinde, ilave araştırmalar RAS'ın otokrin ve parakrin etkileri de olduğunu göstermiştir (11). RAS elemanlarının lokal olarak sentezlenebildiği ve endotel hücreleri, adrenal ve hipofiz bezleri, testis, yumurtalık, böbrek, kalp ve göz dahil olmak üzere birçok dokuda lokal olarak etki ettiği gösterilmiştir ve bu RAS formu lokal / doku RAS olarak adlandırılmıştır (10,12,13). Lokal RAS'lar arasında, Ganten ve ark. tarafından keşfedilen beyin RAS, sistemik RAS bileşenleri beyin bölgelerinin çoğuna kan-beyin bariyeri nedeni ile erişemediğinden özel bir öneme sahiptir (14,15).

Beyin RAS'ın, vasküler ve kan basıncı kontrolü gibi RAS'ın iyi bilinen rollerinin ötesinde santral sinir sisteminde oksidatif stres ve nöroinflamasyon dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar aracılığıyla öğrenme ve hafıza, nöronal farklılaşma, beyin homeostazı, nörotransmitter sekresyonundaki değişiklikler gibi karmaşık etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (16–21). Nöronlarda ve astrositlerde, Ang II /AT₁R yolağı, reaktif oksijen türleri (ROS) üretir ve oksidatif strese sebebiyet verebilir (15,22). Tersine, Ang II/AT₂R yolağında nitrik oksit (NO) üretilir ve süperoksit artışı engellenir (23). Böylece, AT₂R, AT₁R'nin yıkıcı etkilerini antagonize eder (24,25). Ang II/AT₁R yolağının aksine Ang II/AT₂R yolağı nöroprotektif mekanizmaları, NO üretimini, nörit büyümesini ve beyin gelişimini indükler ve böylece bilişsel işlevi iyileştirir (26). Bu bağlamda, bozulmuş AT₂R sinyali, AT₁R aracılı oksidatif stres ve nöroinflamasyon ile sonuçlanır, bu da bilişsel bozulmaya yol açabilir. Ek olarak, beyin RAS mikroglialar üzerinde de etkilidir (23,27). Beyin RAS'ın aşırı aktif Ang II/AT₁R yolağı mikroglial aktivasyonu ve M1 pro-inflamatuar polarizasyonu artırarak nöroinflamasyona önemli katkıda bulunur (20). Sonuç olarak, uzun süreli ve çözülmemiş inflamasyon, nöronlara ve sinapslara zarar verir, bu da glial hücrelerin kronik düzensizliğine ve ardından beyin yapısında ve işlevinde kronik bozulmaya neden olur (28).

Alzheimer Hastalığı etiyolojisine katkıda bulunan mekanizmalardan bazıları oksidatif stres, mitokondri işlev kaybı ve antioksidan sistemdeki değişikliklerdir (29). Oksidatif stres, mitokondri membranının lipid peroksidasyonu ile yapısal ve enzimatik proteinlerin ve nükleik asitlerin oksidasyonu yoluyla hasara neden olur. Mitokondri DNA'sının artan oksidasyonu, mitokondrinin bütünlüğünü bozar ve ATP üretimini azaltır, böylece potansiyel olarak mitokondrinin işlev görmemesine neden olur (4). Mitokondrinin işlevi azaldıkça, amiloid-beta üretimi, tau fosforilasyonu, sinaptik dejenerasyon ve oksidatif stres gibi hücrel değişikliklere yol açar (30,31). Ayrıca, proteinlerin oksidatif stresle ilişkili modifikasyonları, amiloid-beta agregasyonuna ve tau proteininin fosforilasyonuna neden olabilir (32). Beyin RAS düzensizlikleri, yukarıda anlatılan mekanizmalarla oksidatif stres ve nöroinflamasyona yol açarak, Alzheimer Hastalığı gibi kronik nörodejeneratif hastalıkların gelişiminde rol oynayabilir (33,34).

Alzheimer Hastalığı'nın önleme yöntemleri ve tedavisine baktığımız da ise maalesef bugün itibariyle etkili bir risk azaltma, önleme veya tedavi stratejisi mevcut değildir. 20 yıldan fazla bir süredir, AH'nin tedavisi için iki kategoride ilaç kullanılmaktadır. Bunlardan biri asetilkolinin yarı ömrünü uzatan kolinesteraz inhibitörleri iken diğeri glutamat eksitotoksitesini ve nöronal hasarı sınırlayan bir NMDA reseptör antagonisti olan memantindir (35). FDA tarafından yeni onay alan aducanumab kullanımı ise etki düzeyi ve yan etkileri dolayısıyla tartışmalıdır (36). Son zamanlarda, anjiyotensin II tip 1 reseptör blokörleri (ARB) veya ACE inhibitörleri (ACEİ) gibi RAS üzerinden etki gösteren ilaçların kullanımı ile Alzheimer Hastalığı prevelansı arasında bir ilişki gösterilmesi ile de beyin RAS ve Alzheimer Hastalığı ilişkisi önem kazanmıştır.

İki tür RAS üzerinden etki gösteren, sık kullanılan ilaç vardır: ARB'ler ve ACEİ'ler. Bunlar arasında, AT₁R blokajı yapan ARB'ler, Ang II seviyelerinin artmasına neden olur ve sonuç olarak AT₂R'nin uyarılmasını artırır. Aksine, ACE inhibitörleri daha düşük Ang II seviyelerine neden olur ve sonuç olarak hem AT₁R hem de AT₂R'nin uyarılmasını azaltır (37). Bu nedenle ARB'ler ile, sistemin, anti-oksidan ve anti-inflamatuar AT₂R yönüne kaymasından ve zararlı etkilerin daha spesifik olarak bloke edilmesinden dolayı bilişsel bozukluğun önlenmesinde diğere RAS etkili ilaçlara göre ARB'lerin potansiyel avantajları olduğu düşünülmüştür (38,39).

ARB'lerin çeşitli çalışmalarda görülen AH'ye karşı koruyucu etkileri ilk olarak, kan basıncı düşürücü etkilerine bağlanmıştır (40). Yukarıda açıklanan sistemik RAS'tan bağımsız hareket eden beyin dokusuna spesifik RAS'ın gösterilmesi ve görevlerinin aydınlatılmaya başlanması ile bu koruyucu etki önem kazanmıştır. Fakat, yaşa bağlı RAS değişiklikleri ve bunun AH'nin gelişmesine ve ilerlemesine katkısı arasındaki ilişki hala net değildir (41–44). Birkaç epidemiyolojik çalışmada, ARB ile tedavi edilenlerde, diğere anti hipertansif ilaçlarla tedavi edilenlere kıyasla AH insidansında ve ilerlemesinde önemli bir azalma görülmüştür (45,46).

Özetle, RAS şimdiye kadar bahsedilen birçok mekanizma aracılığıyla AH patogenezinde etki eden kritik bir bileşen olma potansiyeline sahiptir. Bu etkinin kanıtlanması, RAS'ı düzenleyen ilaçların hali hazırda bulunması ve AH gelişim

riskinin azaltılması ve hastalığın ilerlemesinin yavaşlatılması için kullanılabilme potansiyellerinin yüksek olması nedeni ile oldukça önemlidir.

Bu tezde, öncelikle beyin anjiyotensin reseptörlerinin Alzheimer Hastalığı patogenezindeki rolünü göstermek ve anjiyotensin reseptör blokörlerinin beyin RAS üzerindeki etkilerini ve Alzheimer Hastalığı üzerindeki rolünü ortaya koymak amaçlanmıştır.

İlk amaç doğrultusunda, RAS sistemini etkileyen ACEİ ve ARB cinsi ilaç hiç kullanmamış kognitif bozukluğu olmayan (NK) (n=30) ve Alzheimer Hastalığı (AH) olan (n=30) katılımcıların beyin *AGT* (anjiyotensinojen geni), *REN* (renin geni), *ACE* (anjiyotensin dönüştürücü enzim geni) gen ifadeleri, beyin *AGTR1*, *AGTR2* ve *LNPEP* (*AT4R*) gen ifadeleri ve *AT1R*, *AT2R* ve *AT4R* protein düzeyleri ile oksidatif stres belirteci olarak protein karbonil düzeyleri, inflamasyon belirteçleri olarak interlökin 6 (IL-6), interlökin 1 β (IL-1 β), interferon-gamma (IFN- γ) ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) seviyeleri ölçülerek, gruplar arası farklılıklar tespit edilmiştir. İkinci aşamada ise ARB'lerin etkilerini kognitif olarak bozukluğu olmayan ve AH olan katılımcılarda ayrı ayrı gözlemleyebilmek için hiç ARB kullanmamış ve ARB kullanmış kognitif bozukluğu olmayan katılımcılar birbirleri ile karşılaştırılırken, ARB kullanmamış ve ARB kullanmış AH olan katılımcılar da kendi arasında karşılaştırılmıştır.

Bu tez çalışması, The Johns Hopkins Üniversitesi Biology of Healthy Aging Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, BrightFocus Foundation Research Award ve the National Institute on Aging of the National Institutes of Health tarafından desteklenmiştir (P30AG021334, NIH R01AG046441 ve K23 AG035005). Bu çalışma NIH'nin resmi görüşünü yansıtmaz. The Memory and Aging Project için etik onay, The Institutional Review Board of Rush University Medical Center'dan L99032481-CR07 başvuru numarası ile alınmıştır. Bu araştırmanın izni ise The Institutional Review Board of The Johns Hopkins Medicine'dan IRB00229782 başvuru numarası ile alınmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer Hastalığı, ilerleyici nöronal kayıp ve bilişsel bozulma ile karakterize, sıklığı yaş ile artan karmaşık bir nörodejeneratif hastalıktır (47). Hastalık ilk kez 1906 yılında Alois Alzheimer tarafından tanımlanmıştır. İlerleyici bilinç kaybı ve kişilik değişikliği gibi klinik özellikleri olan kadın hastayı takip eden Alzheimer, hastanın ölümü sonrası beyinde gelişen makroskopik ve mikroskopik değişiklikleri detaylı olarak tarif etmiştir (48). Yaşlı nüfusta en sık demans nedenidir ve tüm demans vakalarının %50-80'ini oluşturmaktadır. Şu anda dünya çapında yaklaşık 50 milyon kişi demans hastasıdır ve yaşlı nüfusun artmasıyla birlikte bu sayının her 20 yılda bir neredeyse ikiye katlanarak toplam sayının 2050 yılında 152 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (49). 2000 ve 2019 yılları arasında kalp hastalığına bağlı ölümler %7.3 azalırken, AH'ye bağlı ölümler %145 oranında artmıştır (50). Türkiye ise demans sıklığının en yüksek olduğu ülkeler arasındadır (51). Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye'de 2018 yılı itibariyle yaklaşık 500 bin Alzheimer Hastalığı tanısı almış hasta bulunmaktadır ve Türkiye İstatistik Kurumu tarafından 2050 yılında bu sayının 1.8 milyona ulaşacağı öngörülmektedir. 2019 Sağlık İstatistikleri Yıllığı verilerine göre 65 yaş ve üzeri bireylerin son 1 yıl içinde geçirdiği sağlık sorunlarının %6'sını Alzheimer Hastalığı oluştururken, ölümlerin %3'ü Alzheimer Hastalığı ve demans kaynaklı gerçekleşmiştir (52).

Demansı olan ve olmayan 83 hastanın beyin otopsilerine dayanarak, Braak ve ark. hastalığın patolojik özelliklerini spesifik sinir hücrelerinin dejenerasyonu, nöritik plakların varlığı ve nörofibriler yumaklar olarak tanımlamıştır (53). En belirgin patolojik değişikliklerin, klinik semptomların ortaya çıkmasından yıllar önce oluşmaya başlayan ekstraselüler amiloid plakları ve intranöronal NFY birikimleri olduğu saptanmıştır (54,55). Bu birikimlerin AH patogenezinde nedensel olmaması mümkün olsa da, AH'yi demansa yol açabilen farklı hastalıklar arasında benzersiz bir nörodejeneratif hastalık olarak karakterize ederler.

2.1.1. Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisi

Alzheimer Hastalığı, beta amiloid peptid içeren nöritik plaklar ve hiperfosforile tau protein içeren nörofibriler yumaklar ile karakterize ve nöron ve sinaps kaybı sonucunda beyin atrofisine yol açan karmaşık bir hastalıktır. İnsan beyninin karmaşıklığı, makul hayvan modellerinin ve araştırma araçlarının eksikliği nedeniyle, AH'nin ayrıntılı patogenezi şu ana kadar belirsizdir. Alzheimer Hastalığı hakkında amiloid-beta, tau, kolinerjik nöron hasarı, oksidatif stres ve nöroinflamasyon dahil olmak üzere çeşitli hipotezler geliştirilmiştir (56).

a. Amiloid-Beta Hipotezi

Amiloid-beta peptidi, bir transmembran protein olan amiloid prekürsör proteininin (APP) yıkım ürünlerindedir. Santral sinir sisteminde, APP bir dizi proteolitik enzimle kesilerek metabolize edilmektedir. APP, iki ayrı yolak üzerinden yıkıma uğrayabilir. Her iki yolakta da ikinci basamakta γ -sekretaz tarafından kesime uğrar. Amiloidojenik olmayan yolakta birinci basamakta α -sekretaz tarafından kesilen APP'den çözülebilir formda olan, çözülebilir amiloid prekürsör protein α (sAPP α) ve membrana bağlı 83 aminoasitlik C83 fragmanı oluşur. Daha sonra bu parça γ -sekretaz ile kesildiğinde ise yine çözülebilir bir form olan p3 ortaya çıkar ve membrana bağlı amiloid intraselüler domain (AICD) isimli fragman sitoplazmaya salınır. Amiloidojenik yolakta ise APP ilk olarak β -sekretaz (BACE-1; b-site APP cleavage enzyme 1) tarafından kesime uğrar. Bunun sonucunda çözülebilir amiloid prekürsör protein β (sAPP β) ve membrana bağlı 99 aminoasitlik C-terminal parçası C99 ayrılır. C99'un γ -sekretaz ile işleme girmesi ise Amiloid-beta sekresyonu ve ACID oluşumu ile sonuçlanır. C99'un γ -sekretaz ile kesilmesinden ortaya çıkan amiloid-beta peptidinin uzunluğu 37 ve 42 aminoasit arasında değişkenlik gösterir. Fakat, uzun varyantlar (Amiloid-beta 40 ve özellikle 42) birikmeye daha yatkındır. Amilod-beta, fazla üretilmesi ya da azalmış temizlenmesi sonucunda, parçalanamayıp, yapısı nedeniyle oligomerize olmakta ve "beta-tabakası" tipinde bağlantılar kurarak çözünemez hale gelip plaklar şeklinde çökmektedir (56,57).

Hem çözülebilir amiloid-beta hem de plaklar toksiktir ve bu hipotezde, bu toksik etkilerin tau hiperfosforilasyonu, inflamasyon, oksidatif stres gibi sekonder olaylara yol açtığı düşünülmektedir (58,59).

b. Tau Hipotezi

Nörofibriler yumakların temel bileşeni hiperfosforile tau proteinleridir. Tau 17. kromozom tarafından kodlanan mikrotübül-ilişkili protein (microtubule-associated protein; MAP) ailesinden bir protein olup mikrotübüllerin stabilizasyonu, hücre iskeleti bütünlüğü ve kargo veziküllerinin aksonal taşınmasında rol almaktadır. Bu hipoteze göre, tau proteinlerinin işlevini ve izoform ekspresyonunu değiştiren mutasyonlar, onun hiperfosforilasyonuna yol açar. Stabiliteyi kaybeden tau proteinleri mikrotübüllere çok düşük bir afinite ile bağlanarak mikrotübül stabilitesinin bozulmasına neden olurlar. Ayrıca, hiper fosforlanmış tau ipliklerinin toplanmasıyla oluşan nörofibriller yumaklar, sinir hücrelerinin mikrotübül ağını parçalar. Bu, hücre içinde ve hücreden herhangi bir biyokimyasal iletişimin inhibisyonuna ve hücre iskeletinin tahrip olmasına yol açar (60).

c. Oksidatif Stres ve Alzheimer Hastalığı

Oksidatif stres, AH patogenezinde yer aldığı düşünülen mekanizmalardan bir diğeridir. Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminin hücrenin antioksidan savunma mekanizmasını aştığı durumda gerçekleşir. Beyin, yüksek enerji ihtiyacı, yüksek oksijen tüketimi, kolayca peroksitlenebilir çoklu doymamış yağ asitleri, güçlü bir ROS katalizörü olan demirin fazlalığı ve antioksidan enzimlerin görece azlığı nedeniyle oksidatif dengesizliğe oldukça duyarlıdır, bu durum Alzheimer Hastalığı'na sahip beyinlerde daha da belirgindir (61).

Serbest radikallerin birikimi ve oksidatif stres, plazma ve mitokondri membranları gibi membranların lipit peroksidasyonu veya protein tersiyer yapı ve işlevinin ve nükleik asitlerin geri dönüşü olmayan modifikasyonu ile yapısal ve enzimatik proteinlerin oksidasyonuna sebep olarak hasara ve nöronal dejenerasyona neden olur. Ayrıca, amiloid-beta oligomerleri membran çift katmanları arasına girerek, ROS üretimine ve ardından hücre içi protein ve nükleik asit oksidasyonuna yol açabilir (60).

Abartılı bir ROS üretimine karşı koymak için, mitokondri çok etkili bir antioksidan sisteme sahiptir, glutatyon peroksidaz, katalaz ve peroksiredoksin gibi.

Mitokondri DNA'sı (mtDNA), elektron transfer zincirinin yakınında yerleştiği ve histonlarla çevrili olmadığı için oksidatif hasara özellikle duyarlıdır. Mitokondri DNA'sının eşzamanlı artan oksidasyonu ve DNA onarımının eksikliği, mitokondri genomunda hasarı arttırabilir ve nöronal hasara neden olabilir. Oksidatif stres belirteçlerinin yüksekliği Alzheimer hastalarının beyinlerinde raporlanırken, ayrıca oksidatif stresten korunma mekanizmalarında da bozukluk saptanmıştır (3,62–66). Bu temelde, biyomoleküllerde oksidatif aracılı hasarın yaygın olarak AH'de rapor edilmesi oksidatif stresin hastalık patogenezinde kritik bir rol oynadığını düşündürmüştür (67). ROS oluşumunun ana kaynağı ve oksidatif hasarın ana hedefi olarak, mitokondrinin ilerleyici bozulması yaşlanma ve AH ile ilişkilendirilmiştir (68). Oksidatif stres ve mitokondri işlevsizliği arasındaki etkileşim, muhtemelen AH'de gözlenen değişiklikleri artıran kısır bir döngü oluşturur.

d. İnflamasyon ve Alzheimer Hastalığı

Reaktif gliosis ve nöroinflamasyon, AH'nin karakteristik özelliklerindedir. Transkriptomik çalışmalarla da desteklendiği gibi, mikroglia ile ilgili yolakların AH riski ve patogenezinde önemli bir yere sahip olduğu düşünülmektedir (56).

Mikroglia, bir yandan kompleman bileşenleri, kemokinler, serbest radikaller ve inflamatuvar sitokinler gibi inflamatuvar mediatörleri serbest bırakarak, amiloid-beta oluşumuna ve oligomerlerin toplanmasına yol açarak AH patogenezinin başlatır (69). Öte yandan, mikroglia, amiloid plaklarının temizlenmesini uyarır. Böylece, mikroglia aktivasyonunun neden olduğu nöroinflamasyon bir kısır döngüye girer ve amiloid-beta plakları mikroglia'yı aktive ederken, mikroglia inflamatuvar mediatörler üretir, inflamasyona ve amiloid-beta birikimine neden olur (70). Bu nedenle, mikroglia aşırı aktivasyonunun önlenerek bu döngünün inhibe edilmesi, AH'ye karşı potansiyel bir hedef olabilir. Mikroglia'nın erken uyarımı, amiloid-beta plağının temizlenmesinde oldukça yararlı olsa da, sonraki aşamalarda nöroinflamasyon ve apoptozu indükler (71).

2.2. Renin-Anjiyotensin Sistemi

2.2.1. Klasik ve Lokal Renin-Anjiyotensin Sistemine Giriş

Renin-anjiyotensin sistemi ilk olarak sıvı-elektrolit dengesini sağlayan, sistemik vasküler rezistansı ve kan basıncını düzenleyen endokrin sistemin parçası olarak tanımlanmıştır. İlk olarak reninin keşfinden (7) 40 sene sonra diğer bir RAS bileşeni olan anjiyotensin eş zamanlı olarak iki ayrı grup tarafından tanımlanmıştır (5,6). Klasik renin-anjiyotensin sistemi renal jukstaglomerular hücrelerden renin salınımı ile başlar. İlk ve hız kısıtlayıcı basamak olarak renin, anjiyotensinojeni anjiyotensin I'e çevirir. Anjiyotensin I daha sonra ACE enzimi ile Ang II'ye çevrilir. Bu sistem içinde, Ang II primer biyoaktif ürün olarak Anjiyotensin II tip 1 ve tip 2 reseptörleri üzerinden antagonistik etki gösterir (72–74).

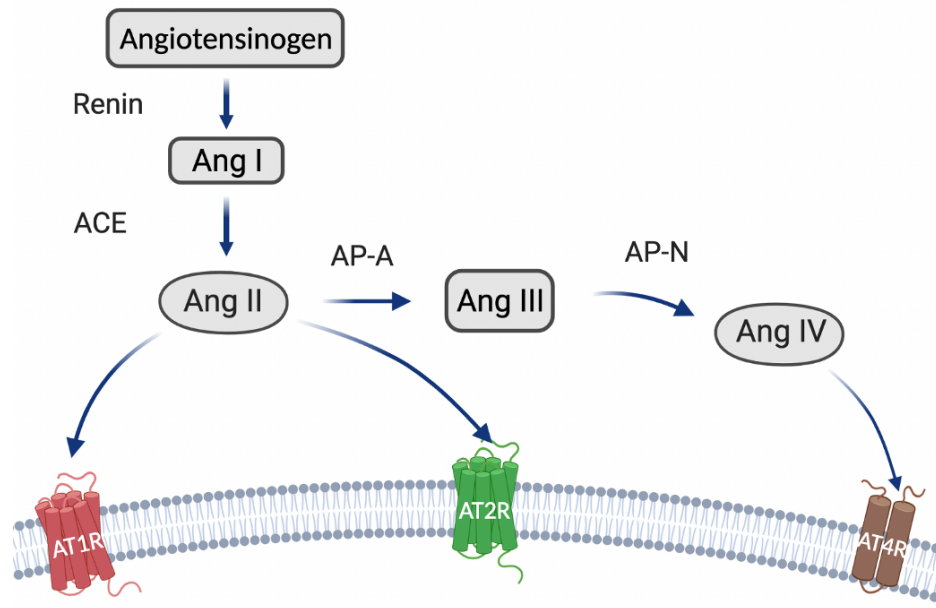
Klasik (sistemik) renin-anjiyotensin sisteminin yanında yakın zamanda lokal olarak sentezlenerek etki gösteren bir lokal RAS sisteminin de olduğu ve akciğer, böbrek, kalp ve göz gibi bir çok dokuda etkin olduğu gösterilmiştir (73,75,76). Bu yeni sistem lokal (doku) RAS olarak adlandırılmıştır. Bu lokal RAS sistemleri içinde, Ganten ve ark. tarafından keşfedilen beyine spesifik RAS, sistemik RAS birçok beyin bölgesinde kan beyin bariyerini geçerek etki gösteremediği için ayrı bir öneme sahiptir (77,78).

2.2.2. Beyin Renin-Anjiyotensin Sistemi

Sistemik ve lokal olmak üzere beyinde iki ana renin-anjiyotensin sistemi mevcuttur (79,80). Sistemik RAS etkilerini kan beyin bariyeri (KBB) olmayan sirkümventriküler organlar aracılığıyla hipotalamus ve medullaya uzanarak gösterir (81,82). Beyin RAS'ta ise sistemik RAS'ın tüm komponentleri bağımsız olarak sentezlenerek etki gösterebilir (78,83). Beyinde aktif RAS genleri yanı sıra RAS bileşenlerinin de novo üretimi de genel olarak kabul edilmektedir (83–86).

Anjiyotensinojen, beyinde çeşitli nöroaktif anjiyotensin peptitlerine dönüşmek üzere astrositlerden üretilir ve salınır (87,88). Anjiyotensinojenin dekapeptit Ang I'e dönüşümü, renin tarafından katalizlenir. Daha sonra, bir çinko metalloproteaz olan ACE, oktapeptit Ang II'yi oluşturmak için Ang I'in karboksi-terminal dipeptidini hidrolizler (78). Glutamil aminopeptidaz A (AP-A), Ang II'nin N-terminalindeki aspartat kalıntısını/rezidüsünü keserek heptapeptid anjiyotensin III'ü oluşturur ve Ang III daha sonra alanil aminopeptidaz N (AP-N) tarafından heksapeptit anjiyotensin IV'e

(Ang IV) dönüştürülür (89,90). Alternatif olarak Ang II, ACE'nin bir izoformu olan karboksipeptidaz P ve ACE2 tarafından Ang (1-7)'ye dönüştürülebilir (78). ACE2 ayrıca Ang I'i Ang (1-9)'a dönüştürebilir. Ang (1-7), ACE ile Ang (1-9)'dan veya nötr endopeptidaz ile Ang I'den dönüştürülebilir (91). Ang II, Ang (1-7) ve Ang IV beyinde etkileri gösterilen ana nöroaktif anjiyotensin peptidleridir (Şekil 1).



Şekil 2. Beyin renin-anjiyotensin sistemi ligand ve reseptörleri

Ang II, her ikisi de G-proteine bağlı reseptör (GPCR) ailesinin üyeleri olan iki reseptör alt tipi aracılığıyla etki eder: Anjiyotensin II tip 1 reseptörü (AT₁R) ve Anjiyotensin II tip 2 reseptörü (AT₂R) (92). İnsan anjiyotensin II tip 1 reseptörü 359 amino asit içerir ve 41 kDa'dır. Anjiyotensin II tip 2 reseptörü ise AT₁R'e %34 özdeştir, 363 amino asitten oluşur ve 41kDa'lık bir kütleye sahiptir (93,94). AT₁R'ler ve AT₂R'ler çoğunlukla korteks, hipokampus ve bazal gangliyonlarda tanımlanmıştır (20,34,95). AT₁R ve AT₂R nöronlar, astrositler, mikroglia ve oligodendrositlerde gösterilse de, normal ve hipertansif koşullar altında AT₁R ve AT₂R'nin hücresel

konumları göstermeyi hedefleyen bir çalışma nöronlarda daha yoğun bulduklarını göstermiştir (96).

Sistemin en yeni keşfedilen bir başka reseptörü ise anjiyotensin tip 4 reseptörüdür (AT₄R). Ang IV bu reseptör zerinden etki gösterir. Diğer anjiyotensin reseptörlerinden farklı olarak AT₄R, insülinle düzenlenen aminopeptidaz (IRAP)'dır. AT₄R'ler beynin bilişsel ve duyuusal alanlarında bol miktarda bulunmuştur (90).

AT₁R ve AT₂R uyarımı genellikle zıt etkilere yol açar. AT₁R vazokonstriksiyon, hücresel proliferasyon, hücre büyümesi ve süperoksit üretimine aracılık ederken, AT₂R vazodilatasyona aracılık eder ve antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri gösterilmiştir (97,98). AT₁R'nin Ang II ile uyarılmasından sonra, inositol trisfosfat, diaçilgliserol ve araşidonik asitten oluşan ikincil haberci sinyali, fosfolipaz C, A ve D gibi yolak efektörlerinin aktivasyonunu başlatır. Protein kinaz C, Akt, hücre içi protein kinazlar (reseptör ve reseptör olmayan tirozin kinazlar gibi) ve serin / treonin kinazlar (mitojenle aktive edilmiş protein kinaz [MAPK] ailesi kinazlar gibi), AT₁R sinyal kaskadıyla etkinleştirilir (21). AT₂R, protein fosfataz ve NO / siklik GMP sistemini aktive eder ve fosfolipaz A₂'yi uyarır (97). AT₂R ayrıca insülin ve epidermal büyüme faktörü reseptörlerinin otofosforilasyonunu engelleyerek hücre büyümesini ve proliferasyonunu bloke eder (99). Ayrıca, AT₁R blokajı, negatif geri beslemeyi inhibe ederek anjiyotensinojen ve AT₂R uyarımını artırır (100).

2.2.3. Anjiyotensin Reseptörlerinin Hücre Tipine Göre İşlevleri

Nöronlarda, Ang II/AT₁R yolağı, diğer dokularda olduğu gibi NADPH oksidaz aracılığıyla reaktif oksijen türleri üreterek, oksidatif stres oluşturur. Tersine, Ang II/AT₂R yolağı NO üretir ve süperoksit artışını engeller (23). Nöronlarda, Ang II/AT₁R yolağı prooksidatif ve proinflamatuvar özelliklere sahipken, Ang II/AT₂R yolağı koruyucu olarak işlev görür (23). Ayrıca AT₂R agonisti CGP421140'ın NO üretimini doza bağlı bir şekilde aktive ettiği ve AT₂R blokörü PD-123319'un bunu azalttığı gösterilmiştir (17).

Mitokondriye özgü RAS'ta olduğu gibi, nükleer RAS, oksidatif stresin düzenlenmesi için esastır. Ek reseptör türlerinin transkripsiyonu ve trafiği yoluyla

RAS'ın zararlı ve koruyucu yolları arasındaki dengeyi korur (23,101,102). Nükleer AT₁R'ler aktive edildiğinde, hem oksidatif hem de anti-oksidatif mekanizmalar başlatılır. Anjiyotensinojen ve renin mRNA seviyelerinde bir artış görülür, bu da daha fazla hücre içi Ang II sentezine yol açar. Eşzamanlı olarak, koruyucu AT₂R seviyeleri artar ve AT₂R'ler mitokondri ve hücre zarları gibi farklı organellere iletilir. Bu telafi edici mekanizmalar, yaşlanma ve bilişsel bozukluklarda işlevsiz olabilir (20).

Ang II/AT₁R ekseninin aşırı aktivasyonunun beyin üzerinde hipertansiyon, nöroinflamasyon, artan oksidatif stres, kan beyin bariyerinin bozulması ve nörotoksisite gibi birçok zararlı etkisi vardır (103,104). Ang II/AT₁R yolağı, merkezi sinir sisteminde sempatik nörotransmitter salınımını artırır. Özellikle vazopressin, dopamin ve norepinefrin salınımını kolaylaştırmaktadır (105–107). Ayrıca çalışmalar, beyin RAS'ın inhibitör GABA ve uyarıcı glutamat vericileri üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Ang II/AT₁R ekseninin GABA'yı azalttığı ve glutamat salınımını arttırdığı gösterilmiştir (108–110). AT₂R aktivasyonunun AT₁R'nin nörosekretuar etkisine karşı işlev gördüğüne dair kanıtlar vardır (107,111).

Ang II/AT₁R sinyalinin etkilerinin aksine, Ang II, AT₂R aktivasyonu yoluyla nöroprotektif mekanizmaları, NO üretimini, nörit büyümesini ve beyin gelişimini indükler, böylece bilişsel işlevi geliştirir (26). Bu bağlamda, bozulmuş AT₂R sinyali, AT₁R aracılı oksidatif stres ve nöroinflamasyon ile sonuçlanır, bu da bilişsel bozulmaya neden olabilir. Örneğin, hipokampus içinde AT₂R aktivasyonunun azalmasının dendritik iskelet anormalliklerine ve uzaysal bellek eksikliklerine neden olduğu gösterilmiştir (112). Başka bir nöroprotektif mekanizma olarak, AT₂R aktivasyonu, kemirgenlerde iskemik yaralanmadan sonra artan VEGF üretimi yoluyla nöronal sağkalımı ve nörolojik eksiklikleri iyileştirmiştir (113). AT₂R aktivasyonu ayrıca, ubikuitin-konjuge edici bir enzim varyantı olan metil metansülfonata duyarlı 2'nin indüklenmesi yoluyla sinir sistemindeki hasarlı DNA'nın onarımını ve farklılaşmayı da artırır (25).

AT₄R'ler çoğunlukla nöronlarda, özellikle duyu ve bilişsel bölgelerde bulunur. AT₄R'lerin bilişsel etkileri için davranışsal kanıtlar sunan ilk çalışmalardan birinde, intraserebroventriküler olarak bir Ang IV analogu kullanarak dairesel su labirenti görevinde skopolaminle indüklenmiş eksiklikleri olan sıçanların öğrenme ve

hafıza işlevlerinde iyileşme gösterilmiştir (114). Önceki çalışmalarda, Ang IV'ün etkisini, kısmen insülinle düzenlenen glikoz taşıyıcısı (GLUT 4) ile birlikte dağılan IRAP aracılığıyla gösterdiği öne sürülmüştür (115,116). Bu bağlamda, AT₄R'lerin bazı etkilerini IRAP'ın katalitik aktivitesini inhibe ederek gösterdikleri düşünülmüştür (117–119). Bu inhibisyonla birlikte, Ang IV, vazopressin, oksitosin, somatostatin ve endotelial NOS gibi bellek konsolidasyonunu ve geri çağırmasını arttırdığı gösterilen çeşitli pro-bilişsel endojen peptitlerin yarı ömrünü uzatır. Belleği geliştiren bir diğer AT₄R/IRAP aracılı yol da, GLUT4 veziküler trafiğinin düzenlenmesi yoluyla nöronal glikoz alımıdır (26,120–122). Ayrıca, AT₄R aktivasyonu, hücre içi kalsiyum akışındaki artışlar yoluyla N-metil-d-aspartat bağımlı olmayan (NMDA olmayan) bir LTP (uzun süreli potansiyasyon) formunu indükler (123). Ang IV'ün bilişsel etkileriyle ilintili olarak, IRAP inhibitörlerinin hafızayı iyileştirdiği gösterilmiştir (124–126). Ang IV/AT₄R'nin önerilen diğer bir nöroprotektif yolu, hepatik büyüme faktörü ve tip 1 tirozin kinaz reseptörü (c-Met) sinyallemesidir. HGF/c-Met yolunun bir aracısı olarak Ang IV, c-Met'i uyarır (121,127), bu da daha sonra NMDA'ya bağımlı olmayan LTP yolunu indükler (128–130).

Ek olarak, HGF/c-Met sistemi, serebral kan akımını düzenleyerek serebroprotektif etkiler gösterir. HGF/c-Met sisteminin tüm bu işlevleri, AngIV/AT₄R sistemininkilerle örtüşmektedir (131). Ang IV'ün öğrenme ve hafıza etkilerinin bir başka sebebi ise, nörotransmitter salgılanmasının düzenlenmesidir. Bu bağlamda, Ang IV'ün serotonin, dopamin ve asetilkolin salınımını modüle ettiği hipoteze edilmiştir (120,132,133). Bu hipotez, AT₄R'ler ve D2 reseptörlerinin yakın lokalizasyonunu ve D2 ve D4 dopamin reseptörlerinin blokajı yoluyla AngIV ile indüklenen bilişsel iyileşmenin sınırlandırıldığını gösteren çalışmalarla desteklenmiştir (134–137).

Astrositler beynin ana anjiyotensinojen kaynağıdır. Astrositlerin de hücre zarlarında, mitokondrilerinde ve çekirdeklerinde AT₁R ve AT₂R bulunur (23,138,139). Tamamen net olmasa da, az sayıda çalışma astrositlerde AT₄R'lerin varlığını göstermektedir (140,141). Nöronlarda olduğu gibi, AT₁R'lerin astrositlerde aşırı aktivasyonu oksidatif strese, inflamasyona ve bilişsel bozulmaya katkıda bulunur.

Bununla birlikte, astrositik AT₁R aktivasyonu KBB'nin geçirgenliğini de etkiler (142,143).

Mikroglial hücreler, beynin immün ve inflamatuvar yanıtlarına aracılık eden makrofajlardır (144). İki durumda olabilirler: dinlenir veya aktif. Normal koşullarda, nöronlar tarafından salgılanan immünosupresif proteinler nedeniyle mikroglia dinlenme durumunda kalır. Adlarının aksine, dinlenme durumundaki mikroglia hücreleri, beyin homeostazındaki herhangi bir anormalliği tespit etmek için çevrelerini aktif olarak taramaktadırlar. Aktifleştiklerinde, iki farklı alt duruma kutuplaşabilirler: proinflamatuvar/klasik olarak aktive edilmiş (M1) ve anti-inflamatuvar/alternatif olarak aktive edilmiş (M2) alt durumları. M1 alt durumu, proinflamatuvar mediyatörleri ve serbest radikalleri salgılayarak nöronal ölümü şiddetlendirir. Buna karşılık, bağışıklık düzenleyici mikroglia olan M2 substratı, beyin onarımını/rejenerasyonunu destekler, nöronları koruyan büyüme faktörleri ve anti-inflamatuvar sitokinler üretir ve iltihabı azaltır (20). Herhangi bir beyin lezyonunun varlığında proinflamatuvar M1'den immüno-düzenleyici M2 substratına yetersiz geçiş, inflamatuvar sitokinlerin ve ROS'un uzun süreli salınımına neden olabilir, bunu artan nöroinflamasyon ve nörodejenerasyon izler (145–147). RAS'ın periferik bağışıklık sisteminde olduğu gibi bu bağışıklık düzenleyici yanıtta da rolü olduğu bilinmektedir (20). Özellikle RAS, mitokondri, çekirdek ve hücre zarları üzerindeki AT₁R'ler ve AT₂R'ler aracılığıyla mikroglia'yı etkiler (23,27,139). M1 mikroglia proinflamatuvar yanıtı uyarması ile AT₁R'ler ve AT₂R'ler upregüle olur. Bu şekilde, nükleer AT₁R'nin aktivasyonu kendini upregüle eder ve M1 fenotipine doğru kaymaya yol açar. M1 pro-inflamatuvar yanıtın AT₁R aracılı aktivasyonunun, hücre ölümünü ve inflamasyonu şiddetlendiren ve sonuçta bozulmuş bilişe yol açan mekanizma olduğu öne sürülmüştür (148). AT₁R ile gözlemlenene benzer şekilde, nükleer AT₂R'nin aktivasyonu kendini upregüle eder ve M2 fenotipine doğru bir kaymaya yol açar (20). Bu değişim ayrıca, IL-10 ve IL-4 gibi anti-inflamatuvar sitokinlerin üretimine ve sinaptik klirens yardımcı olan fagositik reseptörlerin ifadelerinin artışına yol açar (16,27,149,150). Bu mekanizma ile beyin RAS'ın Ang II/AT₁R yolağı mikroglial aktivasyonu ve polarizasyonu artırarak nöroinflamasyona önemli katkıda bulunur (20). Sonuç olarak, uzun süreli ve çözülmemiş inflamasyon, nöronlara ve sinapslara zarar verir, bu da glial hücrelerin kronik düzensizliğine ve ardından beyin yapısında ve işlevinde kronik bozulmaya

neden olur (28). Antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olan AT₂R, hücrenin hayatta kalmasını ve sinaptik plastisiteyi desteklediği bilinen beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF) üretimini de artırır (148) ve bilişi geliştirir (151). AT₂R ifadesi genellikle AT₁R ile birlikte telafi edici bir mekanizma olarak artarken, bu ilişkinin yaşlanma ile bozulduğu gösterilmiştir (20).

Oligodendrositler akson miyelinleştirici hücrelerdir ve hücre zarlarında AT₁R ve AT₂R'lerin mevcut olduğu düşünülmektedir. Özellikle oligodendrositlerde, AT₁R'ler demiyelinizasyona yol açarken, AT₂R'ler yeniden miyelinizasyonu teşvik ederek sinaptik iletimi artırır ve nöronal iletişimi geliştirir (90,152).

2.2.4. Beyin Renin-Anjiyotensin Sistemi ile Oksidatif Stres ve Nöroinflamasyon İlişkisi

Önceki bölümde gözden geçirildiği gibi, RAS'ın beyindeki işlevleri hipertansiyonla sınırlı değildir. Bu işlevlerin düzensizliği beyin üzerinde zararlı etkilere neden olabilir. Bu bağlamda, beyindeki anksiyete, depresif bozukluk ve alkolizm dahil olmak üzere birçok farklı nöropsikiyatrik bozuklukta beyin RAS'ın rolü tanımlanmıştır (20). Beyin RAS, oksidatif stres ve nöroinflamasyonda önemli bir rol oynayarak kronik nörodejeneratif hastalıklara da yol açabilir (153).

a. Oksidatif Stres

Reaktif oksijen türlerinin, fizyolojik koşullar altında metabolizma, hücresel sinyalizasyon ve öğrenme ve bellek süreçlerinin uygun şekilde oluşumunda temel rolleri olsa da (154–156), aşırı miktarda üretilmeleri oksidatif strese yol açabilir (157). ROS, NADPH-oksidadın (NOX) birincil ürünü ve ksantin oksidaz, siklooksijenazlar, uncoupled NOS ve mitokondriyal elektron taşıma zinciri gibi diğer birçok enzimatik işlemin ikincil ürünleri olarak üretilirler (18). Bunlar arasında, membran NOX kompleksleri ve mitokondri, ROS'un iki ana kaynağıdır (158). Ayrıca, biriken ROS miktarları mitokondriyal bütünlüğü bozabilir, ATP üretimini azaltabilir ve daha fazla mitokondri kaynaklı ROS'a yol açabilir (159). Mitokondri kaynaklı ROS'un sitoplazmaya ulaşarak hücresel işlev bozukluğuna katkıda bulunduğu bilinmektedir.

ROS ile ilişkili oksidatif stres, oksidasyon yoluyla proteinlerin yapısal ve işlevsel modifikasyonlarına yol açar. Bu modifikasyonlar, bazı proteinlerin hidrofobikliğini arttırarak protein agregasyonuna yol açabilir. Protein agregasyonunun bir sonucu olarak hücrel toksisiteyi sınırlamak için okside olmuş ve hasar görmüş proteinlerin etkin bir şekilde uzaklaştırılması esastır. Bu uzaklaştırma, protein yıkılması ya da otofajik yol ile gerçekleştirilebilir. Bununla birlikte, ROS, proteazom sistemini de bozabilir ve protein yıkımının azalmasına ve sinüklein veya tau gibi anormal proteinlerin birikmesine nörodejeneratif hastalıklarda yol açabilir (160,161). Proteazom bazlı protein yıkımının ROS ile ilişkili inhibisyonu, otofajiyi arttırır. Hafif oksidatif strese yanıt olarak otofaji nöroprotektif olmasına rağmen, aşırı veya kronik upregülasyonu hücrel ölümü teşvik eder (162). Bu yollar ile ROS üretimi ve oksidatif stresin yıkıcı etkileri daha da şiddetlenebilir (163). Özellikle, hem proteazom aracılı yıkım hem de otofaji, yaşa bağlı işlev bozukluğu gösterir ve ROS'un bu süreçler üzerindeki etkileri, yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıkların gelişimine katkıda bulunur (162,164).

NOX'un yedi izoformu vardır. Bunlar arasında beyinde NOX1, NOX2 ve NOX4 tespit edilmiştir (165). Ang II/AT₁R yolağının aşırı uyarılması, bu beyin NOX komplekslerini aktive edebilir ve aşırı miktarda ROS üretilebilir (166). Ang II'nin akut ve kronik uygulanması ile NOX2 aktivasyonu yoluyla beyinde ROS'un yükseldiği gösterilmiştir (167,168). Hücre dışı Ang II'nin, membrandaki AT₁R'ye bağlanması ile NOX2'yi aktive eder, hücre içi Ca⁺² seviyelerini arttırır ve hücre içi oksidatif stres oluşturur (169). Ek olarak, Ang II'nin serebral dolaşımdaki endotel bağımlı vazodilatasyonu yok edebildiği bilinmektedir. Bununla birlikte, ilginç bir şekilde Ang II'nin bu zararlı etkilerinin, Ang II ile tedavi edilen NOX2 eksikliği olan farelerde meydana gelmediğini gösterilmiştir (168). Nükleer ve mitokondriye ait AT₁R'lerin aktivasyonu, nöronlarda fosfoinositol-3 kinaza ve protein kinaz C aktivasyonuna bağlanarak NOX4'ten türetilen ROS üretir (170–174). Önemli olarak, nükleer AT₁R'lerin aktivasyonu, gen ifadelerini düzenler ve hücreleri oksidatif strese karşı koruyan çeşitli mekanizmaları tetikler (174). Özellikle nükleer RAS, AT₂R mRNA ve anjiyotensinojenin ifadesini arttırır ve nöronlardaki AT₁R etkilerine karşı koymak için Ang II /AT₂R eksenini aktive eder (174–176).

Reaktif oksijen türleri oluşumunu artırmanın yanı sıra, RAS, süpürücü enzimlerin aktivitesini azaltarak mitokondrinin redoks dengesini değiştirebilir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon dahil olmak üzere birçok temizleyici, beyindeki oksidatif stresin azaltılmasında önemli bir role sahiptir. Üç SOD formu vardır: sitozolik bakır-çinko SOD (CuZnSOD; SOD1), mitokondriye ait mangan SOD (MnSOD; SOD2) ve hücre dışı CuZnSOD (SOD3). SOD1 ve SOD2 özellikle yaşa bağlı beyin bozuklukları için çok önemlidir (163). Alzheimer hastalığı patolojisinin transgenik fare modellerinde, bir SOD2 allelinin silinmesi amiloid plak oluşumunu artırırken, SOD1'in silinmesi amiloid-beta oligomerizasyonunu, bilişsel bozukluğu ve nöronal işlev kaybını arttırmıştır (177,178). Ayrıca, SOD'un aşırı ifadesinin, amiloid-beta kaynaklı nörotoksositeye ve iskemik beyin hasarına karşı duyarlılığın azalması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (179,180), ancak RAS aktivasyonu ile antioksidan moleküller olan glutatyon, SOD ve katalaz aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (181–183).

Beyindeki ROS üretimi, yüksek oksijen tüketimi ve nörotransmitterlerin oksidatif metabolizması nedeniyle yüksektir ve beyni ek serbest radikal saldırılarına karşı son derece savunmasız hale getirir (184,185). Bazal ganglionlarda, dopaminerjik nöronlarda AT₁R ifadesinin artışı ile hücre ölümü ve işlev kaybının arttığı gösterilirken (186–188), aynı tip hücrelerde, Ang II/AT₂R yolağı aktivasyonunun ROS üretimini azalttığı gösterilmiştir (175). Oksidatif stresin bu RAS aracılı artışı, hücre ölümünü şiddetlendiren proinflamatuvar yanıtı açar (186,188).

b. İnflamasyon

Beyinde, mikroglial hücreler NOX kaynaklı ROS'a en önemli katkıyı yapanlardır (189). NOX izoformları arasında, NOX2, mikroglialdaki hücre dışı ROS'un birincil kaynağıdır (163). NOX'ten türetilen ROS ayrıca mikroglial aktivasyon, proliferasyon ve proinflamatuvar sinyallerin salınımı ile ilgili hücre içi sinyal yollarını da etkiler (163,190–192). Ölü hücrelerin ve kalıntıların uzaklaştırılması için mikroglial hücrelerin aktivasyonu gerekli olsa da, bu inflamatuvar kaskadın alevlenmesi çevredeki nöronlara zarar verebilir ve nörodejenerasyonun ilerlemesine neden olabilir (193).

AT₁R/NOX yolağının upregülasyonu ile pro-inflamatuar yolak aktive olurken bu sinyal kaskadı ile mikroglia ROS üretimini daha da şiddetlendirir (194). Bu mekanizma, AT₁R antagonistlerinin M1 mikroglia aktivasyonunu azalttığını ve M2 mikroglia polarizasyonunu arttırdığını gösteren bir çalışma ile de desteklenmiştir (195). Ayrıca, Ang II'nin proinflamatuar sitokinlerin (örn., IL-1 β ve IL-6) üretimini teşvik ederken, anti-inflamatuar IL-10 seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (196). Örnek olarak, yakın tarihli bir çalışma, Ang II uygulamasının hipokampal CD68-pozitif hücrelerde artışla birlikte hipokampusta bir pro-inflamatuar yanıtı yol açtığını göstermiştir (197). Astrositlerde de, Ang II/AT₁R yolağı, NF-k β /ROS yoluyla IL-6 ve ROS üretimine aracılık eder (198).

RAS reseptörleri aracılığıyla indüklenen inflamasyon düzenleyici mekanizmalar da vardır. AT₄R'nin bir fare AH modelinde anti-inflamatuar etkilere aracılık ettiği gösterilmiştir (199). Beyinde, Ang II/AT₁R/NOX prooksidatif ve proinflamatuar yollar ile Ang II/AT₂R antioksidan ve antiinflamatuar yollar arasında hassas bir denge vardır.

2.3. Alzheimer Hastalığı ve Beyin Renin-Anjiyotensin Sistemi İlişkisi

Çeşitli RAS ilişkili mekanizmaların Alzheimer Hastalığı patogenezinde katkıda bulunduğu düşünülmüştür. Beyin RAS önceki bölümlerde tartışıldığı gibi, oksidatif stres ve nöroinflamasyon dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla öğrenme ve hafıza, nöronal farklılaşma ve sinir rejenerasyonu süreçleri ile ilgilidir. Genetik, yaş ve muhtemelen çevresel toksinler gibi çeşitli yatkınlık faktörleri, senil plaklar ve NFY'ler gibi başlangıç lezyonlarının gelişimine katkıda bulunur. Bu ürünler inflammatuar yanıtı, mikroglial aktivasyona ve sitokin salınımına yol açar, bu da nöron işlevsizliğini ve bilişsel düşüşü hızlandırır (55). Bu bağlamda inflamasyonun AH'nin ilerleyici nöropatolojisine katkıda bulunduğu düşünülmüştür (200). Önceki bölümde tartışıldığı gibi, beyin RAS'ın Ang II/AT₁R yolağı, mikroglial aktivasyonu ve polarizasyonu artırarak nöroinflamasyona önemli bir katkıda bulunur. Bu uzun süreli ve çözülmemiş inflamasyon, nöronlara ve sinapslara zarar verir, bu da glial hücrelerin kronik düzensizliğine ve ardından beyin yapısı ve işlevinde kronik bozulmaya neden olur (201). Bununla uyumlu şekilde, daha yüksek Ang II seviyelerinin, daha düşük

toplam gri madde, hipokampal, rostral orta frontal ve supramarjinal parietal lob hacimleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (202).

Artan oksidatif stresin, mitokondriyal bozulmanın ve antioksidan sistemdeki değişikliklerin AH'ye katkıda bulunduğu öne sürülmektedir (29). Bölüm 2.2.3.1.'de açıklandığı gibi, Ang II/AT₁R ekseninin aşırı aktivitesi, artan ROS ve oksidatif strese neden olur. Birincisi, oksidatif stres, mitokondri membranının lipid peroksidasyonu ile yapısal ve enzimatik proteinlerin ve nükleik asitlerin oksidasyonu ile hasara neden olur. Mitokondri DNA'sının artan oksidasyonu mitokondrinin bütünlüğünü bozar ve ATP üretimini azaltır, böylece potansiyel olarak mitokondrinin işlev kaybına neden olur (4). Mitokondri işlevinin azalması, AH'de gözlenen amiloid-beta üretimi, tau fosforilasyonu, sinaptik dejenerasyon ve oksidatif stres gibi hücrel değişikliklere yol açar (30,31). İkinci olarak, proteinlerin oksidatif stresle ilişkili modifikasyonları, amiloid-beta'nın toplanması ve tau proteininin fosforilasyonu ile sonuçlanarak AH'de yıkıcı döngüyü indükleyebilir (32).

Amiloid-beta birikimi, AH patogenezinin bir başka önemli parçasıdır. İntraserebroventriküler Ang II uygulamasının sıçanlarda, γ -sekretaz aktivitesini ve amiloid-beta üretimini arttırdığı gösterilmiştir ve losartan uygulaması ile bu etkilerin azalması bu etkilerin AngII/AT₁R yolağı ile ortaya çıktığını ortaya koymuştur (203). Ayrıca, RAS aşırı aktivitesinin, perisit hasarını gösteren yüksek BOS çözünür trombosit türevli büyüme faktörü reseptörü β ve KBB yıkımını gösteren yüksek BOS albümini dahil olmak üzere, AH'deki kılcal damar hasarının BOS belirteçleri ile korele olduğunu gösterilmiştir.

Vasküler hastalık da AH'nin patogenezinin katkıda bulunabilir. Kalınlaşmış bazal membran, azalmış damar elastikiyeti gibi beyin kılcal damarlarının ilerleyici dejenerasyonu beyne giden kan akışını bozar (204). AH'deki amiloid-beta kümelenmelerinin ve nöronal hasarın merkezi nedeni olarak nöroinflamasyon ile birlikte bozulmuş kan akışı da önerilmiştir (205). RAS, bu temel faktörlerin her ikisini de modüle edebilir. Bu bağlamda, Ang II/AT₁R yolağı, serebral damarlarda vazokonstriksiyona, vasküler yeniden şekillenmeye, bozulmuş serebrovasküler otheregülasyona ve endotel işlevsizliğine neden olur (206,207). Ang II/AT₁R yolağının KBB'ye zarar verebilecek, geçirgenliğini artırabilecek ve serebral kan akımını

azaltabilecek, böylece AH'nin patogenezinde katkıda bulunabilecek proinflamatuvar ve prooksidan etkileri vardır (208).

Son olarak, beyin RAS'ın öğrenme ve hafıza ile ilgili önemli etkileri vardır (209). Bu etkilerden biri olarak, Ang II/AT₁R yolağının aşırı aktivasyonunun asetilkolin salınımını azalttığı bilinmektedir (210,211). Ayrıca, Ang II enjeksiyonunun hipokampusta LTP'yi inhibe ettiği gösterilmiştir. Öte yandan, RAS'ın koruyucu kolu hafıza geliştirici etkilere sahiptir. Ang II/III yoluyla AT₂R aktivasyonu, rejeneratif süreçlerin eşlik ettiği hücre sel çoğalma ve farklılaşmayı başlatır. Ang IV, striatumda dopamin salınımını ve hipokampusta asetilkolin salınımını artırır, böylece LTP'yi ve nöroproteksiyonu kolaylaştırır (212–215). Ang IV, AT₄R'nin aminopeptidaz aktivitesini inhibe ederek vazopressin ve oksitosin gibi biliş güclendiren peptitlerin konsantrasyonlarını artırır (216,217).

RAS, şimdiye kadar bahsedilen birçok mekanizma aracılığıyla AH patolojilerinin kesişim noktasında yer alır ve bu nedenle AH patogenezinin potansiyel olarak kritik bir bileşenidir. Bunun ışığında ileri araştırmalar için anjiyotensin hipotezi önerilmiştir (218). Son olarak, RAS'ı modifiye eden ilaçların hali hazırda mevcudiyeti ve bu ilaçların AH'nin önlenmesi ve tedavisi için yeniden konumlandırılma potansiyeli beyin RAS ve AH ilişkisinin önemini arttırmaktadır.

2.4. Renin Anjiyotensin Sistemi Üzerinden Etki Gösteren İlaçlar ve Alzheimer Hastalığı

Bugün itibarıyla, AH için etkili bir risk azaltma, önleme veya tedavi stratejisi mevcut değildir. 20 yılı aşkın bir süredir, AH tedavisi için iki ilaç kategorisi kullanılmıştır. Bunlardan biri asetilkolinin yarı ömrünü uzatan kolinesteraz inhibitörleri, diğeri ise glutamat eksitotoksitesini ve nöronal hasarı sınırlayan bir NMDA reseptör antagonisti olan memantindir (219). Son olarak da 2021 yılında Aducanumab, amiloid-beta agregatlarını hedefleyen bir anti-amiloid-beta antikor, yüksek dozlarda bilişsel gerilemede azalma etkisinin gösterilmesi ile FDA tarafından hızlandırılmış onay almıştır (36). Beyin RAS'ın keşfi ve iyi bilinen hipertansif etkisinin ötesinde sinir sistemi üzerindeki çok boyutlu etkileri ile RAS etkili ilaçlar, nörodejeneratif hastalıklar için potansiyel bir koruyucu ve tedavi edici müdahale

olarak düşünülmüştür. Üç tip RAS etkili ilaç vardır: ARB'ler, ACEİ'ler ve doğrudan renin inhibitörleri (DRİ), bunların her biri RAS sürecinin farklı adımlarında etkilidir. ARB'ler (örn. losartan, valsartan, telmisartan ve kandesartan) Ang II'nin AT₁R'ye bağlanmasını bloke ederken, ACEİ'ler (örn. kaptopril, enalapril, lisinopril ve perindopril) Ang I'in Ang II'ye hidrolizini bloke eder. AT₁R'nin blokajı, artan Ang II seviyeleri ile sonuçlanır ve sonuç olarak AT₂R'nin uyarılmasını artırır. Buna karşılık, ACEİ daha düşük Ang II seviyelerine neden olur ve sonuç olarak hem AT₁R hem de AT₂R'nin uyarılmasını azaltır (220). ARB'lerin, RAS'ın zararlı etkilerini daha spesifik bir şekilde bloke etmesi nedeniyle bilişsel bozulmanın önlenmesinde ACEİ'lere göre potansiyel avantajlara sahip olduğu varsayılmıştır (221,222). DRİ'ler, hem ARB'lerin hem de ACEİ'lerin yukarı akışında hareket ederek anjiyotensinojenden Ang I oluşumunu doğrudan inhibe eder (223). Tüm beyin anjiyotensin sistemi düşünüldüğünde Ang II/AT₁R yolağının bloklanması amiloid-beta birikimini ve bunun sonuçlarını azaltabilir ve ayrıca inflamasyonu, oksidatif stresi, vasküler hasarı/iskemiye baskılayabilir ve asetilkolin salınımını ve glutamat alımını artırabilir (224,225). ARB'ler KBB'nin bozulmasını önleyebilir ve AH gibi birçok nörodejeneratif hastalıkta gözlenen inflamatuvar mediatörlerin infiltrasyonunu azaltabilir (224).

2.4.1. Anjiyotensin Reseptör Blokörleri Hayvan Çalışmaları

Losartan ile ön tedavinin, hayvanlarda kronik etanol kaynaklı bilişsel eksiklikleri azalttığı (226) ve hem uzaysal hem de kısa süreli çalışma belleğini geliştirdiği gösterilmiştir (227,228). Telmisartanın in vitro ve in vivo olarak mikrogliayı modüle ederek uzun süreli antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (229). Losartanın kronik intranasal uygulaması, bir AH fare modelinde amiloid plak sayısını azaltmıştır (230) ve ayrıca Ang II'nin neden olduğu bilişsel bozulmayı ve tau fosforilasyonunu azaltmıştır (231). Anti-amiloid-beta özelliklerine göre yaygın olarak reçete edilen 55 antihipertansif ilacı tarayan bir çalışmada, yalnızca valsartan ve losartanın primer nöron kültürlerinde hem amiloid-beta'yı düşürme hem de amiloid-beta peptitlerinin oligomerizasyonunu azaltma yeteneğine sahip olduğu, buna karşın kandesartanın yalnızca oligomerizasyon üzerinde etkili olduğunu bulunmuştur (232,233). Valsartan ile önleyici tedavi, AH fare modelinde kan

basıncının düşmesinden bağımsız olarak beyin amiloid-beta birikintilerini ve amiloid-beta aracılı bilişsel bozulmayı önemli ölçüde azaltmıştır (233). Başka bir çalışmada ise, olmesartan ve losartanın, amiloid-beta düzeylerini düşürmeden beyin mikrodamarlarında oksidatif stresi azaltarak kan basıncı değişikliklerinden bağımsız olarak bilişsel işlevi ve serebrovasküler aktiviteyi koruduğu gösterilmiştir (234,235). Bazı ARB'lerin, özellikle telmisartanın, anti-inflamatuar, anti-amiloidojenik ve insülin duyarlılaştırıcı etkileri ile AH'de bir hedef olan peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör- γ 'nın (PPAR- γ) kısmi agonistleri olduğu bulunmuştur. Bu bağlamda, telmisartanın faydalı etkilerinin sadece AT₁R antagonist özelliklerine değil, aynı zamanda PPAR- γ aktivasyonuna da atfedilmiştir (225,229,236).

2.4.2. Anjiyotensin Reseptör Blokörleri İnsan Çalışmaları

Losartan ve hidroklorotiyazidi 69 yaşlı hastada karşılaştıran çift kör, randomize kontrollü bir çalışmada losartanın sadece kan basıncı üzerinde değil, aynı zamanda bozulmuş bilişsel işlev üzerinde de olumlu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (237). The Study on COgnition and Prognosis in the Elderly (SCOPE) çalışmasında yaşları 70 ile 89 arasında olan 4937 hafif-orta hipertansif hasta ortalama 3.7 yıl takip edilmiştir. Bu çalışmada kandesartan grubunda mini-mental durum testinde zamanla düşüşün daha az olduğu bulunmuştur (238). Ayrıca SCOPE çalışmasının sonuçlarıyla uyumlu olarak, katılımcıları periyodik mini-mental durum muayenesi ile değerlendirilen başka bir çalışmada anti-hipertansif tedavi ile düşüş daha yavaşken, ARB alan hastaların bilişsel puanlarının iyileştiği görülmüştür (239).

Öte yandan, kardiyovasküler hastalığı olan 65 yaş ve üstü 819.491 erkek katılımcıda ARB'ler ACEİ'ler ve diğer kardiyovasküler ilaçlarla karşılaştırıldığında AH ve demans insidansını ve ilerlemesini azalttığı bulunmuştur (240). The Ginkgo Evaluation of Memory Çalışmasının (n=1.928) ikincil veri analizinde, diüretik, ARB ve ACEİ kullanımlarının, ortalama sistolik kan basıncından bağımsız olarak, normal bilişi olan yaşlı erişkinlerde AH riskinin azalmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (241). Ayrıca, bir başka meta-analizde de ARB'lerin Alzheimer'ın bilişsel bozulma riskinde koruyucu bir rolü olduğu gösterilmiştir (242). Daha yakın tarihli bir retrospektif kohort çalışması, statinlerle birleştirilen ARB'lerin AH'yi, RAS etkili

olmayan antihipertansiflerle kombine edilen statinlerden daha fazla azalttığını bulunmuştur (243). Benzer şekilde, 2 vaka kontrol çalışmasının ve 7 kohort çalışmasının meta-analizi, ARB kullanımının AH olay riskinin azalmasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (244). ARB'lerin AH üzerindeki rolünü daha fazla aydınlatmayı amaçlayan çalışmalar devam etmektedir (245,246).

ARB'lerin umut verici birçok çalışmasının yanında, RAS etkili ilaçların herhangi bir yararlı etkisini göstermeyen çeşitli hayvan ve insan çalışmaları da mevcuttur. Örneğin, bir hayvan çalışmasında losartanın tek başına öğrenme ve hafızada herhangi bir değişikliğe neden olmadığını gösterilmiştir (247). İnsan çalışmalarında da benzer çelişkili sonuçlar mevcuttur. Örneğin, önceki bölümde bahsedilen SCOPE çalışmasında, demans insidansı açısından kandesartan ve plasebo grupları arasında herhangi bir fark gösterilmemiştir (248).

2.5. Hipotez ve Amaç

Bu tez, beyin renin anjiyotensin sistemi ve Alzheimer Hastalığı patogenezi ilişkisini aydınlatmak üzere aşağıdaki hipotez kapsamında çalışılmıştır.

Hipotez: Beyin renin-anjiyotensin sistemindeki düzensizlikler, oksidatif strese ve nöroinflamasyona yol açarak Alzheimer Hastalığı gelişimine katkıda bulunur, bu nedenle anjiyotensin reseptör blokörleri Alzheimer Hastalığı'nda gözlenen oksidatif stresi ve nöroinflamasyonu azaltmada kullanılabilir.

Yukarıdaki hipotez doğrultusunda;

Tezin amaçları,

- Alzheimer Hastalığı'nda anjiyotensin reseptörleri farklılıklarını ve bu farklılıkların hastalığın patogenezinde önemli role sahip oksidatif stres, nöroinflamasyon, tangle ve amiloid-beta patolojileri ile ilişkisini göstermektir.

- Anjiyotensin reseptör blokörlerinin kognitif bozukluğu olmayan bireylerde beyin RAS üzerindeki etkilerini ve oksidatif stres, nöroinflamasyon, tangle ve amiloid-beta patolojileri üzerindeki rolünü ortaya koymaktır.

- Anjiyotensin reseptör blokörlerinin Alzheimer Hastalığı'na sahip bireylerde beyin RAS üzerindeki etkilerini ve oksidatif stres, nöroinflamasyon, tangle ve amiloid-beta patolojileri üzerindeki rolünü ortaya koymaktır.

3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

Bu tezde, beyin renin-anjiyotensin sistemi ve AH ile ilişkisi oksidatif stres ve nöroinflamasyon gibi olası patogeneze mekanizmaları üzerinden tanımlanmıştır. Ardından da ARB'lerin bu ilişkiye olan etkisi araştırılmıştır. Çalışma Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan Johns Hopkins Üniversitesi Geriatri ve Gerontoloji Bilim Dalı dahilindeki Biology of Healthy Aging departmanında Doç. Dr. Peter Abadir'in laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. The Rush Memory and Aging Projesi kapsamında yıllık olarak takip edilmiş 70 yaş ve üzerinde 120 hastanın serum örnekleri ve ölüm sonrası elde edilen beyin kesitleri çalışma için kullanılmıştır.

Bu çalışma kapsamında, cinsiyet ve yaş eşleştirilerek ölüm öncesi AH tanısı alan ve herhangi bir kognitif bozukluk saptanmadan ölen katılımcılar iki gruba ayrılmıştır. Daha sonra, kendi aralarında da ARB kullanan ve hiç kullanmamış olanlar olarak toplam dört grupta sınıflandırılarak (her bir grupta 30 katılımcı olmak üzere) çalışmaya toplam 120 katılımcı dahil edilmiştir. Bu 4 grup;

1. Kognisyon bozukluğu olmayan ve ARB/ACEİ kullanmayan (30 katılımcı)
2. Alzheimer Hastalığı olan ve ARB/ACEİ kullanmayan (30 katılımcı)
3. Kognisyon bozukluğu olmayan ve ARB kullanan (30 katılımcı)
4. Alzheimer Hastalığı olan ve ARB kullananlardır (30 katılımcı).

Bu dört grubun otopside elde edilen beyin dokularından;

1. *AGT* (anjiyotensinojen geni), *REN* (renin geni), *ACE* (anjiyotensin dönüştürücü enzim geni) ifadeleri,
2. Anjiyotensin II tip 1, tip 2 ve tip 4 reseptörlerinin gen ve protein düzeyinde ifadeleri (*AGTR1/AT1R*, *AGTR2/AT2R* ve *LNPEP/AT4R*),
3. Beyin oksidatif stres belirteci olarak protein karbonil düzeyleri,

4. İnflamasyon belirteçleri olan interlökin 6 (IL-6), interlökin 1 β (IL-1 β), interferon-gamma (IFN- γ) ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) düzeyleri ölçülmüştür.

5. Katılımcıların The Rush Memory and Aging Projesi kapsamında hesaplanmış PHF-tau tangle ve amiloid-beta skorları analiz için kullanılmıştır.

Ayrıca, inflamasyon göstergelerinin düzeyleri (IL-6, TNF- α , IFN- γ ve IL-1 β) hastaların serum örneklerinde de çalışılmıştır.

Beyin RAS bileşenleri ile AH mekanizmaları (oksidatif stres ve inflamasyon) ve patolojileri (ortalama PHF-tau tangle ve amiloid-beta skorları) arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Çalışmanın ilk kısmında kognitif bozukluğu olmayan / normal kognisyonlu (NK) bireyler ve AH olan bireyler birbiri ile karşılaştırılırken, ikinci kısımda ise ARB kullanan ve kullanmayan kognitif bozukluğu olmayan bireyler kendi içinde ve ARB kullanan ve kullanmayan AH olan bireyler kendi içinde karşılaştırılmıştır.

3.1.1. Bireyler

Bu çalışmada, The Rush Memory and Aging Projesi kapsamında gönüllü katılımcılardan toplanan beyin ve serum örnekleri kullanılmıştır. The Rush Memory and Aging Projesi, AH ve diğer patolojilerin beyinde birikmesine rağmen kişinin kognisyonunun korunması ile ilgili faktörlerin belirlenmesi ana amacı ile 1997 yılında oluşturulmuş bir projedir (249). Bu proje kapsamında hali hazırda demansı olmayan ve yıllık klinik değerlendirme ile organ bağışına izin veren katılımcılar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma kapsamında katılımcılar beyin dokularına ek olarak, motor işlevlerdeki azalmayı araştıran diğer çalışmalarını desteklemek amacı ile spinal kord, kas ve sinir bağışı yapmışlardır (250). The Memory and Aging Project için etik kurul onayı, The Institutional Review Board of Rush University Medical Center'dan L99032481-CR07 başvuru numarası ile alınmıştır. Bu araştırmanın etik kurul onayı ise The Institutional Review Board of The Johns Hopkins Medicine'dan IRB00229782 başvuru numarası ile alınmıştır. Tüm katılımcılar bilgilendirilmiş onam formu, Anatomic Gift Act'ı ve kaynak paylaşımı için onam formunu imzalamıştır.

Katılımcılar çalışmaya dahil olduktan sonra kullandıkları ilaçlar ve hastalıkları kaydedilmiştir. Katılımcıların yılda bir kontrolleri yapılmıştır. Katılımcıların hastalıkları ve ilaçları bu kontrollerde kaydedilmiştir. Kan basıncı ölçümleri bu kontrollerde yapılmıştır. Ayrıca her kontrolde katılımcıların kognitif işlevleri ölçülmüştür.

3.1.2. Fiziksel İşlev

Yürüme hızı ve el sıkma gücü Rush MAP projesi kapsamında yıllık kontrollerde hesaplanmıştır. Bu çalışmada kullanılan yürüyüş hızı ve kavrama gücü Rush MAP verilerinden elde edilmiştir.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Beyin Örnekleri

Ölüm sonrası dokuların temini için görevli ekip otopsileri gerçekleştirmiştir (251). Kafatası açıldıktan sonra, beyin çıkarılmış ve tartılmıştır. Beyin sapı ve beyincik hemisferlerden ayrılmış, steril koşullar altında frontal korteksten 50 mg gri madde çıkarılmış ve analiz edilene kadar -80°C'de saklanmıştır.

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Serum Örnekleri

Katılımcıların yıllık kontrollerde kan örnekleri alınmış ve serum alikotları -80°C'de saklanmıştır.

3.2. Yöntemler

3.2.1. İnsan Beyin Örneklerinden Protein İzolasyonu ve Miktar Tayini

Protein ekstraksiyonu için 25 mg beyin dokusu liziz tamponunda (T-PER, Pierce Biotechnology, Waltham, MA), Bullet Blender homogenizer (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ) kullanılarak homojenize edilmiştir. Elde edilen protein miktarı, BCA (Bikinkoninik asit) (Pierce) testi kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.2. Western Blot

Anjiyotensin II tip 1, tip 2 ve tip 4 reseptör protein ifadeleri için Western blot yöntemi kullanılmıştır. On beş mikrogram protein, %4- %12 akrilamid gradyan

sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezine tabi tutularak analiz edilmiştir. Numuneler daha sonra standart koşullar kullanılarak bir nitroselüloz membrana aktarılmıştır. Membran, oda sıcaklığında 1 saat süreyle TBS-T içinde %5 yağsız süt ile bloke edildikten sonra aşağıda listesi verilen primer antikörlerle ayrı ayrı 4°C'de gece boyunca inkübe edilmiştir. Kullanılan antikörler:

- AT₁R (sc-515884- Santa Cruz, CA),
- AT₂R (sc-9040- Santa Cruz, CA),
- AT₄R (HPA043642; Sigma-Aldrich, MO),
- Anti-Aktin (A2066, Sigma-Aldrich, MO).

Primer antikör uygulamasından sonra membranlar yıkanarak horseradish peroxidase (HRP)- konjuge sekonder antikör ile inkübe edilmiştir. Kemilüminesan sinyal, West Femto kiti ile elde edilmiştir ve Kodak Gel Logic 2200 yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Beta-aktin proteini normalizasyon için kullanılmıştır. Örnek Western blot bandları Ek-1'de gösterilmiştir.

3.2.3. İnsan Beyin Örneklerinden cDNA Hazırlanması

Yirmi beş miligram beyin örneği RNA izolasyonu ve cDNA hazırlanması için kullanılmıştır. TRIzol reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA) ve DNase (Roche Applied Science, Mannheim, Germany) RNA izolasyonu ve genomik DNA'nın uzaklaştırılması için kullanılmıştır. RNA konsantrasyonu ve saflığı UV-Vis spectrophotometre (NanoDrop, Wilmington, DE) kullanılarak ölçülmüştür. RNA absorbans oranı $A_{260}/A_{280} \geq 1.8$ olması yeterli kabul edilmiştir. Elde edilen RNA -80°C ve altında saklanmıştır. Daha sonra elde edilen RNA'dan cDNA sentezlenmiştir. cDNA 37°C 60 dakikada sentezlenmiştir ve reaksiyon karışımı 94 °C'ye ısıtılarak durdurulmuştur.

3.2.4. Kantitatif Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (kGZ-PZR)

cDNA sentezlendikten sonra PCR döngü parametreleri ve tüm primerler, Mx3000P Real-Time PCR System cihazı (Stratagene, La Jolla, CA) kullanılarak optimize edilmiştir. Reaksiyon koşulları: 95 °C 10 dakika, 40 döngü (15 saniye 95 °C ve 60 °C 60 saniye) olarak belirlenmiştir. Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (kGZ-PZR) için TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems) kiti üretici tarafından sağlanan talimatlara göre kullanılmıştır. *AGT* (Hs01586213_m1), *renin* (Hs00982555_m1), *ACE* (Hs00174179_m1), *AT₄R* (Hs00893646_m1) gen ekspresyonu için TaqMan tahlil primerleri kullanılmıştır. *AT₁R* gen primer sekansları F-5'-CACAGTGTGCGCGTTTCATT-3', R-5'-TGGTAAGGCCAGCCCTAT-3' ve *AT₂R* gen primer sekansları F-5'-CCCTAAAGGTGTCCAGCATT-3', R-5'-AGAGAGGAAGGGTTGCCAAAA-3' dır.

Housekeeping genler olarak, *Cytochrome c-1 (CYC1)* (Hs00357718_g1) ve *eukaryotic translation initiation factor 4A isoform 2'nin (EIF4A2)* (Hs00756996_g1) kullanılmıştır (252). Bu tez kapsamında, katılımcıların beyin dokularından elde edilen housekeeping genlerin ve *AGT*, *REN*, *ACE*, *AT₁R*, *AT₂R* ve *AT₄R* genlerinin Ct değerleri kullanılmıştır. Housekeeping Ct değeri *CYC1* ve *EIF4A2* genlerinin Ct verilerinin ortalaması kullanılarak hesaplanmıştır. Gen ifadesindeki kat değişimleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi ile hesaplanmıştır ve kontrol grupları hipoteze göre belirlenmiştir. Kat değişim tabloları Tablo 2, Tablo 3, Tablo 4, Tablo 5, Tablo 6, Tablo 8 ve Tablo 9'da verilmiştir. Ayrıca gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılığı ΔCt verileri kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 2, Şekil 3).

3.2.5. Oksidatif Stres

Beyin oksidatif stres belirteci olarak protein karbonil düzeyleri OxiSelect ELISA (Cell Biolabs, San Diego, CA) ile ölçülmüştür. Bu tez kapsamında, katılımcıların beyin örneklerinden elde edilen protein karbonil düzeyleri korelasyon ve farklılıkların anlamlılığı analizleri için kullanılmıştır (Şekil 4 ve Şekil 8).

3.2.6. Sitokinler

Beyin ve serum IL-6, TNF- α , IFN- γ ve IL-1 β sitokin düzeyleri, mesoscale 4-Plex sitokin test kiti kullanılarak ölçülmüştür. Pro-inflamatuar sitokinler, hastaların beyin dokusunda ve serumunda test edilmiştir. Bu kitten elde edilen veriler Meso Sector S 600 (Meso Scale Discovery) ile ölçülmüştür. Bu tez kapsamında, katılımcıların serumlarından ve beyin örneklerinden elde edilen sitokin seviyeleri korelasyon ve farklılıkların anlamlılığı analizleri için kullanılmıştır (Şekil 11).

3.2.7. Amiloid-beta Yükü ve Tangle Yoğunluğu

Amiloid-beta yükü ve tangle yoğunluk skorları Rush MAP çalışmasından temin edilmiştir. Bu çalışma kapsamında daha önce tarif edildiği gibi beyin otopsileri yapıldıktan sonra immünohistokimyasal boyama ve görüntüleme ile, entorhinal korteks, kalkanin korteks, singulat korteks, parietal girus, temporal girus, hipokampus, orta frontal girus, üst frontal korteks olmak üzere sekiz beyin bölgesinden ortalama yüzde yoğunluk kullanılarak hesaplanmıştır. Son olarak, tüm beyin bölgelerinin ortalaması kullanılarak tüm beyin için genel amiloid-beta yükü ve tangle yoğunluğu skorları elde edilmiştir. Bu tez kapsamında, yukarıda sıralanan beyin bölgelerine ve tüm beyinin ortalamasına ait amiloid-beta skorları ve tangle skorları analiz için kullanılmıştır.

3.3. İstatiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 23 ve GraphPad Prism 9 kullanılmıştır. Normal dağılım gösteren değişkenler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilirken, normal dağılım göstermeyen değişkenler ortanca (çeyrekler arası aralık (ÇAG)) olarak ifade edilmiştir. Normal dağılımı test etmek için Shapiro Wilk-W testi kullanılmıştır. Farklılıkların anlamlılığını test etmek için normal dağılan değişkenler için bağımsız gruplarda t testi ve normal dağılmayan değişkenler için Mann-Whitney U testleri kullanılmıştır. İkili değişkenleri karşılaştırmak için ki-kare testi kullanılmıştır. Korelasyon analizi Spearman korelasyon testi ile yapılmıştır. İki yönlü varyans analizi (ANOVA) (hastalık durumu (NK'ye karşı AH) ve faktör olarak ARB kullanımı ile) ile dört grup analizi yapılmıştır. Aracılık analizi, SPSS için PROCESS makro programı kullanılarak önyükleme yöntemiyle yapılmıştır (253). İstatistiksel anlamlılık eşiği olarak ≤ 0.05 'lik bir p değeri kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Alzheimer Hastalığı Olan Bireylerde Kognitif Bozukluğu Olmayan Bireylere Göre Beyin Renin Anjiyotensin Sistemi Farklılıkları

İlk olarak birinci hipotezimiz çerçevesinde, Alzheimer Hastalığı olan bireylerdeki beyin renin-anjiyotensin sistemindeki farklılıkları anlayabilmek ve fark saptanırsa bu farkın Alzheimer Hastalığı patogenezinde önemli rolü olan oksidatif stres ve inflamasyon ile ilişkisini ortaya koyabilmek ve son olarak saptanan farkların Alzheimer Hastalığı'nın temel patolojik göstergeleri olan amiloid-beta yükü ve tangle yoğunluğu ile ilişkisini ortaya koyabilmek üzere kognitif (bilişsel) işlev bozukluğu olmayan (AH ve hafif bilişsel bozukluğu olmayan) yani normal kognisyonlu bireyler ile Alzheimer Hastalığı olan bireylerin *AGT*, *ACE* ve *REN* gen ifadeleri ve beyin ana anjiyotensin reseptörlerinin (*AT₁R*, *AT₂R* ve *AT₄R*) gen ve protein ifadeleri ölçülmüştür ve birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Daha sonra bu düzeylerin oksidatif stres, inflamasyon, amiloid-beta yükü ve tangle yoğunluğu ile ilişkisi incelenmiştir.

4.1.1. Demografik Özellikler

Kognitif bozukluğu olmayan ve AH olan katılımcıların karakteristikleri Tablo 1. de gösterilmiştir. Yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, eğitim seviyesi ve fiziksel parametreler açısından iki grup arasında fark saptanmazken hipertansiyon tanısı alan kişi sayısı AH grubunda NK'ye göre yüksek bulunmuştur ($p = 0,01$), fakat sistolik ve diyastolik kan basıncı ölçümleri açısından iki grup arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (sırası ile, $p = 0,06$, $p = 0,19$).

Tablo 1. Katılımcı karakteristikleri

	NK (n = 30)	AH (n = 30)	p- değeri
Yaş, ortalama± SD	90.2±5.1	90.1±5.7	1
Cinsiyet, erkek, n (%)	5 (17)	5 (17)	1
Eğitim, yıl, ortanca (ÇAG)	18 (16-21)	18 (18-21)	0,73

VKİ, ortanca (ÇAG)	24 (22,6-25,2)	24,8 (23,4-29)	0,29
Yürüme hızı, m/s, ortalama±SD	0,63±0,24	0,56± 0,19	0,34
El sıkma gücü, kg, ortalama±SD	33,5±15,1	30,1±10,4	0,50
Koroner damar hastalığı, n (%)	7 (23,3)	7 (23,3)	1
İnme, n (%)	6 (20)	6 (20)	1
Kanser, n (%)	12 (40)	9 (30)	0,42
Hipertansiyon, n (%)	16 (53,3)	25 (83,3)	0,01*
Tiroid hastalığı, n (%)	5 (16,7)	11 (36,7)	0,08
Diabetes mellitus, n (%)	3 (10)	7 (23,3)	0,17
Sistolik KB, ortalama±SD	124±19	134±16	0,06
Diyastolik KB, ortalama±SD	67±10	72±12	0,19
PMI, saat, ortanca (ÇAG)	5,63(4,3-15,3)	6,93(4,2-10,6)	0,98

Kısaltmalar: AH, Alzheimer Hastalığı; ÇAG, Çeyrekler arası aralık (interquartile range); KB, kan basıncı; NK, Kognitif bozukluğu olmayan; PMI, ölüm sonrası geçen süre (post-mortem interval); SD, standart sapma; VKİ, vücut kitle indeksi; * $p \leq 0.05$.

4.1.2. Alzheimer Hastalığı'nda Beyin RAS Ana Ligandı Anjiyotensinojen ve Katalitik Enzimlerin (Renin ve ACE) Gen İfade Düzeylerindeki Farklılıklar

Beyin RAS sistemi ana ligandı Anjiyotensinojen (*AGT*) gen ifadesinde iki grup arasında fark saptanmamıştır ($p = 0,33$). Benzer şekilde, katalik enzimler Renin (*REN*) ve *ACE* gen ifade seviyelerinde de istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (sırası ile, $p = 0,07$, $p = 0,66$). Gen ifadelerinin kat değişim sonuçları Tablo 3'te verilmiştir.

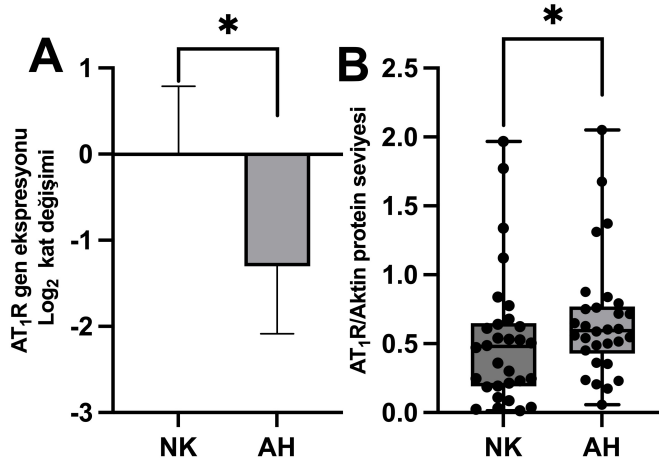
Tablo 2. Alzheimer Hastalığı Olan Katılımcılarda Kognitif Olarak Normal Olan Bireylere Göre *AGT*, *REN* ve *ACE* Gen İfadeleri

Gen	Protein	Kat değişimi	p değeri
<i>AGT</i>	Anjiyotensinojen	0,79	0,33
<i>REN</i>	Renin	0,65	0,07

<i>ACE</i>	Anjiyotensin-dönüştürücü enzim	0,92	0,66
------------	--------------------------------	------	------

4.1.3. Alzheimer Hastalığı'nda Anjiyotensin Reseptörlerinin Gen İfade ve Protein Seviyelerindeki Farklılıklar

Oktapeptid Ang II, anjiyotensin sisteminin ana vazoaktif peptididir. Ang II, her ikisi de G-protein kenetli reseptörler olan AT₁R ve AT₂R anjiyotensin reseptörlerine eşit afinite ile bağlanır (254). Ang II bağlanmasının işlevsel sonuçları, reseptör alt tipi ekspresyonu ve mevcudiyeti tarafından yönetilir, yani, daha yüksek AT₁R seviyeleri, daha baskın bir AT₁R yanıtını tetikleyecektir. Bu tez çalışmasında, bu bağlamda AT₁R, AT₂R ve AT₄R gen ve protein ifade seviyelerini iki grup arasında karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, AH'li katılımcıların daha düşük AT₁R mRNA düzeyine (0.40 kat-değişimi, $p = 0.01$) ve daha yüksek AT₁R protein düzeyine sahip olduklarını göstermiştir (ortanca [ÇAĞ] 0.59 [0.45-0.76] vs. 0.47 [0.19-0.63], AH vs. NK, $p = 0.03$) (Şekil 2).



Şekil 2. Kognitif olarak normal olan ve Alzheimer Hastalığı olan katılımcılarda angiotensin II tip 1 reseptör gen ve protein ifade seviyeleri (A) Rölatif gen ekspresyon seviyesi NK'li (n = 29) ve AD'li (n = 30) grupta. Gen kat-değişimi $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu ile hesaplandı ve log₂ olarak gösterilmiştir. Veri ortalama ve güven aralığı şeklinde sunulmuştur. (B) AT₁R protein seviyesi NK'li (n = 30) ve AH'li (n = 30) katılımcılarda. Veri kutu-çizgi (minimum-maksimum değerleri ile) grafiği ile verilmiştir. * $p \leq 0.05$. Kısaltmalar: AH, Alzheimer Hastalığı; AT₁R, Anjiyotensin II tip 1 reseptör; NK, Normal Kognisyon

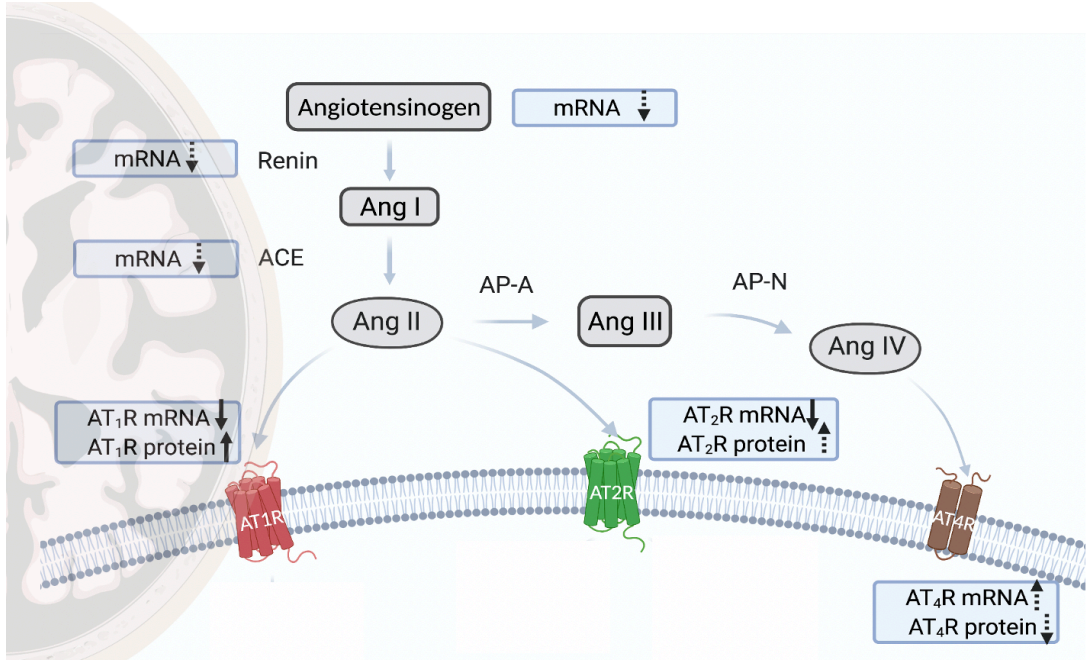
Anjiyotensin II tip 2 reseptör seviyesine baktığımızda ise, verilerimiz AH'li katılımcıların daha düşük AT₂R gen ifade düzeyine sahip olduğunu göstermiştir (kat değişimi= 0,38, p = 0,01), ancak gruplar arasında AT₂R protein ifade seviyeleri açısından istatistiksel anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (p = 0,86).

Son olarak, beyin RAS'ın en yeni üyelerinden olan anjiyotensin tip 4 reseptörü gen ifadesi seviyeleri açısından gruplar arasında fark gözlenmemiştir (p = 0,88). Benzer şekilde, AT₄R protein seviyeleri NK'li ve AH'li bireyler arasında farklı saptanmamıştır (p = 0,95). Reseptörlerin gen ifade kat değişim sonuçları Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 3. Alzheimer Hastalığı Olan Katılımcılarda Kognitif Olarak Normal Olan Bireylere Göre *AGTR1*, *AGTR2* ve *LNPEP* Gen İfadeleri

Gen	Protein	Kat değişimi	p değeri
<i>AGTR1</i>	Anjiyotensin II tip 1 reseptörü	0,40	0,01
<i>AGTR2</i>	Anjiyotensin II tip 2 reseptörü	0,38	0,01
<i>LNPEP</i>	Anjiyotensin tip 4 reseptörü	1,10	0,88

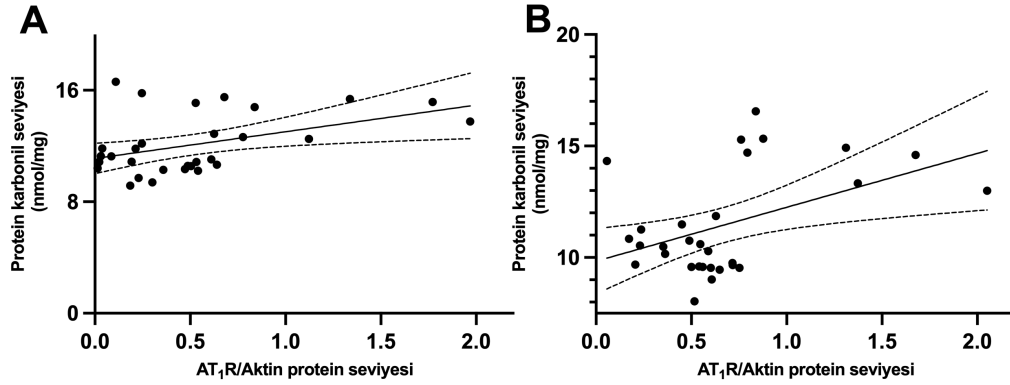
Bu sonuçlar birlikte ele alındığında, AH'li katılımcıların beyinlerinde Anjiyotensin II tip 1 reseptör proteini daha yüksek seviyedeysen, AT₂R ve AT₄R seviyelerinde bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 3). Daha yüksek AT₁R protein seviyelerinin, AT₁R'nin bilinen etkileriyle korele olup olmadığını ve Alzheimer Hastalığı ile ilişkisini incelemek için, daha sonra anjiyotensin reseptörlerinin oksidatif stres ve inflamasyon ile ilişkisini incelenmiştir.



Şekil 3. Alzheimer Hastalığı olan katılımcıların beyin renin anjiyotensin sistemlerindeki farklılıkların şekilsel gösterimi. Kısaltmalar: ACE; Anjiyotensin dönüştürücü enzim, Ang; Anjiyotensin, AP-A; Aminopeptidaz A, AP-N; Aminopeptidaz N, AT₁R; Anjiyotensin II tip 1 reseptörü, AT₂R; Anjiyotensin II tip 2 reseptörü, AT₄R; Anjiyotensin tip 4 reseptörü, Kesikli ok; İstatistiksel anlamlı olmayan değişiklikler, Ok; İstatistiksel anlamlı değişiklikler.

4.1.4. Anjiyotensin Reseptörleri ve Oksidatif Stres İlişkisi

Beyin AT₁R protein seviyeleri hem kognitif olarak normal olan hem de Alzheimer Hastalığı olan katılımcılarda oksidatif stres göstergesi olan protein karbonil seviyeleri ile pozitif korele bulunmuştur ($r = 0,62$ $p = 0,02$, $r = 0,337$ $p = 0,03$, sırası ile) (Şekil 4). Beyin AT₂R protein seviyeleri ile oksidatif stres arasında bir korelasyon bulunmazken, beyin AT₄R protein seviyeleri ile protein karbonil seviyeleri normal kognisyonlu bireylerde ters ilişkili bulunmuştur ($r = -0,363$ $p = 0,02$).



Şekil 4. Anjiyotensin II tip 1 reseptör seviyesi ile oksidatif stres ilişkisi. Serpilme diyagramı (95% güven aralığı ve regresyon çizgisi) protein karbonil seviyeleri ile AT₁R seviyeleri arasındaki korelasyon (A) Normal kognisyonlu katılımcılar (n = 30) (B) Alzheimer Hastalığı olan katılımcılar (n = 30).

4.1.5. Anjiyotensin Reseptörleri ve İnflamasyon İlişkisi

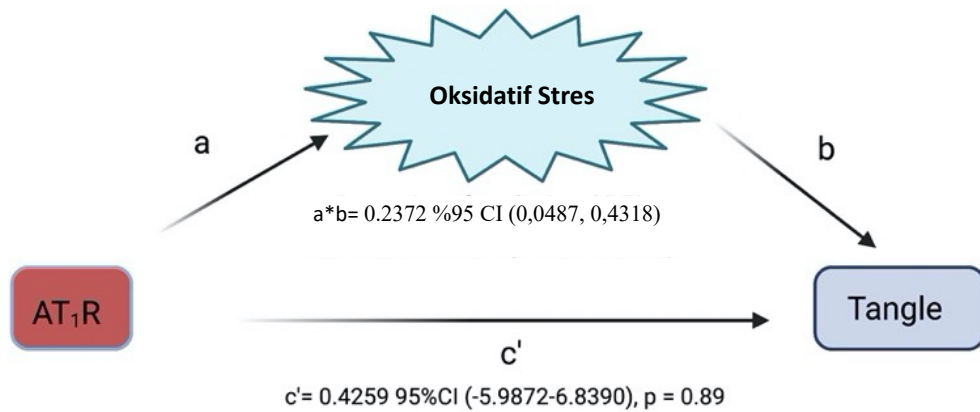
Alzheimer Hastalığı nöropatogenezinde önemli bir yeri olan inflamasyonun anjiyotensin reseptörleri ile ilişkisini ortaya koymak için AT₁R, AT₂R ve AT₄R seviyeleri ile serum ve beyin IL-6, TNF- α , IFN- γ ve IL-1 β seviyeleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Bu iki grupta, serum ve beyin IL-6, TNF- α , IFN- γ , ve IL-1 β sitokin seviyeleri ile anjiyotensin reseptör seviyeleri arasında bir korelasyon saptanmamıştır. Ayrıca, inflamatuvar sitokinlerin serum ve beyin seviyeleri arasında da bir korelasyon saptanmamıştır.

4.1.6. Anjiyotensin Reseptör Seviyeleri ile Amiloid-Beta Yükü ve Tangle Yoğunluğu İlişkisi

Son olarak, anjiyotensin reseptörleri ile Alzheimer Hastalığı patogenezinde önemli bir yere sahip olan amiloid-beta ve tangle skoru arasındaki ilişki bu tezin ilk hipotezi çerçevesinde incelenmiştir. AT₁R proteini ve AT₂R protein seviyeleri ile beyin patolojileri arasında NK ve AH gruplarında bir korelasyon saptanmamıştır. AT₄R proteini, AH'de tüm beyin ve hipokampal tangle skorları ile negatif korelasyon göstermiştir (sırasıyla $r = -0,349$, $p = 0,03$, $r = -0,356$, $p = 0,03$).

4.1.7. AT₁R Protein Seviyelerinin Oksidatif Stres Aracılığıyla Tangle Yoğunluğu Üzerine Etkisi

Beyin oksidatif stresinin AT₁R ve AH patolojileri arasındaki ilişkiye aracılık edebileceğini düşünerek bunu test etmek için standartlaştırılmış bağımsız değişkenler ve *bootstrapped* araçlar (n = 1000) kullanarak bir aracılık modeli oluşturduk. Hipotezimizle uyumlu olarak, AT₁R ve tangle oluşumuna sahip modelin önyüklemeli yol analizi, bu değişkenler arasında oksidatif stres aracılığıyla etkileşim gösteren önemli bir dolaylı yol (beta = 0,2372, %95 Güven aralığı [0,0487, 0,4318]) bulundu. Bu aracılı etki kısmiydi ve toplam etkinin %35.7'sini oluşturuyordu (Şekil 6). Buna karşılık, AT₁R ve amiloid-beta arasında böyle bir dolaylı etki mevcut değildi.



Şekil 5. Anyiotensin II tip 1 reseptörünün oksidatif stres aracılı etkisi. $a*b$, dolaylı etki; c' , doğrudan etki. Aracılı analiz *bootstrapping* metodu ile SPSS için the PROCESS macro programı kullanılarak yapılmıştır.

4.2. Anjiyotensin Reseptör Blokörü Kullanımının Normal Kognisyonlu Bireylerin Beyinlerine Etkisi

Öncelikle ARB'lerin normal kognisyonlu bireylere etkisini incelemek için ARB ve ACEİ hiç kullanmamış normal kognisyonlu bireyler ile ARB kullanmış

normal kognisyonlu bireylerin ölüm sonrası elde edilen beyin dokularında *AGT*, *ACE* ve *REN* gen ifadeleri ve beyin ana anjiyotensin reseptörlerinin (*AT₁R*, *AT₂R* ve *AT₄R*) gen ve protein ifadeleri ölçülmüştür ve birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Daha sonra bu düzeylerin oksidatif stres, inflamasyon, amiloid-beta yükü ve tangle yoğunluğu ile ilişkisi incelenmiştir.

4.2.1. Demografik Özellikler

Katılımcıların karakteristik özellikleri Tablo 2.de verilmiştir. Vücut kitle indeksi ve fiziksel işlev göstergeleri istatistiksel olarak gruplar arasında farklı değilken ARB kullanan grubun eğitim yılı ARB kullanmayan gruba göre daha düşük saptanmıştır. Ayrıca, ARB kullanan grupta kullanmayan gruba göre daha fazla sayıda hipertansiyon tanısı alan katılımcı saptanmıştır ($p < 0,001$) ve ortalama sistolik kan basıncı da bu grupta daha yüksek saptanmıştır ($p = 0,025$).

Tablo 4. Anjiyotensin reseptör blokör (ARB) kullanan ve kullanmayan normal kognisyonlu katılımcı karakteristik özellikleri

	NK (n=30)	NK +ARB (n=30)	p value
Yaş, ortalama±SD	90,2±5,1	90,04±3,5	0,858
Cinsiyet, erkek, n (%)	5 (17)	5 (16,7)	1
Eğitim, yıl, ortanca (ÇAG)	18 (16-21)	15 (12-17)	<0,001*
VKİ, ortanca (ÇAG)	24 (22,6-25,2)	25,6 (23-28,6)	0,156
Yürüme hızı, m/s, ortalama±SD	0,63±0,24	0,58±0,17	0,441
El sıkma gücü, kg, ortalama±SD	33,5±15,1	36,1±11,0	0,605
Koroner damar hastalığı, n (%)	7 (23,3)	7 (23,3)	1

İnme, n (%)	6 (20)	8 (26,7)	0,542
Kanser, n (%)	12 (40)	14 (46,7)	0,605
Hipertansiyon, n (%)	16 (53,3)	29 (96,7)	<0,001*
Tiroid hastalığı, n (%)	5 (16,7)	12 (40)	0,045*
Diyabet mellitus, n (%)	3 (10)	6 (20)	0,472
Sistolik KB, ortalama± SD	124±19	136±18	0,025*
Diyastolik KB, ortalama± SD	67±10	71±10	0,420
PMI, saat, ortanca (ÇAG)	5,63 (4,3-15,3)	5,33 (4,5-6,5)	0,574

Kısaltmalar: ÇAG, Çeyrekler arası aralık (interquartile range); KB, kan basıncı; NK, Kognitif bozukluğu olmayan; PMI, ölüm sonrası geçen süre (post-mortem interval); SD, standart sapma; VKİ, vücut kitle indeksi. * $p \leq 0.05$.

4.2.2. Normal Kognisyonlu ARB Kullanan Bireylerde Kullanmayanlara Göre Beyin RAS Ana Ligandı Anjiyotensinojen ve Katalitik Enzimler (Renin ve ACE) Gen İfade Düzeylerindeki Farklılıklar

Beyin RAS sistemi ana ligandı Anjiyotensinojen (*AGT*) ve renin (*REN*) gen ifadesi ARB kullanan grupta azalmıştır (0,54 kat-değişimi, $p = 0,03$ - 0,47 kat-değişimi, $p = 0,03$, sırası ile). *ACE* gen ifade seviyelerinde ise istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p = 0,26$). Kat değişim sonuçları Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 5. Anjiyotensin Reseptör Blokör Kullanan Normal Kognisyonlu Bireylerin Kullanmayanlara Göre *AGT*, *REN* ve *ACE* Gen İfadeleri

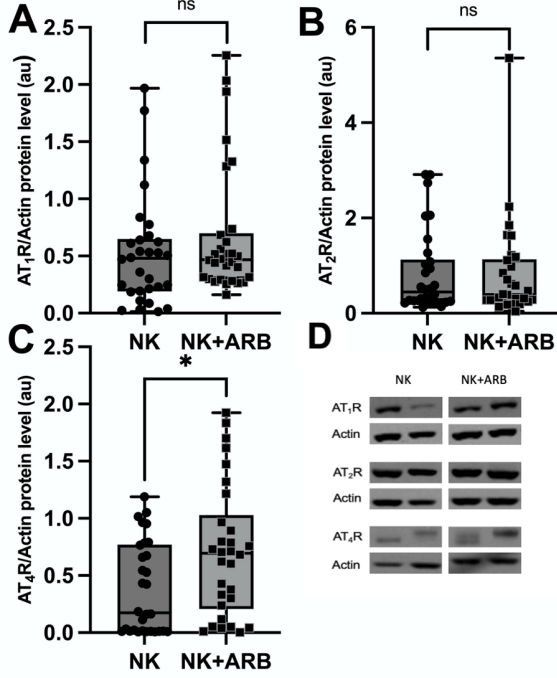
Gen	Protein	Kat değişimi	P değeri
<i>AGT</i>	Anjiyotensinojen	0,54	0,03
<i>REN</i>	Renin	0,47	0,03
<i>ACE</i>	Anjiyotensin-dönüştürücü enzim	0,71	0,26

4.2.3. Normal Kognisyonlu Bireylerde ARB Kullanımının Anjiyotensin Reseptör Gen ve Protein İfade Düzeyleri Üzerine Etkisi

Anjiyotensin reseptör blokörünün beyin anjiyotensin reseptörleri üzerindeki etkilerini aydınlatmak için AT₁R, AT₂R ve AT₄R'nin gen ve protein seviyeleri ölçülmüştür ve ARB ile tedavi edilen ve edilmeyen gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Sonuçlarımız, kognitif bozukluğu olmayan (Hafif Kognitif Bozukluk veya demans olmayan) ARB kullanan ve kullanmayan iki grup arasında ARB kullanımı ile AT₁R gen ifade düzeyi anlamlı şekilde düşüken (0,32 kat-değişimi, p = 0,004), AT₁R protein seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığını gösterilmiştir (ortanca (ÇAG) 0,47 (0,19-0,63) vs 0,46 (0,30-0,68), NK vs NK+ARB, p = 0,243) (Şekil 7A). Benzer şekilde, ARB tedavisi ile AT₂R gen ifade düzeyi anlamlı şekilde düşüken (0,29 kat-değişimi, p = 0,003), AT₂R protein seviyeleri arasında da istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmemiştir (ortanca (ÇAG) 0,45 (0,26-1,08) vs 0,39 (0,27-1,11), NK ve NK+ARB, p = 0,848) (Şekil 7B). Bununla birlikte, ARB kullanan NK'li katılımcılarda AT₄R gen ifade düzeylerinde fark yokken (1,14 kat-değişimi, p = 0,56), daha yüksek AT₄R protein seviyeleri tespit edilmiştir (ortanca (ÇAG), 0,17 (0,01-0,76) ve 0,69 (0,23-0,96), NK vs NK+ARB, p = 0,018) (Şekil 7C). Kat değişim sonuçları Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 6. Anjiyotensin Reseptör Blokör Kullanan Normal Kognisyonlu Bireylerin Kullanmayanlara Göre *AGTR1*, *AGTR2* ve *LNPEP* Gen İfadeleri

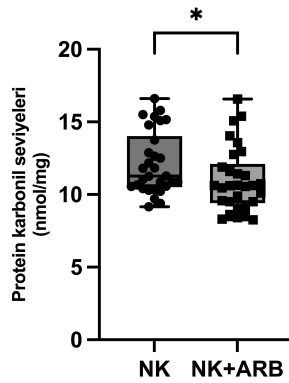
Gen	Protein	Kat değişimi	P değeri
<i>AGTR1</i>	Anjiyotensin II tip 1 reseptörü	0,32	0,004
<i>AGTR2</i>	Anjiyotensin II tip 2 reseptörü	0,29	0,003
<i>LNPEP</i>	Anjiyotensin tip 4 reseptörü	1,14	0,56



Şekil 6. Normal kognisyonlu ARB kullanan ve kullanmayan bireylerde anjiyotensin reseptör protein seviyeleri farkları. **(A)** Anjiyotensin II tip 1 reseptör (AT₁R) protein seviyeleri **(B)** Anjiyotensin II tip 2 reseptör (AT₂R) protein seviyeleri **(C)** Anjiyotensin tip 4 reseptör (AT₄R) protein seviyeleri ARB kullanan (n = 30) ve kullanmayan (n = 30) kognitif bozukluğu olmayan grupta. **(D)** Gruplara ait western blot örnekleri. Veriler kutu-çizgi (min-maks) ile gösterilmiştir. (* p ≤ 0,05).

4.2.4. Normal Kognisyonlu Bireylerde ARB Kullanımının Oksidatif Stres ile İlişkisi

Yaşlanma ve kognitif işlevlerde önemli bir yere sahip olan oksidatif stresin biyolojik belirteci olarak beyin protein karbonil seviyeleri ölçüldü ve gruplar arasında karşılaştırıldı. Protein karbonil seviyeleri, NK grubuna kıyasla NK+ARB grubunda daha düşüktü (ortanca ve (ÇAG) 10,6 (9.5-11.9) vs. 11,3 (10.5-13.8), NK+ARB vs. NK, p = 0,035) (Şekil 8).



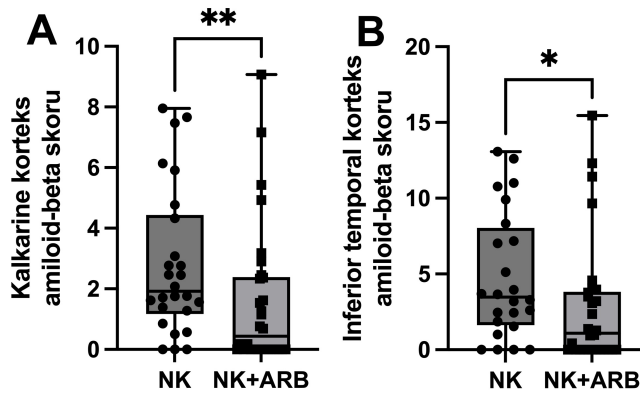
Şekil 7. ARB kullanan (NK+ARB) ve kullanmayan (NK) normal kognisyonlu bireylerde protein karbonil seviyeleri farkı. * $p \leq 0,05$

4.2.5. Normal Kognisyonlu Bireylerde ARB Kullanımının İnflamasyon ile İlişkisi

ARB kullanan ve kullanmayan gruplar arasında beyin ve serum sitokinleri (IL-6, TNF- α , IFN- γ ve IL-1 β) açısından fark saptanmamıştır.

4.2.6. Normal Kognisyonlu Bireylerde ARB Kullanımının Amiloid-Beta Yükü ve Tangle Yoğunluğu ile İlişkisi

Son olarak, ARB tedavisinin normal kognisyonlu bireylerde beyin amiloid-beta yükünü ve tangle yoğunluğunu etkileyip etkilemediği incelenmiştir. ARB ile tedavi edilen NK grubunda, tedavi edilmeyen kontrol NK grubuna kıyasla belirgin olarak daha düşük kalkanin korteks amiloid-beta (1,92 (1,17-4,44) vs 0,43 (0-2,39), $p = 0,011$) ve inferior temporal amiloid-beta skorları (3,47 (1,61-8,04)'e karşı 1,09 (0-3,83), $p = 0,030$) saptanmıştır (Şekil 9). ARB alan ve almayan iki grup arasında hipokampus (1,15 (0-2,04) vs 0 (0-0,56), NK'ya karşı NK+ARB, $p = 0,057$) ve entorhinal kortekste (3,30 (1,27-6,43) vs 0,60 (0-3,58), NK'ya karşı NK+ARB, $p = 0,051$) ise sınırda bir farklılık saptandı. Beynin diğer bölgelerinde amiloid-beta skorlarında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bunun yanında, hiçbir bölgede tangle yoğunluğu açısından iki grup arasında fark saptanmamıştır.



Şekil 8. Normal kognisyonlu bireylerde ARB kullanan ve kullanmayan grupta kalkarin korteks ve inferior temporal korteks amiloid-beta skorları. * $p \leq 0,05$

4.3. Anjiyotensin Reseptör Blokörü Kullanımının Alzheimer Hastalığı Olan Katılımcıların Beyinlerine Etkisi

Bu tez çalışmasının son amacı doğrultusunda, ARB kullanımının Alzheimer Hastalığı olan katılımcıların beyinlerindeki etkilerini ortaya koymak için ARB veya ACEİ hiç kullanmamış AH olan bireyler ile ARB kullanmış AH olan bireyler beyin anjiyotensin reseptörleri gen ve protein ifade düzeyleri ve oksidatif stres, inflamasyon, amiloid-beta yükü skorları bağlamında karşılaştırılmıştır.

4.3.1. Demografik Özellikler

Katılımcıların karakteristik özellikleri Tablo 3'te verildi. Vücut kitle indeksi ve fiziksel işlev belirteçleri istatistiksel olarak gruplara arasında farklı değilken ARB kullanan grubun eğitim yılı ARB kullanmayan gruba göre daha düşük saptanmıştır ($p < 0,001$).

Tablo 7. Anjiyotensin reseptörü kullanan ve kullanmayan Alzheimer Hastalığı olan katılımcıların karakteristik özellikleri.

	AH (n=30)	AH +ARB (n=30)	<i>p</i> value
Yaş, ortalama±SD	90,1±5,7	90,20±5,5	0,952
Cinsiyet, erkek, n (%)	5 (17)	5(16,7)	1

Eğitim, yıl, ortanca (ÇAG)	18 (21–18)	16 (18-12)	<0,001*
VKİ, ortanca (ÇAG)	24,8 (29–23,4)	26,2 (30-24,6)	0,428
Yürüme hızı, m/s, ortalama±SD	0,56±0,19	0,52±0,20	0,488
El sıkma gücü, kg, ortalama±SD	30,1±10,4	37,6±16,2	0,122
Koroner damar hastalığı, n (%)	7 (23,3)	6 (20)	1
İnme, n (%)	6 (20)	10 (33,3)	0,783
Kanser, n (%)	9 (30)	24 (80)	0,741
Hipertansiyon, n (%)	25 (83,3)	14 (46,7)	0,436
Tiroid hastalığı, n (%)	11 (36,7)	7 (23,3)	0,264
Diyabet mellitus, n (%)	7 (23,3)	8 (26,7)	0,767
Sistolik KB, ortalama±SD	134±16	138±19	0,635
Diyastolik KB, ortalama±SD	72±12	72±10	0,602
PMI, saat, ortanca (ÇAG)	6,93 (4.2-10.6)	5,43 (4.4-13.2)	0,947

Kısaltmalar: AH, Alzheimer Hastalığı; ÇAG, Çeyrekler arası aralık (interquartile range); KB, kan basıncı; PMI, ölüm sonrası geçen süre (post-mortem interval); SD, standart sapma; VKİ, vücut kitle indeksi. * $p \leq 0.05$.

4.3.2. ARB Kullanan Alzheimer Hastalarının Beyin RAS Ana Ligandı Anjiyotensinojen ve Katalitik Enzim (Renin ve ACE) Düzeylerindeki Farklılıklar

Beyin RAS sistemi ana ligandı Anjiyotensinojen (*AGT*) gen ifadesinde iki grup arasında fark saptanmamıştır ($p = 0,44$). Benzer şekilde, katalik enzimler renin ve ACE

gen ifade seviyelerinde de istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (sırası ile, $p = 0,07$, $p = 0,16$). Gen ifadelerinin kat değişim sonuçları Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 8. Anjiyotensin Reseptör Blokör Kullanan Alzheimer Hastalarının Kullanmayanlara Göre *AGT*, *REN* ve *ACE* Gen İfadeleri

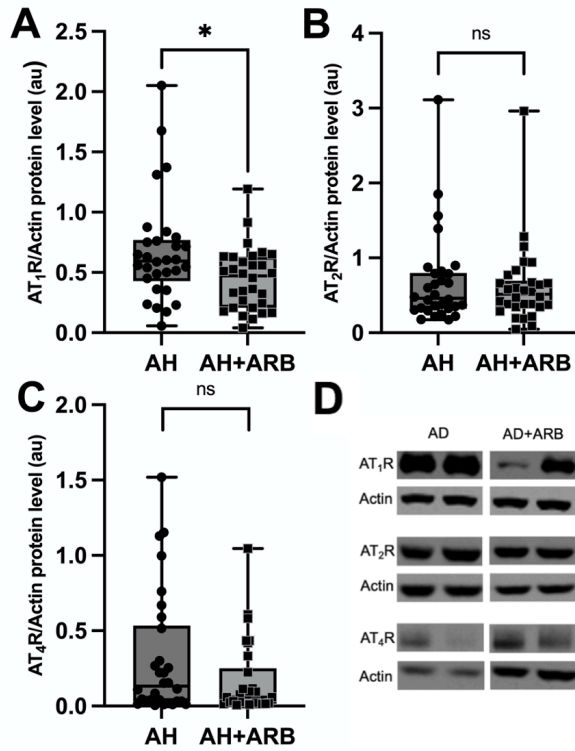
Gen	Protein	Kat değişimi	p değeri
<i>AGT</i>	Anjiyotensinojen	0,81	0,44
<i>REN</i>	Renin	1,06	0,07
<i>ACE</i>	Anjiyotensin-dönüştürücü enzim	0,74	0,16

4.3.3. Alzheimer Hastalığı Olan Bireylerde ARB Kullanımının Anjiyotensin Reseptör Gen ve Protein İfade Düzeylerine Etkisi

Kognitif olarak normal bireylerin aksine, AH grubunda, AT_1R gen ifade düzeylerinde fark saptanmazken ($p = 0,71$), AT_1R protein seviyeleri ARB kullanan grupta kullanmayanlara göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır (0,59 (0,45-0,76) vs. 0,47 (0,21-0,63), AH'ye karşı AH+ARB, $p = 0,023$) (Şekil 10). Bununla birlikte, AT_2R ve AT_4R gen ifade düzeylerinde ($p = 0,78$, $p = 0,54$, sırası ile) ve AT_2R (0,46 (-0,32-0,79) vs 0,52 (0,34-0,67), AH'ye karşı AH+ARB, $p = 0,965$) veya AT_4R protein seviyeleri (0,13 (0,03-0,51) vs. 0,06 (0,01-0,22), AH'ye karşı AH+ARB, $p = 0,117$) arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 10). Gen ifadelerinin kat değişim sonuçları Tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 9. Anjiyotensin Reseptör Blokör Kullanan Alzheimer Hastalarının Kullanmayanlara Göre *AGTR1*, *AGTR2* ve *LNPEP* Gen İfadeleri

Gen	Protein	Kat değişimi	p değeri
<i>AGTR1</i>	Anjiyotensin II tip 1 reseptörü	1,25	0,71
<i>AGTR2</i>	Anjiyotensin II tip 2 reseptörü	0,97	0,78
<i>LNPEP</i>	Anjiyotensin tip 4 reseptörü	1,15	0,54



Şekil 10. Alzheimer Hastalığı olan ARB kullanan ve kullanmayan bireylerde anjiyotensin reseptör protein seviyeleri farkları. **(A)** Anjiyotensin II tip 1 reseptör (AT₁R) protein seviyeleri **(B)** Anjiyotensin II tip 2 reseptör (AT₂R) protein seviyeleri **(C)** Anjiyotensin tip 4 reseptör (AT₄R) protein seviyeleri ARB kullanan (n = 30) ve kullanmayan (n = 30) Alzheimer Hastalığı olan grupta. **(D)** Gruplara ait western blot örnekleri. Veri kutu-çizgi (min-maks) ile gösterilmiştir. (* p ≤ 0.05).

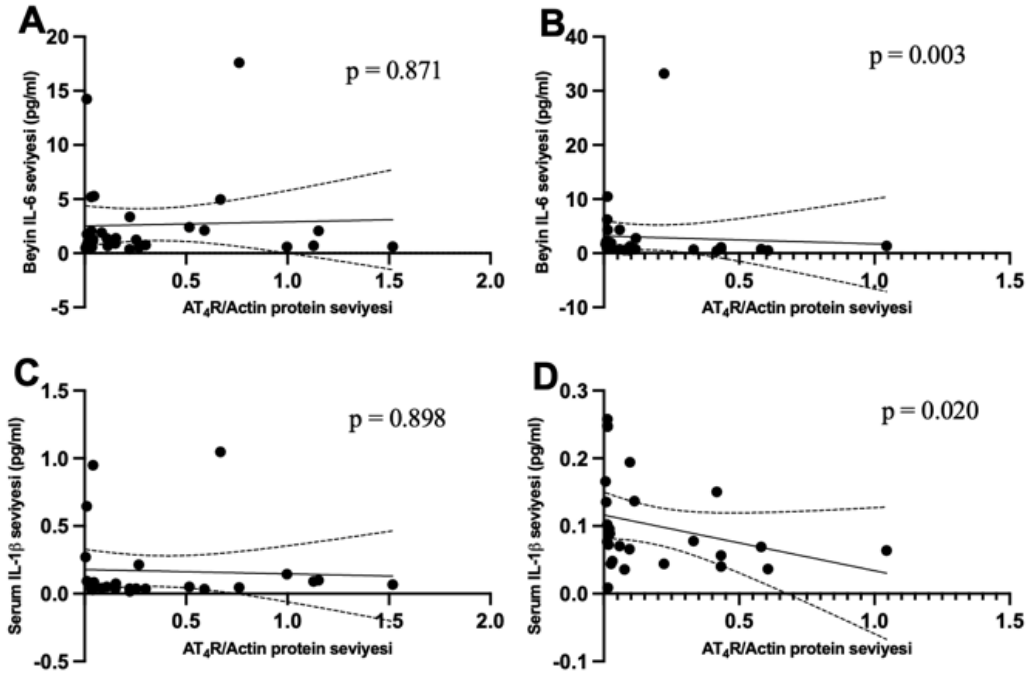
4.3.4. Alzheimer Hastalığı Olan Bireylerde ARB Kullanımının Oksidatif Stres ile İlişkisi

ARB ile tedavi edilen AH grubunda beyin protein karbonil düzeyinde anlamlı bir fark gözlenmemiştir (10,6 (9,6-13,3) vs 10,9 (9,9-13,9), AH'ye karşı AH+ARB, p = 0,478).

4.3.5. Alzheimer Hastalığı Olan Bireylerde ARB Kullanımının İnflamasyon ile İlişkisi

ARB ile tedavi edilen ve edilmeyen AH grupları arasında beyin ve serum sitokin seviyeleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bununla birlikte, beyin AT₄R protein seviyeleri, AH+ARB grubunda beyin IL-6 seviyeleri (r = -0,523

$p = 0,003$) ve serum IL-1 β ($r = -0,460$ $p = 0,020$) ile negatif korelasyon göstermiştir. Diğer gruplarda ise anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır.



Şekil 10. Anjiyotensin tip 4 reseptörü ve sitokin seviyeleri arasındaki korelasyonu gösteren serpilme diyagramı (95% güven aralığı ve regresyon çizgisi) (A) ARB kullanmayan grupta AT₄R ve beyin IL-6 (n = 30) (B) ARB kullanan grupta AT₄R ve beyin IL-6 (n = 30) (C) ARB kullanmayan grupta AT₄R ve serum IL-1beta (n = 26) (D) ARB kullanan grupta AT₄R ve serum IL-1beta (n = 26).

4.3.6. Anjiyotensin Reseptör Seviyeleri ile Amiloid-Beta Yükü ve Tangle Yoğunluğu İlişkisi

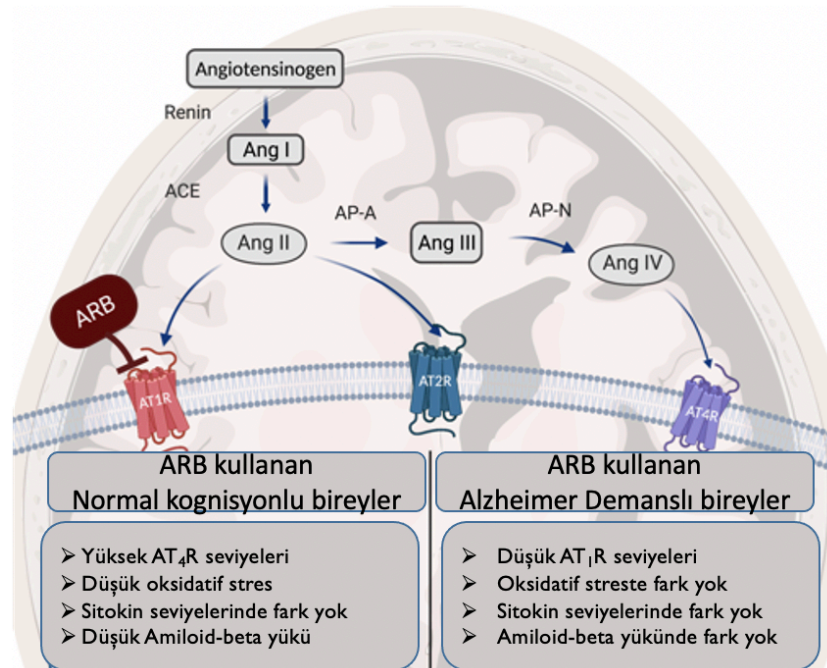
Anjiyotensin reseptör blokörü kullanan ve kullanmayan gruplar arasında tangle ve amiloid-beta skolarları açısından istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır.

4.4. Anjiyotensin Reseptör Blokörlerinin Normal Kognisyonlu ve Alzheimer Hastalarında Anjiyotensin Reseptörleri Üzerindeki Etki Farklılığı

Son olarak, ARB tedavisinin AH ve NK gruplarında farklı etkileri olup olmadığını belirlemek için dört grubun tamamı için iki yönlü ANOVA analizi yapılmıştır. ARB kullanımı ile hastalık durumu (AH ile NK) arasında anjiyotensin tip 4 reseptör seviyesi üzerinde anlamlı bir etkileşim etkisi vardı ($F(1,116) = 9.349$, $p =$

.003, $\eta^2 = 0.075$). Etkileşim teriminin anlamlılığı, ARB kullanımının AT₄R düzeyi üzerindeki etkisinin AH ve NK grupları arasında farklı olduğunu göstermiştir. İzlem basit etki analizinde ARB kullanımı NK grubunda AT₄R düzeyi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahipken ($p = 0,014$) AH grubunda anlamlı bir etki görülmemiştir ($p = 0,093$). Benzer şekilde, ARB kullanımı ile hastalık grubu arasında anjiyotensin tip 1 reseptör düzeyi üzerinde anlamlı bir etkileşim etkisi saptanmıştır ($F(1,116) = 5,351, p = ,022, \eta^2 = 0,044$). Takip basit etki analizinde ARB kullanımı, AH grubunda AT₁R seviyesi üzerinde anlamlı bir etkiye sahipken ($p = 0,017$), NK grubunda anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır ($p = 0,260$). ARB tedavisinin ve hastalık durumunun (AH'ye karşı NK) anjiyotensin tip 2 reseptörleri üzerinde etkisi saptanmamıştır.

Anjiyotensin reseptör blokörü kullanan normal kognisyonlu ve Alzheimer Hastalığı olan bireylerin beyinlerinde kullanmayanlara göre gözlenen değişiklikler Şekil 12’de özetlenmiştir.



Şekil 11. Anjiyotensin reseptör blokörü kullanan kognitif bozukluğu olmayan ve Alzheimer Hastalığı olan katılımcıların ARB kullanmayanlara göre farklılıklarının şekilsel gösterimi.

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasının ilk kısmında Alzheimer hastalarının beyinleri ile normal kognisyonlu bireylerin beyinleri beyin renin-anjiyotensin sistemi komponentleri yönünden karşılaştırılmış ve beyin RAS ile AH mekanizmaları ilişkisi incelenmiştir. Alzheimer hastalarının beyinlerinde, sağlıklı beyinlere göre artmış AT₁R protein seviyeleri saptanmıştır. AT₁R protein düzeyleri Alzheimer hastalarında oksidatif stres düzeyi ile doğru orantılıyken, inflamasyon ile ilişkili bulunmamıştır. Alzheimer hastalarının beyinlerinde AT₂R protein seviyelerinde herhangi bir fark saptanmazken, bu çalışmada AT₄R'nin oksidatif stres ve tangle yumağı yoğunluğuna karşı koruyucu bir rolü olduğuna dair bazı ipuçları elde edilmiştir.

Epidemiyolojik çalışmalarda (44,255) ve hayvan modellerinde (256,257) AT₁R'yi bloke etmenin AH'de çeşitli faydaları gösterilmiş olsa da, mevcut literatür bilgilerine göre, bu tez çalışması AH olan katılımcıların beyinlerindeki RAS değişikliklerini kapsamlı olarak inceleyen ilk çalışmadır. AH beyinlerinde daha yüksek AT₁R seviyeleri saptanması, insan beyinlerinde yapılan önceki bir çalışma ile uyumludur (258). İlk olarak, Savaskan ve ark. 9 Alzheimer hastasının ve 9 kontrol grubundaki katılımcının beyinlerini inceleyerek immünohistokimyasal olarak parietal kortekste artmış AT₁R seviyelerini göstermiştir. Fakat, bu çalışmada diğer anjiyotensin reseptörleri incelenmemiştir (258).

İlginç olarak, tez çalışmasında, Alzheimer hastalarında daha az AT₁R mRNA seviyeleri fakat daha yüksek AT₁R protein seviyeleri saptanmıştır. Böyle bir uyumsuzluk negatif geri besleme kaynaklı olabilir. Literatürde yüksek protein seviyelerinin, proteinin daha fazla üretimini inhibe etmek için mRNA ekspresyonunu azaltılabileceği söylenmiştir (259). Bu uyumsuzluğun bir diğer nedeni de proteinlerin mRNA'ya göre yarı ömürlerinin daha uzun olması ve daha stabil olmaları olabilir (260,261).

Ayrıca, önceki hayvan çalışmaları, AT₁R'nin artan protein ifadesi durumunda, genç hayvanlarda AT₂R'nin telafi edici mekanizma olarak ifadesinin arttığını göstermektedir (262,102) fakat yaşlı hayvanlarda bu telafi edici mekanizma bozulmuştur (262,263). Bu bilgiler ile uyumlu olarak, tez çalışmasında, yaşlı

popülasyonunda daha yüksek AT₁R seviyelerinin beyin AT₂R seviyesindeki farklılıklar ile ilişkili olmadığı gözlenmiştir.

AT₁R'nin oksidatif stres ile ilişkisi, AT₁R'nin hayvanlar üzerindeki zararlı etkisini gösteren önceki çalışmalarla uyumludur (256,264–267). AT₁R seviyeleri ve beyin sitokinleri arasında benzer bir ilişki olmasını beklerken, inflamasyon ve AT₁R protein seviyeleri arasında bir bağlantı saptanmamıştır. Ölüm sonrası çalışmalarda sitokinlerin stabilitesi de dahil olmak üzere bu olumsuz sonuçlara birçok faktör katkıda bulunmuş olabilir (268,269).

Anjiyotensin tip 4 reseptörü, anjiyotensin reseptör ailesinin en yeni üyesidir ve hafıza ve bilişsel işlevle bağlantılı bulunmuştur. Tez çalışmasında, AT₄R seviyelerinde AH ile hiçbir fark gözlenmese de beyin AT₄R seviyeleri ile tangle yoğunluğu arasında negatif bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar, Ang III/Ang-IV/AT₄R yolunun düzensizliğinin tangle yumağı oluşumu ile ilişkili olduğunu bildiren yakın tarihli bir çalışma tarafından desteklenmektedir (270). Anjiyotensin II, Aminopeptidaz A (AP-A) ve Aminopeptidaz N (AP-N) seviyelerini Alzheimer hastalarının beyinlerinde ölüm sonrası inceleyen bu çalışmada Alzheimer Hastalığı'nda artmış Ang II seviyeleri yanında AP-A/Ang-III/AP-N/Ang-IV/AT₄R yolağının da regülasyonunun bozulduğu ve bunun tangle yoğunluğu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (270).

AH ile beyin RAS farklılıklarını inceleyen bu tez çalışması AH olan katılımcıların beyinlerinde renin-anjiyotensin sistemi dengesinin yıkıcı etkileri olan AT₁R lehine kaydığını göstermiştir. Bu beyin RAS düzensizliği, RAS'ı modüle eden ilaçların bilişsel gerilemeye karşı gözlenen koruyucu etkinliklerinin potansiyel mekanizmalarını aydınlatmada rol gösterici olabilir.

Tez çalışmasının ikinci kısmında ise oksidatif stres ve amiloid-beta ile korelasyonu gösterilen ve AH'de yüksek olduğu saptanan AT₁R'yi ARB'ler ile bloklamının sağlıklı beyinlerde ve Alzheimer hastalarının beyinlerindeki etkileri araştırılmıştır. Bunun için öncelikle kognitif bozukluğu olmayan bireylerin ve Alzheimer Hastalığı olan katılımcıların ölüm sonrası beyinlerinde ARB kullanımı ile ilişkili beyin RAS reseptör seviyeleri farklılıkları araştırılmıştır. Sağlıklı beyinlerde ARB kullanan grupta daha yüksek AT₄R seviyeleri ve daha düşük oksidatif stres ve

amiloid-beta skorları saptanırken, Alzheimer hastalarında ise ARB'lerin bu yararlı etkileri gözlenmemiştir. AH olan ve ARB kullanan katılımcılarda görülen anjiyotensin reseptör ifadesindeki tek anlamlı fark, daha düşük AT₁R protein seviyeleri olmuştur. ARB kullanan ve kullanmayan hem NK'li hem de AH'li katılımcıların arasında inflamasyon açısından fark saptanmamıştır.

Bildiğimiz kadarıyla, ARB kullanımının beyin renin-anjiyotensin sistem reseptörleri ve bunların potansiyel mekanizmaları ile ilişkisini değerlendiren literatürde çok az sayıda insan beyni üzerine yapılmış çalışma mevcuttur. Tez sonuçları, AH'li olanların aksine normal kognisyona sahip katılımcıların beyinleri üzerinde ARB'lerin yararlı etkilerinin görüldüğünü göstermiştir.

Anjiyotensin tip 4 reseptörü, çoğunlukla korteks ve hipokampusun kolinerjik nöronlarında bulunan işlevsel anjiyotensin reseptör ailesinin son tespit edilen üyelerinden biridir (90). AT₄R serebral kan akışı, nöroproteksiyon, uzun süreli hafıza konsolidasyonu ve geri çağırma üzerindeki olumlu etkileriyle bilinmektedir (271). Brazsko et al. daha yüksek Ang II seviyelerinin Ang IV'e dönüştürüldüğünü ve bu dönüşümün hayvan modelinde Ang II'nin bilişsel koruyucu etkilerinden sorumlu olduğunu öne sürmüştür (272). Bu nedenle, ARB kullanan NK'li bireylerin beyinlerinde görülen daha yüksek AT₄R seviyeleri, Ang II'nin Ang IV'e daha yüksek dönüşümünün ve Ang IV/AT₄R yolağının daha yüksek aktivasyonunun bir sonucu olabilir. İnsan beyninde elde edilen tez sonuçları, bir hayvan modelinde AT₄R'nin blokajıyla bir anjiyotensin reseptör blokörü olan losartanın faydalı etkilerinin geri döndürüldüğünü gösteren önceki bir çalışma tarafından desteklenmektedir (273).

Ayrıca, ARB kullanımının bilişsel bozukluğu olmayan bireylerde daha düşük oksidatif stres seviyeleri ile ilişkili olduğuna dair tez bulgusu, önceki Alzheimer hastalığı hayvan modelleri ve in vitro çalışmalarla uyumludur (274–276). Ek olarak, yakın zamanda daha yüksek Ang IV seviyelerinin, tezde gözlemlenene benzer şekilde daha düşük oksidatif stres ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (277). AT₄R antagonisti kullanımı ile losartanın faydalı etkilerinin engellediğinin gösterilmesi ve AT₄R'nin AH'de potansiyel bir hedef olarak belirlenmesinden sonra aynı çalışma grubu tarafından doğrudan AT₄R'ler hedeflenerek AT₄R'nin etkilerinin gösterilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, insan amiloid öncü proteini (APP) transgenik (J20 hattı)

farelere bir ay boyunca intraserebroventriküler olarak Anjiyotensin IV verilmiştir. Anjiyotensin IV, bu farelerde kısa süreli hafızayı ve uzamsal öğrenmeyi iyileştirmiştir. Anjiyotensin IV, hipokampal AT₄R seviyelerini arttırırken, hipokampal subgranüler bölge hücresel proliferasyonunu ve dendritik dallanmayı da arttırmıştır ve oksidatif stresi azaltmıştır. Anjiyotensin IV, kan basıncını veya nöroinflamasyonu değiştirmemiştir. Tez çalışmasına benzer şekilde, bu hayvan çalışmasının sonuçları da, AT₄R'nin AH'ye karşı gelecek vaat eden bir hedef olabileceğini göstermiştir (277).

Son olarak, ARB kullanan bilişsel bozukluğu olmayan katılımcılarda daha düşük amiloid-beta seviyelerine ilişkin tezde elde edilen sonuç, ARB kullanımı ile neprilisin ve transtiretin gibi katabolizma ve amiloid-beta klirensinde rol oynayan enzimlerin ifade artışını raporlayan klinik öncesi kanıtlarla desteklenmektedir (278–282). ARB kullanımı ile azalmış amiloid-beta seviyeleri arasındaki doğrudan ilişki, birkaç hayvan çalışmasında (256,279,283,284) ve bir insan çalışmasında ölüm sonrası beyin incelemesi ile gösterilmiştir (285). Yakın tarihli bir diğer çalışmada ise, ARB ve ACEİ'lerin kullanımı ile daha düşük amiloid-beta birikimi arasındaki ilişki incelenmiş ve ARB'nin ACEİ'ye kıyasla üstünlüğü olduğunu bildirilmiştir (282). AH'de ARB'lerin faydalı etkilerinin görülmemesinin değerlendirilmesi zordur ve AH'nin şiddeti, tanı ile ARB tedavisine başlama arasındaki süre ve tedavi süresi gibi çeşitli faktörler bu duruma katkıda bulunmuş olabilir.

Önceki literatürün aksine, hem Alzheimer hem de Alzheimer olmayan hayvan modelleri ve in vitro çalışmalarda ARB'lerin anti-inflamatuar etkileri gösterilmiş olsa da verilerimizde ARB'nin inflamasyon üzerinde etkisi saptanmamıştır (256,286–288). Bununla birlikte, AT₄R seviyeleri ve beyin IL-6 ve serum IL-1 β seviyerleri arasında negatif bir korelasyon ARB kullanan AH grubunda saptanmıştır. Bu sonuç, kronik serebral hipoperfüzyon sıçan modellerinde Anjiyotensin IV infüzyonu ile bu sitokinlerin daha düşük seviyelerini gösteren ve bu etkilerin divalinal-Ang IV (AT₄R antagonist) ile tersine çevrildiğini gösteren yakın tarihli bir çalışma ile benzerdir (289).

Tez çalışmasının birkaç sınırlaması vardır. İlk olarak, katılımcılar tarafından kullanılan ARB türleri bilinmemektedir. Bu, günümüzde klinik ortamda sık olarak kullanılan ARB'lerin farklı kan-beyin penetrasyonuna, AT₁R'ye afiniteye ve

peroksizom proliferatörü ile aktifleşen reseptör gama aktivasyon seviyelerine sahip olması nedeniyle özellikle önemlidir (89,275,290). İkincisi, katılımcıların ARB'yi kullandıkları sürenin bilinmemesi, ARB'lerin zamana bağlı etkilerini saptamamızı engellemiştir. Çalışmanın bir diğer sınırlaması da, AT₁R ve AT₂R'ye karşı ticari olarak temin edilebilen antikörlerin özgüllüğünün düşük olmasıdır (291–293). Şu anda, doğrulanmış antikörleri kullanan western blot teknikleri, daha iyi ve daha hassas teknolojilerin geliştirilmesine kadar anjiyotensin reseptörlerini ölçmenin temel taşı olmaya devam etmektedir. Son olarak, katılımcı sayısının azlığı, hipertansiyon, eğitim düzeyi ve otopsi ve ölüm sonrası geçen süre (PMI) gibi önemli faktörlerin analiz sırasında dikkate alınmasını engellemiştir. Yüksek tansiyon, AH'nin gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunur. Önceki araştırmalar, daha yüksek kan basıncı seviyelerinin, daha yüksek amiloid-beta seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (294–296). İlginç bir şekilde, ARB'lerle tedavi edilen NK grubunda daha yüksek hipertansiyon yüzdesine rağmen, ARB'ler ile tedavi edilmeyen NK grubuyla karşılaştırıldığında daha düşük amiloid-beta skoru bulunmuştur. Ayrıca, önceki çalışmalarda, ACE ve Ang II düzeylerinin ölçümlerinin ölüm sonrası geçen zamandan etkilenmediği gösterilmiştir (270,297). Son olarak, çalışmada karışık bir doku kullanıldığı için farklı hücre tiplerine özgül ifade belirlenememiştir. Önceki araştırmalar, frontal korteks dokusunun %63 nöron, %26 oligodendrosit, %5 astrosit, %4 oligodendrosit progenitör, %3 mikrogliya, %0.2 perisit ve %0.2 endotel hücre içerdiğini göstermiştir (298).

Bugün itibariyle, AH'nin tedavisi veya etkili bir önleme yöntemi yoktur. AT₁R blokörleri ve AH ilişkisi, AH'yi önleme ve progresyonunu yavaşlatma için ARB kullanımını destekleyen epidemiyolojik kanıtlardan (299,300) ve endokrin RAS'tan bağımsız olarak işlev gösteren beyin renin-anjiyotensin sisteminin keşfinden sonra önem kazanmıştır. Tez sonuçları AT₄R'nin bilişsel bozukluğu olmayan bireylerde ARB'nin koruyucu etkilerine aracılık etmede bir rolü olabileceğini göstermektedir. Anjiyotensin reseptör blokörlerinin, Alzheimer Hastalığı'nda kullanımına dair daha ayrıntılı bilgi sahibi olabilmek için, ARB'lerin türlerinin, başlangıç zamanlarının ve tedavi sürelerinin de dikkate alındığı daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasının amacı öncelikle beyin anjiyotensin reseptörlerinin Alzheimer Hastalığı patogenezindeki rolünü göstermek ve anjiyotensin reseptör blokörlerinin beyin RAS üzerindeki etkilerini ve Alzheimer Hastalığı üzerindeki rolünü ortaya koymaktır.

İlk amaç doğrultusunda, RAS sistemini etkileyen ACEİ ve ARB cinsi ilaç hiç kullanmamış kognitif bozukluğu olmayan (n=30) ve Alzheimer Hastalığı (AH) olan n=30) katılımcıların beyin *AGT* (anjiyotensinojen geni), *REN* (renin geni), *ACE* (anjiyotensin dönüştürücü enzim geni) gen ifadeleri, anjiyotensin II tip 1 reseptörü, anjiyotensin II tip 2 reseptörü ve anjiyotensin tip 4 reseptörü gen ifadeleri (*AGTR1*, *AGTR2* ve *LNPEP*) ve protein düzeyleri ölçülerek, gruplar arası farklılıklar tespit edilmiştir. Ayrıca, beyin RAS sisteminin, oksidatif stres belirteci olarak protein karbonil düzeyleri, inflamasyon belirteçleri olarak İnterlökin 6 (IL-6), İnterlökin 1 β (IL-1 β), İnterferon-gamma (IFN- γ) ve Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) seviyeleri ve AH patolojilerinden tangle yoğunluğu ve amiloid-beta yükü ile ilişkisi incelenmiştir. İkinci aşamada ise ARB'lerin etkilerini kognitif olarak bozukluğu olmayan ve AH olan katılımcılarda ayrı ayrı gözlemleyebilmek için hiç ARB kullanmamış ve ARB kullanmış kognitif bozukluğu olmayan katılımcılar birbirleri ile beyin RAS sistemi komponentleri yönünden karşılaştırılmış ve bu komponentlerin AH potansiyel mekanizmalarından oksidatif stres, inflamasyon ve AH patolojileri tangle yoğunluğu ve amiloid-beta yükü ile ilişkisi incelenmiştir. Son olarak da, ARB kullanmamış ve ARB kullanmış AH olan katılımcılar da birbirleri ile beyin RAS sistemi komponentleri ve bu komponentlerin AH potansiyel mekanizmalarından oksidatif stres, inflamasyon ve AH patolojileri tangle yoğunluğu ve amiloid-beta yükü ile ilişkisi incelenmiştir.

6.1. Sonuçlar

1. Alzheimer Hastalığı olan katılımcılarda kognitif olarak normal olan katılımcılara göre daha yüksek AT₁R protein düzeyleri saptanmıştır. Artmış AT₁R seviyelerinin yanında, beyin renin-anjiyotensin sisteminin koruyucu tarafında yer alan AT₂R ve AT₄R protein düzeylerinde fark saptanmamıştır. Bu da Alzheimer hastalarının beyinlerinde renin-

anjyotensin sistemi dengesinin pro-oksidatif ve pro-inflamatuar özellikleri ile tanınan AT₁R lehine kaydığını göstermektedir.

2. Artmış beyin AT₁R seviyeleri, daha yüksek protein karbonil seviyeleri (oksidatif stres belirteci) ve daha yüksek amiloid-beta yükü ile pozitif yönde ilişkili bulunmuştur.
3. Kognitif bozukluğu olmayan katılımcıların beyinlerinde ARB kullanan grupta daha yüksek AT₄R seviyeleri saptanmıştır.
4. Kognitif olarak normal olan ve ARB kullanan grupta daha düşük oksidatif stres ve daha düşük amiloid-beta skorları saptanmıştır.
5. Alzheimer hastalarında ise ARB kullanan grupta yalnızca azalmış AT₁R protein seviyeleri saptanırken, diğer reseptör düzeylerinde anlamlı fark saptanmamıştır.
6. ARB kullanan ve kullanmayan hem kognitif olarak normal hem de AH olan katılımcılar arasında inflamasyon açısından fark saptanmamıştır.
7. Anjyotensin reseptör blokörlerinin kognitif olarak normal bireylerde ve Alzheimer hastalarında farklı etkileri olduğu ortaya konmuştur.

6.2. Öneriler

Tez çalışması kapsamında beyin renin-anjyotensin sisteminin ve ARB'lerin Alzheimer Hastalığı'ndaki rolüne ışık tutulmuştur. Anjyotensin reseptör blokörlerinin kognitif olarak normal bireylerde ve Alzheimer hastalarında farklı etkileri olduğu göz önünde bulundurularak, bu tedavilerin başlanma zamanının önemli olduğu sonucu ortaya çıkabilir. Bu bağlamda, bu zamansal etkiyi ortaya koymak için kullanan ARB'lerin başlanma zamanlarının ve kullanım sürelerinin de kaydı önemlidir. Anjyotensin reseptör blokörlerinin Alzheimer Hastalığı'nı önleme ve seyrini yavaşlatmak için rolünü daha ayrıntılı ortaya koyabilmek için kullanılan ARB'lerin türlerinin, başlanma zamanlarının ve kullanım sürelerinin de dikkate alındığı daha geniş katılımcılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6.3. Tezden Türetilen Yayınlar

- Cosarderelioglu C, Nidadavolu LS, George CJ, Marx-Rattner R, Powell L, Xue QL, Tian J, Salib J, Oh ES, Ferrucci L, Dincer P, Bennett DA,

Walston JD, Abadir PM. Higher Angiotensin II Type 1 Receptor Levels and Activity in the Postmortem Brains of Older Persons with Alzheimer's Dementia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2022 Apr 1;77(4):664-672. Doi: 10.1093/gerona/glab376. PMID: 34914835; PMCID: PMC8974324.

- Cosarderelioglu C, Nidadavolu LS, George CJ, Marx-Rattner R, Powell L, Xue QL, Tian J, Oh ES, Ferrucci L, Dincer P, Bennett DA, Walston JD, Abadir PM. Angiotensin receptor blocker use is associated with upregulation of the memory-protective angiotensin type 4 receptor (AT4R) in the postmortem brains of individuals without cognitive impairment. *Geroscience*. 2022 Aug 15. Doi: 10.1007/s11357-022-00639-8. PMID: 35969296.

8. KAYNAKLAR

1. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1991;82(4):239–59.
2. Mcgeer P, Mcgeer E. The inflammatory response system of brain: implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases. *Brain Res Rev*. 1995 Sep;21(2):195–218.
3. Gao HM, Zhou H, Hong JS. Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegeneration. In: Peterson PK, Toborek M, editors. *Neuroinflammation and Neurodegeneration* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2014. p. 81–104. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1071-7_5
4. Mecocci P, Boccardi V, Cecchetti R, Bastiani P, Scamosci M, Ruggiero C, et al. A Long Journey into Aging, Brain Aging, and Alzheimer’s Disease Following the Oxidative Stress Tracks1. Perry G, Avila J, Tabaton M, Zhu X, editors. *J Alzheimers Dis*. 2018 Mar 13;62(3):1319–35.
5. Page IH, Helmer OM. A CRYSTALLINE PRESSOR SUBSTANCE (ANGIOTONIN) RESULTING FROM THE REACTION BETWEEN RENIN AND RENIN-ACTIVATOR. *J Exp Med*. 1940 Jan 1;71(1):29–42.
6. Braun-Menendez E, Fasciolo JC, Leloir LF, Muñoz JM. The substance causing renal hypertension. *J Physiol*. 1940 Jul 24;98(3):283–98.
7. Tigerstedt R, Bergman PQ. Niere und Kreislauf1. *Skand Arch Für Physiol*. 1898;8(1):223–71.
8. Griendling KK, Murphy TJ, Alexander RW. Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Circulation*. 1993;87(6):1816–28.
9. Unger T, Chung O, Csikos T, Culman J, Gallinat S, Gohlke P, et al. Angiotensin receptors. *J Hypertens Suppl Off J Int Soc Hypertens*. 1996 Dec;14(5):S95-103.
10. Vajapey R, Rini D, Walston J, Abadir P. The impact of age-related dysregulation of the angiotensin system on mitochondrial redox balance. *Front Physiol* [Internet]. 2014 Nov 24 [cited 2020 Apr 8];5. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2014.00439/abstract>
11. Abadir PM, Walston JD, Carey RM. Subcellular characteristics of functional intracellular renin–angiotensin systems. *Peptides*. 2012 Dec;38(2):437–45.
12. Dzau VJ. Tissue renin-angiotensin system: physiologic and pharmacologic implications. Introduction. *Circulation*. 1988 Jun;77(6 Pt 2):11-3.

13. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev.* 2006 Jul;86(3):747–803.
14. Ganten D, Boucher R, Genest J. Renin activity in brain tissue of puppies and adult dogs. *Brain Res.* 1971 Oct 29;33(2):557–9.
15. Wright JW, Kawas LH, Harding JW. A Role for the Brain RAS in Alzheimer’s and Parkinson’s Diseases. *Front Endocrinol.* 2013 Oct 25;4:158.
16. Rodriguez-Pallares J, Rey P, Parga JA, Muñoz A, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. Brain angiotensin enhances dopaminergic cell death via microglial activation and NADPH-derived ROS. *Neurobiol Dis.* 2008 Jul 1;31(1):58–73.
17. Abadir PM, Foster DB, Crow M, Cooke CA, Rucker JJ, Jain A, et al. Identification and characterization of a functional mitochondrial angiotensin system. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Sep 6;108(36):14849–54.
18. De Silva TM, Faraci FM. Effects of angiotensin II on the cerebral circulation: role of oxidative stress. *Front Physiol [Internet].* 2013 [cited 2020 Apr 10];3. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2012.00484/abstract>
19. Wright JW, Harding JW. The brain renin–angiotensin system: a diversity of functions and implications for CNS diseases. *Pflüg Arch - Eur J Physiol.* 2013 Jan;465(1):133–51.
20. Labandeira-Garcia JL, Rodríguez-Perez AI, Garrido-Gil P, Rodríguez-Pallares J, Lanciego JL, Guerra MJ. Brain Renin-Angiotensin System and Microglial Polarization: Implications for Aging and Neurodegeneration. *Front Aging Neurosci [Internet].* 2017 [cited 2020 Jan 25];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnagi.2017.00129/full>
21. Forrester SJ, Booz GW, Sigmund CD, Coffman TM, Kawai T, Rizzo V, et al. Angiotensin II Signal Transduction: An Update on Mechanisms of Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev.* 2018 Jul 1;98(3):1627–738.
22. Kehoe PG. The Coming of Age of the Angiotensin Hypothesis in Alzheimer’s Disease: Progress Toward Disease Prevention and Treatment? *J Alzheimers Dis JAD.* 2018;62(3):1443–66.
23. Costa-Besada MA, Valenzuela R, Garrido-Gil P, Villar-Cheda B, Parga JA, Lanciego JL, et al. Paracrine and Intracrine Angiotensin 1-7/Mas Receptor Axis in the Substantia Nigra of Rodents, Monkeys, and Humans. *Mol Neurobiol.* 2018 Jul;55(7):5847–67.
24. Mogi M, Iwanami J, Horiuchi M. Roles of Brain Angiotensin II in Cognitive Function and Dementia. *Int J Hypertens.* 2012;2012:1–7.

25. Mogi M, Horiuchi M. Effect of angiotensin II type 2 receptor on stroke, cognitive impairment and neurodegenerative diseases. *Geriatr Gerontol Int*. 2013 Jan;13(1):13–8.
26. Farag E, Sessler DI, Ebrahim Z, Kurz A, Morgan J, Ahuja S, et al. The renin angiotensin system and the brain: New developments. *J Clin Neurosci*. 2017 Dec 1;46:1–8.
27. Regenhardt RW, Desland F, Mecca AP, Pioquinto DJ, Afzal A, Mocco J, et al. Anti-inflammatory effects of angiotensin-(1-7) in ischemic stroke. *Neuropharmacology*. 2013 Aug;71:154–63.
28. Denver P, McClean PL. Distinguishing normal brain aging from the development of Alzheimer's disease: inflammation, insulin signaling and cognition. *Neural Regen Res*. 2018 Oct;13(10):1719–30.
29. Padurariu M, Ciobica A, Lefter R, Serban IL, Stefanescu C, Chirita R. The oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Psychiatr Danub*. 2013 Dec;25(4):401–9.
30. Swerdlow RH. Brain aging, Alzheimer's disease, and mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. 2011 Dec;1812(12):1630–9.
31. Swerdlow RH. Alzheimer's Disease Pathologic Cascades: Who Comes First, What Drives What. *Neurotox Res*. 2012 Oct;22(3):182–94.
32. Kim GH, Kim JE, Rhie SJ, Yoon S. The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Exp Neurobiol*. 2015 Dec;24(4):325–40.
33. Barnham KJ, Masters CL, Bush AI. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat Rev Drug Discov*. 2004 Mar;3(3):205–14.
34. Jackson L, Eldahshan W, Fagan SC, Ergul A. Within the Brain: The Renin Angiotensin System. *Int J Mol Sci*. 2018 Mar;19(3):876.
35. Wright JW, Harding JW. Contributions by the Brain Renin-Angiotensin System to Memory, Cognition, and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2019 Jan 22;67(2):469–80.
36. Shi M, Chu F, Zhu F, Zhu J. Impact of Anti-amyloid- β Monoclonal Antibodies on the Pathology and Clinical Profile of Alzheimer's Disease: A Focus on Aducanumab and Lecanemab. *Front Aging Neurosci*. 2022;14:870517.
37. Düsing R. Pharmacological interventions into the renin–angiotensin system with ACE inhibitors and angiotensin II receptor antagonists: effects beyond blood pressure lowering. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2016;10(3):151–61.
38. Fournier A, Messerli FH, Achard JM, Fernandez L. Cerebroprotection mediated by angiotensin II: a hypothesis supported by recent randomized clinical trials. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Apr 21;43(8):1343–7.

39. Anderson C, Teo K, Gao P, Arima H, Dans A, Unger T, et al. Renin-angiotensin system blockade and cognitive function in patients at high risk of cardiovascular disease: analysis of data from the ONTARGET and TRANSCEND studies. *Lancet Neurol.* 2011 Jan;10(1):43–53.
40. Welsh TJ, Gladman JR, Gordon AL. The treatment of hypertension in people with dementia: a systematic review of observational studies. *BMC Geriatr.* 2014;14(1):19.
41. Kehoe PG, Miners S, Love S. Angiotensins in Alzheimer's disease – friend or foe? *Trends Neurosci.* 2009 Dec;32(12):619–28.
42. Hajjar I, Rodgers K. Do angiotensin receptor blockers prevent Alzheimer's disease?: *Curr Opin Cardiol.* 2013 Jul;28(4):417–25.
43. Kurinami H, Shimamura M, Sato N, Nakagami H, Morishita R. Do Angiotensin Receptor Blockers Protect Against Alzheimer's Disease? *Drugs Aging.* 2013 Jun;30(6):367–72.
44. Yasar S, Xia J, Yao W, Furberg CD, Xue QL, Mercado CI, et al. Antihypertensive drugs decrease risk of Alzheimer disease: Ginkgo Evaluation of Memory Study. *Neurology.* 2013 Sep 3;81(10):896–903.
45. Kehoe PG, Passmore PA. The Renin-Angiotensin System and Antihypertensive Drugs in Alzheimer's Disease: Current Standing of the Angiotensin Hypothesis? Frisardi V, Imbimbo B, editors. *J Alzheimers Dis.* 2012 Jun 8;30(s2):S251–68.
46. Furiya Y, Ryo M, Kawahara M, Kiriyama T, Morikawa M, Ueno S. Renin-angiotensin system blockers affect cognitive decline and serum adipocytokines in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2013 Sep;9(5):512–8.
47. James BD, Bennett DA. Causes and Patterns of Dementia: An Update in the Era of Redefining Alzheimer's Disease. *Annu Rev Public Health.* 2019 Apr 1;40(1):65–84.
48. O'Brien C, Auguste D. and Alzheimer's Disease. *Science.* 1996 Jul 5;273(5271):28–28.
49. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Public Health.* 2022 Jan 6;7(2):e105–25.
50. Alzheimer's Disease Facts and Figures [Internet]. Alzheimer's Disease and Dementia. [cited 2022 Oct 16]. Available from: <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/facts-figures>
51. Nichols E, Szeke CEI, Vollset SE, Abbasi N, Abd-Allah F, Abdela J, et al. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other

- dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol*. 2019 Jan 1;18(1):88–106.
52. eyhgm_istatistik_bulteni_subat_2022.pdf [Internet]. [cited 2022 Oct 16]. Available from: https://www.aile.gov.tr/media/102557/eyhgm_istatistik_bulteni_subat_2022.pdf
 53. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1991;82(4):239–59.
 54. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1991;82(4):239–59.
 55. McGeer P, McGeer E. The inflammatory response system of brain: implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases. *Brain Res Rev*. 1995 Sep;21(2):195–218.
 56. Du X, Wang X, Geng M. Alzheimer's disease hypothesis and related therapies. *Transl Neurodegener*. 2018 Jan 30;7(1):2.
 57. Soria Lopez JA, González HM, Léger GC. Alzheimer's disease. *Handb Clin Neurol*. 2019;167:231–55.
 58. Harris ME, Hensley K, Butterfield DA, Leedle RA, Carney JM. Direct evidence of oxidative injury produced by the Alzheimer's beta-amyloid peptide (1-40) in cultured hippocampal neurons. *Exp Neurol*. 1995 Feb;131(2):193–202.
 59. McGeer PL, McGeer EG. The amyloid cascade-inflammatory hypothesis of Alzheimer disease: implications for therapy. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2013 Oct;126(4):479–97.
 60. Mecocci P, Boccardi V, Cecchetti R, Bastiani P, Scamosci M, Ruggiero C, et al. A Long Journey into Aging, Brain Aging, and Alzheimer's Disease Following the Oxidative Stress Tracks1. Perry G, Avila J, Tabaton M, Zhu X, editors. *J Alzheimers Dis*. 2018 Mar 13;62(3):1319–35.
 61. Kim TS, Pae CU, Yoon SJ, Jang WY, Lee NJ, Kim JJ, et al. Decreased plasma antioxidants in patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2006 Apr;21(4):344–8.
 62. Zhu X, Raina AK, Lee HG, Casadesus G, Smith MA, Perry G. Oxidative stress signalling in Alzheimer's disease. *Brain Res*. 2004 Mar 12;1000(1–2):32–9.
 63. Butterfield DA, Boyd-Kimball D. Oxidative Stress, Amyloid- β Peptide, and Altered Key Molecular Pathways in the Pathogenesis and Progression of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2018 Jan 1;62(3):1345–67.
 64. Kim GH, Kim JE, Rhie SJ, Yoon S. The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Exp Neurobiol*. 2015 Dec;24(4):325–40.

65. Padurariu M, Ciobica A, Lefter R, Serban IL, Stefanescu C, Chirita R. The oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Psychiatr Danub*. 2013 Dec;25(4):401–9.
66. Dasuri K, Zhang L, Keller JN. Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. *Free Radic Biol Med*. 2013 Sep;62:170–85.
67. Nunomura A, Perry G, Aliev G, Hirai K, Takeda A, Balraj EK, et al. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001 Aug;60(8):759–67.
68. Ansari MA, Scheff SW. Oxidative stress in the progression of Alzheimer disease in the frontal cortex. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2010 Feb;69(2):155–67.
69. Srivastava S, Ahmad R, Khare SK. Alzheimer's disease and its treatment by different approaches: A review. *Eur J Med Chem*. 2021 Apr 15;216:113320.
70. Bernaus A, Blanco S, Sevilla A. Glia Crosstalk in Neuroinflammatory Diseases. *Front Cell Neurosci*. 2020;14:209.
71. Cai Z, Hussain MD, Yan LJ. Microglia, neuroinflammation, and beta-amyloid protein in Alzheimer's disease. *Int J Neurosci*. 2014 May;124(5):307–21.
72. Griendling KK, Murphy TJ, Alexander RW. Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Circulation*. 1993;87(6):1816–28.
73. Vajapey R, Rini D, Walston J, Abadir P. The impact of age-related dysregulation of the angiotensin system on mitochondrial redox balance. *Front Physiol* [Internet]. 2014 Nov 24 [cited 2020 Apr 8];5. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2014.00439/abstract>
74. Unger T, Chung O, Csikos T, Culman J, Gallinat S, Gohlke P, et al. Angiotensin receptors. *J Hypertens Suppl Off J Int Soc Hypertens*. 1996 Dec;14(5):S95-103.
75. Dzau VJ. Tissue renin-angiotensin system: physiologic and pharmacologic implications. Introduction. *Circulation*. 1988 Jun;77(6 Pt 2):11-3.
76. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev*. 2006 Jul;86(3):747–803.
77. Ganten D, Marquez-Julio A, Granger P, Hayduk K, Karsunky KP, Boucher R, et al. Renin in dog brain. *Am J Physiol*. 1971 Dec;221(6):1733–7.
78. Wright JW, Harding JW. The brain renin–angiotensin system: a diversity of functions and implications for CNS diseases. *Pflüg Arch - Eur J Physiol*. 2013 Jan;465(1):133–51.

79. Saavedra JM. Brain Angiotensin II: New Developments, Unanswered Questions and Therapeutic Opportunities. *Cell Mol Neurobiol.* 2005 Jun 1;25(3):485–512.
80. Grobe JL, Xu D, Sigmund CD. An intracellular renin-angiotensin system in neurons: fact, hypothesis, or fantasy. *Physiol Bethesda Md.* 2008 Aug;23:187–93.
81. Lenkei Z, Palkovits M, Corvol P, Llorens-Cortès C. Expression of angiotensin type-1 (AT1) and type-2 (AT2) receptor mRNAs in the adult rat brain: a functional neuroanatomical review. *Front Neuroendocrinol.* 1997 Oct;18(4):383–439.
82. Gao L, Zucker IH. AT2 receptor signaling and sympathetic regulation. *Curr Opin Pharmacol.* 2011 Apr;11(2):124–30.
83. Harding JW, Sullivan MJ, Hanesworth JM, Cushing LL, Wright JW. Inability of [¹²⁵I]Sar1, Ile⁸-Angiotensin II to Move Between the Blood and Cerebrospinal Fluid Compartments. *J Neurochem.* 1988;50(2):554–7.
84. Hermann K, Raizada MK, Summers C, Phillips MI. Presence of renin in primary neuronal and glial cells from rat brain. *Brain Res.* 1987 Dec 29;437(2):205–13.
85. Fuxe K, Ganten D, Hökfelt T, Locatelli V, Poulsen K, Stock G, et al. Renin-like immunocytochemical activity in the rat and mouse brain. *Neurosci Lett.* 1980 Jul 1;18(3):245–50.
86. Shinohara Keisuke, Nakagawa Pablo, Gomez Javier, Morgan Donald A., Littlejohn Nicole K., Folchert Matthew D., et al. Selective Deletion of Renin-b in the Brain Alters Drinking and Metabolism. *Hypertension.* 2017 Nov 1;70(5):990–7.
87. Stornetta RL, Hawelu-Johnson CL, Guyenet PG, Lynch KR. Astrocytes synthesize angiotensinogen in brain. *Science.* 1988 Dec 9;242(4884):1444–6.
88. Milsted A, Barna BP, Ransohoff RM, Brosnihan KB, Ferrario CM. Astrocyte cultures derived from human brain tissue express angiotensinogen mRNA. *Proc Natl Acad Sci.* 1990 Aug 1;87(15):5720–3.
89. Cosarderelioglu C, Nidadavolu L, George C, Oh E, Bennett DA, Walston JD, et al. Brain Renin-Angiotensin System at the Intersect of Physical and Cognitive Frailty. *Front Neurosci* [Internet]. 2020 [cited 2020 Sep 25];14. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2020.586314/abstract>
90. Jackson L, Eldahshan W, Fagan S, Ergul A. Within the Brain: The Renin Angiotensin System. *Int J Mol Sci.* 2018 Mar 15;19(3):876.

91. Jiang T, Gao L, Lu J, Zhang YD. ACE2-Ang-(1-7)-Mas Axis in Brain: A Potential Target for Prevention and Treatment of Ischemic Stroke. *Curr Neuropharmacol*. 2013 Mar;11(2):209–17.
92. Miura S ichiro, Imaizumi S, Saku K. Recent progress in molecular mechanisms of angiotensin II type 1 and 2 receptors. *Curr Pharm Des*. 2013;19(17):2981–7.
93. de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev*. 2000 Sep;52(3):415–72.
94. Zhang H, Han GW, Batyuk A, Ishchenko A, White KL, Patel N, et al. Structural basis for selectivity and diversity in angiotensin II receptors. *Nature*. 2017 20;544(7650):327–32.
95. Garrido-Gil P, Rodriguez-Perez AI, Fernandez-Rodriguez P, Lanciego JL, Labandeira-Garcia JL. Expression of angiotensinogen and receptors for angiotensin and prorenin in the rat and monkey striatal neurons and glial cells. *Brain Struct Funct*. 2017 Aug 1;222(6):2559–71.
96. Sumners C, Alleyne A, Rodríguez V, Pioquinto DJ, Ludin JA, Kar S, et al. Brain angiotensin type-1 and type-2 receptors: cellular locations under normal and hypertensive conditions. *Hypertens Res*. 2020 Apr;43(4):281–95.
97. Abadir PM. The Frail Renin-Angiotensin System. *Clin Geriatr Med*. 2011 Feb;27(1):53–65.
98. Abadir PM, Foster DB, Crow M, Cooke CA, Rucker JJ, Jain A, et al. Identification and characterization of a functional mitochondrial angiotensin system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Sep 6;108(36):14849–54.
99. Steckelings UM, Widdop RE, Paulis L, Unger T. The angiotensin AT2 receptor in left ventricular hypertrophy. *J Hypertens*. 2010;28:S50–5.
100. Carey Robert M., Howell Nancy L., Jin Xiao-Hong, Siragy Helmy M. Angiotensin Type 2 Receptor-Mediated Hypotension in Angiotensin Type-1 Receptor-Blocked Rats. *Hypertension*. 2001 Dec 1;38(6):1272–7.
101. Zawada WM, Mrak RE, Biedermann J, Palmer QD, Gentleman SM, Aboud O, et al. Loss of angiotensin II receptor expression in dopamine neurons in Parkinson's disease correlates with pathological progression and is accompanied by increases in Nox4- and 8-OH guanosine-related nucleic acid oxidation and caspase-3 activation. *Acta Neuropathol Commun* [Internet]. 2015 Feb 3 [cited 2020 May 8];3. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4359535/>
102. Villar-Cheda B, Costa-Besada MA, Valenzuela R, Perez-Costas E, Melendez-Ferro M, Labandeira-Garcia JL. The intracellular angiotensin system buffers deleterious effects of the extracellular paracrine system. *Cell Death Dis*. 2017 07;8(9):e3044.

103. Knowles WD, Phillips MI. Angiotensin II responsive cells in the organum vasculosum lamina terminalis (OVLT) recorded in hypothalamic brain slices. *Brain Res.* 1980 Sep;197(1):256–9.
104. Sumners C, Fleegal MA, Zhu M. Angiotensin At1 Receptor Signalling Pathways In Neurons. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2002;29(5–6):483–90.
105. Stadler T, Veltmar A, Qadri F, Unger T. Angiotensin II evokes noradrenaline release from the paraventricular nucleus in conscious rats. *Brain Res.* 1992 Jan 8;569(1):117–22.
106. Medelsohn FAO, Jenkins TA, Berkovic SF. Effects of angiotensin II on dopamine and serotonin turnover in the striatum of conscious rats. *Brain Res.* 1993 Jun 11;613(2):221–9.
107. Tsuda K. Renin-Angiotensin System and Sympathetic Neurotransmitter Release in the Central Nervous System of Hypertension. *Int J Hypertens* [Internet]. 2012;2012. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3512297/>
108. Tedesco A, Ally A. Angiotensin II type-2 (AT2) receptor antagonism alters cardiovascular responses to static exercise and simultaneously changes glutamate/GABA levels within the ventrolateral medulla. *Neurosci Res.* 2009 Aug;64(4):372–9.
109. Fujita T, Hirooka K, Nakamura T, Itano T, Nishiyama A, Nagai Y, et al. Neuroprotective Effects of Angiotensin II Type 1 Receptor (AT1-R) Blocker via Modulating AT1-R Signaling and Decreased Extracellular Glutamate Levels. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012 Jun 1;53(7):4099–110.
110. Tsuda K. Renin-Angiotensin System and Sympathetic Neurotransmitter Release in the Central Nervous System of Hypertension. *Int J Hypertens* [Internet]. 2012;2012. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3512297/>
111. de Kloet AD, Pitra S, Wang L, Hiller H, Pioquinto DJ, Smith JA, et al. Angiotensin Type-2 Receptors Influence the Activity of Vasopressin Neurons in the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus in Male Mice. *Endocrinology.* 2016 Aug;157(8):3167–80.
112. Maul B, von Bohlen und Halbach O, Becker A, Sterner-Kock A, Voigt JP, Siems WE, et al. Impaired spatial memory and altered dendritic spine morphology in angiotensin II type 2 receptor-deficient mice. *J Mol Med Berl Ger.* 2008 May;86(5):563–71.
113. Mateos L, Perez-Alvarez MJ, Wandosell F. Angiotensin II type-2 receptor stimulation induces neuronal VEGF synthesis after cerebral ischemia. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1862(7):1297–308.

114. Pederson ES, Harding JW, Wright JW. Attenuation of scopolamine-induced spatial learning impairments by an angiotensin IV analog. *Regul Pept.* 1998 Jun 30;74(2–3):97–103.
115. Albiston AL, McDowall SG, Matsacos D, Sim P, Clune E, Mustafa T, et al. Evidence that the angiotensin IV (AT(4)) receptor is the enzyme insulin-regulated aminopeptidase. *J Biol Chem.* 2001 Dec 28;276(52):48623–6.
116. Albiston AL, Mustafa T, McDowall SG, Mendelsohn FAO, Lee J, Chai SY. AT4 receptor is insulin-regulated membrane aminopeptidase: potential mechanisms of memory enhancement. *Trends Endocrinol Metab TEM.* 2003 Mar;14(2):72–7.
117. Abrahão MV, dos Santos NFT, Kuwabara WMT, do Amaral FG, do Carmo Buonfiglio D, Peres R, et al. Identification of insulin-regulated aminopeptidase (IRAP) in the rat pineal gland and the modulation of melatonin synthesis by angiotensin IV. *Brain Res.* 2019 Feb 1;1704:40–6.
118. Singh KD, Karnik SS. Angiotensin Receptors: Structure, Function, Signaling and Clinical Applications. *J Cell Signal.* 2016 Jun;1(2).
119. Lew RA, Mustafa T, Ye S, McDowall SG, Chai SY, Albiston AL. Angiotensin AT4 ligands are potent, competitive inhibitors of insulin regulated aminopeptidase (IRAP). *J Neurochem.* 2003 Jul;86(2):344–50.
120. Fernando RN, Albiston AL, Chai SY. The insulin-regulated aminopeptidase IRAP is colocalised with GLUT4 in the mouse hippocampus – potential role in modulation of glucose uptake in neurones? *Eur J Neurosci.* 2008;28(3):588–98.
121. Wright JW, Harding JW. Brain renin-angiotensin--a new look at an old system. *Prog Neurobiol.* 2011 Sep 15;95(1):49–67.
122. Chai SY, Fernando R, Peck G, Ye SY, Mendelsohn FAO, Jenkins TA, et al. What's new in the renin-angiotensin system?: The angiotensin IV/AT4 receptor. *Cell Mol Life Sci.* 2004 Nov;61(21):2728–37.
123. Davis CJ, Kramár EA, De A, Meighan PC, Simasko SM, Wright JW, et al. AT4 receptor activation increases intracellular calcium influx and induces a non-N-methyl-d-aspartate dependent form of long-term potentiation. *Neuroscience.* 2006 Jan 1;137(4):1369–79.
124. De Bundel D, Smolders I, Yang R, Albiston AL, Michotte Y, Chai SY. Angiotensin IV and LVV-haemorphin 7 enhance spatial working memory in rats: effects on hippocampal glucose levels and blood flow. *Neurobiol Learn Mem.* 2009 Jul;92(1):19–26.
125. Albiston AL, Diwakarla S, Fernando RN, Mountford SJ, Yeatman HR, Morgan B, et al. Identification and development of specific inhibitors for insulin-regulated aminopeptidase as a new class of cognitive enhancers. *Br J Pharmacol.* 2011 Sep;164(1):37–47.

126. Mountford SJ, Albiston AL, Charman WN, Ng L, Holien JK, Parker MW, et al. Synthesis, structure-activity relationships and brain uptake of a novel series of benzopyran inhibitors of insulin-regulated aminopeptidase. *J Med Chem*. 2014 Feb 27;57(4):1368–77.
127. Ma PC, Maulik G, Christensen J, Salgia R. c-Met: Structure, functions and potential for therapeutic inhibition. *Cancer Metastasis Rev*. 2003;22(4):309–25.
128. Akimoto M, Baba A, Ikeda-Matsuo Y, Yamada MK, Itamura R, Nishiyama N, et al. Hepatocyte growth factor as an enhancer of nmda currents and synaptic plasticity in the hippocampus. *Neuroscience*. 2004 Jan 1;128(1):155–62.
129. Shimamura M, Sato N, Waguri S, Uchiyama Y, Hayashi T, Iida H, et al. Gene transfer of hepatocyte growth factor gene improves learning and memory in the chronic stage of cerebral infarction. *Hypertension*. 2006;47(4):742–51.
130. Tyndall SJ, Walikonis RS. Signaling by hepatocyte growth factor in neurons is induced by pharmacological stimulation of synaptic activity. *Synapse*. 2007;61(4):199–204.
131. Wright JW, Harding JW. The Brain Hepatocyte Growth Factor/c-Met Receptor System: A New Target for the Treatment of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis JAD*. 2015;45(4):985–1000.
132. Lee J, Chai SY, Mendelsohn FA, Morris MJ, Allen AM. Potentiation of cholinergic transmission in the rat hippocampus by angiotensin IV and LVV-hemorphin-7. *Neuropharmacology*. 2001 Mar;40(4):618–23.
133. Gard PR. Cognitive-enhancing effects of angiotensin IV. *BMC Neurosci*. 2008 Dec 3;9 Suppl 2:S15.
134. Sy C, Ma B, Ef C, Dj M, T M, Jh L, et al. Distribution of angiotensin IV binding sites (AT4 receptor) in the human forebrain, midbrain and pons as visualised by in vitro receptor autoradiography. *J Chem Neuroanat*. 2000 Dec 1;20(3–4):339–48.
135. Braszko JJ. D2 dopamine receptor blockade prevents cognitive effects of Ang IV and des-Phe6 Ang IV. *Physiol Behav*. 2006 Jun 15;88(1):152–9.
136. Wright JW, Harding JW. Brain renin-angiotensin--a new look at an old system. *Prog Neurobiol*. 2011 Sep 15;95(1):49–67.
137. Braszko JJ. Dopamine D4 receptor antagonist L745,870 abolishes cognitive effects of intracerebroventricular angiotensin IV and des-Phe(6)-Ang IV in rats. *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol*. 2009 Feb;19(2):85–91.
138. Fogarty DJ, Matute C. Angiotensin receptor-like immunoreactivity in adult brain white matter astrocytes and oligodendrocytes. *Glia*. 2001 Aug;35(2):131–46.

139. Garrido-Gil P, Valenzuela R, Villar-Cheda B, Lanciego JL, Labandeira-Garcia JL. Expression of angiotensinogen and receptors for angiotensin and prorenin in the monkey and human substantia nigra: an intracellular renin–angiotensin system in the nigra. *Brain Struct Funct*. 2013 Mar 1;218(2):373–88.
140. Greenland K, Wyse B, Sernia C. Identification and characterization of angiotensinIV binding sites in rat neurone and astrocyte cell cultures. *J Neuroendocrinol*. 1996 Sep;8(9):687–93.
141. Holownia A, Braszko JJ. The effect of angiotensin II and IV on ERK1/2 and CREB signalling in cultured rat astroglial cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2007 Nov;376(3):157–63.
142. Biancardi VC, Stern JE. Compromised blood–brain barrier permeability: novel mechanism by which circulating angiotensin II signals to sympathoexcitatory centres during hypertension. *J Physiol*. 2016 Mar 15;594(6):1591–600.
143. Guo S, Som AT, Arai K, Lo EH. Effects of angiotensin-II on brain endothelial cell permeability via PPARalpha regulation of para- and trans-cellular pathways. *Brain Res*. 2019 Nov 1;1722:146353.
144. Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. *Neuroscience: exploring the brain*. Fourth edition. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2016. 975 p.
145. Kigerl KA, Gensel JC, Ankeny DP, Alexander JK, Donnelly DJ, Popovich PG. Identification of Two Distinct Macrophage Subsets with Divergent Effects Causing either Neurotoxicity or Regeneration in the Injured Mouse Spinal Cord. *J Neurosci*. 2009 Oct 28;29(43):13435–44.
146. Heneka MT, Carson MJ, Khoury JE, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, et al. Neuroinflammation in Alzheimer’s disease. *Lancet Neurol*. 2015 Apr 1;14(4):388–405.
147. Tang Y, Le W. Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Mol Neurobiol*. 2016 Mar 1;53(2):1181–94.
148. Bernstein KE, Koronyo Y, Salumbides BC, Sheyn J, Pelissier L, Lopes DHJ, et al. Angiotensin-converting enzyme overexpression in myelomonocytes prevents Alzheimer’s-like cognitive decline. *J Clin Invest*. 2014 Mar;124(3):1000–12.
149. Biancardi VC, Stranahan AM, Krause EG, de Kloet AD, Stern JE. Cross talk between AT1 receptors and Toll-like receptor 4 in microglia contributes to angiotensin II-derived ROS production in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 2015 Dec 4;310(3):H404–15.
150. Fouda AY, Pillai B, Dhandapani KM, Ergul A, Fagan SC. Role of interleukin-10 in the neuroprotective effect of the Angiotensin Type 2 Receptor agonist, compound 21, after ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol*. 2017 Mar 15;799:128–34.

151. Liu M, Shi P, Summers C. Direct anti-inflammatory effects of angiotensin-(1-7) on microglia. *J Neurochem*. 2016 Jan;136(1):163–71.
152. Valero-Esquitino V, Lucht K, Namsolleck P, Monnet-Tschudi F, Stubbe T, Lucht F, et al. Direct angiotensin type 2 receptor (AT2R) stimulation attenuates T-cell and microglia activation and prevents demyelination in experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 2015 Jan;128(2):95–109.
153. Barnham KJ, Masters CL, Bush AI. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat Rev Drug Discov*. 2004 Mar;3(3):205–14.
154. Chandel NS, McClintock DS, Feliciano CE, Wood TM, Melendez JA, Rodriguez AM, et al. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1alpha during hypoxia: a mechanism of O2 sensing. *J Biol Chem*. 2000 Aug 18;275(33):25130–8.
155. Massaad CA, Klann E. Reactive Oxygen Species in the Regulation of Synaptic Plasticity and Memory. *Antioxid Redox Signal*. 2011 May 15;14(10):2013–54.
156. Chandel NS. Mitochondria as signaling organelles. *BMC Biol*. 2014 May 27;12(1):34.
157. Li H, Horke S, Förstermann U. Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention. *Trends Pharmacol Sci*. 2013 Jun;34(6):313–9.
158. Babior BM. NADPH oxidase. *Curr Opin Immunol*. 2004 Feb 1;16(1):42–7.
159. Cai Hua. NAD(P)H Oxidase–Dependent Self-Propagation of Hydrogen Peroxide and Vascular Disease. *Circ Res*. 2005 Apr 29;96(8):818–22.
160. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002 Jan;82(1):47–95.
161. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol*. 2003 Oct 15;552(Pt 2):335–44.
162. Dasuri K, Zhang L, Keller JN. Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. *Free Radic Biol Med*. 2013 Sep;62:170–85.
163. Gao HM, Zhou H, Hong JS. Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegeneration. In: Peterson PK, Toborek M, editors. *Neuroinflammation and Neurodegeneration* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2014. p. 81–104. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1071-7_5
164. Grune T, Jung T, Merker K, Davies KJA. Decreased proteolysis caused by protein aggregates, inclusion bodies, plaques, lipofuscin, ceroid, and “aggresomes” during oxidative stress, aging, and disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2004 Dec;36(12):2519–30.

165. Miller FJ, Filali M, Huss GJ, Stanic B, Chamseddine A, Barna TJ, et al. Cytokine activation of nuclear factor kappa B in vascular smooth muscle cells requires signaling endosomes containing Nox1 and Clc-3. *Circ Res.* 2007 Sep 28;101(7):663–71.
166. Chan Samuel H.H., Hsu Kuei-Sen, Huang Chiung-Chun, Wang Ling-Lin, Ou Chen-Chun, Chan Julie Y.H. NADPH Oxidase–Derived Superoxide Anion Mediates Angiotensin II–Induced Pressor Effect via Activation of p38 Mitogen–Activated Protein Kinase in the Rostral Ventrolateral Medulla. *Circ Res.* 2005 Oct 14;97(8):772–80.
167. Girouard H, Park L, Anrather J, Zhou P, Iadecola C. Angiotensin II attenuates endothelium-dependent responses in the cerebral microcirculation through nox-2-derived radicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 Apr;26(4):826–32.
168. Chrissobolis S, Banfi B, Sobey CG, Faraci FM. Role of Nox isoforms in angiotensin II-induced oxidative stress and endothelial dysfunction in brain. *J Appl Physiol.* 2012 Jul 15;113(2):184–91.
169. Wang G. NADPH Oxidase Contributes to Angiotensin II Signaling in the Nucleus Tractus Solitarius. *J Neurosci.* 2004 Jun 16;24(24):5516–24.
170. Hongpaisan J, Winters CA, Andrews SB. Strong calcium entry activates mitochondrial superoxide generation, upregulating kinase signaling in hippocampal neurons. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 2004 Dec 1;24(48):10878–87.
171. Kimura S, Zhang GX, Nishiyama A, Shokoji T, Yao L, Fan YY, et al. Role of NAD(P)H oxidase- and mitochondria-derived reactive oxygen species in cardioprotection of ischemic reperfusion injury by angiotensin II. *Hypertens Dallas Tex 1979.* 2005 May;45(5):860–6.
172. Abadir PM, Walston JD, Carey RM. Subcellular characteristics of functional intracellular renin–angiotensin systems. *Peptides.* 2012 Dec;38(2):437–45.
173. Valenzuela R, Costa-Besada MA, Iglesias-Gonzalez J, Perez-Costas E, Villar-Cheda B, Garrido-Gil P, et al. Mitochondrial angiotensin receptors in dopaminergic neurons. Role in cell protection and aging-related vulnerability to neurodegeneration. *Cell Death Dis.* 2016 Oct;7(10):e2427–e2427.
174. Villar-Cheda B, Costa-Besada MA, Valenzuela R, Perez-Costas E, Melendez-Ferro M, Labandeira-Garcia JL. The intracellular angiotensin system buffers deleterious effects of the extracellular paracrine system. *Cell Death Dis.* 2017 07;8(9):e3044.
175. Costa-Besada MA, Valenzuela R, Garrido-Gil P, Villar-Cheda B, Parga JA, Lanciego JL, et al. Paracrine and Intracrine Angiotensin 1-7/Mas Receptor Axis in the Substantia Nigra of Rodents, Monkeys, and Humans. *Mol Neurobiol.* 2018 Jul;55(7):5847–67.

176. Villar-Cheda B, Rodríguez-Pallares J, Valenzuela R, Muñoz A, Guerra MJ, Baltatu OC, et al. Nigral and striatal regulation of angiotensin receptor expression by dopamine and angiotensin in rodents: implications for progression of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci*. 2010;32(10):1695–706.
177. Esposito L, Raber J, Kekonius L, Yan F, Yu GQ, Bien-Ly N, et al. Reduction in mitochondrial superoxide dismutase modulates Alzheimer's disease-like pathology and accelerates the onset of behavioral changes in human amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2006 May 10;26(19):5167–79.
178. Murakami K, Murata N, Noda Y, Tahara S, Kaneko T, Kinoshita N, et al. SOD1 (copper/zinc superoxide dismutase) deficiency drives amyloid β protein oligomerization and memory loss in mouse model of Alzheimer disease. *J Biol Chem*. 2011 Dec 30;286(52):44557–68.
179. Chen H, Yoshioka H, Kim GS, Jung JE, Okami N, Sakata H, et al. Oxidative stress in ischemic brain damage: mechanisms of cell death and potential molecular targets for neuroprotection. *Antioxid Redox Signal*. 2011 Apr 15;14(8):1505–17.
180. Celsi F, Ferri A, Casciati A, D'Ambrosi N, Rotilio G, Costa A, et al. Overexpression of superoxide dismutase 1 protects against beta-amyloid peptide toxicity: effect of estrogen and copper chelators. *Neurochem Int*. 2004 Jan;44(1):25–33.
181. Bechara RI, Pelaez A, Palacio A, Joshi PC, Hart CM, Brown LAS, et al. Angiotensin II mediates glutathione depletion, transforming growth factor-beta1 expression, and epithelial barrier dysfunction in the alcoholic rat lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005 Sep;289(3):L363-370.
182. Rodriguez-Iturbe B, Sepassi L, Quiroz Y, Ni Z, Wallace DC, Vaziri ND. Association of mitochondrial SOD deficiency with salt-sensitive hypertension and accelerated renal senescence. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 2007 Jan;102(1):255–60.
183. Xiong S, Salazar G, San Martin A, Ahmad M, Patrushev N, Hilenski L, et al. PGC-1 alpha serine 570 phosphorylation and GCN5-mediated acetylation by angiotensin II drive catalase down-regulation and vascular hypertrophy. *J Biol Chem*. 2010 Jan 22;285(4):2474–87.
184. Sian J, Dexter DT, Lees AJ, Daniel S, Agid Y, Javoy-Agid F, et al. Alterations in glutathione levels in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders affecting basal ganglia. *Ann Neurol*. 1994 Sep;36(3):348–55.
185. Kumar H, Lim HW, More SV, Kim BW, Koppula S, Kim IS, et al. The role of free radicals in the aging brain and Parkinson's Disease: convergence and parallelism. *Int J Mol Sci*. 2012;13(8):10478–504.

186. Garrido-Gil P, Rodriguez-Pallares J, Dominguez-Meijide A, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. Brain angiotensin regulates iron homeostasis in dopaminergic neurons and microglial cells. *Exp Neurol*. 2013 Dec;250:384–96.
187. Zawada WM, Mrak RE, Biedermann J, Palmer QD, Gentleman SM, About O, et al. Loss of angiotensin II receptor expression in dopamine neurons in Parkinson's disease correlates with pathological progression and is accompanied by increases in Nox4- and 8-OH guanosine-related nucleic acid oxidation and caspase-3 activation. *Acta Neuropathol Commun*. 2015 Feb 3;3:9.
188. Ou Z, Jiang T, Gao Q, Tian YY, Zhou JS, Wu L, et al. Mitochondrial-dependent mechanisms are involved in angiotensin II-induced apoptosis in dopaminergic neurons. *J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst JRAAS*. 2016 Oct;17(4).
189. Gao HM, Zhou H, Hong JS. NADPH oxidases: novel therapeutic targets for neurodegenerative diseases. *Trends Pharmacol Sci*. 2012 Jun;33(6):295–303.
190. Qin L, Liu Y, Wang T, Wei SJ, Block ML, Wilson B, et al. NADPH Oxidase Mediates Lipopolysaccharide-induced Neurotoxicity and Proinflammatory Gene Expression in Activated Microglia. *J Biol Chem*. 2004 Jan 9;279(2):1415–21.
191. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev*. 2000 Nov;32(3–4):307–26.
192. Shulaev V, Oliver DJ. Metabolic and Proteomic Markers for Oxidative Stress. New Tools for Reactive Oxygen Species Research. *Plant Physiol*. 2006 Jun 1;141(2):367–72.
193. Vowinckel E, Reutens D, Becher B, Verge G, Evans A, Owens T, et al. PK11195 binding to the peripheral benzodiazepine receptor as a marker of microglia activation in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurosci Res*. 1997;50(2):345–53.
194. Choi SH, Aid S, Kim HW, Jackson SH, Bosetti F. Inhibition of NADPH oxidase promotes alternative and anti-inflammatory microglial activation during neuroinflammation. *J Neurochem*. 2012;120(2):292–301.
195. Saavedra JM. Beneficial effects of Angiotensin II receptor blockers in brain disorders. *Pharmacol Res*. 2017 Nov;125:91–103.
196. Winklewski PJ, Radkowski M, Wszedybyl-Winklewska M, Demkow U. Brain inflammation and hypertension: the chicken or the egg? *J Neuroinflammation*. 2015 May 3;12:85.
197. Takane K, Hasegawa Y, Lin B, Koibuchi N, Cao C, Yokoo T, et al. Detrimental Effects of Centrally Administered Angiotensin II are Enhanced in a Mouse Model of Alzheimer Disease Independently of Blood Pressure. *J Am Heart*

- Assoc Cardiovasc Cerebrovasc Dis [Internet]. 2017 Apr 20 [cited 2020 May 11];6(4). Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5533006/>
198. Gowrisankar YV, Clark MA. Angiotensin II induces interleukin-6 expression in astrocytes: Role of reactive oxygen species and NF- κ B. *Mol Cell Endocrinol*. 2016 05;437:130–41.
 199. Royea J, Zhang L, Tong XK, Hamel E. Angiotensin IV Receptors Mediate the Cognitive and Cerebrovascular Benefits of Losartan in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci*. 2017 May 31;37(22):5562–73.
 200. McGeer PL, McGeer EG. The amyloid cascade-inflammatory hypothesis of Alzheimer disease: implications for therapy. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2013 Oct;126(4):479–97.
 201. Denver P, McClean P. Distinguishing normal brain aging from the development of Alzheimer's disease: inflammation, insulin signaling and cognition. *Neural Regen Res*. 2018;13(10):1719.
 202. Yasar S, Kd M, A A, F Z, Yf C, Vr V, et al. Angiotensin II Blood Levels Are Associated With Smaller Hippocampal and Cortical Volumes in Cognitively Normal Older Adults [Internet]. *Journal of Alzheimer's disease : JAD. J Alzheimers Dis*; 2020 [cited 2020 May 19]. Available from:
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32280103/?from_term=angiotensin+alzheimer&from_filter=ds1.y_5&from_sort=date&from_pos=4
 203. Zhu D, Shi J, Zhang Y, Wang B, Liu W, Chen Z, et al. Central angiotensin II stimulation promotes β amyloid production in Sprague Dawley rats. *PloS One*. 2011 Jan 28;6(1):e16037.
 204. de la Torre JC, Mussivand T. Can disturbed brain microcirculation cause Alzheimer's disease? *Neurol Res*. 1993 Jun;15(3):146–53.
 205. de la Torre J.C. Alzheimer Disease as a Vascular Disorder. *Stroke*. 2002 Apr 1;33(4):1152–62.
 206. Pires PW, Dams Ramos CM, Matin N, Dorrance AM. The effects of hypertension on the cerebral circulation. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 2013 Jun 15;304(12):H1598–614.
 207. Iadecola C, Davisson RL. Hypertension and cerebrovascular dysfunction. *Cell Metab*. 2008 Jun;7(6):476–84.
 208. Miners JS, van Helmond Z, Raiker M, Love S, Kehoe PG. ACE variants and association with brain A β levels in Alzheimer's disease. *Am J Transl Res*. 2011 Jan 1;3(1):73–80.

209. Ho JK, Nation DA. Cognitive benefits of angiotensin IV and angiotensin-(1–7): A systematic review of experimental studies. *Neurosci Biobehav Rev*. 2018 Sep 1;92:209–25.
210. Barnes J, Barnes N, Costall B, Coughlan J, Kelly M, Naylor R, et al. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition, Angiotensin, and Cognition. *J Cardiovasc Pharmacol* [Internet]. 1992 [cited 2020 Apr 28];19. Available from: insights.ovid.com
211. Tota S, Goel R, Pachauri SD, Rajasekar N, Najmi AK, Hanif K, et al. Effect of angiotensin II on spatial memory, cerebral blood flow, cholinergic neurotransmission, and brain derived neurotrophic factor in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2013 Mar;226(2):357–69.
212. Lee J, Chai SY, Mendelsohn FAO, Morris MJ, Allen AM. Potentiation of cholinergic transmission in the rat hippocampus by angiotensin IV and LVV-hemorphin-7. *Neuropharmacology*. 2001 Mar 1;40(4):618–23.
213. Lew RA, Mustafa T, Ye S, McDowall SG, Chai SY, Albiston AL. Angiotensin AT4 ligands are potent, competitive inhibitors of insulin regulated aminopeptidase (IRAP). *J Neurochem*. 2003 Jul;86(2):344–50.
214. Stragier B, Sarre S, Vanderheyden P, Vauquelin G, Fournié-Zaluski MC, Ebinger G, et al. Metabolism of angiotensin II is required for its in vivo effect on dopamine release in the striatum of the rat. *J Neurochem*. 2004;90(5):1251–7.
215. Davis CJ, Kramár EA, De A, Meighan PC, Simasko SM, Wright JW, et al. AT4 receptor activation increases intracellular calcium influx and induces a non-N-methyl-d-aspartate dependent form of long-term potentiation. *Neuroscience*. 2006 Jan 1;137(4):1369–79.
216. Tomizawa K, Iga N, Lu YF, Moriwaki A, Matsushita M, Li ST, et al. Oxytocin improves long-lasting spatial memory during motherhood through MAP kinase cascade. *Nat Neurosci*. 2003;6(4):384–90.
217. Bielsky IF, Hu SB, Ren X, Terwilliger EF, Young LJ. The V1a Vasopressin Receptor Is Necessary and Sufficient for Normal Social Recognition: A Gene Replacement Study. *Neuron*. 2005 Aug 18;47(4):503–13.
218. Kehoe PG. The Coming of Age of the Angiotensin Hypothesis in Alzheimer’s Disease: Progress Toward Disease Prevention and Treatment? *J Alzheimers Dis JAD*. 2018;62(3):1443–66.
219. Wright JW, Harding JW. Contributions by the Brain Renin-Angiotensin System to Memory, Cognition, and Alzheimer’s Disease. *J Alzheimers Dis*. 2019 Jan 22;67(2):469–80.

220. Düsing R. Pharmacological interventions into the renin–angiotensin system with ACE inhibitors and angiotensin II receptor antagonists: effects beyond blood pressure lowering. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2016;10(3):151–61.
221. Fournier A, Messerli FH, Achard JM, Fernandez L. Cerebroprotection mediated by angiotensin II: a hypothesis supported by recent randomized clinical trials. *J Am Coll Cardiol.* 2004 Apr 21;43(8):1343–7.
222. Anderson C, Teo K, Gao P, Arima H, Dans A, Unger T, et al. Renin-angiotensin system blockade and cognitive function in patients at high risk of cardiovascular disease: analysis of data from the ONTARGET and TRANSCEND studies. *Lancet Neurol.* 2011 Jan;10(1):43–53.
223. Riccioni G. The role of direct renin inhibitors in the treatment of the hypertensive diabetic patient. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2013 Oct;4(5):139–45.
224. Gebre AK, Altaye BM, Atey TM, Tuem KB, Berhe DF. Targeting Renin–Angiotensin System Against Alzheimer’s Disease. *Front Pharmacol* [Internet]. 2018 Apr 30 [cited 2020 Apr 8];9. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2018.00440/full>
225. Lebouvier T, Chen Y, Duriez P, Pasquier F, Bordet R. Antihypertensive agents in Alzheimer’s disease: beyond vascular protection. *Expert Rev Neurother.* 2020 Feb;20(2):175–87.
226. Tracy HA, Wayner MJ, Armstrong DL. Losartan improves the performance of ethanol-intoxicated rats in an eight-arm radial maze. *Alcohol Fayettev N.* 1997 Oct;14(5):511–7.
227. Raghavendra V, Chopra K, Kulkarni SK. Involvement of cholinergic system in losartan-induced facilitation of spatial and short-term working memory. *Neuropeptides.* 1998 Oct;32(5):417–21.
228. Royea Jessika, Lacalle-Aurioles Maria, Trigiani Lianne J, Fermigier Alice, Hamel Edith. AT2R’s (Angiotensin II Type 2 Receptor’s) Role in Cognitive and Cerebrovascular Deficits in a Mouse Model of Alzheimer Disease. *Hypertension.* 2020 Jun 1;75(6):1464–74.
229. Torika N, Asraf K, Danon A, Apte RN, Fleisher-Berkovich S. Telmisartan Modulates Glial Activation: In Vitro and In Vivo Studies. *PloS One.* 2016;11(5):e0155823.
230. Danielyan L, Klein R, Hanson LR, Buadze M, Schwab M, Gleiter CH, et al. Protective Effects of Intranasal Losartan in the APP/PS1 Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease. *Rejuvenation Res.* 2010 Apr 1;13(2–3):195–201.
231. Tian M, Zhu D, Xie W, Shi J. Central angiotensin II-induced Alzheimer-like tau phosphorylation in normal rat brains. *FEBS Lett.* 2012 Oct 19;586(20):3737–45.

232. Zhao W, Wang J, Ho L, Ono K, Teplow DB, Pasinetti GM. Identification of antihypertensive drugs which inhibit amyloid-beta protein oligomerization. *J Alzheimers Dis JAD*. 2009;16(1):49–57.
233. Wang J, Ho L, Chen L, Zhao Z, Zhao W, Qian X, et al. Valsartan lowers brain β -amyloid protein levels and improves spatial learning in a mouse model of Alzheimer disease. *J Clin Invest*. 2007 Nov 1;117(11):3393–402.
234. Takeda S, Sato N, Takeuchi D, Kurinami H, Shinohara M, Niisato K, et al. Angiotensin receptor blocker prevented beta-amyloid-induced cognitive impairment associated with recovery of neurovascular coupling. *Hypertens Dallas Tex 1979*. 2009 Dec;54(6):1345–52.
235. Ongali B, Nicolakakis N, Tong XK, Aboukassim T, Papadopoulos P, Rosa-Neto P, et al. Angiotensin II type 1 receptor blocker losartan prevents and rescues cerebrovascular, neuropathological and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model. *Neurobiol Dis*. 2014 Aug;68:126–36.
236. Heneka MT, Landreth GE, Hüll M. Drug insight: effects mediated by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in CNS disorders. *Nat Clin Pract Neurol*. 2007 Sep;3(9):496–504.
237. Tedesco MA, Ratti G, Mennella S, Manzo G, Grieco M, Rainone AC, et al. Comparison of losartan and hydrochlorothiazide on cognitive function and quality of life in hypertensive patients. *Am J Hypertens*. 1999 Nov 1;12(11):1130–4.
238. Skoog I, Lithell H, Hansson L, Elmfeldt D, Hofman A, Olofsson B, et al. Effect of baseline cognitive function and antihypertensive treatment on cognitive and cardiovascular outcomes: Study on COgnition and Prognosis in the Elderly (SCOPE). *Am J Hypertens*. 2005 Aug;18(8):1052–9.
239. Hajjar I, Catoe H, Sixta S, Boland R, Johnson D, Hirth V, et al. Cross-Sectional and Longitudinal Association Between Antihypertensive Medications and Cognitive Impairment in an Elderly Population. *J Gerontol Ser A*. 2005 Jan 1;60(1):67–73.
240. Li NC, Lee A, Whitmer RA, Kivipelto M, Lawler E, Kazis LE, et al. Use of angiotensin receptor blockers and risk of dementia in a predominantly male population: prospective cohort analysis. *BMJ [Internet]*. 2010 Jan 13 [cited 2020 May 25];340. Available from: <https://www.bmj.com/content/340/bmj.b5465>
241. Yasar S, Xia J, Yao W, Furberg CD, Xue QL, Mercado CI, et al. Antihypertensive drugs decrease risk of Alzheimer disease: Ginkgo Evaluation of Memory Study. *Neurology*. 2013 Sep 3;81(10):896–903.
242. Zhuang S, Wang HF, Wang X, Li J, Xing CM. The association of renin-angiotensin system blockade use with the risks of cognitive impairment of

- aging and Alzheimer's disease: A meta-analysis. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas*. 2016 Nov;33:32–8.
243. Barthold D, Joyce G, Brinton RD, Wharton W, Kehoe PG, Zissimopoulos J. Association of combination statin and antihypertensive therapy with reduced Alzheimer's disease and related dementia risk. *PLOS ONE*. 2020 Mar 4;15(3):e0229541.
 244. Oscanoa TJ, Amado J, Vidal X, Romero-Ortuno R. Angiotensin-Receptor Blockers (ARBs) and risk of Alzheimer's Disease: A meta-analysis. *Curr Clin Pharmacol*. 2020 Jan 31;
 245. Kehoe PG, Blair PS, Howden B, Thomas DL, Malone IB, Horwood J, et al. The Rationale and Design of the Reducing Pathology in Alzheimer's Disease through Angiotensin TaRgeting (RADAR) Trial. *J Alzheimers Dis JAD*. 2018;61(2):803–14.
 246. Hajjar I. Candesartan's Effects on Alzheimer's Disease And Related Biomarkers [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2020 Feb [cited 2020 Jul 1]. Report No.: NCT02646982. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02646982>
 247. Kułakowska A, Karwowska W, Wiśniewski K, Braszko JJ. Losartan influences behavioural effects of angiotensin II in rats. *Pharmacol Res*. 1996 Oct;34(3–4):109–15.
 248. Lithell H, Hansson L, Skoog I, Elmfeldt D, Hofman A, Olofsson B, et al. The Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE): principal results of a randomized double-blind intervention trial. *J Hypertens*. 2003 May;21(5):875–86.
 249. Bennett DA, Schneider JA, Buchman AS, Mendes de Leon C, Bienias JL, Wilson RS. The Rush Memory and Aging Project: study design and baseline characteristics of the study cohort. *Neuroepidemiology*. 2005;25(4):163–75.
 250. A Bennett D, A Schneider J, S Buchman A, L Barnes L, A Boyle P, S Wilson R. Overview and findings from the rush Memory and Aging Project. *Curr Alzheimer Res*. 2012;9(6):646–63.
 251. Bennett DA, Schneider JA, Buchman AS, Barnes LL, Boyle PA, Wilson RS. Overview and Findings from the Rush Memory and Aging Project. *Curr Alzheimer Res*. 2012 Jul 1;9(6):646–63.
 252. Penna I, Vella S, Gigoni A, Russo C, Cancedda R, Pagano A. Selection of Candidate Housekeeping Genes for Normalization in Human Postmortem Brain Samples. *Int J Mol Sci*. 2011 Aug 26;12(9):5461–70.
 253. Preacher KJ, Hayes AF. SPSS and SAS procedures for estimating indirect effects in simple mediation models. *Behav Res Methods Instrum Comput*. 2004 Nov 1;36(4):717–31.

254. Chow BSM, Allen TJ. Angiotensin II type 2 receptor (AT2R) in renal and cardiovascular disease. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 2016 01;130(15):1307–26.
255. Zhuang S, Wang HF, Wang X, Li J, Xing CM. The association of renin-angiotensin system blockade use with the risks of cognitive impairment of aging and Alzheimer's disease: A meta-analysis. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas*. 2016 Nov;33:32–8.
256. Danielyan L, Klein R, Hanson LR, Buadze M, Schwab M, Gleiter CH, et al. Protective Effects of Intranasal Losartan in the APP/PS1 Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease. *Rejuvenation Res*. 2010 Apr 1;13(2–3):195–201.
257. Tian M, Zhu D, Xie W, Shi J. Central angiotensin II-induced Alzheimer-like tau phosphorylation in normal rat brains. *FEBS Lett*. 2012 Oct 19;586(20):3737–45.
258. Savaskan E, Hock C, Olivieri G, Bruttel S, Rosenberg C, Hulette C, et al. Cortical alterations of angiotensin converting enzyme, angiotensin II and AT1 receptor in Alzheimer's dementia. *Neurobiol Aging*. 2001 Aug;22(4):541–6.
259. Chen G, Gharib TG, Huang CC, Taylor JMG, Misek DE, Kardina SLR, et al. Discordant Protein and mRNA Expression in Lung Adenocarcinomas *. *Mol Cell Proteomics*. 2002 Apr 1;1(4):304–13.
260. Greenbaum D, Colangelo C, Williams K, Gerstein M. Greenbaum D, Colangelo C, Williams K, Gerstein M. Comparing protein abundance and mRNA expression levels on a genomic scale. *Genome Biol* 4: 117. *Genome Biol*. 2003 Feb 1;4:117.
261. Buccitelli C, Selbach M. mRNAs, proteins and the emerging principles of gene expression control. *Nat Rev Genet*. 2020 Oct;21(10):630–44.
262. Villar-Cheda B, Rodríguez-Pallares J, Valenzuela R, Muñoz A, Guerra MJ, Baltatu OC, et al. Nigral and striatal regulation of angiotensin receptor expression by dopamine and angiotensin in rodents: implications for progression of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci*. 2010 Nov;32(10):1695–706.
263. Villar-Cheda B, Valenzuela R, Rodriguez-Perez AI, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. Aging-related changes in the nigral angiotensin system enhances proinflammatory and pro-oxidative markers and 6-OHDA-induced dopaminergic degeneration. *Neurobiol Aging*. 2012 Jan 1;33(1):204.e1-204.e11.
264. Chan Samuel H.H., Hsu Kuei-Sen, Huang Chiung-Chun, Wang Ling-Lin, Ou Chen-Chun, Chan Julie Y.H. NADPH Oxidase-Derived Superoxide Anion Mediates Angiotensin II-Induced Pressor Effect via Activation of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase in the Rostral Ventrolateral Medulla. *Circ Res*. 2005 Oct 14;97(8):772–80.

265. Valenzuela R, Costa-Besada MA, Iglesias-Gonzalez J, Perez-Costas E, Villar-Cheda B, Garrido-Gil P, et al. Mitochondrial angiotensin receptors in dopaminergic neurons. Role in cell protection and aging-related vulnerability to neurodegeneration. *Cell Death Dis.* 2016 Oct;7(10):e2427–e2427.
266. Gebre AK, Altaye BM, Atey TM, Tuem KB, Berhe DF. Targeting Renin–Angiotensin System Against Alzheimer’s Disease. *Front Pharmacol* [Internet]. 2018 Apr 30 [cited 2020 Apr 8];9. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2018.00440/full>
267. Tian M, Lin X, Wu L, Lu J, Zhang Y, Shi J. Angiotensin II triggers autophagy and apoptosis in PC12 cell line: An in vitro Alzheimer’s disease model. *Brain Res.* 2019 01;1718:46–52.
268. Saper CB, Breder CD. Chapter 28 - Endogenous pyrogens in the CNS: role in the febrile response. In: Swaab DF, Hofman MA, Mirmiran M, Ravid R, Van Leeuwen FW, editors. *Progress in Brain Research* [Internet]. Elsevier; 1992 [cited 2021 Aug 16]. p. 419–29. (The Human Hypothalamus in Health and Disease; vol. 93). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308645872>
269. Tweedie D, Karnati HK, Mullins R, Pick CG, Hoffer BJ, Goetzl EJ, et al. Time-dependent cytokine and chemokine changes in mouse cerebral cortex following a mild traumatic brain injury. Harvey BK, Taniguchi T, Borlongan C, editors. *eLife.* 2020 Aug 17;9:e55827.
270. Kehoe PG, Hibbs E, Palmer LE, Miners JS. Angiotensin-III is Increased in Alzheimer’s Disease in Association with Amyloid- β and Tau Pathology. *J Alzheimers Dis JAD.* 2017;58(1):203–14.
271. Wright JW, Harding JW. Contributions by the Brain Renin-Angiotensin System to Memory, Cognition, and Alzheimer’s Disease. *J Alzheimers Dis JAD.* 2019;67(2):469–80.
272. Braszko JJ, Walesiuk A, Wielgat P. Cognitive Effects Attributed to Angiotensin II may Result from its Conversion to Angiotensin IV. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2006 Sep 1;7(3):168–74.
273. Royea J, Zhang L, Tong XK, Hamel E. Angiotensin IV Receptors Mediate the Cognitive and Cerebrovascular Benefits of Losartan in a Mouse Model of Alzheimer’s Disease. *J Neurosci.* 2017 May 31;37(22):5562–73.
274. Takeda S, Sato N, Takeuchi D, Kurinami H, Shinohara M, Niisato K, et al. Angiotensin receptor blocker prevented beta-amyloid-induced cognitive impairment associated with recovery of neurovascular coupling. *Hypertens Dallas Tex 1979.* 2009 Dec;54(6):1345–52.

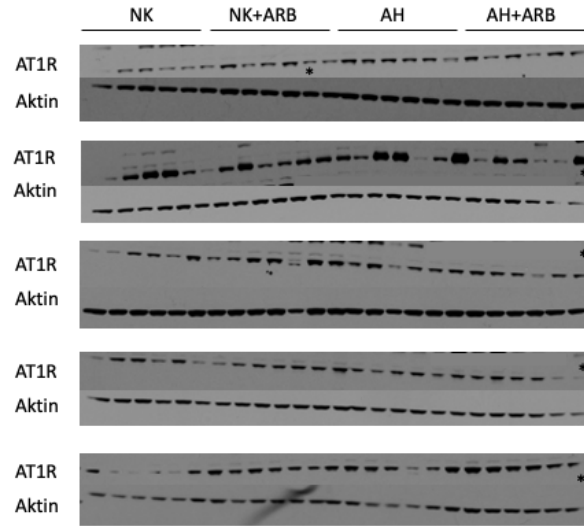
275. Saavedra JM. Evidence to Consider Angiotensin II Receptor Blockers for the Treatment of Early Alzheimer's Disease. *Cell Mol Neurobiol*. 2016 Mar 1;36(2):259–79.
276. Ongali B, Nicolakakis N, Tong XK, Aboukassim T, Papadopoulos P, Rosa-Neto P, et al. Angiotensin II type 1 receptor blocker losartan prevents and rescues cerebrovascular, neuropathological and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model. *Neurobiol Dis*. 2014 Aug;68:126–36.
277. Royea J, Martinot P, Hamel E. Memory and cerebrovascular deficits recovered following angiotensin IV intervention in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*. 2020;134:104644.
278. Drews HJ, Yenkovyan K, Lourhmati A, Buadze M, Kabisch D, Verleysdonk S, et al. Intranasal Losartan Decreases Perivascular Beta Amyloid, Inflammation, and the Decline of Neurogenesis in Hypertensive Rats. *Neurotherapeutics*. 2019 Jul 1;16(3):725–40.
279. Wang J, Ho L, Chen L, Zhao Z, Zhao W, Qian X, et al. Valsartan lowers brain beta-amyloid protein levels and improves spatial learning in a mouse model of Alzheimer disease. *J Clin Invest*. 2007 Nov;117(11):3393–402.
280. Benson Stephen C., Pershadsingh Harrihar A., Ho Christopher I., Chittiboyina Amar, Desai Prashant, Pravenec Michal, et al. Identification of Telmisartan as a Unique Angiotensin II Receptor Antagonist With Selective PPAR γ -Modulating Activity. *Hypertension*. 2004 May 1;43(5):993–1002.
281. Grimm MO, Mett J, Stahlmann CP, Haupenthal VJ, Zimmer VC, Hartmann T. Neprilysin and A β Clearance: Impact of the APP Intracellular Domain in NEP Regulation and Implications in Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci* [Internet]. 2013 [cited 2021 Mar 30];5. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnagi.2013.00098/full>
282. Ouk M, Wu CY, Rabin JS, Edwards JD, Ramirez J, Masellis M, et al. Associations between brain amyloid accumulation and the use of angiotensin-converting enzyme inhibitors versus angiotensin receptor blockers. *Neurobiol Aging*. 2021 Apr 1;100:22–31.
283. Takeda S, Sato N, Takeuchi D, Kurinami H, Shinohara M, Niisato K, et al. Angiotensin receptor blocker prevented beta-amyloid-induced cognitive impairment associated with recovery of neurovascular coupling. *Hypertens Dallas Tex 1979*. 2009 Dec;54(6):1345–52.
284. Mogi M, Li JM, Tsukuda K, Iwanami J, Min LJ, Sakata A, et al. Telmisartan prevented cognitive decline partly due to PPAR- γ activation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 Oct 24;375(3):446–9.

285. Hajjar I, Brown L, Mack WJ, Chui H. Impact of Angiotensin Receptor Blockers on Alzheimer Disease Neuropathology in a Large Brain Autopsy Series. *Arch Neurol*. 2012 Dec 1;69(12):1632–8.
286. Pang T, Benicky J, Wang J, Orecna M, Sanchez-Lemus E, Saavedra JM. Telmisartan ameliorates lipopolysaccharide-induced innate immune response through peroxisome proliferator-activated receptor- γ activation in human monocytes. *J Hypertens*. 2012 Jan;30(1):87–96.
287. Benicky J, Sánchez-Lemus E, Honda M, Pang T, Orecna M, Wang J, et al. Angiotensin II AT 1 Receptor Blockade Ameliorates Brain Inflammation. *Neuropsychopharmacology*. 2011 Mar;36(4):857–70.
288. Xu Y, Xu Y, Wang Y, Wang Y, He L, Jiang Z, et al. Telmisartan prevention of LPS-induced microglia activation involves M2 microglia polarization via CaMKK β -dependent AMPK activation. *Brain Behav Immun*. 2015 Nov 1;50:298–313.
289. Wang QG, Xue X, Yang Y, Gong PY, Jiang T, Zhang YD. Angiotensin IV suppresses inflammation in the brains of rats with chronic cerebral hypoperfusion. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2018 Jul 1;19(3):1470320318799587.
290. Labandeira-Garcia JL, Valenzuela R, Costa-Besada MA, Villar-Cheda B, Rodriguez-Perez AI. The intracellular renin-angiotensin system: Friend or foe. Some light from the dopaminergic neurons. *Prog Neurobiol* [Internet]. 2020 Oct 8 [cited 2020 Nov 19]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7543790/>
291. Benicky J, Hafko R, Sanchez-Lemus E, Aguilera G, Saavedra JM. Six Commercially Available Angiotensin II AT1 Receptor Antibodies are Non-specific. *Cell Mol Neurobiol*. 2012 Nov;32(8):1353–65.
292. Herrera M, Sparks MA, Alfonso-Pecchio AR, Harrison-Bernard LM, Coffman TM. Lack of specificity of commercial antibodies leads to misidentification of angiotensin type 1 receptor (AT1R) protein. *Hypertension*. 2013 Jan;61(1):253–8.
293. Hafko R, Villapol S, Nostramo R, Symes A, Sabban EL, Inagami T, et al. Commercially Available Angiotensin II At2 Receptor Antibodies Are Nonspecific. *PLoS ONE*. 2013 Jul 1;8(7):e69234.
294. Sparks DL, Scheff SW, Liu H, Landers TM, Coyne CM, Hunsaker JC. Increased incidence of neurofibrillary tangles (NFT) in non-demented individuals with hypertension. *J Neurol Sci*. 1995 Aug 1;131(2):162–9.
295. Ashby EL, Miners JS, Kehoe PG, Love S. Effects of Hypertension and Anti-Hypertensive Treatment on Amyloid- β (A β) Plaque Load and A β -Synthesizing

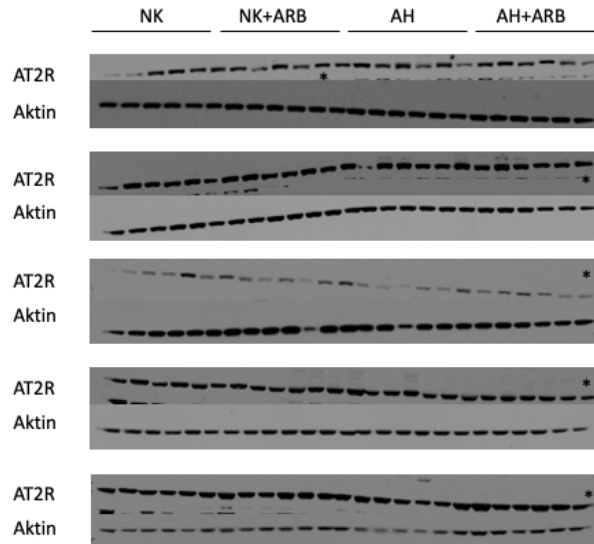
- and A β -Degrading Enzymes in Frontal Cortex. *J Alzheimers Dis.* 2016 Jan 1;50(4):1191–203.
296. Walker KA, Power MC, Gottesman RF. Defining the Relationship Between Hypertension, Cognitive Decline, and Dementia: a Review. *Curr Hypertens Rep.* 2017 Mar 16;19(3):24.
297. Barnes NM, Cheng CHK, Costall B, Naylor RJ, Williams TJ, Wischik CM. Angiotensin converting enzyme density is increased in temporal cortex from patients with Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol.* 1991 Aug 6;200(2):289–92.
298. Mathys H, Davila-Velderrain J, Peng Z, Gao F, Mohammadi S, Young JZ, et al. Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease. *Nature.* 2019 Jun;570(7761):332–7.
299. Oscanoa TJ, Amado J, Vidal X, Romero-Ortuno R. Angiotensin-Receptor Blockers (ARBs) and risk of Alzheimer's Disease: A meta-analysis. *Curr Clin Pharmacol.* 2020 Jan 31;
300. Scotti L, Bassi L, Soranna D, Verde F, Silani V, Torsello A, et al. Association between renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors and risk of dementia: A meta-analysis. *Pharmacol Res.* 2021 Apr;166:105515.

9. EKLER

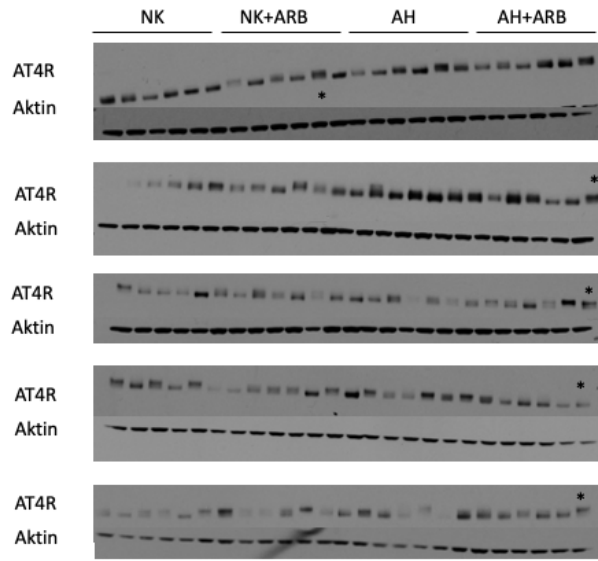
EK-1. Örnek Western Blot Bandları



Ek-1A. Anjiyotensin II tip 1 reseptörü. *Dahili kontrol.



Ek-1B. Anjiyotensin II tip 2 reseptörü. *Dahili kontrol.



Ek-1C. Anjiyotensin tip 4 reseptörü. *Dahili kontrol.

EK-2. Orjinallik Ekran Çıktısı

TEZİN TAM BAŞLIĞI: ALZHEİMER HASTALIĞI'NIN BEYİN ANJİYOTENSİN RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİ VE ANJİYOTENSİN RESEPTÖR BLOKÖRLERİNİN BU İLİŞKİYE ETKİSİ

ÖĞRENCİNİN ADI SOYADI: Çağlar Coşardereioğlu Seçer

DOSYANIN TOPLAM SAYFA SAYISI: 59

ALZHEİMER HASTALIĞI'NIN BEYİN ANJİYOTENSİN RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİ VE ANJİYOTENSİN RESEPTÖR BLOKÖRLERİNİN BU İLİŞKİYE ETKİSİ

ORJİNALLİK RAPORU


6	6	1	1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	academic.oup.com İnternet Kaynağı	%2
2	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%1
3	libratez.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
4	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
5	Submitted to Sağlık Bilimleri Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
6	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<%1
7	diposit.ub.edu İnternet Kaynağı	<%1
8	www.aile.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1

acikbilim.yok.gov.tr

EK-3. Dijital Makbuz




Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin **Turnitin**'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	Çağlar Coşardereioğlu Seçer
Ödev başlığı:	ALZHEİMER HASTALIĞININ BEYİN ANJİYOTENSİN RESEPTÖRL...
Gönderi Başlığı:	ALZHEİMER HASTALIĞININ BEYİN ANJİYOTENSİN RESEPTÖRL...
Dosya adı:	ic_in_YL_tez_CaglarCosardereioğlu_degisikliklerle_nisan18.d...
Dosya boyutu:	4,54M
Sayfa sayısı:	59
Kelime sayısı:	12,957
Karakter sayısı:	89,743
Gönderim Tarihi:	18-Nis-2023 11:06ÖÖ (UTC+0300)
Gönderim Numarası:	2068165412



Copyright 2023 Turnitin. Tüm hakları saklıdır.

10. ÖZGEÇMİŞ

