

BÖLÜM 9

AMİLOİD PROTEİN BİRİKİMİNİN ALZHEİMER VE AKDENİZ ATEŞİ HASTALIĞINDAKİ ROLÜ

Tuğba ÇELİK SAMANCI¹
Alpaslan GÖKÇİMEN²

GİRİŞ

Biyolojik dünyada protein, oldukça değerli makro moleküldür ve yapısındaki mevcut kuvvetler arasındaki denge sayesinde kararlı bir özellik gösterir. Karmaşık moleküler yapıya sahip olmakla beraber çoğunlukla hücre içinde kendine özgü faaliyette bulunarak vücudun doku ve organlarının yapısı, işlevi ve düzenlenmesinde rol alır. Proteinler, birbirine uzun zincirlerle bağlanmış amino asit adı verilen yüzlerce veya binlerce küçük birimden oluşur. Amino asit dizisi, her bir proteinin karakteristik üç boyutlu yapısını ve fonksiyonunu belirler (1).

Proteinler biyolojik olarak işlevsel, hızlı ve tekrar üretilebilir bir yapı haline gelmek için çeşitli konformasyonel katlanmalar yapar ve bu katlanma biçimi, işlevlerini yerine getirebilmeleri bakımından oldukça önemlidir. Ancak karmaşık canlı hücre yapısı içerisinde proteinlerin doğru katlanmaları zorlu bir süreç gerektirir (2). Bu sürecin düzgün işlememesi, dokuda spesifik bir protein ya da peptitteki yanlış katlanmayla sonuçlanıp ‘amiloid’ adı verilen proteinleri meydana getirebilir. Amiloidler son zamanlarda meydana çıkarılan önemli hücresel fonksiyonlarının yanı sıra çeşitli patolojik koşullara neden olarak hastalıklara yol açabilen proteinlerdir (3).

AMİLOİDLERİN FONKSİYONEL YAPISI

Yakın zamana kadar, proteinlerin fonksiyonunun belirli bir küresel yapıya sıkıca bağlanmalarıyla ilişkili olduğu düşüncesi hakimdi. Bu küresel yapıyı ortaya çıkaran ‘dizi-yapı-işlev’ paradigmasında proteinin işlevini aminoasit dizisinin belirlediği kabul edilmekteydi. Bu nedenle amiloidlerin iyi düzenlenmiş fibril

¹ Arş. Gör. Dr, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD., tugbacelik88@hotmail.com

² Prof. Dr., Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD., agokcimen@yahoo.com

yapılarının önceleri sadece patolojik koşullara neden olduğu fikri yaygındı. Yeni teknolojilerin ve keşiflerin ortaya çıkışıyla bazı proteinlerin 'doğal olarak bozulmuş' bir durumda işlevsel olduğu ortaya atıldı (4). Bu yenilikleri takiben amiloidler ile ilgili yapılan araştırmalar mantarlar, bakteriler ve böceklerde bazı fonksiyonel amiloidlerin canlılığın iç dengesini sağlamada rol oynayabileceğini gösterdi (5).

Hem prokaryotlar hem de ökaryotlar fonksiyonel amiloidlere sahiptir. Amiloid fibrillerinin insanlarda melanozomlardaki Pmel17 proteininin proteolitik fragmanlarından oluştuğu gösterildi. Bu fibriller, melanin öncülünün melanine polimerizasyonunda rol oynar ve melanin sentezi sırasında üretilen toksik ara maddeleri ayırarak melanin üretimini hızlandırır (6). Ayrıca yapılan çalışmalarda amiloidlerin hayvanlarda uzun süreli hafıza oluşumunda da önemli rol oynadığı görüldü. Bunlara ek olarak amiloidlerin hücre sinyalleşmesinde aktif rol oynadığı gösterildi (7). Ancak, amiloid birikimi canlılık için oldukça önemli tüm bu fonksiyonel özelliklerin aksine çeşitli dokularda birikerek toksisitelere sebep olabilir.

AMİLOİDOZ

Amiloidoz, toksik çözünmeyen fibriller protein agregatlarının (amiloidlerin) farklı dokularda birikmesinden kaynaklanan heterojen bir hastalıktır. Amiloid ile ilişkili hastalıklar başlangıçta zararsız proteinlerin amiloid fibriline polimerleşmesinden kaynaklanır. Hastalıklara yol açan amiloid düzeneği, amiloid öncülünün tamamen veya kısmen açılmasının (her zaman değil) genellikle topaklanma eğilimli türler üreten tetikleyici olayların birbirini takip ettiği çok aşamalı işlemleri içerir (8).

Amiloidogenezde rol oynayan proteinler, çeşitli dokularda farklı özellikler göstermesine rağmen aralarında bazı temel benzerlikler mevcuttur. Birikmeye yol açan moleküller arası etkileşimlerde β -sheet benzeri etkileşimler gözlenir. Bu moleküllerin amiloid fibril şeklinde düzenlenmesi 3 ila 30 kDa arasında değişiklik gösteren homotipik polimerizasyon ile gerçekleşir. Amiloid fibriller normal süreçte (5-15nm genişliğinde ve 1,5-2 nm çapında) protofilamentlerin değişken sayılarının bir araya gelmesiyle üretilirler (9).

Amiloid protein birikiminin sonucu olan amiloid plaklar üç belirgin özellik gösterirler. Bunlar;

- Kongo kırmızısı kullanılarak karakteristik çift kırılmalı boyama
- Yüksek β -sheet benzeri yapıya sahip X-ışını fiber kırınım modeli
- Elektron mikroskopu ile gözlenen fibröz morfoloji (10)

Bu hastalığa neden olan proteinlerin yanlış katlanmasının nedenleri; moleküler şaperon mekanizmasının etkisizleşmesi, ubiquitin-proteozom kompleksinin

yanlış katlanmış proteinleri ortadan kaldırma yeteneğine sahip olmaması, proteinlerin hücrel taşınımının engellenmesi, hücrel aktiviteye uygun olmayan amiloidojenik protein parçaları üreten proteaz aktivitesi ve mutasyonlardır (11). Ayrıca yüksek sıcaklıklar, pH değişimleri, hidroliz, oksidasyon, izomerizasyon, deamidasyon gibi kimyasal reaksiyonlar, protein yapısına etki ederek amiloid birikimine neden olabilir (12).

Amiloidoz, kazanılmış veya kalıtsal olabilir. Ayrıca lokalize veya sistemik olabilir. Amiloid birikimi, karaciğer, dalak, böbrek, kalp, sinir ve kan damarlarında; kardiyomyopati, hepatomegali, proteinüri, otonomik disfonksiyon, ekimoz, nöropati, böbrek yetmezliği, hipertansiyon ve kornea anormalliği dahil olmak üzere farklı klinik sendromlara yol açabilir (13). Amiloidojenik proteinlerin oligomerlerinin, Alzheimer hastalığı ve Akdeniz ateşi hastalığı gibi hastalıklarda da toksisiteye aracılık etmede anahtar rol oynadığına dair bulgular mevcuttur (14,15).

ALZHEİMER HASTALIĞI

Alzheimer hastalığı (AH), yaşın en büyük risk faktörü olduğu bilişsel işlevlerde ilerleyici bir düşüş ile karakterize en sık görülen nörodejeneratif hastalıktır (16). Bu hastalık beyin korteksindeki nöron ve sinaps kaybına neden olur. Meydana gelen nörodejenerasyon hafıza kaybına yol açar. İleri aşamada dil, duygular ve davranış üzerinde olumsuz etkiye sahip olabilir (17). Klinik semptomların ortaya çıkmasından ve nöronal kaybın başlamasından önce artan sinaptik fonksiyon bozukluğu, nöroinflamasyon sürecine etki eder (18).

ALZHEİMER HASTALIĞININ AMİLOİDOZ İLE İLİŞKİSİ

Dünya çapında demansın önde gelen nedeni olan AH, beyinde β -amiloid peptidin ($A\beta$) ve mikrotübül ilişkili protein tau'nun hiperfosforile ve bölünmüş formlarının birikmesi ile karakterize edilir. Bu duruma sinaptik fonksiyonun bozulması, hipokampus ve serebral korteksin nöronal atrofisi, demans ve bilişsel bozulma eşlik eder (9). AH'nin mekanizmasının anlaşılmasına ilişkin yapılan çalışmaların bir kısmı $A\beta$ fibrillerinin veya $A\beta$ oligomerlerinin hücreler için toksik olduğunu gösterirken, bazı çalışmalar $A\beta$ oligomerlerinin veya fibrillerinin tau yumaklarının oluşumunu arttırdığını öne sürer (18).

A β PEPTİDİ

Amiloidlerin oluşumu membran proteini olan amiloid öncü proteini (APP)'nin bölünmesiyle meydana gelir. Nöronal aktivite tarafından düzenlenen APP'nin proteolizinde α , β ve γ -sekretaz enzimleri rol alır (19,20). APP'nin, α -sekretaz

enzimi aracılığıyla kesilmesiyle (transmembran bölgesinden 12 aminoasit uzaklıktan) α -APP fragmanı oluşur ve α -APP'ler ekstraselüler aralığa salınır. APP'nin β -sekretaz enzimi aracılığıyla kesilmesinde (aminoasit terminaline 16 aminoasit yakın noktadan) β -APP'ler oluşur. APP'lerin α -sekretaz ya da β -sekretaz enzimleriyle kesimi sonrası meydana gelen fragmanlar bir sonraki aşamada γ -sekretaz tarafından kesilir. α -APP'lerin γ -sekretaz enzimi ile kesimiyle p3 fragmanı meydana gelirken β -APP'lerin γ -sekretaz enzimi ile kesimi sonucu A β peptidi oluşur (21). Sonuç olarak membran proteini olan APP'nin β ve γ sekretazlar tarafından proteolizi sonucu amiloidojenik A β 40, A β 42 ve A β 43 peptitleri dahil 36-43 amino asit A β peptidi oluşur (22). Normal sürecin aksine çeşitli mutasyonlar değişen oranlarda A β 40, A β 42 ve A β 43 oluşumuna yol açar (23). Yapılan çalışmalarda farklı A β 'ların çeşitli toksisitlere sebep olduğu bildirildi. Ayrıca A β tiplerinin çeşitliliği toksisite oranlarında da değişiklik meydana getirir. A β 43, A β 'lar arasında en sitotoksik olanı iken A β 40 en az sitotoksik olanıdır (24). Yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler, AH'nın A β peptid oluşumundaki artıştan ya da A β temizleme mekanizmasındaki bozukluktan kaynaklandığını gösterir (20,25).

APP'nin β -sekretaz ile patolojik bölünmesi yani anormal A β oluşumu, sporadik AH olarak adlandırılan geç başlayan demansa neden olur. Bunun yanı sıra APP'de meydana gelen mutasyonlar artan A β üretimine ve bunun sonucunda erken başlangıçlı AH'a neden olabilir (26,27). A β 'nın AH ile ilişkili olduğuna dair bulgular erken başlangıçlı ve kalıtsal formu olan bireyler üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Otozomal dominant kalıtsal AH olan bireylerin büyük bir kısmında APP, PSEN1 ve PSEN2 genlerinde mutasyon bulunur. Mutasyonların büyük bir kısmı, A β 'nin aşırı üretimine yol açar. APP'deki mutasyonların çoğu APP mekanizmasını bozar ve bu durum plazmada A β 42'nin A β 40'a oranının değişmesine neden olur (28-30). PSEN 1 ve PSEN 2 genindeki mutasyonlar A β 42/A β 40 oranlarının artmasına neden olan mutasyonlardandır (31). Otozomal dominant kalıtsal AH ile ilgili yapılan bir çalışma ve meta analizde mutasyon tipi ve ilişkili A β 42/A β 40 oranındaki artışın demansın ortalama başlangıç yaşının tahmininde önemli olduğu gösterildi (32,33). Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler üç farklı gen içindeki mutasyonların A β ürünlerinin oranlarında benzer değişikliklere yol açması A β 'nin AH'nın patogenezinde rol oynadığını gösterir.

A β hipotezine göre, meydana gelen A β plakları beyin farklı bölgelerinde birikme eğilimindedir. Beyin dokusu tarafından yabancı olarak algılanan bu plaklar, mikroglia ve sitokin salınımına yol açarak hücre ölümü ve nörodejenerasyona neden olabilir (34).

TAU PROTEİNİ

Nöronlarda akson boyunca proteinlerin hızlı bir şekilde taşınmasını sağlamak için mikrotübüller bulunur. Besinleri ve enerjiyi getiren ve atıkları uzaklaştıran bu taşıma olmadan akson ve nöronun geri kalan kısmı hasara uğrar. Tau normal şartlarda bir nöronun aksonunda veya çıkış sapında işlev gören ve mikrotübülleri stabilize eden bir proteindir (18).

Sağlıklı beyin dokusunda, aktif nöronlardaki mikrotübüllerin oluşumu ve yıkımı kesintisiz olarak devam eder. Nöronlarda bu hızlı değişimlerin desteklenmesi için tau'nun mikrotübül bağlama özellikleri, fosfor grupları olarak adlandırılan küçük moleküllerin eklenmesi veya çıkarılmasıyla sürekli olarak kontrol edilir. Kinaz adı verilen enzimler mikrotübülü daha az sert hale getirmek için tau proteini üzerindeki bölgelere fosfor grubu ekler. Fosfatazlar adı verilen enzimler ise mikrotübül kavrama kabiliyetini arttırmak için tau proteinine ters fosforilasyon yapar (35). Kinaz ve fosfataz enzimleri arasındaki bu dengenin sağlanması mikrotübüllerin tau aracılığıyla stabilizasyonuna neden olur.

AH'nın patofizyolojisi incelendiğinde bu hastalıkta tau fosforilasyon sürecinin gereğinden fazla ilerlediği ve tersine çevrilemediği görülür. Bu durumda tau proteinlerine birden fazla bölgedeki fosfor gruplarının eklenmesiyle hiperfosforilasyon meydana gelir ve bu durum tau proteinlerinin mikrotübüllerden tamamen ayrılarak ana nöronal gövdeye (somaya) sürüklenmesine neden olur. Bunun sonucunda bu hiperfosforile edilmiş tau proteinleri uzun çözünmeyen agregatları (NFT) yapmak için birbirine yapışma eğilimi gösterir (36).

2000'li yıllarda, A β ve tau proteininin işlevsel olarak birbiri ile bağlantılı olduğuna dair bulgular yayımlandı (37,38). Mutant fareler üzerinde yapılan çalışmalar A β 'nin tau patolojisine dolaylı olarak katkıda bulunduğuna dair görüşler ortaya sürülmekteydi. Ancak 2010 yılında hipokampal nöronlar üzerinde yapılan çalışma A β 'nin küçük agregatlarının (oligomerler), tau hiperfosforilasyonunu arttırdığını gösterdi. Çok düşük konsantrasyonlarda bile, sinaps kaybı dahil nöronlardaki Alzheimer benzeri değişikliklerin tau'ya bağımlı olduğu gösterildi (39). A β oligomerleri hafızaya bağlı bir nöronun üzerinde arttığında sinaptik reseptörlerin aşırı uyarılmasıyla nöronun içine aşırı miktarda kalsiyum iyonu akışına neden olur. A β kaynaklı kalsiyum akışının, tau hiperfosforilasyonunu tetikleyerek AMPK (Activated Protein Kinase) da dahil olmak üzere bir çok kinaz enzim zincirini etkilediği ileri sürüldü. Alzheimerli farelerde, AMPK'nın veya tau fosforilasyonunun engellenmesinin, tau hiperfosforilasyonunu önleyebileceği ve A β oligomerlerinin sinaps kaybını tetikleme yeteneğini ortadan kaldıracabileceği görüldü (40).

Ancak A β 'nin AH'daki fonksiyonu gösterir çalışmaların aksine bazı bulgular da amiloid kaskadı hipotezini geçersiz kıldığını öne sürer. Hayvan çalışmalarında amiloid plak oluşumunu inhibe eden ilaçların, Faz II ve Faz III klinik deneme çalışmalarda bilişsel gerilemeyi tersine çevirmede veya durdurmada hiçbir etkisi olmadığı gösterilmesi AH'da A β hipotezinin etkinliğinin olmayabileceğine dair görüşleri meydana getirdi (41–43). Bu nedenle bazı araştırmacılar farklı noktalara odaklanarak hastalık mekanizmasının detaylı incelenmesi gerektiğini vurgularken, bir kısım araştırmacılar bu durumların beynin belirli bir süre sonra tedaviye dirençli hale gelmesinden kaynaklandığını öne sürer (44,45).

Erken AH'da değişmiş enerji homeostazı, bozulmuş glikoz metabolizması ve mitokondriyal disfonksiyon görülür (46). AH'nın prodromal aşaması olan hafif kognitif bozukluğuna (MCI) sahip hastalarda saptanan azalmış glikoz kullanımının beyindeki anormal enerji homeostazının altında yatan hastalık mekanizması olabileceğini düşündürür. Bu veriler doğrultusunda gerçekleştirilen çalışmalar önceki araştırmalarda fibril agregatlarının AH'nın patogenezinde tek başına sorumlu olduğuna dair inanışın aksine, Ca²⁺ homeostazının düzensizliği, mitokondriyal hasar, oksidatif stres, aksonal taşınımın değiştirilmesi ve glial aktivasyonunda patogeneze rol oynadığı gösterir (47). AH ile ilişkili ileri mekanizmaların aydınlatılması hastalık patogenezinde A β 'nin bir ajan mı yoksa hastalık patolojisinin bir sonucu mu olduğunun aydınlatılmasına yol açacaktır.

Beyin, vücutta en fazla enerji tüketen organdır. Aksonal büyümeyi ve sinaptik aktiviteyi desteklemek için gereken enerji öncelikle mitokondride adenosin trifosfat (ATP) formunda üretilir ve düşük glikoz mevcudiyeti, nöronlar gibi yüksek enerji taleplerine sahip hücrelerde tahribata yol açabilir (48). Mitokondriler biyogenez olarak bilinen bir işlemle üretilir ve eski organeller mitofaji olarak bilinen otofajik bir işlemle yıkılır. Mitokondriler birbirine bağlı retikulum oluşturmak için bir araya gelir ve hücrenin çevresel değişikliklerine ve enerji taleplerine karşılık vererek, mitokondriyal sayıyı arttırma ya da mitofajiyle sayıyı azaltma şeklinde bu çevresel değişikliklere yanıt verir. Ayrıca hücrel homeostazı korumak için stres veya metabolik değişikliklere cevap olarak çok hızlı şekil değişikliğine gidebilir (49).

Nöronlar, hücre gövdesi, dendrit, sinaptik terminaller ve bir metre uzunluğa ulaşabilen aksonlar dahil olmak üzere bir çok özel bölmeyi barındıran eşsiz bir hücrel yapıya sahiptir. Mitokondriler, hücre gövdesinden nöronların uzak kırsımlarına kinesid (antegrad yön) ve dinein (retrograd yön) motor protein kompleksleri kullanılarak mikrotübüller boyunca yüksek enerji ihtiyacı olan bölgelere taşınır. AH'da A β ve hiperfosforile tau birikiminin artması sinaptik fonksiyon için enerji desteğinden ödün vererek her iki yönde anormal transporta yol açar (50).

Mikrotübüllerin bütünlüğü, nöronlardaki mitokondriyal motilite için gereklidir. AH'da ve tauopatilerde gözlenen mikrotübül bağlayıcı protein taunun (pTau) hiperfosforilasyonu mitokondriyal taşımayı olumsuz etkiler. AH'da mitokondriyal aksonal taşımanın bozulması, aksonal bütünlük kaybı ve sinaptik fonksiyon ile de bağlantılıdır (51).

Özellikle A β peptidinin mitokondriye girdiği (52) ve çeşitli mitokondriyal proteinlerle doğrudan etkileşime girebildiği gösterildi. Ayrıca mutant insan APP fazla sentezleyen çeşitli hücre kültürleri kullanılarak yapılan araştırmalar, mitokondriyal parçalanma ve mitokondriyal ağıın çöküşünü gösteren perinükleer lokalizasyonu ortaya çıkardı. Alzheimer hastaların primer fibroblastlarında gerçekleştirilen fisyon/füzyon dinamiklerinin analizinde diğer hücre modellerine benzer şekilde mitokondriyal ağıın bütünlüğünü kaybettiği gösterildi (53).

AH'da mitokondriyal transport inhibisyonunun altında yatan moleküler mekanizmalar açıklanmaya devam edilirken, AH'nın mitokondriyal motilitede bir bozulma, dengesiz fisyon/füzyon regülatörleri, artmış A β ve pTau seviyeleri ve oksidatif stres ile bağlantılı olduğu gösterildi (54). Farklı A β türleri ile mitokondriyal taşınım arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalar agregat eğilimi daha yüksek olan toksik A β peptitlerinin mitokondriyal motilite üzerinde daha büyük bir etkiye sahip olduğunu ve hücre dışı fibriller, nöronal plazma membranı ile anormal bir şekilde etkileştiğini gösterdi (55).

Dolayısıyla amiloidojenik proteinlerin oligomerlerinin, Alzheimer hastalığı da dahil olmak üzere diğer yaygın nörodejeneratif hastalıklarda toksisiteye aracılık etmede anahtar rol oynadığına dair bulgular mevcuttur. Elde edilen veriler, yaygın görüşe sahip A β hipotezine ek olarak Ca⁺² homeostazının düzensizliği, mitokondriyal hasar, oksidatif stres, aksonal taşınımın değiştirilmesi ve glial aktivasyonun da patogeneizde rol oynadığını ve AH ile ilişkili olduğunu öne sürer. A β 'nın AH'da aktif rol oynadığına dair görüş yaygın olarak kabul edilmesine rağmen AH patogeneiz mekanizması A β 'nin hücre homeostazı ve organeller üzerindeki etkileri araştırılmaya devam edilmektedir.

AKDENİZ ATEŞİ HASTALIĞI

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF), periyodik ve kendi kendini sınırlayan ateş ve aseptik serozit atakları ile karakterize en sık görülen otoinflamatuvar hastalıklardan biridir. Otoinflamatuvar hastalıklar, enflamatuvar yanıt düzenlenmesinde yer alan proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonların neden olduğu kalıtsal hastalıklardır. Akdeniz havzası ve Orta Doğu'da yüksek insidansa sahip FMF vakalarının büyük bir kısmı 16. kromozomun kısa kolunda yer alan MEFV genindeki mutasyondan kaynaklanır (56).

Ailesel Akdeniz ateşi (FMF) FMF tip 1 ve FMF tip 2 olmak üzere iki fenotipe ayrılır:

FMF tip 1; ateş, peritonit, sinovit, plörit ve nadiren perikardit ve menenjit dahil tekrarlayan kısa inflamasyon ve serozit atakları ile karakterizedir. Belirtiler ve şiddet, etkilenen bireyler arasında, hatta aynı ailenin üyeleri arasında bile değişiklik gösterebilir.

FMF tip 2; FMF'li asemptomatik bireylerde ilk klinik belirti amiloidoz ile karakterizedir. Böbrek yetmezliğine de yol açabilen amiloidoz, tedavi edilmezse ciddi komplikasyonlara neden olabilir. Tekrarlayan inflamatuvar atak öyküsü olmayanlarda bile, tedavi edilmemiş bireylerde 15 yaşından sonra karakteristik olarak amiloidoz gelişir (57). FMF ataklarını kontrol altına alabilmek ve daha da önemlisi amiloidoz gelişimini önleyebilmek amacıyla kullanılabilen tek ilaç kolşisinidir. Kolşisin, vücuttaki inflamasyonu azaltır ve atakları önler (58). Son zamanlarda IL-1 inhibitörlerinin kullanımında AA amiloidoz hastalarında renal fonksiyonu iyileştirdiği gösterildi (59,60).

AKDENİZ ATEŞİ HASTALIĞININ AMİLOİDOZ İLE İLİŞKİSİ

Amiloidozun farklı formlarının çeşitli hastalıklardaki rolü araştırılmaya devam edilmektedir (61). FMF hastalarında yapılan araştırmalar FMF'nin en önemli komplikasyonunun amiloidoz gelişimi olduğunu gösterir. FMF'li hastalarda gözlenen amiloidoz tipi sistemik amiloidozun en yaygın şekli olan AA amiloidozdur (62). AA amiloidozda, karaciğer dokusu tarafından sentezlenen serum amiloid A proteini AA amiloidoz oluşumuna yol açan amiloid fibrillerinin öncüsüdür (63). FMF'li hastalar üzerinde yapılan araştırmalarda, ataklar esnasında serum amiloid A protein seviyelerinin belirgin şekilde yükseldiği bildirildi (56).

FMF'de böbrek dokusu fibriller birikintilerin tutulduğu ana organdır ve renal amiloidoz bu hastalarda morbidite ve mortalitenin ana nedenidir (64). Özellikle Kuzey Afrika kökenli Yahudilerde yaygın olan AA tipi amiloidoz, bireylerde nefrotik sendroma yol açan kalıcı ağır proteinüri ve son dönem böbrek hastalığına yol açan ilerleyici nefropati ile kendini gösterebilir. Asemptomik olarak etkilenen bireylerde, FMF tip 2'nin ilk ve tek belirtisi olarak renal amiloidoz gelişebilir (65).

FMF ile amiloidoz ilişkisinin FMF'li hastalarda sık atak gelişimine bağlı olduğu düşünülmektedir. Ancak MEFV geninde patojenik mutasyonları olan FMF fenotip 2 hastalarda semptomlar görülme de amiloidoz gelişebileceği yakın zamanda tespit edildi (66).

Karaciğer dokusu tarafından sentezlenip dolaşıma salınana SAA'nın amiloid fibrillerine dönüşerek organ hasarına sebep olması bu proteinin plazmadaki yük-

sek konsantrasyonundan kaynaklanan bir süreçtir. SAA konsantrasyonundaki artış proteinlerin yanlış katlanmasına, kümeleşmesine ve nihayetinde çapraz β -yapraklı amiloid fibrillerinin oluşumuna neden olabilir (67). Fibrilasyon sürecinin başlangıç aşamasını amiloidojenik öncü proteinin hidrofobik yüzeylerle etkileşime son derece duyarlı, çok hızlı bir birleşme ve ayrışma kinetiği ile karakterize edilen oligomer yapıları oluşturur. Meydana gelen oligomerlerin bir kısmı amiloid fibrillerinin oluşumuna neden olur ve oluşan fibriller böbrek dokusu üzerinde birikmesiyle AA amiloid ilişkili renal toksisite meydana gelir (68).

FMF'de amiloidozun tespitinde SAA titresinin periyodik olarak değerlendirilmesi rutin olarak kullanılır ancak SAA artışı amiloidoz dışında akut ve kronik enfeksiyon durumlarında da yükselir (69). Bu nedenle SAA, FMF'de inflamasyonu göstermek için duyarlı ancak spesifik olmayan bir belirteçtir (56). Bu nedenle FMF'li hastalarda amiloidoz belirteci üzerine çalışmalara devam edilmektedir (70).

AMİLOİDOZUN SAPTANMASI

Boyalar genellikle aromatik heterosiklik bileşiklerdir ve histopatolojik incelemelerde doku hasarının belirlenmesinde genel veya dokuya özgü değerlendirmelerde kullanılır. Rutin histopatolojide kullanılan Hematoksilin-Eozin (H-E) boyamasında amiloid birikimi hücre dışı "amorf" tortular olarak spesifik olmayan bir görünüme sahipken, erken dönemde oluşan tortular bu boyamayla izlenir. Bu nedenle dokularda amiloid birikiminin gözlenebilmesi için Kongo kırmızı (Kongo red, CR) gibi spesifik boyaların tercih edilmesi gerekir.

CR, 1883 yılında kimyager Paul Böttiger tarafından, pH indikatörü olarak kullanılabilir bir maddeyi sentezlemeye çalıştığına keşfedildi. CR, alkali veya zayıf asidik çözeltilerde disodyum tuzu halinde mevcut olduğunda, kırmızı bir renk üretilir (71).

Amiloidoz teşhisi için CR kullanımı Bennhold tarafından yapılan deneylerle başladı. Bennhold, ilk kez, 1923'te amiloidozun laboratuvar tanısı için bir yaklaşımı tanımladı. Yirmi bir adet sağlıklı denek ve yirmi bir adet farklı hastalıkları olan hastaya damardan 10 cc % 1 CR çözeltisi enjekte etti. Nefrotik sendromlu hastalarda kanda CR kaybolması sağlıklı bireylerden daha hızlı gerçekleşti. Amiloidoz hastalarından biri, boya enjeksiyonundan 20 saat sonra öldü ve otopsi dokuları elde edildi. Karaciğer ve dalağın boya ile lekeleniği gözlemlendi. Organların frozen kesitlerinde ise kırmızı bölgeler tespit edildi. Bennhold, CR'nin % 60'ının enjeksiyondan bir saat sonra kan dolaşımından kaybolmasını, amiloid hastalığının varsayımsal kanıtı olarak sundu (72).

1922'de Bennhold, CR'nin organizmalarda amiloidlerin tanımlanmasında boyayı kana enjekte ettikten sonra kullanılabileceğini keşfeden ilk kişi oldu. O zamandan beri, hem in vivo hem de in vitro olarak amiloidlerin tanımlanması için CR kullanıldı. Bu tekniğin yararlarından biri amiloidleri in vitro olarak lekelemenin hızlı ve kolay olmasıdır. Ancak bazı çalışmalarda, amiloidlerde CR boyasının kullanılmasının, düşük oranda da olsa bazı yanlış pozitif sonuçlar verdiği tespit edildi (73).

CR'nin amiloidlere bağlanma konusundaki kusurlu özelliğine rağmen, boya histokimyasal çalışmalarda kullanılabilir. Ayrıca CR lekesinin duyarlılığı, floresan mikroskobu ile birleştirilerek büyük ölçüde artırılabilir. Ancak amiloidozdan şüphelenildiğinde, CR boyamasından sonra elde edilen negatif sonuçlarda, doğrulama için immünohistokimya kullanılması gerekir. Yalnızca CR kullanımı amiloidoz tanısı için yeterli gelmemektedir.

Ayrıca amiloid için doku pozitifliğinin patoloji raporu, klinik olarak organ tutulumunun sınıflandırılmasıyla ilgili olduğundan, birikintilerin yerini (stromal ve vasküler) belirtmelidir. Dokularda tam bir amiloidoz teşhisi konulabilmesi için sonraki ve en önemli adım olarak spesifik amiloid protein tipinin (amiloid tiplemenin) yapılması gerekir. Bu tiplemenin yapılması doğru tedavinin seçilebilmesi için oldukça önemlidir (74).

Amiloid protein tipinin belirlenmesi, spesifik tedavi uygulanmadan önce zorunludur. Amiloidin çeşitli dokularda uzaysal dağılımında önemli bir heterojenlik vardır ve belirli organlar için belirli amiloid tiplerinin bir miktar tercihi olsa da, amiloid tipinin tek başına klinik zeminde belirlenmesi güvenilir değildir; amiloid protein tipi, gerçek amiloid birikintilerinin immün ve/veya proteomik muayenesi ile belirlenmelidir. Frozen kesitlerde immünofloresan ve parafin kesitlerinde immünohistokimya geleneksel olarak amiloid tiplemesi için kullanılırken, kütle spektrometrisi, özellikle parafin kesitlerinde amiloid proteinlerinin tiplendirilmesi için tercih edilen yöntem olarak ortaya çıkmıştır. Genel olarak, dondurulmuş kesitlerdeki immünofloresan, parafin kesitlerdeki immünohistokimyadan daha iyi performans gösterir ve dünya çapında birçok laboratuvar tarafından amiloid tiplendirmesinde ilk adım olarak kullanılmaya devam edilir. Daha yakın zamanlarda, parafin kesit immünofloresan uygulamasının, özellikle AH'nin saptanması için rutin parafin kesit immünohistokimyasından üstün olduğu bildirildi (74). Ayrıca, bazı merkezler immunogold etiketlemeyi kullanmaya devam etmektedir. Serbest hafif zincirlere karşı oluşturulan antikor uygulaması geleneksel antikorların aksine daha iyi sonuçlar verebilir (75).

SONUÇ

Amiloidojenik proteinlerin oligomerlerinin dokularda birikimini içeren amiloidozun, AH ve FMF gibi hastalıklarda toksisiteye aracılık etmede anahtar rol oynadığına dair bulgular mevcuttur. Beyin korteksinde nöron ve sinaps kaybını içeren AH'na beyin dokusunda A β fibrillerinin birikiminden kaynaklanan amiloidozun sebep olduğu ve A β birikiminin tau fosforilasyon süreci ile ilişkili olduğu fikri yaygın olarak kabul edilir. Ancak, A β 'nın AH patogenezindeki fonksiyonunu gösterir çalışmaların aksine bazı araştırmacılar A β hipotezini reddetmektedir. AH ile ilişkili yapılan son çalışmalar ise hastalık patogenezinde Ca⁺² homeostazının düzensizliği, mitokondrial hasar, oksidatif stres, aksonal taşınımın değiştirilmesi ve glial aktivasyonun da patogenezde rol oynadığı bildirdi. AH ile ilişkili ileri mekanizmaların aydınlatılması hastalık patogenezinde A β 'nın bir ajan mı yoksa hastalık patolojisinin bir sonucu mu olduğunun aydınlatılmasına yol açacaktır. Amiloidozun farklı bir formunu içeren FMF hastalarında ise SAA artışının böbrek dokusunda amiloid birikimine neden olur. FMF'nin amiloidoz ile ilişkisi çalışmalarda belirtilmesine rağmen mekanizması tam olarak aydınlatılmamıştır. Amiloidozun AH ve FMF'deki rolünün tam olarak aydınlatılması bu hastalıklara dair yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi açısından büyük önem arz etmektedir.

KAYNAKÇA

1. Manning MC, Chou DK, Murphy BM, et al. Expert Review Stability of Protein Pharmaceuticals: An Update. *Pharmaceutical Research*. 2010;4:544-575.
2. Stollar EJ, Smith DP, Stollar E. Uncovering protein structure. *Essays in Biochemistry*. 2020;64:649-680.
3. Chiti F, Dobson CM. Protein misfolding, functional amyloid, and human disease. *Annual Review Biochemistry*. 2006;75:333-366.
4. Uversky VN. Dancing protein clouds: The strange biology and chaotic physics of intrinsically disordered proteins. *Journal of Biological Chemistry*. 2016;291(13):6681-6688.
5. Jain N, Chapman MR. Bacterial functional amyloids: Order from disorder. *Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics*. 2019;1867(10):954-960.
6. Pessayre D, Berson A, Fromenty B, et al. Mitochondria in steatohepatitis. *Seminars in Liver Disease*. 2001;5(21):67-69.
7. Li J, McQuade T, Siemer AB, et al. The RIP1/RIP3 necrosome forms a functional amyloid signaling complex required for programmed necrosis. *Cell*. 2012;150(2):339-350.
8. Cuddy SAM, Falk RH. Amyloidosis as a Systemic Disease in Context. *Canadian Journal of Cardiology*. 2020;36(3):396-407.
9. Chuang E, Hori AM, Hesketh CD, Shorter J. Amyloid assembly and disassembly. *Journal of Cell Science*. 2018;23:131.
10. Baiardi S, Rossi Ma, Capellari S, et al. Recent Advanced in Histo-molecular pathology of human prion disease. *Brain Pathology*. 2019;29:278-300.
11. Kaku M, Berk JL. Neuropathy Associated with Systemic Amyloidosis. *Seminars in Neurology*. 2019;39:578-588.
12. Lee SW, Choi H, Lee G, et al. Conformation Control of Amyloid Filaments by Repeated Ther-

- mal Perturbation. *ACS Macro Letters*. 2021;10(12):1549–1554.
13. Hazenberg BPC. Amyloidosis: A Clinical Overview. *Rheumatic Disease Clinic of North America*. 2013;39(2):323–345.
 14. Ghiso J, Frangione B. Amyloidosis and Alzheimer's disease. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2002;54(12):1539–1551.
 15. Siligato R, Gembillo G, Calabrese V, et al. Amyloidosis and glomerular diseases in familial mediterranean fever. *Med*. 2021;57(10):1049.
 16. Burns A, Iliffe S. Alzheimer's disease. *BMJ*. 2009; 338(7692):467–471.
 17. Calsolaro V, Edison P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions. *Alzheimer's & Dementia*. 2016;12(6):719–732.
 18. Ballatore C, Lee VMY, JQ T. Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. *Neuroscience*. 2007;8:663–672.
 19. Haass C, Selkoe DJ. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: Lessons from the Alzheimer's amyloid β -peptide. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007;8(2):101–112.
 20. Cirrito JR, Yamada KA, Finn MB, et al. Synaptic activity regulates interstitial fluid amyloid- β levels in vivo. *Neuron*. 2005;48(6):913–922.
 21. Selkoe DJ. Alzheimer ' s disease : Genes , proteins , and therapy. *Physiological Reviews*. 2018;81(2001):4110.
 22. Wälti MA, Ravotti F, Arai H, et al. Atomic-resolution structure of a disease-relevant A β (1-42) amyloid fibril. *Proceeding National Academy of Sciences*. 2016;113(34):4976–4984.
 23. Nikolac Perkovic M, Pivac N. Genetic Markers of Alzheimer's Disease. *Advanced in Experimental Medicine and Biology*. 2019;1192:27–52.
 24. Zou K, Kim D, Kakio A, et al. Amyloid β -protein (A β)1-40 protects neurons from damage induced by A β 1-42 in culture and in rat brain. *Journal of Neurochemistry*. 2003;87(3):609–619.
 25. Holtzman DM, Bales KR, Paul SM, DeMattos RB. A β immunization and anti-A β antibodies: Potential therapies for the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2002;54(12):1603–1613.
 26. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002;297(5580):353–356.
 27. Benilova I, Karran E, De Strooper B. The toxic A β oligomer and Alzheimer's disease: An emperor in need of clothes. *Nature Neuroscience Journal*. 2012;15(3):349–357.
 28. Scheuner D, Eckman C, Jensen M, et al. Secreted amyloid β -protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nature Medicine*. 1996;2(8):864–70.
 29. Hecimovic S, Wang J, Dolios G, et al. Mutations in APP have independent effects on A β and CTF γ generation. *Neurobiology of Disease*. 2004;17(2):205–218.
 30. Li NM, Liu KF, Qiu YJ, et al. Mutations of beta-amyloid precursor protein alter the consequence of Alzheimer's disease pathogenesis. *Neural Regeneration Research*. 2019;14(4):658–665.
 31. Kumar-Singh S, Theuns J, Broeck B Van, et al. Mean Age of Onset of Familial Alzheimer Disease Caused by Presenilin Mutations Correlates With Both Increased A β 42 and Decreased A β 42. *Human Mutation*. 2006;27(7):686–695.
 32. Bateman RJ, Xiong C, S BTL, et al. Clinical and Biomarker Changes in Dominantly Inherited Alzheimer's Disease. *The New England Journal of Medicine*. 2012;367(9):795–804.
 33. Ryman DC, Acosta-Baena N, Aisen PS, et al. Symptom onset in autosomal dominant Alzheimer disease. *Neurology*. 2014;83(3):253–260.
 34. Lesné S, Ming TK, Kotilinek L, et al. A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. *Nature*. 2006;440(7082):352–357.
 35. Dumanchin C, Camuzat A, Campion D, et al. Segregation of a missense mutation in the microtubule-associated protein tau gene with familial frontotemporal dementia and parkinsonism. *Human Molecular Genetic*. 1998;7(11):1825–1829.
 36. Ming J, Shepardson N, Yang T, et al. Soluble amyloid beta-protein dimers isolated from Al-

- zheimer cortex directly induce Tau hyperphosphorylation and neuritic degeneration. *PNAS*. 2011;108(14):5819–5824.
37. Götz J, Chen F, Van Dorpe J, et al. Formation of Neurofibrillary Tangles in P301L Tau Transgenic Mice Induced by A β 42 Fibrils. *Science*. 2001;293(5534):1491–1495.
 38. Lewis J, Dickson DW, Lin WL, et al. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science*. 2001;293(5534):1487–1491.
 39. Zempel H, Thies E, Mandelkow E, et al. Abeta oligomers cause localized Ca(2+) elevation, missorting of endogenous Tau into dendrites, Tau phosphorylation, and destruction of microtubules and spines. *J Neuroscience*. 2010;30(36):11938–11950.
 40. Wang L, Li N, Shi FX, et al. Upregulation of AMPK Ameliorates Alzheimer's Disease-Like Tau Pathology and Memory Impairment. *Molecular Neurobiology*. 2020;57(8):3349–3361.
 41. Joseph A, Shukitt-Hale B, Denisova NA, et al. Copernicus revisited: Amyloid beta in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 2001;22(1):131–146.
 42. Lee HG, Zhu X, Castellani RJ, et al. Amyloid-beta in Alzheimer disease: the null versus the alternate hypotheses. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2007;321(3):823–829.
 43. Herrup K. The case for rejecting the amyloid cascade hypothesis. *Nature Neuroscience*. 2015;18(6):794–9.
 44. Mullane K, Williams M. Alzheimer's disease (AD) therapeutics – 1: Repeated clinical failures continue to question the amyloid hypothesis of AD and the current understanding of AD causality. *Biochemical Pharmacology*. 2018;158:359–75.
 45. Sahil K, Barve KH, S KM. Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Current Neuropharmacology*. 2020;18:1106–1125.
 46. Flannery PJ, Trushina E. Mitochondrial dynamics and transport in Alzheimer's disease. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2019;98:109–20.
 47. Swerdlow RH. Mitochondria and Mitochondrial Cascades in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;62:1403–1416.
 48. Labbé K, Murley A, Nunnari J. Determinants and functions of mitochondrial behavior. *Annual Review Cell and Developmental Biology*. 2014;30(1):357–91.
 49. Sheng Z-H, Cai Q. Mitochondrial transport in neurons: impact on synaptic homeostasis and neurodegeneration. *Neurosciences*. 2012;13:77–93.
 50. Misko A, Jiang S, Wegorzewska I, Milbrandt J, Baloh RH. Mitofusin 2 is necessary for transport of axonal mitochondria and interacts with the Miro/Milton complex. *Journal of Neuroscience*. 2010;30(12):4232–4240.
 51. Picone P, Nuzzo D, Giacomazza D, Di Carlo M. β -Amyloid Peptide: the Cell Compartment Multi-faceted Interaction in Alzheimer's Disease. *Neurotoxicity Research*. 2020;37(2):250–263.
 52. Hansson Petersen CA, Alikhani N, Behbahani H, et al. The amyloid beta-peptide is imported into mitochondria via the TOM import machinery and localized to mitochondrial cristae. *Proceedings of National Academy of Science*. 2008;105(35):13145–13150.
 53. Calkins MJ, Manczak Ma, MAo P, et al. Impaired Mitochondrial Biogenesis, defective axonal transport of mitochondria, abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Human Molecular Genetics*. 2011;20:4515–4529.
 54. Zhang L, Trushin S, Christensen TA, et al. Differential effect of amyloid beta peptides on mitochondrial axonal trafficking depends on their state of aggregation and binding to the plasma membrane. *Neurobiological Disease*. 2018;114:1–16.
 55. De Strooper B, Karran E. The Cellular Phase of Alzheimer's Disease. *Cell*. 2016;164(4):603–615.
 56. Çakan M, Aktay Ayaz N, Keskindemirci G, et al. Serum amyloid A as a biomarker in differentiating attacks of familial Mediterranean fever from acute febrile infections. *Clinical Rheumatology*. 2020;39(1):249–253.
 57. Shohat M, Halpern GJ. Familial mediterranean fever-a review. *Genetics in Medicine*. 2011;13(6):487–498.

58. Portincasa P. Colchicine, Biologic Agents and More for the Treatment of Familial Mediterranean Fever. The Old, the New, and the Rare. *Current Medicinal Chemistry*. 2015;23(1):60–86.
59. Akar S, Cetin P, Kalyoncu U, et al. Nationwide Experience With Off-Label Use of Interleukin-1 Targeting Treatment in Familial Mediterranean Fever Patients. *Arthritis Care & Research*. 2018;70(7):1090–1094.
60. Varan Ö, Kucuk H, Babaoglu H, et al. Efficacy and safety of interleukin-1 inhibitors in familial Mediterranean fever patients complicated with amyloidosis. *Modern Rheumatology*. 2019;29(2):363–366.
61. Ihne S, Morbach C, Sommer C, et al. Amyloidosis-the Diagnosis and Treatment of an Underdiagnosed Disease. *Deutsches Arzteblatt International*. 2020;117(10):159–166.
62. Yonem O, Bayraktar Y. Secondary amyloidosis due to FME. *Hepatogastroenterology*. 2007;54(76):1061–1065.
63. Stojanovic KS, Georgin-Lavialle S, Grateau G. Amylose AA. *Néphrologie & Thérapeutique*. 2017;13(4):258–264.
64. Andronesi AG, Ismail G, Gherghiceanu M, et al. Familial mediterranean fever-associated renal amyloidosis: Case report and review of the literature. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 2019;60(4):1299–1303.
65. Schwartz MM, Korbet SM, Lewis EJ. Immunotactoid glomerulopathy. *Journal of American Society of Nephrology*. 2002;13(5):1390–1397.
66. Ozdogan H, Ugurlu S. Familial Mediterranean Fever. *Presse Medical*. 2019;48:61–76.
67. Bellotti V, Chiti F. Amyloidogenesis in its biological environment: challenging a fundamental issue in protein misfolding diseases. *Current Opinion in Structural Biology*. 2008;18(6):771–779.
68. van der Hilst JCH, Yamada T, Op den Camp HJM, et al. Increased susceptibility of serum amyloid A 1.1 to degradation by MMP-1: potential explanation for higher risk of type AA amyloidosis. *Rheumatology*. 2008;47(11):1651–1654.
69. Lannergård A, Larsson A, Kraghsbjerg P, Friman G. Correlations between serum amyloid A protein and C-reactive protein in infectious diseases. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2003;63(4):267–272.
70. Ugurlu S, Egeli BH, Murat BI, et al. Soluble TREM-1 Levels in Familial Mediterranean Fever Related AA-Amyloidosis. *Immunological Investigations*. 2021;50(2–3):273–281.
71. Schulz H. Concerning Congo Red as a reagent for free acids. *Cent fu'r die Med Wissenschaften*. 1886;29–30.
72. Unger PN, Zuckerbrod M, Beck GJ, et al. Study of the Disappearance of Congo Red From the Blood of Non-Amyloid Subjects and Patients with Amyloidosis. *Journal of Clinical Investigation*. 1948;27:111–118.
73. Yakupova EI, Bobyleva LG, Vikhlyantsev IM, et al. Congo Red and amyloids: history and relationship. *Bioscience Reports*. 2019;39(1):20181415.
74. Leung N, Nasr SH, Sethi S. How I treat amyloidosis: the importance of accurate diagnosis and amyloid typing. *Blood*. 2012;120(16):3206–3213.
75. Martini F, Buda G, De Tata V, et al. Different types of amyloid concomitantly present in the same patients. *Hematology Reports*. 2019;11(4):84–88.