



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DOĞAL BİLEŞİKLERİN BİLİŞSEL BOZULMAYI İYİLEŞTİRİCİ
ETKİSİNİN ALZHEİMER FARE MODELİNDE KÜTLE
SPEKTROMETRESİ TEKNİKLERİ İLE ARAŞTIRILMASI**

İREM KIRIŞ
DOKTORA TEZİ

BİYOKİMYA VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet Tarık Baykal

İSTANBUL-2022



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DOĞAL BİLEŞİKLERİN BİLİŞSEL BOZULMAYI
İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN ALZHEİMER FARE MODELİNDE
KÜTLE SPEKTROMETRESİ TEKNİKLERİ İLE
ARAŞTIRILMASI**

İREM KIRIŞ
DOKTORA TEZİ

BİYOKİMYA VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet Tarık Baykal

İSTANBUL-2022

Anabilim Dalı: Biyokimya ve Moleküler Biyoloji
Program: Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Lisans
Derecesiyle Doktora
Tez Başlığı: Doğal Bileşiklerin Bilişsel Bozulmayı İyileştirici
Etkisinin Alzheimer Fare Modelinde Kütle
Spektrometresi Teknikleri ile Araştırılması
Öğrencinin Adı-Soyadı: İrem Kırış
Savunma Sınavı Tarihi: 26/12/2022

Bu tez çalışması jürimiz tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye (Jüri Başkanı) Prof. Dr. Ahmet Tarık BAYKAL
Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi

Üye Prof. Dr. Aysel Özpınar
Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi

Üye Prof. Dr. Mustafa SERTESER
Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi

Üye Prof. Dr. Murat KASAP
Kocaeli Üniversitesi

Üye Doç. Dr. Ceyda AÇILAN AYHAN
Koç Üniversitesi

BEYAN

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

26.12.2022

İrem Kırış

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Kendimin ve tezimin varlığını borçlu olduğum ailem ve dostlarıma ithafen...

Bana bu projede ve ekibinde çalışma fırsatı veren tez danışmanıma, doktora eğitimim sırasında emeği geçen hocalarıma ve BİDEB 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs programı kapsamında beni destekleyen TÜBİTAK’a teşekkür ederim.

Bu araştırma TÜBİTAK tarafından desteklenen 215S168 numaralı (2549 – TÜBİTAK - Polonya Ulusal Araştırma ve Geliştirme Merkezi (NCBR) ile İkili İşbirliği Programı) ve Alzheimer Hastalığı Tedavisine Yönelik Yeni Doğal Bileşiklerin Tanımlanması ve Nörodejenerasyon Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi başlıklı proje kapsamında yapılmıştır.

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (ABAPKO) 2022/30-01 kodlu hızlı destek projesi ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2 GENEL BİLGİLER	5
2.1. Alzheimer Hastalığı.....	5
2.1.1 Tarihçe ve epidemiyoloji.....	5
2.1.2 Tanı.....	6
2.1.3 Nöropatoloji.....	6
2.1.4 Türleri	7
2.1.5 Fazlar	8
2.1.6 Hipotezler	9
2.1.6.1 Amiloid hipotezi	9
2.1.6.2 Tau hipotezi	9
2.1.6.3 Kolinergik hipotez.....	10
2.1.7 Tedavi ve limitasyonları	11
2.1.7.1 Kolinesteraz inhibitörleri	12
2.1.7.1.1 Galantamine (GAL)	12
2.1.7.2 N-metil D-aspartat (NMDA) Antagonisti.....	12
2.1.7.3 Aβ hedefli immünoterapi.....	13
2.2 AH Tedavisi İçin Yeni Potansiyel Bileşikler	14
2.2.1 Alkaloidler	14
2.2.1.1 Lycoramine	14
2.2.1.2 O-demethyl-galantamine	15
2.2.1.3 Palmatine	16
2.2.2 Kumarinler	16
2.2.2.1 Scopoletin	16
2.2.2.2 Pteryxin	17
2.3 AH ve Proteomik Çalışmalar.....	17
2.3.1 Kütle spektrometresi.....	18
2.3.1.1 LC-MS/MS.....	20

2.3.1.2	MRM-MS	20
3	GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1	Gereç.....	21
3.2	Yöntem.....	23
3.2.1	Deney hayvanları.....	24
3.2.1.1	Üretim ve bileşik enjeksiyonları	24
3.2.1.2	Morris su labirenti testi	25
3.2.1.3	Beyin dokularının çıkartılması, bölgelere ayrılması ve saklanması..	25
3.2.2	MRM-MS ile bileşiklerin kan-beyin bariyeri geçişinin araştırılması	26
3.2.2.1	Örnek hazırlığı	26
3.2.2.1.1	GAL	26
3.2.2.1.2	LYC	26
3.2.2.1.3	ODG.....	27
3.2.2.1.4	PAL.....	27
3.2.2.1.5	SCO.....	27
3.2.2.1.6	PTX.....	28
3.2.2.2	MRM-MS analizi.....	28
3.2.2.2.1	GAL	29
3.2.2.2.2	LYC	29
3.2.2.2.3	ODG.....	29
3.2.2.2.4	PAL.....	30
3.2.2.2.5	SCO.....	30
3.2.2.2.6	PTX.....	30
3.2.3	LC-MS/MS.....	30
3.2.3.1	Triptik peptitlerin hazırlanması	31
3.2.3.2	nLC-MS/MS analizi	32
3.2.3.3	Biyoinformatik analizler.....	33
3.2.4	Western blot.....	34
3.2.5	İmmünohistokimya	36
4	BULGULAR	38
4.1.	Genotipleme ve Farelerin Gruplandırılması	38
4.2	Bileşiklerin Belleğe Olan Etkilerinin Morris Su Labirenti ile Tespiti..	38
4.2.1	ALM	40
4.2.2	GAL	41
4.2.3	LYC	41
4.2.4	ODG.....	41
4.2.5	PAL.....	41
4.2.6	SCO	41
4.2.7	PTX.....	42
4.3.	MRM-MS ile Bileşiklerin KBB Geçişinin Tespit Edilmesi	42
4.3.1	GAL	42
4.3.2	LYC	43
4.3.3	ODG.....	44
4.3.4	PAL.....	45
4.3.5	SCO	46

4.3.6	PTX.....	47
4.4	Bileşik Uygulaması Sonrası Beyin Bölgelerindeki Protein İfade Farklılıklarının LC-MS/MS ile Tespiti	48
4.4.1	5xFAD.....	49
4.4.2	GAL	49
4.4.3	LYC	49
4.4.4	ODG.....	49
4.4.5	PAL.....	50
4.4.6	SCO	50
4.4.7	PTX.....	50
4.5	Biyoinformatik Analizler	50
4.5.1	GAL2-LYC(1-2)	51
4.5.2	GAL1-ODG(1-2).....	57
4.5.3	ALM-PAL(1-2)	61
4.5.4	SCO(1-2)-PTX(1-2)	67
4.6	Western Blot Validasyonları	73
4.6.1	ALM-PAL(1-2)	73
4.6.2	SCO(1-2)-PTX(1-2)	74
4.7	İmmünohistokimya ile Aβ Plak Yükünün İncelenmesi	75
4.7.1	GAL2- LYC(1-2)	75
4.7.2	SCO(1-2)-PTX(1-2)	76
5	TARTIŞMA	77
5.1.	GAL2-LYC(1-2)	78
5.1.1	LYC1 ve GAL2’de ortak ifade değişimi gösteren proteinler	79
5.1.2	LYC1’e özgü ifadesi değişen proteinler	80
5.2	GAL1-ODG(1-2)	84
5.3	ALM-PAL(1-2)	87
5.4.	SCO(1-2)-PTX(1-2)	91
6	SONUÇ	93
7	KAYNAKLAR.....	94
8	EKLER.....	107
	EK 1 Bileşik uygulaması sonrasında korteks, hipokampus ya da serebellum bölgelerinde LC-MS/MS ile anlamlı ifade farklılıkları tespit edilen proteinlerin listeleri.	107
	EK 2 Etik kurul izni	161
9	ÖZGEÇMİŞ	162

KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

AA	Amonyum asetat
ABC	Amonyum bikarbonat
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
ACN	Asetonitril
AH	Alzheimer hastalığı
ALM	Transgenik olmayan sağlıklı fareler
APP	Amiloid öncül proteini
Aβ	Amiloid- β
βME	β -merkaptoetanol
BChE	Bütirilkolinesteraz
5xFAD	5 Ailevi AH mutasyonu taşıyan transgenik fare modeli
ChAT	Kolinasetiltransferaz
DO	Değişim oranı (fold change)
DMNC	Maksimum Komşuluk Bileşeninin Yoğunluğu
DMSO	Dimetil sülfoksit
ESI	Elektrosprey iyonizasyonu
FA	Formik asit
FASP	Filter aided sample preparation
GAL	Galantamine
GO	Gen Ontolojisi
HC	Hiyerarşik kümeleme
HH	Huntington hastalığı
IAA	İyodoasetamit
KEGG	Kyoto Genler ve Genler Ansiklopedisi
LAC	Yerel Ortalama Bağlantı Tabanlı Yöntem
LC-MS/MS	Sıvı kromatografisi kütle spektrometrisi
LYC	Lycoramine
MALDI	Matriks destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon
MRM	Çoklu reaksiyon izleme

MSL	Morris su labirenti
nAChR	nikotinik ACh reseptörü
NFY	Nörofibriler yumak
NMDA	N-metil D-aspartat
ODG	O-demethyl-galantamine
ÖPS	Özgül peptit sayısı
PAL	Palmatine
PCA	Temel bileşenler analizi
PFA	Paraformaldehit
PH	Parkinson hastalığı
PSEN1	Presenilin-1
PSEN2	Presenilin-2
PTX	Pteryxin
SCO	Scopoletin
SDS	Sodyum dodesil sülfat

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. A β ve tau patolojisinin AH'deki ilerleyişi.....	8
Şekil 2. Kolinerjik hipotezinin şematik gösterimi.....	10
Şekil 3. AH tedavi potansiyeli olan ve bu çalışmada araştırılan bileşiklerin kimyasal yapıları.....	15
Şekil 4. Kütle spektrometresi ve AH araştırmasındaki başlıca tarihsel olaylar.	17
Şekil 5. Kütle spektrometresi temel bileşenleri.....	19
Şekil 6. Proje iş akış planı.	23
Şekil 7. Morris su labirenti testi sonuçları	39
Şekil 8. GAL'in MRM analizi	42
Şekil 9. LYC'in MRM analizi.....	43
Şekil 10. ODG'nin MRM analizi	44
Şekil 11. PAL'in MRM analizi	45
Şekil 12. SCO'nun MRM analizi.....	46
Şekil 13. PTX'in MRM analizi	47
Şekil 14. GAL2 ve LYC1'in korteks bölgesindeki ifade farklılıklarının biyoinformatik analizleri.	52
Şekil 15. ODG1 ve ODG2'nin serebellum bölgesindeki ifade farklılıklarının biyoinformatik analizleri.....	57
Şekil 16. ODG1 ve ODG2'de 5xFAD'a kıyasla anlamlı değişim gösteren proteinlerin zenginleştiği yolların baloncuk grafiği ile gösterimi.....	60
Şekil 17. ODG1 ve ODG2 için protein-protein etkileşim haritası.....	61
Şekil 18. ALM, 5xFAD ve PAL2'nin hipokampus bölgesindeki ifade farklılıklarının biyoinformatik analizleri.....	62

Şekil 19. ALM, 5xFAD ve PAL2'nin serebellum bölgesindeki ifade farklılıklarının biyoinformatik analizleri.....	63
Şekil 20. PAL2'de 5xFAD'a kıyasla anlamlı değişim gösteren proteinlerin zenginleştiği yolların baloncuk grafiği ile gösterimi.....	65
Şekil 21. PAL için protein-protein etkileşim haritası.....	66
Şekil 22. SCO, PTX uygulaması sonrası korteks bölgesinde ifade farklılığı gösteren proteinlerin biyoinformatik analizleri.	68
Şekil 23. Kumarin bileşiklerin biyoinformatik analizleri	68
Şekil 24: PAL2'nin, HS105, HS12A ve RL12 proteinlerindeki ifade farklılıklarının Western blot ile validasyonları.....	74
Şekil 25. PTX2'nin, vimentin, GFAP, HSP 70, aSyn ve APP proteinlerindeki ifade farklılıklarının Western blot ile validasyonları	74
Şekil 26. Aβ plak yükünü gösteren immünohistokimya görüntüsü.	75
Şekil 27. Aβ plak yükünü gösteren immünohistokimya analizleri.	76

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılan FDA onaylı ilaçlar listesi	11
Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar, alet ve malzeme listesi.....	21
Tablo 3. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler listesi.....	22
Tablo 4. Bileşikler, türleri ve uygulama dozları	24
Tablo 5. Western blot validasyonlarında kullanılan antikorlar, markaları ve dilüsyonları.....	36
Tablo 6. Gruplardaki fare sayıları	38
Tablo 7. Her bileşik için korteks, hipokampus ve serebellum beyin bölgelerine ait LC-MS/MS ile tanımlanan ve anlamlı farklılık gösteren protein sayıları	48
Tablo 8. Bileşiklerin biyoinformatik analizler için gruplandırılması.....	51
Tablo 9. LYC1 ve GAL2'ye özgü ve ortak olarak kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi.....	52
Tablo 10. PTX2'ye özgü veya en az bir başka grupta ortak bulunan, kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi.....	70
Tablo 11. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla korteks bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi	107
Tablo 12. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla hipokampus bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi	114
Tablo 13. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi	117
Tablo 14. GAL1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	125
Tablo 15. GAL2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	128
Tablo 16. LYC1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	129

Tablo 17. LYC2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	133
Tablo 18. ODG2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	134
Tablo 19. ODG1'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi	134
Tablo 20. ODG2'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi	135
Tablo 21. PAL1'de 5xFAD'a kıyasla hipokampus bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi	137
Tablo 22. PAL1'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	138
Tablo 23. PAL2'de 5xFAD'a kıyasla hipokampus bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi	139
Tablo 24. PAL2'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi	139
Tablo 25. SCO1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	142
Tablo 26. SCO2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	146
Tablo 27. SCO2'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi	150
Tablo 28. PTX1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	151
Tablo 29. PTX2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	155
Tablo 30. PTX1'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	159
Tablo 31. PTX2'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi.....	160

ÖZET

Doğal Bileşiklerin Bilişsel Bozulmayı İyileştirici Etkisinin Alzheimer Fare Modelinde Kütle Spektrometresi Teknikleri ile Araştırılması

Alzheimer hastalığı (AH), hafıza kaybı ve ciddi davranış anormalliklerine neden olan amilod- β plakları ve hiperfosforile tau birikimi ile karakterize edilen nörodejeneratif bir hastalıktır. AH teşhislerinin çoğu ileri evrelerde konulsa da mevcut ilaçların birçoğu başlangıç ila orta dereceli evrelerini hedeflemekte ve ancak geçici semptomatik bir rahatlama sağlamaktadır. AH'yi yavaşlatacak, durduracak veya tersine çevirecek tedavilerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Çalışmanın amacı, AH'nin tedavisi için doğal bileşiklerin keşfedilmesini sağlamak ve elde edilen bileşiklerin AH üzerindeki etkisini kapsamlı bir şekilde araştırmaktır. Bu doğrultuda, 6 doğal bileşik, (Galantamine (GAL, pozitif kontrol), Lycoramine (LYC), O-demethyl-galantamine (ODG), Palmatine (PAL), Scopoletin (SCO) ve Pteryxin (PTX)), insan AH'sine oldukça yakın olan ve sıkça kullanılan 12 aylık 5xFAD AH modeli farelere uygulandı. Bileşiklerin; hafıza ve öğrenme üzerine etkileri Morris su labirenti deneyleri ile ölçüldü; kan-beyin bariyeri geçişleri MRM-MS ile analiz edildi; beyin proteomundaki etkileri korteks, hipokampus ve serebellum bölgelerinde LC-MS/MS ile araştırıldı, sonuçlar biyoinformatik analizleriyle anlamlılaştırıldı ve Western blot analizi ile valide edildi; amilod- β plak yükü üzerine etkisi immünohistokimya ile araştırıldı. LYC ve PAL uygulamaları sonrasında farelerde hafıza ve öğrenme yeteneklerinde istatistiksel anlamlı iyileşme gözlemlendi ve kan-beyin bariyerini geçebildikleri kanıtlandı. LYC'in korteks, PAL'in ise hipokampus ve serebellumda protein ifade değişikliklerine sebep olduğu tespit edildi. Proteomik analizler, diğer bileşiklerin farklı dozlarda etkin olabileceğini, daha erken evrelerde veya kombinasyon tedavilerinde değerli birer ajan olabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar Sözcükler: Alzheimer hastalığı, doğal bileşik, proteomiks, nörodejenerasyon, LC-MS/MS.

ABSTRACT

Investigation of Natural Compounds' Effect on Cognitive Impairment in an Alzheimer's Disease Mouse Model via Mass Spectrometry Techniques

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by the accumulation of amyloid- β plaques and hyperphosphorylated tau causing cognitive impairments and severe behavioral abnormalities. Many of the clinical diagnoses of AD are made in the late stages. However, most of the marketed drugs aim for mild to moderate stages of AD, and only provide temporary symptomatic relief. Hence, it is important to find a treatment to slow down, halt or reverse progression of the disease. This study aims to discover natural compounds for the treatment of AD and comprehensively investigate their effects on AD. To this end, 6 natural compounds (Galantamine (GAL, positive control), Lycoramine (LYC), O-demethyl-galantamine (ODG), Palmatine (PAL), Scopoletin (SCO) ve Pteryxin (PTX)) were administered to 12-month-old 5xFAD mice, which a widely used model owing to its success in recapitulating human AD. The drug's effects on cognition were measured by Morris water maze test. The ability to pass through the blood-brain barrier was analyzed via MRM-MS. Protein expression analyses were performed on the cortex, hippocampus, and cerebellum by LC-MS/MS and results were analyzed by bioinformatics tools and validated by Western blot. The effect on amyloid- β load was investigated by immunohistochemistry. LYC and PAL administrations led to statistically significant improvement in both memory and learning abilities in mice. The compounds were proven to be able to cross the blood-brain barrier. LC-MS/MS analysis revealed LYC led protein alterations in the cortex, whereas PAL affected the hippocampus and cerebellum. Proteomics analyzes indicate that other compounds might be effective in different doses, candidates for earlier stages of AD or can be evaluated for combination therapies.

Keywords: Alzheimer's disease, natural compounds, proteomics, neurodegeneration, LC-MS/MS

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer hastalığı (AH), hafıza eksiklikleri, ciddi davranış anormallikleri ve nihayetinde ölümle karakterize edilen günümüzün en önde gelen sağlık sorunlarından biridir (1). AH'nin patolojik belirteçleri, amiloid- β ($A\beta$) plakları ve nörofibriler yumaklar (NFY'ler), 1907'de Alois Alzheimer tarafından tanımlandıklarından beri aynıdır (2,3). Bununla birlikte hala, AH'yi iyileştirecek, tersine çevirecek veya ilerlemesini durduracak hiçbir ilaç yoktur. AH hasta sayısı her yıl büyük ölçüde artmakta ve 2030'da 78 milyona ulaşması beklenmektedir (1). AH teşhisi çoğu zaman ilerleyen evrelerde koyulmaktayken, mevcut ilaçlar çoğunlukla hastalığın hafif ila orta dereceli evrelerini hedeflemekte ve bu evrelerde yalnızca geçici bir rahatlama sağlayarak bir sonraki evreye geçişini geciktirebilmektedir (4). Bu nedenle, AH'nin ileri aşamalarını hedefleyen bir tedavi bulmak elzemdir.

Doğa kimyasal yapılardan oluşan bir kitaplıktır ve genellikle ilaç adaylarının araştırılması bunların birincil kaynağı olan bitki özleriyle başlar. Bitki bileşikleri, AH tedavisi için hala en umut verici molekülüdür. 27000'den fazla farklı bitki alkaloidi tanımlanmış ve bunlardan ikisi bugün Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (*U.S. Food and Drug Administration*, FDA) onaylı ilaç olarak kullanılmaktadır (5). Özellikle yüksek kolinesteraz inhibitör aktiviteleri ve nörolojik hastalıklarla ilişkilendirilen alkaloidler ve kumarin grubu bileşikler AH tedavisi için potansiyel tedavi ajanı olarak görülmektedirler.

Fare modelleri, insan hastalıklarının mekanizmalarını incelemek ve terapötik stratejileri araştırmak için paha biçilmez varlıklardır. 5 ailevi Alzheimer hastalığı mutasyonu (5xFAD) taşıyan transgenik fare, insan AH'sinde mevcut olan patolojik $A\beta$ plaklar, sinaptik dejenerasyon, gliosis, nöronal kayıp ve ilerleyici bilişsel bozulma gibi değişiklikleri hızlı bir şekilde sergilenmesi nedeniyle AH çalışmaları için yaygın olarak tercih edilen bir modeldir (6). Yaşa bağlı hafıza kaybı, 5xFAD farelerinde 6 aylıkken başlar ve bu andan itibaren ilerler; benzer şekilde hastalığın histopatolojik semptomları zamanla progresif olarak kötüleşir (7–10). Ek olarak, gen ekspresyonundaki değişikliklerin, artan yaşla insan AH beynine daha çok benzediği (11) ve 12 aylık 5xFAD farelerdeki yolakların, insan AH'sine benzerliği (12,13) çeşitli

alışmalarla ortaya koyulmuştur. Verilen bilgiler ışığında 12 aylık 5xFAD fareleri potansiyel terapötiklerin etkinliğinin araştırılması için uygun bir model sunmaktadır.

Proteomik çalışmaların uygulanması sayesinde hastalığın ve ilaç adaylarının moleküler mekanizmaları ortaya çıkarılabilir (14,15). Etiketsiz ve hedefsiz sıvı kromatografisi kütle spektrometrisi (LC-MS/MS), hücrenin işlevsel anlık ve o anda nispi ölçümünü sağlamak için görüntüsünü alabilen ve ardından hastalığın ilerlemesine dahil olan binlerce proteini doğru bir şekilde tanımlayabilen güçlü bir araçtır (16,17).

Bu çalışmanın amacı ileri evre AH modelinde iyileşme sağlayan bir bileşik keşfetmek ve bu bileşiğin mekanizmasını kapsamlı bir şekilde protein seviyesinde araştırmaktır. Bu amaçla, alkaloid grubundan Galantamine (FDA onaylı AH ilacı, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır), Lycoramine, O-demethyl-galantamine, Palmatine; kumarin grubundan ise Scopoletin ve Pteryxin bileşikleri Polonyalı proje ortakları tarafından izole edilerek yüksek saflıkta tarafımıza gönderildi ve her bileşik kendine özgü olmak üzere iki farklı dozda 12 aylık farelere 7 gün boyunca *intraperitoneal* olarak uygulandı. Ardından bileşiklerin öğrenme ve hafıza üzerindeki olası etkileri, Morris su labirenti testi ile değerlendirildi. Bileşiklerin kandan beyne geçişindeki ilk engel olan kan-beyin bariyerinden geçişleri MRM-MS ile araştırıldı. Ayrıca LC-MS/MS kullanılarak korteks, hipokampus ve serebellum bölgelerindeki protein ifade değişiklikleri incelendi ve biyoinformatik analizler gerçekleştirildi. LC-MS/MS ile tespit edilen protein ifade değişikliklerinin teyidi Western blot analizleri ile gerçekleştirildi. İlgili bileşikler için A β yükündeki değişiklikler imünohistokimya tekniği ile araştırıldı.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Alzheimer Hastalığı

Yaşlılarda en sık karşılaşılan demans formu olan AH dil, muhakeme, yönelim ve ağırlıklı olarak hafızayı içeren bilişsel işlevlerdeki kayıplarla karakterize, ilerleyici bir nörodejeneratif bozukluktur. Evreler ilerledikçe, hastalarda apati, depresyon, iletişim ve oryantasyon bozukluğu, zayıf muhakeme, yutma ve yürüme güçlüğü ve davranış değişiklikleri gözlemlenmektedir.

2.1.1 Tarihçe ve epidemiyoloji

Geçmişi antik yunanlılara dayanan demans teriminin anlamı latince ‘-siz, -sız’ olumsuzluk ekine tekabül eden *de* ve akıl anlamına gelen *mens* kökünden oluşan *demens* (akılsız) kelimesinden gelmektedir (18). 1901 yılında hızlı şekilde kötüleşen hafıza zayıflığı, belirgin psikososyal bozukluk, ani bağırma atakları, yer ve zaman oryantasyon bozukluğu gibi nedenlerle akıl hastanesine yatırılan ve 5 yıl boyunca takip edilen Auguste Deter isimli hastanın, 56 yaşında ölümünden sonra yapılan otopside Dr. Alois Alzheimer hastanın beyinde küçülmenin yanı sıra garip oluşumlar ve yoğun demetler adını verdiği, şimdi Aβ plakları ve NFY’ler olarak bilinen oluşumlara işaret etmiştir (19). Bu yeni demans formu dönemin ünlü psikiyatristi Emil Kraepelin tarafından kitabında ilk defa AH olarak kullanılarak literatüre kazandırılmıştır (18).

Demans vakaları içinde AH oranının %60-80 arasında olduğu düşünülmektedir. Dünyada demans vaka sayısının 55 milyon olduğu, ve bu sayının 2050’de 139 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Mevcut AH vakalarının 2/3’ü kadın olup, 60 yaşından sonra bir kadının AH’ye yakalanma riski meme kanseri olma riskinden 2 kat daha fazladır. Demans dünyada başlıca 7. ölüm sebebidir, meme ve prostat kanserinin neden olduğu ölümlerin toplamından daha fazla ölüme sebep olmaktadır. Gün geçtikçe AH vaka sayısının yanı sıra ekonomik ve sosyal yük de önemli ölçüde artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (The World Health Organization, WHO) 2019 yılında demansın küresel ölçüdeki toplumsal maliyetinin 1,3 trilyon \$ olduğunu tahmin etmektedir (1,20).

2019'da Türkiye'de ise 800 bin AH vakası olduğu ve bu sayının 2050 yılında 3 milyonu geçeceği öngörülmektedir (21).

2.1.2 Tanı

1984 yılında Ulusal Nörolojik ve İletişimsel Bozukluklar ve İnme Enstitüsü (NINCDS) ve AH ve İlişkili Bozukluklar Derneği (ADRDA), AH için klinik tanı kriterleri oluşturmak üzere bir çalışma grubu (NINCDS-ADRDA) oluşturdu. Bu kriterlere göre AH'nin klinik tanısı için 3 grup belirlenmiştir. Tüm gruplarda belirtiler 40-90 yaş aralığında başlayabilir. Olası AH tanısı, nörofizyolojik testlerle kanıtlanan demans, ilerleyen hafıza kaybı, günlük işlemlerde aksamalar, dil ve motor beceri bozuklukları varlığında koyulur. Mümkün AH klinik tanısı, demansın birincil sebebini açıklayabilir nitelikte bir diğer nörolojik veya psikiyatrik bozukluğun yokluğunda ancak sistemik ya da beyin ile ilişkili bir hastalığın varlığında koyulur. Kesin AH tanı kriterleri ise olası AH kriterlerine ek olarak biyopsi veya otopsi ile histopatolojik tanı bulgularının varlığı olarak belirlenmiştir (22,23).

2.1.3 Nöropatoloji

AH'de hastalığın ilerleyişi ve semptomları hakkında bilgi veren nöropatolojik değişiklikler birikmeler ve kayıplar olarak iki ana başlıkta toplanabilir. NFY ve A β plakları AH'nin başlıca patolojik belirteçlerindendir, ancak bunların yanı sıra distrofik nöritler, nöropil iplikler ve bazı diğer tortular Alzheimer hastalarının beyinlerinde birikim göstermektedir. Diğer yandan nöral, nöropil ve sinaptik kayıp nedeniyle beyin hacminde büyük oranda küçülme görülmektedir. Ayrıca, nöroinflamasyon, oksidatif stres ve kolinerjik nöronların yaralanması gibi diğer faktörlerin de nörodejenerasyona neden olduğu düşünülmektedir (22,24,25).

A β plakları (senil plaklar), amiloid öncül proteininin (amyloid precursor protein, APP) sırasıyla β -sekretaz ve γ -sekretaz enzimleri ile peş peşe kesilmesi ve kesilen parçaların bir araya gelerek birikmesi sonucu oluşur. Bu enzimler APP'yi çeşitli uzunluklarda peptit dizilerine böler, bunlardan en önemlileri A β 40 ve A β 42'dir. Beyinde A β birikimi öncelikle korteks bölgesinde başlayıp beyinköküne doğru

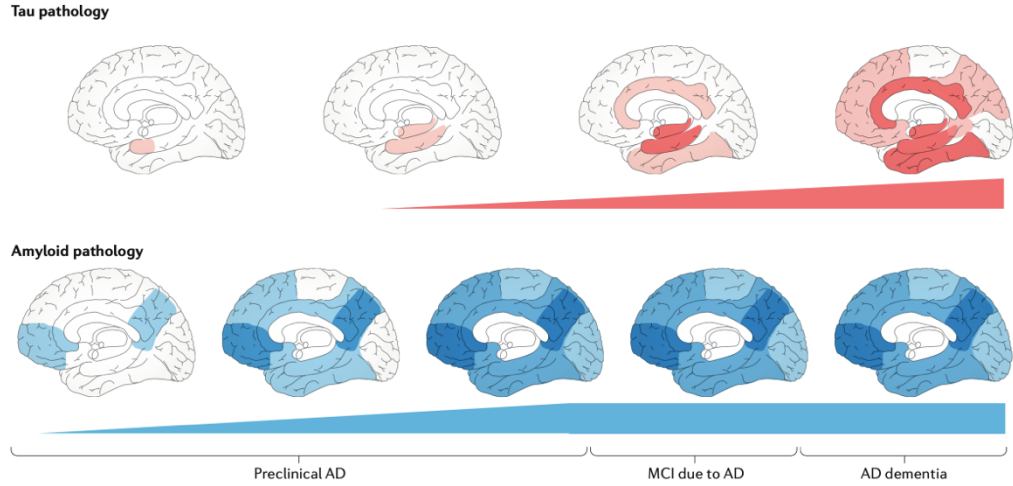
yayıldığı, en son fazda serebelluma dağıldığı gösterilmiştir (Şekil 1). A β , nörotoksisite ve nöral fonksiyonda önemli bir rol oynar, bu nedenle, hipokampus, amigdala ve serebral kortekste daha yoğun plakların birikmesi, bilişsel bozukluklara ek olarak astrositlerin ve mikrogliaların uyarılmasına, akson - dendritlerde hasara ve sinaps kaybına neden olabilir (26,27).

NFY hiperfosforile tau proteininin anormal filamentleridir ve bazı aşamalarda çift sarmal filament oluşturmak üzere birbiri etrafında bükülebilir ve nöralperikaryal sitoplazmada, aksonlarda ve dendritlerde birikerek sitoskeletal mikrotübüllerin ve tübülün ilişkili proteinlerin kaybına neden olur. NFY beyinde ilk entorhinal kortekste görülür, ardından sırasıyla limbik bölgelerde ve neokorteks boyunca yayılım gösterir (28,29).

Sinaptik kayıp günümüzde AH'nin temel patolojik belirteçlerinden kabul edilmektedir. Korteks ve limbik sistemdeki sinaptik hasar, hafıza bozukluğuna neden olur ve genellikle AH'nin erken evrelerinde görülür. Sinaptik kayıp mekanizmaları, aksonal taşıma, mitokondriyal hasar, oksidatif stres ve sinaptik bölgelerde A β ve tau birikimi gibi küçük fraksiyonlara katkıda bulunabilen diğer süreçlerdeki kusurları içerir. Bu süreçler sonunda dendritik dikenlerin, pre-sinaptik terminallerin ve aksonal distrofinin kaybına yol açar (30).

2.1.4 Türleri

AH'nin oluşum nedenine göre sporadik ve ailesel olmak üzere iki türü vardır. Sporadik formu tüm vakaların %95'ini oluşturmakta olup çevresel, genetik ve epigenetik gibi çok faktörlü sebeplere bağlı oluşmaktadır. Kalan %5'lik kısmı ise kalıtsal olup, semptomlar 65 yaş öncesinde görülmeye başlar. Bu erken başlangıçlı AH vakalarının yarısındaki hastalık 1 tanesi APP genindeki, kalanlar ise APP metabolizmasından görevli olan 2 proteinin kodlanmasında sorumlu Presenilin-1 (PSEN-1) ve Presenilin-2 (PSEN-2) genlerinde meydana gelen toplamda 3 mutasyon nedeniyle oluşmaktadır (32).



Şekil 1. A β ve tau patolojisinin AH'deki ilerleyişi. Tau kırmızı, A β mavi ile gösterilmiş, renklerin koyuluğu birikimin şiddeti ile birlikte artmaktadır (31).

2.1.5 Fazlar

AH'nin klinik evreleri 5'e ayrılır (30,33,34).

1) Faz 1 – klinik öncesi dönem (pre-clinical/pre-symptomatic): klinik belirti ve semptomların gözlenmesinden önce birkaç yıl veya daha fazla sürebilen bu fazda, hafif hafıza kayıpları ile korteks ve hipokampüste A β plaklarının varlığı tespit edilebilir.

2) Faz 2 – AH'ye bağlı hafif bilişsel bozukluk (mild cognitive impairment (MCI) due to AD): hafıza sorunlarının baş göstermeye başladığı ancak henüz günlük hayatı etkileyecek şiddete ulaşmayan semptomlar görülür.

3) Faz 3 – erken/orta evre (early/mild AD): üç aşamalı yaklaşımlara göre erken evre olarak görülen faz olup, hafıza ve düşünmedeki problemlerin kişinin hayatını etkileme ve çevresindekiler tarafından fark edilir olma durumuna geldiği durumdur. Bu evrede A β plakları ve NFY'ler beyinde yayılmaya devam etmektedir.

4) Faz 4 – orta evre (moderate AD): Hastalığın serebral korteks alanlarına yayıldığı, aile ve arkadaşları tanımada güçlük, dürtü kontrolünün kaybı ve okuma, yazma ve konuşma gücüyle artan hafıza kaybıyla karakterize orta AH evresidir.

5) Faz 5 – şiddetli/ileri evre AH (advanced/severe AD): Hastaların ailelerini hiç tanıyamadıkları, yutma ve idrara çıkma güçlükleri çektikleri ve yatalak hale geldikleri bu evrede bu komplikasyonlar hastanın ölümüne yol açabilmektedir. Bu evrede A β plakların ve nörofibriler yumakların beyinin büyük bir alanına yayıldığı görülür.

2.1.6 Hipotezler

AH artan yaş, genetik faktörler, damar hastalıkları, kafa yaralanmaları ve çevresel faktörler gibi birden fazla risk faktörleriyle ilişkilendirilmiş çok faktörlü bir hastalık olarak kabul edilmiştir (4). AH'de görülen patolojik değişikliklerin altında yatan mekanizma hala çözülememiş olup, ancak konu ile ilgili ön plana çıkan birkaç hipotez mevcuttur.

2.1.6.1 Amiloid hipotezi

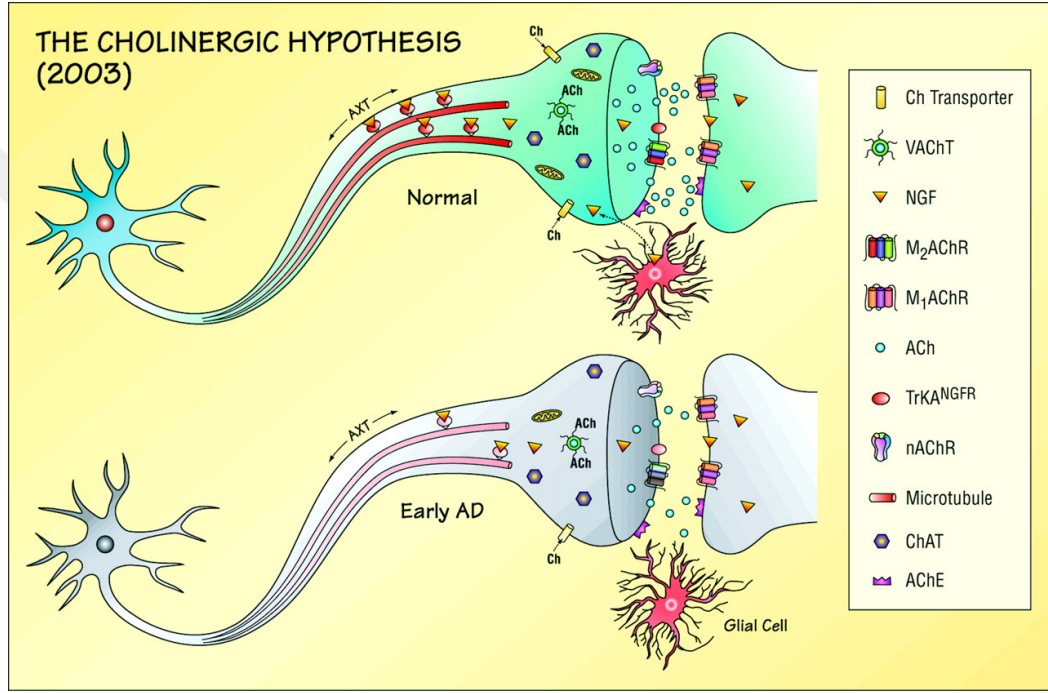
Normalde 4 kDa'lık A β peptidi APP'den kesildikten sonra hücre dışında hızlıca yıkıma uğrar, ancak yaşlılarda veya patolojik şartlar altında, metabolik süreçlerin A β 'yı yıkma yeteneği azalır ve A β peptitleri birikmeye başlar. A β 40 ve A β 42 (A β 40'tan daha hidrofobiktir) seviyelerinin artmasıyla amiloid fibril oluşumları ve dolayısıyla plak oluşumları artar. Nörotoksisiteyi ve tau patolojisini tetikleyen bu artış nöronal ölümlere, sinaptik disfonksiyona ve nihai olarak nörodejenerasyona sebebiyet verir. AH risk faktörleri ve APP, PSEN1 ve PSEN2'deki mutasyonların A β katabolizması ve anabolizmasını etkileyerek, A β 'nın hızlı birikmesine yol açar ve nörodejenerasyondaki hızlı ilerleyişe neden olur (35). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda sağlıklı yaşlı beyin dokularında da A β plak birikimlerine rastlanması nedeniyle, son yıllarda kalıtsal olmayan AH formu için alternatif hipotezler önerilse de amiloid kaskad hipotezi günümüzde hala kalıtsal AH için yaklaşık 25 yıldan fazla bir süredir olduğu gibi en çok kabul gören hipotez olmaya devam etmektedir (36,37).

2.1.6.2 Tau hipotezi

Tau mikrotübül birleşmesinde ve stabilizasyonunda yer alan bir proteindir. AH'de tau anormal şekilde fosforile olur, çift sarmal filamentler halinde toplanır ve aksonal

mikrotübülleri stabilize etme yeteneğini kaybeder (38). Bu da taşıma sistemi, hücre iskelet sistemi, sinyal sistemi ve mitokondriyal bütünlük gibi geniş hasarlara neden olur. NFY'lerin yayılımı bilişsel ve klinik semptomlar ile oldukça koreledir (39). Ancak tau mutasyonları, kortikobazal dejenerasyon ve frontotemporal demans gibi tauopatilere yol açarken, AH'ye neden olmamaktadır (40).

2.1.6.3 Kolinergik hipotez



Şekil 2. Kolinergik hipotezinin şematik gösterimi (42). Sağlıklı genç nöronlara kıyasla yaşlı (normal) ve erken AH (early AD) beyinde meydana gelen kolinergik nöronlarda görüldüğü düşünülen değişiklikleri temsil etmektedir.

Kolinergik hipotez günümüzdeki en güçlü hipotezlerden biridir ve FDA onaylı ilaçların birçoğunun mekanizması bu hipoteze dayanmaktadır (41,42). Bu hipotez dikkat, öğrenme ve hafıza sürecinde etkili bir nörotransmitter olan asetilkolin (ACh) konsantrasyonundaki azalmanın AH'de görülen kolinergik aktivite kaybının birincil nedeni olduğunu savunur. Bu azalmanın nedeni ACh üretiminde görevli kolinasetiltransferaz (ChAT) enzimindeki bozukluk ya da ACh yıkımında görevli asetilkolinesteraz (AChE) enziminin aktivitesindeki artıştır (Şekil 2). Hipotezin ilk ortaya çıkış noktası AH'de ChAT aktivitesinin korteks ve hipokampüste azaldığı tespit

edilmesi ve bu bölgelerde presnaptik nöronlara kolin alınımıyla başlatılan ACh salınımının azalmasının bulunması ile olmuştur (43). Ayrıca A β 'nın da kolinerjik nörotransmisyonu etkilediği, kolin alımını ve AChE salımını azalttığı düşünülmektedir. Çalışmalar, kolinerjik sinaptik kayıp ve amiloid fibril oluşumunun A β oligomerlerinin nörotoksitesi ve AChE ile A β peptidi arasındaki etkileşimler ile ilişkili olduğunu göstermiştir. AChE hariç ACh yıkımından sorumlu olan bir enzim daha vardır: butirikolinesteraz (BChE) (44) ancak AChE beyindeki ACh yıkımının %80'inden sorumlu olduğu için BChE'ye göre daha ön plandadır.

2.1.7 Tedavi ve limitasyonları

Tablo 1. Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılan FDA onaylı ilaçlar listesi

	Bileşik adı	Mekanizma	Marka ismi	Kullanıldığı evre	Onay yılı
1	Donepezil	Kolinesteraz inhibitörü	Aricept	Hepsi	1997
2	Rivastigmine	Kolinesteraz inhibitörü	Exelon	Erken ve orta	2000
3	Galantamine	Kolinesteraz inhibitörü	Razadyne	Erken ve orta	2001
4	Memantine	NMDA reseptörü antagonisti	Namenda	Orta ve ileri	2003
5	Donepezil ve Memantine	NMDA reseptörü antagonisti ve Kolinesteraz inhibitörü	Namzaric	Orta ve ileri	2014
6	Aducanumab	Amiloid-beta hedefli antikör	Aduhelm	Erken ve orta	2021

Günümüzde kullanılan AH ilaçları bilişsel kaybı önlemeyi hedeflemekte, ilerleyici bir hastalık olan AH'nin bir sonraki evreye geçişini yavaşlatabilmektedir. Birçok vakada ilaçlar sadece limitli bir zaman diliminde iş görmekte ve bazılarında ise etki dahi göstermemektedir.

Günümüzde 6 adet FDA onaylı ilaç kullanılmakta, bunlardan 3 tanesi kolinesteraz inhibitörü, 1 tanesi N-metil D-aspartat (NMDA) antagonisti, 1 tanesi kolinesteraz inhibitörü ve NMDA antagonisti kombinasyonu ve en son onaylanan Aducanumab ise bir monoklonal antikordur. İlk 5 tanesi semptomatik tedavi amacıyla kullanılmaktayken, sonuncusu ise hastalık modifiye edici ilaç olarak kabul edilmektedir (4).

2.1.7.1 Kolinesteraz inhibitörleri

Bu ilaçların çalışma stratejisi, kolinerjik hipoteze dayanmaktadır. AH beyinde azalan ACh seviyelerinin, yıkımında görev alan AChE enziminin baskılanmasıyla arttırılmasını hedefler (45). Kolinesteraz inhibitörleri, asetilkolinin parçalanmasını engellemek ve kolinerjik sinapslarda aktivitesini sürdürmek için tasarlanmıştır. FDA tarafından 1993 yılında AH ilacı olarak onaylanan ve aynı zamanda AChE inhibitörü olan ilk ilaç Tacrine'dir, ancak diğer kolinesteraz inhibitörlerinin de onaylanmasından sonra özellikle karaciğerde görülen yüksek toksisite ve mide bulantısı, baş dönmesi, baş ağrısı, kusma gibi diğer yan etkiler sebebiyle piyasadan kaldırılmıştır. AH tedavisi için günümüzde kullanılan FDA onaylı kolinesteraz inhibitörleri Donepezil, Galantamine (GAL) ve Rivastigmine'dir (Tablo 1). Bu ilaçların, plasebo tedavisiyle karşılaştırıldığında biliş, günlük ve genel işlevi ve AH'nin bazı davranışsal belirtilerini istatistiksel olarak anlamlı şekilde iyileştirdiği gösterilmiştir (46,47).

2.1.7.1.1 Galantamine (GAL)

GAL izokinolin alkaloid ailesi üyesidir (Şekil 3A) ve etkisini AChE'yi inhibe ederek kolinerjik sistem üzerinden göstermektedir. Ayrıca, bu mekanizmaya ek olarak GAL pre- ve post-sinaptik nikotinik ACh reseptörlerinin (nAChR) allosterik güçlendirilmesi yoluyla nikotinik nörotransmisyonu modüle eder (48). Presinaptik nAChR'ler ACh salınımına aracılık edebildiğinden, bu reseptörlerin allosterik modülasyonu ACh'nin ve normal beyin fonksiyonunda önemli roller oynayan glutamat ve dopamin gibi diğer nörotransmitterlerin salınımını artırabilir (49,50). Bu nedenle GAL, agonistlerin nAChR üzerindeki etkilerini güçlendirerek AH'de önemli klinik faydalar sergiler. GAL en yaygın olarak mide bulantısı, kusma, ishal ve anoreksi gibi yan etkilerle ilişkilendirilmiştir (51,52).

2.1.7.2 N-metil D-aspartat (NMDA) Antagonisti

NMDA reseptörünün (NMDAR) AH patofizyolojisinde baskın bir role sahip olduğuna inanılmaktadır. NMDAR'nin uyarılması, sinyal iletimini aktive eden Ca^{2+} akışına neden olur ve sonuç olarak, sinaptik nörotransmisyon, plastisite ve hafıza

oluşumu için önemli olan uzun dönem kuvvetlendirmenin (long term potentiation, LTP) oluşumu için gerekli olan gen transkripsiyonunu tetikler. NMDAR'lerin aşırı aktivasyonu, anormal düzeyde Ca^{2+} sinyaline ve merkezi sinir sistemindeki birincil uyarıcı amino asit olan glutamatın aşırı uyarılmasına neden olur, bu da eksitotoksiste, sinaptik işlev bozukluğu, nöronal hücre ölümü ve bilişsel işlevlerde azalma ile sonuçlanır. Bu kategorideki onaylı tek ilaç olan Memantine (Tablo 1), NMDA reseptörlerinin rekabetçi olmayan, düşük ila orta afiniteli bir antagonistidir böylece NMDA reseptörlerini kısmen bloke ederek bu yıkıcı olaylar zincirini önlemeye yardımcı olur (53).

Ayrıca Donepezil ve Memantine hem kolinejik hem de glutamaterjik sistemdeki bozuklukları birlikte desteklemek adına iki yaklaşım kombine edilmiş ve bu formülasyon da FDA tarafından onaylanarak 2014 yılında alternatif bir ilaç olarak piyasaya sunulmuştur (Tablo 1).

2.1.7.3 Aβ hedefli immünoterapi

Aducanumab sadece Aβ agregatlarına yüksek afinite ile bağlanarak birbirlerine olan etkileşimlerini azaltarak Aβ plaklarının daha küçük oligopeptitlere veya amino asitlere parçalanmasını sağlayan tamamen insan monoklonal bir antikordur (54). Çalışmalar her ne kadar üretime müdahale edilmediğinden dolayı Aβ birikimi devam etse, beyinde halihazırda var olan Aβ yükündeki azalmanın bilişsel gerilemeyi yavaşlattığını iddia etmektedir (31). Bu anlamda hastalığı modifiye edici ilk modifiye edici ilaçtır.

Aducanumab 7 Haziran 2021 tarihinde FDA tarafından koşullu hızlandırılmış onay yolu ile onaylanmış ve Amerika'da piyasaya sunulmuştur. Ancak oldukça tartışmalı olan bu ilaca, Avrupa İlaç Birliği (The European Medicines Agency, EMA) başta olmak üzere birçok ülke tarafından Faz 3 deney sonuçlarındaki çelişkiler ve beyin kanaması gibi ciddi risklerinin olması nedeniyle kullanım izni verilmemiştir (55).

2.2 AH Tedavisi İçin Yeni Potansiyel Bileşikler

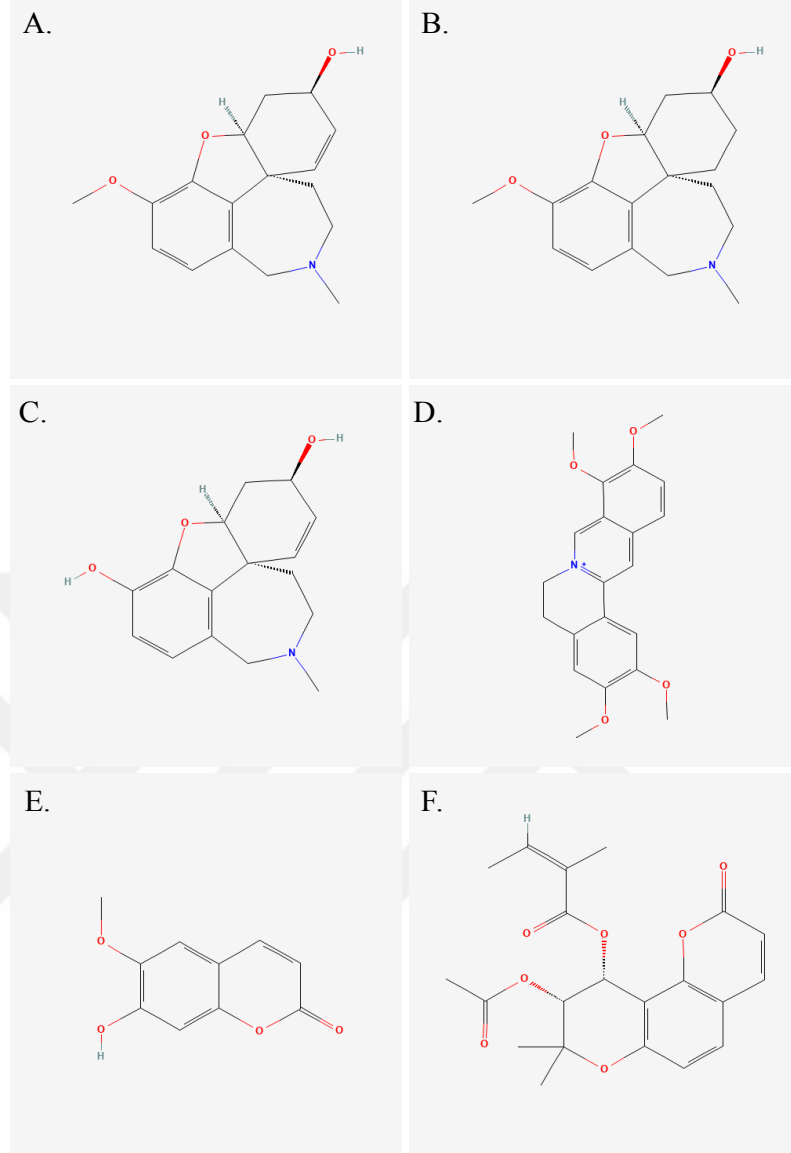
Doğa kimyasal yapılardan oluşan bir kitaplıktır ve genellikle ilaç adaylarının araştırılması bunların birincil kaynağı olan bitki özleriyle başlar. Bitkilerden elde edilen doğal bileşikler, AH tedavisi için hala en umut verici moleküller olmaya devam etmektedir. Bugüne kadar 27000'den fazla farklı bitki alkaloidi tanımlanmış ve bunlardan 2 tanesi ilaç olarak onaylanmıştır. Gelecek vadeden diğer 4 bitki bazlı molekül için klinik deneyler yapılmış, ancak başarılı olamamıştır (5). Bu çalışmada araştırılan, alkaloid ve kumarin gruplarından bileşikler bu başlık altında tanıtılmıştır.

2.2.1 Alkaloidler

Alkaloidler, öncelikle bitkilerde, özellikle de bazı çiçekli bitki ailelerinde bulunan, doğal olarak oluşan organik nitrojen içeren bileşiklerin bir sınıfıdır. Alkaloid içeren ekstraktlar, 3000 yılı aşkın bir süredir terapötik olarak, örneğin yılan sokması, ateş ve deliliğin tedavisinde kullanılmıştır (56). Morfin, 19. yüzyılda modern kimya tarafından keşfedilen ilk alkaloidken, sonradan kafein ve nikotin onu takip etmiştir (57). Modern tıpta alkaloidler, etkileri nedeniyle çok çeşitli farmakolojik uygulamalara sahiptir bunlara örnek olarak şunlar verilebilir: analjezik, antiastmatik, antiaritmik, antikanser, antihipertansif, ateş düşürücüler, antibakteriyel ve antihiperglisemik (58). AH tedavisi için FDA onaylı kolinesteraz inhibitörlerinden ikisi, Galantamine ve Rivastigmine, alkaloidlerdir. Tüm bu bilgiler alkaloidlerin AH için bir kaynak olarak önemini vurgulamaktadır (59).

2.2.1.1 Lycoramine

Lycoramine (LYC), Amaryllidaceae ailesinden GAL benzeri bir alkaloiddir (Şekil 3B). SH-SY5Y hücrelerinde, hücre hasarı ve ölümüne karşı nöroprotektif etki gösterdiği raporlanmıştır (60). LYC ile ilgili az sayıda çalışma olsa da in vitro deneyler AChE inhibitör aktivitesinin GAL'den %42 daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur (61).



Şekil 3. AH tedavi potansiyeli olan ve bu çalışmada araştırılan bileşiklerin kimyasal yapıları. A. Galantamine (GAL), B. Lycoramine (LYC), C. O-demethyl-galantamine (ODG), D. Palmatine (PAL), E. Scopoletin (SCO), F. Pteryxin (PTX).

2.2.1.2 O-demethyl-galantamine

O-demethyl-galantamine (ODG), aynı zamanda sanguinine olarak da adlandırılmaktadır, başka bir Amaryllidaceae alkaloididir. ODG, GAL'in beyindeki ana metabolitlerindendir (62). GAL'den bir metil grubu eksik olan ODG'nin (Şekil 3C) AChE inhibitör aktivitesinin yaklaşık 10 kat daha yüksek olduğu in vitro testler ile tespit edilmiştir (61,63,64).

2.2.1.3 Palmatine

Bir izokinolin alkaloidi olan Palmatine (PAL)'in, anti-kanser, anti-bakteriyel, anti-viral, anti-inflamatuar, kan-lipid düzenleyici ve nöroprotektif aktiviteler gibi çok çeşitli özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Şekil 3D) (65). Ayrıca PAL'in AChE ve BuChE inhibe edici aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır (66,67). Ek olarak, gerçekleştirilen in vitro analizler, A β plaklarının oluşumunun ve tau proteini agregasyonunun PAL varlığında azaldığını kanıtlamıştır (68). Diğer çalışmalarda bu alkaloid, İsviçre ırkı genç erkek albino farelerde skopolamin ve diazepamın neden olduğu amnezide prokognitif etki göstermiştir (69). Birlikte ele alındığında, daha önce yayınlanmış çalışmaların sonuçları, PAL'in kanıtlanmış in vitro ve in vivo aktiviteleri nedeniyle AH ile mücadele etme potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir.

2.2.2 Kumarinler

Bitkilerin aromatik organik sekonder metabolitleri olan kumarinler, basit, çok yönlü yapıları çeşitli protein hedeflerinin bağlamasına izin verdiği için farmasötik araştırmalar için oldukça değerli bir hedeftir. Düşük toksisite ve yan etkilerin yanı sıra düşük ilaç direnci ek faydalardır (70,71). Kumarinlerin, özellikle anti-nörodejeneratif (72–74) ve anti-inflamatuar (75) olmak üzere çeşitli etkileri olduğu bildirilmiştir (76,77).

2.2.2.1 Scopoletin

Basit yapılu bir kumarin olan Scopoletin (SCO) (Şekil 3E), anti-enflamatuar, anti-oksidan aktiviteye, AChE ve monoamin oksidaz inhibitör aktivitesine sahip olmasıyla AH ile ilişkilendirilmiş kumarin türevlerinden biridir (78–80). Klinik öncesi fare modellerinde nöroprotektif özellikleriyle bilinir (81). Çalışmalar, SCO'nun dopamin seviyelerini önemli ölçüde artırdığını (82), antioksidan enzimler yoluyla nörodejenerasyonu azalttığını (83) ve in vivo A β 25-35 kaynaklı sitotoksositeye karşı güçlü bir antioksidan olduğunu bildirmiştir (78). Bununla birlikte, SCO'nun davranışsal aktivitesi ve nörofarmakolojik özellikleri üzerindeki etkisi hakkında bilgi azdır. Bir çalışma, bu kumarinin, Freund'un adjuvanla indüklenen fare modelinde,

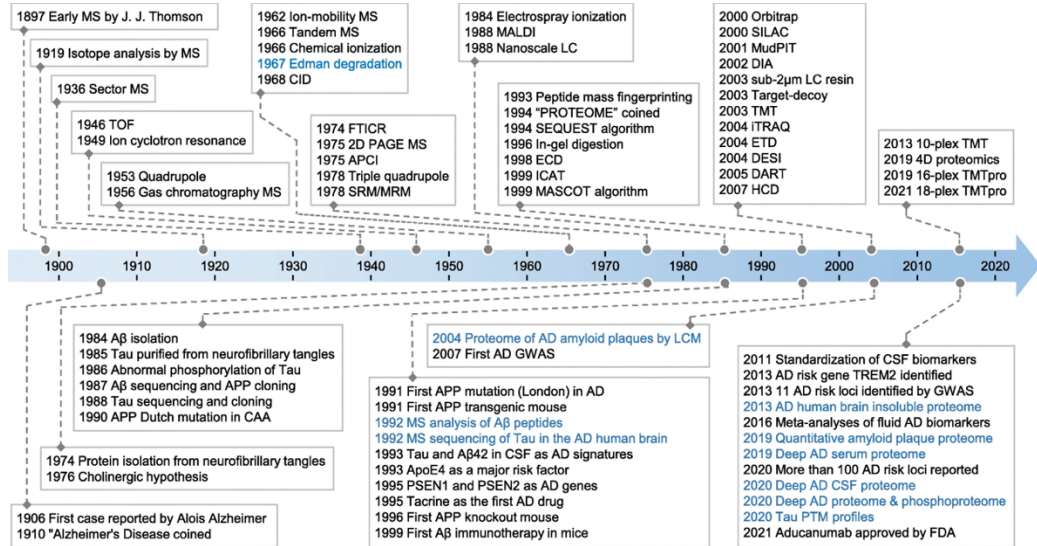
anti-enflamatuar aktiviteleri dahil ederek ve uyarıcı/inhibitör dengeyi düzenleyerek anksiyete benzeri davranışları iyileştirdiğini göstermiştir (84).

2.2.2.2 Pteryxin

Pteryxin (PTX), dihidropiranokumarin türevi bir kumarin olup (Şekil 3F), esas olarak lipit yolları yoluyla obezite karşıtı aktivitesi üzerine çalışmalar çoğunluktadır (85,86). PTX'in merkezi sinir sistemi üzerindeki etkisini gösteren tek bir kanıt vardır. Bu çalışmaya göre PTX, GAL'e göre daha etkili bir BChE inhibitörü olarak bulunmuştur (87).

2.3 AH ve Proteomik Çalışmalar

AH'nin nöropatolojisi ve mekanizmasına dair tüm hipotezler proteinlerin işlev bozuklukları, birikimleri veya eksiklikleri gibi proteinlerdeki olağandışı durumlar üzerinedir. Bu nedenle AH'yi anlamak için, proteinlerdeki değişimleri anlamak elzemdir (88). Şekil 4'te AH ve proteomik araştırmalarındaki önemli gelişmeler kronolojik olarak gösterilmiştir.



Şekil 4. Kütle spektrometresi ve AH araştırmasındaki başlıca tarihsel olaylar. AH'deki proteomik çalışmalar vurgulanmıştır (88).

Proteom bir hücre, doku veya organizmada ifade edilen proteinlerin tamamıdır. Proteomiks ise proteinlerin yapılarını, fizyolojik işlevlerini, dinamiklerini veya diğer rollerini belirlemek için büyük ölçekte sistematik olarak inceleyen güçlü bir alandır. Proteomiks özellikle hastalıkların mekanizmasının ortaya çıkarılmasında, hangi proteinlerin biyolojik hangi süreçlerde yer aldığı, proteinlerin hangi proteinlerle nasıl etkileşime girdiği ve proteinlerin hücre içinde nerede ve nasıl lokalize olduğu gibi önemli biyolojik bilgiler sunabilir. Protein-protein etkileşimleri özellikle oluşturulan sistemlerin anlaşılmasında oldukça büyük önem taşımaktadır. Kütle spektrometrisi (mass spectrometry, MS) çok önemli bir analitik tekniktir ve uzun yıllardır hastalıkların altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması için sıklıkla kullanılmaktadır. MS tabanlı proteomik analizler genelde 3 aşamalı gerçekleşmektedir: örnek hazırlığı, MS analizi, MS sonrası biyoinformatik analizler. Her aşama için nihai hedefe yönelik çok çeşitli seçenekler mevcuttur (89).

2.3.1 Kütle spektrometresi

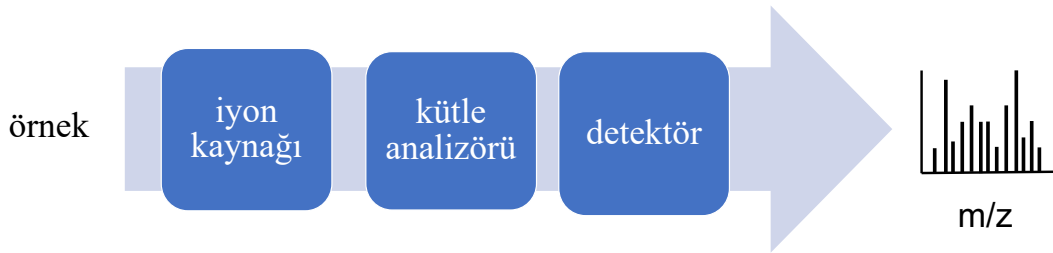
Tüm kütle spektrometrelerinin üç temel bileşeni vardır: bir iyon kaynağı, kütle analizörü ve detektör (Şekil 5). Kütle spektrometreleri yalnızca gaz halindeki iyonları analiz edebildiğinden, peptitleri sıvı fazdan gaz halindeki iyonlara dönüştürmek için, elektrosprey iyonizasyonu (ESI) veya matriks-destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon (MALDI) gibi yöntemlere ihtiyaç vardır. ESI’de peptitleri içeren sıvı, yüksek voltajda (2-4 kV) tutulan mikrometre büyüklüğündeki bir delikten pompalanır. Bu yayıcıya ulaştıktan sonra, sabit sıvı akışı son derece küçük, yüksek oranda yüklü ve hızla buharlaşan yüklü damlacıklara parçalanarak peptit iyonlarını gaz fazına geçirir. MALDI’de ise, örnek matriks içinde çözünür ve daha sonra bir lazerle ışınlamaya tabi tutulur. Örnek matriks içinde lazerden gelen yapısını bozucu etkiden korunurken, moleküler iyonlarına ayrışabilmektedir.

Bir kütle analizörünün temel rolü, iyonları kütle-yük oranlarına (m/z) göre ayırmaktır. Temel olarak, tüm iyonlar yörüngelerini elektrik alanlarında modüle ederek ayrılır. Kütle analizörleri, iyonları ayırmak için kullandıkları prensipte farklılık gösterir ve bu, tercih edilen uygulama alanlarını tanımlar. Genellikle uçuş süresi (time of flight, TOF) veya Orbitrap analizörleri ile birleştirilen dört kutuplular (quadrupole,

Q), proteomikte en yaygın olanlardır. Dört kutuplu kütle analizörleri, paralel bir düzende dört silindirik çubuk arasında salınan bir elektrik alanı kullanarak iyonları ayırır; burada her bir çubuk çifti, bir faz kaymasına sahip bir radyo frekansı elektrik alanı üretir. Ortaya çıkan elektrik alanları, tüm iyonların iletilmesine veya belirli bir m/z penceresinin iyonlarının seçici olarak iletilmesine izin verecek şekilde yapılandırılmış bir sözde potansiyel yüzeyi tanımlar.

TOF kütle analizörleri, iyonları yaklaşık 20 kV'a hızlanmadan sonraki hızlardaki farklılıklara ve müteakip detektöre farklı varış zamanlarına göre ayırır. Bir TOF, mikro saniyelerin altındaki zaman farklarını saptayarak milyonda bir parça (ppm) kütle farklılıklarını ölçebilir. Aksine, Orbitrap kütle analizörü iyonları salınım frekanslarına göre ayırır. İyonlar teğet olarak enjekte edilir ve ardından Orbitrap'te tutulur ve merkezi bir metal milin uzunluk eksenini boyunca hareket ederler. Bir Orbitrap sadece birkaç santimetre uzunluğunda olmasına rağmen, iyonlar hızla birkaç kilometreye kadar seyahat edebilir ve bu da çok yüksek çözünürlük (tipik olarak on binlerce) ve düşük ppm kütle doğruluğu sağlar.

Proteomikte, dört kutuplu elementi normalde iyonların parçalanabildiği bir dört kutuplu olan bir çarpışma hücresi (collision cell) takip eder. Peptit iyonları veya fragman iyonları, dedektörü de içeren son aşamaya girer - ortaya çıkan spektrumlar, önceki durumda MS1 veya öncü iyon spektrumları ve ikinci durumda MS/MS spektrumları olarak adlandırılır (90).



Şekil 5. Kütle spektrometresi temel bileşenleri

2.3.1.1 LC-MS/MS

Sıvı kromatografi kütle spektrometresi (Liquid Chromatography MS/MS, LC-MS/MS), sıvı kromatografi (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, HPLC olarak da adlandırılabilir) ile kütle spektrometresi ile bir araya getiren, laboratuvarlarda biyolojik örneklerin, ilaçların ve ilaç ürünlerinin nitel ve nicel araştırmalarında sıkça kullanılan bir tekniktir. LC-MS/MS, biyoyararlanım, biyoeşdeğerlik ve farmakokinetik verilerin değerlendirilmesi ve yorumlanmasında önemli bir rol oynar (91). LC-MS tabanlı proteomikte, karmaşık protein karışımları önce enzimatik bölünmeye tabi tutulur, analiz sonucunda örnekte bulunan proteinlerin tanımlanması ve tanımlanan proteinlerin bolluk seviyelerinin ölçülmesi hedeflenir (92). LC-MS/MS cihazları genellikle iyon kaynağı olarak ESI ile eşlenmişken, kütle analizörü olarak Q, TOF, Orbitrap ya da bunların birbirleriyle ya da kendileriyle birden fazla bir araya gelmeleriyle oluşturulmuş kompleks sistemlerdir (LC-ESI-tripleQ-MS/MS, LC-ESI-QTOF-MS/MS, LC-ESI-TOF-TOF-MS/MS vb) (93).

2.3.1.2 MRM-MS

Çoklu reaksiyon izleme (Multiple reaction monitoring, MRM), LC-ESI-QqQ-MS'in bir modudur. Hedefli LC-MS analizi, araştırmacının hedef molekülünün saptanmasına ve miktarının belirlenmesine odaklanır. MRM analizinde ilk aşamada ilk Q'da hedef molekülün öncü iyonunun m/z değeri seçilerek ikinci Q'ya geçişi sağlanır. Burada inert gazlar ile çarpışma kaynaklı ayrışma (collision induced dissociation, CID) gerçekleştirilerek, öncül iyonun fragmanlara ayrılması sağlanır. Üçüncü Q'da ise yine bilinen m/z değerleri üzerinden oluşan fragmanlar saptanır. Böylece kütle seçiminin iki aşamasından kaynaklanan yüksek seçicilik, karışımdaki hedef analitin çok spesifik ve hassas bir ölçüsünü verir (94,95).

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar, alet ve malzeme listesi

Cihaz, Alet ve Malzeme	Marka/Model
Çalkalayıcı Isı Bloğu	Biosan
Çekerocak - proteomiks	
ChemiDoc™ MP System	Bio-RAD
Cryostat	Thermo Scientific
CSH C18, 1,7 µm, 75 µm i.d. x 250 mm	Waters
Derin dondurucu (-80°C)	Haier Biomedical
Derin Donduruculu Buzdolabı (+4°C ve - 20°C)	Kirsch Medical
Etüv (37°C - Proteomiks)	Hera Term Oven Thermo Scientific
Hassas Terazî	Kern ABJ
Jel Görüntüleme Cihazı	Chemidoc Imaging System Bio-RAD
Kapaklı Tüpler (0,5; 1,5 ve 5 mL)	Eppendorf
LC-MS Kütle spektrometresi	TSQ Quantum Access Max LC-MS/MS (Thermo Scientific)
LC-Vial	Waters
LoBind Microcentrifuge Tube (1,5 mL)	Eppendorf
Manyetik Karıştırıcı	IsoLab
Membran Filtre (0,22 µm)	Merck Millipore, GSWP04700
Mikropipet Seti	Thermo Scientific
Mikroskop	Axio Vert. A1 (Carl Zeiss)
nanoACQUITY UPLC BEH C18 Column	Waters
nanoACQUITY UPLC Symmetry C18 Trap Column	Waters
nLC-MS/MS Kütle Spektrometresi	nanoACQUITY UPLC M Class ile bağlı SYNAPT Xevo G2-XS (Waters)
PCR Cihazı	CFX Connect Real-Time PCR Bio-RAD
PCR tüpleri (0,2 - 0,5 µL)	Isolab
pH Metre	Thermo Scientific
Pipet Uçları (0,1-1000 µL)	Eppendorf, Z640433
Poly-L-lizin kaplı lam	Thermo Scientific
SpeedVac	Thermo Scientific
Ultrasonik işleyici	VialTweeter, HielScher

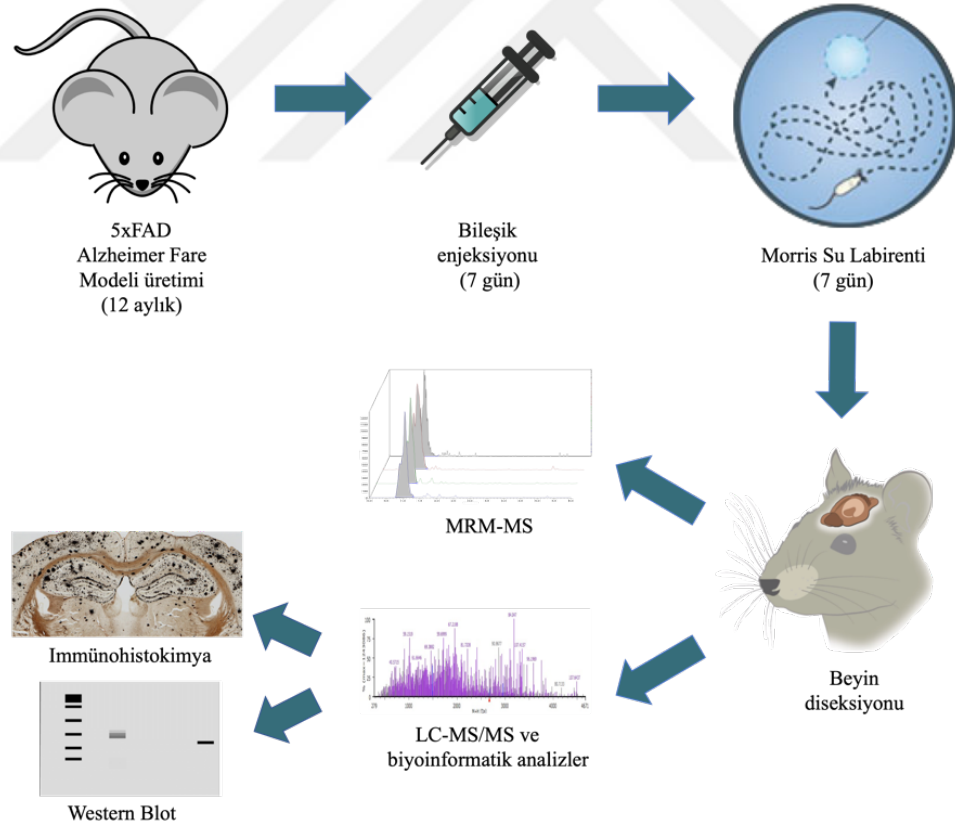
Tablo 3. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler listesi

Kullanılan Kimyasal Maddeler	Marka
Agaroz	Sigma, A9539
Ammonium persulfate (APS)	Sigma, A3678
Amonyum asetat (AA)	Sigma
Amonyum bikarbonat (ABC)	Merck
Asetonitril (LC-MS saflığında)	Merck
Bradford	Bio-RAD,
Clarity Western ECL Blotting Substrate	Bio-RAD, 170-5060
DAB Peroxidase (HRP) Substrate Kit	Vector Laboratories, SK-4100
Ditiotreitol (DTT)	
Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA)	Sigma, E9884
Etanol	Merck, #64-17-5
Fluoromount aqueous mounting medium	Sigma, F4680
Formik asit	Merck,
Glu1-fibrinopeptide B standart	Waters, 700004729
İyodoasetamit (IAA)	
Kolorimetrik peptit kantitasyon kiti	Pierce, 23275
Laemmli Örnek Tampon Çözeltisi (4X)	Bio-RAD, 1610747
Leucine-enkephalin standart	Waters, 186006013
Metanol	Merck, 67-56-1
NNNN-Tetramethyl ethyl amine (TEMET)	Sigma, T9281
Liquid block pap pen	Sigma, 3110V
Paraformaldehit (PFA)	Sigma, 158127
PCR Primerleri	Sentromer
Potasyum Fosfat, Monobazik	Merck, 529568
Potasyum Klorit (KCl)	Sigma, P9333
Proteaz inhibitör kokteyli	Thermo Scientific
Renkli protein markeri	Bio-RAD, #1610385
Renksiz protein markeri	Bio-RAD, #1610363
SafeView DNA boyası	ABM, JK7947
Sodyum dodesil sülfat (SDS)	Sigma, L3771
Sodyum Fosfat, Dibazik	Merck, 567547
Sodyum hidroksit (NaOH)	Sigma, 221465
Sodyum Klorit (NaCl)	Sigma, S7653
Su (LC-MS-grade)	Merck, 115333
Süt tozu (yağsız)	Sigma, 70166

Tablo 3. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler listesi (devam)

Taq PCR	NEB, E5000S
TGS Buffer (10X)	Bio-RAD, 1610772
TGX Stain-Free FastCast %12 Akrilamit Jel Kiti	Bio-RAD, #1610185
Trans-Blot® Turbo™ RTA Mini Transfer Kit	Bio-RAD, 161-0175
Trypsin	Pierce
Tris/HCl	Sigma, T5941
Trizma® Base	Sigma, T1503
Tween20	Sigma, P1379
Universal Protein Extraction Kit (UPX)	Expedeon, 44101
Üre	Bio-RAD, 161-0730
Vectastain kiti	VectorLabs, PK-7800

3.2 Yöntem



Şekil 6. Proje iş akış planı.

3.2.1 Deney hayvanları

Bu çalışma Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ACU - HADYEK) 17.02.2016 tarihli ve 2016/7 sayılı etik kurul izni (Ek 2) çerçevesinde gerçekleştirilmiş olup, enstitü ve ARRIVE hayvan kullanım ve bakım rehberine uyulmuştur.

3.2.1.1 Üretim ve bileşik enjeksiyonları

Tablo 4. Bileşikler, türleri ve uygulama dozları

Bileşik ismi	Türü	Enjeksiyon Konsantrasyonu	
		Doz 1(mg/kg)	Doz 2 (mg/kg)
Galantamine	Alkaloid	2	4
Lycoramine	Alkaloid	4	8
O-demethyl-galantamine	Alkaloid	1	2
Palmitine	Alkaloid	5	10
Scopoletin	Kumarin	8	16
Pteryxin	Kumarin	8	16
DMSO		%1	%1

APP’de 3 tane (K670N, M671L, V717I), Presenilin-1 (PSEN1) geninde ise 2 tane (M146L and L286V) olmak üzere toplam 5 farklı ailevi AH mutasyonu taşıyan transgenik 5xFAD fareler (B6SJL-Tg) ve hibrit (B6SJL) fareler Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA)’den satın alındı. Üretimleri ve aynı batında hem heterozigot transgenik (5xFAD) hem de transgenik olmayan (ALM-Alzheimer’s littermate) yavruların ayrımının yapılması amacıyla genotiplmeleri Gürel (2019) tarafından daha önce detaylıca açıklanan protokol ile gerçekleştirildi (96). 12 aylık 5xFAD fareler randomize ve eşit cinsiyet dağılımı ile gruplara ayrıldı. 6 farklı bileşik Polonya’daki proje ortaklarımız tarafından yüksek saflıkta (>%95) izole edilerek liyofilize halde tarafımıza yollandı. DMSO’nun %1’in altında tutulması adına minimum miktarlarda DMSO kullanılarak çözülen bileşikler daha sonra serum fizyolojik ile seyreltilti. Tüm bileşikler için literatür ve proje ortaklarımızın gerçekleştirdiği testler doğrultusunda uygun iki doz belirlenerek, 7 gün boyunca *intraperitoneal* olarak farelere enjekte

edildi. Bileşiklerin kimyasal grupları ve dozları Tablo 4’te gösterildiği gibidir. Kontrol grubunu ise ilaçların çözücüsü olarak kullanılan DMSO (en fazla %1) ile enjeksiyon yapılmış 5xFAD’lar oluşturmaktadır. Ayrıca aynı batından doğan transgenik olmayan ALM grubuna da %1 DMSO enjeksiyonu yapılarak sağlıklı kontrol grubu olarak kullanılması hedeflendi.

3.2.1.2 Morris su labirenti testi

Alıştırma için ilk gün (0. gün) fareler tank içinde 60 sn yüzdürüldü. Öğrenme fazı deneyleri 1 - 6. günlerde ve hafıza fazı deneyleri 7. günde gerçekleştirildi. Bir platform suyun 1 cm altında kalacak şekilde seçilen kadrana yerleştirildi ve yeri öğrenme fazı boyunca sabit tutuldu. Bu fazda, fareler 25 dk ara ile her kadrandan bırakılarak 60 sn boyunca yüzmelerine izin verildi. Bu sürede platformu kendi bulamayan fareleri, araştırmacı platforma yerleştirdi. Farelerin platformu bulup bulmamasına bakılmaksızın, platform üzerinde 20 sn boyunca etrafı gözlemesi beklendi. Hafıza fazında (7. gün) ise farelerin uzaysal bellek fonksiyonları araştırıldı. Platformun yerinden kaldırıldığı bu fazda ise fareler önceden platformun bulunduğu kadranın çaprazındaki kadrandan suya bırakıldı ve 60 sn yüzmeleri sağlandı.

Öğrenme fazında farelerin platformu bulma süreleri, hafıza fazında platform alanında geçirilen süre, yüzmeye hızı ve toplam yüzülen mesafe yazılım tarafından ölçüldü. İstatistik testleri SPSS programı ile yapıldı. Shapiro-Wilks normal dağılım testi sonucunda, grupların normal dağılım göstermediği belirlendi. Parametrik olmayan testler kullanılarak istatistiksel anlamlılık araştırıldı. Gruplar arasındaki istatistik karşılaştırmalar Kruskal-Wallis ve Mann Whitney U ile, grup içi değişim ise Friedman ve Wilcoxon testleri kullanılarak analiz edildi. p değerinin 0,05’ten küçük olması istatistiksel anlamlılık olarak değerlendirildi ($p < 0,05$).

3.2.1.3 Beyin dokularının çıkartılması, bölgelere ayrılması ve saklanması

Davranış deneyleri tamamlanan tüm fareler izofluran kullanılarak anestezi altına alındı ve en fazla 1 dk içinde beyinleri çıkartıldı. Tüm beyin dokuları (her gruptan 2 adet) sıvı nitrojen üzerine yerleştirilmiş alüminyum folyolarda donana kadar (~3-5 dk)

bekletildi ve 15 ml falkon tüplere alındı. Her gruptan 6 beyin dokusu ise, bir petri kabı içine serum fizyolojik koyularak, buz üzerinde hızlıca korteks, hipokampus, serebellum bölgelerine ayrılarak Lobind tüplerde toplandı ve sıvı nitrojende donduruldu. Örnekler sonraki deneyler için -80°C dolabında muhafaza edildi.

3.2.2 MRM-MS ile bileşiklerin kan-beyin bariyeri geçişinin araştırılması

MRM-MS ile, bileşiklere ait öncül iyonlar ve fragmentleri hedef alınarak, bileşiklerin kan beyin bariyerinden geçişi analiz edildi.

3.2.2.1 Örnek hazırlığı

Analiz için, ilaç enjeksiyonu yapılmış olan tüm beyinlerden 4 adet 10 µm kalınlığında kryostat cihazı ile kesit alınarak Lobind tüplere koyuldu. Sonrasında, her bileşik için farklı ekstraksiyon yöntemi takip edildi.

3.2.2.1.1 GAL

Kesitlerin üzerine 300 µl %100 metanol (MetOH) eklenerek aralarda buza tutarak 8 kere 20 sn boyunca ultrasonik işleyici ve ardından thermo-shaker ile 1000 rpm 40°C'de 10 dk çalkalanarak homojenize edildi. 10 dk 17000 rpm'de santrifüj edildi ve süpernatant yeni tüpe aktarıldı. Pellet üzerine 100 µl MetOH eklenerek yukarıda bahsedilen basamaklar 2 kez tekrar edildi. Tüm süpernatantlar aynı tüpte toplanarak 0,22 µm filtreye aktarıldı, 14000 g'de 20 dk santrifüj edildi. Filtrelenen solüsyon vakum altında ile uçurularak hacminin azalması sağlandı. 100 µl vialle aktararak analize hazırlandı.

3.2.2.1.2 LYC

Çözücü solüsyonu %70 asetonitril (ACN), %29,5 su ve %0,5 formik asit (FA) karıştırılarak hazırlandı. 300 µl çözücü solüsyonu kesitlerin üzerine eklendi, aralarda buza tutarak 8 kere 20 sn boyunca ultrasonik işleyici ve ardından thermo-shaker ile

1000 rpm 40°C’de 10 dk çalkalanarak homojenize edildi. 15 dk 14000g’de santrifüj edilerek debristen temizlenen solüsyon, vial e aktarıldı.

3.2.2.1.3 ODG

Birinci ve ikinci yöntem olarak sırasıyla GAL ve LYC için uygulanan örnek hazırlama yöntemleri takip edildi.

Üçüncü yöntem için örneklere %1 tartarik asit içeren metanol eklendi. Sırasıyla aralarda buza tutarak 10 kere 10 sn boyunca ultrasonik işleyici ve 1000 rpm 40°C’de 10 dk çalkalayıcı ile homojenize edildi ve 10 dk 17000 rpm’de santrifüj edildi. Süpernatanttan ayrıştırılan peletin üzerine aynı karışımdan 100 µl eklenerek işleyici, çalkalayıcı ve santrifüj işlemleri tekrarlandı. Toplanan süpernatantlar filtreden geçirilerek analiz için vial e aktarıldı.

Dördüncü yöntem için örneklere soğuk 50 mm Tris-HCl eklendi ve örnekler 20 kere 10 sn boyunca ultrasonik işleyici ile homojenize edildi. 1000 rpm’de 10 dk santrifüjün ardından toplanan süpernatanta eşit hacimde etanol (EtOH) eklenerek vortekslendi, ve karışım tekrar 17000 rpm’de 30 dk santrifüj edildi. Üstte oluşan EtOH fazı toplanarak analiz için vial e aktarıldı.

3.2.2.1.4 PAL

Kesitler 50 µl MetOH ve 50 µl ACN karışımında 30 sn vortekslendi ve aralarda buza tutarak 10 defa 10 sn boyunca ultrasonik işleyici ile homojenize edildi. 1 ml aseton tüpe eklendi, sonrasında 2 dk vorteksin ardından 3500 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Yeni tüpe alınan süpernatant speed-vac’te uçuruldu ve residue 50 µl mobil fazda (30% ACN, %70 amonyum asetat (AA), 0.1% FA yeniden çözüldü.

3.2.2.1.5 SCO

SCO’nun beyin dokusundan ekstraksiyonu için 4 farklı yöntem denendi.

İlk yöntem için, kesit üzerine 500 µl %100 MetOH eklenerek aralarda buza tutarak 8 kere 20 sn boyunca ultrasonik işleyici ile homojenize edildi, 5 dk 12000g +4°C’de santrifüj edildi ve süpernatant yeni tüpe aktarıldı. Pellet üzerine 100 µl MetOH eklenerek yukarıda bahsedilen basamaklar 2 kez tekrar edildi. Tüm süpernatantlar aynı tüpte toplanarak vakum altında ile uçurularak hacminin azalması sağlandı. 100 µl viale aktararak analize hazırlandı.

İkinci yöntem için, kesit üzerine 300 µl ACN:MetOH (2:1, v/v) eklenerek aralarda buza tutarak 8 kere 20 sn boyunca ultrasonik işleyici ile homojenize edildi, 10 dk 15500 g’de santrifüj edildi. Süpernatant 0,22 µm filtreye koyularak 1000 g’de 10 dk santrifüj edildi. 100 µl viale aktarıldı.

Üçüncü yöntemde, kesitler soğuk 250 µl salin (%0,85 NaCl) içinde, aralarda buza tutarak 8 kere 20 sn boyunca ultrasonik işleyici ile homojenize edildi, 10 dk 12000 rpm +4°C’de santrifüj edildi. Süpernatant yeni tüpe aktararak, üzerine metanol (1:4, v/v) eklendi ve 10 dk 12000 rpm +4°C’de santrifüj edildi. Süpernatant toplanarak, vakum altında bir miktar buharlaştırıldı ve viale alındı.

Dördüncü yöntem olaraksa, kesitler salin (%0,85 NaCl) ile çözüldü, 200 µl 5 mM amonyum format ve %0,1 FA eklenerek 20 sn vortex yapıldı, 10 dk 12000 rpm +4°C’de santrifüj edildi. Süpernatant cihaza vermek üzere viale alındı.

3.2.2.1.6 PTX

Scopoletin için uygulanan ikinci ve üçüncü yöntemler Pteryxin için de takip edildi.

3.2.2.2 MRM-MS analizi

Doku örnek analizleri için TSQ Quantum Access Max LC-MS/MS (Thermo Scientific) sistemi kullanıldı. Kromatografik koşullar için Dionex ultimate 3000 UHPLC kromatografi sisteminde analitik kolon (Hypersil Gold C18, 3 µm, 2,1 x 50 mm, Thermo) kullanılarak analizler yapıldı. Chromeleon ve Xcalibur yazılımları ile

veriler incelendi. Diğer parametreler her bileşiğe özgü olarak düzenlenmiş olup alt başlıklarda verilmiştir.

3.2.2.2.1 GAL

Her bir örnek 8 dakika boyunca 0,3 ml/dk akışla mobil faz A (ACN) ve mobil faz B (AA) ile gradient ayrımı uygulanarak analiz edildi. GAL analizleri için 288 [M]⁺ ana iyonunun m/z 288→231, 288→225, 288→213 iyon geçişleri ile bileşik tespit edildi. Cihaz parametreleri şu şekilde ayarlandı: kolon fırını: 30°C, çarpışma enerjisi: 20 V, dwell zamanı: 200 ms, çarpışma gaz basıncı 1,2 mTorr, kapiller sıcaklığı 350°C, perde gazı basıncı 25 Arb, sprej voltajı 4000 V.

3.2.2.2.2 LYC

Her bir örnek 6 dakika boyunca 0,15 ml/dk akışla mobil faz A (%0,05 FA) ve mobil faz B (ACN) gradienti uygulanarak analiz edildi. LYC analizleri için 290 [M]⁺ ana iyonunun m/z 290→215, 290→233, 290→189 iyon geçişleri ile bileşik tespit edildi. Cihaz parametreleri şu şekilde ayarlandı: kolon fırını: 25°C, çarpışma enerjisi: 23 V, dwell zamanı: 100 ms, çarpışma gaz basıncı: 1,2 mTorr, kapiller sıcaklığı: 300°C, perde gazı basıncı: 25 Arb, sprej voltajı: 2000 V.

3.2.2.2.3 ODG

Her bir örnek 6 dakika boyunca 0,15 ml/dk akışla mobil faz A (ACN) ve mobil faz B (AA) ile gradient ayrım uygulanarak analiz edildi. ODG analizleri için 274 [M]⁺ ana iyonunun m/z 274→217, 274→225, 274→256 iyon geçişleri ile bileşik tespit edildi. Cihaz parametreleri şu şekilde ayarlandı: kolon fırını: 30°C, çarpışma enerjisi: 20 V, dwell zamanı: 200 ms, çarpışma gaz basıncı 1,2 mTorr, kapiller sıcaklığı 350°C, perde gazı basıncı 25 Arb, sprej voltajı 4000 V.

3.2.2.2.4 PAL

Her bir örnek 6 dakika boyunca 0,15 ml/dk akışla Mobil faz A (%0,08 FA and 2 mmol/L) ve Mobil faz B (ACN) ile gradient ayırım uygulanarak analiz edildi. PAL analizleri için 352 [M]⁺ ana iyonunun m/z 352→336, 352→337, 252→308, 352→322 iyon geçişleri ile bileşik tespit edildi. Cihaz parametreleri şu şekilde ayarlandı: kolon fırını: 40°C, çarpışma enerjisi: 30 eV, dwell zamanı: 200 ms, çarpışma gaz basıncı: 1,2 mTorr, kapiller sıcaklığı: 350°C, perde gazı basıncı: 28 Arb, sprej voltajı: 3000 V.

3.2.2.2.5 SCO

Her bir örnek 6 dakika boyunca 0,45 ml/min akışla mobil faz A (%0,1 FA) ve mobil faz B (ACN) ile gradient ayırım uygulanarak analiz edildi. SCO analizleri için 193 [M]⁺ ana iyonunun m/z 193→132, 193→178, 193→149 iyon geçişleri ile bileşik tespit edildi. Cihaz parametreleri şu şekilde ayarlandı: kolon fırını: 30°C, çarpışma enerjisi: 26 V, dwell zamanı: 150 ms, çarpışma gaz basıncı: 1,2 mTorr, kapiller sıcaklığı: 350°C, perde gazı basıncı: 40 Arb, sprej voltajı: 2600 V.

3.2.2.2.6 PTX

Her bir örnek 6 dakika boyunca 0,45 ml/min akışla mobil faz A (%0,1 FA) ve mobil faz B (ACN) ile gradient ayırım uygulanarak analiz edildi. PTX analizleri için 387 [M]⁺ ana iyonunun m/z 387→171, 387→189, 387→364 iyon geçişleri ile saf madde tespit edildi. Cihaz parametreleri şu şekilde ayarlandı: kolon fırını: 30°C, çarpışma enerjisi: 22 V, dwell zamanı: 200 ms, çarpışma gaz basıncı: 1,2 mTorr, kapiller sıcaklığı: 350°C, perde gazı basıncı: 40 Arb, sprej voltajı: 2600 V.

3.2.3 LC-MS/MS

Bileşiklerin korteks, hipokampus ve serebellum beyin bölgelerinde neden olduğu protein farklılıklarını araştırmak üzere protein ifade analizleri gerçekleştirildi. Aynı zamanda kontrol grubu olarak %1 DMSO enjekte edilmiş ALM ve 5xFAD gruplarındaki farelerin de beyin bölgelerinin analizleri yapıldı.

3.2.3.1 Triptik peptitlerin hazırlanması

Kimyasal bileşenlerin beyin bölgelerindeki protein seviyelerinin değişimine olan etkisi LC-MS/MS sistemi ile araştırıldı. Dokuların çelik boncuklar yardımıyla mekanik olarak parçalanmasının ardından proteaz inhibitörü içeren UPX (Expedeon) ile lizisi gerçekleştirildi. UPX miktarı ilk etapta üreticinin tavsiyesinin ¼'ü kadar dokunun üstüne eklendi ve ultrasonik işleyici ve thermo-shaker ile 1000 rpm 95°C'de 10 dk çalkalanarak konsantre bir lizat oluşturuldu. Ardından bir miktar bu karışımdan alınarak yeniden UPX ve proteaz inhibitörü ile karıştırıldı, yukarıda bahsedilen işlemler tekrarlandı. Ardından 14000 g'de 10 dk santrifüjü takiben süpernatant protein çözültisi olarak alındı. Korteks, hipokampus ve serebellum bölgelerine ait örnekler havuz edildi ve toplamda örnek sayısı her bölge için 3'e düşürüldü. Bu şekilde deneyin, protein bilgisi kaybetmeden, daha hızlı ve ekonomik olması hedeflendi. Triptik peptit eldesi için *Filter Aided Sample Prep* (FASP) kiti kullanıldı. Bradford ile protein kantitasyonu yapılarak en fazla 100 µg protein olacak şekilde FASP'a başlandı. Proteinler filtreli tüplere konuldu ve üzerine 200 µl 8 M üre eklendi. 14000 g'de 15 dk santrifüj edildi. İşlem 2 kere daha tekrar edildi. Toplama tüpünde biriken tüm sıvılar atıldı. İyodoasetamit (IAA, 10X) solüsyonu hazırlandı. Her 1X tüpte 50 mM IAA bulunmaktadır. 10 µl IAA (50 µM) ve 90 µl üre filtre üzerine eklendi ve kısa süreli vortex ardından örnek 40°C'de 1 dk bekletildi. Ardından 20 dk karanlık bir yerde inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrasında 14000 g'de 10 dk santrifüj edildi. 100 µl üre eklendi ve 14000 g'de 15 dk santrifüj edildi. Bu işlem 2 kez daha tekrar edildi. Toplama tüpünde biriken sıvı uzaklaştırıldı. 100 µl 50 mM amonyum bikarbonat (ABC) filtre üzerine eklendi. 14000 g'de 10 dk santrifüj edildi. Bu işlem iki kez tekrar edildi. Triptik peptit eldesi için örneğin üzerine 1 µg/75 µl tripsin solüsyonu eklendi ve gece boyu 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Filtreler yeni tüplere alındı. 40 µl 50 mM ABC eklenip, 14000 g'de 10 dk santrifüj edildi. Filtrelere 50 µl 0,5 M sodyum klorit eklendi ve yine 14000 g'de 10 dk santrifüj edildi. Filtrat bu aşamadan sonra *digest* edilmiş proteinleri içermektedir. Peptit konsantrasyonu, kolorimetrik peptit kantitasyon kiti (Pierce) ile ölçüldü ve final konsantrasyonu 200 µg/ml ve içinde %0,1 FA olacak şekilde hazırlandı. LC-MS/MS analizi gerçekleştirilmek üzere cihaza verildi.

3.2.3.2 nLC-MS/MS analizi

Protein ifade analizleri için nanoACQUITY UPLC M Class ile bağılı SYNAPT Xevo G2-XS (Waters) sistemi kullanıldı. Analiz öncesinde kolon sıcaklığı 45°C olarak ayarlandı ve kolon %97 mobil faz A (%1 FA içeren LC-MS saflığında su (Merck)) ile dengelendi. Cihaza özgü yazılım olan MassLynx ile detektör ve kalibrasyon ayarları, sırasıyla Leucine enkephalin (200 pg/μl) ve Glu-1-fibrinopeptit B (Glu-fib) (100 fmol/μl) kullanılarak gerçekleştirildi. Hazırlanan triptik peptitler, öncelikle trap kolonuna (Symmetry C18, 5 μm , 180 μm i.d. x 20 mm, Waters) yüklendi. Sonra analitik kolonda (CSH C18, 1,7 μm , 75 μm i.d. x 250 mm, Waters) 120 dk boyunca, 0,200 μl/dk sabit akışla, %4'den %40'a kadar %1 FA içeren ACN gradienti uygulanarak peptitler hidrofobikliklerine göre ayrıldı. 100 fmol/μl Glu-fib 0,5 μl/dk akış ile 60 sn aralıklarla püskürtülerek kalibrasyon için kullanıldı. Fraksiyonlanması gerçekleşen peptitlerin, elektrosprey iyonizasyon (ESI) ile iyonize edilmesi sağlandı ve kütle spektrometrisi ile pozitif modda analiz edildi.

MS veri toplama yöntemi olarak SONAR adı verilen yeni bir veriden bağımsız toplama (data independent acquisition, DIA) modu kullanıldı. SONAR modunda, dört kutuplu, 24 Da'lık bir dört kutuplu iletim genişliği ile m/z 400 ila 900 arasında sürekli olarak tarandı. Sıralı MS ve MS/MS taramaları, sırasıyla 10 V (düşük çarpışma enerjisi (collision energy, CE)) ve 40 V (yüksek CE) kullanılarak yapıldı. Döngü süresi 0,5 tutularak, 50 - 1950 m/z aralığındaki tüm iyonlar, duyarlılık (sensitivity) modunda herhangi bir öncü iyon seçimi olmadan birlikte parçalandı. Parçalanmış iyon verileri, alıkonma zamanları (retention time, AZ) kullanılarak karşılık gelen öncüllerle hizalandı.

Progenesis-QI yazılımı (V.2.0 Waters) peptit özelliklerinin kantitatif analizi ve protein tanımlaması için kullanıldı. Bir Glu-fib peptidi (m/z 785,8426) kullanılarak normalizasyon toplam iyon yoğunluğuna göre gerçekleştirildi. İşlem parametreleri sırasıyla yüksek ve düşük enerji eşikleri için 60 ve 10 olarak ayarlandı. Veri analizi aşağıdaki parametreler kullanılarak yapıldı: peptit başına minimum parçalanmış iyon eşleşmesi sayısı = 2, protein başına minimum fragman iyon eşleşmesi sayısı = 5, protein başına minimum benzersiz peptit sayısı = 1, triptik sindirim için kaçırılan

maksimum bölünme sayısı = 1, sabit modifikasyon = karbamidometil C, değişken modifikasyonlar = oksidasyon M ve deamidasyon N ve Q, yanlış keşif oranı (false discovery rate, FDR) $\leq$ %1. 2⁺ ve 3⁺ iyon yükleri seçildi. Numuneler arasında normalizasyon için toplam iyon yoğunluğu kullanıldı. Ekspresyon değişiklikleri ve p ve q değerleri, Progenesis QI yazılımına dahil olan istatistiksel paket ile hesaplandı ve çelişkili olmayan peptitler kullanılarak nispi niceleme göre protein normalizasyonu yapıldı. Elde edilen veri seti, ANOVA $p < 0,05$, $q < 0,05$ ile filtrelendi ve gruplara göre en az 1,3 ya da 1,5 değişim oranına sahip proteinlerin anlamlı değişim gösterdiği kabul edildi.

3.2.3.3 Biyoinformatik analizler

Biyoinformatik analizler için çeşitli yazılımlar kullanıldı. Gruplar arası farklılığı ve grup içindeki grup profiline uyumlu olmayan örnek (outlier) olma durumunu gözlemlemek amacıyla temel bileşenler analizi (*principle component analysis*, PCA) gerçekleştirildi. Proteinlerin ifade seviyeleri arasındaki benzerlik ve farklılıklarını üzerinden gruplandırılarak, örneklerin benzerliklerinin incelenmesi için hiyerarşik kümeleme (*Hierarchical Clustering*, HC) analizi gerçekleştirildi. PCA ve HC analizleri için çevrimiçi Clustvis yazılımı kullanıldı. PCA için, satırlara birim varyans ölçeklemesi (*variance scaling*) uygulandı ve temel bileşenleri hesaplamak için emputasyonlu tekil değer ayrıştırması (*singular value decomposition*, SVD) kullanıldı. Her gruptaki örneklerin etrafına otomatik olarak çizilmiş tahmin elipsleri, %95 olasılıkla aynı gruptan yeni bir gözlemin elipsin içine düşeceği şekildedir. Isı haritası ise şu parametrelerle oluşturulmuştur: satırlar ortalandı (*centered*) ve birim varyans ölçeklendirmesi uygulandı. Satırlar ve sütunlar, korelasyon mesafesi (*correlation distance*) ve ortalama bağlantı (*average linkage*) ile kümelendi. Küme grupları yazılım tarafından otomatik olarak oluşturulmuştur.

Gen ontolojisi (GO), proteinlerin biyolojik işlevlerinin üç ontoloji ile yorumlanmasını sağlar: biyolojik süreç (biological process, BP), moleküler işlev (*molecular function*, MF) ve hücresel bileşen (*cellular component*, CC). GO analizleri ve Kyoto Genler ve Genler Ansiklopedisi (KEGG) yolak analizi DAVID (sürüm 6.8) çevrimiçi yazılımında gerçekleştirilmiş ve Graphpad Prism (sürüm 9.2.0) ve Inkscape

(sürüm 1.01) ile görselleştirilmiştir. Cytoscape yazılımı (3.8.2), protein-protein etkileşim haritasını oluşturmak, görselleştirmek ve STRING veritabanı aracılığıyla hub proteinlerini saptamak için kullanıldı. Hub proteinleri, Yerel Ortalama Bağlantı Tabanlı Yöntem (LAC) kullanılarak CytoNCA eklentisi ve Maksimum Komşuluk Bileşeninin Yoğunluğu (DMNC) yöntemi kullanılarak CytoHubba eklentisi ile ortaya çıkarıldı.

3.2.4 Western blot

İstatiksel analiz sonucunda ifadesinde anlamlı farklılıkların olduğu proteinlerin miktarındaki değişimlerin klasik moleküler bir yöntemle onaylanması gerekmektedir. Western blot yöntemi ile yapılacak validasyon için LC-MS/MS analizleri için hazırlanan protein lizatları kullanıldı.

SDS jel dökme sistemi kurulduktan sonra, jel *TGX Stain-Free Fast Cast (12%)* akrilamid kiti yönergelerine uygun olarak hazırlandı. Öncelikle *resolver* (*resolver A* ve *B*, 1:1 (v/v), %10 APS, %0,05 TEMED) hazırlandıktan sonra yavaşça tarağın yaklaşık 1 cm altına gelecek kadar döküldü. *Resolver*'ın donmasını beklemeden *stacker* (*stacker A* ve *B*, 1:1 (v/v), %10 APS, %0,1 TEMED) hazırlandı ve üstüne döküldü. Tarak dikkatlice yerleştirildi ve 30-45 dk oda sıcaklığında sarsmadan jelin polimerize olması beklendi.

Örneklerin protein konsantrasyonu Bradford yöntemi ile ölçüldü. %5 β ME içeren 2x Laemmli Buffer ile her kuyucuğa 10 μ g protein olacak şekilde ayarlanan örnekler karıştırıldı ve 5 dk boyunca 95°C'de kaynatıldı. Jel yürütme tankına yerleştirildi, tarak çıkartıldı ve camların hizasına kadar yürütme solüsyonu (35 mM SDS, 250 Mm Tris, 1,92 M Glisin; pH: 8,3) dolduruldu. 10 μ l renksiz moleküler standart ve örnekler kuyucuklara yüklendi ve mavi boya jel tabanına gelene kadar (yaklaşık 20 dk) 300V'da yürütüldü. Jel sonrasında bekletilmeden Chemidoc'ta jel aktivasyonu yapıldı ve 3 kez 3 dk PBST (PBS + %1 Tween 20) solüsyonunda yıkandı. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra jel dikkatlice PBS solüsyonuna çıkartıldı ve BioRAD ChemiDoc görüntüleme cihazı kullanılarak jel aktivasyonu gerçekleştirildi. Jel 3 kez 3 dk PBST'de yıkandıktan sonra proteinler jelden membrana Bio-RAD Trans-Blot

semi-dry transfer sistemi ve Trans-Blot® Turbo RTA Mini PVDF Transfer Kiti kullanılarak transfer edildi. Kurutma kağıtları transfer tampon çözeltisinde (25 mM Tris, 1,92 M Glisin; pH: 8,3) 5 dk tutuldu. Membran ise önce %100 MetOH, sonra tampon çözeltisinde 2-3 dk bekletildi. En üstten en alta sırasıyla kurutma kağıdı, yürütülen jel, membran ve kurutma kağıdı sandviç halinde kasete yerleştirildi ve transfer cihazın karışık mod ayarında 7 dk, 2,5 A 25 V'da gerçekleştirildi.

Transfer sonrası membran PBST ile hızlıca yıkanarak ChemiDoc'ta görüntülendi. Sonrasında membran bloklama solüsyonunda (PBS'te çözölmüş %5 yağsız süt tozu) 1 saat oda sıcaklığında çalkalanarak blokladı. Daha sonra bloklama solüsyonu içerisinde hazırlanan birincil antikorlar (Tablo 5) ile +4°C'de gece-boyu çalkalanarak inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 3 kez 5'er dk PBST ile yıkanan membran primere uygun olarak HRP-konjuge keçi anti-fare ya da keçi anti-tavşan ikincil antikor ile oda sıcaklığında 1 saat çalkalanarak inkübe edildi. Renksiz moleküler standartın görüntülenebilmesi için HRP-konjuge streptaktin ikincil antikora eklenerek 5 dk inkübe edildi. 3 kez 5'er dk PBST ile yıkama yapıldı. ECL kiti ve BioRAD ChemiDoc görüntüleme cihazı ile görüntülendi.

Normalizasyon, stain-free jel teknolojisi ile önerilen protokole uygun olarak Bio-RAD ChemiDoc Image Laboratory yazılımı (versiyon 5.2) ile gerçekleştirildi. Bu yöntemde normalizasyon, transfer sonrası elde edilen blot görüntüsündeki her bir sıradaki toplam protein miktarına göre, antikor inkübasyonları sonrasında açığa çıkarılan hedef protein bantlarının oranlanmasıyla gerçekleştirilir. Elde edilen densitometrik veriler Graphpad Prism yazılımı (versiyon 7.04, GraphPad, La Jolla California USA, www.graphpad.com) programı ile analiz edildi. Verilerin normal dağılımı Shapiro-Wilks testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren verilerin anlamlılığı bağımsız örnekler için t-test ile araştırıldı. Western blot sonuçlarına ait grafikler yine aynı yazılım kullanılarak hazırlandı ve veriler saçılım grafiğinde ortalama $\pm$ standart hata ortalaması (standart error of the mean, SEM) ile gösterildi.

Tablo 5. Western blot validasyonlarında kullanılan antikorlar, markaları ve dilüsyonları

	Antikor	Marka	Dilüsyon
Birincil	A β , fare monoklonal	Santa Cruz - sc-39220	1:1000
Birincil	α -synuclein, tavşan polyclonal	Abcam - ab87599	1:1000
Birincil	GFAP, tavşan monoklonal	Abcam – ab7260	1:10.000
Birincil	HSP70, fare monoklonal	Santa Cruz – sc-32239	1:1000
Birincil	Vimentin, fare monoklonal	Santa Cruz – sc-373717	1:1000
Birincil	HS12A tavşan monoklonal	Biorbyt - orb184235	1:500
Birincil	RL12 tavşan monoklonal	Biorbyt - orb315691	1:500
Birincil	HSP75 tavşan monoklonal	Santa Cruz - sc-13557	1:100
İkincil	Keçi anti-fare IgG-HRP	Santa Cruz - sc-2005	1:4000
İkincil	Keçi anti-tavşan IgG-HRP	Santa Cruz - sc-6721	1:4000

3.2.5 İmmünohistokimya

Donmuş beyin dokusundan kriyostat (Thermo) yardımıyla, Poly-L-Lizin kaplı cam lamalar üzerine tüm beyinden 18 μ m koronal veya sagittal kesitler alındı. Kesitlerin fiksasyonu için lamalar 30 dk boyunca 40°C’de ısıtıcı üzerinde inkübe edildi. Alınan kesitler immünohistokimya (İHK) deneyleri yapılana kadar -80°C’de muhafaza edildi.

Deneylere başlamadan önce oda sıcaklığında 30 dk bekletilen kesitler, sonrasında şale yatağına dizildi kesitlerin fiksasyonu için paraformaldehit (PFA, 4%) çözeltisinde 15 dk çalkalanarak inkübe edildi. Ardından camlar tamamen PFA’dan arındırmak için farklı bir şale yatağına taşındı ve önce 5 dk su ile, sonra 3 kere 5 dk PBS içerisinde çalkalandı. Hücre içi peroksidaz enzimlerinin bloke edilmesi amacıyla hidrojen peroksit bloklaması (%0,3 H₂O₂, MetOH içinde, 30 dk) yapıldı ve ardından serum (%1 BSA) ile bloklandı. Ardından dokunun etrafı hidrofobik kalem ile çizildi ve blok solüsyonu eklendi, nemlendirilmiş bir kutu içerisinde, oda sıcaklığında hafifçe çalkalanarak ve 1 saat inkübe edildi. Ardından aynı sistem içinde Anti-A β birincil antikor ile +4°C’de gece boyu inkübe edildi. PBS ile 3 kez 5’er dk yıkanan dokular, oda sıcaklığında hafifçe çalkalanarak keçi anti-fare ikincil antikor ile 1 saat inkübe edildi. PBS ile yıkanan dokular, DAB Peroksidaz Substrat kiti ile boyandı.

Fluoromount aqueous mounting medium uygulanarak lamel ile kapatılan örnekler, Axio Vert. A1 mikroskobu ile görüntüldü.

Kantitasyon için ImageJ yazılımı (National Institutes of Health, ABD) kullanıldı. Makro komutu kullanılarak tüm örnek setine eşit muamele uygulanması sağlandı ve sırasıyla aşağıdaki adımlar izlendi; 8-bit'e ikilileştirme (*binarization to 8-bit*), otomatik yoğunlukla eşikleme (*thresholding with auto intensity*) ve DAB boyaması tarafından kapsanan nispi alanın ölçümü. İstatistiksel analizde, normal dağıldığı tespit edilen veriler, bağımsız örnekler t-testi ile değerlendirildi ve varyansın homojenliği Levene's Equality of Variances Testi ile değerlendirildi.



4 BULGULAR

4.1 Genotipleme ve Farelerin Gruplandırılması

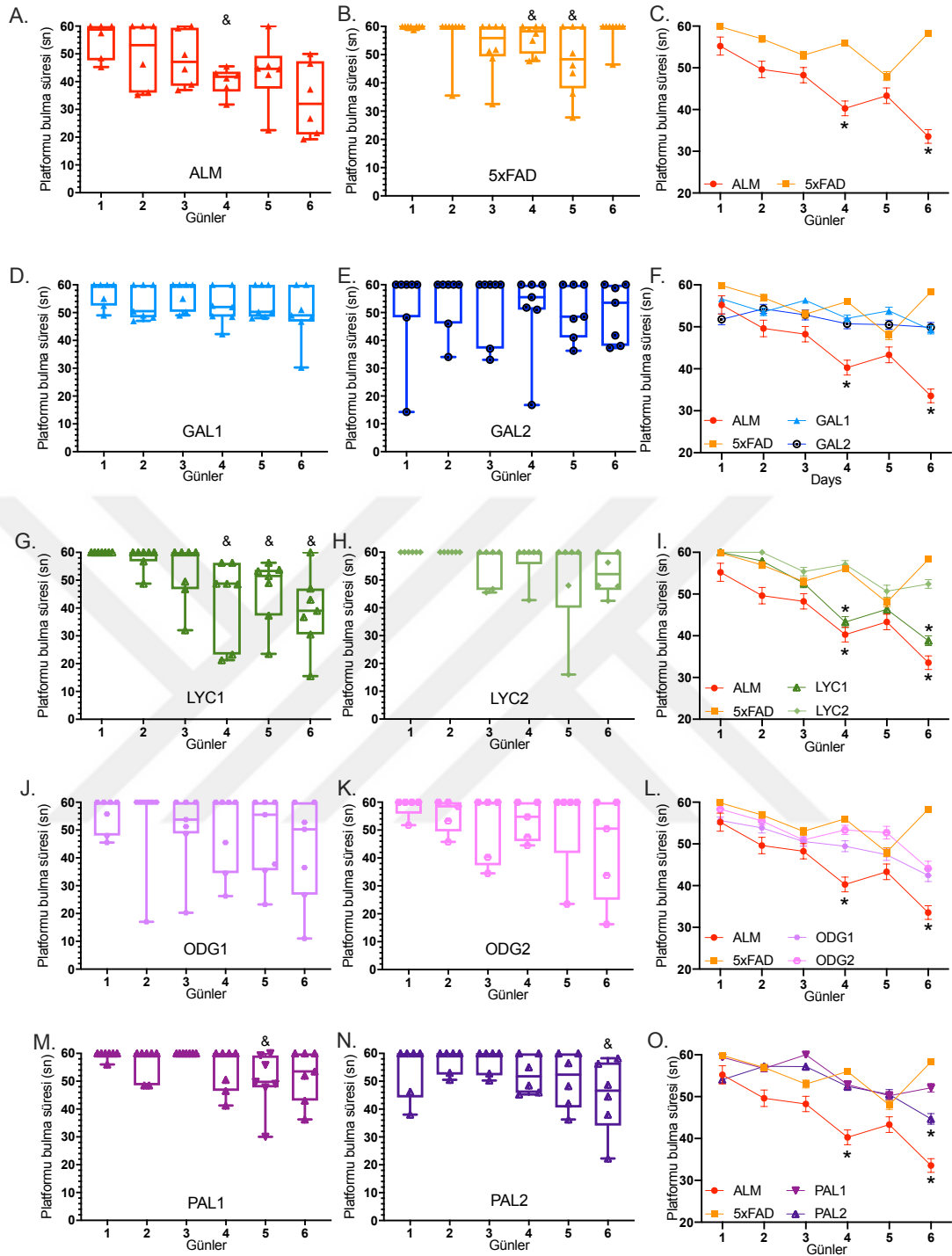
Elde edilen transgenik fareler toplamda 13 gruba bölünerek kontrol ve deney grupları oluşturulmuş, transgenik olmayanlardan da ALM grubu oluşturularak sağlıklı fare kontrol grubu elde edilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. Gruplardaki fare sayıları

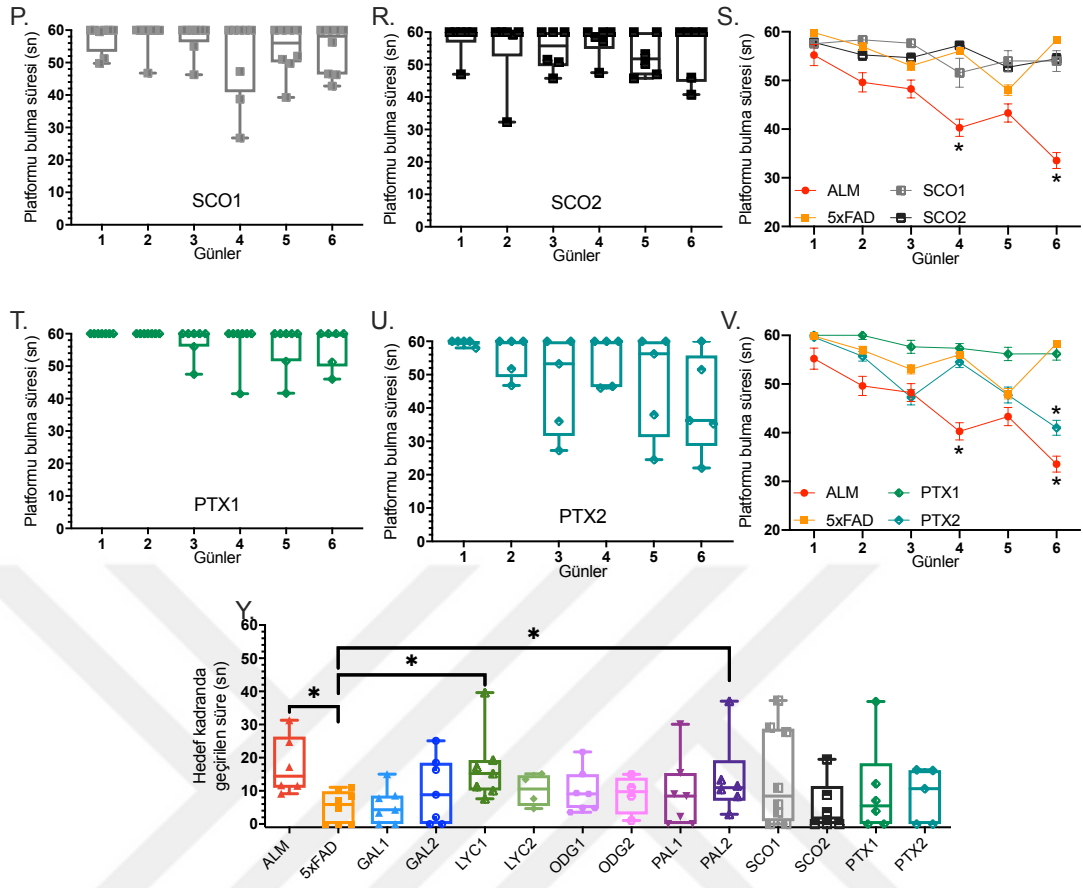
Bileşikler	Doz 1	Doz 2
ALM	6	
5xFAD	8	
GAL	7	7
LYC	7	6
ODG	8	6
PAL	7	6
SCO	8	6
PTX	6	5

4.2 Bileşiklerin Belleğe Olan Etkilerinin Morris Su Labirenti ile Tespiti

Morris su labirenti (MSL) testi ile ileri kognitif bozukluk gösteren 12 aylık 5xFAD farelere uygulanan 6 bileşiğin uzamsal belleğe olan etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, öncelikle öğrenme fazında her grup, kendi içinde ilk gününe göre kıyaslanmış, sonrasında ise günler bazında kontrol grubu olarak kabul edilen 5xFAD ile karşılaştırılmıştır. Hafıza fazında ise yine kontrol grubu baz alınarak farelerdeki olası değişimler tespit edilmiştir.



Şekil 7. Morris su labirenti testi sonuçları. A'dan V'ye kadar olan grafikler öğrenme fazı grafikleri olup, 1. ve 2. sütundaki grafikler her grupta günler arasındaki farklılığı ilk güne göre, 3. sütundaki grafikte ise, ilk iki sütunda verilen gruplar ve kontrol gruplarının günler bazında karşılaştırılması verilmiştir. Y) Hafıza fazı grafiği. Tüm grafikler için, & ilk güne göre, * 5xFAD grubuna göre, istatistiksel anlamlılığı ($p < 0,05$) ifade etmektedir.



Şekil 7. Morris su labirenti testi sonuçları. A'dan V'ye kadar olan grafikler öğrenme fazı grafikleri olup, 1. ve 2. sütunlardaki grafikler her grupta günler arasındaki farklılığı ilk güne göre, 3. sütundaki grafikte ise, ilk iki sütunda verilen gruplar ve kontrol gruplarının günler bazında karşılaştırılması verilmiştir. Y) Hafıza fazı grafiği. Tüm grafikler için, & ilk güne göre, * 5xFAD grubuna göre, istatistiksel anlamlılığı (p < 0,05) ifade etmektedir. (devam)

4.2.1 ALM

Öncelikle ALM grubu 5xFAD grubu ile karşılaştırılarak modelin ve yöntemin geçerliliğinin sağlanması yapıldı. ALM fareler öğrenme fazında 1. güne kıyasla 4. günde anlamlı şekilde daha hızlı platformu bulabilmişlerdir (Şekil 7A), 5xFAD farelerde ise bu anlamlılık yine kendi gruplarına kıyasla 4. ve 5. günlerde görüldü (Şekil 7B). Bu durum şaşırtıcı olsa da 5xFAD farelerin 1. Gündeki platformu bulmadaki başarısının düşüklüğünden kaynaklanabileceği akla gelmektedir. ALM ile 5xFAD kıyaslandığında, öğrenme fazında farelerin 4. ve 6. günlerde istatistiksel anlamlı olarak birbirlerinden farklı olduğu tespit edildi (Şekil 7C). Hafıza fazında ise

beklendiği gibi ALM fareler öğrenme fazında gizli platformun bulunduğu kadranda istatistiksel anlamlı şekilde daha fazla yüzerken, 5xFAD fareler tankta rastgele daha fazla yüzdükleri gözlemlendi (Şekil 7Y).

4.2.2 GAL

GAL'in iki dozunda da MSL testi ile istatistiksel anlamlı bir değişiklik tespit edilemedi (Şekil 7D-F,Y).

4.2.3 LYC

LYC2 öğrenme ya da hafıza fazında bir etki göstermedi (Şekil 7H). LYC1, öğrenme fazında ilk güne kıyasla 4, 5 ve 6. günlerde platformu bulma süresini anlamlı şekilde düşürdü (Şekil 7G). Yine 5xFAD ile kıyaslandığında ALM ile oldukça benzer bir örüntü izleyerek öğrenme fazının 4. ve 6. günlerinde istatistiksel farklılık gösterdi (Şekil 7I). Hedef kadranda geçirdiği yüksek süre ile LYC1, 5xFAD'a göre hafıza fazında istatistiksel anlamlı iyileşme gösterdi (Şekil 7Y).

4.2.4 ODG

ODG'nin iki dozunda da ne hafıza ne de öğrenme fazında anlamlı bir değişiklik tespit edilemedi (Şekil 7J-L,Y).

4.2.5 PAL

PAL1'in öğrenme fazında 1. güne kıyasla 5. günde (Şekil 7M), PAL2'nin ise 1. güne kıyasla 6. günde anlamlı şekilde platformu daha hızlı bulduğu gözlemlendi (Şekil 7N). PAL2'nin, 5xFAD ile kıyaslandığında 6. günde platformu bulma ve hafıza fazında hedef kadranda geçirdiği süre bakımından istatistiksel anlamlılığa ulaştı (Şekil 7O,Y).

4.2.6 SCO

SCO1 ve SCO2'de istatistiksel anlamlı değişim gözlemlenmedi (Şekil 7P-S,Y).

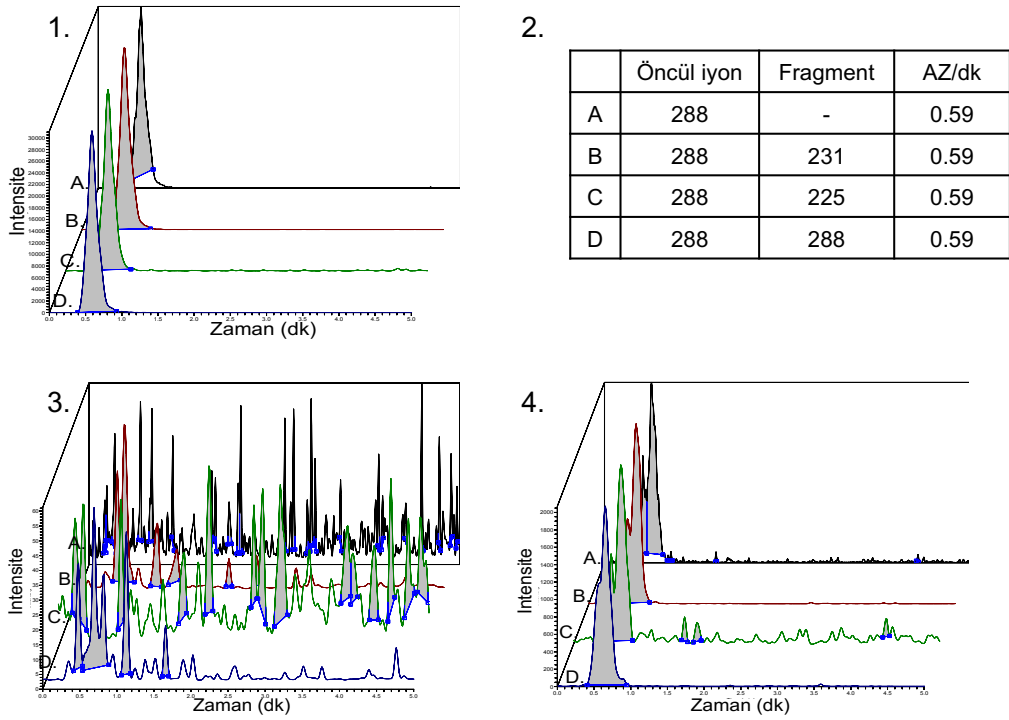
4.2.7 PTX

PTX1'in 5xFAD fareler üzerinde istatistiksel anlamlı bir etkisi gözlemlenmedi (Şekil 7J-L,Y). Ancak PTX2'de öğrenme fazının son gününde platformu bulma süresinin istatistiksel anlamlı olarak azaldığı tespit edildi (Şekil 7V).

4.3 MRM-MS ile Bileşiklerin KBB Geçişinin Tespit Edilmesi

Bileşiklerin kan-beyin bariyeri (KBB) geçebilme yetenekleri bir hedefli kütle spektrometresi yöntemi olan MRM modunda TSQ-QQQ-LC-MS cihazı kullanılarak açığa çıkarıldı.

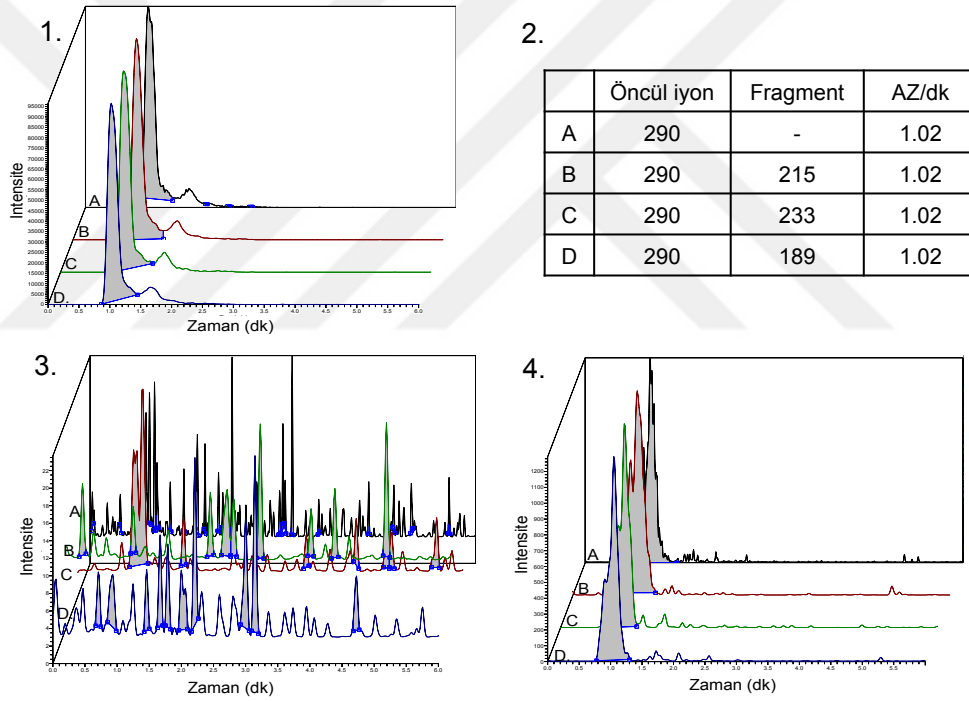
4.3.1 GAL



Şekil 8. GAL'in MRM analizi. Tespit edilen intensite değerleri; 1. Saf GAL, 3. 5xFAD ve 4. GAL enjeksiyonu yapılmış fare beyni. Tüm figürler için A, GAL'in öncül iyonu and B, C, D fragment iyonlarını temsil etmektedir.

GAL'in KBB geçişinin tespiti üç adımda gerçekleştirilmiştir. Öncelikle Şekil 8-2'de verilen öncül ve fragment iyonlarına ait intensite değerleri cihaza saf GAL enjekte edilerek yüksek seviyelerde tespit edilmiştir (Şekil 8-1). Ardından, bu iyonların, kontrol beyin dokusunda bulunmadığı, bu iyonların dokudaki başka bir molekülle eşleşmediği ve bu iyonların GAL'e özgü olduğu gösterilmiştir (Şekil 8-3). Son olarak GAL enjeksiyonu gerçekleştirilmiş farenin beyin dokusunda iyonlar üzerinden GAL varlığı tespit edilmiştir (Şekil 8-4). Sonuç olarak, bu yöntem ile GAL'in KBB'den geçebildiği başarıyla gösterilmiştir.

4.3.2 LYC



Şekil 9. LYC'in MRM analizi. Tespit edilen intensite değerleri; 1. Saf LYC, 3. 5xFAD ve 4. LYC enjeksiyonu yapılmış fare beyni. Tüm figürler için A, LYC'in öncül iyonu ve B, C, D fragment iyonlarını temsil etmektedir.

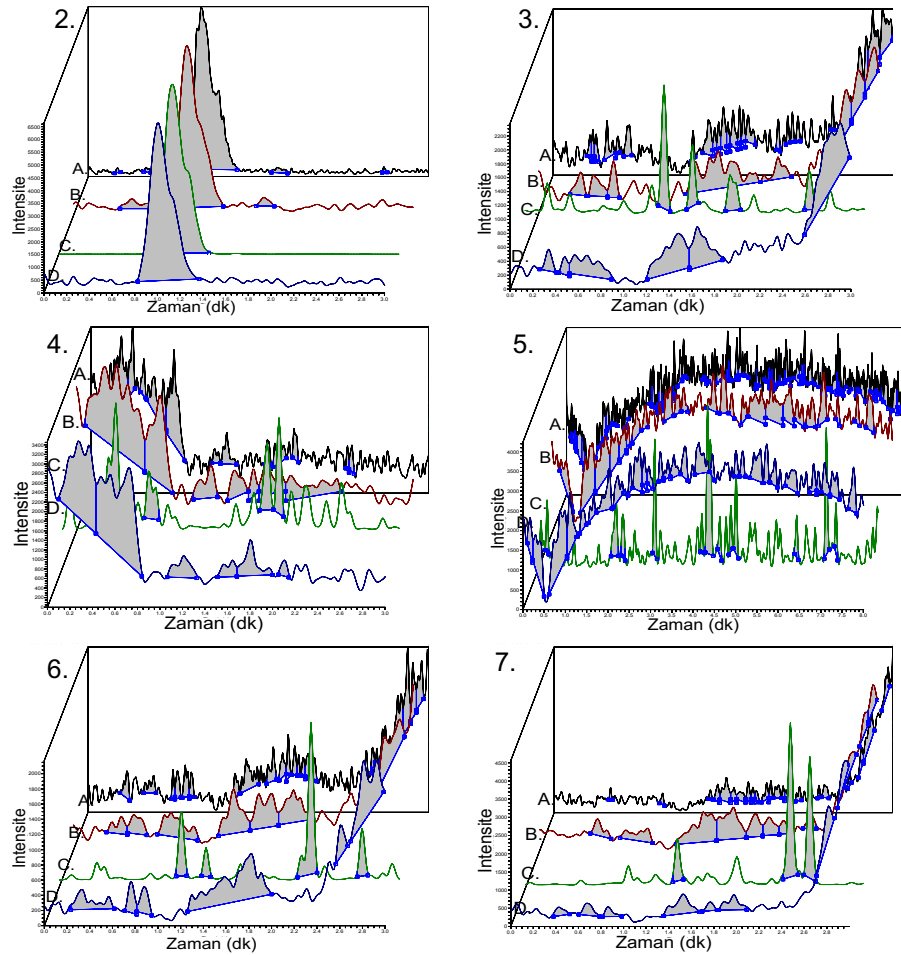
LYC'in KBB'den geçebildiği yine benzer adımlarla gösterildi. Saf LYC enjeksiyonu gerçekleştirildiğinde Şekil 9-2'de verilen LYC'in öncül ve fragment iyonlarına ait intensite değerleri oldukça yüksek çıkmıştır (Şekil 9-1). Ardından, bu iyonların, kontrol beyin dokusunda bulunmadığı, bu iyonların dokudaki başka bir

molekülle eşleşmediği ve LYC'e özgü olduğu gösterilmiştir (Şekil 9-3). LYC enjeksiyonu gerçekleştirilmiş farenin beyin dokusunda LYC tespit edilmiştir (Şekil 9-4).

4.3.3 ODG

1.

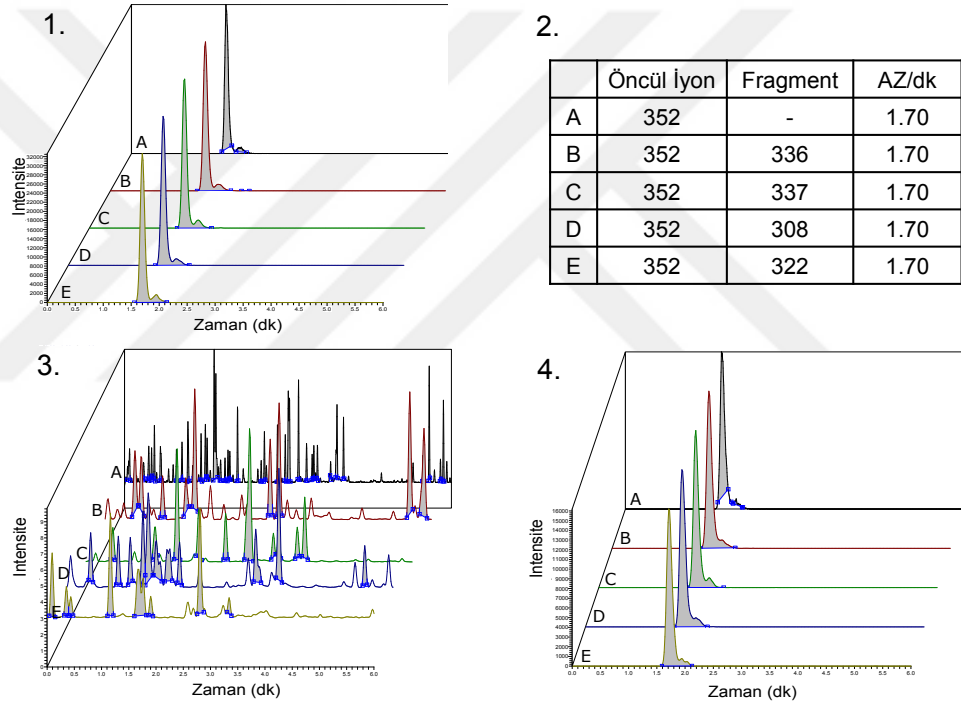
	Öncül iyon	Fragment	AZ/dk
A	274	-	1.00
B	274	217	1.00
C	274	225	1.00
D	274	256	1.00



Şekil 10. ODG'nin MRM analizi. Tespit edilen intensite değerleri; 2. saf ODG, 3. 5xFAD ve 4. 5. 6. ve 7. ODG enjeksiyonu yapılmış sırasıyla yöntem 1, 2, 3 ve 4 uygulanarak hazırlanmış fare beyni; 1. ODG'ye ait öncül iyon ve fragmentlerin m/z ve alıkonma zamanları. Tüm figürler için A, ODG'nin öncül iyonu ve B, C, D fragment iyonlarını temsil etmektedir.

MRM ile saf ODG enjeksiyonu gerçekleştirildiğinde Şekil 10-1’de verilen ODG öncül ve fragment iyonlarına ait intensite değerleri oldukça yüksek çıkmıştır (Şekil 10-2). Ardından, bu iyonların, kontrol beyin dokusunda bulunmadığı, bu iyonların dokudaki başka bir molekülle eşleşmediği ve ODG’ye özgü olduğu gösterilmiştir (Şekil 10-3). ODG enjeksiyonu gerçekleştirilmiş farenin beyin dokusunda 4 farklı ekstraksiyon yöntemi denenmiş ancak hiçbirinde ODG tespit edilememiştir (Şekil 10-4, Şekil 10-5, Şekil 10-6, Şekil 10-7).

4.3.4 PAL



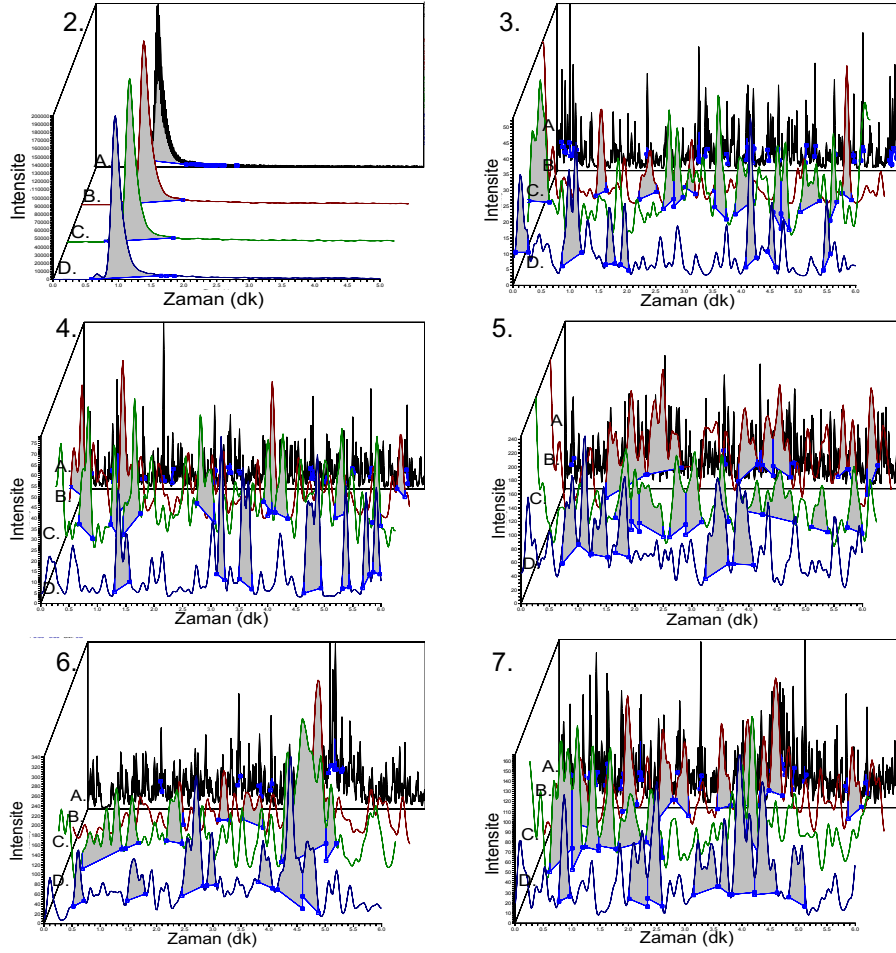
Şekil 11. PAL’in MRM analizi. Tespit edilen intensite değerleri; 1. Saf PAL, 3. 5xFAD ve 4. PAL enjeksiyonu yapılmış fare beyini. Tüm figürler için A, PAL’in öncül iyonu and B, C, D fragment iyonlarını temsil etmektedir.

Saf PAL enjeksiyonu gerçekleştirildiğinde yüksek intensitede elde edilen (Şekil 11-1) PAL’e ait öncül ve fragman iyonlar (Şekil 11-2), 5xFAD beyin dokusunda rastlanmadı (Şekil 11-3). PAL enjeksiyonu yapılmış 5xFAD beyin dokusunda ise, bu iyonlar yüksek intensite değerlerindeki pikler ile tespit edilerek (Şekil 11-4) PAL’in KBB’den geçişi MRM ile kanıtlandı.

4.3.5 SCO

1.

	Öncül iyon	Fragment	AZ/dk
A	193	-	0.95
B	193	132	0.95
C	193	178	0.95
D	193	149	0.95

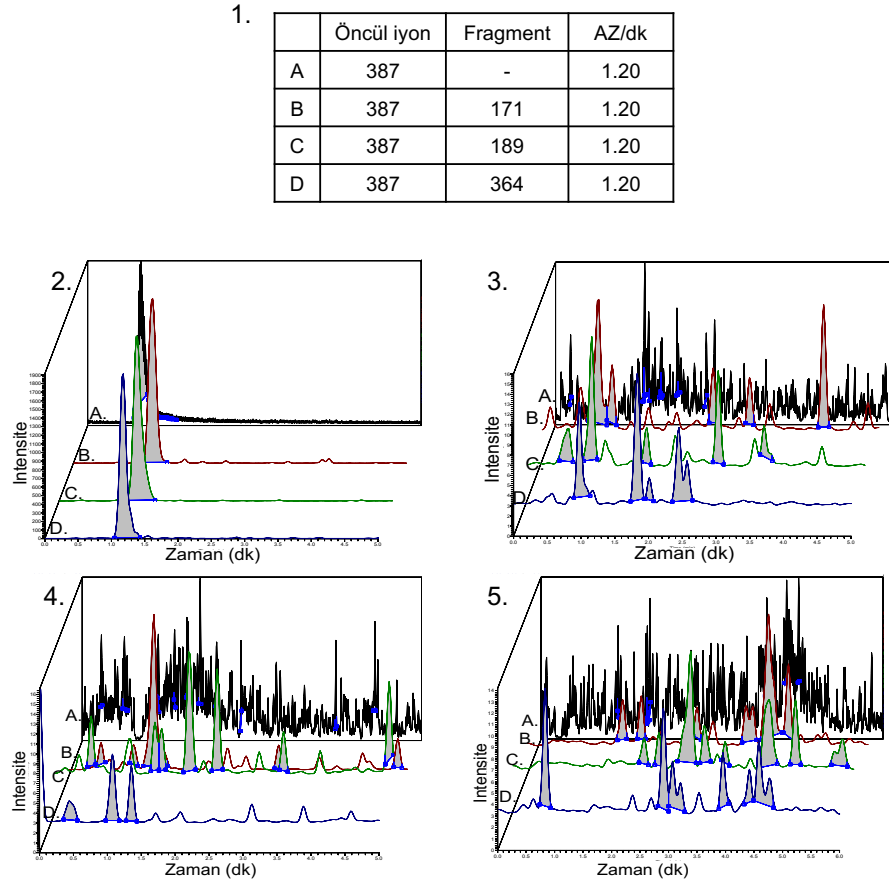


Şekil 12. SCO'nun MRM analizi. Tespit edilen intensite değerleri; 2. saf SCO, 3. 5xFAD ve 4. 5. 6. ve 7. SCO enjeksiyonu yapılmış sırasıyla yöntem 1, 2, 3 ve 4 uygulanarak hazırlanmış fare beyni; 1. SCO'ya ait öncül iyon ve fragmentlerin m/z ve alıkonma zamanları. Tüm figürler için A, SCO'nun öncül iyonu ve B, C, D fragment iyonlarını temsil etmektedir.

SCO'nun öncül ve fragment iyonlarına ait intensite değerleri oldukça yüksek olarak tespit edilmiş (Şekil 12-2) ve bu iyonların, kontrol beyin dokusunda bulunmadığı, dokudaki başka bir molekülle eşleşmediği ve SCO'ya özgü olduğu gösterilmiştir (Şekil 12-3). SCO enjeksiyonu gerçekleştirilmiş farenin beyin

dokusunda 4 farklı yöntem denenmiş ancak hiçbirinde SCO tespit edilememiştir (Şekil 12-4, Şekil 12-5, Şekil 12-6, Şekil 12-7).

4.3.6 PTX



Şekil 13. PTX'in MRM analizi. Tespit edilen intensite değerleri; 2. saf PTX, 3. 5xFAD ve 4. ve 5. PTX enjeksiyonu yapılmış sırasıyla yöntem 1 ve 2 uygulanarak hazırlanmış fare beyni; 1. PTX'e ait öncül iyon and fragmentlerin m/z ve alıkonma zamanları. Tüm figürler için A, PTX'e öncül iyonu and B, C, D fragment iyonlarını temsil etmektedir.

PTX'in KBB'den geçişinin tespiti için yapılan MRM analizinde. PTX'e ait öncül ve fragment iyonlarına (Şekil 13-2) ait intensite değerleri saf PTX'de yüksek seviyelerde tespit edilebilinmiş (Şekil 13-1), kontrol beyin dokusunda bulunmayarak PTX'e özgü olduğu onaylanmıştır (Şekil 13-2). Ancak PTX enjeksiyonu gerçekleştirilmiş farenin beyin dokusunda farklı yöntemler denense de hiçbirinde bileşiğe ait iyonlar tespit edilememiştir (Şekil 13-4, Şekil 13-5).

4.4 Bileşik Uygulaması Sonrası Beyin Bölgelerindeki Protein İfade Farklılıklarının LC-MS/MS ile Tespiti

Tablo 7. Her bileşik için korteks, hipokampus ve serebellum beyin bölgelerine ait LC-MS/MS ile tanımlanan ve anlamlı farklılık gösteren protein sayıları. 5xFAD ALM ile, diğer gruplar 5xFAD ile kıyaslanmıştır.

Gruplar	değişim oranı	korteks		hipokampus		serebellum	
		protein sayısı	anlamlı protein sayısı	protein sayısı	anlamlı protein sayısı	protein sayısı	anlamlı protein sayısı
5xFAD	1,3	1704	252	1656	101	1478	296
GAL1	1,5	2556	83	2275	0	2454	0
GAL2	1,3	2556	36	2275	0	2454	0
LYC1	1,3	2556	145	2275	0	2454	0
LYC2	1,3	2556	25	2275	0	2454	0
ODG1	1,5	1597	0	1653	0	1334	43
ODG2	1,5	1597	1	1653	0	1334	54
PAL1	1,3	1704	0	1656	26	1478	16
PAL2	1,3	1704	0	1656	8	1478	110
SCO1	1,3	1630	148	2022	0	1233	0
SCO2	1,3	1630	131	2022	0	1233	31
PTX1	1,3	1630	136	2022	0	1233	21
PTX2	1,3	1630	130	2022	0	1233	1

Kontrol gruplarının ve bileşik enjeksiyonu gerçekleştirilmiş örneklerin LC-MS/MS ile analizi sonucunda elde edilen protein sayıları Tablo 7’de verilmiştir. Tüm protein listelerine Excel protein listeleri halinde yayımlanmış makalelerin *supplementary* listelerinden (97–99) ya da talep edilmesi halinde tez sahibi ya da danışmanından erişilebilir. Protein ifade seviyesinde anlamlı farklılık 4 kritere göre belirlenmiş olup bunlardan 3 tanesi tüm gruplar için aynıdır: özgül peptit sayısı (öps, *unique peptide*) > 2, $p < 0,05$ ve $q < 0,05$. Değişim oranı (DO, *fold change*) > 1,3 olarak belirlenmiş ancak GAL1, ODG1 ve ODG2 için DO > 1,5 olarak uygulanması uygun görülmüştür. Kıyaslamalar için, 5xFAD sağlıklı grup ALM ile, sonrasında bileşik enjeksiyonu yapılmış gruplar ise kontrol grubu olan 5xFAD ile kıyaslanmıştır. Değişim oranları > 1 olanlar bileşik enjekte edilmiş beyin bölgesinde protein

miktarında o oranda artışı, < 0 olanlar ise o oranda azalışı ifade etmektedir. Anlamlı değişen proteinler ve bahsedilen kriterler, ekte verilen ilgili tablolarda sunulmuştur.

4.4.1 5xFAD

Öncelikle MSL testi ile kognitif bozukluğu olduğu onaylanan 5xFAD'ın protein seviyesinde de ALM'den farklılıklarını ölçmek adına iki grup karşılaştırıldı. Kortekste 252 (Tablo 11), hipokampüste 101 (Tablo 12) ve serebellumda ise 296 (Tablo 13) anlamlı protein değişikliği ile hem tüm bölgelerde hem de yüksek sayıda tespit edilen farklılık, modelin ileri AH modeli olduğunu desteklemektedir.

4.4.2 GAL

GAL gruplarında protein değişimleri yüksek sayılarda tespit edilse de anlamlılığa sadece korteks bölgesinde ulaşıldı. GAL1'de değişim oranı en az 1,5 kabul edildiğinde kortekste 83 proteinde anlamlı değişiklik tespit edilirken (Tablo 14), GAL2'de değişim oranı 1,3 olarak kabul edildiğinde, 36 proteinde anlamlı değişiklik saptandı (Tablo 15).

4.4.3 LYC

LYC gruplarında anlamlı değişiklikler yalnızca korteks bölgesinde tespit edildi. LYC1'de 145 (Tablo 16), LYC2'de ise 25 (Tablo 17) proteinde anlamlı değişiklik gözlemlendi.

4.4.4 ODG

ODG'nin beyin bölgelerine olası etkileri protein düzeyinde araştırıldı ve ODG2'nin hipokampüsteki 1 tane proteinin ifadesini değiştirmesinden hariç (Tablo 18) önceki bileşiklerin aksine etkisini ODG1'de 43 (Tablo 19) ODG2'de 54 (Tablo 20) anlamlı protein değişimi ile serebellum üzerinde gösterdiği belirlendi.

4.4.5 PAL

PAL’de değişimlerin yoğunlukla hipokampus ve serebellumda olduğu tespit edildi. PAL1’de hipokampüste 26 (Tablo 21), serebellumda ise 16 (Tablo 22) anlamlı protein değişikliği bulundu. PAL2’de hipokampüste 8 (Tablo 23), serebellumda ise 110 (Tablo 24) anlamlı protein değişikliği bulundu.

4.4.6 SCO

SCO gruplarındaki değişimlerin yoğunlukla korteks bölgesinde olduğu görüldü. SCO1’de kortekste anlamlı değişim gösteren 148 protein (Tablo 25) bulunmuşken bu sayı SCO2’de 131 (Tablo 26) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, SCO2’de serebellum bölgesinde de 31 proteinde anlamlı değişiklik bulunmuştur (Tablo 27).

4.4.7 PTX

PTX’de diğer kumarin olan SCO’ya benzer şekilde hem korteks hem de serebellumda anlamlı protein ifade farklılıkları bulunmuştur. Kortekste sırasıyla PTX1 ve PTX2’de 136 (Tablo 28) ve 130 (Tablo 29), serebellumda ise 21 (Tablo 30) ve 1 (Tablo 31) tane olmak üzere proteinlerin anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir.

4.5 Biyoinformatik Analizler

Bu aşamaya kadar tüm bileşiklere aynı işlemler uygulanmıştı, ancak biyoinformatik analizlerin gerçekleştirilmesinden önce bileşiklerin gerek kimyasal yapıları, gerek dozları gerekse aktif oldukları beyin bölgeleri değerlendirmeye alınarak 4 grup altında incelenmesi uygun görüldü (Tablo 8).

Tablo 8. Bileşiklerin biyoinformatik analizler için gruplandırılmasını göstermektedir. Hedef bölge, bileşiklerin yoğunlukla protein değişimlerine neden olduğu beyin bölgesini, *MSL testinde öğrenme fazında, **MSL ise hem öğrenme hem hafıza fazında tespit edilen istatistiksel anlamlı iyileşmeyi temsil etmektedir.

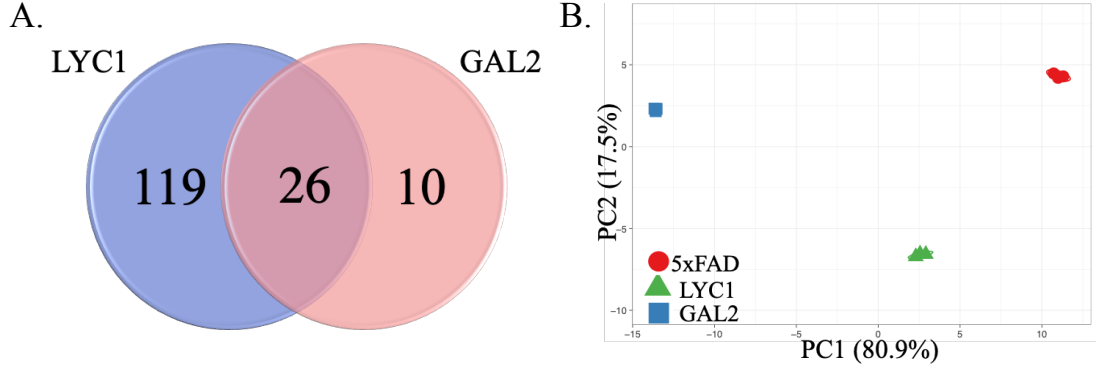
		türü	dozlar (mg/kg)	hedef bölge	Kullanım amacı
Grup 1	GAL2	alkaloid	2	korteks	pozitif kontrol
	LYC1	alkaloid	2	korteks	**MSL
	LYC2	alkaloid	4	korteks	
Grup 2	GAL1	alkaloid	1	korteks	pozitif kontrol
	ODG1	alkaloid	1	serebellum	
	ODG2	alkaloid	2	serebellum	
Grup 3	ALM	-	-	-	
	PAL1	alkaloid	5	hipokampus/serebellum	
	PAL2	alkaloid	10	hipokampus/serebellum	**MSL
Grup 4	SCO1	kumarin	8	korteks	
	SCO2	kumarin	16	korteks	
	PTX1	kumarin	8	korteks	
	PTX2	kumarin	16	korteks	*MSL

4.5.1 GAL2-LYC(1-2)

GAL2, LYC1 ve LYC2 grupları 5xFAD ile karşılaştırmalı olarak bu grupta incelenmiştir. FDA onaylı bir AH ilacı olarak kullanılması, benzer yapıda bir alkaloid olması, LYC1 ile aynı dozda uygulanması ve iki grupta da değişimlerin sadece kortekste görülmesi sebebi ile GAL2 bu gruba pozitif kontrol olarak dahil edilmiştir. LYC1'in MSL ile hem öğrenme hem de hafıza fazında iyileşmeye sebep olduğu tespit edilirken, GAL2'nin etkisi istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı. Bunun sebebini araştırmak adına, iki grubun benzer ve özgü protein değişiklikleri araştırıldı. LYC1'e özgü 119, GAL2'ye özgü 10, ortak olarak 26 protein değişimi tespit edildi (Şekil 14A). Ortak ve özgü proteinlerin listesi ayrıca Tablo 9'da sunulmuştur.

PCA sonuçlarında görülen PC1 (%80,9) ve PC2 (%17,5) gibi yüksek temel bileşen değerleri, bileşik uygulamaları sonucunda protein ifadelerindeki farklılığa işaret etmektedir (Şekil 14B). Ayrıca, tüm örnekler %95 güven aralığında bulunup,

grup dışı örnek tespit edilmemiştir. Bu da örnek hazırlığının ve protein ifade analizlerinin optimal koşullarda gerçekleştiğini doğrulamaktadır.



Şekil 14. GAL2 ve LYC1'in korteks bölgesindeki ifade farklılıklarının biyoinformatik analizleri: A. Venn analizi B. Temel bileşen analizi (PCA). Kırmızı daire 5xFAD'ı, yeşil üçgen LYC1'i, mavi kare GAL2'yi temsil etmektedir.

İki grupta ortak olarak ifade değişikliği bulunan proteinler arasında AH ile yüksek oranda ilişkili olan Apolipoprotein E (ApoE), Clusterin (Clu) ve Mikrotübül ilişkili protein tau (Mapt) belirlendi. Bu proteinlerin ifadesindeki azalma, hem LYC ve GAL'in A β ve tau patolojisi üzerindeki etkisine işaret etmektedir.

DAVID yazılımı ile, LYC1'e özgü ifadesi değişen proteinler fonksiyonlarına göre 5 kümede (*cluster*) toplandı: sinaps, hücre iskeleti, nükleotit bağlanması (*nucleotide binding*), taşıma ve ara filament (*intermediate filament*). Bu kümeler, LYC1'in AH'de önemli olan mekanizmaların rol alan proteinlerin yeniden düzenlenmesi ile etki ettiğini gösterdi.

Tablo 9. LYC1 ve GAL2'ye özgü ve ortak olarak kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi

	Uniprot no	Protein ismi	DO	
			LYC1	GAL2
LYC1e özgü proteinler	Q8BXX8	Arf-GAP with GTPase_ ANK repeat and PH domain-containing protein 1	5,76	
	P04370	Myelin basic protein	5,41	
	Q5SSH7	Zinc finger ZZ-type and EF-hand domain-containing protein1	5,19	

Tablo 9. LYC1 ve GAL2'ye özgü ve ortak olarak kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi (devam)

LYC1e özgü proteinler	Q01065	Calcium/calmodulin-dependent phosphodiesterase 1B	3'_5'-cyclic nucleotide	4,59
	Q62000	Mimecan		3,4
	Q8BNW9	Kelch repeat and BTB domain-containing protein 11		3,36
	Q60829	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 1B		2,67
	Q08642	Protein-arginine deiminase type-2		2,46
	Q922Q1	Mitochondrial amidoxime reducing component 2		2,35
	Q923T7	Tripartite motif-containing protein 7		2,28
	Q9R0N5	Synaptotagmin-5		2,28
	P20357	Microtubule-associated protein 2		2,28
	Q6P6L0	Filamin A-interacting protein 1-like		2,26
	Q8CC88	von Willebrand factor A domain-containing protein 8		2,18
	Q7TSJ2	Microtubule-associated protein 6		2,11
	P54227	Stathmin		2,08
	Q9QXV0	ProSAAS		2,07
	O55042	Alpha-synuclein		2,03
	Q8BGD9	Eukaryotic translation initiation factor 4B		1,99
	Q8BNA6	Protocadherin Fat 3		1,94
	Q6R891	Neurabin-2		1,93
	P57080	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 25		1,92
	Q62417	Sorbin and SH3 domain-containing protein 1		1,91
	Q8BYR5	Calcium-dependent secretion activator 2		1,91
	Q91WM1	Spermatid perinuclear RNA-binding protein		1,86
	Q569Z5	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX46		1,86
	Q4ACU6	SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein 3		1,85
	Q6Q477	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4		1,81
	Q4U2R1	E3 ubiquitin-protein ligase HERC2		1,8
	Q8R4E6	Purine-rich element-binding protein gamma		1,77
	Q9DBR4	Amyloid-beta A4 precursor protein-binding familyB member2		1,77
	Q8BLR2	Copine-4		1,74
	Q8K1Z0	Ubiquinone biosynthesis protein COQ9_ mitochondrial		1,73
	O88569	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1		1,69
	P13542	Myosin-8		1,68
	P23242	Gap junction alpha-1 protein		1,68
	Q9D478	Outer dense fiber protein 2-like		1,67
	Q7TQD2	Tubulin polymerization-promoting protein		1,59
	Q9DC70	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 7_ mt		1,59
	Q60780	Growth arrest-specific protein 7		1,59

Tablo 9. LYC1 ve GAL2'ye özgü ve ortak olarak kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi (devam)

LYC1e özgü proteinler	Q61390	T-complex protein 1 subunit zeta-2	1,58
	P30415	NK-tumor recognition protein	1,58
	P63216	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-3	1,58
	O88456	Calpain small subunit 1	1,57
	Q8VE47	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 5	1,55
	Q9EPU0	Regulator of nonsense transcripts 1	1,55
	Q99PU5	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase ACSBG1	1,54
	P31254	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1 Y	1,53
	Q9Z0P4	Paralemmin-1	1,53
	A2AQW0	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 15	1,53
	P50580	Proliferation-associated protein 2G4	1,52
	O55029	Coatomer subunit beta'	1,52
	P62918	60S ribosomal protein L8	1,51
	P47802	Metaxin-1	1,51
	P27546	Microtubule-associated protein 4	1,51
	P97797	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1	1,5
	Q9R0Y5	Adenylate kinase isoenzyme 1	1,5
	O54865	Guanylate cyclase soluble subunit beta-1	1,49
	Q61425	Hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase_ mitochondrial	1,48
	P03995	Glial fibrillary acidic protein	1,47
	Q9WUX5	Protein MRVI1	1,46
	Q61548	Clathrin coat assembly protein AP180	1,46
	O88935	Synapsin-1	1,45
	P48678	Prelamin-A/C	1,45
	Q5EBJ4	Ermin	1,45
	Q8BLQ9	Cell adhesion molecule 2	1,45
	P32921	Tryptophan--tRNA ligase_ cytoplasmic	1,44
	Q9QYR6	Microtubule-associated protein 1A	1,44
	B2RX88	Centrosome and spindle pole associated protein 1	1,44
	P20152	Vimentin	1,43
	Q9Z0P5	Twinfilin-2	1,43
	Q9CPU4	Microsomal glutathione S-transferase 3	1,43
	P97450	ATP synthase-coupling factor 6_ mitochondrial	1,43
	Q7TPV4	Myb-binding protein 1A	1,42
	Q0VGY8	Protein TANC1	1,41
	Q61789	Laminin subunit alpha-3	1,41
	P10126	Elongation factor 1-alpha 1	1,41

Tablo 9. LYC1 ve GAL2'ye özgü ve ortak olarak kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi (devam)

LYC1e özgü proteinler	Q9DAW9	Calponin-3	1,41
	Q8R5M8	Cell adhesion molecule 1	1,41
	Q3TRM8	Hexokinase-3	1,4
	G5E8K5	Ankyrin-3	1,4
	Q80U28	MAP kinase-activating death domain protein	1,39
	Q6PHN9	Ras-related protein Rab-35	1,39
	Q571C7	Transcription factor TFIIIB component B" homolog	1,39
	Q7TNP2	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A beta isoform	1,39
	O55137	Acyl-coenzyme A thioesterase 1	1,38
	Q6ZQ18	Protein EFR3 homolog B	1,37
	Q8R1Q8	Cytoplasmic dynein 1 light intermediate chain 1	1,37
	Q80YN3	Breast carcinoma-amplified sequence 1 homolog	1,37
	Q921F2	TAR DNA-binding protein 43	1,36
	Q9WV80	Sorting nexin-1	1,36
	Q9QUR7	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase NIMA-interacting 1	1,36
	Q91XL9	Oxysterol-binding protein-related protein 1	1,36
	A2AAJ9	Obscurin	1,36
	O70318	Band 4,1-like protein 2	1,36
	P84104	Serine/arginine-rich splicing factor 3	1,35
	B0V2N1	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S	1,35
	Q9JM52	Misshapen-like kinase 1	1,35
	P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	1,35
	Q3UHX2	28 kDa heat- and acid-stable phosphoprotein	1,35
	Q3UNH4	G protein-regulated inducer of neurite outgrowth 1	1,35
	Q9Z2H5	Band 4,1-like protein 1	1,35
	Q9JK48	Endophilin-B1	1,34
	P36993	Protein phosphatase 1B	1,34
	Q9D023	Mitochondrial pyruvate carrier 2	1,34
	Q6PDL0	Cytoplasmic dynein 1 light intermediate chain 2	1,34
	O54774	AP-3 complex subunit delta-1	1,34
	P63137	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit beta-2	1,33
	Q9QXY6	EH domain-containing protein 3	1,33
	Q9DBG6	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 2	1,32
	P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	1,32
	P70398	Probable ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase FAF-X	1,31
	Q9WTS6	Teneurin-3	1,31

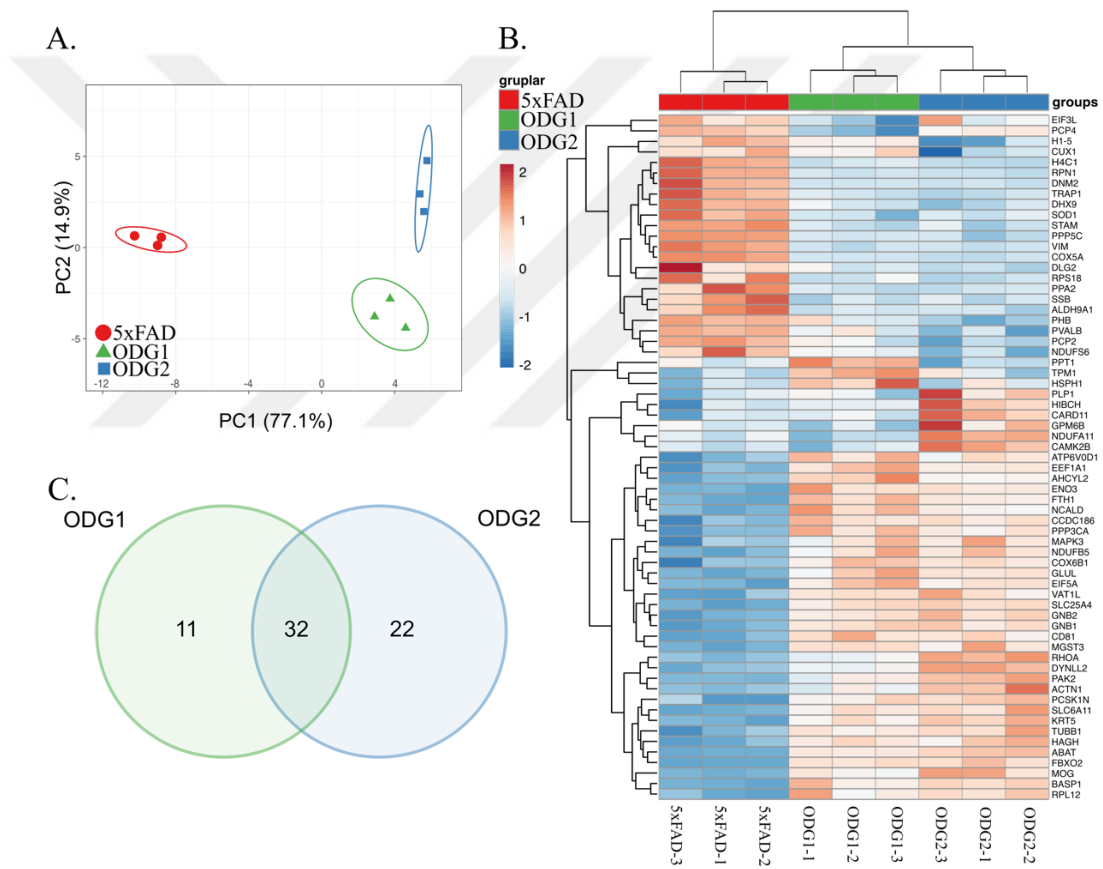
Tablo 9. LYC1 ve GAL2'ye özgü ve ortak olarak kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi (devam)

LYC1e özgü proteinler	Q9WU78	Programmed cell death 6-interacting protein	1,31	
	Q9EPN1	Neurobeachin	1,31	
	Q99KE1	NAD-dependent malic enzyme_mt	1,31	
	Q8VED5	Keratin_type II cytoskeletal 79	1,31	
	Q9CXW3	Calcyclin-binding protein	1,31	
	O88737	Protein bassoon	1,31	
ortak proteinler	P33175	Kinesin heavy chain isoform 5A	1,36	1,67
	P45591	Cofilin-2	1,34	1,46
	Q9CSH3	Exosome complex exonuclease RRP44	-1,33	-1,47
	P0DP28	Calmodulin-3	-1,33	-1,59
	Q99P72	Reticulon-4	-1,35	-1,35
	P08226	Apolipoprotein E	-1,35	-2,22
	Q60598	Src substrate cortactin	-1,39	-1,39
	P60879	Synaptosomal-associated protein 25	-1,39	-1,37
	Q06890	Clusterin	-1,41	-1,82
	P99027	60S acidic ribosomal protein P2	-1,47	-1,37
	D3YVF0	A-kinase anchor protein 5	-1,47	-1,39
	Q501J6	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX17	-1,52	-1,54
	P0CG50	Polyubiquitin-C	-1,54	-2,27
	Q5DU25	IQ motif and SEC7 domain-containing protein 2	-1,64	-1,45
	P47708	Rabphilin-3A	-1,64	-1,32
	Q9WV92	Band 4,1-like protein 3	-1,67	-1,41
	Q9QWI6	SRC kinase signaling inhibitor 1	-1,72	-1,64
	Q91XM9	Disks large homolog 2	-1,79	-1,52
	Q8CC35	Synaptopodin	-1,79	-1,59
	Q3UHH0	AP2-associated protein kinase 1	-1,92	-1,49
	Q5I012	Putative sodium-coupled neutral amino acid transporter 10	-2,00	-1,54
	P10637	Microtubule-associated protein tau	-2,04	-1,69
	Q91ZZ3	Beta-synuclein	-2,08	-1,82
	Q9WUK2	Eukaryotic translation initiation factor 4H	-2,22	-1,96
	Q6P9K8	Caskin-1	-2,22	-1,67
	Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	-2,78	-2,27
GALe özgü proteinler	P97370	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-3	1,38	
	Q8BFZ6	Isopentenyl-diphosphate delta-isomerase 2	1,35	
	D3Z7P3	Glutaminase kidney isoform_mitochondrial	1,35	
	Q9CQX8	28S ribosomal protein S36_mitochondrial	-1,32	
	Q920E5	Farnesyl pyrophosphate synthase	-1,32	

Tablo 9. LYC1 ve GAL2'ye özgü ve ortak olarak kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi (devam)

Q80U23	Syntaphilin	-1,32
P54728	UV excision repair protein RAD23 homolog B	-1,32
P52760	2-iminobutanoate/2-iminopropanoate deaminase	-1,56
P12023	Amyloid-beta A4 protein	-1,67
Q2KN98	Cytospin-A	-1,72

4.5.2 GAL1-ODG(1-2)



Şekil 15. ODG1 ve ODG2'nin serebellum bölgesindeki ifade farklılıklarının biyoinformatik analizleri: A. PCA B. HC ve C. Venn analizi. Tüm figürlerde kırmızı ve/veya daire 5xFAD'ı, yeşil ve/veya üçgen ODG1'i, mavi ve/veya kare ODG2'yi temsil etmektedir.

GAL1, ODG1 ve ODG2 grupları 5xFAD ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. ODG2 ile GAL1 farelere eşit dozda uygulanmıştır. Bu gruptaki bileşiklerin kognitif

bozukluğa bir etkisi gözlenmemiş olsa da ODG'nin GAL'den yapısal olarak sadece bir metil grubu eksik iken (Şekil 3C), GAL'de kortekste görülen protein ifadesindeki farklılıklarının, ODG'de yoğunlukla serebellum bölgesinde görülmesi dikkat çekicidir. ODG'nin serebellum bölgesindeki bu etkisinin araştırılması adına ilk adım olarak PCA gerçekleştirildi. ODG1, ODG2 ve 5xFAD gruplarının birbirlerinden PC1 (%77,1) ve PC2 (%14,9) ile ayrılarak sonuçların yüksek tekrarlanabilirliğini göstermiştir (Şekil 15A). Ayrıca HC analizi de örnekleri kendi gruplarına kümeleyerek bu sonuçları doğrulamıştır (Şekil 15B). Venn diyagramı ile 32 proteinin iki grupta da ortak olarak, 11 proteinin ODG1'e özgü, 22 proteinin ise ODG2'ye özgü değişim gösterdiği tespit edilmiştir.

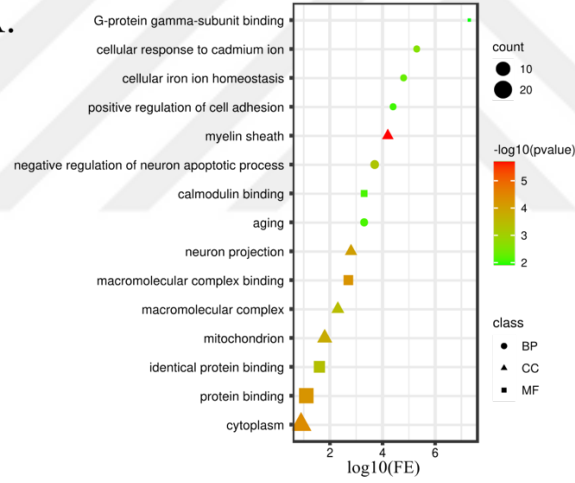
Bu proteinlerin biyolojik fonksiyonlarını daha iyi anlayabilmek ve AH ile ilişkilendirebilmek için GO ve KEGG yolak analizleri gerçekleştirildi ve sonuçlar Şekil 16'da sunuldu. ODG1'e özgü anlamlı değişen proteinlerin, nöron apoptotik sürecinin negatif regülasyonu, kadmiyum iyonuna hücresel yanıt ve hücre adezyonunun pozitif düzenlenmesi ile ilgili biyolojik süreçlerde, ODG2'ye özgü anlamlı değişen proteinlerin ise ilaca yanıt, mitokondriyal solunum zinciri kompleks I, mitokondriyal ATP sentezine bağımlı proton taşınması gibi biyolojik süreçlerde zenginleştikleri tespit edilmiştir. ODG1 ve ODG2'de ortak değişen proteinlerin ise hücresel demir iyonu homeostazisinde ve yaşlanma biyolojik süreçlerinde birlikte zenginleştikleri görülmüştür.

KEGG analizleri ise, ODG1'de akson yönlendirme, sirkadiyen sürüklenme, kolinerjik sinaps, glutamaterjik sinaps ve Ras sinyal yollarındaki zenginleşmeyi işaret ederken, ODG2'de β -alanin metabolizması, GABAerjik sinaps, valin, lösin ve izolösin yıkımı, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı, Huntington hastalığı (HH), Amyotrofik lateral skleroz (ALS) ve AH yolları karşımıza çıkmaktadır. Her iki gruptaki anlamlı değişen proteinlerin ise genellikle nörodejenerasyon yollarında zenginleştiği bulunmuştur - çoklu hastalıklar, kimyasal karsinogenez - reaktif oksijen türleri, prion hastalığı, oksidatif fosforilasyon (OXPHOS), retrograd endokannabinoid sinyalleme ve Parkinson hastalığı (PH) gibi.

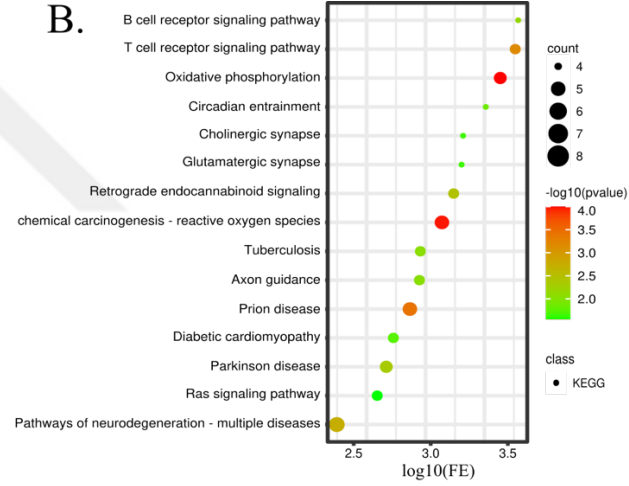
Anlamalı değişen proteinler arasındaki etkileşimleri analiz etmek ve ana düzenleyici genleri (core regulatory genes) belirlemek için protein-protein etkileşim (*protein-protein interaction*, PPI) analizleri gerçekleştirildi. Bunun için ODG1 ve/veya ODG2’de ifadesi anlamalı değişen proteinler haritalandırıldı ve GNB1, GNB2, NDUFS6, PAK2 ve RhoA, ilk 5 *hub* protein olarak tespit edildi (şekil 17). Ayrıca bu proteinlerin ifadeye etkilerinin ODG1 ve ODG2 de aynı yönde olduğu belirlendi. KEGG yolak analizi, GBB1, GBB2, PAK2 ve RhoA proteinlerinin Ras sinyal yolağında yer aldığını; GBB1, GBB2 ve NDUFS6 proteinlerinin ise retrograd endokannabinoid sinyal yolağında bir rol oynadığını açığa çıkarttı.



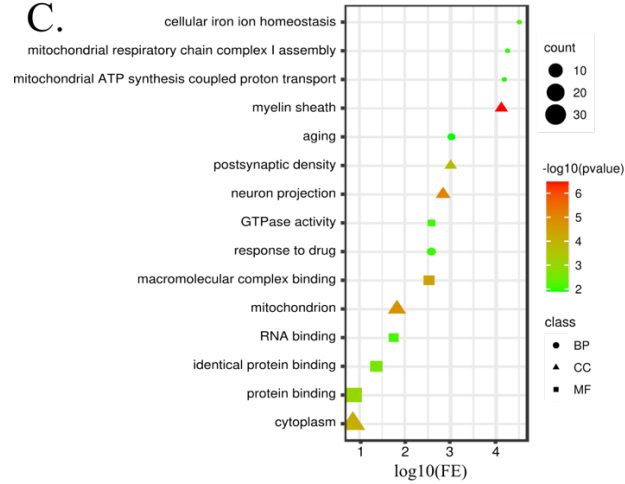
A.



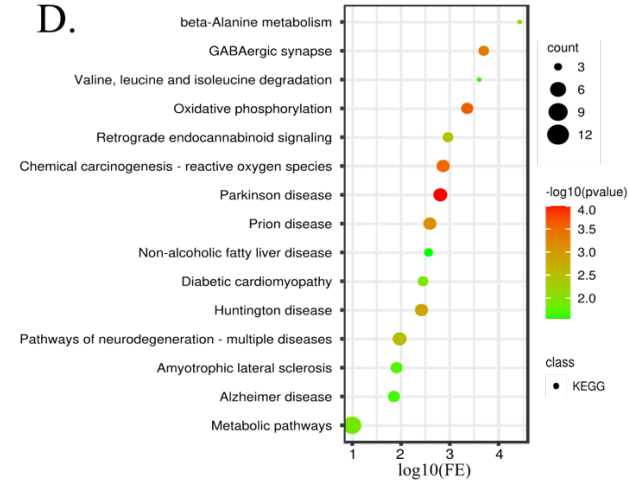
B.



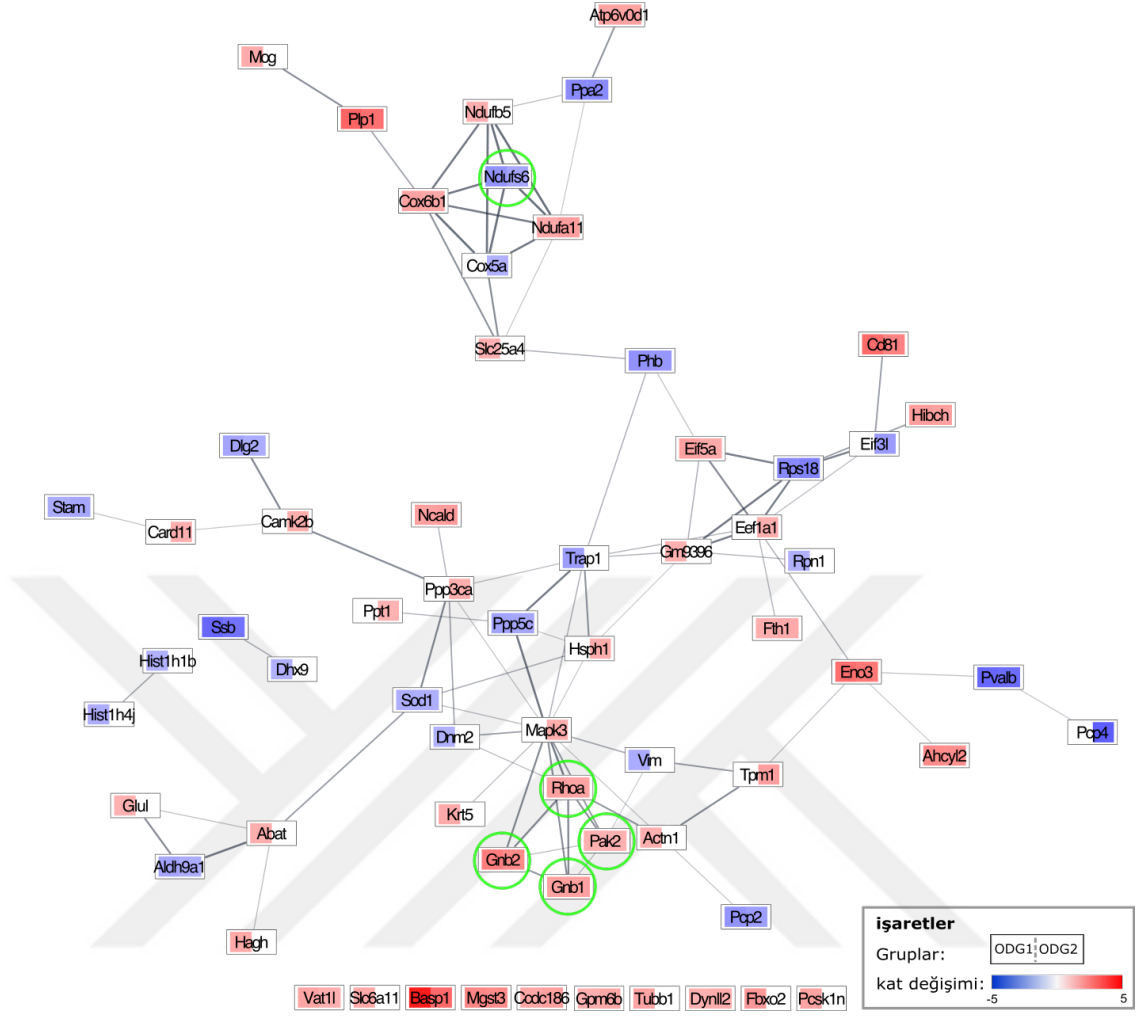
C.



D.



Şekil 16. ODG1 ve ODG2’de 5xFAD’a kıyasla anlamlı değişim gösteren proteinlerin zenginleştiği yolların baloncuk grafiği ile gösterimi. ODG1’in A. GO ve B. KEGG yolak analizleri, ODG2’nin C. GO ve D. KEGG yolak analizleri.



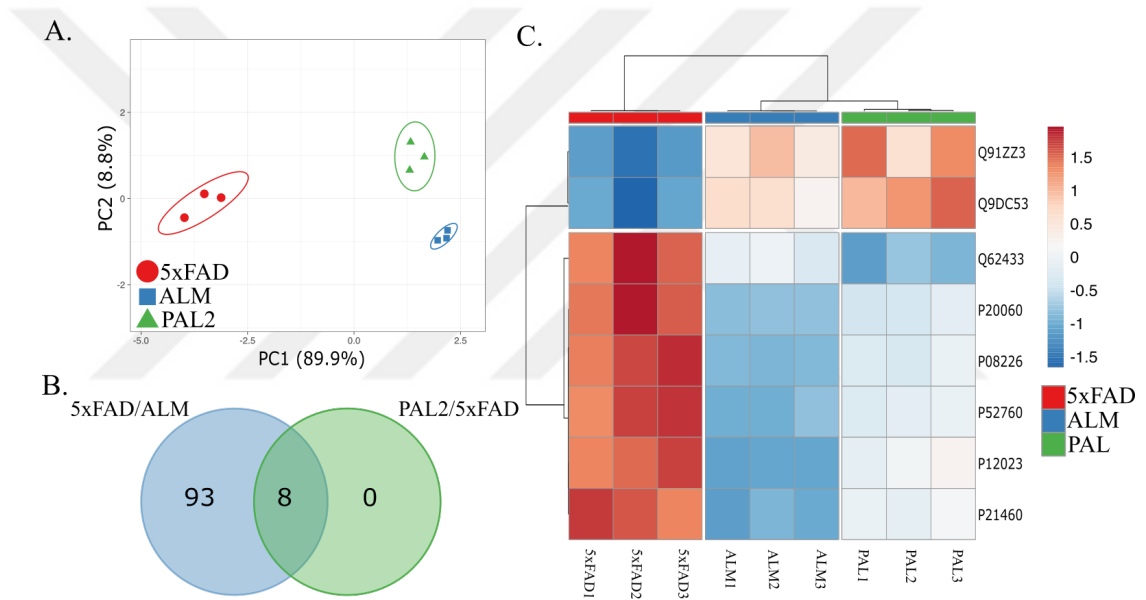
Şekil 17. ODG1 ve ODG2 için protein-protein etkileşim haritası. ODG1 ve ODG2'de 5xFAD'a kıyasla anlamlı değişen her proteinin ifade değişimini göstermektedir. Her proteini bir dikdörtgen, bir dikdörtgenin sol ve sağ tarafını sırasıyla ODG1 ve ODG2 temsil eder. Bir proteinin ifadesinin artması mavi ile, azalması kırmızı ile gösterilmiştir, rengin açıklığı ve koyuluğu dereceli olarak kat değişimine bağlıdır (en az: -5, en çok: 5) Beyaz renk, proteinin o grupta anlamlı değişmediğini gösterir. İlk 5 *hub* protein yeşil halka içinde gösterilmiştir.

4.5.3 ALM-PAL(1-2)

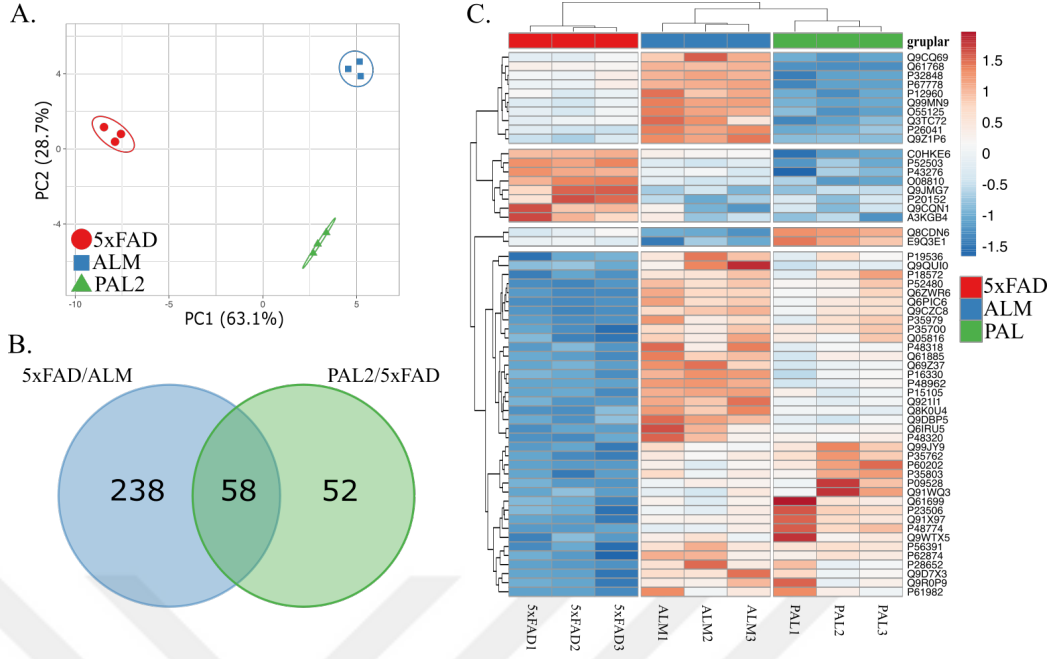
ALM, PAL1, PAL2 ve 5xFAD grupları karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir. PAL2'nin öğrenme ve hafıza testinde anlamlı iyileşme gösterdiği MSL ile tespit edilmişti. PAL2 ve 5xFAD ile 5xFAD ve ALM grupları arasındaki ikili karşılaştırmalar üzerinden hipokampus ve serebellum bölgelerindeki protein

değişiklikleri değerlendirilerek PAL'in AH üzerindeki moleküler etkisi anlamlandırılmaya çalışıldı.

PCA hem hipokampüste hem de serebellumda ALM, 5xFAD ve PAL2 grupları arasında proteinlerin kapsamlı bir şekilde değiştiğini göstermiştir; bunlar, hipokampüste PC1 (%89.9) ve PC2 (%8.8) (Şekil 18A) ve serebellumda PC1 (%60.6) ve PC2 (%26.9) (Şekil 19A) ile açıkça ayrılmıştır. Aynı gruptaki örnekler, yüksek tekrarlanabilirlik göstererek bir arada kümelendi.



Şekil 18. ALM, 5xFAD ve PAL2'nin hipokampus bölgesindeki ifade farklılıklarının biyoinformatik analizleri: A. PCA B. Venn analizi ve C. HC analizi. Tüm figürlerde kırmızı ve/veya daire 5xFAD'ı, yeşil ve/veya üçgen PAL2'yi, mavi ve/veya kare ALM'yi temsil etmektedir.



Şekil 19. ALM, 5xFAD ve PAL2'nin serebellum bölgesindeki ifade farklılıklarının biyoinformatik analizleri: A. PCA B. Venn analizi ve C. HC analizi. Tüm figürlerde kırmızı ve/veya daire 5xFAD'ı, yeşil ve/veya üçgen PAL2'yi, mavi ve/veya kare ALM'yi temsil etmektedir.

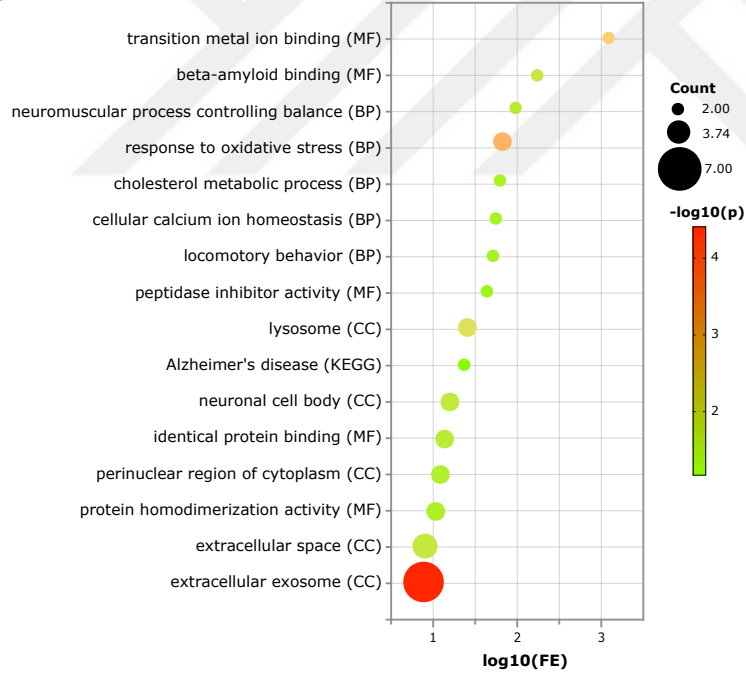
PAL'in AH üzerindeki etkisinin daha iyi anlaşılması için ikili karşılaştırma yapıldı. Hipokampüste, PAL2'de (5xFAD'a kıyasla) tanımlanan tüm ifadesi değişen proteinlerin de 5xFAD'da (ALM'ye kıyasla) anlamlı değiştiği bulundu (Şekil 18B). Öte yandan, serebellumda PAL2'de (5xFAD'a kıyasla) saptanan 110 anlamlı değişiklik gösteren proteinden 58'i 5xFAD'dakilerle (ALM'ye kıyasla) örtüşüyordu (Şekil 19B). Bu proteinler HC ile değerlendirildi, hipokampüste 8 proteinden (%100) ve serebellumdaki 46 (%79) proteinin ALM'deki seviyesine göre ALZ'de yükseldiği sonra PAL2'de azaldığı; veya ALZ'de azaldığı ve sonra PAL2'de arttığı belirlendi (Şekil 18C, Şekil 19C).

Daha sonra, hipokampus ve serebellum bölgelerinde ortak olarak değişen proteinler için, biyolojik işlevlerinin yorumlanmasını sağlayan GO ve KEGG analizleri gerçekleştirildi ve sonuçları Şekil 20'de sunuldu. Proteinlerin zenginleştiği ilk 3 moleküler fonksiyon, hipokampüste geçiş metal iyonu bağlanması, Aβ bağlanması ve özdeş protein bağlanması iken, serebellumda glutamat dekarboksilaz aktivitesi, glutamat bağlanması ve protein bağlanması olarak bulundu. Biyolojik

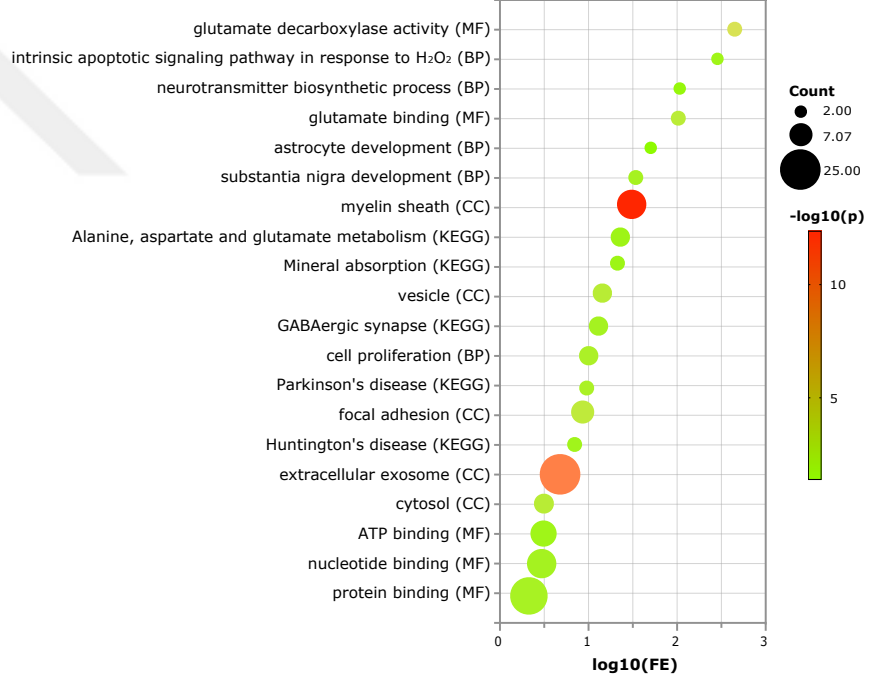
süreçlerde proteinler, hipokampüste; oksidatif strese yanıtın düzenlenmesi ve nöromüsküler süreç kontrol dengesinde, serebellumda ise hücre proliferasyonu, kolesterol metabolik süreç yolları, substantia nigra gelişimi ve hidrojen peroksit yanıt olarak intrinsik apoptotik sinyal yolunun negatif düzenlenmesinde yer aldığı tespit edildi. Proteinler çoğunlukla hipokampüste hücre dışı eksozom, lizozom ve hücre dışı boşluğun hücresel bileşenleriyken, diğer yandan serebellumda miyelin kılıfı, hücre dışı eksozomu ve fokal yapışmanın bileşenleri olarak bulundu. KEGG yola analizi ile hipokampüste anlamlı değişen proteinlerin AH yollarında zenginleşmiş olduğu görülürken serebellumda diğer nörodejeneratif hastalıkları (PH, HH) ve GABAerjik sinaps yolları tespit edildi.

Ayrıca, temel düzenleyici genleri tanımlamak için PPI analizi yapıldı. Serebellumda belirlenen 46 protein arasından HS105, HS12A ve RL12, hem LAC hem de DMNC yöntemleri ile ilk 3 *hub* proteini olarak belirlendi (Şekil 21).

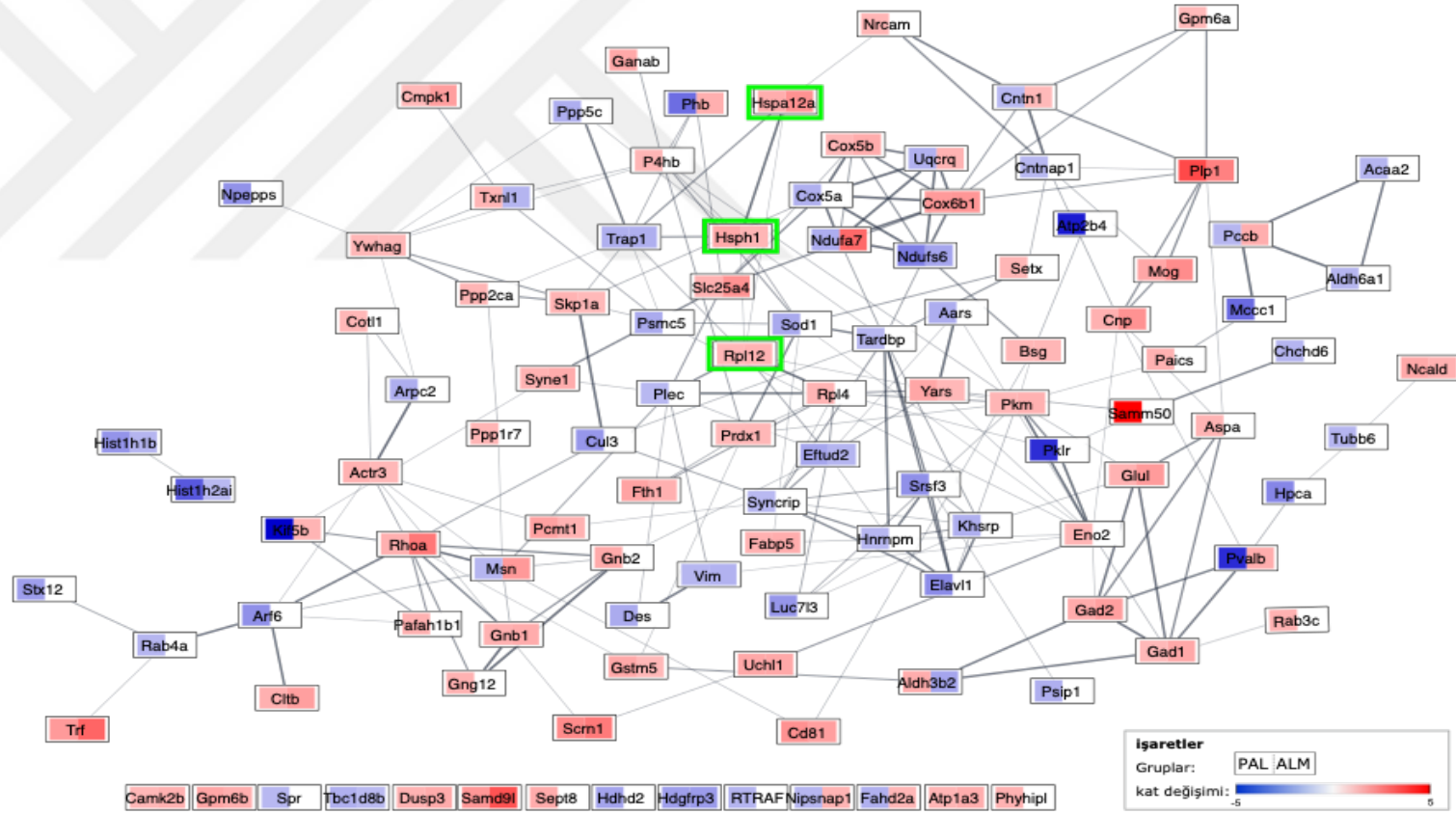
A.



B.



Şekil 20. PAL2’de 5xFAD’a kıyasla anlamlı değişim gösteren proteinlerin zenginleştiği yolların baloncuk grafiği ile gösterimi. A. hipokampus ve B. serebellum bölgesine ait analizler. GO/KEGG terimleri y ekseninde verilmiş olup, x ekseninde log10 tabanında zenginleşme katı (fold enrichment, FE) gösterilmiştir. Sembolün boyutu, belirtilen terimle ilişkili protein kodlayan genlerin sayısını belirtirken renk, düzeltilmiş p değerini temsil etmektedir (-log10).



Şekil 21. PAL için protein-protein etkileşim haritası. PAL2 ve ALM'de 5xFAD'a kıyasla anlamlı değişen her proteinin ifade değişimini göstermektedir. PAL2'nin ALZ üzerindeki iyileştirici etkisine vurgu yapmak adına, doğrudan ALM grubu ALZ'ye kıyaslanmıştır. Her proteini bir dikdörtgen, bir dikdörtgenin sol ve sağ tarafını sırasıyla PAL2 ve ALM temsil eder. Bir proteinin ifadesinin artması mavi ile, azalması kırmızı ile gösterilmiş, rengin açıklığı ve koyuluğu dereceli olarak kat değişimine bağlıdır (en az: -5, en çok: 5) Beyaz renk, proteinin o grupta anlamlı değişmediğini gösterir. İlk 3 *hub* protein yeşil dikdörtgen içinde gösterilmiştir.

4.5.4 SCO(1-2)-PTX(1-2)

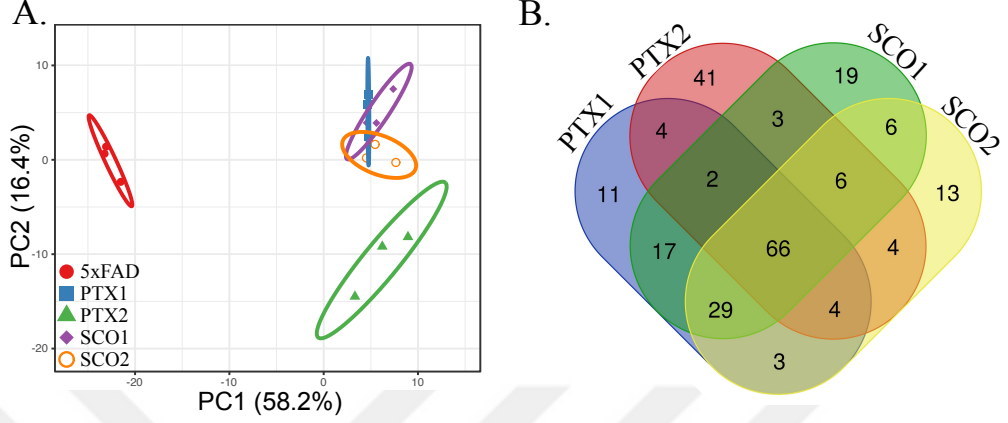
SCO1, SCO2, PTX1, PTX2 grupları 5xFAD ile karşılaştırmalı olarak araştırıldı. Bu grupta PTX2'nin öğrenme fazının son gününde 5xFAD'a göre anlamlı iyileşme gösterdiği belirlenmişti. SCO ve PTX'in kumarinler olarak bir grupta, AH üzerindeki protein seviyesindeki etkilerinin araştırılması uygun görüldü. Kumarinlerin etkisini çoğunlukla kortekste gösterdiği tespit edildiğinden dolayı, biyoinformatik analizlere bu bölgede ağırlık verildi. İlk adım olarak, PCA ile, grupların PC1 (%58,2) ve PC2 (%16,4) ile birbirlerinden ayrıldığı tespit edildi. PCA sonuçları proteom profilinin bileşik uygulamasıyla büyük ölçüde değiştirildiğini gösterdi. Kumarin enjekte edilen gruplar arasında P1, S1 ve S2 aralarında daha az varyans ve birbirleriyle daha fazla benzerlik göstererek birbirine yakın bir şekilde kümelenirken, P2 açıkça diğerlerinden farklı bulundu.

Her iki bileşiğin her bir dozunun korteks üzerindeki etkisini anlamlandırabilmek için tüm veri seti filtrelendi ($p < 0,05$, $q < 0,05$, özgül peptit < 3 ve kat değişim oranı $\geq 1,3$). 404 proteinin anlamlı seviyede farklı olduğu bulundu ve ekspresyon seviyeleri ile HC analizleri yapıldı. İlk etapta 2 ana küme olduğu bulundu; SCO1, SCO2, PTX1 ve PTX2'deki proteinlerin kontrol grubuna kıyasla ifadesinin, küme 1'de çoğunlukla arttığı ve küme 2'de ise azaldığı tespit edildi (Şekil 23A). Küme 1 ve küme 2, sırasıyla küme 1A, 1B, 1C, 1D ve küme 2A, 2B, 2C, 2D olmak üzere 4 farklı gruba ayrıldı. Daha sonra her grup GO ve KEGG yolak analizine tabi tutuldu.

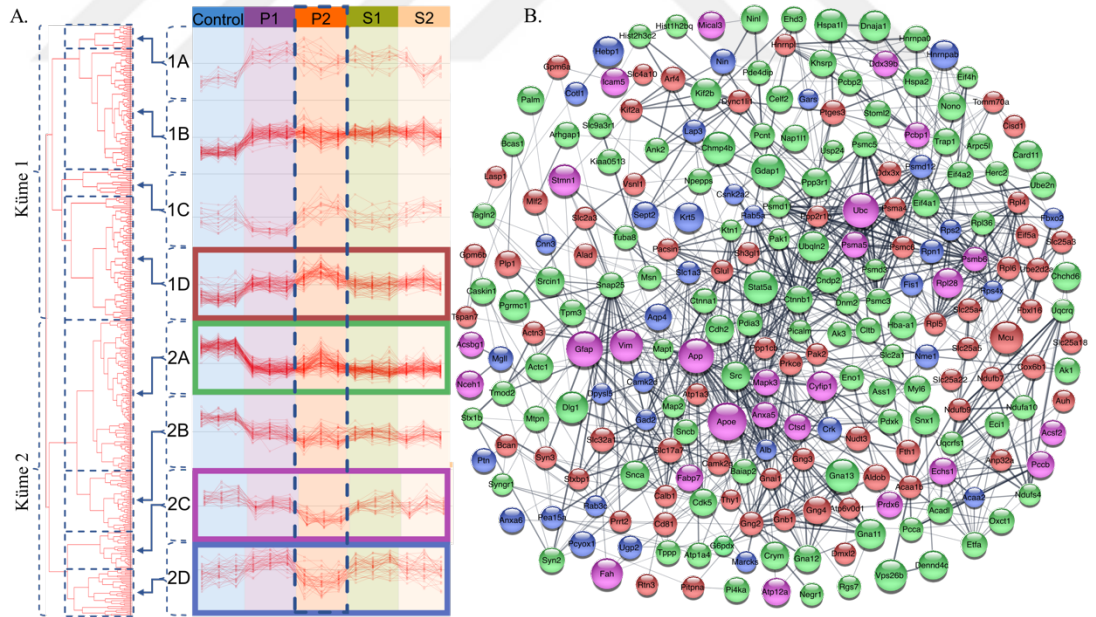
Küme 1A ve küme 1B'de, proteinler genellikle kumarinler tarafından ifadesinin arttırıldığı görüldü, ancak SCO2'de proteinlerin ifadesi kontrole diğerlerinden daha yakın bir eğilim izledi. KEGG yolak analizi bu proteinlerin 1A'da fruktoz ve mannoz metabolizması ve 1B'de karbon ve glikoliz/glukoneogenez metabolizması gibi metabolik yollarda zenginleştiğini ortaya koydu. PTX1'de, kontrole göre küme 1C'deki proteinlerin ifadesi azalırken, diğer gruplarda çoğunlukla arttığı gözlemlendi, bu proteinler özellikle PH ve folat biyosentezi yollarında yol aldığı açığa çıkarıldı.

Küme 1D, kumarinlerde ifadesi artmış proteinleri gruplandırmakla birlikte, bu artışın PTX2'de daha fazla olduğu görülmektedir. Bu proteinlerin GABAerjik sinaps,

dopaminerjik sinaps ve glutamaterjik sinaps, retrograd endokannabinoid sinyalleme ve PH ve HH gibi nörodejeneratif hastalık yollarında zenginleştiği bulundu.



Şekil 22. SCO, PTX uygulaması sonrası korteks bölgesinde ifade farklılığı gösteren proteinlerin biyoinformatik analizleri: A. PCA, B. Venn analizi. Kırmızı daire 5xFAD'ı, mavi kare PTX1'i, yeşil üçgen PTX2'yi, mor karo SCO1'i, turuncu çember ise SCO2'yi temsil etmektedir.



Şekil 23. Kumarin bileşiklerin biyoinformatik analizleri. A. HC analizi B. Etkileşim ağı haritası 1D, 2A, 2C ve 2D kümelerindeki proteinlerden oluşmakta olup, farklı ifade değişim trendini göstermektedir. Düğümlerin rengi ve boyutu, sırasıyla proteinlerin ait oldukları alt kümeleri ve PTX2'deki ifade kat değişimlerini temsil etmektedir.

Küme 1D, kumarinlerde ifadesi artmış proteinleri gruplandırmakla birlikte, bu artışın PTX2’de daha fazla olduğu görülmektedir. Bu proteinlerin GABAerjik sinaps, dopaminerjik sinaps ve glutamaterjik sinaps, retrograd endokannabinoid sinyalleme ve PH ve HH gibi nörodejeneratif hastalık yollarında zenginleştiği bulundu.

Küme 2A ve 2B’de, SCO1, SCO2, PTX1 ve PTX2 gruplarında protein ifadelerinin kontrol grubuna göre azaldığı, ancak 2A’da PTX2’nin diğerlerinden daha az azaldığı görüldü. AH, HH, PH ve endositoz yolları bu kümelerdeki proteinlerle ilişkili bulundu. İçinde APP de bulunan küme 2C’de tüm kumarin gruplarında ifadesi azaldığı, ancak PTX2 grubunda ifadesinin daha fazla azaldığı tespit edilmiştir. 2C’deki proteinler PPAR sinyali, valin, lösin ve izolösin yıkımı, yağ asidi bozunma yolları ile ilişkilendirilmiştir. Son olarak, küme 2D PTX1, SCO1 ve SCO2 gruplarında çoğunlukla ifadesi artan proteinlerden oluşurken, PTX2’de azaldığı görülmektedir. Bu proteinlerin, taurin ve hipotaurin metabolizması ve vazopressin tarafından düzenlenen su emilimi yollarında önemli ölçüde zenginleştiği bulunmuştur.

MSL ile istatistiksel olarak anlamlı gelişme sadece PTX2’de gözlenmişti. PCA ve HC analiz sonuçları da PTX2’nin proteinlerinin diğerlerinden farklı bir örüntü ile değiştirdiğini desteklemektedir. Tüm gruplarda 66 protein ifadesi ortak olarak değişmişken, 41 protein PTX2’ye özgü bulunmuştu (Şekil 22B). Bu nedenle, PTX2’nin kortikal proteom üzerindeki etkilerini ortaya çıkarmak için PTX2’de ifadesi değişen özgü ve ortak proteinler (Tablo 10) ile GO analizi gerçekleştirildiğinde, bu proteinlerin lokalizasyon ve taşıma süreçlerinde zenginleştiği bulundu. Pentoz fosfat, karbon metabolizması, uzun süreli depresyon gibi yollarlarda rol alan 6-fosfoglukonat dehidrojenaz (6PGD), glukoz-6-fosfat 1-dehidrojenaz (G6PD) ve Isı şoku 70 kDa proteinleri (HSP72, HS71L) tüm gruplarda ortak değişen proteinler arasında yer aldı. Diğer yandan, APP, apolipoprotein E (ApoE), glial fibril asidik protein (GFAP) ve vimentin (Vim) dahil olmak üzere AH patolojisi ile önemli ilişkiler sergilediği bildirilen proteinler dahil olmak üzere 47 proteinin ifadesinin sadece PTX2’de değiştiği bulundu. KEGG yolak analizi ayrıca valin, lösin ve izolösin yıkımı ve PPAR sinyal yolu gibi C2C’ye benzer yollarlarda yer alan PTX2’ye özgü proteinlerin, hücresel bileşen organizasyonunda veya biyogenez süreçlerinde zenginleştiğini ortaya koydu.

Tablo 10. PTX2'ye özgü veya en az bir başka grupta ortak bulunan, kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi

	Uniprot no	Protein ismi	DO
PTX2'ye özgü proteinler	Q99KX1	Myeloid leukemia factor 2	1,61
	Q62167	ATP-dependent RNA helicase DDX3X	1,43
	P35802	Neuronal membrane glycoprotein M6-a	1,41
	P48962	ADP/ATP translocase 1	1,40
	P47809	Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 4	1,40
	Q9R0Q6	Actin-related protein 2/3 complex subunit 1A	1,39
	Q8VCH0	3-ketoacyl-CoA thiolase B_ peroxisomal	1,39
	Q8R1Q8	Cytoplasmic dynein 1 light intermediate chain 1	1,39
	Q9CR61	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 7	1,37
	P63242	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1	1,34
	Q5SSL4	Active breakpoint cluster region-related protein	1,33
	P62838	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 D2	1,33
	Q9CQJ8	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 9	1,33
	Q8VED5	Keratin_ type II cytoskeletal 79	1,32
	P62761	Visinin-like protein 1	1,32
	Q62419	Endophilin-A2	1,31
	Q8R5J9	PRA1 family protein 3	1,31
	P63216	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-3	1,30
	P28740	Kinesin-like protein KIF2A	1,30
	P28656	Nucleosome assembly protein 1-like 1	-1,32
	Q810U4	Neuronal cell adhesion molecule	-1,32
	P55088	Aquaporin-4	-1,32
	P51880	Fatty acid-binding protein_ brain	-1,32
	Q8BH95	Enoyl-CoA hydratase_ mitochondrial	-1,33
	Q8BK64	Activator of 90 kDa heat shock protein ATPase homolog 1	-1,35
	Q8BLF1	Neutral cholesterol ester hydrolase 1	-1,35
	Q78ZA7	Nucleosome assembly protein 1-like 4	-1,35
	P31786	Acyl-CoA-binding protein	-1,35
	P29758	Ornithine aminotransferase_ mitochondrial	-1,35
	Q8CJ19	[F-actin]-methionine sulfoxide oxidase MICAL3	-1,35
	P63318	Protein kinase C gamma type	-1,37
	P26040	Ezrin	-1,39
	Q99020	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B	-1,41
	D3YVF0	A-kinase anchor protein 5	-1,41
	Q7TMB8	Cytoplasmic FMR1-interacting protein 1	-1,52
	Q9R257	Heme-binding protein 1	-1,54

Tablo 10. PTX2'ye özgü veya en az bir başka grupta ortak bulunan, kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi (devam)

PTX2'ye özgü proteinler	P20152	Vimentin	-1,75
	P52760	2-iminobutanoate/2-iminopropanoate deaminase	-1,82
	P12023	Amyloid-beta A4 protein	-2,04
	P03995	Glial fibrillary acidic protein	-2,17
	P08226	Apolipoprotein E	-2,63
PTX2'de ve en az başka bir grupta değişen proteinler	Q6NZK5	Protein hinderin	2,97
	Q8VHN7	G-protein coupled receptor 98	2,14
	P50153	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-4	2,09
	Q9DCR2	AP-3 complex subunit sigma-1	2,05
	P62881	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-5	1,91
	Q8R0W0	Epiplakin	1,91
	Q9ESW4	Acylglycerol kinase_ mitochondrial	1,87
	Q91Y97	Fructose-bisphosphate aldolase B	1,86
	Q9DCV7	Keratin_ type II cytoskeletal 7	1,83
	Q9CPU4	Microsomal glutathione S-transferase 3	1,79
	P60202	Myelin proteolipid protein	1,79
	Q8BLK9	Ribosomal protein S6 kinase delta-1	1,77
	Q9CZT8	Ras-related protein Rab-3B	1,76
	Q61831	Mitogen-activated protein kinase 10	1,72
	Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase_ decarboxylating	1,67
	Q3TXX4	Vesicular glutamate transporter 1	1,65
	Q9R0Q7	Prostaglandin E synthase 3	1,64
	P47806	Zinc finger protein GLI1	1,64
	Q9JI46	Diphosphoinositol polyphosphate phosphohydrolase 1	1,63
	P61750	ADP-ribosylation factor 4	1,59
	O35633	Vesicular inhibitory amino acid transporter	1,59
	P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	1,56
	Q6P8J7	Creatine kinase S-type_ mitochondrial	1,54
	P35979	60S ribosomal protein L12	1,53
	P09528	Ferritin heavy chain	1,53
	P63213	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-2	1,52
	Q8BH44	Coronin-2B	1,48
	P11679	Keratin_ type II cytoskeletal 8	1,47
	P35762	CD81 antigen	1,46
	Q6X893	Choline transporter-like protein 1	1,45
	Q791V5	Mitochondrial carrier homolog 2	1,45
	P20917	Myelin-associated glycoprotein	1,45

Tablo 10. PTX2'ye özgü veya en az bir başka grupta ortak bulunan, kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi (devam)

PTX2de ve en az başka bir grupta değişen proteinler	P16054	Protein kinase C epsilon type	1,43
	P28474	Alcohol dehydrogenase class-3	1,43
	Q8BIJ6	Isoleucine--tRNA ligase_ mitochondrial	1,41
	Q8VD37	SH3-containing GRB2-like protein 3-interacting protein 1	1,39
	Q923T9	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit gamma	1,38
	P63330	Serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit alpha isoform	1,37
	O88990	Alpha-actinin-3	1,36
	Q9R1V6	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 22	1,35
	Q8CHP8	Glycerol-3-phosphate phosphatase	1,32
	P97315	Cysteine and glycine-rich protein 1	1,3
	Q02248	Catenin beta-1	-1,32
	Q9D2D7	Zinc finger protein 687	-1,32
	Q6ZQ12	Ninein-like protein	-1,32
	Q9WU78	Programmed cell death 6-interacting protein	-1,33
	P01942	Hemoglobin subunit alpha	-1,33
	P16460	Argininosuccinate synthase	-1,33
	P27600	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12	-1,33
	P68033	Actin_ alpha cardiac muscle 1	-1,35
	P49615	Cyclin-dependent-like kinase 5	-1,35
	O54983	Ketimine reductase mu-crystallin	-1,39
	P70175	Disks large homolog 3	-1,39
	P13020	Gelsolin	-1,39
	Q9ER00	Syntaxin-12	-1,39
	Q99K48	Non-POU domain-containing octamer-binding protein	-1,39
	P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	-1,41
	O55042	α -synuclein	-1,41
	P0DP28	Calmodulin-3	-1,41
	Q91VN4	MICOS complex subunit Mic25	-1,43
	Q9QWI6	SRC kinase signaling inhibitor 1	-1,43
	Q8CIS0	Caspase recruitment domain-containing protein 11	-1,45
	A6H8H2	DENN domain-containing protein 4C	-1,47
	Q63810	Calcineurin subunit B type 1	-1,47
	Q9QXV0	ProSAAS	-1,52
	P21278	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11	-1,54
	P41105	60S ribosomal protein L28	-1,54
	Q8C0N1	Kinesin-like protein KIF2B	-1,56
	Q9QZM0	Ubiquilin-2	-1,56

Tablo 10. PTX2'ye özgü veya en az bir başka grupta ortak bulunan, kortekste ifadesi anlamlı değişen proteinlerin listesi (devam)

PTX2'de ve en az başka bir grupta değişen proteinler	O55022	Membrane-associated progesterone receptor component 1	-1,59
	P63037	DnaJ homolog subfamily A member 1	-1,59
	P35505	Fumarylacetoacetase	-1,61
	Q8C0E2	Vacuolar protein sorting-associated protein 26B	-1,67
	P54227	Stathmin	-1,67
	Q811D0	Disks large homolog 1	-1,69
	P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	-1,72
	P97450	ATP synthase-coupling factor 6_ mitochondrial	-1,75
	P35278	Ras-related protein Rab-5C	-1,79
	Q9D8B3	Charged multivesicular body protein 4b	-1,79
	A2AQP0	Myosin-7B	-1,82
	P27601	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13	-1,85
	P42230	Signal transducer and activator of transcription 5A	-1,89
	O88741	Ganglioside-induced differentiation-associated protein 1	-1,89
	P0CG50	Polyubiquitin-C	-2,08
	P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	-2,17
	Q9DCL9	Multifunctional protein ADE2	-2,50
	Q06890	Clusterin	-2,63
	Q00612	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase X	-3,33
	O08756	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	-3,33

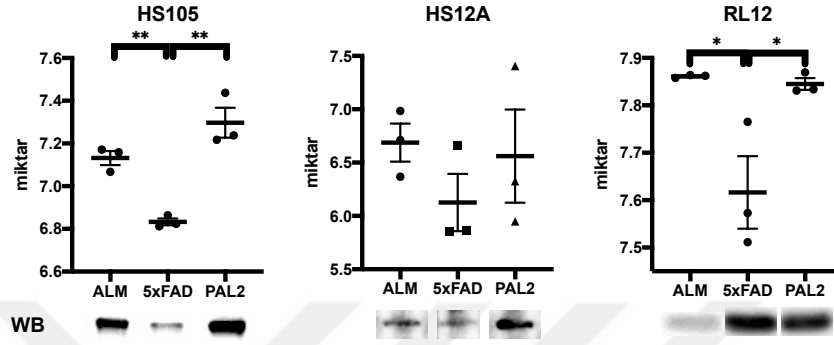
4.6 Western Blot Validasyonları

LC-MS analizinin Western blot ile validasyonları 2 bileşik için gerçekleştirilmiştir.

4.6.1 ALM-PAL(1-2)

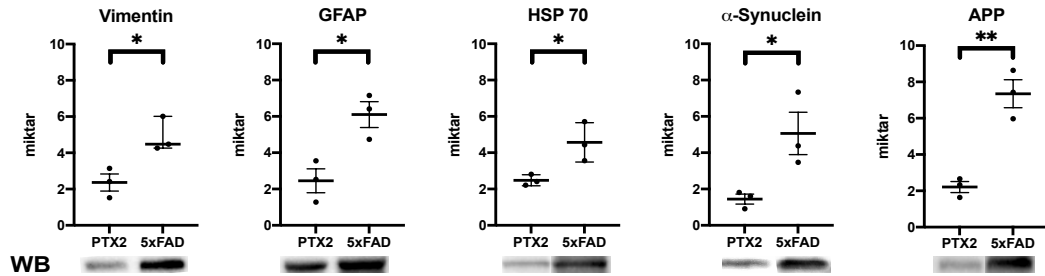
LC-MS/MS sonuçlarının doğrulanması için, PAL2 grubunda serebellum bölgesinde ifadesi değiştiği bulunan ilk 3 *hub* proteini ile Western blot analizleri gerçekleştirildi. İstatistiksel farklılıklar, yöntemlerde açıklandığı gibi değerlendirildi. Western blot analizleri, HS105'in 5xFAD'da ALM'ye kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde azaldığını ($t(4) = 8,216$, $p = 0,0012$), PAL2'de 5xFAD'a kıyasla arttığını ($t(4) = 6,458$, $p = 0,003$) gösterdi. RL12, ALM'ye kıyasla 5xFAD'da önemli düşüş ($t(4)$

= 3,202, $p = 0,0328$) ve PAL2'de 5xFAD'a karşı artış gösterdi ($t(4) = 2,951$, $p = 0,0419$). Her ne kadar HS12A protein seviyesinin 5xFAD'da azalıp, PAL'de arttığı belirlense de istatistiksel anlamlılık tespit edilemedi (Şekil 24). Bu sonuçlar, LC-MS/MS analizlerinden elde edilen verilerle tutarlıdır.



Şekil 24. PAL2'nin, HS105, HS12A ve RL12 proteinlerindeki ifade farklılıklarının Western blot ile validasyonları. Veriler dağılım grafiği ve ortalama $\pm$ SEM ile sunuldu, grafiğin altında her proteinin temsili bant görüntüleri verildi. $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**)

4.6.2 SCO(1-2)-PTX(1-2)



Şekil 25. PTX2'nin, vimentin, GFAP, HSP 70, aSyn ve APP proteinlerindeki ifade farklılıklarının Western blot ile validasyonları. Veriler dağılım grafiği ve ortalama $\pm$ SEM ile sunulmuştur, grafiğin hemen altında her proteinin temsili bant görüntüleri verilmiştir, $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**).

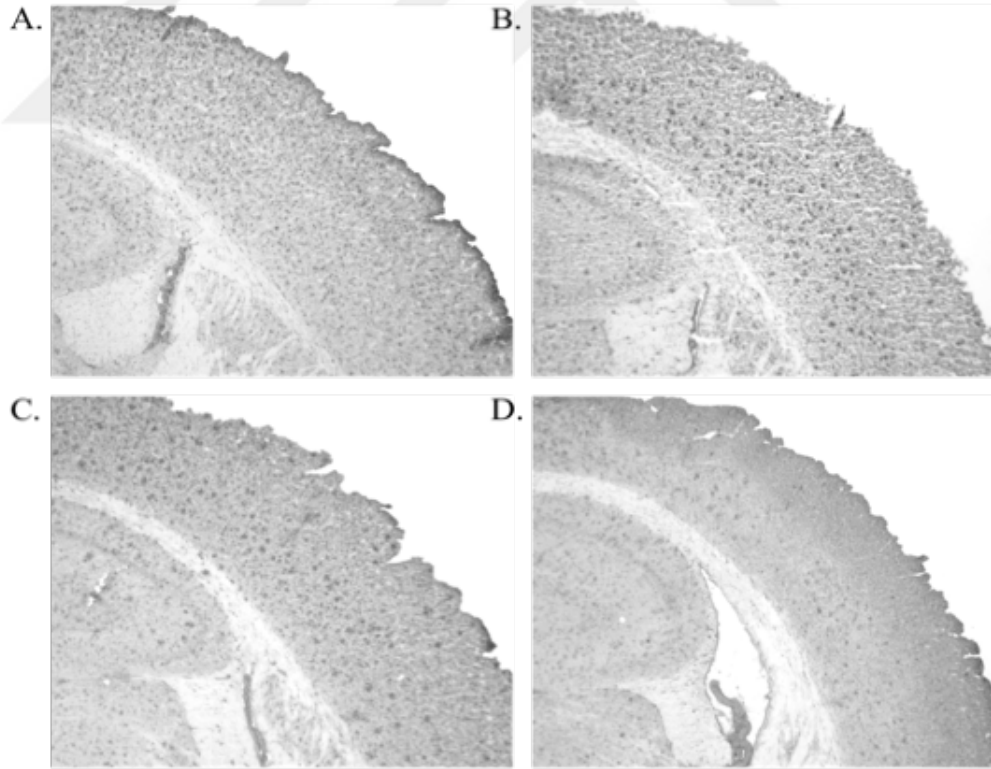
Bu gruptaki validasyonlar, sadece anlamlı farklılık görülen PTX2 grubu örnekleri üzerinde, PTX2'nin etki mekanizmasına dahil olma potansiyeline sahip ve aynı zamanda AH ile yakından ilişkili bulunmuş 5 seçilmiş protein ile gerçekleştirildi. Gruplar arası istatistiksel farklılıklar t-test ile değerlendirildi. Vim ($t(4) = 3,25$, $p = 0,024$), αSyn ($t(4) = 3,15$, $p = 0,0345$), HSP70 ($t(4) = 3,17$, $p = 0,034$), APP ($t(4) =$

6,21, $p = 0,0034$), GFAP ($t(4) = 3,76$, $p = 0,02$), ifadelerinin PTX2'de istatistiksel olarak anlamlı seviyede azaldığı LC-MS/MS analizinin sonuçlarıyla tutarlı olarak tespit edildi (Şekil 25).

4.7 İmmünohistokimya ile A β Plak Yükünün İncelenmesi

A β plak yükü AH'nin iki büyük patolojik marköründen biridir ve özellikle hipokampus ve korteks bölgelerinde gözlemlenmektedir. Proteomik ve biyoinformatik analizler doğrultusunda korteks bölgesinde etkin olduğu gözlemlenen ve A β yolakları ile ilişkili mekanizmalara dahil olduğu düşünülen iki bileşik enjeksiyonu gerçekleştirilmiş beyin dokularında İHK analizleri gerçekleştirildi ve sonuçlar bulundukları gruplar dahilinde aşağıda sunuldu.

4.7.1 GAL2- LYC(1-2)

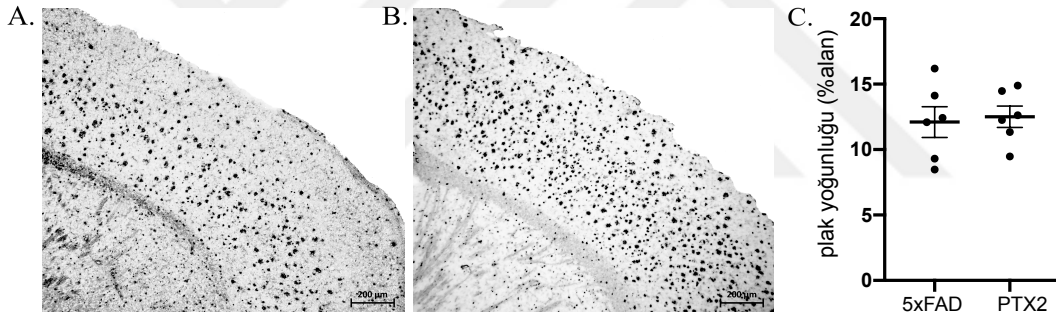


Şekil 26. A β plak yükünü gösteren immünohistokimya görüntüsü. A. ALM, B. 5xFAD, C. GAL2 D. LYC1

İHK analizleri sonucunda, kortikal beyin dokusunda ALM’de (Şekil 26A) A β plakları tespit edilmemişken, sırasıyla 5xFAD’da (Şekil 26B) en çok, GAL2’de (Şekil 26C) çok, LYC1’de (Şekil 26D) ise en az sayıda olduğu belirlenmiştir.

4.7.2 SCO(1-2)-PTX(1-2)

Yapılan optimizasyon sonuçlarında, bu deney yapılırken yüksek arka plan problemi ciddi oranda aşıldı ve ImageJ yazılımı ile kantitasyon yapılması mümkün oldu. Ayrıca kortikal alanın daha geniş gözlemlenebilmesi nedeniyle sagittal kesitler tercih edildi. PTX2’deki A β plak yükündeki olası değişikliklerin tespiti 3 biyolojik 2 teknik tekrar ile gerçekleştirildi. İstatistiksel analiz sonucunda (t-test) PTX2’nin kontrole kıyasla A β plak yükünde anlamlı bir değişikliğe ($t(10) = -0,29$, $p = 0,782$) neden olmadığı açığa çıktı (Şekil 27).



Şekil 27. A β plak yükünü gösteren immünohistokimya analizleri. İHK görüntüsü A. 5xFAD, B. PTX2, C. A β plak yoğunluk grafiği. Veriler dağılım grafiği ve ortalama $\pm$ SEM ile sunulmuştur.

5 TARTIŞMA

AH bilişsel, sosyal ve duygusal işlevlerin dramatik şekilde bozulmasıyla seyreden ilerleyici bir nörodejeneratif bozukluktur. Klinik teşhis genellikle ileri evrelerde konulsa da FDA onaylı ilaçlar genellikle başlangıç ila orta evrelerde kullanılmaktadır ve geçici semptomatik rahatlama sağlamaktadır (100). Aducanumab hastalık modifiye edici ilk ilaç olarak bu kuralı bozsa da, başlangıç ve orta fazlarında kullanılması ile bu gruba girmektedir (55). Ayrıca bu ilaç FDA onaylı olsa da oldukça tartışmalıdır ve Avrupa başta olmak üzere dünyada birçok yerde kullanım izni alamamıştır (101). Bu nedenle, dünyada AH'nin ilerleyişini durduracak ya da iyileştirecek ve hatta bunu ileri evrelerde gerçekleştirecek bir tedavi arayışı tüm hızıyla sürmektedir.

Bu çalışmada 12 aylık 5xFAD AH modeli farelerde, AH'yi iyileştirme potansiyeli olan 6 doğal bileşik iki farklı dozda uygulandı ve öncelikle bileşiklerin bilişsel yetenekleri üzerine etkileri Morris su labirenti testi ile incelendi. Bu testin 12 aylık 5xFAD farelerde validasyonu ALM ve 5xFAD fareleri karşılaştırarak gerçekleştirildi. Literatürler uyumlu olarak (7,102,103), 5xFAD farelerin ALM farelerden hem öğrenme hem de hafıza bakımından istatistiksel anlamlı daha zayıf oldukları ortaya koyuldu.

KBB geçişleri her bileşik için araştırılmıştır ancak hepsi için kanıtlanamamıştır. MRM-MS analizinde bileşiğe ait öncül iyon ile 3 fragmentinin, saf bileşik enjeksiyonunda yüksek intensitede ve eşleşen alıkonma zamanlarında görülmeleri MRM-MS analizinin bileşik analizi için yeterli hassasiyete ve doğruluğa sahip olduğuna işaret etmektedir. Bu durumda, enjeksiyon yapılmış beyin dokusunda geçişin tespit edilememiş olması şu durumlardan kaynaklanabilir: bileşik enjeksiyon konsantrasyonlarının yeterli olmaması, bileşenin piklerinin deteksiyon limiti altında kalması, veya her ne kadar farklı yöntemler denenmiş olsa da bileşiğin beyinden izole edilememesi gibi.

LC-MS/MS analizleri gerçekleştirildikten sonra Tablo 8'de özetlendiği gibi bileşiklerin gerek kimyasal yapıları (alkaloid ya da kumarin olmaları), gerek dozları gerekse aktif oldukları beyin bölgeleri değerlendirmeye alınarak 4 grup altında

toplandı ve biyoinformatik analizler bu gruplardaki bileşiklerde karşılaştırmalı analizler ile gerçekleştirildi. Tartışma bölümü bu gruplar ile devam edecektir.

5.1 GAL2-LYC(1-2)

Galantamine (GAL), 2011 yılından beri FDA onaylı AH ilacı olarak kullanılan bir alkaloiddir. Lycoramine (LYC), yapısal olarak GAL'den sadece yüzük yapısındaki bir çift bant eksikliği bulunan bir alkaloid olup (Şekil 3A-B), daha önce yapılan birçok in silico ve in vitro çalışmalar ile AH tedavisi için ümit vadettiği gösterilmiştir. Bu çalışmada LYC1'in hem öğrenme hem hafıza fazında istatistiksel anlamlı iyileşme sağladığı tespit edilirken (Şekil 7I), GAL2'nin iki fazda da anlamlılığa ulaşamadığı görüldü (Şekil 7E-F). Günümüzde tedavi amaçlı kullanılan ilacın etki göstermemesi şaşırtıcı olsa da ilacın hedef kitlesinin başlangıç ve orta seviye AH hastaları olduğu, günümüzde kullanılan ilaçların sadece geçici semptomatik rahatlama sağladığı, özünde bir sonraki aşamaya geçişi yavaşlatmayı sağladığı unutulmamalıdır. Buna uygun olarak, literatür taraması yapıldığında, yaşlı sıçanlarda GAL'in bilişsel bozukluğa herhangi bir etkisi bulunmadığı görülmüş, (104–106) ancak GAL'in genç AH modeli farelerde (6 aya kadar), yüksek dozlarda ve uzun süreler uygulandığında bilişsel bozukluğa ve amiloid beta yükünde iyileşme görüldüğü bildirilmiştir (107,108). Özetle, MSL sonuçları 7 gün boyunca uygulandığında, LYC'in ileri evrelerde dahi AH'deki güçlü terapötik potansiyeline işaret etmektedir. MRM-MS ile GAL (Şekil 8) ve LYC'in (Şekil 9) ilaç geliştirilmesinde önemli bir olgu olan KBB'den geçebildikleri başarı ile kanıtlandı. Bu bulgular doğrultusunda korteks, hipokampus ve serebellum dokuları üzerinde gerçekleştirilen LC-MS/MS analizi ile LYC'in 5xFAD üzerindeki pozitif etkisinin altında yatan moleküler mekanizma GAL2 ile karşılaştırmalı olarak araştırıldı. Hipokampus ve serebellumda istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren protein saptanmazken, LYC2 grubunun korteksinde 145 proteinin ifadesinde anlamlı değişim tespit edildi. PCA ile bileşik enjeksiyonlarından sonra grupların proteom profillerinin farklılaştığı tespit edildi. İfadesi anlamlı değişen kortikal proteinlerden 26 tanesinin GAL2 grubuyla ortak olarak değişim gösterdiği bulundu (Şekil 14A). Ortak ve özgü proteinlerin AH ile ilişkisini ortaya çıkarmak için aşağıda birkaçının kısaca rollerine değinilecektir.

5.1.1 LYC1 ve GAL2’de ortak ifade değişimi gösteren proteinler

Literatüre göre, A β plaklarının oluşumu ve temizlenmesi ve mikrotübül bütünlüğünün modülasyonu gibi fonksiyonlarda yer alan Clusterin (Clu/ApoJ), Apolipoprotein E (ApoE) ve Mikrotübül ilişkili protein tau (MAPT) yüksek oranda AH patolojisi ile ilişkili bulunmuştur. Clu ana genetik risk faktörlerinden biridir ve A β agregasyonuna, temizlenmesi ve toksisitesine aracılık eder (109). AH dahil olmak üzere nörodejeneratif hastalıklarda Clu düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (110–114). A β seviyeleri düşük olduğunda, Clu, A β ’yı bağlayabilir, üzebilir ve sitotoksiteyi azaltabilir, ancak yüksekse sitotoksite artar (115,116). 12 aylık Clu nakavt AH fare modelinde, önemli ölçüde daha az fibriller A β plağı belirlenmiştir (116).

ApoE geç başlangıçlı AH (late onset Alzheimer’s disease, LOAD) ile en çok ilişkilendirilen risk genidir. Bu proteinin çeşitli AH fare modellerinde doza bağlı A β oluşumunu teşvik ettiği bulunmuştur (117–119). ApoE nakavt AH fare modelinde A β birikiminde ve A β plak oluşumunda önemli azalma bildirilmiştir (120). Bir vaka alışması, ApoE mutasyonu olan bir hastanın önemli bir bilişsel bozukluğu veya başka herhangi bir nörolojik işlev bozukluğu olmadığını ortaya koymuştur (121). Ayrıca, LOAD hastalarının korteksinde artan ApoE seviyeleri bildirilmiştir (122).

Son olarak, mikrotübül stabilizasyonunda rolü olan MAPT, ya da tau, AH’nin berlrtelerinden biridir. 5xFAD transgenik farelerde herhangi bir tau mutasyonu olmamasına rağmen (7), bira araştırma 5xFAD fare modelinde tau patolojisinin varlığını bildirmiştir (123–127).

Bu alışmada, Clu, ApoE ve MAPT proteinlerinin ifadelerinin hem LYC1’de hem de GAL2’de azaldıkları tespit edilmiştir. Literatürde bu proteinlerde AH’de tespit edilen değişimlerin tersi yönde görülen ifade değişimleri, öğrenme ve hafızanın geliştirilmesine yol açan mekanizmalarda bir role sahip olabilirler.

5.1.2 LYC1'e özgü ifadesi değişen proteinler

AH ile ilişkisinin kurulabilmesi adına, LYC1'e özgü proteinler DAVID yazılımı ile fonksiyonlarına göre 5 gruba kümelendi: sinaps, hücre iskeleti, nükleotid bağlanması, taşıma ve ara filament.

1. Küme: Sinaps

Hücreler arasındaki iletişim, sinapslar tarafından sağlanır. AH'de sinaptik yoğunluk ve plastisitenin azaldığı bildirilmiştir (128–130).

Gama-aminobütirik asit (GABA), sinapslarda yaygın bir inhibitör nörotransmitterdir. GABA reseptör alt birimi $\beta 2$ (GABRB2), AH hasta beyinlerinin korteksinde yaşa bağlı bir şekilde azalan GABA reseptörlerinin birçok alt biriminden biridir (131,132). Ayrıca, GABRB2'deki bir *missense* mutasyonu nedeniyle genetik epilepsi ve zihinsel engelli bir kız çocuğu bir vaka raporunda sunulmuştur (133).

Neurobeachin (Nbea), nöronal trafiği düzenleyen ve sinaptik fonksiyon ve iletimde rol oynayan bir A kinaz bağlama proteindir (AKAP). PKA-AKAP etkileşimlerinde Nbea sinir ile uyarılmış sinaptik iletimde yer alarak hafıza işlevinde rol oynar (134). Bir AH çalışmasında, Nbea'nın insan beyinde yaklaşık 33 kat azaldığı gösterilmiştir (135). Ayrıca, rekombinant insan Nbea'sının, Nbea nakavt faresinde nöronlardaki omurga yoğunluğunu ve uyarıcı postsinaptik akımları restore ettiği bildirilmiştir (136).

Sinaptotagminlerin (Syt) Ca^{2+} aracılı nörotransmitter salınımını ve sinaptik membran trafiğini düzenlediği bilinmektedir (137–139). Esas olarak beyinde eksprese edilen bir Syt izoformu Syt-5'in (140) APP ile etkileşime girdiği ve Syt-5'in aşırı ifadesinin A β oluşumunu desteklediği bildirilmiştir (141).

Çalışmada tespit edilen, LYC1'de GABRB2 ve Nbea proteinlerinin ifadesindeki artış ve Syt-5'in ifadesindeki azalma sinaps aktivitelerini geliştirerek öğrenme ve hafızanın gelişmesinde destekleyici bir rol oynamış olabilir.

2. Küme: Hücre iskeleti

AH'deki ana hücre iskeleti düzensizliği, hiperfosforile tau kümeleri olan nörofibriler yumakların oluşumudur (142). Daha önce tartışılmış olan tau'nun yanı sıra, LYC1'de hücre iskeleti ve tau ile ilgili farklı proteinler tespit edildi.

MAPT'den başka, diğer nöronal mikrotübül ilişkili protein (MAP) ailesi üyeleri de AH patolojisinde rol oynamaktadır. MAP2 ve MAP1A'nın sırasıyla AH fare modelinde ve Alzheimer hastalarının beyinde arttığı bulunmuştur (143,144).

α -sinüklein (aSyn) PH için bir imza protein olmasına rağmen, AH için de önemlidir, çünkü tau ve aSyn etkileşmekte ve yanlış katlanmayı ve birbirlerinin kümelenmesini teşvik etmektedir (145–147). Tübülün bağlayıcı protein (Tppp/25), mikrotübül stabilizasyonunda işlev görür (148). Tppp/25'in A β 42 ve aSyn'e bağlandığı bilinmektedir ve nörolojik hastalıklarda olduğu gibi aşırı ekspresyonu, anormal protein agregasyonunu teşvik eder (143,149,150).

LYC1'de azalan MAP1A, MAP2, aSyn ve Tppp/25 seviyeleri AH'de hücre iskeleti bütünlüğünü destekleyebilir.

3. Küme: nükleotit bağlanması

Nükleotid bağlayıcı proteinler, kinazlar bu gruba örnek verilebilir, G-proteinleri ATP, GTP ve cAMP gibi nükleotitlere bağlanır. Çeşitli nükleotid bağlayıcı protein türlerinin AH'de modüle edildiği bulunmuştur (151–153).

Bir nükleotit fosforil değişim reaksiyonu katalizörü olan adenilat kinazın (AK) (154), A β 42 aracılı tau fosforilasyonunda (155) yer aldığı rapor edilmiştir. A β 42 ile indüklenen AK1 aşırı ekspresyonu, AH hastalarında ve AH model farelerde gözlenmektedir (156).

Plazma zarı Ca²⁺-ATPase (PMCA) bir nükleotid bağlama alanına sahiptir (157). Bir çalışmada, in vitro A β tedavisi ile PMCA aktivitesinin azaldığı ve nöronlarda

kalsiyum konsantrasyonunda bir artışa neden olduğu bulunmuştur. PMCA4, PMCA'nın serebral kortekste en çok bulunan ve aynı zamanda A β tarafından en çok inhibe edilen türüdür (158).

Eps15 homoloji alanı içeren (EHD) proteinler, endositik taşımanın düzenleyicilerinden biridir (159). Bir çalışma, EHD3'ün β -sekretaz 1 (BACE1) ile lokalize olduğunu bildirilmiştir. Ayrıca AH model farede, EHD3'ün devre dışı bırakılması, A β üretiminde çarpıcı bir azalmaya yol açmaktadır (160).

Moleküler bir şaperon olan ısı şoku proteini 70 (HSP70)'in, AH patolojisinde dramatik etkilere sahip olduğu bilinmektedir. HSP70, AH'de mikrotübül bütünlüğünü korumaya yardımcı olur, mikrotübüllere tau bağlanmasını destekler ve böylece tau'nun toksisitesini azaltarak doza bağlı bir şekilde tau agregasyonunu önler (161–163). Ayrıca, HSP70, A β peptitinin in vitro olarak kendi kendine birleşmesinin erken aşamalarını önlemekte (163), A β peptit birikimini ve plak oluşumunu azaltmakta ve 5xFAD farelerinin uzaysal hafızasını geliştirmektedir (164). HSP70'in ayrıca α Syn agregasyonunu ve toksisitesini azalttığı rapor edilmiştir (165).

Isı şoku 70 kDa protein-benzeri proteinin seviyesinin artması ve AK-1, EHD3 ve PMCA4'ün fare izoformu olan plazma membran kalsiyum taşıyıcı ATPaz 4 (AT2B4) proteininin azalması, 5xFAD farelerinde görülen LYC1'in etkisindeki mekanizmalarda kilit rol almış olabilir.

4. Küme: taşıma

AH'nin ayırt edici özellikleri olan A β ve tau'nun, birçok taşıma proteinindeki değişiklikler sebebiyle AH'de taşıma mekanizmasının bozulmasında rol oynadığı düşünülmektedir (166).

Oksisterol bağlayıcı protein-1 (OSBP1) amiloidojenik APP işlemlerini modüle ettiği bilinen lipid bağlayıcı protein ailesinin bir üyesidir (167). OSBP-1 nakavt nörogloma hücrelerinde A β 40-42 düzeylerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu

bildirilmektedir. Tersine, OSBP-1 proteininin aşırı ekspresyonu da amiloidojenik işlemenin azalmasına yol açmaktadır (168).

Sorbin ve SH3 alanı içeren protein (SRBS-1), GLUT4'ün sitoplazmadan plazma zarına yer değiştirmesine aracılık eden bir adaptör proteindir. Buna göre insülin sinyal aktivitesi nedeniyle obezite ve Tip 2 diyabette rol oynamaktadır (169,170). Obezite ve diyabet ile de ilişkili olan SRBS-1 ve AH'yi birbirine bağlayan bir çalışma bulunmaktadır (171). Ayrıca, SRBS-1'in nöronal farklılaşmada önemli olduğu (172,173) ve AH'de yüksek oranda azaldığı olduğu bulunmuştur (174).

Yukarıda belirtilen ifadelerle tutarlı olarak, LYC1'de artan OSBP-1 ve SRBS-1 düzeylerinin AH'de bozulan transport mekanizmasının tekrar düzenlenmesinde rol alarak A β 'nin azalmasında rol oynayabilir.

5. Küme: ara filament

Sinir sistemindeki glia hücrelerinin ve nöronların hücre iskeletinin bileşenleri olan ara filamentlerin regülasyonunda AH'de düzensizlikler meydana gelmiştir (175).

Nöral ağlarda ve hafızada yer alan önemli sayıda aktive edilmiş glial hücre, nöritik plakların yakınına yerleştirilmiştir (176). Glial hücrelerin alt tipleri; astrositler ve mikrogial hücreler, AH patolojisinde de anahtar rollere sahiptir (177,178). Aktif mikrogia birçok nöroprotektif faktör üretir (179). Astrositler, A β plaklarının etrafında toplanır ve ApoE yardımıyla A β temizleme süreçlerinde çalışır (119,180). Bununla birlikte, şiddetli AH'de görülen aktive astrositlerin (astrogliosis) aşırı artışı, nörodejeneratif hastalıkların histopatolojik özellikleri olarak kabul edilir (181) ve aktive edilmiş mikrogia ile anti-inflamatuar sitokin salınımını tetikleyerek nörodejenerasyonu teşvik eder (182). Astrogliosis, ara filament proteinlerinin ekspresyonunda bir artışa yol açar; glial fibril asidik protein (GFAP) ve Vimentin (Vim) proteinleri ki bunların yaşlanma ve AH ile arttıkları bilinmektedir.

Konneksinlerden oluşan boşluk bağlantıları, hücrelerin iletişimine yardımcı olur. Esas olarak astrositlerde ifade edilirler. Başlıca konneksinlerden biri olan Gap junction

alfa-1 (Gja-1/Connexin43) proteininin AH hastalarında ve AH fare modellerinde arttığı gösterilmiştir (183,184). Ayrıca, artan Gja-1, özellikle AH plaklarının çevresinde yer almaktadır (185,186). Bir çalışmada, 12 aylık GFAP-Gja1 *double-knockout* AH modeli fareler, herhangi bir bilişsel işlev bozukluğu göstermemiştir. Ayrıca, A β yükünde herhangi bir değişiklik saptanmamasına rağmen GFAP ekspresyonundaki azalma ile birlikte sinaps sayısı artmıştır (187).

GFAP, Vim ve Gja-1 proteinlerinde LYC1’de tespit edilen azalmanın, astrogliosis ve anti-inflamatuvar sitokin salınımında bir azalmaya ve A β temizleme yeteneğinin yeniden kazanılmasında rol alabileceğini düşünülebilir.

LC-MS/MS sonucunda proteomik ve biyoinformatik analizler, LYC’in A β yükü üzerinde etkisi olabileceğine işaret etmekteydi, bu hipotezi araştırmak adına İHK boyaması gerçekleştirildi. Dokularda meydana gelen çöz-don olaylarından dolayı deneyin tekrarı gerçekleştirilemediği için plakları kantite edebilme olanağı bulunamamış olsa da A β plaklarının gözle görülür bir şekilde LYC uygulanmış beyin dokusunda korteks bölgesinde azaldığı tespit edildi (Şekil 26).

Tüm sonuçlar göz önüne alındığında, Lycoramine 4 mg/kg dozu ile FDA onaylı günümüzde ilaç olarak kullanılan GAL’in etki göstermediği evrede ve dozda dahi, öğrenme ve hafızada iyileşme göstermesi, KBB’yi geçebilmesi, protein seviyesinde AH’nin etkilerini tersine çevirici mekanizmalara katılması ve A β plak yükünü azaltıcı etkisi ile, AH için ümit vadeci bir ilaç adayı olduğunu göstermiştir.

5.2 GAL1-ODG(1-2)

ODG, GAL’in bir metabolitidir ve GAL’dan yaklaşık 10 kat daha yüksek olan AChE inhibitör aktivitesi olduğu bilinmektedir. Ancak literatürde AH üzerindeki etkisini araştıran in vivo bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, GAL ile karşılaştırmalı olarak AH üzerindeki etkisinin ve çalışma mekanizmasının açığa çıkarılması hedeflendi. MSL ile öğrenme ve hafıza üzerine 1 mg/kg ve 2 mg/kg dozlarında istatistiksel anlamlı bir iyileşme tespit edilemedi. Çeşitli yöntemlerle denenmiş olmasına rağmen KBB geçişinin tespiti gerçekleştirilemedi, muhtemel

sebeplerine tartışmanın giriş bölümünde değinildiği için tekrar bahsedilmeyecektir. Ancak literatüre baktığımızda, ODG'nin KBB'den geçebildiğini bilgisine ulaşılmaktadır (188).

GAL'den tek farkı bir metil grubu olmasına karşın, GAL kortekse etki ederken, ODG'nin protein seviyesinde etki ettiği bölge serebellum olarak tespit edilmiştir. Serebellum yıllar boyu AH'de pasif bir seyirci olarak kabul edilirken, son araştırmalar, serebellumun da AH'de yapısal, işlevsel ve dejeneratif değişikliklere uğradığını açığa çıkartmıştır (189–193). Demansın şiddeti ile birlikte azalan serebellar hacim, bilişsel işlev, hafıza ve düşünme yapısı ile ilişkilendirmiştir (194,195).

ODG'nin AH modeli fare serebellumunda potansiyel kilit regülatörlerini açığa çıkartmak için PPI analizi gerçekleştirildiğinde, tespit edilen ilk 5 *hub* proteininin (GNB1, GNB2, NDUFS6, PAK2, RHOA), ODG'lerin çalışma mekanizmasına katılımlarını destekleyen hem düşük hem de yüksek dozlarda ODG uygulanması yoluyla benzer şekilde değiştirildiği bulundu. Dahil oldukları bu mekanizmayı aydınlatmak için *hub* proteinleri tekrar KEGG yolak analizine tabi tutuldu. GBB1, GBB2, PAK2 ve RHOA proteinlerinin Ras sinyalleşme yolağında; GBB1, GBB2 ve NDUFS6 proteinlerinin ise retrograd endokannabinoid sinyalleşme yolağında rol oynadığı açığa çıkarıldı. Bu proteinlerin dahil oldukları yollar aracılığıyla AH ile ilişkisi ve nörodejeneratif hastalıklarda rapor edilen ifadesel değişiklikleri aşağıda kısaca tartışılacaktır.

Ras proteini süper ailesi, moleküler bir anahtar görevi gören küçük GTPazlardan oluşur. Nörojenez, farklılaşma, gen ekspresyonu, membran ve protein trafiği, veziküler trafik ve sinaptik plastisite gibi hücresel süreçlerde çeşitli kritik rollerde hizmet ederler (195). Ras ailesinin küçük GTPazları, AH, PH ve ALS ile birlikte nörodejeneratif hastalıklarda rol oynar. Ras ve Rho aileleri, nörodejenerasyona dahil olan, en çok çalışılan ailelerdir (196).

Dönüştürücü protein RhoA (RhoA), Rho GTPaz ailesine aittir, stres liflerinin oluşumuna ve fokal adezyonlara aracılık eder. RhoA, AH, PH, HH ve ALS gibi çeşitli nörodejeneratif bozukluklarda yer alır (197). RhoA ekspresyonu, hücre içi yerleşime

göre farklılık gösterir, sinapslarda azalır ve nöritlerde artar. AH hastalarının hipokampuslerinde ve AH fare modelinde RhoA düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir (198). Ayrıca, insan nöroblastom hücreleri üzerindeki A β tedavisi, RhoA aktivasyonunda artışa ve Rac1 aktivasyonunda azalmaya yol açmıştır (199,200)

Bir Rac1 efektörü olan serin/treonin-protein kinaz PAK2 (PAK2), aktin ve dendritik gövde (*spine*) oluşumunu desteklemede rol oynar (201,202). PAK2 mutasyonu ile ilişkilendirilen nörolojik hastalıklardan bazıları, otizm spektrum bozukluğu, 3q29 mikrolelesyon sendromu ve AH'dir (203). In vitro AH modellerinde PAK ailesi proteinleri, kusurlu dendritik gövde oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (204). İleri seviye AH fare modelinde PAK2 seviyelerinin düştüğü bildirilmiştir (205,206). Ayrıca çift negatif *knock-out* PAK fareleri hafıza bozuklukları göstererek, PAK artışının AH'de faydalı olabileceğine işaret etmiştir (203).

Guanin nükleotit bağlayıcı protein G(I)/G(S)/G(T) alt birim β -1 (GBB1) ve guanin nükleotit bağlayıcı protein G(I)/G(S)/G(T) alt birim β -2 (GBB2) proteinleri, α ve γ alt birimleri ile birlikte heterotrimerik G-proteinleri oluşturan β alt birimleridir. G-proteinleri, moleküler bir anahtar görevi görür ve G-protein-bağlı reseptörlerin (GPCR'ler) sinyal iletimine aracılık eder (207). GBB1, gelişimsel gecikme, distoni, büyüme geriliği ve nöbetler dahil olmak üzere çeşitli nörolojik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir (208,209). GBB2 ayrıca şizofreni gibi nörolojik hastalıklar ve hipotoni ve dismorfik fasiyesli nörogelişimsel bozukluk ile ilişkilendirilmiştir (210–212). AH fare model beyinlerinin mitokondrilerinde GBB1'in azaldığı bulunmuştur (213). GBB2'nin insan AH beyin dokularında, mikrogial hücre dışı veziküllerde arttığı (214) ve entorinal kortekslerde azaldığı bildirilmiştir (215).

Endokannabinoidler, presinapstan nörotransmitter salınımının zamanlamasını ayarlayarak sinaptik etkinliği ve nöronal aktiviteyi düzenleyen retrograd habercilerden biridir (216,217). Kannabinoid işlevleri daha çok hipokampüste görülse de reseptörleri ağırlıklı olarak serebellum, beyin sapı ve mikrogliada yer almaktadır (218,219). GBB1, GBB2 ve NDUFS6'nın bu yolağa da dahil olduğu bulundu, ancak yukarıda GBB1 ve GBB2 zaten tartışıldığı için burada yalnızca NDUFS'den bahsedilecektir.

NADH dehidrojenaz [ubikinon] demir-kükürt proteini 6 (NDUFS6), elektron transfer zincirinin ilki olan NADH:ubikinon oksidoredüktazın (kompleks I) bir alt birimidir. Bu proteinle ilgili fazla bilgiye ulaşılamamış olsa da daha önce klinik belirtilerinden biri olan nörodejenerasyon olan Kompleks I (CI) eksikliğinde ve şizofrenide rol aldığı raporlanmıştır (210).

Hub proteinlerinin iki dozda da anlamlı olarak değişmesi ODG'nin çalışma mekanizmasına katılımlarına ilişkin yapılan analizleri desteklemektedir. Serebellumda ODG uygulaması sonrası GBB1, GBB2, RhoA ve PAK2 proteinlerinin ifade seviyelerinin arttığı, NDUFS6'nın ise azaldığı bulundu. Beynin bölgeleri arasındaki farklı protein ifade seviyeleri nedeniyle ve literatür taramasına istinaden özellikle serebellum bölgesinde bu protein değişikliklerini bildiren hiçbir çalışma yoktur; bu nedenle karşılaştırma yapılmaması uygun görülmüştür. Bununla birlikte, bu proteinlerin retrograd endokannabinoid ve Ras sinyal yolları yoluyla yeniden düzenlenmesinin, AH'nin neden olduğu moleküler değişikliklerin tersine çevrilmesine katkıda bulunabileceğini düşünülmektedir.

Çalışmalar, hastalığın karmaşık doğası nedeniyle kombinasyon tedavilerinin AH'de tek hedefli tedavilere göre çok daha başarılı olduğunu göstermiştir (220,221). Bu nedenle, birçok bileşikten farklı olarak serebellumu hedef alan ODG'nin gelecekteki kombinasyon tedavisi araştırmaları için değerli bir bileşik olarak değerlendirilmesinde de fayda vardır.

5.3 ALM-PAL(1-2)

5xFAD grubu ile karşılaştırıldığında, PAL2 grubu hem öğrenme hem hafıza fazında istatistiksel anlamlı iyileşme gösterdi. KBB, özellikle merkezi sinir sistemi bozukluklarını hedef alan ilaçların çoğunun önündeki başlıca engeldir. Bu nedenle, PAL'in KBB geçişi, literatüre paralel olarak MRM-MS analizi ile kanıtlanmıştır (Şekil 11) (222,223). PAL (10 mg/kg) enjeksiyonu sonrası kognitif bozukluğun iyileşmesine katkı sağlayan moleküler mekanizmalar araştırıldı. 5xFAD ile ALM ve PAL2 ile 5xFAD ikili karşılaştırmaları yapılarak, diğer parametrelerin neden olduğu değişiklikleri ortadan kaldırmak ve 5xFAD farelerde PAL2'nin AH kaynaklı

değişiklikleri üzerindeki etkilerini ortaya çıkarmak amaçlanmıştır. Bölgesel analizler, serebellumun PAL2 tarafından en belirgin şekilde etkilenen beyin bölgesi olduğunu ve diğer etkilenen bölgenin hipokampus olduğunu göstermiştir. Her iki bölgenin verilerinden ortaya çıkan en çarpıcı sonuç, PAL2 uygulamasından sonra AH'de ifadesi azalan proteinlerin tekrar artması, veya AH'de ifadesi artan proteinlerin tekrar azalmasıdır. Bu da PAL'yi güçlü bir potansiyel terapötik ajan haline getirmektedir.

Hipokampus, beynin öğrenme, hafıza ve uzun süreli anıları depolama için kritik olan kısmıdır. Hipokampüsteki işlev bozukluklarının AH'deki hafıza bozukluğuna büyük ölçüde katkıda bulunduğu düşünülmektedir (224). GO analizi, PAL2'nin hipokampusundeki anlamlı değişen proteinlerin, birbirleriyle ve AH ile yüksek oranda ilişkili olduğu bilinen oksidatif stres, geçiş metal iyonu bağlanması ve Aβ bağlama yollarına yanıt olarak önemli ölçüde zenginleştiğini gösterdi. KEGG analizi de proteinlerin AH yolağında zenginleştiğini ortaya koyarak bu bulguyu desteklemiştir (Şekil 20). AH'de oksidatif stresin artması, birçok çalışma ile gösterilmiş olup hastalığın mekanizmasında erken evredeki rolüne işaret etmektedir (225–227). Bazı teoriler AH'nin patolojik belirteçleri olan Aβ ve NFY'lerin oksidatif stresi telafi etmek için oluşturulduğunu öne sürmekte olduğu oksidatif hasarın Aβ plaklarının miktarı ile pozitif olarak ilişkili olduğu bulunmuştur (228,229). Ayrıca, Aβ ve öncüsü APP, yüksek afiniteli bağlanma bölgeleri aracılığıyla biyometallerle ilişkilendirilmiştir (230–232). Aβ plaklarında yüksek konsantrasyonlarda bakır tespit edilmiştir ve reaktif hidroksi radikallerinin bir aracısı olarak AH'deki oksidatif strese rol oynar (233,234). Benzer şekilde, beynin hafıza ve bilişle ilgili bölümlerinde, özellikle hipokampüste artan çinko konsantrasyonları tespit edilmiştir (235). Bu artış, kontrolsüz çinko ve Aβ birikiminin neden olduğu oksidatif stres ile ilişkilendirilmiştir (236). Bu nedenle, yukarıda belirtilen yollar yoluyla hipokampüste PAL2 kaynaklı değişiklikler, AH farelerinin öğrenme ve hafızasının iyileşmesine katkıda bulunmuş olabilir.

Hipokampal oluşumla karşılaştırıldığında, serebellumun AH'de sessiz bir seyirci olduğu düşünülüyordu. Daha önce bahsedildiği gibi, son zamanlarda yapılan çalışmalar, beyinciğin yapısal, fonksiyonel ve dejeneratif değişiklikler geçirerek AH'de aktif bir rol oynadığını göstermiştir (189,190,192,193,237,238). GO analizi, anlamlı değişen proteinlerin çoğunlukla hücre proliferasyonu, glutamat bağlanması ve

glutamat dekarboksilaz aktivitesi ile ilişkili olduğunu gösterdi. AH'de hipokampal nörogenez olarak bilinen hipokampüsteki hücre proliferasyonunun A β tarafından inhibe edildiği bildirilmiştir (239). Glutamat, merkezi sinir sistemindeki öğrenme ve hafızada önemli bir rol oynayan birincil uyarıcı nörotransmitterdir. Başlıca inhibitör nörotransmitter GABA'yı (240) ve glutamati dönüştüren glutamin sentetazı sentezleyen glutamik asit dekarboksilaz 1 ve glutamik asit dekarboksilaz 2 AH'de nöronlar tarafından kullanılacak glutaminin seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir (241,242). Bu çalışmanın bir başka dikkat çekici sonucu, bu proteinlerin ekspresyon seviyelerinin PAL2 tarafından yeniden düzenlenmesiydi.

KEGG yolak analizi, anlamlı proteinlerin diğer nörodejeneratif hastalıklarda zenginleştiğini ortaya koydu: PH ve HH. PH, motor işlev bozuklukları ile bilinir ve altında yatan mekanizma, bazal ganglionlarla ilişkilidir. Ancak, tıpkı AH'de olduğu gibi, son yıllarda araştırmacılar, HH'deki patofizyolojik ve telafi (*compensatory*) edici mekanizmaları nedeniyle serebellumun önemine dikkat çekmektedir (243–245).

Nörodejeneratif hastalıklar, mekanizmalarındaki kümelenmiş/yanlış katlanmış proteinleri içermeleri, beyin hücrelerinin ölümleri, ilerleyici ve zayıflatıcı yapı ve fonksiyon kayıplarına sahip olmaları gibi ortak özellikleri paylaşmaktadırlar (246)

Anlamlı değişen proteinler arasındaki anahtar proteinleri ortaya çıkarmak amacıyla, yaygın olarak kullanılan ve en çok önerilen iki PPI analiz yöntemi, LAC ve DMNC'yi birlikte uygulandı. Bu yöntemler HS105, HS12A ve RL12'yi ilk 3 *hub* proteinini olarak gösterdi. Her 3 proteinin de 5xFAD'da ALM'ye kıyasla ifadesinin azaldığı ve 5xFAD'a kıyasla PAL2'de arttığı tespit edildi. Bu nedenle, AH'nin bu proteinlerin ifadeleri üzerindeki etkisinin PAL2 tarafından hafifletildiğini söyleyebiliriz. Bu bulgu, bu proteinlerin kilit oyuncular olduğunu daha da desteklemektedir. Bu proteinlerin AH ile ilişkisini ortaya çıkarmak için aşağıda kısaca rollerine değinilecektir.

Isı şoku proteini 110 (Heat Shock Protein 110)'un bir izoformu olan HS105 (Isı şoku proteini 105 kDa), memelilerdeki ana ayrıştırma (*disaggregase*) mekanizmasının bir parçasıdır (247). HS105'in yanlış katlanmış proteinleri doğal durumlarına yeniden

katlamada ve hücreyi stres kaynaklı hücre ölümüne karşı korumada ana oyuncu olduğu gösterilmiştir (248,249). Farelerde HS105 kaybı, tau hiperfosforilasyonuna ve erken A β birikimine neden olmuştur (250). HS105 ayrıca yanlış katlanmış ve kümelenmiş proteinleri açabilen ve çözebilen güçlü şaperon makineleri oluşturmak için diğer hub proteini ısı şoku 70 kDa protein 12A (HS12A) ile iş birliği yapmaktadır (251). HS12A, HSP70 ailesinin bir üyesidir ve nöroprotektif aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (252). İşlevi hakkında bilgi az olsa da HS12A, A β proteinini parçaladığı yere taşıyan bir kargo molekülü olan SorLa için özel bir adaptör protein olarak raporlanmıştır (253). RL12 (60S ribozomal protein L12), ribozomun büyük alt biriminin (60S) bir bileşenidir. AH'li hastaların ve farelerin beyinlerinde çeşitli ribozomal proteinlerin (RPL'ler) ekspresyonunun değiştiği rapor edilmiştir, bu da AH'deki değiştirilmiş protein sentezi mekanizmasına işaret etmektedir (106,254,255). RL12 ifadesi AH fare modelinde kan ve beyin arasında önemli ölçüde farklı bulunmuştur (256). Bir biyoinformatik çalışması, RL12'nin AH'deki anahtar sinyal ve düzenleyici moleküllerden biri olduğunu öne sürmüştür (257). Bu proteinlerin PAL2'de yeniden düzenlenmesi, 12 aylık 5xFAD fare modelinin öğrenme ve hafıza yeteneklerinin artırılmasında önemli bir role sahip olabilir.

Özetle, PAL'nin terapötik potansiyeli, ileri evre AH fare modelinde değerlendirildi. 7 günlük PAL (10 mg/kg) uygulamasından sonra, MSL testi ile istatistiksel olarak öğrenme ve hafızada önemli gelişmeler tespit edildi. KBB geçişi MRM-MS analizi ile kanıtlandı. Bilişte iyileşmeye yol açan moleküler mekanizma, beynin korteks, hipokampus ve serebellumunda MS/MS ile araştırıldı. Şaşırtıcı bir şekilde, PAL2'nin etkisini en çok serebellum bölgesinde, sonra hipokampüste gösterdiği belirlendi. Analizler, 10 mg/kg PAL enjeksiyonundan sonra 5xFAD farelerdeki anlamlı değişen protein ifadelerinin çoğunun (PAL2/5xFAD), AH'de oluşan ifade değişimlerinin tam tersi olduğunu ortaya çıkardı (5xFAD/ALM). Biyoinformatik analizler ile *hub* proteinleri olarak HS105, HS12A ve RL12 proteinlerini belirlendi ve bunların protein ekspresyon seviyeleri Western blot ile doğrulandı. PAL2'de hipokampus bölgesinde proteomik değişiklikler gözlemlenmiştir bu nedenle İHK çalışmasının yapılması optimaldir ancak doku kaybı yaşanmasından ötürü bu deneyler gerçekleştirilememiştir.

5.4 SCO(1-2)-PTX(1-2)

Kumarinler nöroprotektif özelliklerinden dolayı önemlidir. Daha önce bahsedildiği üzere SCO ve PTX'in AH'de yapılan çalışmalardan iyileştirici etki gösterme potansiyeli taşıyabileceği düşünülmektedir. Bu grupta ile bu iki kumarinin SCO ve PTX'in 2 farklı dozda karşılaştırmalı olarak protein seviyesinde ileri evre AH fare modeli üzerindeki etkilerinin açığa çıkartmak amaçlanmıştır. İlk aşama olan MSL testinde, 4. günden itibaren gizli platformun bulunmasında ilerleme gösteren ve sonunda öğrenmenin son gününde istatistiksel anlamlılığa ulaşan PTX2 dışında, diğer grupların hiçbirinde değişim gözlenmedi. Belki deneye devam edilseydi, süredeki azalmanın da devam edeceği düşünülebilir (Şekil 7V). Her ne kadar bu çalışmada MRM-MS ile tespit edilemese de SCO ve PTX'in KBB geçebildiği daha önce raporlanmıştır (258,259).

Bileşik kaynaklı proteomik değişiklikleri kapsamlı bir şekilde karşılaştırmak için HC analizi yapıldı. Beklenmedik bir şekilde, PTX2, benzer bir model izleyen SCO1, SCO2 ve PTX1'in aksine farklı bir protein ifade örüntüsü ile diğerlerinden ayrıştı (Şekil 23A). Bu hipotez, PTX2'nin benzersiz bir ifade örüntüsüne sahip olduğunu gösteren PCA sonuçlarıyla da desteklenmiştir (Şekil 22A).

Etkileşim ağı analizi, anlamlı değişen proteinlerin birbirleriyle yakından etkileşime girdiğini ortaya çıkardı (Şekil 23B). PTX2'yi diğerlerinden neyin farklılaştırdığını keşfetmek için her küme için GO ve KEGG yolu analizleri yapılsa da bunların arasında esas olarak, APP, GFAP, Vim, ApoE gibi proteinleri bünyesinde toplayan küme 2C'ye odaklanıldı. 2C proteinleri, peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptörler (PPAR'ler), yağ asidi bozunması, valin, lösin ve izolösin bozunma yollarında zenginleşmiştir. PPAR'lar lipid sensörleri olarak hareket eder ve oksidatif stres, enerji homeostazı, mitokondriyal yağ asitleri metabolizması ve inflamasyonda önemli bir rol oynar ve esas olarak beyindeki nöronlarda ve astrositlerde eksprese edilir (260,261). Son çalışmalar, PPAR ligandlarının, AH fare modellerinde Aβ plaklarının ve tau fosforilasyonunun azalmasına ve gelişmiş davranış testlerine yol açtığını göstermiştir (262,263). Ayrıca metabolomik çalışmalar dallı zincirli amino asitler (*branched-chain amino acids*, BCCA) (valin, lösin ve izolösin) ile AH arasında

olası bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. BCAA'ların değişmesinin bilişsel gerileme, diyabet ve AH ile doğrudan ilişkili olduğu bulunmuştur (264,265). Bu yolaklardaki değişiklikler, PTX2'nin bilişsel gelişim üzerindeki olumlu etkisini açıklamaya yardımcı olabilir.

Şaşırtıcı bir şekilde, ApoE, GFAP, Vim ve APP proteinlerinin ifadesinin sadece PTX2'de anlamlı seviyede azaldığı tespit edilmiştir. Bu proteinlerin AH ile ilişkisi daha önce LYC1'in tartışma kısmında açıklanmıştı, bu nedenle burada kısaca bahsedilecektir. ApoE, LOAD ile en çok ilişkilendirilen risk genidir ve AH fare modellerinde A β plak oluşumunu doza bağlı bir şekilde destekler (117,119,120). GFAP bir ara filamenttir ve gliosis nedeniyle ileri evre AH'de ifade seviyeleri arttığı bilinmektedir. GFAP, Vim (187,266–268) ile aynı mekanizmaya dahil olduğu bildirilen bir başka temel ara filamenttir ve önemli ölçüde ifadesinin azaldığı bildirilmiştir. 5xFAD fareleri, APP geninin aşırı ekspresyonuna neden olan 3 mutasyon taşır ve bu, gliosis ile birlikte 2 ay gibi kısa bir sürede görülebilen A β patolojisinin erken ve agresif temsiline yol açmaktadır (7). Bu proteinin PTX2'de gözlemlendiği gibi ifadesinin azalması, A β plak oluşumlarında da azalmaya yol açabilir. Bununla birlikte, İHK sonuçları A β plak yükünde herhangi bir istatistiksel farklılık göstermedi. Ancak, daha önce de belirtildiği gibi, enjeksiyon dozu veya uygulama süresi arttırılmış olsaydı, A β yükünde önemli bir iyileşme görülme ihtimali mevcuttur. Ayrıca LC-MS/MS ile elde edilen ifade farklılıklarının validasyonları Western blot yöntemi ile, sadece anlamlı farklılık görülen PTX2 grubu örnekleri üzerinde, PTX2'nin etki mekanizmasına dahil olma potansiyeline sahip ve aynı zamanda AH ile yakından ilişkili bulunmuş Vim, GFAP, HSP70, aSyn ve APP proteinleri üzerinden başarı ile gerçekleştirilmiştir. Birlikte ele alındığında, proteomik sonuçlar, bu önemli proteinlerin yeniden düzenlenmesinin AH'nin neden olduğu moleküler değişikliklerin tersine çevrilmesine önemli katkılar sağladığını göstermektedir (Şekil 25). Bu bulgular ayrıca, PTX'in daha erken evreler için tedavi potansiyeline sahip olduğuna işaret etmektedir.

6 SONUÇ

Bu çalışma ile Lycoramine, O-demethyl-galantamine, Palmatine, Scopoletin ve Pteryxin'in etkileri ilk defa 5xFAD farelerde çalışılmış ve moleküler mekanizmaları kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Alkaloid grubundan, Lycoramine ve Palmatine'in 12 aylık 5xFAD farelerin hem öğrenme hem hafıza yeteneklerinde gelişme sağladığı gösterilmiş, KBB'den geçebildikleri kanıtlanmıştır. Lycoramine beynin korteks bölgesinde etkili bulunmuşken, Palmatine hipokampus ve serebellumda protein değişikliklerine neden olmuştur. Diğer yandan kumarin grubundan Pteryxin öğrenme fazının son gününde anlamlı iyileşme göstermiştir ve özellikle beynin korteks bölgesinde anlamlı protein ifade farklılıklarına sebep olduğu tespit edilmiştir. Diğer bileşiklerde farelerin bilişsel yeteneklerinde iyileşme tespit edilmese de tüm bileşiklerin protein seviyesinde neden olduğu değişiklikler incelenmiş, çalışma mekanizmaları çeşitli biyoinformatik yöntemlerle incelenmiştir. Proteomik analizler bu bileşiklerin daha erken evrelerde, farklı dozlarda veya kombinasyon tedavileriyle değerlendirilebileceğini göstermektedir.

7 KAYNAKLAR

1. Gauthier S, Rosa-Neto P, Morais JA, Webster C. World Alzheimer Report 2021: Journey through the diagnosis of dementia [Internet]. London, England; 2021 [cited 2022 Aug 4]. Available from: <https://www.alzint.org/u/World-Alzheimer-Report-2021.pdf>
2. Mirra SS, Heyman A, McKeel D, Sumi SM, Crain BJ, Brownlee LM, et al. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD): Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* [Internet]. 1991 Apr 1;41(4):479–479. Available from: <http://www.neurology.org/cgi/doi/10.1212/WNL.41.4.479>
3. Armstrong RA. Plaques and tangles and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol* [Internet]. 2006;44(1):1–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16565925>
4. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. Vol. 25, *Molecules*. MDPI; 2020.
5. Ng YP, Or TCT, Ip NY. Plant alkaloids as drug leads for Alzheimer's disease. *Neurochem Int* [Internet]. 2015;89:260–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2015.07.018>
6. Sasaguri H, Nilsson P, Hashimoto S, Nagata K, Saito T, de Strooper B, et al. APP mouse models for Alzheimer's disease preclinical studies. *EMBO J*. 2017;36(17):2473–87.
7. Oakley H, Cole SL, Logan S, Maus E, Shao P, Craft J, et al. Intraneuronal β -amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: Potential factors in amyloid plaque formation. *Journal of Neuroscience*. 2006;26(40):10129–40.
8. Ohno M, Chang L, Tseng W, Oakley H, Citron M, Klein WL, et al. Temporal memory deficits in Alzheimer's mouse models: Rescue by genetic deletion of BACE1. *European Journal of Neuroscience*. 2006;23(1):251–60.
9. Jawhar S, Trawicka A, Jenneckens C, Bayer TA, Wirths O. Motor deficits, neuron loss, and reduced anxiety coinciding with axonal degeneration and intraneuronal A β aggregation in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2012;33(1):196.e29–196.e40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.05.027>
10. Gurel B, Cansev M, Koc C, Ocalan B, Cakir A, Aydin S, et al. Proteomics Analysis of CA1 Region of the Hippocampus in Pre-, Progression and Pathological Stages in a Mouse Model of the Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res*. 2019 Jul 31;16(7):613–21.
11. Forner S, Kawauchi S, Balderrama-Gutierrez G, Kramár EA, Matheos DP, Phan J, et al. Systematic phenotyping and characterization of the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Sci Data*. 2021 Dec 1;8(1).
12. Bouter Y, Kacprowski T, Weissmann R, Dietrich K, Borgers H, Brauß A, et al. Deciphering the molecular profile of plaques, memory decline and neuron loss in two mouse models for Alzheimer's disease by deep sequencing. *Front Aging Neurosci*. 2014;6(APR).
13. Landel V, Baranger K, Virard I, Lloriod B, Khrestchatsky M, Rivera S, et al. Temporal gene profiling of the 5XFAD transgenic mouse model highlights the importance of microglial activation in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 2014;9(1):1–18.
14. Frantzi M, Latosinska A, Mischak H. Proteomics in Drug Development: The Dawn of a New Era? Vol. 13, *Proteomics - Clinical Applications*. Wiley-VCH Verlag; 2019.
15. Drummond E, Wisniewski T. Using Proteomics to Understand Alzheimer's Disease Pathogenesis. *Alzheimer's Disease*. 2019 Nov 29;37–51.
16. Montine TJ, Woltjer RL, Pan C, Montine KS, Zhang J. Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry-Based Proteomic Discovery in Aging and Alzheimer's Disease. *NeuroRx*. 2006;3(3):336–43.
17. Li Z, Adams RM, Chourey K, Hurst GB, Hettich RL, Pan C. Systematic comparison of label-free, metabolic labeling, and isobaric chemical labeling for quantitative proteomics on LTQ orbitrap velos. *J Proteome Res*. 2012;11(3):1582–90.
18. Cipriani G, Dolciotti C, Picchi L, Bonuccelli U. Alzheimer and his disease: A brief history. *Neurological Sciences*. 2011 Apr;32(2):275–9.
19. Stelzma RA, Norman Schnitzlein H, Murrilagh FR. An English I'ranslation of Alzheimer's 1907 Paper, "ijber eine eigenartige Erlranliung der Hirnrinde." Vol. 8, *Clinical Anatomy*. 1995.

20. Gauthier S, Webster C, Servaes S, Morais JA, Rosa-Neto P. World Alzheimer Report 2022 – Life after diagnosis: Navigating treatment, care and support [Internet]. London, England; 2022 [cited 2022 Nov 27]. Available from: <https://www.alzint.org/u/World-Alzheimer-Report-2022.pdf>
21. Nichols E, Steinmetz JD, Vollset SE, Fukutaki K, Chalek J, Abd-Allah F, et al. 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 Feb 1;7(2):e105–25.
22. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group* under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. 1984 Jul 1;34(7):939–939.
23. Neugroschl J, Wang S. Alzheimer's Disease: Diagnosis and Treatment Across the Spectrum of Disease Severity. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine*. 2011 Jul;78(4):596–612.
24. Spires-Jones TL, Hyman BT. The Intersection of Amyloid Beta and Tau at Synapses in Alzheimer's Disease. *Neuron*. 2014 May;82(4):756–71.
25. Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. Neuropathological Alterations in Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2011 Sep 1;1(1):a006189–a006189.
26. Armstrong RA. The molecular biology of senile plaques and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol*. 2009;47(4):289–99.
27. Tabaton M, Piccini A. Role of water-soluble amyloid- β in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Int J Exp Pathol*. 2005 May 24;86(3):139–45.
28. Metaxas A, Kempf S. Neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease: elucidation of the molecular mechanism by immunohistochemistry and tau protein phospho-proteomics. *Neural Regen Res*. 2016;11(10):1579.
29. Brion JP. Neurofibrillary Tangles and Alzheimer's Disease. *Eur Neurol*. 1998;40(3):130–40.
30. Overk CR, Masliah E. Pathogenesis of synaptic degeneration in Alzheimer's disease and Lewy body disease. *Biochem Pharmacol*. 2014 Apr;88(4):508–16.
31. van der Kant R, Goldstein LSB, Ossenkoppele R. Amyloid- β -independent regulators of tau pathology in Alzheimer disease. Vol. 21, *Nature Reviews Neuroscience*. Nature Research; 2020. p. 21–35.
32. Jouanne M, Rault S, Voisin-Chiret AS. Tau protein aggregation in Alzheimer's disease: An attractive target for the development of novel therapeutic agents. Vol. 139, *European Journal of Medicinal Chemistry*. Elsevier Masson SAS; 2017. p. 153–67.
33. Dubois B, Hampel H, Feldman HH, Scheltens P, Aisen P, Andrieu S, et al. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's & Dementia*. 2016 Mar;12(3):292–323.
34. De-Paula VJ, Radanovic M, Diniz BS, Forlenza O v. Alzheimer's Disease. In 2012. p. 329–52.
35. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. www.thelancet.com [Internet]. 2011;377:1019–50. Available from: <http://www.alzgene.org/>
36. Ricciarelli R, Fedele E. The Amyloid Cascade Hypothesis in Alzheimer's Disease: It's Time to Change Our Mind. *Curr Neuropsychopharmacol*. 2017 Jul 31;15(6).
37. Kametani F, Hasegawa M. Reconsideration of amyloid hypothesis and tau hypothesis in Alzheimer's disease. Vol. 12, *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2018.
38. Mandelkow EM, Stamer K, Vogel R, Thies E, Mandelkow E. Clogging of axons by tau, inhibition of axonal traffic and starvation of synapses. *Neurobiol Aging*. 2003;24(8):1079–85.
39. Bejanin A, Schonhaut DR, la Joie R, Kramer JH, Baker SL, Sosa N, et al. Tau pathology and neurodegeneration contribute to cognitive impairment in Alzheimer's disease. *Brain*. 2017 Dec 1;140(12):3286–300.
40. Morris HR, Lees J, Wood NW. Neurofibrillary Tangle Parkinsonian Disorders-Tau Pathology and Tau Genetics. 1999.
41. Hampel H, Mesulam MM, Cuello AC, Farlow MR, Giacobini E, Grossberg GT, et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. Vol. 141, *Brain*. Oxford University Press; 2018. p. 1917–33.
42. Terry A v., Buccafusco JJ. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: Recent challenges and their implications for novel drug development. Vol. 306, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2003. p. 821–7.

43. Bartus RT, Dean RL, Beer B, Lippa AS. The Cholinergic Hypothesis of Geriatric Memory Dysfunction. *Science* (1979). 1982 Jul 30;217(4558):408–14.
44. Luo W, Li Y ping, He Y, Huang S liang, Tan J heng, Ou T miao, et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Design , synthesis and evaluation of novel tacrine-multialkoxybenzene hybrids as dual inhibitors for cholinesterases and amyloid beta aggregation. *Bioorg Med Chem [Internet]*. 2011;19(2):763–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2010.12.022>
45. Lovestone S, Howard R. Alzheimer's disease: a treatment in sight? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1995 Dec 1;59(6):566–7.
46. Massoud F, Gauthier S. Update on the Pharmacological Treatment of Alzheimers Disease. *Curr Neuropharmacol*. 2010 Mar 1;8(1):69–80.
47. Hampel H, Au R, Mattke S, van der Flier WM, Aisen P, Apostolova L, et al. Designing the next-generation clinical care pathway for Alzheimer's disease. *Nat Aging*. 2022 Aug 19;2(8):692–703.
48. Schrattenholz A, Pereira EF, Roth U, Weber KH, Albuquerque EX, Maelicke A. Agonist responses of neuronal nicotinic acetylcholine receptors are potentiated by a novel class of allosterically acting ligands. *Mol Pharmacol*. 1996 Jan;49(1):1–6.
49. Lawrence AD, Sahakian BJ. The cognitive psychopharmacology of Alzheimer's disease: focus on cholinergic systems. *Neurochem Res*. 1998;23(5):787–94.
50. Amenta F, Tayebati S. Pathways of Acetylcholine Synthesis, Transport and Release as Targets for Treatment of Adult-Onset Cognitive Dysfunction. *Curr Med Chem*. 2008 Feb 1;15(5):488–98.
51. Wilcock G, Howe I, Coles H, Lilienfeld S, Truyen L, Zhu Y, et al. A Long-Term Comparison of Galantamine and Donepezil in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Drugs Aging*. 2003;20(10):777–89.
52. Schneider LS, Mangialasche F, Andreasen N, Feldman H, Giacobini E, Jones R, et al. Clinical trials and late-stage drug development for Alzheimer's disease: an appraisal from 1984 to 2014. *J Intern Med*. 2014 Mar;275(3):251–83.
53. JOHNSON J, KOTERMANSKI S. Mechanism of action of memantine. *Curr Opin Pharmacol*. 2006 Feb;6(1):61–7.
54. Sevigny J, Chiao P, Bussi re T, Weinreb PH, Williams L, Maier M, et al. The antibody aducanumab reduces A  plaques in Alzheimer's disease. *Nature*. 2016 Aug 31;537(7618):50–6.
55. Beshir SA, Aadithsoorya AM, Parveen A, Goh SSL, Hussain N, Menon VB. Aducanumab Therapy to Treat Alzheimer's Disease: A Narrative Review. *Int J Alzheimers Dis*. 2022 Mar 9;2022:1–10.
56. Cushnie TPT, Cushnie B, Lamb AJ. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *Int J Antimicrob Agents*. 2014 Nov;44(5):377–86.
57. Laux-Biehlmann A, Mouheiche J, V ri pe J, Goumon Y. Endogenous morphine and its metabolites in mammals: History, synthesis, localization and perspectives. *Neuroscience*. 2013 Mar;233:95–117.
58. Amirkia V, Heinrich M. Alkaloids as drug leads – A predictive structural and biodiversity-based analysis. *Phytochem Lett*. 2014 Dec;10:xlvi–liii.
59. Konrath EL, Passos CDS, Klein-J nior LC, Henriques AT. Alkaloids as a source of potential anticholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. Vol. 65, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2013. p. 1701–25.
60. Jin A, Li X, Zhu YY, Yu HY, Pi HF, Zhang P, et al. Four new compounds from the bulbs of *Lycoris aurea* with neuroprotective effects against CoCl₂ and H₂O₂-induced SH-SY5Y cell injuries. *Arch Pharm Res*. 2014;37(3):315–23.
61. Mroczek T. Qualitative and quantitative two-dimensional thin-layer chromatography/high performance liquid chromatography/diode-array/electrospray-ionization-time-of-flight mass spectrometry of cholinesterase inhibitors. *J Pharm Biomed Anal*. 2016 Sep;129:155–62.
62. Mannens GSJ, Snel CAW, Hendrickx J, Verhaeghe T, le Jeune L, Bode W, et al. The Metabolism and Excretion of Galantamine in Rats, Dogs, and Humans. *Drug Metabolism and Disposition [Internet]*. 2002 May 1;30(5):553–63. Available from: <http://dmd.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/dmd.30.5.553>
63. Bores GM, Huger FP, Petko W, Mutlib AE, Camacho F, Rush DK, et al. Pharmacological evaluation of novel Alzheimer's disease therapeutics: acetylcholinesterase inhibitors related to galanthamine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996 May;277(2):728–38.

64. Mroczek T, Dymek A, Widelski J, Wojtanowski KK. The bioassay-guided fractionation and identification of potent acetylcholinesterase inhibitors from narcissus C.V. 'hawera' using optimized vacuum liquid chromatography, high resolution mass spectrometry and bioautography. *Metabolites*. 2020 Oct 1;10(10):1–16.
65. Long J, Song J, Zhong L, Liao Y, Liu L, Li X. Palmatine: A review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics. Vol. 162, *Biochimie*. Elsevier B.V.; 2019. p. 176–84.
66. Kukula-Koch W, Mroczek T. Application of hydrostatic CCC–TLC–HPLC–ESI-TOF-MS for the bioguided fractionation of anticholinesterase alkaloids from *Argemone mexicana* L. roots. *Anal Bioanal Chem*. 2015 Mar 25;407(9):2581–9.
67. Jung HA, Min BS, Yokozawa T, Lee JH, Kim YS, Choi JS. Anti-Alzheimer and Antioxidant Activities of Coptidis Rhizoma Alkaloids. *Biol Pharm Bull*. 2009;32(8):1433–8.
68. Haj E, Losev Y, Guru KrishnaKumar V, Pichinuk E, Engel H, Raveh A, et al. Integrating in vitro and in silico approaches to evaluate the “dual functionality” of palmatine chloride in inhibiting and disassembling Tau-derived VQIVYK peptide fibrils. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2018 Jul 1;1862(7):1565–75.
69. Dhingra D, Kumar V. Memory-enhancing activity of palmatine in mice using elevated plus maze and Morris water maze. *Adv Pharmacol Sci*. 2012;2012.
70. Matos MJ, Viña D, Vazquez-rodriguez S, Uriarte E. Focusing on New Monoamine Oxidase Inhibitors : Differently Substituted Coumarins As An Interesting Scaffold. 2012;2210–39.
71. Stefanachi A, Leonetti F, Pisani L, Catto M, Carotti A. Coumarin: A natural, privileged and versatile scaffold for bioactive compounds [Internet]. Vol. 23, *Molecules*. 2018. p. 250. Available from: <http://www.mdpi.com/1420-3049/23/2/250>
72. Zhou X, Wang XB, Wang T, Kong LY. Design, synthesis, and acetylcholinesterase inhibitory activity of novel coumarin analogues. *Bioorg Med Chem*. 2008;16(17):8011–21.
73. Anand P, Singh B, Singh N. A review on coumarins as acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease [Internet]. Vol. 20, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. Elsevier Ltd; 2012. p. 1175–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2011.12.042>
74. Skalicka-Woźniak K, Mroczek T, Walasek M, Głowniak K. Efficient Isolation of Dihydropyrancoumarins and Simple Coumarins from *Mutellina purpurea* Fruits. *Planta Med*. 2016;82(11–12):1105–9.
75. Kontogiorgis CA, Hadjipavlou-Litina DJ. Synthesis and antiinflammatory activity of coumarin derivatives. *J Med Chem*. 2005;48(20):6400–8.
76. Bansal Y, Sethi P, Bansal G. Coumarin: A potential nucleus for anti-inflammatory molecules. *Medicinal Chemistry Research*. 2013;22(7):3049–60.
77. Yusufzai SK, Khan MS, Sulaiman O, Osman H, Lamjin DN. Molecular docking studies of coumarin hybrids as potential acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, monoamine oxidase A/B and β -amyloid inhibitors for Alzheimer's disease. *Chem Cent J* [Internet]. 2018;12(1):1–57. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0497-z>
78. Lin HC, Tsai SH, Chen CS, Chang YC, Lee CM, Lai ZY, et al. Structure-activity relationship of coumarin derivatives on xanthine oxidase-inhibiting and free radical-scavenging activities. *Biochem Pharmacol*. 2008;75(6):1416–25.
79. Patil PO, Bari SB, Firke SD, Deshmukh PK, Donda ST, Patil DA. A comprehensive review on synthesis and designing aspects of coumarin derivatives as monoamine oxidase inhibitors for depression and Alzheimer's disease [Internet]. Vol. 21, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. Elsevier Ltd; 2013. p. 2434–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2013.02.017>
80. Kuppusamy A, Arumugam M, George S. Combining in silico and in vitro approaches to evaluate the acetylcholinesterase inhibitory profile of some commercially available flavonoids in the management of Alzheimer's disease. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2017;95:199–203. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.062>
81. Rollinger JM, Hornick A, Langer T, Stuppner H, Prast H. Acetylcholinesterase inhibitory activity of scopolin and scopoletin discovered by virtual screening of natural products. *J Med Chem*. 2004;47(25):6248–54.
82. Basu M, Mayana K, Xavier S, Balachandran S, Mishra N. Effect of scopoletin on monoamine oxidases and brain amines. *Neurochem Int* [Internet]. 2016 Feb;93:113–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0197018616300018>
83. Gay NH, Suwanjang W, Ruankham W, Songtawee N, Wongchitrat P, Prachayasittikul V, et al. Butein, isoliquiritigenin, and scopoletin attenuate neurodegeneration via antioxidant enzymes and SIRT1/ADAM10 signaling pathway. *RSC Adv*. 2020;10(28):16593–606.

84. Luo L, Sun T, Yang L, Liu A, Liu QQ, Tian QQ, et al. Scopoletin ameliorates anxiety-like behaviors in complete Freund's adjuvant-induced mouse model. *Mol Brain*. 2020;13(1):1–13.
85. Taira J, Ogi T. Induction of Antioxidant Protein HO-1 Through Nrf2-ARE Signaling Due to Pteryxin in *Peucedanum Japonicum* Thunb in RAW264.7 Macrophage Cells. *Antioxidants* [Internet]. 2019 Dec 5;8(12):621. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/bmc.1733>
86. Taira N, Nugara RN, Inafuku M, Takara K, Ogi T, Ichiba T, et al. In vivo and in vitro anti-obesity activities of dihydropyranocoumarins derivatives from *Peucedanum japonicum* Thunb. *J Funct Foods* [Internet]. 2017;29:19–28. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2016.11.030>
87. Orhan IE, Senol FS, Shekfeh S, Skalicka-Wozniak K, Banoglu E. Pteryxin - A promising butyrylcholinesterase-inhibiting coumarin derivative from *Mutellina purpurea*. *Food and Chemical Toxicology* [Internet]. 2017;109:970–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2017.03.016>
88. Craft GE, Chen A, Nairn AC. Recent advances in quantitative neuroproteomics. *Methods*. 2013 Jun 15;61(3):186–218.
89. Graves PR, Haystead TAJ. Molecular Biologist's Guide to Proteomics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2002 Mar;66(1):39–63.
90. Sinha A, Mann M. A beginner's guide to mass spectrometry-based proteomics. *Biochem (Lond)*. 2020 Oct 21;42(5):64–9.
91. Devanshu S, Rahul M, Annu G, Kishan S, Anroop N. Quantitative Bioanalysis by LC-MS/MS: A Review [Internet]. Vol. 7, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2010. Available from: www.jpjbs.info
92. Karpievitch Y v., Polpitiya AD, Anderson GA, Smith RD, Dabney AR. Liquid chromatography mass spectrometry-based proteomics: Biological and technological aspects. *Annals of Applied Statistics*. 2010 Dec;4(4):1797–823.
93. Han X, Aslanian A, Yates JR. Mass spectrometry for proteomics. Vol. 12, *Current Opinion in Chemical Biology*. 2008. p. 483–90.
94. Pitt JJ. Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. *Clin Biochem Rev* [Internet]. 2009 Feb;30(1):19–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19224008>
95. Vidova V, Spacil Z. A review on mass spectrometry-based quantitative proteomics: Targeted and data independent acquisition. Vol. 964, *Analytica Chimica Acta*. Elsevier B.V.; 2017. p. 7–23.
96. Gürel B. Beyin Ekstrasellüler Matriksinin Nörodejenerasyondaki Rolünün Alzheimer Fare Modelinde Araştırılması. [İstanbul]: Medipol Üniversitesi; 2017.
97. Kiris I, Basar MK, Sahin B, Gurel B, Coskun J, Mroczek T, et al. Evaluation of the Therapeutic Effect of Lycoramine on Alzheimer's Disease in Mouse Model. *Curr Med Chem* [Internet]. 2021 May 16;28(17):3449–73. Available from: <https://www.eurekaselect.com/188036/article>
98. Kiris I, Skalicka-Wozniak K, Basar MK, Sahin B, Gurel B, Baykal AT. Molecular Effects of Pteryxin and Scopoletin in the 5xFAD Alzheimer's Disease Mouse Model. *Curr Med Chem* [Internet]. 2022 May 27;29(16):2937–50. Available from: <https://www.eurekaselect.com/195914/article>
99. Kiris I, Kukula-Koch W, Karayel-Basar M, Gurel B, Coskun J, Baykal AT. Proteomic alterations in the cerebellum and hippocampus in an Alzheimer's disease mouse model: Alleviating effect of palmartine. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [Internet]. 2023 Feb;158:114111. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332222015001>
100. Christina P. World Alzheimer's report 2018 [Internet]. *Alzheimer's disease International: world Alzheimer report 2018*. 2018. Available from: <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2018/>
101. Tampi RR, Forester BP, Agronin M. Aducanumab: Evidence from clinical trial data and controversies. Vol. 10, *Drugs in Context*. Bioexcel Publishing LTD; 2021.
102. Bhattacharya S, Haertel C, Maelicke A, Montag D. Galantamine slows down plaque formation and behavioral decline in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2014;9(2):1–12.
103. O'Leary TP, Brown RE. Visuo-spatial learning and memory impairments in the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease: Effects of age, sex, albinism, and motor impairments. *Genes Brain Behav*. 2022 Apr 1;21(4).

104. French KL, Bimonte-Nelson HA, Granholm AC. Galantamine effects on memory, spatial cue utilization, and neurotrophic factors in aged female rats. Vol. 16, *Cell Transplantation*. 2007. p. 197–205.
105. Barnes CA, Meltzer J, Houston F, Orr G, McGann K, Wenk GL. Chronic treatment of old rats with donepezil or galantamine: Effects on memory, hippocampal plasticity and nicotinic receptors. *Neuroscience*. 2000;99(1):17–23.
106. Hernández-Ortega K, Garcia-Esparcia P, Gil L, Lucas JJ, Ferrer I. Altered Machinery of Protein Synthesis in Alzheimer's: From the Nucleolus to the Ribosome. *Brain Pathology*. 2016 Sep 1;26(5):593–605.
107. Bhattacharya S, Haertel C, Maelicke A, Montag D. Galantamine slows down plaque formation and behavioral decline in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2014;9(2):1–12.
108. Wu Z, Zhao L, Chen X, Cheng X, Zhang Y. Galantamine attenuates amyloid- β deposition and astrocyte activation in APP/PS1 transgenic mice. *Exp Gerontol* [Internet]. 2015;72:244–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2015.10.015>
109. Foster EM, Dangla-Valls A, Lovestone S, Ribe EM, Buckley NJ. Clusterin in Alzheimer's disease: Mechanisms, genetics, and lessons from other pathologies. *Front Neurosci*. 2019;13(FEB):1–27.
110. Grewal RP, Morgan TE, Finch CE. C1qB and clusterin mRNA increase in association with neurodegeneration in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci Lett*. 1999;271(1):65–7.
111. Ingram G, Loveless S, Howell OW, Hakobyan S, Dancey B, Harris CL, et al. Complement activation in multiple sclerosis plaques: An immunohistochemical analysis. *Acta Neuropathol Commun*. 2014;2(1):1–15.
112. Sasaki S. High prevalence of parkinsonism in patients with MCI or mild Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia* [Internet]. 2018;14(12):1615–22. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.06.3054>
113. Labadorf A, Hoss AG, Lagomarsino V, Latourelle JC, Hadzi TC, Bregu J, et al. RNA sequence analysis of human huntington disease brain reveals an extensive increase in inflammatory and developmental gene expression. *PLoS One*. 2015;10(12):1–21.
114. May PC, Lampert-Etchells M, Johnson SA, Poirier J, Masters JN, Finch CE. Dynamics of gene expression for a hippocampal glycoprotein elevated in Alzheimer's disease and in response to experimental lesions in rat. *Neuron*. 1990;5(6):831–9.
115. Martins IJ, Berger T, Sharman MJ, Verdile G, Fuller SJ, Martins RN. Cholesterol metabolism and transport in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2009;111(6):1275–308.
116. DeMattos RB, O'dell MA, Parsadanian M, Taylor JW, Harmony JAK, Bales KR, et al. Clusterin promotes amyloid plaque formation and is critical for neuritic toxicity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(16):10843–8.
117. Holtzman DM, Bales KR, Wu S, Bhat P, Parsadanian M, Fagan AM, et al. Expression of human apolipoprotein E reduces amyloid- β deposition in a mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Clinical Investigation*. 1999;103(6):15–21.
118. Bales KR, Verina T, Cummins DJ, Du Y, Dodel RC, Saura J, et al. Apolipoprotein E is essential for amyloid deposition in the APP(V717F) transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(26):15233–8.
119. Koistinaho M, Lin S, Wu X, Esterman M, Koger D, Hanson J, et al. Apolipoprotein E promotes astrocyte colocalization and degradation of deposited amyloid- β peptides. *Nat Med*. 2004;10(7):719–26.
120. Bales KR, Verina T, Dodel RC, Du Y, Altstiel L, Bender M, et al. Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid β -peptide deposition. *Nat Genet* [Internet]. 1997 Nov;17(3):263–4. Available from: <http://www.nature.com/articles/ng1197-263>
121. Mak ACY, Pullinger CR, Tang LF, Wong JS, Deo RC, Schwarz JM, et al. Effects of the Absence of Apolipoprotein E on Lipoproteins, Neurocognitive Function, and Retinal Function. *JAMA Neurol*. 2014 Oct 1;71(10):1228.
122. K Gottschalk W, Mihovilovic M. The Role of Upregulated APOE in Alzheimer's Disease Etiology. *J Alzheimers Dis Parkinsonism*. 2016;06(01):1–9.
123. Mazi AR, Arzuman AS, Gurel B, Sahin B, Tuzuner MB, Ozansoy M, et al. Neonatal Neurodegeneration in Alzheimer's Disease Transgenic Mouse Model. *J Alzheimers Dis Rep*. 2018;2(1):79–91.

124. Creighton SD, Mendell AL, Palmer D, Kalisch BE, MacLusky NJ, Prado VF, et al. Dissociable cognitive impairments in two strains of transgenic Alzheimer's disease mice revealed by a battery of object-based tests. *Sci Rep* [Internet]. 2019;9(1):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-37312-0>
125. Kanno T, Tsuchiya A, Nishizaki T. Hyperphosphorylation of Tau at Ser396 occurs in the much earlier stage than appearance of learning and memory disorders in 5XFAD mice. *Behavioural Brain Research* [Internet]. 2014;274:302–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.034>
126. Kang S, Ha S, Park H, Nam E, Suh WH, Suh YH, et al. Effects of a dehydroevodiamine-derivative on synaptic destabilization and memory impairment in the 5xFAD, Alzheimer's disease mouse model. *Front Behav Neurosci*. 2018;12(November 2018):2–12.
127. Griñán-Ferré C, Sarroca S, Ivanova A, Puigoriol-Illamola D, Aguado F, Camins A, et al. Epigenetic mechanisms underlying cognitive impairment and Alzheimer disease hallmarks in 5XFAD mice. *Aging*. 2016;8(4):664–84.
128. Jackson J, Jambrina E, Li J, Marston H, Menzies F, Phillips K, et al. Targeting the synapse in Alzheimer's disease. *Front Neurosci*. 2019;13(JUL):1–8.
129. Davies CA, Mann DMA, Sumpter PQ, Yates PO. A quantitative morphometric analysis of the neuronal and synaptic content of the frontal and temporal cortex in patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*. 1987;78(2):151–64.
130. Selkoe DJ. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* (1979). 2002;298(5594):789–91.
131. Limon A, Reyes-Ruiz JM, Miledi R. Loss of functional GABA A receptors in the Alzheimer diseased brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(25):10071–6.
132. Kwakowsky A, Calvo-Flores Guzmán B, Pandya M, Turner C, Waldvogel HJ, Faull RL. GABA A receptor subunit expression changes in the human Alzheimer's disease hippocampus, subiculum, entorhinal cortex and superior temporal gyrus. *J Neurochem*. 2018;145(5):374–92.
133. Srivastava S, Cohen J, Pevsner J, Aradhya S, McKnight D, Butler E, et al. A novel variant in GABRB2 associated with intellectual disability and epilepsy. *Am J Med Genet A*. 2014 Nov 17;164(11):2914–21.
134. Su Y, Balice-Gordon RJ, Hess DM, Landsman DS, Minarcik J, Golden J, et al. Neurobeachin is Essential for Neuromuscular Synaptic Transmission. *Journal of Neuroscience*. 2004;24(14):3627–36.
135. Twine NA, Janitz K, Wilkins MR, Janitz M. Whole transcriptome sequencing reveals gene expression and splicing differences in brain regions affected by Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2011;6(1).
136. Repetto D, Brockhaus J, Rhee HJ, Lee C, Kilimann MW, Rhee J, et al. Molecular dissection of neurobeachin function at excitatory synapses. *Front Synaptic Neurosci*. 2018;10(AUG):1–17.
137. Glavan G, Schliebs R, Zivin M. Synaptotagmins in Neurodegeneration. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology* [Internet]. 2009 Dec;292(12):1849–62. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ar.21026>
138. Südhof TC. Calcium control of neurotransmitter release. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012;4(1).
139. Xu J, Mashimo T, Südhof TC. Synaptotagmin-1, -2, and -9: Ca²⁺ Sensors for Fast Release that Specify Distinct Presynaptic Properties in Subsets of Neurons. *Neuron*. 2007;54(4):567–81.
140. Craxton M, Goedert M. Synaptotagmin V: a novel synaptotagmin isoform expressed in rat brain. *FEBS Lett*. 1995;361(2–3):196–200.
141. Gautam V, D'Avanzo C, Berezovska O, Tanzi RE, Kovacs DM. Synaptotagmins interact with APP and promote A β generation. *Mol Neurodegener* [Internet]. 2015;10(1):1–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13024-015-0028-5>
142. Bamburg JR, Bloom GS. Cytoskeletal pathologies of Alzheimer disease. *Cell Motil Cytoskeleton* [Internet]. 2009 Aug;66(8):635–49. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cm.20388>
143. Martin B, Brenneman R, Becker KG, Gucek M, Cole RN, Maudsley S. iTRAQ analysis of complex proteome alterations in 3xTgAD Alzheimer's mice: Understanding the interface between physiology and disease. *PLoS One*. 2008;3(7).
144. Bossenmeyer-Pouricé C, Smith AD, Lehmann S, Deramecourt V, Sablonnière B, Camadro JM, et al. N-homocysteinylation of tau and MAP1 is increased in autopsy specimens of Alzheimer's disease and vascular dementia. *Journal of Pathology*. 2019;248(3):291–303.

145. Giasson BI, Forman MS, Higuchi M, Golbe LI, Graves CL, Kotzbauer PT, et al. Initiation and synergistic fibrillization of tau and alpha-synuclein. *Science* (1979). 2003;300(5619):636–40.
146. Yan X, Uronen RL, Huttunen HJ. The interaction of α -synuclein and Tau: A molecular conspiracy in neurodegeneration? *Semin Cell Dev Biol* [Internet]. 2018; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.05.005>
147. Wirths O, Bayer TA. α -Synuclein, A β and Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003;27(1):103–8.
148. Lehotzky A, Lau P, Tórkési N, Muja N, Hudson LD, Ovádi J. Tubulin polymerization-promoting protein (TPPP/p25) is critical for oligodendrocyte differentiation. *Glia*. 2010 Jan 15;58(2):157–68.
149. Oláh J, Ovádi J. Pharmacological targeting of α -synuclein and TPPP/p25 in Parkinson's disease: challenges and opportunities in a Nutshell. *FEBS Lett*. 2019;593(13):1641–53.
150. Tirián L, Hlavanda E, Oláh J, Horváth I, Orosz F, Szabó B, et al. TPPP/p25 promotes tubulin assemblies and blocks mitotic spindle formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(SUPPL. 2):13976–81.
151. Grant P, Pant HC. Topographic regulation of kinase activity in Alzheimer's disease brains. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2002;4(4):269–81.
152. Maziuk BF, Apicco DJ, Cruz AL, Jiang L, Ash PEA, da Rocha EL, et al. RNA binding proteins co-localize with small tau inclusions in tauopathy. *Acta Neuropathol Commun*. 2018;6(1):71.
153. David S, Shoemaker M, Haley BE. Abnormal properties of creatine kinase in Alzheimer's disease brain: Correlation of reduced enzyme activity and active site photolabeling with aberrant cytosol-membrane partitioning. *Molecular Brain Research*. 1998;54(2):276–87.
154. Dzeja P, Terzic A. Adenylate kinase and AMP signaling networks: metabolic monitoring, signal communication and body energy sensing. *Int J Mol Sci*. 2009;10(4):1729–72.
155. Ianiski FR, Rech VC, Nishihira VSK, Alves CB, Baldissera MD, Wilhelm EA, et al. Amyloid- β peptide absence in short term effects on kinase activity of energy metabolism in mice hippocampus and cerebral cortex. *An Acad Bras Cienc*. 2016;88(3):1829–40.
156. Park H, Kam TI, Kim Y, Choi H, Gwon Y, Kim C, et al. Neuropathogenic role of adenylate kinase-1 in A β -mediated tau phosphorylation via AMPK and GSK3 β . *Hum Mol Genet*. 2012;21(12):2725–37.
157. Strehler EE, Thayer SA. Evidence for a role of plasma membrane calcium pumps in neurodegenerative disease: Recent developments. *Neurosci Lett* [Internet]. 2018 Jan;663(1):39–47. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304394017306821>
158. Berrocal M, Marcos D, Sepúlveda MR, Pérez M, Ávila J, Mata AM. Altered Ca²⁺ dependence of synaptosomal plasma membrane Ca²⁺-ATPase in human brain affected by Alzheimer's disease. *FASEB Journal*. 2009;23(6):1826–34.
159. Naslavsky N, Caplan S. EHD proteins: key conductors of endocytic transport. *Trends Cell Biol*. 2011 Feb;21(2):122–31.
160. Buggia-Prévot V, Fernandez CG, Udayar V, Vetrivel KS, Elie A, Roseman J, et al. A Function for EHD Family Proteins in Unidirectional Retrograde Dendritic Transport of BACE1 and Alzheimer's Disease A β Production. *Cell Rep* [Internet]. 2013;5(6):1552–63. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124713007365>
161. Jinwal UK, O'Leary JC, Borysov SI, Jones JR, Li Q, Koren J, et al. Hsc70 rapidly engages tau after microtubule destabilization. *Journal of Biological Chemistry*. 2010;285(22):16798–805.
162. Dou F, Netzer WJ, Tanemura K, Li F, Hartl FU, Takashima A, et al. Chaperones increase association of tau protein with microtubules. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(2):721–6.
163. Evans CG, Wisén S, Gestwicki JE. Heat shock proteins 70 and 90 inhibit early stages of amyloid β -(1–42) aggregation in vitro. *Journal of Biological Chemistry*. 2006;281(44):33182–91.
164. Bobkova N v., Garbuz DG, Nesterova I, Medvinskaya N, Samokhin A, Alexandrova I, et al. Therapeutic effect of exogenous Hsp70 in mouse models of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2014;38(2):425–35.
165. Klucken J, Shin Y, Masliah E, Hyman BT, McLean PJ. Hsp70 reduces α -synuclein aggregation and toxicity. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(24):25497–502.
166. Eftekhazadeh B, Daigle JG, Kapinos LE, Coyne A, Schiantarelli J, Carlomagno Y, et al. Tau Protein Disrupts Nucleocytoplasmic Transport in Alzheimer's Disease. *Neuron* [Internet]. 2018 Sep;99(5):925–940.e7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627318306378>

167. Brown J, Theisler C, Silberman S, Magnuson D, Gottardi-Littell N, Lee JM, et al. Differential expression of cholesterol hydroxylases in Alzheimer's disease. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(33):34674–81.
168. Zerbinatti C v., Cordy JM, Chen C di, Guillily M, Suon S, Ray WJ, et al. Oxysterol-binding protein-1 (OSBP1) modulates processing and trafficking of the amyloid precursor protein. *Mol Neurodegener*. 2008;3(1):1–12.
169. Lin WH. Molecular scanning of the human sorbin and SH3-domain-containing-1 (SORBS1) gene: positive association of the T228A polymorphism with obesity and type 2 diabetes. *Hum Mol Genet*. 2001;10(17):1753–60.
170. Chang TJ, Wang WC, Hsiung CA, He CT, Lin MW, Sheu WHH, et al. Genetic variation of SORBS1 gene is associated with glucose homeostasis and age at onset of diabetes: A SAPHIRE Cohort Study. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–10.
171. Zhang Q, Ma C, Gearing M, Wang PG, Chin LS, Li L. Integrated proteomics and network analysis identifies protein hubs and network alterations in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*. 2018;6(1):19.
172. Limpert AS, Karlo JC, Landreth GE. Nerve Growth Factor Stimulates the Concentration of TrkA within Lipid Rafts and Extracellular Signal-Regulated Kinase Activation through c-Cbl-Associated Protein. *Mol Cell Biol*. 2007;27(16):5686–98.
173. Hallock PT, Chin S, Blais S, Neubert TA, Glass DJ. Receptor Cluster Formation. 2016;36(2):262–70.
174. Nasri WNW, Makpol S, Mazlan M, Tooyama I, Ngah WZW, Damanhuri HA. Tocotrienol Rich Fraction Supplementation Modulate Brain Hippocampal Gene Expression in APPswe/PS1dE9 Alzheimer's Disease Mouse Model. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2019;70(s1):S239–54.
175. Liem RKH, Messing A. Dysfunctions of neuronal and glial intermediate filaments in disease. *Journal of Clinical Investigation*. 2009;119(7):1814–24.
176. Meda L, Baron P, Scarlato G. Glial activation in Alzheimer's disease: The role of A β and its associated proteins. *Neurobiol Aging*. 2001;22(6):885–93.
177. Hertz L, Chen Y, Simon SA, Gutierrez R, Tandon S. Editorial: All 3 types of glial cells are important for memory formation. *Front Integr Neurosci*. 2016;10(SEP2016):1–4.
178. Vehmas AK, Kawas CH, Stewart WF, Troncoso JC. Immune reactive cells in senile plaques and cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):321–31.
179. Glezer I, Simard AR, Rivest S. Neuroprotective role of the innate immune system by microglia. *Neuroscience*. 2007;147(4):867–83.
180. Kato S, Gondo T, Hoshii Y, Takahashi M, Yamada M. Confocal observation of senile plaques in Alzheimer's disease : Senile plaque morphology and relationship between senile plaques and astrocytes. 1998;717:332–40.
181. Pekny M, Wilhelmsson U, Pekna M. The dual role of astrocyte activation and reactive gliosis. *Neurosci Lett [Internet]*. 2014; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2013.12.071>
182. Fakhoury M. Microglia and astrocytes in Alzheimer's disease: implications for therapy. *Curr Neuroparmacol*. 2017;15:508–18.
183. Takeuchi H, Suzumura A. Gap junctions and hemichannels composed of connexins: Potential therapeutic targets for neurodegenerative diseases. *Front Cell Neurosci*. 2014;8(SEP):1–12.
184. Xie HY, Cui Y, Deng F, Feng JC. Connexin: A potential novel target for protecting the central nervous system? *Neural Regen Res*. 2015;10(4):659–66.
185. Koulakoff A, Mei X, Orellana JA, Sáez JC, Giaume C. Glial connexin expression and function in the context of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta Biomembr [Internet]*. 2012;1818(8):2048–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.10.001>
186. Nagy JJ, Li W, Hertzberg EL, Marotta CA. Elevated connexin43 immunoreactivity at sites of amyloid plaques in Alzheimer's disease. *Brain Res*. 1996;717(1–2):173–8.
187. Ren R, Zhang L, Wang M. Specific deletion connexin43 in astrocyte ameliorates cognitive dysfunction in APP/PS1 mice [Internet]. Vol. 208, *Life Sciences*. Elsevier Inc; 2018. 175–191 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.07.033>
188. Moreno R, Tallini LR, Salazar C, Osorio EH, Montero E, Bastida J, et al. Chemical Profiling and Cholinesterase Inhibitory Activity of Five *Phaedranassa* Herb. (Amaryllidaceae) Species from Ecuador. *Molecules*. 2020 Apr 30;25(9):2092.
189. Wassink TH, Andreasen NC, Nopoulos P, Flaum M. Cerebellar morphology as a predictor of symptom and psychosocial outcome in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 1999 Jan 1;45(1):41–8.

190. Picard H, Amado I, Mouchet-Mages S, Olié JP, Krebs MO. The role of the cerebellum in schizophrenia: an update of clinical, cognitive, and functional evidences. *Schizophr Bull.* 2008 Jan;34(1):155–72.
191. Venneri A, Gorgoglione G, Toraci C, Nocetti L, Panzetti P, Nichelli P. Combining neuropsychological and structural neuroimaging indicators of conversion to Alzheimer's disease in amnesic mild cognitive impairment. *Curr Alzheimer Res.* 2011 Nov;8(7):789–97.
192. Guo CC, Tan R, Hodges JR, Hu X, Sami S, Homberger M. Network-selective vulnerability of the human cerebellum to Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Brain.* 2016;139(Pt 5):1527–38.
193. Gellersen HM, Guell X, Sami S. Differential vulnerability of the cerebellum in healthy ageing and Alzheimer's disease. *Neuroimage Clin.* 2021 Jan 1;30.
194. Liang KJ, Carlson ES. Resistance, Vulnerability and Resilience: A Review of the Cognitive Cerebellum in Aging and Neurodegenerative Diseases HHS Public Access.
195. Sastre AA, Montoro ML, Gálvez-Martín P, Lacerda HM, Lucia A, Llaveró F, et al. Small gtpases of the ras and rho families switch on/off signaling pathways in neurodegenerative diseases. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020. p. 1–23.
196. Qu L, Pan C, He SM, Lang B, Gao GD, Wang XL, et al. The ras superfamily of small gtpases in non-neoplastic cerebral diseases. Vol. 12, *Frontiers in Molecular Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2019.
197. Fujita Y, Yamashita T. Axon growth inhibition by RhoA/ROCK in the central nervous system. *Front Neurosci.* 2014 Oct 22;8.
198. Huesa G, Baltrons MA, Gómez-Ramos P, Morán A, García A, Hidalgo J, et al. Altered distribution of RhoA in Alzheimer's disease and A β PP overexpressing mice. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2010;19(1):37–56.
199. Stankiewicz TR, Linseman DA. Rho family GTPases: Key players in neuronal development, neuronal survival, and neurodegeneration. Vol. 8, *Frontiers in Cellular Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2014.
200. Petratos S, Li QX, George AJ, Hou X, Kerr ML, Unabia SE, et al. The β -amyloid protein of Alzheimer's disease increases neuronal CRMP-2 phosphorylation by a Rho-GTP mechanism. *Brain.* 2008 Jan;131(1):90–108.
201. Bokoch GM. Biology of the p21-Activated Kinases. *Annu Rev Biochem.* 2003 Jun;72(1):743–81.
202. Shin EY, Shim ES, Lee CS, Kim HK, Kim EG. Phosphorylation of RhoGDI1 by p21-activated kinase 2 mediates basic fibroblast growth factor-stimulated neurite outgrowth in PC12 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009 Feb;379(2):384–9.
203. Wang Y, Zeng C, Li J, Zhou Z, Ju X, Xia S, et al. PAK2 Haploinsufficiency Results in Synaptic Cytoskeleton Impairment and Autism-Related Behavior. *Cell Rep.* 2018 Aug;24(8):2029–41.
204. Marlin JW, Chang YWE, Ober M, Handy A, Xu W, Jakobi R. Functional PAK-2 knockout and replacement with a caspase cleavage-deficient mutant in mice reveals differential requirements of full-length PAK-2 and caspase-activated PAK-2p34. *Mammalian Genome.* 2011 Jun 17;22(5–6):306–17.
205. Nguyen TV v., Galvan V, Huang W, Banwait S, Tang H, Zhang J, et al. Signal transduction in Alzheimer disease: p21-activated kinase signaling requires C-terminal cleavage of APP at Asp664. *J Neurochem.* 2008 Feb;104(4):1065–80.
206. Civiero L, Greggio E. PAKs in the brain: Function and dysfunction. Vol. 1864, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. Elsevier B.V.; 2018. p. 444–53.
207. Syrovatkin V, Alegre KO, Dey R, Huang XY. Regulation, Signaling, and Physiological Functions of G-Proteins. *J Mol Biol.* 2016 Sep;428(19):3850–68.
208. Petrovski S, Küry S, Myers CT, Anyane-Yeboah K, Cogné B, Bialer M, et al. Germline de Novo Mutations in GNB1 Cause Severe Neurodevelopmental Disability, Hypotonia, and Seizures. *Am J Hum Genet.* 2016 May 5;98(5):1001–10.
209. Hemati P, Revah-Politi A, Bassan H, Petrovski S, Bilancia CG, Ramsey K, et al. Refining the phenotype associated with GNB1 mutations: Clinical data on 18 newly identified patients and review of the literature. *Am J Med Genet A.* 2018 Nov 1;176(11):2259–75.
210. Martins-de-Souza D, Schmitt A, Röder R, Lebar M, Schneider-Axmann T, Falkai P, et al. Sex-specific proteome differences in the anterior cingulate cortex of schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2010 Oct;44(14):989–91.

211. Fukuda T, Hiraide T, Yamoto K, Nakashima M, Kawai T, Yanagi K, et al. Exome reports A de novo GNB2 variant associated with global developmental delay, intellectual disability, and dysmorphic features. *Eur J Med Genet.* 2020 Apr;63(4):103804.
212. Lansdon LA, Fleming EA, del Viso F, Sullivan BR, Saunders CJ. Second patient with GNB2-related neurodevelopmental disease: Further evidence for a gene-disease association. *Eur J Med Genet.* 2021 Jul;64(7):104243.
213. Fu YJ, Xiong S, Lovell MA, Lynn BC. Quantitative proteomic analysis of mitochondria in aging PS-1 transgenic mice. *Cell Mol Neurobiol.* 2009 Jul;29(5):649–64.
214. Cohn W, Melnik M, Huang C, Teter B, Chandra S, Zhu C, et al. Multi-Omics Analysis of Microglial Extracellular Vesicles From Human Alzheimer's Disease Brain Tissue Reveals Disease-Associated Signatures. *Front Pharmacol.* 2021 Dec 2;12.
215. Pang X, Zhao Y, Wang J, Zhou Q, Xu L, Kang D, et al. The Bioinformatic Analysis of the Dysregulated Genes and MicroRNAs in Entorhinal Cortex, Hippocampus, and Blood for Alzheimer's Disease. *Biomed Res Int.* 2017;2017.
216. Katona I. Molecular Composition of the Endocannabinoid System at Glutamatergic Synapses. *Journal of Neuroscience.* 2006 May 24;26(21):5628–37.
217. Ludányi A, Hu SSJ, Yamazaki M, Tanimura A, Piomelli D, Watanabe M, et al. Complementary synaptic distribution of enzymes responsible for synthesis and inactivation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol in the human hippocampus. *Neuroscience.* 2011 Feb;174:50–63.
218. Sánchez C, de Ceballos ML, Gomez del Pulgar T, Rueda D, Corbacho C, Velasco G, et al. Inhibition of glioma growth in vivo by selective activation of the CB(2) cannabinoid receptor. *Cancer Res.* 2001 Aug 1;61(15):5784–9.
219. d'Addario C, di Francesco A, Trabace L, Finazzi Agro' A, Cuomo V, Maccarrone M. Endocannabinoid signaling in Alzheimer's disease: current knowledge and future directions. *J Biol Regul Homeost Agents* [Internet]. 2013;27(2 Suppl):61–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24813316>
220. Tanvir Kabir M, Sahab Uddin M, al Mamun A, Jeandet P, Aleya L, Mansouri RA, et al. Combination drug therapy for the management of alzheimer's disease. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020.
221. Uddin MdS, al Mamun A, Kabir MdT, Ashraf GM, Bin-Jumah MN, Abdel-Daim MM. Multi-Target Drug Candidates for Multifactorial Alzheimer's Disease: AChE and NMDAR as Molecular Targets. *Mol Neurobiol* [Internet]. 2021 Jan 15;58(1):281–303. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s12035-020-02116-9>
222. Gao Y, Hu S, Zhang M, Li L, Lin Y. Simultaneous determination of four alkaloids in mice plasma and brain by LC-MS/MS for pharmacokinetic studies after administration of *Corydalis Rhizoma* and *Yuanhu Zhitong* extracts. *J Pharm Biomed Anal.* 2014 Apr 15;92:6–12.
223. Gawel K, Kukula-Koch W, Nieoczym D, Stepnik K, van der Ent W, Banono NS, et al. The Influence of Palmatine Isolated from *Berberis sibirica* Radix on Pentylene-tetrazole-Induced Seizures in Zebrafish. *Cells* [Internet]. 2020 May 16;9(5):1233. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/5/1233>
224. Dhikav V, Anand K. Hippocampus in health and disease: An overview. *Ann Indian Acad Neurol.* 2012;15(4):239.
225. Christen Y. Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr.* 2000 Feb 1;71(2):621S–629S.
226. Padurariu M, Ciobica A, Lefter R, Serban IL, Stefanescu C, Chirita R. The oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Psychiatr Danub* [Internet]. 2013 Dec;25(4):401–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24247053>
227. Gurel B, Cansev M, Sevinc C, Kelestemur S, Ocalan B, Cakir A, et al. Early stage alterations in CA1 extracellular region proteins indicate dysregulation of IL6 and iron homeostasis in the 5XFAD Alzheimer's disease mouse model. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2018;61(4):1399–410.
228. Nunomura A, Castellani RJ, Zhu X, Moreira PI, Perry G, Smith MA. Involvement of Oxidative Stress in Alzheimer Disease. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 2006 Jul;65(7):631–41. Available from: <https://academic.oup.com/jnen/article-lookup/doi/10.1097/01.jnen.0000228136.58062.bf>
229. Huang WJ, Zhang X, Chen WW. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease (review). Vol. 4, *Biomedical Reports*. Spandidos Publications; 2016. p. 519–22.

230. Miura T, Suzuki K, Kohata N, Takeuchi H. Metal Binding Modes of Alzheimer's Amyloid β -Peptide in Insoluble Aggregates and Soluble Complexes. *Biochemistry*. 2000 Jun 1;39(23):7024–31.
231. Barnham KJ, McKinstry WJ, Multhaup G, Galatis D, Morton CJ, Curtain CC, et al. Structure of the Alzheimer's Disease Amyloid Precursor Protein Copper Binding Domain. *Journal of Biological Chemistry*. 2003 May;278(19):17401–7.
232. Kozłowski H, Janicka-Kłos A, Brasun J, Gaggelli E, Valensin D, Valensin G. Copper, iron, and zinc ions homeostasis and their role in neurodegenerative disorders (metal uptake, transport, distribution and regulation). *Coord Chem Rev*. 2009 Nov;253(21–22):2665–85.
233. Valko M, Morris H, Cronin M. Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Curr Med Chem*. 2005 May 1;12(10):1161–208.
234. Strozzyk D, Launer LJ, Adlard PA, Cherny RA, Tsatsanis A, Volitakis I, et al. Zinc and copper modulate Alzheimer A β levels in human cerebrospinal fluid. *Neurobiol Aging*. 2009 Jul;30(7):1069–77.
235. Cuajungco MP, Fagét KY. Zinc takes the center stage: its paradoxical role in Alzheimer's disease. *Brain Res Rev*. 2003 Jan;41(1):44–56.
236. Pal A, Badyal RK, Vasishta RK, Attri SV, Thapa BR, Prasad R. Biochemical, Histological, and Memory Impairment Effects of Chronic Copper Toxicity: A Model for Non-Wilsonian Brain Copper Toxicosis in Wistar Rat. *Biol Trace Elem Res*. 2013 Jun 24;153(1–3):257–68.
237. Thomann PA, Schläfer C, Seidl U, Santos V dos, Essig M, Schröder J. The cerebellum in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease - a structural MRI study. *J Psychiatr Res*. 2008 Oct;42(14):1198–202.
238. dos Santos V, Thomann PA, Wüstenberg T, Seidl U, Essig M, Schröder J. Morphological cerebral correlates of CERAD test performance in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2011;23(3):411–20.
239. Baglietto-Vargas D, Sánchez-Mejias E, Navarro V, Jimenez S, Trujillo-Estrada L, Gómez-Arboledas A, et al. Dual roles of A β in proliferative processes in an amyloidogenic model of Alzheimer's disease. *Sci Rep*. 2017 Dec 30;7(1):10085.
240. Bradford HF, Docherty M, Wu JY, Cash CD, Ehret M, Maitre M, et al. The immunolysis, isolation, and properties of subpopulations of mammalian brain synaptosomes. *Neurochem Res*. 1989 Apr;14(4):301–10.
241. Robinson SR. Neuronal expression of glutamine synthetase in Alzheimer's disease indicates a profound impairment of metabolic interactions with astrocytes. *Neurochem Int*. 2000 Apr;36(4–5):471–82.
242. Burbaeva GSh, Boksha IS, Tereshkina EB, Savushkina OK, Prokhorova TA, Vorobyeva EA. Glutamate and GABA-Metabolizing Enzymes in Post-mortem Cerebellum in Alzheimer's Disease: Phosphate-Activated Glutaminase and Glutamic Acid Decarboxylase. *The Cerebellum*. 2014 Oct 21;13(5):607–15.
243. Wu T, Hallett M. The cerebellum in Parkinson's disease. *Brain*. 2013 Mar 1;136(3):696–709.
244. Mirdamadi JL. Cerebellar role in Parkinson's disease. *J Neurophysiol*. 2016 Sep 1;116(3):917–9.
245. Solstrand Dahlberg L, Lungu O, Doyon J. Cerebellar Contribution to Motor and Non-motor Functions in Parkinson's Disease: A Meta-Analysis of fMRI Findings. *Front Neurol*. 2020 Feb 27;11.
246. Flavin WP, Bousset L, Green ZC, Chu Y, Skarpathiotis S, Chaney MJ, et al. Endocytic vesicle rupture is a conserved mechanism of cellular invasion by amyloid proteins. *Acta Neuropathol*. 2017 Oct 19;134(4):629–53.
247. Shorter J. The mammalian disaggregase machinery: Hsp110 synergizes with Hsp70 and Hsp40 to catalyze protein disaggregation and reactivation in a cell-free system. *PLoS One*. 2011;6(10).
248. Yamagishi N, Yokota M, Yasuda K, Saito Y, Nagata K, Hatayama T. Characterization of stress sensitivity and chaperone activity of Hsp105 in mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 May 27;409(1):90–5.
249. Rampelt H, Kirstein-Miles J, Nillegoda NB, Chi K, Scholz SR, Morimoto RI, et al. Metazoan Hsp70 machines use Hsp110 to power protein disaggregation. *EMBO Journal*. 2012 Oct 31;31(21):4221–35.
250. Eroglu B, Moskophidis D, Mivechi NF. Loss of Hsp110 Leads to Age-Dependent Tau Hyperphosphorylation and Early Accumulation of Insoluble Amyloid β . *Mol Cell Biol*. 2010 Oct;30(19):4626–43.

251. Mattoo RUH, Sharma SK, Priya S, Finka A, Goloubinoff P. Hsp110 Is a Bona Fide Chaperone Using ATP to Unfold Stable Misfolded Polypeptides and Reciprocally Collaborate with Hsp70 to Solubilize Protein Aggregates. *Journal of Biological Chemistry*. 2013 Jul;288(29):21399–411.
252. Mao Y, Kong Q, Li R, Zhang X, Gui Y, Li Y, et al. Heat shock protein A12A encodes a novel prosurvival pathway during ischaemic stroke. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2018 May;1864(5):1862–72.
253. Madsen P, Isaksen TJ, Siupka P, Tóth AE, Nyegaard M, Gustafsen C, et al. HSPA12A targets the cytoplasmic domain and affects the trafficking of the Amyloid Precursor Protein receptor SorLA. *Sci Rep*. 2019 Dec 1;9(1).
254. Ding Q, Markesbery WR, Chen Q, Li F, Keller JN. Ribosome dysfunction is an early event in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*. 2005 Oct 5;25(40):9171–5.
255. García-Osta A, Cuadrado-Tejedor M, García-Barroso C, Oyarzábal J, Franco R. Phosphodiesterases as therapeutic targets for Alzheimer's disease. *ACS Chem Neurosci*. 2012;3(11):832–44.
256. Chowdhury UN, Islam MB, Ahmad S, Moni MA. Systems biology and bioinformatics approach to identify gene signatures, pathways and therapeutic targets of Alzheimer's disease. *Inform Med Unlocked*. 2020 Jan 1;21.
257. Rahman MR, Islam T, Turanli B, Zaman T, Faruquee HM, Rahman MM, et al. Network-based approach to identify molecular signatures and therapeutic agents in Alzheimer's disease. *Comput Biol Chem*. 2019 Feb 1;78:431–9.
258. Wang J, Ma Y, Li W, Hu F, Chen T, Shen X, et al. Study on pharmacokinetics and tissue distribution of pteryxin in mice by ultra-pressure liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*. 2012;26(7):802–7.
259. Yang YF, Xu W, Song W, Ye M, Yang XW. Transport of twelve coumarins from *Angelicae Pubescentis Radix* across a MDCK-pHaMDR cell monolayer - An in vitro model for blood-brain barrier permeability. *Molecules*. 2015;20(7):11719–32.
260. Barish GD, Evans RM. PPARs and LXRs: Atherosclerosis goes nuclear. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2004;15(4):158–65.
261. Wójtowicz S, Strosznajder AK, Jeżyna M, Strosznajder JB. The Novel Role of PPAR Alpha in the Brain: Promising Target in Therapy of Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Disorders. *Neurochem Res*. 2020 May 13;45(5):972–88.
262. Kontinen H, Gureviciene I, Oksanen M, Grubman A, Loppi S, Huuskonen MT, et al. PPAR β / δ -agonist GW0742 ameliorates dysfunction in fatty acid oxidation in PSEN1 Δ E9 astrocytes. *Glia*. 2019 Jan 1;67(1):146–59.
263. T. Heneka M, Reyes-Irisarri E, Hull M, P. Kummer M. Alzheimer's Disease, a Lipid Story: Involvement of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α . *Curr Neuroparmacol*. 2011 Dec 1;9(4):643–50.
264. Polis B, Samson AO. Role of the metabolism of branched-chain amino acids in the development of Alzheimer's disease and other metabolic disorders. *Neural Regen Res*. 2020;15(8):1460–70.
265. Tournissac M, Vandal M, Tremblay C, Bourassa P, Vancassel S, Emond V, et al. Dietary intake of branched-chain amino acids in a mouse model of Alzheimer's disease: Effects on survival, behavior, and neuropathology. *Alzheimer's and Dementia: Translational Research and Clinical Interventions*. 2018;4:677–87.
266. Muramori F, Kobayashi K, Nakamura I. A quantitative study of neurofibrillary tangles, senile plaques and astrocytes in the hippocampal subdivisions and entorhinal cortex in Alzheimer's disease, normal controls and non-Alzheimer neuropsychiatric diseases. *Psychiatry Clin Neurosci*. 1998;52(6):593–9.
267. Oeckl P, Halbgebauer S, Anderl-Straub S, Steinacker P, Hussa AM, Neugebauer H, et al. Glial fibrillary acidic protein in serum is increased in Alzheimer's disease and correlates with cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2019;67(2):481–8.
268. Porchet R, Probst A, Bouras C, Dráberová E, Dráber P, Riederer BM. Analysis of glial acidic fibrillary protein in the human entorhinal cortex during aging and in Alzheimer's disease. *Proteomics*. 2003;3(8):1476–85.

8 EKLER

EK 1

Bileşik uygulaması sonrasında korteks, hipokampus ya da serebellum bölgelerinde LC-MS/MS ile anlamlı ifade farklılıkları tespit edilen proteinlerin listeleri.

Tablo 11. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla korteks bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q61207	Prosaposin	4	0,000	0,003	7,78
P08226	Apolipoprotein E	24	0,000	0,003	5,72
P03995	Glial fibrillary acidic protein	39	0,000	0,000	5,42
P56565	Protein S100-A1	3	0,035	0,030	4,71
P12023	Amyloid-beta A4 protein	10	0,000	0,000	4,52
Q60767	Lymphocyte antigen 75	4	0,001	0,006	3,33
P14106	Complement C1q subcomponent subunit B	3	0,000	0,003	3,32
Q3UGR5	Haloacid dehalogenase-like hydrolase domain-containing protein 2	3	0,002	0,007	3,28
Q91XU3	Phosphatidylinositol 5-phosphate 4-kinase type-2 gamma	3	0,019	0,020	2,97
Q64133	Amine oxidase [flavin-containing] A	4	0,013	0,016	2,90
O08914	Fatty-acid amide hydrolase 1	3	0,011	0,015	2,76
Q61425	Hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase_mt	5	0,002	0,007	2,68
Q06890	Clusterin	9	0,000	0,003	2,64
Q60625	Intercellular adhesion molecule 5	4	0,001	0,006	2,47
Q9CQ92	Mitochondrial fission 1 protein	4	0,009	0,013	2,46
Q99NH0	Ankyrin repeat domain-containing protein 17	4	0,008	0,013	2,43
P98086	Complement C1q subcomponent subunit A	3	0,001	0,005	2,43
Q02105	Complement C1q subcomponent subunit C	4	0,000	0,000	2,43
P48318	Glutamate decarboxylase 1	4	0,001	0,004	2,33
P20152	Vimentin	23	0,000	0,003	2,25
Q501J6	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX17	8	0,001	0,005	2,08
A2AL36	Centriolin	4	0,005	0,010	2,06
Q9R0N5	Synaptotagmin-5	3	0,032	0,029	2,01
P20060	Beta-hexosaminidase subunit beta	6	0,001	0,006	1,99
Q9CWJ9	Bifunctional purine biosynthesis protein ATIC	7	0,001	0,005	1,97

Tablo 11. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla korteks bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

P52760	2-iminobutanoate/2-iminopropanoate deaminase	7	0,001	0,004	1,94
Q7TN37	Transient receptor potential cation channel subfamily M member 4	3	0,041	0,034	1,92
P16054	Protein kinase C epsilon type	4	0,024	0,024	1,86
P18242	Cathepsin D	10	0,001	0,005	1,86
Q5PR73	GTP-binding protein Di-Ras2	5	0,033	0,030	1,83
P35762	CD81 antigen	3	0,007	0,011	1,78
P51174	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_mt	8	0,014	0,017	1,74
P32067	Lupus La protein homolog	3	0,041	0,034	1,74
P20444	Protein kinase C alpha type	3	0,020	0,021	1,73
P21619	Lamin-B2	7	0,039	0,033	1,72
P07724	Albumin	20	0,002	0,007	1,72
Q8R5M8	Cell adhesion molecule 1	6	0,001	0,005	1,71
P10605	Cathepsin B	5	0,006	0,010	1,70
Q8BHC1	Ras-related protein Rab-39B	3	0,006	0,011	1,66
Q91YQ5	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 1	11	0,000	0,004	1,66
P85094	Isochorismatase domain-containing protein 2A	4	0,002	0,007	1,66
Q8BWT1	3-ketoacyl-CoA thiolase_mt	9	0,023	0,023	1,65
P99028	Cytochrome b-c1 complex subunit 6_mt	3	0,008	0,013	1,63
Q9WTL7	Acyl-protein thioesterase 2	4	0,009	0,013	1,62
O08709	Peroxiredoxin-6	20	0,002	0,006	1,60
Q9CW03	Structural maintenance of chromosomes protein 3	3	0,008	0,013	1,60
Q8BG32	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 11	3	0,001	0,004	1,57
P62082	40S ribosomal protein S7	4	0,048	0,037	1,56
D3YXG0	Hemicentin-1	10	0,015	0,018	1,55
Q8K406	Leucine-rich repeat LGI family member 3	3	0,038	0,033	1,53
P24472	Glutathione S-transferase A4	4	0,002	0,007	1,52
O88643	Serine/threonine-protein kinase PAK 1	5	0,032	0,029	1,52
Q99L04	Dehydrogenase/reductase SDR family member 1	3	0,002	0,007	1,51
P49442	Inositol polyphosphate 1-phosphatase	3	0,037	0,032	1,51
Q80UW2	F-box only protein 2	4	0,039	0,033	1,51
E9Q555	E3 ubiquitin-protein ligase RNF213	12	0,032	0,029	1,50
Q8JZP2	Synapsin-3	5	0,013	0,016	1,50
O88685	26S proteasome regulatory subunit 6A	12	0,025	0,024	1,49
Q9DBG6	Dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycosyltransferase subunit 2	3	0,039	0,033	1,48
Q8JZQ2	AFG3-like protein 2	3	0,003	0,008	1,47

Tablo 11. 5xFAD’ın ALM grubuna kıyasla korteks bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

Q61035	Histidine--tRNA ligase_ cytoplasmic	3	0,043	0,035	1,45
P70403	Protein CASP	5	0,047	0,037	1,45
Q9CQE8	RNA transcription_ translation and transport factor protein	7	0,005	0,010	1,44
Q80TZ3	Putative tyrosine-protein phosphatase auxilin	12	0,012	0,016	1,43
Q9QXX4	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar2	7	0,000	0,003	1,42
Q9JLC8	Sacsin	13	0,001	0,005	1,42
O08756	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	5	0,004	0,010	1,42
Q99LR1	Lysophosphatidylserine lipase ABHD12	4	0,017	0,019	1,40
P15508	Spectrin beta chain_ erythrocytic	15	0,038	0,032	1,40
Q63810	Calcineurin subunit B type 1	9	0,016	0,018	1,40
Q99JB2	Stomatin-like protein 2_mt	6	0,001	0,006	1,39
P52196	Thiosulfate sulfurtransferase	7	0,001	0,004	1,39
Q91VC3	Eukaryotic initiation factor 4A-III	5	0,033	0,029	1,36
Q9JKR6	Hypoxia up-regulated protein 1	6	0,045	0,036	1,36
Q69Z23	Dynein heavy chain 17_ axonemal	7	0,009	0,014	1,36
Q91X97	Neurocalcin-delta	3	0,008	0,013	1,36
P67871	Casein kinase II subunit beta	3	0,011	0,015	1,35
Q8CAY6	Acetyl-CoA acetyltransferase_ cytosolic	6	0,004	0,009	1,35
P48036	Annexin A5	15	0,002	0,006	1,35
Q62433	Protein NDRG1	4	0,008	0,013	1,35
Q64727	Vinculin	5	0,002	0,007	1,34
Q925I1	ATPase family AAA domain-containing protein 3	5	0,000	0,004	1,34
Q9CPY7	Cytosol aminopeptidase	8	0,003	0,008	1,34
Q9DCV7	Keratin_ type II cytoskeletal 7	4	0,003	0,008	1,33
Q91ZJ5	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	6	0,034	0,030	1,32
Q8BHZ0	CYFIP-related Rac1 interactor A	6	0,005	0,010	1,32
P13020	Gelsolin	5	0,044	0,035	1,31
P12382	ATP-dependent 6-phosphofructokinase_ liver type	5	0,039	0,033	-1,30
P47757	F-actin-capping protein subunit beta	10	0,000	0,003	-1,30
P23506	Protein-L-isoaspartate(D-aspartate) O-methyltransferase	10	0,008	0,013	-1,30
Q9CQC7	NADH dehydrogenase[ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 4	4	0,003	0,007	-1,30
Q9QXS6	Drebrin	14	0,000	0,003	-1,30
Q9D6M3	Mitochondrial glutamate carrier 1	10	0,003	0,008	-1,31
Q4KMM3	Oxidation resistance protein 1	20	0,006	0,011	-1,31
P07901	Heat shock protein HSP 90-alpha	22	0,002	0,007	-1,31
Q9CVB6	Actin-related protein 2/3 complex subunit 2	10	0,011	0,015	-1,31
P14152	Malate dehydrogenase_ cytoplasmic	18	0,010	0,014	-1,31

Tablo 11. 5xFAD’ın ALM grubuna kıyasla korteks bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

Q9QUI0	Transforming protein RhoA	6	0,009	0,013	-1,31
Q9DCW4	Electron transfer flavoprotein subunit beta	7	0,009	0,013	-1,31
P84091	AP-2 complex subunit mu	18	0,007	0,012	-1,31
P51863	V-type proton ATPase subunit d 1	12	0,001	0,006	-1,31
Q9CQV8	14-3-3 protein beta/alpha	6	0,014	0,017	-1,31
Q9CR95	Adaptin ear-binding coat-associated protein 1	5	0,004	0,009	-1,31
P70296	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	15	0,025	0,024	-1,31
Q06185	ATP synthase subunit e_mt	5	0,008	0,013	-1,31
Q8BJU0	Small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein alpha	3	0,044	0,035	-1,31
P11499	Heat shock protein HSP 90-beta	19	0,003	0,007	-1,31
P68372	Tubulin beta-4B chain	3	0,024	0,023	-1,31
P10637	Microtubule-associated protein tau	19	0,002	0,006	-1,31
P62821	Ras-related protein Rab-1A	8	0,009	0,014	-1,32
P31938	Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 1	8	0,032	0,029	-1,32
Q9JLB0	MAGUK p55 subfamily member 6	5	0,000	0,003	-1,33
P63037	DnaJ homolog subfamily A member 1	4	0,011	0,015	-1,33
Q8VHH5	Arf-GAP with GTPase_ ANK repeat and PH domain-containing protein 3	5	0,018	0,020	-1,33
Q99KX1	Myeloid leukemia factor 2	3	0,013	0,016	-1,33
Q8CHC4	Synaptojanin-1	37	0,000	0,003	-1,33
P62806	Histone H4	10	0,026	0,025	-1,34
Q8K0U4	Heat shock 70 kDa protein 12A	16	0,001	0,005	-1,34
P28663	Beta-soluble NSF attachment protein	13	0,006	0,011	-1,34
Q9Z2Q6	Septin-5	18	0,003	0,008	-1,34
Q9Z2H5	Band 4,1-like protein 1	17	0,001	0,006	-1,34
P62137	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-alpha catalytic subunit	3	0,012	0,015	-1,34
Q9CXZ1	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 4_mt	4	0,006	0,011	-1,34
Q9DB77	Cytochrome b-c1 complex subunit 2_mt	23	0,002	0,007	-1,34
Q9JIA1	Leucine-rich glioma-inactivated protein 1	10	0,006	0,011	-1,34
P68368	Tubulin alpha-4A chain	7	0,001	0,006	-1,34
Q9Z1G4	V-type proton ATPase 116 kDa subunit a1	21	0,001	0,005	-1,34
P68254	14-3-3 protein theta	12	0,009	0,013	-1,34
P16125	L-lactate dehydrogenase B chain	23	0,003	0,008	-1,34
P62141	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-beta catalytic subunit	4	0,003	0,008	-1,34
P62259	14-3-3 protein epsilon	17	0,000	0,003	-1,35

Tablo 11. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla korteks bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

O88569	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	12	0,004	0,009	-1,35
Q9D2G2	Dihydropyridyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex_mt	10	0,016	0,018	-1,35
P61750	ADP-ribosylation factor 4	3	0,019	0,020	-1,35
Q60864	Stress-induced-phosphoprotein 1	17	0,012	0,015	-1,35
P63017	Heat shock cognate 71 kDa protein	28	0,002	0,006	-1,36
P59999	Actin-related protein 2/3 complex subunit 4	6	0,000	0,003	-1,36
P48771	Cytochrome c oxidase subunit 7A2_mt	5	0,001	0,005	-1,36
O88935	Synapsin-1	26	0,001	0,005	-1,36
P19783	Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1_mt	14	0,007	0,012	-1,36
O35658	Complement component 1 Q subcomponent-binding protein_mt	4	0,027	0,026	-1,37
Q6IRU5	Clathrin light chain B	8	0,006	0,011	-1,37
P01831	Thy-1 membrane glycoprotein	5	0,001	0,005	-1,37
O35381	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member A	3	0,023	0,023	-1,38
Q60932	Voltage-dependent anion-selective channel protein 1	19	0,000	0,002	-1,38
Q5DU25	IQ motif and SEC7 domain-containing protein 2	3	0,027	0,025	-1,38
Q62425	Cytochrome c oxidase subunit NDUFA4	7	0,004	0,009	-1,38
Q07076	Annexin A7	9	0,003	0,008	-1,38
Q8CGN4	BCL-6 corepressor	4	0,005	0,010	-1,39
Q63912	Oligodendrocyte-myelin glycoprotein	9	0,003	0,008	-1,39
Q9Z1P6	NADH dehydrogenase[ubiquinone]1 alpha subcomplex subunit7	4	0,002	0,007	-1,39
P47708	Rabphilin-3A	14	0,003	0,008	-1,39
O88990	Alpha-actinin-3	4	0,001	0,005	-1,39
Q64475	Histone H2B type 1-B	7	0,019	0,020	-1,39
Q8K0T0	Reticulon-1	19	0,003	0,008	-1,40
Q60931	Voltage-dependent anion-selective channel protein 3	9	0,010	0,014	-1,40
Q9JKC6	Cell cycle exit and neuronal differentiation protein 1	6	0,016	0,018	-1,40
P63011	Ras-related protein Rab-3A	6	0,000	0,002	-1,40
P62827	GTP-binding nuclear protein Ran	9	0,002	0,006	-1,41
P19253	60S ribosomal protein L13a	5	0,004	0,009	-1,41
Q62420	Endophilin-A1	9	0,001	0,005	-1,41
G5E829	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 1	14	0,004	0,009	-1,41
Q9Z1G3	V-type proton ATPase subunit C 1	16	0,006	0,011	-1,41
O35526	Syntaxin-1A	11	0,001	0,005	-1,41

Tablo 11. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla korteks bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

Q8R001	Microtubule-associated protein RP/EB family member 2	3	0,020	0,021	-1,41
Q6PIC6	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3	36	0,003	0,008	-1,42
Q80UG2	Plexin-A4	3	0,036	0,031	-1,42
Q9R0P9	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L1	12	0,001	0,005	-1,43
P11404	Fatty acid-binding protein_ heart	4	0,002	0,006	-1,44
Q8VD37	SH3-containing GRB2-like protein 3-interacting protein 1	11	0,004	0,009	-1,44
Q99PU5	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase ACSBG1	6	0,012	0,015	-1,44
P63321	Ras-related protein Ral-A	4	0,002	0,006	-1,44
Q922S4	cGMP-dependent 3'_5'-cyclic phosphodiesterase	20	0,010	0,014	-1,44
Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	11	0,008	0,013	-1,44
Q91VR2	ATP synthase subunit gamma_mt	14	0,002	0,007	-1,45
P46097	Synaptotagmin-2	7	0,003	0,008	-1,45
Q9R1T4	Septin-6	8	0,000	0,003	-1,46
Q3TXX4	Vesicular glutamate transporter 1	5	0,001	0,006	-1,46
Q9D0L8	mRNA cap guanine-N7 methyltransferase	5	0,002	0,007	-1,46
Q6PDM2	Serine/arginine-rich splicing factor 1	4	0,009	0,014	-1,47
Q8VEM8	Phosphate carrier protein_mt	19	0,011	0,015	-1,47
P61982	14-3-3 protein gamma	9	0,004	0,009	-1,48
P31254	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1 Y	3	0,017	0,019	-1,48
O89112	Glutathione S-transferase LANCL1	4	0,000	0,003	-1,48
P37804	Transgelin	4	0,001	0,005	-1,48
P61264	Syntaxin-1B	14	0,002	0,007	-1,49
Q9JIS5	Synaptic vesicle glycoprotein 2A	12	0,008	0,013	-1,49
Q9QYJ0	DnaJ homolog subfamily A member 2	7	0,001	0,005	-1,49
Q9CR68	Cytochrome b-c1 complex subunit Rieske_mt	11	0,000	0,003	-1,50
P06151	L-lactate dehydrogenase A chain	19	0,000	0,003	-1,50
Q91WS0	CDGSH iron-sulfur domain-containing protein 1	6	0,004	0,009	-1,51
P46638	Ras-related protein Rab-11B	5	0,001	0,005	-1,51
Q9CX34	Protein SGT1 homolog	3	0,014	0,017	-1,51
Q9D7G0	Ribose-phosphate pyrophosphokinase 1	3	0,004	0,009	-1,52
O08599	Syntaxin-binding protein 1	43	0,000	0,003	-1,52
Q6PHN9	Ras-related protein Rab-35	9	0,015	0,018	-1,52
Q80YT7	Myomegalin	8	0,007	0,012	-1,52
Q99JY8	Phospholipid phosphatase 3	3	0,027	0,026	-1,53
P26645	Myristoylated alanine-rich C-kinase substrate	5	0,001	0,005	-1,53
Q8BG05	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3	17	0,001	0,005	-1,53
P51881	ADP/ATP translocase 2	4	0,005	0,010	-1,54
Q6NXX7	Inactive dipeptidyl peptidase 10	5	0,001	0,006	-1,54

Tablo 11. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla korteks bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi(devam)

Q61644	Protein kinase C and casein kinase substrate in neurons protein1	22	0,000	0,002	-1,54
Q64324	Syntaxin-binding protein 2	3	0,009	0,013	-1,56
O55042	Alpha-synuclein	8	0,009	0,013	-1,56
Q8R191	Synaptogyrin-3	3	0,000	0,002	-1,56
P62881	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-5	4	0,000	0,003	-1,57
Q791T5	Mitochondrial carrier homolog 1	3	0,003	0,008	-1,57
Q8R5J9	PRA1 family protein 3	3	0,000	0,003	-1,57
P26883	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP1A	4	0,004	0,009	-1,58
Q9CR61	NADH dehydrogenase[ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 7	4	0,001	0,006	-1,58
P63040	Complexin-1	3	0,004	0,009	-1,59
Q9Z0H4	CUGBP Elav-like family member 2	4	0,000	0,003	-1,59
P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A_mt	8	0,000	0,004	-1,60
P50153	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-4	3	0,008	0,013	-1,60
Q8R1Q8	Cytoplasmic dynein 1 light intermediate chain 1	9	0,002	0,007	-1,60
Q8BLQ9	Cell adhesion molecule 2	8	0,003	0,008	-1,61
Q64433	10 kDa heat shock protein_mt	6	0,010	0,014	-1,61
Q78IK2	ATP synthase membrane subunit DAPIT_mt	3	0,001	0,005	-1,62
Q9D8Y0	EF-hand domain-containing protein D2	9	0,009	0,013	-1,62
Q5ND29	Rab-interacting lysosomal protein	4	0,000	0,003	-1,63
Q62283	Tetraspanin-7	4	0,011	0,015	-1,63
Q8JZW4	Copine-5	5	0,001	0,006	-1,66
P62071	Ras-related protein R-Ras2	3	0,000	0,003	-1,67
Q80VP1	Epsin-1	4	0,006	0,011	-1,69
E9Q4F7	Ankyrin repeat domain-containing protein 11	6	0,006	0,011	-1,69
P21279	Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha	11	0,000	0,003	-1,71
P48962	ADP/ATP translocase 1	11	0,001	0,006	-1,72
Q60870	Receptor expression-enhancing protein 5	4	0,002	0,006	-1,73
P62743	AP-2 complex subunit sigma	5	0,001	0,006	-1,75
P11103	Poly [ADP-ribose] polymerase 1	3	0,001	0,005	-1,75
P63213	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-2	8	0,002	0,006	-1,76
Q61387	Cytochrome c oxidase subunit 7A-related protein_mt	3	0,000	0,003	-1,76
Q91XV3	Brain acid soluble protein 1	19	0,000	0,003	-1,76
Q9DC70	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 7_mt	3	0,001	0,005	-1,76
P34884	Macrophage migration inhibitory factor	3	0,018	0,020	-1,78

Tablo 11. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla korteks bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

P06837	Neuromodulin	5	0,006	0,011	-1,79
O08585	Clathrin light chain A	5	0,004	0,009	-1,81
P35803	Neuronal membrane glycoprotein M6-b	5	0,001	0,005	-1,83
P56382	ATP synthase subunit epsilon_mt	3	0,001	0,005	-1,85
P19536	Cytochrome c oxidase subunit 5B_mt	4	0,001	0,005	-1,85
P35802	Neuronal membrane glycoprotein M6-a	6	0,001	0,005	-1,89
O35382	Exocyst complex component 4	3	0,002	0,007	-1,90
P09528	Ferritin heavy chain	12	0,001	0,005	-1,90
P39054	Dynamin-2	5	0,001	0,004	-1,98
Q9CR16	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D	7	0,022	0,022	-2,01
Q9D3D9	ATP synthase subunit delta_mt	3	0,000	0,003	-2,05
P97412	Lysosomal-trafficking regulator	4	0,012	0,016	-2,05
P97450	ATP synthase-coupling factor 6_mt	6	0,002	0,006	-2,08
P60904	DnaJ homolog subfamily C member 5	3	0,013	0,016	-2,12
Q8CGK7	Guanine nucleotide-binding protein G(olf) subunit alpha	5	0,014	0,017	-2,41
B2RQC6	CAD protein	3	0,016	0,018	-2,43

Tablo 12. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla hipokampus bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
P08226	Apolipoprotein E	20	0,000	0,000	8,88
P03995	Glial fibrillary acidic protein	37	0,000	0,001	6,14
P12023	Amyloid-beta A4 protein	14	0,000	0,000	5,79
P20060	Beta-hexosaminidase subunit beta	5	0,000	0,001	5,32
Q9EPJ9	ADP-ribosylation factor GTPase-activating protein 1	4	0,000	0,003	4,96
P14106	Complement C1q subcomponent subunit B	5	0,001	0,007	4,91
P12025	Midkine	4	0,000	0,004	4,80
P20152	Vimentin	27	0,000	0,003	4,58
Q06890	Clusterin	12	0,000	0,003	4,14
Q02105	Complement C1q subcomponent subunit C	3	0,000	0,004	3,35
P52760	2-iminobutanoate/2-iminopropanoate deaminase	6	0,000	0,002	2,75
Q61425	Hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase_mt	3	0,007	0,018	2,51
Q8VE33	Ganglioside-induced differentiation-associated protein 1-like 1	3	0,012	0,025	2,39
Q8BLF1	Neutral cholesterol ester hydrolase 1	6	0,001	0,007	2,38
P21460	Cystatin-C	3	0,000	0,002	2,31
Q9R1T2	SUMO-activating enzyme subunit 1	3	0,000	0,004	2,30

Tablo 12. 5xFAD’ın ALM grubuna kıyasla hipokampus bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

P18242	Cathepsin D	9	0,001	0,006	2,15
O08709	Peroxiredoxin-6	21	0,000	0,005	2,14
Q9D1K2	V-type proton ATPase subunit F	3	0,006	0,017	2,10
Q9DAW9	Calponin-3	7	0,001	0,009	2,04
P10605	Cathepsin B	7	0,001	0,005	2,00
P55088	Aquaporin-4	3	0,001	0,007	1,98
P98086	Complement C1q subcomponent subunit A	4	0,006	0,017	1,97
Q99L04	Dehydrogenase/reductase SDR family member 1	4	0,003	0,013	1,89
Q9QXY6	EH domain-containing protein 3	8	0,001	0,008	1,86
P29758	Ornithine aminotransferase_mt	3	0,003	0,012	1,84
P31786	Acyl-CoA-binding protein	3	0,003	0,012	1,82
P51880	Fatty acid-binding protein_brain	4	0,000	0,004	1,76
P35283	Ras-related protein Rab-12	3	0,011	0,024	1,71
P48036	Annexin A5	12	0,006	0,017	1,68
P23242	Gap junction alpha-1 protein	7	0,000	0,003	1,68
Q9D1A2	Cytosolic non-specific dipeptidase	9	0,000	0,003	1,61
Q9DCN2	NADH-cytochrome b5 reductase 3	8	0,000	0,004	1,58
P26040	Ezrin	8	0,000	0,003	1,58
P57780	Alpha-actinin-4	16	0,000	0,005	1,53
Q00612	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase X	3	0,008	0,019	1,53
Q91VK4	Integral membrane protein 2C	4	0,016	0,030	1,53
P70202	Latexin	4	0,001	0,008	1,50
P35700	Peroxiredoxin-1	8	0,000	0,003	1,48
P10711	Transcription elongation factor A protein 1	3	0,033	0,046	1,48
P52196	Thiosulfate sulfurtransferase	7	0,001	0,005	1,47
P13020	Gelsolin	4	0,000	0,004	1,46
Q8R3P0	Aspartoacylase	3	0,015	0,028	1,45
Q9WV18	Gamma-aminobutyric acid type B receptor subunit 1	3	0,035	0,047	1,45
O35874	Neutral amino acid transporter A	7	0,000	0,001	1,43
Q08642	Protein-arginine deiminase type-2	4	0,000	0,004	1,43
Q8VCW8	Medium-chain acyl-CoA ligase ACSF2_mt	3	0,014	0,027	1,43
Q5EBJ4	Ermin	5	0,001	0,007	1,42
Q9CS84	Neurexin-1	5	0,010	0,022	1,40
Q9CPY7	Cytosol aminopeptidase	12	0,002	0,010	1,40
E9Q309	Centrosome-associated protein 350	6	0,002	0,011	1,39
Q99K85	Phosphoserine aminotransferase	6	0,002	0,010	1,39
Q63912	Oligodendrocyte-myelin glycoprotein	11	0,000	0,001	1,38
Q8CAY6	Acetyl-CoA acetyltransferase_cytosolic	7	0,013	0,026	1,38

Tablo 12. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla hipokampus bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

Q810U4	Neuronal cell adhesion molecule	18	0,001	0,006	1,37
Q925N0	Sideroflexin-5	6	0,001	0,006	1,37
Q9CQ62	2_4-dienoyl-CoA reductase_mt	3	0,012	0,025	1,37
Q6R891	Neurabin-2	6	0,000	0,004	1,36
Q00493	Carboxypeptidase E	7	0,001	0,007	1,36
Q6X893	Choline transporter-like protein 1	7	0,017	0,031	1,36
Q62465	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog	4	0,007	0,019	1,35
Q6P1F6	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 55 kDa regulatory	5	0,003	0,013	1,35
P19096	Fatty acid synthase	29	0,000	0,003	1,35
P09103	Protein disulfide-isomerase	11	0,001	0,006	1,35
P80313	T-complex protein 1 subunit eta	14	0,021	0,034	1,35
Q91ZB0	Alpha-protein kinase 2	3	0,005	0,015	1,34
Q8R0Y6	Cytosolic 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase	19	0,014	0,027	1,34
O88343	Electrogenic sodium bicarbonate cotransporter 1	11	0,005	0,015	1,34
P26041	Moesin	5	0,000	0,004	1,34
Q9ER00	Syntaxin-12	3	0,004	0,014	1,34
Q05816	Fatty acid-binding protein 5	5	0,002	0,010	1,34
P10649	Glutathione S-transferase Mu 1	11	0,002	0,010	1,33
P55264	Adenosine kinase	5	0,001	0,007	1,33
P19157	Glutathione S-transferase P 1	7	0,000	0,002	1,33
P50580	Proliferation-associated protein 2G4	3	0,002	0,010	1,33
Q91ZJ5	UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase	7	0,001	0,007	1,32
P24369	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	6	0,000	0,005	1,32
O88844	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	11	0,002	0,011	1,31
P35980	60S ribosomal protein L18	3	0,003	0,013	1,31
Q60692	Proteasome subunit beta type-6	6	0,004	0,015	1,31
Q9CR57	60S ribosomal protein L14	4	0,003	0,013	1,31
Q91XV3	Brain acid soluble protein 1	19	0,003	0,013	-1,31
Q9R1V6	Disintegrin and metalloproteinase domaincontaining protein22	3	0,004	0,013	-1,32
Q641P0	Actin-related protein 3B	7	0,010	0,023	-1,33
Q8K0U4	Heat shock 70 kDa protein 12A	20	0,001	0,008	-1,35
Q9DB16	Calcium-binding protein 39-like	3	0,026	0,040	-1,35
P06837	Neuromodulin	5	0,002	0,011	-1,36
Q80Z24	Neuronal growth regulator 1	3	0,001	0,008	-1,36
Q8R366	Immunoglobulin superfamily member 8	8	0,000	0,004	-1,37
Q61548	Clathrin coat assembly protein AP180	15	0,001	0,007	-1,39
O54983	Ketimine reductase mu-crystallin	12	0,038	0,050	-1,40
Q61735	Leukocyte surface antigen CD47	4	0,003	0,012	-1,42

Tablo 12. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla hipokampus bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

P97797	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1	11	0,007	0,018	-1,47
P47806	Zinc finger protein GLI1	3	0,012	0,025	-1,49
Q9ERD7	Tubulin beta-3 chain	7	0,000	0,004	-1,52
Q9QYS2	Metabotropic glutamate receptor 3	5	0,005	0,016	-1,53
Q9WUC3	Lymphocyte antigen 6H	5	0,001	0,006	-1,53
Q7M6Y5	Deuterosome assembly protein 1	3	0,014	0,027	-1,61
Q9Z2W9	Glutamate receptor 3	7	0,002	0,009	-1,72
Q61387	Cytochrome c oxidase subunit 7A-related protein_mt	4	0,030	0,043	-2,40
Q99JR1	Sideroflexin-1	6	0,000	0,002	-3,06

Tablo 13. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q9JMF3	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-13	3	0,000	0,001	5,46
Q62108	Disks large homolog 4	10	0,042	0,018	2,20
Q91V17	Ribonuclease inhibitor	3	0,001	0,001	2,06
O70435	Proteasome subunit alpha type-3	3	0,022	0,011	1,93
P62320	Small nuclear ribonucleoprotein Sm D3	3	0,002	0,002	1,88
Q9JMG7	Hepatoma-derived growth factor-related protein 3	3	0,002	0,003	1,86
Q8C996	Transmembrane protein 163	3	0,003	0,003	1,73
Q9D819	Inorganic pyrophosphatase	4	0,003	0,003	1,71
P52503	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 6_mt	4	0,000	0,001	1,69
E9Q3E1	Aldehyde dehydrogenase family 3 member B2	3	0,028	0,013	1,69
Q9Z331	Keratin_type II cytoskeletal 6B	5	0,015	0,008	1,67
Q9QZ06	Toll-interacting protein	4	0,001	0,002	1,64
P23198	Chromobox protein homolog 3	4	0,000	0,001	1,63
Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa_mt	5	0,032	0,015	1,51
P03995	Glial fibrillary acidic protein	20	0,004	0,004	1,47
P20152	Vimentin	24	0,004	0,004	1,45
Q3V3R1	Monofunctional C1-tetrahydrofolate synthase_mt	3	0,000	0,001	1,44
Q8R326	Paraspeckle component 1	4	0,007	0,005	1,44
P50149	Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-2	3	0,021	0,011	1,42
P28352	DNA-(apurinic or apyrimidinic site) endonuclease	4	0,022	0,011	1,40
P43276	Histone H1,5	3	0,002	0,002	1,39

Tablo 13. 5xFAD’ın ALM grubuna kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

Q8CDN6	Thioredoxin-like protein 1	5	0,004	0,003	1,39
O08810	116 kDa U5 small nuclear ribonucleoprotein component	5	0,000	0,001	1,39
Q921M3	Splicing factor 3B subunit 3	3	0,003	0,003	1,38
P54823	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX6	4	0,001	0,002	1,37
O88487	Cytoplasmic dynein 1 intermediate chain 2	5	0,002	0,002	1,35
Q91VR5	ATP-dependent RNA helicase DDX1	3	0,015	0,008	1,35
P47962	60S ribosomal protein L5	3	0,034	0,015	1,35
C0HKE6	Histone H2A type 1-I	4	0,000	0,001	1,32
A3KGB4	TBC1 domain family member 8B	3	0,033	0,015	1,31
Q99JR1	Sideroflexin-1	4	0,004	0,003	1,30
Q9WVL0	Maleylacetoacetate isomerase	3	0,013	0,008	1,30
P12960	Contactin-1	24	0,004	0,004	-1,30
Q99LC5	Electron transfer flavoprotein subunit alpha_mt	9	0,000	0,001	-1,30
Q99KB8	Hydroxyacylglutathione hydrolase_mt	3	0,026	0,012	-1,30
Q9DCZ4	MICOS complex subunit Mic26	3	0,013	0,008	-1,30
Q9WTX5	S-phase kinase-associated protein 1	6	0,004	0,003	-1,30
Q9D6J6	NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 2_mt	10	0,008	0,005	-1,30
P01831	Thy-1 membrane glycoprotein	4	0,008	0,006	-1,30
P30416	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP4	5	0,020	0,010	-1,30
Q9CRC9	Glucosamine-6-phosphate isomerase 2	4	0,001	0,001	-1,30
Q61166	Microtubule-associated protein RP/EB family member 1	3	0,015	0,009	-1,30
P63213	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-2	4	0,004	0,004	-1,30
Q61598	Rab GDP dissociation inhibitor beta	13	0,001	0,002	-1,31
Q03265	ATP synthase subunit alpha_mt	37	0,001	0,002	-1,31
Q78IK2	ATP synthase membrane subunit DAPIT_mt	3	0,000	0,001	-1,31
Q920I9	WD repeat-containing protein 7	5	0,002	0,002	-1,31
Q02248	Catenin beta-1	7	0,038	0,017	-1,31
P35980	60S ribosomal protein L18	3	0,008	0,006	-1,31
Q91WQ3	Tyrosine--tRNA ligase_ cytoplasmic	8	0,016	0,009	-1,31
Q9QXZ0	Microtubule-actin cross-linking factor 1	10	0,013	0,008	-1,31
Q99JY9	Actin-related protein 3	8	0,002	0,002	-1,32
P11499	Heat shock protein HSP 90-beta	17	0,002	0,003	-1,32
P35279	Ras-related protein Rab-6A	3	0,015	0,008	-1,32
O70251	Elongation factor 1-beta	3	0,004	0,003	-1,32
P28651	Carbonic anhydrase-related protein	8	0,005	0,004	-1,32
P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	11	0,001	0,002	-1,32
P19783	Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1_mt	9	0,000	0,001	-1,32

Tablo 13. 5xFAD’ın ALM grubuna kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

Q9WTT4	V-type proton ATPase subunit G 2	6	0,002	0,002	-1,32
P62761	Visinin-like protein 1	12	0,003	0,003	-1,32
P30275	Creatine kinase U-type_mt	18	0,002	0,002	-1,32
Q9QYB5	Gamma-adducin	8	0,000	0,001	-1,32
P12970	60S ribosomal protein L7a	3	0,002	0,002	-1,33
Q62465	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog	4	0,002	0,002	-1,33
P35700	Peroxiredoxin-1	9	0,001	0,001	-1,33
P05064	Fructose-bisphosphate aldolase A	28	0,000	0,001	-1,33
Q9CPU0	Lactoylglutathione lyase	7	0,023	0,011	-1,33
Q9CRB6	Tubulin polymerization-promoting protein family member 3	3	0,017	0,009	-1,33
P35293	Ras-related protein Rab-18	6	0,003	0,003	-1,33
Q99KI0	Aconitate hydratase_mt	40	0,001	0,001	-1,33
Q9CQA3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit_mt	9	0,000	0,000	-1,33
Q9Z0S1	3'(2')_5'-bisphosphate nucleotidase 1	5	0,026	0,012	-1,33
P47708	Rabphilin-3A	14	0,018	0,010	-1,33
P58281	Dynamin-like 120 kDa protein_mt	19	0,009	0,006	-1,33
Q91VR2	ATP synthase subunit gamma_mt	6	0,011	0,007	-1,33
Q8BWF0	Succinate-semialdehyde dehydrogenase_mt	16	0,000	0,000	-1,33
Q8BMF4	Dihydrolypyllysine-residue acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex_mt	11	0,000	0,001	-1,33
Q6ZWQ0	Nesprin-2	14	0,034	0,016	-1,33
P46660	Alpha-internexin	22	0,010	0,006	-1,33
P63017	Heat shock cognate 71 kDa protein	31	0,000	0,001	-1,33
P40142	Transketolase	20	0,003	0,003	-1,34
Q3UUI3	Acyl-coenzyme A thioesterase THEM4	3	0,048	0,020	-1,34
P80317	T-complex protein 1 subunit zeta	10	0,000	0,001	-1,34
P61982	14-3-3 protein gamma	9	0,006	0,004	-1,34
O35963	Ras-related protein Rab-33B	3	0,045	0,019	-1,34
P68033	Actin_ alpha cardiac muscle 1	6	0,001	0,002	-1,34
Q9DBJ1	Phosphoglycerate mutase 1	15	0,000	0,001	-1,34
Q9JJK2	LanC-like protein 2	8	0,025	0,012	-1,34
Q6PIE5	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-2	30	0,002	0,003	-1,34
P21278	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11	8	0,002	0,002	-1,34
Q61699	Heat shock protein 105 kDa	6	0,006	0,005	-1,34
P00920	Carbonic anhydrase 2	15	0,002	0,003	-1,34

Tablo 13. 5xFAD’ın ALM grubuna kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

P17751	Triosephosphate isomerase	17	0,000	0,001	-1,34
Q3TC72	Fumarylacetoacetate hydrolase domain-containingprotein2A	3	0,018	0,010	-1,35
P18572	Basigin	6	0,000	0,001	-1,35
P20108	Thioredoxin-dependent peroxide reductase_mt	5	0,002	0,002	-1,35
P17809	Solute carrier family 2_ facilitated glucose transporter member 1	5	0,000	0,001	-1,35
P05201	Aspartate aminotransferase_ cytoplasmic	27	0,001	0,001	-1,35
P14824	Annexin A6	26	0,001	0,001	-1,35
Q8BW75	Amine oxidase [flavin-containing] B	5	0,013	0,008	-1,36
P10852	4F2 cell-surface antigen heavy chain	12	0,001	0,002	-1,36
Q64133	Amine oxidase [flavin-containing] A	4	0,017	0,009	-1,36
P60335	Poly(rC)-binding protein 1	4	0,000	0,001	-1,36
P62897	Cytochrome c_somatic	12	0,000	0,001	-1,36
Q9CZU6	Citrate synthase_mt	16	0,000	0,001	-1,36
P51174	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_mt	11	0,001	0,002	-1,37
P28571	Sodium- and chloride-dependent glycine transporter 1	3	0,006	0,004	-1,37
P59999	Actin-related protein 2/3 complex subunit 4	5	0,001	0,001	-1,37
P60710	Actin_ cytoplasmic 1	12	0,003	0,003	-1,37
P09411	Phosphoglycerate kinase 1	17	0,001	0,001	-1,37
Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	5	0,010	0,006	-1,37
P46460	Vesicle-fusing ATPase	28	0,000	0,001	-1,38
Q9R0P5	Dextrin	3	0,001	0,001	-1,38
Q8BH59	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar1	15	0,000	0,001	-1,38
P62881	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-5	5	0,001	0,002	-1,38
Q60932	Voltage-dependent anion-selective channel protein 1	15	0,000	0,000	-1,38
Q91YT0	NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 1_mt	16	0,001	0,001	-1,38
P34884	Macrophage migration inhibitory factor	4	0,026	0,013	-1,38
Q91VD9	NADH-ubiquinone oxidoreductase 75 kDa subunit_mt	30	0,001	0,001	-1,38
P35486	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha_somatic form_mt	18	0,000	0,001	-1,38
Q3UHJ0	AP2-associated protein kinase 1	18	0,000	0,001	-1,39
O55125	Protein NipSnap homolog 1	5	0,001	0,002	-1,39
Q61768	Kinesin-1 heavy chain	5	0,000	0,000	-1,39
Q61361	Brevican core protein	5	0,000	0,001	-1,39
P14231	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-2	11	0,000	0,000	-1,39
P63038	60 kDa heat shock protein_mt	24	0,000	0,001	-1,39
P39053	Dynamin-1	32	0,000	0,001	-1,39
Q9D6M3	Mitochondrial glutamate carrier 1	5	0,003	0,003	-1,39

Tablo 13. 5xFAD’ın ALM grubuna kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

P62814	V-type proton ATPase subunit B_ brain isoform	18	0,000	0,000	-1,39
Q9D6R2	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha_mt	13	0,000	0,001	-1,40
Q9CQ69	Cytochrome b-c1 complex subunit 8	4	0,004	0,003	-1,40
P35979	60S ribosomal protein L12	6	0,001	0,001	-1,40
P16858	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	23	0,000	0,001	-1,40
P17182	Alpha-enolase	22	0,000	0,001	-1,40
P56480	ATP synthase subunit beta_mt	33	0,001	0,001	-1,40
Q9DB77	Cytochrome b-c1 complex subunit 2_mt	20	0,000	0,001	-1,41
Q60864	Stress-induced-phosphoprotein 1	19	0,006	0,004	-1,41
P45376	Aldo-keto reductase family 1 member B1	5	0,008	0,005	-1,41
Q9Z1G4	V-type proton ATPase 116 kDa subunit a1	16	0,000	0,001	-1,41
P51863	V-type proton ATPase subunit d 1	7	0,003	0,003	-1,41
P23506	Protein-L-isoaspartate(D-aspartate) O methyltransferase	7	0,014	0,008	-1,41
Q8VCW8	Medium-chain acyl-CoA ligase ACSF2_mt	4	0,000	0,001	-1,42
Q501J6	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX17	7	0,010	0,006	-1,42
Q9QUP5	Hyaluronan and proteoglycan link protein 1	7	0,035	0,016	-1,42
O08749	Dihydrolipoyl dehydrogenase_mt	15	0,001	0,001	-1,42
Q91WC3	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 6	20	0,000	0,001	-1,43
Q8K1M6	Dynamin-1-like protein	21	0,001	0,002	-1,43
Q9Z2Q6	Septin-5	12	0,000	0,001	-1,43
D3Z7P3	Glutaminase kidney isoform_mt	13	0,002	0,002	-1,43
Q62188	Dihydropyrimidinase-related protein 3	5	0,010	0,006	-1,43
P26443	Glutamate dehydrogenase 1_mt	22	0,000	0,001	-1,43
Q9CQQ7	ATP synthase F(0) complex subunit B1_mt	7	0,000	0,001	-1,43
Q80TJ1	Calcium-dependent secretion activator 1	30	0,000	0,001	-1,43
P70404	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit gamma 1_mt	8	0,000	0,001	-1,43
Q9JHI5	Isovaleryl-CoA dehydrogenase_mt	6	0,004	0,003	-1,43
P28652	Calcium/Calmodulin-dependent protein kinase type II subunit beta	8	0,002	0,002	-1,43
P68368	Tubulin alpha-4A chain	5	0,000	0,001	-1,43
Q68FD5	Clathrin heavy chain 1	77	0,000	0,001	-1,44
P28661	Septin-4	11	0,005	0,004	-1,44
P52480	Pyruvate kinase PKM	34	0,000	0,000	-1,44
Q91X97	Neurocalcin-delta	6	0,001	0,001	-1,44
P70202	Latexin	4	0,002	0,002	-1,44
O35215	D-dopachrome decarboxylase	5	0,006	0,004	-1,44
P20357	Microtubule-associated protein 2	29	0,001	0,002	-1,45
P48722	Heat shock 70 kDa protein 4L	22	0,002	0,002	-1,45

Tablo 13. 5xFAD’ın ALM grubuna kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

O55131	Septin-7	18	0,001	0,001	-1,45
P16125	L-lactate dehydrogenase B chain	14	0,001	0,001	-1,45
P62631	Elongation factor 1-alpha 2	7	0,002	0,002	-1,45
P05202	Aspartate aminotransferase_ mt	26	0,000	0,001	-1,45
Q62048	Astrocytic phosphoprotein PEA-15	4	0,006	0,004	-1,45
Q61644	Protein kinase C and casein kinase substrate in neurons protein 1	17	0,003	0,003	-1,46
Q60931	Voltage-dependent anion-selective channel protein 3	7	0,000	0,000	-1,46
P08249	Malate dehydrogenase_ mt	19	0,000	0,001	-1,46
P09528	Ferritin heavy chain	9	0,000	0,001	-1,46
Q9CPQ8	ATP synthase subunit g_ mt	3	0,000	0,001	-1,46
Q60597	2-oxoglutarate dehydrogenase_ mt	32	0,000	0,001	-1,47
O08529	Calpain-2 catalytic subunit	5	0,001	0,002	-1,47
P06801	NADP-dependent malic enzyme	9	0,002	0,002	-1,47
Q99JY0	Trifunctional enzyme subunit beta_ mt	11	0,001	0,001	-1,47
Q60930	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	12	0,000	0,001	-1,47
P49312	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	7	0,000	0,000	-1,47
Q80TB8	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog-like	12	0,007	0,005	-1,47
Q9R111	Guanine deaminase	4	0,005	0,004	-1,48
Q9ERD7	Tubulin beta-3 chain	10	0,006	0,004	-1,48
Q91VM5	RNA binding motif protein_ X-linked-like-1	7	0,001	0,002	-1,48
Q9Z219	Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit beta_ mt	16	0,000	0,001	-1,48
Q9CPY7	Cytosol aminopeptidase	7	0,016	0,009	-1,48
Q8BK64	Activator of 90 kDa heat shock protein ATPase homolog 1	6	0,005	0,004	-1,48
P14148	60S ribosomal protein L7	7	0,002	0,002	-1,48
P61922	4-aminobutyrate aminotransferase_ mt	19	0,000	0,001	-1,48
P67778	Prohibitin	6	0,002	0,002	-1,48
P35803	Neuronal membrane glycoprotein M6-b	8	0,002	0,003	-1,49
P58252	Elongation factor 2	22	0,001	0,002	-1,49
Q61301	Catenin alpha-2	5	0,013	0,008	-1,49
Q6PIC6	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3	37	0,000	0,001	-1,49
Q8K2B3	Succinate dehydrogenase[ubiquinone]flavoprotein subunit_ mt	14	0,002	0,002	-1,49
P14094	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-1	12	0,000	0,000	-1,49
Q99MN9	Propionyl-CoA carboxylase beta chain_ mt	3	0,001	0,001	-1,50
Q9CR68	Cytochrome b-c1 complex subunit Rieske_ mt	9	0,000	0,001	-1,50
Q9JHU4	Cytoplasmic dynein 1 heavy chain 1	110	0,001	0,002	-1,50
P56135	ATP synthase subunit f_ mt	3	0,003	0,003	-1,50

Tablo 13. 5xFAD’ın ALM grubuna kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	7	0,000	0,001	-1,50
Q3ULJ0	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like protein	4	0,002	0,003	-1,50
Q91V12	Cytosolic acyl coenzyme A thioester hydrolase	7	0,001	0,001	-1,51
Q9CQV8	14-3-3 protein beta/alpha	7	0,010	0,006	-1,51
Q9D154	Leukocyte elastase inhibitor A	6	0,002	0,002	-1,51
P00405	Cytochrome c oxidase subunit 2	5	0,001	0,002	-1,51
Q99K48	Non-POU domain-containing octamer-binding protein	10	0,021	0,011	-1,51
P32848	Parvalbumin alpha	5	0,002	0,002	-1,52
Q05816	Fatty acid-binding protein 5	3	0,002	0,002	-1,52
Q9CZW5	Mitochondrial import receptor subunit TOM70	8	0,001	0,002	-1,53
P62874	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T)subunit beta1	5	0,003	0,003	-1,53
P14152	Malate dehydrogenase_ cytoplasmic	18	0,000	0,001	-1,53
Q9CPQ1	Cytochrome c oxidase subunit 6C	7	0,000	0,001	-1,53
Q6ZWR6	Nesprin-1	12	0,000	0,000	-1,53
P19536	Cytochrome c oxidase subunit 5B_mt	3	0,003	0,003	-1,54
Q63810	Calcineurin subunit B type 1	8	0,004	0,003	-1,54
Q9D7X3	Dual specificity protein phosphatase 3	4	0,002	0,002	-1,55
Q9DC70	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 7_mt	3	0,000	0,001	-1,55
Q5PR73	GTP-binding protein Di-Ras2	3	0,006	0,004	-1,55
Q8K4G5	Actin-binding LIM protein 1	4	0,011	0,007	-1,55
Q9ERS2	NADH dehydrogenase[ubiquinone]1alpha subcomplex subunit13	7	0,000	0,001	-1,55
P62270	40S ribosomal protein S18	5	0,002	0,002	-1,55
O70439	Syntaxin-7	4	0,016	0,009	-1,55
Q9CR62	Mitochondrial 2-oxoglutarate/malate carrier protein	13	0,000	0,001	-1,56
Q791V5	Mitochondrial carrier homolog 2	4	0,001	0,001	-1,57
Q80YN3	Breast carcinoma-amplified sequence 1 homolog	8	0,001	0,002	-1,57
E9PUL5	Proline-rich transmembrane protein 2	6	0,002	0,003	-1,59
Q61548	Clathrin coat assembly protein AP180	15	0,000	0,001	-1,60
P48318	Glutamate decarboxylase 1	5	0,003	0,003	-1,60
Q9R0P9	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L1	11	0,002	0,002	-1,61
Q8BVE3	V-type proton ATPase subunit H	6	0,000	0,001	-1,61
Q6ZWN5	40S ribosomal protein S9	5	0,042	0,018	-1,61
P51881	ADP/ATP translocase 2	7	0,000	0,000	-1,62
P63328	Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit alpha isoform	8	0,000	0,000	-1,64
Q9Z1S5	Neuronal-specific septin-3	10	0,001	0,001	-1,67

Tablo 13. 5xFAD'ın ALM grubuna kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

Q9CQ92	Mitochondrial fission 1 protein	8	0,002	0,002	-1,68
P02301	Histone H3,3C	4	0,011	0,007	-1,68
P84091	AP-2 complex subunit mu	12	0,000	0,001	-1,69
P15532	Nucleoside diphosphate kinase A	6	0,000	0,001	-1,69
P10126	Elongation factor 1-alpha 1	8	0,001	0,001	-1,69
Q8VEM8	Phosphate carrier protein_mt	12	0,000	0,000	-1,71
P61027	Ras-related protein Rab-10	3	0,001	0,002	-1,73
O35633	Vesicular inhibitory amino acid transporter	4	0,003	0,003	-1,75
P35762	CD81 antigen	4	0,001	0,001	-1,77
Q6IRU5	Clathrin light chain B	5	0,002	0,003	-1,77
P48320	Glutamate decarboxylase 2	4	0,002	0,003	-1,77
P62482	Voltage-gated potassium channel subunit beta-2	3	0,001	0,002	-1,78
P62821	Ras-related protein Rab-1A	3	0,000	0,001	-1,79
Q9DBP5	UMP-CMP kinase	3	0,000	0,001	-1,80
Q62425	Cytochrome c oxidase subunit NDUFA4	4	0,000	0,000	-1,84
P15105	Glutamine synthetase	23	0,000	0,001	-1,85
Q9QZM0	Ubiquilin-2	4	0,044	0,019	-1,87
P97315	Cysteine and glycine-rich protein 1	6	0,001	0,001	-1,89
P04370	Myelin basic protein	16	0,001	0,002	-1,89
P26041	Moesin	7	0,000	0,001	-1,89
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	6	0,001	0,002	-1,93
P43006	Excitatory amino acid transporter 2	17	0,003	0,003	-1,95
P48962	ADP/ATP translocase 1	7	0,000	0,000	-2,02
P16330	2'_3'-cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase	25	0,000	0,001	-2,02
Q8VDQ8	NAD-dependent protein deacetylase sirtuin-2	11	0,000	0,001	-2,03
Q99JB2	Stomatin-like protein 2_mt	3	0,008	0,005	-2,03
Q8K0U4	Heat shock 70 kDa protein 12A	12	0,001	0,001	-2,04
Q61885	Myelin-oligodendrocyte glycoprotein	13	0,000	0,001	-2,12
O54984	ATPase GET3	5	0,005	0,004	-2,16
P08553	Neurofilament medium polypeptide	31	0,000	0,000	-2,16
P08551	Neurofilament light polypeptide	32	0,000	0,000	-2,26
Q91XV3	Brain acid soluble protein 1	8	0,000	0,001	-2,30
P60202	Myelin proteolipid protein	9	0,001	0,001	-2,34
P97797	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1	9	0,007	0,005	-2,37
Q9CRB9	MICOS complex subunit Mic19	7	0,000	0,001	-2,42
Q80UW5	Serine/threonine-protein kinase MRCK gamma	3	0,001	0,001	-2,44
Q9CZC8	Secernin-1	6	0,000	0,000	-2,46
Q9QUI0	Transforming protein RhoA	6	0,004	0,004	-2,49

Tablo 13. 5xFAD’ın ALM grubuna kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı değişiklik gösterdiği tespit edilen proteinlerin listesi (devam)

P19246	Neurofilament heavy polypeptide	28	0,000	0,000	-2,51
Q8BLK3	Limbic system-associated membrane protein	4	0,000	0,001	-2,67
P60766	Cell division control protein 42 homolog	4	0,008	0,005	-2,75
Q9Z1P6	NADH dehydrogenase[ubiquinone]1 alpha subcomplex subunit 7	4	0,001	0,001	-2,78
Q9WUM5	Succinate--CoA ligase[ADP/GDP-forming]subunit alpha_mt	5	0,001	0,002	-2,79
O08585	Clathrin light chain A	4	0,000	0,001	-2,80
Q61387	Cytochrome c oxidase subunit 7A-related protein_mt	3	0,013	0,008	-2,85
Q921I1	Serotransferrin	5	0,000	0,001	-2,85
P26645	Myristoylated alanine-rich C-kinase substrate	4	0,001	0,002	-2,86
Q8R429	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 1	4	0,045	0,019	-2,90
Q7TQD2	Tubulin polymerization-promoting protein	3	0,005	0,004	-2,91
Q6PDL0	Cytoplasmic dynein 1 light intermediate chain 2	5	0,004	0,003	-2,95
P31650	Sodium- and chloride-dependent GABA transporter 3	8	0,000	0,000	-2,97
Q69Z37	Sterile alpha motif domain-containing protein 9-like	3	0,000	0,001	-3,19
Q9D7B6	Isobutyryl-CoA dehydrogenase_mt	3	0,000	0,000	-3,48
P07310	Creatine kinase M-type	6	0,027	0,013	-3,57
Q61029	Lamina-associated polypeptide 2_ isoforms beta/delta/epsilon/gamma	3	0,014	0,008	-4,00
Q9JKC6	Cell cycle exit and neuronal differentiation protein 1	7	0,004	0,003	-4,29
P10922	Histone H1,0	5	0,000	0,001	-4,53
Q922U2	Keratin_ type II cytoskeletal 5	3	0,003	0,003	-4,56
Q5XKE0	Myosin-binding protein C_ fast-type	3	0,009	0,006	-5,31
Q68FL4	Putative adenosylhomocysteinase 3	5	0,009	0,006	-5,89

Tablo 14. GAL1’de 5xFAD’a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q62000	Mimecan	4	0,018	0,030	3,26
E9Q414	Apolipoprotein B-100	5	0,046	0,057	2,69
Q08642	Protein-arginine deiminase type-2	4	0,000	0,004	2,37
Q569Z5	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX46	5	0,001	0,007	1,99
Q62417	Sorbin and SH3 domain-containing protein 1	3	0,021	0,034	1,91
Q8BLR2	Copine-4	3	0,039	0,051	1,82
Q6Q477	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4	6	0,002	0,009	1,79
Q9DBR4	Amyloid-beta A4 precursor protein-binding family B member 2	3	0,001	0,006	1,78

Tablo 14. GAL1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q99NH0	Ankyrin repeat domain-containing protein 17	9	0,000	0,002	1,70
P50580	Proliferation-associated protein 2G4	4	0,004	0,012	1,65
Q99PU5	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase ACSBG1	8	0,000	0,002	1,59
Q6ZQ18	Protein EFR3 homolog B	4	0,001	0,006	1,58
Q7TPV4	Myb-binding protein 1A	3	0,014	0,027	1,56
P30415	NK-tumor recognition protein	3	0,001	0,005	1,54
Q8VE47	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 5	4	0,020	0,033	1,54
O55137	Acyl-coenzyme A thioesterase 1	3	0,013	0,026	1,52
P31254	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1 Y	4	0,008	0,019	1,51
Q61425	Hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase_mt	4	0,008	0,019	1,51
P62918	60S ribosomal protein L8	7	0,002	0,008	-1,50
P60879	Synaptosomal-associated protein 25	16	0,000	0,002	-1,51
Q5DU25	IQ motif and SEC7 domain-containing protein 2	3	0,002	0,009	-1,53
Q6PHN9	Ras-related protein Rab-35	3	0,004	0,013	-1,55
P47802	Metaxin-1	5	0,008	0,019	-1,55
P27546	Microtubule-associated protein 4	6	0,000	0,004	-1,56
Q60780	Growth arrest-specific protein 7	6	0,003	0,012	-1,57
P97797	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1	12	0,025	0,038	-1,57
Q9EPU0	Regulator of nonsense transcripts 1	3	0,000	0,004	-1,58
Q9DC70	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 7_mt	6	0,000	0,003	-1,60
O88935	Synapsin-1	28	0,000	0,004	-1,60
D3YVF0	A-kinase anchor protein 5	9	0,000	0,003	-1,61
O54865	Guanylate cyclase soluble subunit beta-1	7	0,000	0,004	-1,62
O88456	Calpain small subunit 1	6	0,000	0,004	-1,63
Q9QYR6	Microtubule-associated protein 1A	69	0,000	0,003	-1,64
Q61390	T-complex protein 1 subunit zeta-2	3	0,002	0,010	-1,66
Q9Z0P4	Paralemmin-1	8	0,000	0,002	-1,66
A2AQW0	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 15	4	0,000	0,003	-1,67
Q61548	Clathrin coat assembly protein AP180	15	0,000	0,003	-1,68
P0CG50	Polyubiquitin-C	4	0,003	0,011	-1,69
P23242	Gap junction alpha-1 protein	4	0,001	0,006	-1,69
P99027	60S acidic ribosomal protein P2	5	0,001	0,007	-1,69
Q9R0Y5	Adenylate kinase isoenzyme 1	7	0,000	0,002	-1,69
O88569	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	12	0,000	0,004	-1,70
Q8K1Z0	Ubiquinone biosynthesis protein COQ9_mt	4	0,009	0,020	-1,71
Q7TQD2	Tubulin polymerization-promoting protein	5	0,000	0,004	-1,72
Q4U2R1	E3 ubiquitin-protein ligase HERC2	16	0,001	0,005	-1,75

Tablo 14. GAL1’de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q8BYR5	Calcium-dependent secretion activator 2	12	0,000	0,004	-1,78
P47708	Rabphilin-3A	12	0,000	0,003	-1,83
P63216	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-3	5	0,000	0,004	-1,84
P97450	ATP synthase-coupling factor 6_mt	6	0,002	0,009	-1,86
Q91XM9	Disks large homolog 2	14	0,000	0,002	-1,87
Q9WV92	Band 4,1-like protein 3	16	0,000	0,003	-1,87
Q9QWI6	SRC kinase signaling inhibitor 1	23	0,000	0,002	-1,87
Q91WM1	Spermatid perinuclear RNA-binding protein	4	0,003	0,011	-1,93
Q6R891	Neurabin-2	9	0,000	0,002	-2,03
Q8BNA6	Protocadherin Fat 3	3	0,000	0,004	-2,08
Q9R0N5	Synaptotagmin-5	3	0,002	0,010	-2,10
Q8CC35	Synaptopodin	8	0,000	0,004	-2,13
Q4ACU6	SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein 3	4	0,000	0,003	-2,14
Q9QXV0	ProSAAS	3	0,000	0,002	-2,15
P13542	Myosin-8	3	0,002	0,010	-2,18
Q8R4E6	Purine-rich element-binding protein gamma	4	0,002	0,010	-2,25
Q3UHH0	AP2-associated protein kinase 1	17	0,000	0,002	-2,26
P57080	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 25	4	0,002	0,010	-2,28
Q7TSJ2	Microtubule-associated protein 6	28	0,000	0,003	-2,35
Q9WUK2	Eukaryotic translation initiation factor 4H	9	0,000	0,002	-2,36
Q922Q1	Mitochondrial amidoxime reducing component 2	4	0,008	0,020	-2,38
Q8CC88	von Willebrand factor A domain-containing protein 8	3	0,003	0,011	-2,39
Q5I012	Putative sodium-coupled neutral amino acid transporter 10	4	0,003	0,011	-2,43
Q8BGD9	Eukaryotic translation initiation factor 4B	4	0,001	0,005	-2,44
P10637	Microtubule-associated protein tau	23	0,000	0,002	-2,48
P54227	Stathmin	3	0,001	0,006	-2,52
Q91ZZ3	Beta-synuclein	5	0,000	0,004	-2,52
Q6P9K8	Caskin-1	4	0,001	0,007	-2,62
Q6P6L0	Filamin A-interacting protein 1-like	3	0,003	0,012	-2,65
O55042	Alpha-synuclein	7	0,000	0,002	-2,74
Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	9	0,002	0,009	-2,87
P20357	Microtubule-associated protein 2	48	0,000	0,002	-2,94
Q60829	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 1B	4	0,000	0,004	-3,11
Q8BNW9	Kelch repeat and BTB domain-containing protein 11	6	0,000	0,001	-3,42
Q5SSH7	Zinc finger ZZ-type and EFhand domain-containing protein1	8	0,000	0,002	-4,52
Q01065	Calcium/calmodulin-dependent 3'-5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase 1B	8	0,000	0,001	-4,56

Tablo 14. GAL1’de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P04370	Myelin basic protein	14	0,000	0,002	-5,34
Q8BXK8	Arf-GAP with GTPase_ ANK repeat and PH domain-containing protein 1	4	0,000	0,002	-6,21

Tablo 15. GAL2’de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
P33175	Kinesin heavy chain isoform 5A	5	0,002	0,045	1,67
P45591	Cofilin-2	5	0,001	0,024	1,46
P97370	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-3	5	0,000	0,015	1,38
Q8BFZ6	Isopentenyl-diphosphate delta-isomerase 2	4	0,002	0,045	1,35
D3Z7P3	Glutaminase kidney isoform_mt	10	0,000	0,024	1,35
Q9CQX8	28S ribosomal protein S36_mt	3	0,003	0,050	-1,31
Q920E5	Farnesyl pyrophosphate synthase	5	0,000	0,024	-1,31
Q80U23	Syntaphilin	3	0,001	0,028	-1,32
P54728	UV excision repair protein RAD23 homolog B	4	0,002	0,047	-1,32
P47708	Rabphilin-3A	12	0,001	0,035	-1,32
Q99P72	Reticulon-4	12	0,000	0,024	-1,34
P60879	Synaptosomal-associated protein 25	16	0,003	0,050	-1,36
P99027	60S acidic ribosomal protein P2	5	0,000	0,015	-1,37
D3YVF0	A-kinase anchor protein 5	9	0,001	0,039	-1,39
Q60598	Src substrate cortactin	9	0,002	0,040	-1,40
Q9WV92	Band 4,1-like protein 3	16	0,002	0,045	-1,40
Q5DU25	IQ motif and SEC7 domain-containing protein 2	3	0,002	0,042	-1,45
Q9CSH3	Exosome complex exonuclease RRP44	6	0,001	0,028	-1,47
Q3UHJ0	AP2-associated protein kinase 1	17	0,000	0,003	-1,49
Q91XM9	Disks large homolog 2	14	0,000	0,015	-1,51
Q5I012	Putative sodium-coupled neutral amino acid transporter 10	4	0,001	0,030	-1,54
Q501J6	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX17	6	0,001	0,024	-1,55
P52760	2-iminobutanoate/2-iminopropanoate deaminase	4	0,001	0,024	-1,56
Q8CC35	Synaptopodin	8	0,000	0,015	-1,59
P0DP28	Calmodulin-3	13	0,000	0,015	-1,59
Q9QWI6	SRC kinase signaling inhibitor 1	23	0,000	0,015	-1,63
P12023	Amyloid-beta A4 protein	11	0,000	0,015	-1,67
Q6P9K8	Caskin-1	4	0,001	0,024	-1,68
P10637	Microtubule-associated protein tau	23	0,000	0,015	-1,70

Tablo 15. GAL2’de 5xFAD’a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q2KN98	Cytospin-A	7	0,002	0,048	-1,74
Q91ZZ3	Beta-synuclein	5	0,001	0,028	-1,83
Q06890	Clusterin	8	0,001	0,036	-1,83
Q9WUK2	Eukaryotic translation initiation factor 4H	9	0,000	0,015	-1,98
P08226	Apolipoprotein E	18	0,001	0,035	-2,21
P0CG50	Polyubiquitin-C	4	0,000	0,015	-2,25
Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	9	0,003	0,050	-2,29

Tablo 16. LYC1’de 5xFAD’a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q62000	Mimecan	4	0,000	0,002	3,40
Q08642	Protein-arginine deiminase type-2	4	0,000	0,003	2,46
Q62417	Sorbin and SH3 domain-containing protein 1	3	0,001	0,004	1,91
Q569Z5	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX46	5	0,004	0,012	1,86
Q6Q477	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4	6	0,001	0,004	1,81
Q9DBR4	Amyloid-beta A4 precursor protein-binding family B member 2	3	0,001	0,004	1,77
Q8BLR2	Copine-4	3	0,038	0,046	1,74
P30415	NK-tumor recognition protein	3	0,001	0,005	1,58
Q8VE47	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 5	4	0,020	0,030	1,55
Q99PU5	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase ACSBG1	8	0,000	0,001	1,54
P31254	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1 Y	4	0,002	0,007	1,53
P50580	Proliferation-associated protein 2G4	4	0,000	0,002	1,52
Q61425	Hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase_mt	4	0,007	0,016	1,48
Q8BLQ9	Cell adhesion molecule 2	6	0,000	0,002	1,45
Q9CPU4	Microsomal glutathione S-transferase 3	5	0,007	0,015	1,43
Q7TPV4	Myb-binding protein 1A	3	0,006	0,014	1,42
Q61789	Laminin subunit alpha-3	6	0,001	0,004	1,41
Q0VGY8	Protein TANC1	5	0,038	0,046	1,41
O55137	Acyl-coenzyme A thioesterase 1	3	0,002	0,006	1,38
Q6ZQ18	Protein EFR3 homolog B	4	0,011	0,020	1,37
Q91XL9	Oxysterol-binding protein-related protein 1	4	0,009	0,018	1,36
P33175	Kinesin heavy chain isoform 5A	5	0,018	0,028	1,36
B0V2N1	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S	3	0,019	0,029	1,35
P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	9	0,001	0,004	1,35
Q9D023	Mitochondrial pyruvate carrier 2	4	0,004	0,011	1,34

Tablo 16. LYC1’de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P36993	Protein phosphatase 1B	3	0,007	0,016	1,34
P45591	Cofilin-2	5	0,001	0,006	1,34
Q9JK48	Endophilin-B1	4	0,040	0,047	1,34
P63137	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit beta-2	3	0,004	0,011	1,33
Q9EPN1	Neurobeachin	7	0,001	0,006	1,31
Q9CXW3	Calcyclin-binding protein	4	0,006	0,015	1,31
Q9WTS6	Teneurin-3	3	0,001	0,005	1,31
Q8VED5	Keratin_ type II cytoskeletal 79	8	0,000	0,002	-1,31
Q99KE1	NAD-dependent malic enzyme_mt	3	0,005	0,014	-1,31
P70398	Probable ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase FAF-X	3	0,003	0,010	-1,31
Q9WU78	Programmed cell death 6-interacting protein	5	0,000	0,002	-1,31
O88737	Protein bassoon	35	0,000	0,002	-1,31
Q9DBG6	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 2	7	0,002	0,007	-1,32
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	3	0,007	0,015	-1,32
P0DP28	Calmodulin-3	13	0,001	0,006	-1,33
Q9QXY6	EH domain-containing protein 3	5	0,010	0,019	-1,33
Q9CSH3	Exosome complex exonuclease RRP44	6	0,001	0,006	-1,34
O54774	AP-3 complex subunit delta-1	11	0,003	0,009	-1,34
Q6PDL0	Cytoplasmic dynein 1 light intermediate chain 2	6	0,009	0,018	-1,34
Q99P72	Reticulon-4	12	0,001	0,006	-1,34
Q3UHX2	28 kDa heat- and acid-stable phosphoprotein	7	0,008	0,017	-1,35
P84104	Serine/arginine-rich splicing factor 3	3	0,001	0,005	-1,35
Q9Z2H5	Band 4,1-like protein 1	17	0,000	0,002	-1,35
Q9JM52	Misshapen-like kinase 1	5	0,020	0,030	-1,35
Q3UNH4	G protein-regulated inducer of neurite outgrowth 1	9	0,000	0,003	-1,35
Q9QUR7	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase NIMA-interacting 1	5	0,002	0,008	-1,36
A2AAJ9	Obscurin	12	0,000	0,002	-1,36
O70318	Band 4,1-like protein 2	15	0,000	0,002	-1,36
Q921F2	TAR DNA-binding protein 43	7	0,005	0,012	-1,36
P08226	Apolipoprotein E	18	0,009	0,018	-1,36
Q9WV80	Sorting nexin-1	4	0,001	0,006	-1,36
Q80YN3	Breast carcinoma-amplified sequence 1 homolog	6	0,014	0,024	-1,37
Q8R1Q8	Cytoplasmic dynein 1 light intermediate chain 1	6	0,002	0,006	-1,37
Q60598	Src substrate cortactin	9	0,001	0,006	-1,38
Q6PHN9	Ras-related protein Rab-35	3	0,020	0,030	-1,39
Q80U28	MAP kinase-activating death domain protein	8	0,016	0,026	-1,39

Tablo 16. LYC1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q571C7	Transcription factor TFIIB component B" homolog	6	0,001	0,005	-1,39
Q7TNP2	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A beta isoform	3	0,013	0,023	-1,39
P60879	Synaptosomal-associated protein 25	16	0,000	0,002	-1,39
Q3TRM8	Hexokinase-3	5	0,008	0,016	-1,40
G5E8K5	Ankyrin-3	19	0,001	0,004	-1,40
Q06890	Clusterin	8	0,004	0,011	-1,40
Q9DAW9	Calponin-3	5	0,001	0,005	-1,41
P10126	Elongation factor 1-alpha 1	4	0,000	0,002	-1,41
Q8R5M8	Cell adhesion molecule 1	4	0,000	0,002	-1,41
Q9Z0P5	Twinfilin-2	5	0,017	0,027	-1,43
P97450	ATP synthase-coupling factor 6_mt	6	0,017	0,027	-1,43
P20152	Vimentin	21	0,001	0,005	-1,43
Q9QYR6	Microtubule-associated protein 1A	69	0,000	0,002	-1,44
P32921	Tryptophan--tRNA ligase_ cytoplasmic	7	0,000	0,003	-1,44
B2RX88	Centrosome and spindle pole associated protein 1	6	0,003	0,010	-1,44
Q5EBJ4	Ermin	9	0,001	0,004	-1,45
O88935	Synapsin-1	28	0,000	0,002	-1,45
P48678	Prelamin-A/C	15	0,000	0,002	-1,45
Q9WUX5	Protein MRVI1	3	0,001	0,006	-1,46
Q61548	Clathrin coat assembly protein AP180	15	0,000	0,003	-1,46
D3YVF0	A-kinase anchor protein 5	9	0,000	0,002	-1,46
P03995	Glial fibrillary acidic protein	32	0,004	0,012	-1,47
P99027	60S acidic ribosomal protein P2	5	0,000	0,002	-1,47
O54865	Guanylate cyclase soluble subunit beta-1	7	0,000	0,001	-1,49
P97797	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1	12	0,017	0,028	-1,50
Q9R0Y5	Adenylate kinase isoenzyme 1	7	0,000	0,002	-1,50
P27546	Microtubule-associated protein 4	6	0,000	0,002	-1,51
P62918	60S ribosomal protein L8	7	0,001	0,004	-1,51
P47802	Metaxin-1	5	0,005	0,013	-1,51
O55029	Coatomer subunit beta'	3	0,035	0,043	-1,52
Q501J6	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX17	6	0,000	0,003	-1,52
Q9Z0P4	Paralemmin-1	8	0,000	0,002	-1,53
A2AQW0	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 15	4	0,002	0,008	-1,53
P0CG50	Polyubiquitin-C	4	0,001	0,006	-1,54
Q9EPU0	Regulator of nonsense transcripts 1	3	0,000	0,003	-1,55
O88456	Calpain small subunit 1	6	0,000	0,002	-1,57
Q61390	T-complex protein 1 subunit zeta-2	3	0,002	0,008	-1,58

Tablo 16. LYC1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P63216	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-3	5	0,000	0,001	-1,58
Q7TQD2	Tubulin polymerization-promoting protein	5	0,000	0,001	-1,59
Q60780	Growth arrest-specific protein 7	6	0,002	0,008	-1,59
Q9DC70	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein7_mt	6	0,000	0,002	-1,59
Q5DU25	IQ motif and SEC7 domain-containing protein 2	3	0,003	0,010	-1,63
P47708	Rabphilin-3A	12	0,001	0,004	-1,63
Q9WV92	Band 4,1-like protein 3	16	0,000	0,000	-1,66
Q9D478	Outer dense fiber protein 2-like	3	0,002	0,007	-1,67
P13542	Myosin-8	3	0,000	0,001	-1,68
P23242	Gap junction alpha-1 protein	4	0,002	0,007	-1,68
O88569	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	12	0,000	0,001	-1,69
Q8K1Z0	Ubiquinone biosynthesis protein COQ9_mt	4	0,001	0,005	-1,73
Q9QWI6	SRC kinase signaling inhibitor 1	23	0,000	0,002	-1,73
Q8R4E6	Purine-rich element-binding protein gamma	4	0,002	0,008	-1,77
Q8CC35	Synaptopodin	8	0,000	0,002	-1,78
Q91XM9	Disks large homolog 2	14	0,000	0,000	-1,79
Q4U2R1	E3 ubiquitin-protein ligase HERC2	16	0,000	0,002	-1,80
Q4ACU6	SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein 3	4	0,000	0,002	-1,85
Q91WM1	Spermatid perinuclear RNA-binding protein	4	0,001	0,004	-1,86
Q8BYR5	Calcium-dependent secretion activator 2	12	0,000	0,002	-1,91
P57080	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 25	4	0,000	0,003	-1,92
Q3UHH0	AP2-associated protein kinase 1	17	0,000	0,001	-1,93
Q6R891	Neurabin-2	9	0,000	0,001	-1,93
Q8BNA6	Protocadherin Fat 3	3	0,000	0,002	-1,94
Q8BGD9	Eukaryotic translation initiation factor 4B	4	0,010	0,019	-1,99
Q5I012	Putative sodium-coupled neutral amino acid transporter 10	4	0,001	0,005	-2,02
O55042	Alpha-synuclein	7	0,000	0,002	-2,03
P10637	Microtubule-associated protein tau	23	0,000	0,000	-2,04
Q9QXV0	ProSAAS	3	0,000	0,003	-2,07
P54227	Stathmin	3	0,003	0,010	-2,08
Q91ZZ3	Beta-synuclein	5	0,000	0,000	-2,10
Q7TSJ2	Microtubule-associated protein 6	28	0,000	0,001	-2,11
Q8CC88	von Willebrand factor A domain-containing protein 8	3	0,009	0,019	-2,18
Q9WUK2	Eukaryotic translation initiation factor 4H	9	0,000	0,001	-2,21
Q6P9K8	Caskin-1	4	0,000	0,003	-2,22
Q6P6L0	Filamin A-interacting protein 1-like	3	0,000	0,002	-2,26

Tablo 16. LYC1’de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P20357	Microtubule-associated protein 2	48	0,000	0,001	-2,28
Q9R0N5	Synaptotagmin-5	3	0,002	0,006	-2,28
Q923T7	Tripartite motif-containing protein 7	3	0,000	0,002	-2,28
Q922Q1	Mitochondrial amidoxime reducing component 2	4	0,014	0,024	-2,35
Q60829	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 1B	4	0,000	0,002	-2,67
Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	9	0,000	0,003	-2,78
Q8BNW9	Kelch repeat and BTB domain-containing protein 11	6	0,000	0,000	-3,36
Q01065	Calcium/calmodulin-dependent3'_5'cyclic nucleotide phosphodiesterase 1B	8	0,000	0,000	-4,59
Q5SSH7	Zinc finger ZZtype and EFhand domain-containing protein1	8	0,000	0,001	-5,19
P04370	Myelin basic protein	14	0,000	0,001	-5,41
Q8BXX8	Arf-GAP with GTPase_ANK repeat and PH domain-containing 1	4	0,000	0,001	-5,76

Tablo 17. LYC2’de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q62000	Mimecan	4	0,001	0,040	3,55
Q6Q477	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4	6	0,001	0,040	1,85
Q62417	Sorbin and SH3 domain-containing protein 1	3	0,001	0,040	1,78
Q9DBR4	Amyloid-beta A4 precursor protein-binding family B member 2	3	0,003	0,042	1,73
Q569Z5	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX46	5	0,001	0,040	1,71
Q8BLQ9	Cell adhesion molecule 2	6	0,001	0,041	1,56
Q6ZQ18	Protein EFR3 homolog B	4	0,001	0,040	1,49
P30415	NK-tumor recognition protein	3	0,002	0,041	1,37
P10518	Delta-aminolevulinic acid dehydratase	8	0,004	0,048	1,33
P45591	Cofilin-2	5	0,001	0,041	1,31
O55125	Protein NipSnap homolog 1	6	0,004	0,044	-1,32
P0DP28	Calmodulin-3	13	0,002	0,041	-1,35
Q9QZ06	Toll-interacting protein	6	0,003	0,042	-1,35
Q8K386	Ras-related protein Rab-15	3	0,002	0,041	-1,36
Q9EPU0	Regulator of nonsense transcripts 1	3	0,003	0,042	-1,36
P49025	Citron Rho-interacting kinase	4	0,002	0,041	-1,36
G5E8K5	Ankyrin-3	19	0,002	0,041	-1,42
Q9JIS8	Solute carrier family 12 member 4	4	0,002	0,041	-1,42

Tablo 17. LYC2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P62918	60S ribosomal protein L8	7	0,001	0,040	-1,42
P23242	Gap junction alpha-1 protein	4	0,003	0,043	-1,43
Q6R891	Neurabin-2	9	0,002	0,041	-1,48
Q61390	T-complex protein 1 subunit zeta-2	3	0,005	0,049	-1,59
Q9QXV0	ProSAAS	3	0,002	0,041	-1,59
Q91WM1	Spermatid perinuclear RNA-binding protein	4	0,001	0,041	-1,74
Q8BNA6	Protocadherin Fat 3	3	0,003	0,042	-1,79

Tablo 18. ODG2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q8BR07	Protein bicaudal D homolog 1	4	0,000	0,046	-1,61

Tablo 19. ODG1'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q91XV3	Brain acid soluble protein 1	4	0,001	0,010	2,94
P60202	Myelin proteolipid protein	3	0,001	0,007	2,81
P35762	CD81 antigen	3	0,000	0,001	2,46
P62880	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-2	6	0,001	0,007	2,29
Q9CPU4	Microsomal glutathione S-transferase 3	4	0,000	0,001	2,28
Q68FL4	Putative adenosylhomocysteinase 3	5	0,003	0,013	2,22
Q91X97	Neurocalcin-delta	5	0,003	0,013	1,96
P58771	Tropomyosin alpha-1 chain	3	0,002	0,012	1,91
Q9D8B4	NADH dehydrogenase[ubiquinone]1 alpha subcomplex subunit 11	3	0,000	0,004	1,91
Q8QZS1	HIBCH_MOUSE 3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase_mt	6	0,005	0,017	1,86
Q8C9S4	Coiled-coil domain-containing protein 186	3	0,001	0,008	1,86
P62874	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-1	5	0,001	0,007	1,85
P51863	V-type proton ATPase subunit d 1	5	0,004	0,016	1,83
Q9QUI0	Transforming protein RhoA	3	0,001	0,008	1,81
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	7	0,001	0,007	1,73
P35803	Neuronal membrane glycoprotein M6-b	5	0,001	0,007	1,70

Tablo 19. ODG1'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P09528	Ferritin heavy chain	8	0,009	0,023	1,67
P63242	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1	3	0,000	0,005	1,67
Q61699	Heat shock protein 105 kDa	6	0,007	0,020	1,63
Q9D0M5	Dynein light chain 2_ cytoplasmic	3	0,001	0,007	1,62
Q63844	Mitogen-activated protein kinase 3	7	0,001	0,007	1,60
P63328	Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit alpha isoform	5	0,002	0,010	1,59
P28652	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit beta	6	0,000	0,006	1,59
Q8CIS0	Caspase recruitment domain-containing protein 11	8	0,003	0,013	1,58
P10126	Elongation factor 1-alpha 1	6	0,001	0,010	1,57
Q80TB8	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog-like	7	0,001	0,008	1,56
Q8CIN4	PAK2_MOUSE Serine/threonine-protein kinase PAK 2	4	0,000	0,002	1,54
O88531	Palmitoyl-protein thioesterase 1	3	0,012	0,027	1,51
P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A_mt	6	0,003	0,013	-1,52
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	5	0,003	0,013	-1,60
Q9JLJ2	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase	4	0,001	0,007	-1,62
Q91XM9	Disks large homolog 2	11	0,000	0,002	-1,63
P70297	Signal transducing adapter molecule 1	3	0,003	0,012	-1,73
P52503	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 6_mt	3	0,005	0,017	-1,74
Q60676	Serine/threonine-protein phosphatase 5	3	0,002	0,010	-1,74
P12660	Purkinje cell protein 2	4	0,002	0,010	-1,91
Q8QZY1	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit L	3	0,016	0,033	-1,96
P67778	Prohibitin	9	0,000	0,005	-2,04
Q91VM9	Inorganic pyrophosphatase 2_mt	4	0,000	0,004	-2,30
P62270	40S ribosomal protein S18	4	0,001	0,007	-2,45
P32067	Lupus La protein homolog	4	0,000	0,001	-2,76
P32848	Parvalbumin alpha	6	0,000	0,006	-2,88
P63054	Calmodulin regulator protein PCP4	3	0,009	0,024	-3,15

Tablo 20. ODG2'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
P31650	Sodium- and chloride-dependent GABA transporter 3	5	0,002	0,006	1,68
Q922U2	Keratin_ type II cytoskeletal 5	3	0,030	0,028	1,67
Q99KB8	Hydroxyacylglutathione hydrolase_mt	3	0,013	0,016	1,68

Tablo 20. ODG2'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q7TPR4	Alpha-actinin-1	3	0,040	0,035	1,57
A2AQ07	Tubulin beta-1 chain	3	0,027	0,026	1,79
Q9QXV0	ProSAAS	4	0,007	0,012	1,80
P21550	Beta-enolase	3	0,026	0,026	2,86
P35979	60S ribosomal protein L12	3	0,000	0,003	1,55
P09528	Ferritin heavy chain	8	0,008	0,012	1,60
Q9CQH3	NADH dehydrogenase[ubiquinone]1 beta subcomplex subunit 5_mt	3	0,002	0,006	1,56
Q8QZS1	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase_mt	6	0,000	0,003	1,94
P51863	V-type proton ATPase subunit d 1	5	0,004	0,009	1,78
P15105	Glutamine synthetase	15	0,002	0,006	1,53
Q91X97	Neurocalcin-delta	5	0,000	0,001	1,87
Q68FL4	Putative adenosylhomocysteinase 3	5	0,001	0,004	2,27
Q61885	Myelin-oligodendrocyte glycoprotein	10	0,000	0,002	1,65
Q91XV3	Brain acid soluble protein 1	4	0,000	0,000	4,44
Q80UW2	F-box only protein 2	3	0,000	0,001	2,02
Q80TB8	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog-like	7	0,000	0,001	1,77
Q8C9S4	Coiled-coil domain-containing protein 186	3	0,000	0,003	1,72
Q9QUI0	Transforming protein RhoA	3	0,003	0,008	1,84
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	7	0,002	0,007	1,82
P62880	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-2	6	0,001	0,003	2,55
Q9D0M5	Dynein light chain 2_ cytoplasmic	3	0,001	0,005	1,54
P62874	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-1	5	0,001	0,004	1,85
P60202	Myelin proteolipid protein	3	0,000	0,001	3,04
P61922	4-aminobutyrate aminotransferase_mt	19	0,000	0,003	1,59
P35803	Neuronal membrane glycoprotein M6-b	5	0,000	0,001	1,57
P48962	ADP/ATP translocase 1	9	0,000	0,001	1,53
P63242	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1	3	0,000	0,003	1,84
Q9D8B4	NADH dehydrogenase[ubiquinone]1 alpha subcomplex subunit 11	3	0,000	0,001	1,68
Q8CIN4	Serine/threonine-protein kinase PAK 2	4	0,002	0,007	1,54
P35762	CD81 antigen	3	0,000	0,000	2,91
Q9CPU4	Microsomal glutathione S-transferase 3	4	0,000	0,001	2,37
P70403	Protein CASP	3	0,040	0,035	-1,64
O70133	ATP-dependent RNA helicase A	11	0,011	0,015	-1,55

Tablo 20. ODG2'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P62806	Histone H4	8	0,000	0,003	-1,61
Q91YQ5	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 1	3	0,003	0,008	-1,54
P39054	Dynamin-2	3	0,001	0,006	-1,53
P43276	Histone H1,5	6	0,006	0,011	-1,53
P20152	Vimentin	21	0,003	0,007	-1,64
Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa_mt	6	0,004	0,009	-1,91
P52503	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 6_mt	3	0,002	0,006	-2,13
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	5	0,002	0,007	-1,60
P70297	Signal transducing adapter molecule 1	3	0,005	0,009	-1,63
P12660	Purkinje cell protein 2	4	0,001	0,004	-2,10
Q60676	Serine/threonine-protein phosphatase 5	3	0,002	0,006	-1,82
Q9JLJ2	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase	4	0,000	0,002	-1,77
P62270	40S ribosomal protein S18	4	0,006	0,011	-2,32
P32848	Parvalbumin alpha	6	0,000	0,003	-2,98
P67778	Prohibitin	9	0,000	0,002	-2,16
Q91VM9	Inorganic pyrophosphatase 2_mt	4	0,000	0,001	-2,27
Q91XM9	Disks large homolog 2	11	0,001	0,003	-1,79
P32067	Lupus La protein homolog	4	0,000	0,001	-2,98

Tablo 21. PAL1'de 5xFAD'a kıyasla hipokampus bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
P60202	Myelin proteolipid protein	8	0,004	0,048	2,56
P05132	cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha	4	0,003	0,044	2,00
P52196	Thiosulfate sulfurtransferase	5	0,001	0,034	1,58
Q6ZWQ0	Nesprin-2	11	0,005	0,049	1,56
O08528	Hexokinase-2	6	0,004	0,048	1,54
Q91WQ3	Tyrosine--tRNA ligase_ cytoplasmic	4	0,002	0,040	1,52
Q9Z331	Keratin_ type II cytoskeletal 6B	7	0,002	0,040	1,50
P63005	Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit beta	7	0,003	0,044	1,47
Q80Z25	Oral-facial-digital syndrome 1 protein homolog	4	0,005	0,049	1,45
P35803	Neuronal membrane glycoprotein M6-b	8	0,000	0,027	1,41
P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	9	0,002	0,041	1,41
Q99KP6	Pre-mRNA-processing factor 19	3	0,004	0,048	1,40
Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase_ decarboxylating	3	0,004	0,048	1,36

Tablo 21. PAL1'de 5xFAD'a kıyasla hipokampus bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q8BG32	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 11	5	0,000	0,027	1,35
Q80TB8	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog-like	12	0,005	0,048	1,33
Q61625	Glutamate receptor ionotropic_ delta-2	15	0,000	0,027	-1,31
Q3U0V1	Far upstream element-binding protein 2	10	0,003	0,046	-1,31
Q8CHP8	Glycerol-3-phosphate phosphatase	5	0,005	0,049	-1,33
Q62442	Vesicle-associated membrane protein 1	4	0,002	0,040	-1,35
P84104	Serine/arginine-rich splicing factor 3	3	0,001	0,036	-1,43
P43277	Histone H1,3	3	0,005	0,048	-1,44
P12660	Purkinje cell protein 2	4	0,004	0,048	-1,47
P52503	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 6_mt	5	0,001	0,040	-1,52
Q6P9K9	Neurexin-3	3	0,005	0,049	-1,53
Q8C650	Septin-10	5	0,004	0,048	-1,62
Q6Q477	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4	4	0,004	0,048	-2,11

Tablo 22. PAL1'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
P60202	Myelin proteolipid protein	8	0,004	0,048	2,56
P52196	Thiosulfate sulfurtransferase	6	0,001	0,030	1,58
Q91WQ3	Tyrosine--tRNA ligase_ cytoplasmic	3	0,002	0,039	1,53
P35803	Neuronal membrane glycoprotein M6-b	8	0,000	0,026	1,41
Q80TB8	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog-like	11	0,000	0,024	1,39
P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	9	0,002	0,043	1,39
Q8BG32	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 11	5	0,000	0,024	1,35
G5E829	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 1	7	0,002	0,043	1,35
Q91VN4	MICOS complex subunit Mic25	5	0,003	0,048	-1,32
Q61625	Glutamate receptor ionotropic_ delta-2	14	0,000	0,024	-1,38
P84104	Serine/arginine-rich splicing factor 3	3	0,001	0,036	-1,43
Q8C650	Septin-10	7	0,000	0,030	-1,45
P52503	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 6_mt	5	0,001	0,037	-1,52
P97450	ATP synthase-coupling factor 6_mt	3	0,003	0,047	-1,70
P12660	Purkinje cell protein 2	4	0,002	0,042	-1,87

Tablo 23. PAL2'de 5xFAD'a kıyasla hipokampus bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q9DC53	Copine-8	3	0,001	0,042	1,40
Q91ZZ3	Beta-synuclein	3	0,001	0,043	1,38
Q62433	Protein NDRG1	6	0,000	0,041	-1,34
P21460	Cystatin-C	3	0,000	0,041	-1,53
P52760	2-iminobutanoate/2-iminopropanoate deaminase	6	0,000	0,041	-1,79
P12023	Amyloid-beta A4 protein	14	0,001	0,042	-1,87
P20060	Beta-hexosaminidase subunit beta	5	0,000	0,041	-2,81
P08226	Apolipoprotein E	20	0,000	0,042	-2,88

Tablo 24. PAL2'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q8BGH2	Sorting and assembly machinery component 50 homolog	4	0,001	0,014	4,71
P60202	Myelin proteolipid protein	9	0,000	0,012	3,37
Q9CZC8	Secernin-1	6	0,000	0,012	2,15
P35762	CD81 antigen	4	0,000	0,013	2,04
Q69Z37	Sterile alpha motif domain-containing protein 9-like	3	0,001	0,018	1,92
Q92111	Serotransferrin	5	0,001	0,015	1,87
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	6	0,001	0,016	1,87
P23506	Protein-L-isoaspartate(D-aspartate) O-methyltransferase	7	0,004	0,022	1,74
P09528	Ferritin heavy chain	9	0,008	0,035	1,70
Q61885	Myelin-oligodendrocyte glycoprotein	13	0,007	0,030	1,64
Q91WQ3	Tyrosine--tRNA ligase_ cytoplasmic	8	0,010	0,037	1,64
P35803	Neuronal membrane glycoprotein M6-b	8	0,002	0,019	1,64
P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	11	0,000	0,013	1,62
Q9R0P9	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L1	11	0,015	0,046	1,61
Q91X97	Neurocalcin-delta	6	0,002	0,018	1,61
Q61699	Heat shock protein 105 kDa	6	0,010	0,037	1,59
Q8BHN3	Neutral alpha-glucosidase AB	3	0,002	0,018	1,59
P62880	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta2	7	0,004	0,025	1,56
Q8CHH9	Septin-8	9	0,001	0,013	1,54
P48320	Glutamate decarboxylase 2	4	0,000	0,012	1,53
E9Q3E1	Aldehyde dehydrogenase family 3 member B2	3	0,001	0,018	1,52

Tablo 24. PAL2’de 5xFAD’a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q8K0U4	Heat shock 70 kDa protein 12A	12	0,003	0,021	1,51
Q6IRU5	Clathrin light chain B	5	0,000	0,012	1,47
Q9QUI0	Transforming protein RhoA	6	0,010	0,038	1,45
Q05816	Fatty acid-binding protein 5	3	0,004	0,023	1,44
P63005	Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit beta	10	0,000	0,013	1,44
P48962	ADP/ATP translocase 1	7	0,002	0,019	1,44
P16330	2'-3'-cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase	25	0,015	0,046	1,44
P62874	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta1	5	0,003	0,019	1,43
Q99JY9	Actin-related protein 3	8	0,001	0,016	1,43
P15105	Glutamine synthetase	23	0,004	0,022	1,43
P62823	Ras-related protein Rab-3C	5	0,009	0,036	1,43
Q9DAS9	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-12	3	0,012	0,042	1,42
Q9DCL9	Multifunctional protein ADE2	4	0,010	0,038	1,42
Q8BGT8	Phytanoyl-CoA hydroxylase-interacting protein-like	5	0,000	0,013	1,42
Q6ZWR6	Nesprin-1	12	0,001	0,015	1,41
Q9WTX5	S-phase kinase-associated protein 1	6	0,013	0,043	1,41
Q9D7X3	Dual specificity protein phosphatase 3	4	0,004	0,022	1,40
Q8R3P0	Aspartoacylase	3	0,006	0,027	1,38
Q9D8E6	60S ribosomal protein L4	9	0,011	0,039	1,38
Q3UM45	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 7	7	0,001	0,015	1,38
P17183	Gamma-enolase	19	0,004	0,023	1,37
Q6PIC6	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3	37	0,000	0,013	1,37
Q8CDN6	Thioredoxin-like protein 1	5	0,002	0,018	1,37
Q810U4	Neuronal cell adhesion molecule	12	0,002	0,018	1,37
P09103	Protein disulfide-isomerase	15	0,005	0,025	1,36
P52480	Pyruvate kinase PKM	34	0,001	0,015	1,36
P63330	Serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit alpha isoform	5	0,002	0,018	1,36
A2AKX3	Probable helicase senataxin	5	0,011	0,040	1,35
P19536	Cytochrome c oxidase subunit 5B	3	0,011	0,039	1,35
P35979	60S ribosomal protein L12	6	0,004	0,025	1,33
P61982	14-3-3 protein gamma	9	0,007	0,033	1,33
Q9CQI6	Coactosin-like protein	6	0,004	0,023	1,33
P18572	Basigin	6	0,009	0,036	1,33
P28652	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit beta	8	0,006	0,030	1,32
P35700	Peroxiredoxin-1	9	0,001	0,013	1,32
P48318	Glutamate decarboxylase 1	5	0,002	0,018	1,30

Tablo 24. PAL2’de 5xFAD’a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q9DBP5	UMP-CMP kinase	3	0,010	0,039	1,30
P35802	Neuronal membrane glycoprotein M6-a	6	0,003	0,022	1,30
Q7TMK9	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q	6	0,013	0,044	-1,31
Q9QXS1	Plectin	29	0,001	0,013	-1,33
P12960	Contactin-1	24	0,002	0,019	-1,34
O54991	Contactin-associated protein 1	15	0,006	0,030	-1,34
Q64105	Sepiapterin reductase	11	0,001	0,016	-1,34
Q9D0E1	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M	14	0,007	0,032	-1,36
O55125	Protein NipSnap homolog 1	5	0,005	0,027	-1,36
P56371	Ras-related protein Rab-4A	3	0,016	0,047	-1,37
P20152	Vimentin	24	0,009	0,036	-1,37
Q921F2	TAR DNA-binding protein 43	8	0,002	0,019	-1,37
Q99MN9	Propionyl-CoA carboxylase beta chain	3	0,002	0,018	-1,38
Q9EQ20	Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase [acylating]	6	0,007	0,030	-1,38
Q9CQE8	RNA transcription_ translation and transport factor protein	4	0,001	0,018	-1,39
Q91VN4	MICOS complex subunit Mic25	5	0,000	0,005	-1,39
Q8BWT1	3-ketoacyl-CoA thiolase	12	0,004	0,025	-1,40
P26041	Moesin	7	0,013	0,044	-1,40
Q922F4	Tubulin beta-6 chain	3	0,002	0,019	-1,40
Q9CQ69	Cytochrome b-c1 complex subunit 8	4	0,001	0,013	-1,46
Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa	5	0,004	0,022	-1,48
P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A	5	0,002	0,018	-1,49
A3KGB4	TBC1 domain family member 8B	3	0,004	0,023	-1,49
Q3TC72	Fumarylacetoacetate hydrolase domain-containing protein	3	0,005	0,025	-1,49
2A					
Q99JF8	PC4 and SFRS1-interacting protein	11	0,003	0,019	-1,50
Q3U0V1	Far upstream element-binding protein 2	9	0,013	0,043	-1,50
Q60676	Serine/threonine-protein phosphatase 5	6	0,001	0,016	-1,52
Q9CVB6	Actin-related protein 2/3 complex subunit 2	9	0,000	0,009	-1,52
Q8BGQ7	Alanine--tRNA ligase_ cytoplasmic	7	0,007	0,033	-1,54
Q9Z1P6	NADH dehydrogenase[ubiquinone]1 alpha subcomplex subunit 7	4	0,014	0,045	-1,54
P31001	Desmin	6	0,003	0,019	-1,58
P62196	26S proteasome regulatory subunit 8	3	0,003	0,019	-1,59
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	4	0,009	0,036	-1,59
O08810	116 kDa U5 small nuclear ribonucleoprotein component	5	0,001	0,013	-1,67
Q3UGR5	Haloacid dehalogenase-like hydrolase domain-containing protein2	3	0,000	0,005	-1,72

Tablo 24. PAL2’de 5xFAD’a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q9JMG7	Hepatoma-derived growth factor-related protein 3	3	0,002	0,018	-1,81
Q9ER00	Syntaxin-12	3	0,005	0,025	-1,82
Q9JLV5	Cullin-3	3	0,000	0,006	-1,96
Q5SUF2	Luc7-like protein 3	4	0,008	0,035	-1,98
P43276	Histone H1,5	3	0,009	0,037	-2,02
Q11011	Puromycin-sensitive aminopeptidase	20	0,001	0,013	-2,06
P84104	Serine/arginine-rich splicing factor 3	6	0,014	0,045	-2,09
P62331	ADP-ribosylation factor 6	5	0,000	0,012	-2,10
P70372	ELAV-like protein 1	4	0,000	0,008	-2,16
P84075	Neuron-specific calcium-binding protein hippocalcin	3	0,004	0,023	-2,27
P52503	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 6	4	0,001	0,015	-2,42
P67778	Prohibitin	6	0,002	0,018	-2,74
Q99MR8	Methylcrotonoyl-CoA carboxylase subunit alpha	4	0,000	0,008	-2,81
C0HKE6	Histone H2A type 1-I	4	0,002	0,018	-3,14
P53657	Pyruvate kinase PKLR	3	0,002	0,018	-3,94
P32848	Parvalbumin alpha	5	0,009	0,036	-3,98
Q6Q477	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4	5	0,000	0,012	-4,29
Q61768	Kinesin-1 heavy chain	5	0,000	0,001	-4,79

Tablo 25. SCO1’de 5xFAD’a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q6NZK5	Protein hinderin	3	0,000	0,003	2,59
Q8VHN7	G-protein coupled receptor 98	3	0,001	0,004	2,48
Q9DCV7	Keratin_ type II cytoskeletal 7	5	0,001	0,004	2,14
Q9ESW4	Acylglycerol kinase_mt	5	0,000	0,002	2,11
Q8R0W0	Epiplakin	3	0,000	0,002	2,00
Q91Y97	Fructose-bisphosphate aldolase B	3	0,001	0,004	1,98
Q9CZT8	Ras-related protein Rab-3B	5	0,002	0,006	1,96
Q9CZD3	Glycine--tRNA ligase	3	0,007	0,010	1,90
Q3UMR5	Calcium uniporter protein_mt	3	0,003	0,006	1,89
Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase_ decarboxylating	3	0,000	0,003	1,88
Q61831	Mitogen-activated protein kinase 10	3	0,017	0,017	1,87
Q8BLK9	Ribosomal protein S6 kinase delta-1	3	0,010	0,012	1,85
Q9CPU4	Microsomal glutathione S-transferase 3	3	0,000	0,001	1,79
Q99J99	3-mercaptopyruvate sulfurtransferase	4	0,007	0,010	1,76

Tablo 25. SCO1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P35979	60S ribosomal protein L12	4	0,000	0,003	1,76
Q8BH44	Coronin-2B	7	0,001	0,004	1,74
P11679	Keratin_type II cytoskeletal 8	3	0,000	0,003	1,65
Q9JF3	Ribosomal oxygenase 1	3	0,027	0,023	1,64
P62881	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-5	3	0,000	0,002	1,62
P47806	Zinc finger protein GLI1	3	0,005	0,009	1,61
P28867	Protein kinase C delta type	3	0,001	0,004	1,61
Q9R1V7	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 23	3	0,009	0,012	1,59
P63040	Complexin-1	3	0,001	0,004	1,58
Q9DCR2	AP-3 complex subunit sigma-1	3	0,010	0,012	1,56
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	6	0,000	0,002	1,54
P61750	ADP-ribosylation factor 4	3	0,002	0,006	1,53
P28474	Alcohol dehydrogenase class-3	6	0,002	0,005	1,53
Q8R574	Phosphoribosyl pyrophosphate synthase-associated protein 2	3	0,008	0,011	1,52
Q6X893	Choline transporter-like protein 1	4	0,001	0,004	1,51
P00493	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase	6	0,001	0,004	1,51
P60202	Myelin proteolipid protein	8	0,010	0,012	1,50
P50153	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-4	3	0,016	0,016	1,49
P63089	Pleiotrophin	3	0,039	0,029	1,49
O35316	Sodium- and chloride-dependent taurine transporter	3	0,002	0,005	1,48
P20917	Myelin-associated glycoprotein	14	0,001	0,005	1,48
P97370	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-3	6	0,009	0,012	1,48
Q6P8J7	Creatine kinase S-type_mt	3	0,000	0,003	1,47
Q9R0Q7	Prostaglandin E synthase 3	5	0,000	0,002	1,46
Q9WTL7	Acyl-protein thioesterase 2	3	0,023	0,021	1,45
Q8VD37	SH3-containing GRB2-like protein 3-interacting protein 1	5	0,002	0,005	1,44
Q923T9	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit gamma	10	0,001	0,005	1,42
P62320	Small nuclear ribonucleoprotein Sm D3	5	0,024	0,021	1,41
Q9DAW9	Calponin-3	4	0,031	0,025	1,40
O88990	Alpha-actinin-3	5	0,002	0,006	1,40
P09528	Ferritin heavy chain	9	0,003	0,007	1,39
P25444	40S ribosomal protein S2	10	0,022	0,020	1,39
P63330	Serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit alpha isoform	11	0,000	0,002	1,39

Tablo 25. SCO1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q3TXX4	Vesicular glutamate transporter 1	4	0,008	0,011	1,38
O88544	COP9 signalosome complex subunit 4	5	0,029	0,024	1,37
Q9JI46	Diphosphoinositol polyphosphate phosphohydrolase 1	4	0,013	0,015	1,36
P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	7	0,001	0,004	1,36
Q9D023	Mitochondrial pyruvate carrier 2	3	0,025	0,022	1,36
P47962	60S ribosomal protein L5	9	0,000	0,003	1,35
O08547	Vesicle-trafficking protein SEC22b	4	0,015	0,016	1,35
O35737	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	3	0,033	0,026	1,34
P97315	Cysteine and glycine-rich protein 1	10	0,012	0,013	1,34
Q9ERK4	Exportin-2	4	0,039	0,029	1,34
Q80UW2	F-box only protein 2	4	0,011	0,013	1,34
Q8BIJ6	Isoleucine--tRNA ligase_mt	4	0,037	0,028	1,34
Q791V5	Mitochondrial carrier homolog 2	6	0,028	0,023	1,33
Q9R1V6	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 22	7	0,015	0,016	1,33
O54984	ATPase Asna1	4	0,001	0,004	1,32
P35762	CD81 antigen	3	0,001	0,005	1,32
P55264	Adenosine kinase	4	0,003	0,007	1,32
P63137	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit beta-2	4	0,002	0,006	1,32
Q80SW1	S-adenosylhomocysteine hydrolase-like protein 1	8	0,036	0,027	1,31
P68040	Receptor of activated protein C kinase 1	14	0,000	0,003	1,31
P62889	60S ribosomal protein L30	3	0,023	0,021	1,31
P26231	Catenin alpha-1	6	0,004	0,008	-1,30
Q99JB2	Stomatin-like protein 2_mt	5	0,007	0,010	-1,30
P41105	60S ribosomal protein L28	4	0,001	0,005	-1,30
Q9WU78	Programmed cell death 6-interacting protein	4	0,007	0,010	-1,30
Q9R0Y5	Adenylate kinase isoenzyme 1	9	0,000	0,003	-1,31
P62627	Dynein light chain roadblock-type 1	3	0,009	0,012	-1,31
Q9D898	Actin-related protein 2/3 complex subunit 5-like protein	3	0,014	0,015	-1,31
P47964	60S ribosomal protein L36	3	0,010	0,012	-1,31
Q64433	10 kDa heat shock protein_mt	8	0,003	0,006	-1,31
Q61595	Kinectin	3	0,001	0,004	-1,32
Q9JLJ2	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase	4	0,015	0,016	-1,33
D3YXG0	Hemicentin-1	4	0,021	0,019	-1,33
Q60605	Myosin light polypeptide 6	6	0,001	0,004	-1,33
Q9CQE8	UPF0568 protein C14orf166 homolog	6	0,000	0,003	-1,34
Q9Z0P4	Paralemmin-1	10	0,000	0,003	-1,34

Tablo 25. SCO1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

O35295	Transcriptional activator protein Pur-beta	9	0,013	0,014	-1,34
Q9WVA4	Transgelin-2	3	0,003	0,006	-1,34
Q6Q477	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4	17	0,005	0,008	-1,34
Q7TQD2	Tubulin polymerization-promoting protein	9	0,001	0,004	-1,35
Q9WV27	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-4	8	0,002	0,006	-1,35
P27600	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12	4	0,005	0,009	-1,36
P21107	Tropomyosin alpha-3 chain	3	0,005	0,009	-1,36
O70133	ATP-dependent RNA helicase A	3	0,019	0,018	-1,36
P62774	Myotrophin	4	0,005	0,009	-1,36
Q6IRU5	Clathrin light chain B	12	0,000	0,002	-1,37
Q64332	Synapsin-2	18	0,003	0,007	-1,37
P60879	Synaptosomal-associated protein 25	17	0,003	0,006	-1,37
Q63810	Calcineurin subunit B type 1	9	0,015	0,016	-1,38
E9Q3L2	Phosphatidylinositol 4-kinase alpha	6	0,002	0,005	-1,39
Q06890	Clusterin	9	0,041	0,030	-1,39
Q9WTP7	GTP:AMP phosphotransferase AK3_mt	6	0,002	0,006	-1,40
A7XUY5	Selection and upkeep of intraepithelial T-cells protein 5	3	0,010	0,012	-1,40
Q02248	Catenin beta-1	12	0,002	0,005	-1,40
P04370	Myelin basic protein	13	0,001	0,004	-1,40
Q6P9K8	Caskin-1	3	0,005	0,008	-1,41
Q8CIS0	Caspase recruitment domain-containing protein 11	4	0,000	0,004	-1,41
P34884	Macrophage migration inhibitory factor	5	0,012	0,014	-1,41
Q80YN3	Breast carcinoma-amplified sequence 1 homolog	9	0,007	0,010	-1,41
P60843	Eukaryotic initiation factor 4A-I	6	0,004	0,007	-1,41
Q9Z0H4	CUGBP Elav-like family member 2	5	0,001	0,005	-1,41
Q6ZQ12	Ninein-like protein	4	0,003	0,006	-1,42
P06837	Neuromodulin	6	0,014	0,015	-1,43
Q91VN4	MICOS complex subunit Mic25	6	0,001	0,004	-1,43
P01942	Hemoglobin subunit alpha	7	0,002	0,006	-1,44
Q91ZZ3	Beta-synuclein	3	0,002	0,006	-1,44
Q9QXV0	ProSAAS	7	0,002	0,006	-1,45
Q99K48	Non-POU domain-containing octamer-binding protein	7	0,001	0,004	-1,46
P61089	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 N	5	0,001	0,004	-1,46
Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa_mt	8	0,001	0,004	-1,46
P48725	Pericentrin	4	0,000	0,004	-1,48
P0DP28	Calmodulin-3	8	0,000	0,003	-1,48
Q3U0V1	Far upstream element-binding protein 2	6	0,003	0,006	-1,50
P0CG50	Polyubiquitin-C	4	0,004	0,007	-1,52

Tablo 25. SCO1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P54227	Stathmin	5	0,003	0,006	-1,52
O54983	Ketimine reductase mu-crystallin	5	0,000	0,004	-1,53
P42230	Signal transducer and activator of transcription 5A	3	0,013	0,015	-1,57
P68033	Actin_ alpha cardiac muscle 1	6	0,000	0,002	-1,57
Q9WV80	Sorting nexin-1	3	0,017	0,017	-1,59
O55022	Membrane-associated progesterone receptor component 1	4	0,000	0,002	-1,59
P97450	ATP synthase-coupling factor 6_mt	7	0,001	0,005	-1,63
P16460	Argininosuccinate synthase	4	0,001	0,004	-1,63
O88741	Ganglioside-induced differentiation-associated protein 1	3	0,048	0,033	-1,63
P05480	Neuronal proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	3	0,007	0,010	-1,64
O55042	Alpha-synuclein	6	0,003	0,006	-1,65
A6H8H2	DENN domain-containing protein 4C	3	0,000	0,002	-1,67
P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	7	0,000	0,004	-1,67
Q8C0N1	Kinesin-like protein KIF2B	3	0,000	0,003	-1,73
P21278	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11	9	0,001	0,005	-1,76
P27601	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13	11	0,003	0,007	-1,79
Q9QWI6	SRC kinase signaling inhibitor 1	21	0,000	0,003	-1,79
P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	4	0,002	0,006	-1,80
Q8C0E2	Vacuolar protein sorting-associated protein 26B	4	0,000	0,002	-1,82
Q9QZM0	Ubiquilin-2	3	0,002	0,006	-1,85
Q9D8B3	Charged multivesicular body protein 4b	3	0,003	0,007	-1,94
Q811D0	Disks large homolog 1	7	0,001	0,004	-2,01
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	8	0,001	0,004	-2,02
Q9DCL9	Multifunctional protein ADE2	4	0,021	0,019	-2,26
O08756	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	3	0,033	0,026	-2,66
Q00612	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase X	5	0,007	0,010	-3,86

Tablo 26. SCO2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q6NZK5	Protein hinderin	3	0,000	0,005	2,85
Q9ESW4	Acylglycerol kinase_mt	5	0,005	0,011	2,52
Q8VHN7	G-protein coupled receptor 98	3	0,000	0,004	2,31
Q9DCR2	AP-3 complex subunit sigma-1	3	0,000	0,004	2,06
Q9DCV7	Keratin_type II cytoskeletal 7	5	0,001	0,006	2,04
Q91Y97	Fructose-bisphosphate aldolase B	3	0,005	0,010	2,01

Tablo 26. SCO2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q8R0W0	Epiplakin	3	0,000	0,005	1,94
P60202	Myelin proteolipid protein	8	0,005	0,010	1,84
Q9CPU4	Microsomal glutathione S-transferase 3	3	0,000	0,000	1,79
Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase_ decarboxylating	3	0,002	0,007	1,73
P35979	60S ribosomal protein L12	4	0,001	0,006	1,73
Q3UMR5	Calcium uniporter protein_mt	3	0,007	0,012	1,73
Q99J99	3-mercaptopyruvate sulfurtransferase	4	0,009	0,014	1,71
P47806	Zinc finger protein GLI1	3	0,008	0,013	1,71
Q8BLK9	Ribosomal protein S6 kinase delta-1	3	0,009	0,014	1,70
P62881	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-5	3	0,000	0,006	1,70
Q61831	Mitogen-activated protein kinase 10	3	0,042	0,032	1,68
Q9CZT8	Ras-related protein Rab-3B	5	0,041	0,032	1,66
Q9JF3	Ribosomal oxygenase 1	3	0,031	0,028	1,62
P00493	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase	6	0,001	0,006	1,60
P61750	ADP-ribosylation factor 4	3	0,001	0,006	1,60
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	6	0,003	0,009	1,58
P63040	Complexin-1	3	0,009	0,014	1,58
Q6P8J7	Creatine kinase S-type_mt	3	0,001	0,006	1,56
Q8BH44	Coronin-2B	7	0,011	0,015	1,54
P11679	Keratin_ type II cytoskeletal 8	3	0,012	0,016	1,51
O35316	Sodium- and chloride-dependent taurine transporter	3	0,022	0,023	1,50
P28474	Alcohol dehydrogenase class-3	6	0,005	0,011	1,48
P28867	Protein kinase C delta type	3	0,027	0,025	1,47
Q9CZD3	Glycine--tRNA ligase	3	0,025	0,025	1,47
Q3TXX4	Vesicular glutamate transporter 1	4	0,033	0,028	1,46
Q9R1V6	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 22	7	0,005	0,010	1,46
P35762	CD81 antigen	3	0,000	0,004	1,46
Q6X893	Choline transporter-like protein 1	4	0,003	0,008	1,45
Q8R574	Phosphoribosyl pyrophosphate synthase-associated protein 2	3	0,011	0,016	1,44
P16054	Protein kinase C epsilon type	3	0,017	0,020	1,44
Q9R0Q7	Prostaglandin E synthase 3	5	0,001	0,006	1,43
P50153	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-4	3	0,015	0,019	1,43
P20917	Myelin-associated glycoprotein	14	0,003	0,008	1,42
Q8VD37	SH3-containing GRB2-like protein 3-interacting protein 1	5	0,000	0,004	1,41
Q791V5	Mitochondrial carrier homolog 2	6	0,025	0,024	1,41
P55264	Adenosine kinase	4	0,008	0,013	1,41

Tablo 26. SCO2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q9D023	Mitochondrial pyruvate carrier 2	3	0,022	0,023	1,41
Q923T9	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit gamma	10	0,000	0,004	1,40
P63330	Serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit alpha isoform	11	0,003	0,008	1,40
Q61387	Cytochrome c oxidase subunit 7A-related protein_mt	4	0,033	0,029	1,38
O08547	Vesicle-trafficking protein SEC22b	4	0,010	0,015	1,38
O88990	Alpha-actinin-3	5	0,004	0,009	1,36
Q9CXW4	60S ribosomal protein L11	5	0,003	0,008	1,36
Q9JI46	Diphosphoinositol polyphosphate phosphohydrolase 1	4	0,023	0,023	1,35
Q9R1P4	Proteasome subunit alpha type-1	9	0,013	0,017	1,34
P47911	60S ribosomal protein L6	5	0,044	0,034	1,34
P63137	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit beta-2	4	0,007	0,012	1,33
P63216	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-3	8	0,007	0,012	1,33
Q922J6	Tetraspanin-2	3	0,017	0,020	1,33
Q8CHP8	Glycerol-3-phosphate phosphatase	3	0,008	0,014	1,31
P09528	Ferritin heavy chain	9	0,004	0,010	1,31
P62320	Small nuclear ribonucleoprotein Sm D3	5	0,043	0,033	1,30
P53810	Phosphatidylinositol transfer protein alpha isoform	6	0,002	0,008	1,30
Q9D0K2	Succinyl-CoA:3-ketoacid coenzyme A transferase 1_mt	20	0,004	0,010	-1,30
P97450	ATP synthase-coupling factor 6_mt	7	0,012	0,017	-1,31
Q60605	Myosin light polypeptide 6	6	0,002	0,008	-1,31
Q9WTP7	GTP:AMP phosphotransferase AK3_mt	6	0,010	0,015	-1,31
P15508	Spectrin beta chain_erythrocytic	4	0,003	0,008	-1,31
P21107	Tropomyosin alpha-3 chain	3	0,005	0,010	-1,31
P62812	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-1	4	0,023	0,023	-1,31
O55042	Alpha-synuclein	6	0,023	0,023	-1,32
Q5FWK3	Rho GTPase-activating protein 1	13	0,001	0,006	-1,32
P60879	Synaptosomal-associated protein 25	17	0,000	0,004	-1,33
E9Q3L2	Phosphatidylinositol 4-kinase alpha	6	0,002	0,008	-1,33
Q9ER00	Syntaxin-12	6	0,013	0,017	-1,34
Q9Z0P4	Paralemmin-1	10	0,001	0,006	-1,34
Q6Q477	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4	17	0,002	0,007	-1,35
P97797	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1	10	0,030	0,027	-1,35
Q9WV27	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-4	8	0,001	0,006	-1,35
P61089	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 N	5	0,002	0,007	-1,38

Tablo 26. SCO2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

O09111	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 11_mt	3	0,002	0,008	-1,38
Q02248	Catenin beta-1	12	0,002	0,007	-1,38
P01942	Hemoglobin subunit alpha	7	0,000	0,002	-1,38
P35278	Ras-related protein Rab-5C	6	0,009	0,014	-1,38
P0DP28	Calmodulin-3	8	0,007	0,013	-1,38
P54227	Stathmin	5	0,033	0,028	-1,39
P41105	60S ribosomal protein L28	4	0,006	0,012	-1,40
Q91VN4	MICOS complex subunit Mic25	6	0,001	0,006	-1,41
O35295	Transcriptional activator protein Pur-beta	9	0,006	0,011	-1,42
P49615	Cyclin-dependent-like kinase 5	5	0,001	0,006	-1,43
Q8CIS0	Caspase recruitment domain-containing protein 11	4	0,002	0,007	-1,43
P60843	Eukaryotic initiation factor 4A-I	6	0,007	0,013	-1,43
Q9D898	Actin-related protein 2/3 complex subunit 5-like protein	3	0,002	0,007	-1,43
Q6ZQ12	Ninein-like protein	4	0,002	0,008	-1,44
Q9Z0H4	CUGBP Elav-like family member 2	5	0,001	0,006	-1,44
P10630	Eukaryotic initiation factor 4A-II	6	0,005	0,011	-1,44
Q63810	Calcineurin subunit B type 1	9	0,019	0,022	-1,45
Q6P9K8	Caskin-1	3	0,005	0,011	-1,45
P15116	Cadherin-2	4	0,002	0,007	-1,45
O54983	Ketimine reductase mu-crystallin	5	0,000	0,006	-1,45
P22892	AP-1 complex subunit gamma-1	3	0,020	0,022	-1,46
Q91WQ3	Tyrosine--tRNA ligase_ cytoplasmic	3	0,009	0,014	-1,46
Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa_mt	8	0,001	0,006	-1,48
P48725	Pericentrin	4	0,010	0,015	-1,48
Q9CQE8	UPF0568 protein C14orf166 homolog	6	0,001	0,006	-1,50
P16460	Argininosuccinate synthase	4	0,001	0,006	-1,50
P06837	Neuromodulin	6	0,009	0,014	-1,52
P68033	Actin_ alpha cardiac muscle 1	6	0,001	0,006	-1,53
Q99K48	Non-POU domain-containing octamer-binding protein	7	0,004	0,009	-1,55
Q9QXV0	ProSAAS	7	0,002	0,007	-1,56
P63037	DnaJ homolog subfamily A member 1	4	0,001	0,006	-1,56
P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	7	0,008	0,013	-1,57
Q3U0V1	Far upstream element-binding protein 2	6	0,002	0,007	-1,57
A6H8H2	DENN domain-containing protein 4C	3	0,001	0,006	-1,58
Q8C0N1	Kinesin-like protein KIF2B	3	0,005	0,010	-1,59
P05480	Neuronal proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	3	0,006	0,011	-1,60
O55022	Membrane-associated progesterone receptor component 1	4	0,000	0,004	-1,61

Tablo 26. SCO2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P42230	Signal transducer and activator of transcription 5A	3	0,012	0,017	-1,61
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	8	0,002	0,007	-1,62
Q9WV80	Sorting nexin-1	3	0,005	0,011	-1,65
P21278	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11	9	0,000	0,006	-1,68
Q9QWI6	SRC kinase signaling inhibitor 1	21	0,000	0,004	-1,69
Q9QZM0	Ubiquilin-2	3	0,002	0,007	-1,75
P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	4	0,001	0,006	-1,77
Q06890	Clusterin	9	0,010	0,015	-1,84
Q8C0E2	Vacuolar protein sorting-associated protein 26B	4	0,001	0,006	-1,84
P70175	Disks large homolog 3	4	0,005	0,010	-1,88
P27601	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13	11	0,001	0,006	-1,89
A2AQP0	Myosin-7B	4	0,005	0,010	-1,90
Q9D8B3	Charged multivesicular body protein 4b	3	0,005	0,011	-1,92
Q811D0	Disks large homolog 1	7	0,000	0,006	-2,01
O88741	Ganglioside-induced differentiation-associated protein 1	3	0,000	0,004	-2,12
Q9DCL9	Multifunctional protein ADE2	4	0,000	0,005	-3,09
O08756	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	3	0,002	0,007	-4,24
Q00612	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase X	5	0,003	0,009	-4,51

Tablo 27. SCO2'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
P60710	Actin_ cytoplasmic 1	3	0,001	0,041	2,65
P35762	CD81 antigen	3	0,003	0,041	2,23
P60202	Myelin proteolipid protein	5	0,002	0,041	2,14
P62880	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta2	6	0,000	0,026	1,86
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	4	0,000	0,009	1,77
P62874	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-1	3	0,004	0,050	1,71
Q8K0U4	Heat shock 70 kDa protein 12A	7	0,002	0,041	1,55
G5E829	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 1	9	0,003	0,041	1,51
Q99PJ0	Neurotrimin	4	0,003	0,043	1,49
Q60605	Myosin light polypeptide 6	5	0,002	0,041	1,48
Q8R081	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L	11	0,004	0,046	1,48
Q99K51	Plastin-3	3	0,002	0,041	1,46

Tablo 27. SCO2'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi(devam)

Q61885	Myelin-oligodendrocyte glycoprotein	9	0,004	0,048	1,45
Q9R0Y5	Adenylate kinase isoenzyme 1	5	0,002	0,041	1,38
Q9D7X3	Dual specificity protein phosphatase 3	3	0,004	0,048	1,38
P62482	Voltage-gated potassium channel subunit beta-2	3	0,001	0,041	1,38
Q9D6J5	NADH dehydrogenase[ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 8_mt	7	0,001	0,041	1,33
P20152	Vimentin	28	0,002	0,041	-1,33
Q9Z2D6	Methyl-CpG-binding protein 2	11	0,002	0,041	-1,33
Q8VIJ6	Splicing factor_ proline- and glutamine-rich	9	0,003	0,044	-1,34
Q9D1G1	Ras-related protein Rab-1B	4	0,000	0,004	-1,35
Q9R1P4	Proteasome subunit alpha type-1	5	0,003	0,041	-1,36
P43274	Histone H1,4	4	0,000	0,009	-1,42
P35278	Ras-related protein Rab-5C	5	0,002	0,041	-1,55
Q3THE2	Myosin regulatory light chain 12B	5	0,002	0,041	-1,60
Q9CX86	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A0	8	0,003	0,041	-1,74
P0CG50	Polyubiquitin-C	3	0,002	0,041	-1,74
Q9CZW5	Mitochondrial import receptor subunit TOM70	6	0,004	0,048	-1,82
P12660	Purkinje cell protein 2	3	0,002	0,041	-1,84
O08756	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	3	0,001	0,041	-2,17
O35737	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	4	0,000	0,026	-2,29

Tablo 28. PTX1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q6NZK5	Protein hinderin	3	0,000	0,002	2,58
Q9CZT8	Ras-related protein Rab-3B	5	0,002	0,005	2,47
Q9DCR2	AP-3 complex subunit sigma-1	3	0,000	0,002	2,21
Q8VHN7	G-protein coupled receptor 98	3	0,001	0,004	2,07
Q3UMR5	Calcium uniporter protein_mt	3	0,006	0,009	2,00
Q9ESW4	Acylglycerol kinase_mt	5	0,002	0,005	2,00
Q8R0W0	Epiplakin	3	0,000	0,002	1,97
Q9DCV7	Keratin_ type II cytoskeletal 7	5	0,000	0,000	1,93
Q61831	Mitogen-activated protein kinase 10	3	0,026	0,020	1,92
Q9CPU4	Microsomal glutathione S-transferase 3	3	0,001	0,004	1,81
Q9CZD3	Glycine--tRNA ligase	3	0,018	0,016	1,80
Q9JF3	Ribosomal oxygenase 1	3	0,020	0,017	1,77

Tablo 28. PTX1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q8BH44	Coronin-2B	7	0,000	0,003	1,74
P97370	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-3	6	0,005	0,008	1,70
P50153	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-4	3	0,007	0,010	1,69
Q8BLK9	Ribosomal protein S6 kinase delta-1	3	0,010	0,011	1,69
Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase_ decarboxylating	3	0,001	0,004	1,68
Q9JI46	Diphosphoinositol polyphosphate phosphohydrolase 1	4	0,006	0,009	1,67
P35979	60S ribosomal protein L12	4	0,000	0,002	1,64
Q91Y97	Fructose-bisphosphate aldolase B	3	0,002	0,005	1,63
Q9R0Q7	Prostaglandin E synthase 3	5	0,000	0,000	1,61
P47806	Zinc finger protein GLI1	3	0,006	0,008	1,60
P00493	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase	6	0,001	0,005	1,58
P11679	Keratin_ type II cytoskeletal 8	3	0,001	0,004	1,57
Q99J99	3-mercaptopyruvate sulfurtransferase	4	0,012	0,013	1,56
Q8CAY6	Acetyl-CoA acetyltransferase_ cytosolic	6	0,018	0,016	1,56
P25444	40S ribosomal protein S2	10	0,002	0,005	1,55
Q9R1V7	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 23	3	0,010	0,011	1,55
P61750	ADP-ribosylation factor 4	3	0,007	0,010	1,52
P62320	Small nuclear ribonucleoprotein Sm D3	5	0,020	0,017	1,52
P62881	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-5	3	0,005	0,008	1,51
P63089	Pleiotrophin	3	0,006	0,009	1,51
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	6	0,002	0,005	1,50
Q9WTL7	Acyl-protein thioesterase 2	3	0,019	0,016	1,49
P28474	Alcohol dehydrogenase class-3	6	0,002	0,005	1,48
O35316	Sodium- and chloride-dependent taurine transporter	3	0,004	0,008	1,47
O88544	COP9 signalosome complex subunit 4	5	0,015	0,014	1,47
P20917	Myelin-associated glycoprotein	14	0,001	0,005	1,47
Q8R574	Phosphoribosyl pyrophosphate synthase-associated protein 2	3	0,006	0,009	1,47
Q9DAW9	Calponin-3	4	0,015	0,014	1,44
P09528	Ferritin heavy chain	9	0,001	0,004	1,44
P63330	Serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit α isoform	11	0,000	0,002	1,42
Q8BIJ6	Isoleucine--tRNA ligase_mt	4	0,002	0,005	1,41
P28867	Protein kinase C delta type	3	0,012	0,012	1,41
P63040	Complexin-1	3	0,013	0,013	1,41
O54984	ATPase Asna1	4	0,001	0,004	1,40
P16054	Protein kinase C epsilon type	3	0,019	0,017	1,39

Tablo 28. PTX1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q8VD37	SH3-containing GRB2-like protein 3-interacting protein 1	5	0,005	0,008	1,39
P60202	Myelin proteolipid protein	8	0,022	0,018	1,39
Q6X893	Choline transporter-like protein 1	4	0,004	0,007	1,39
Q8BGZ1	Hippocalcin-like protein 4	6	0,001	0,004	1,39
Q9ERK4	Exportin-2	4	0,021	0,018	1,37
Q6P8J7	Creatine kinase S-type_mt	3	0,001	0,005	1,36
P59279	Ras-related protein Rab-2B	3	0,005	0,008	1,36
O35633	Vesicular inhibitory amino acid transporter	3	0,036	0,025	1,34
Q9CQI3	Glia maturation factor beta	6	0,002	0,005	1,34
P62880	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta2	5	0,003	0,007	1,34
O88990	Alpha-actinin-3	5	0,007	0,009	1,34
Q7TPV4	Myb-binding protein 1A	3	0,021	0,018	1,32
P55264	Adenosine kinase	4	0,006	0,009	1,32
Q791V5	Mitochondrial carrier homolog 2	6	0,041	0,027	1,32
Q9R1V6	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 22	7	0,019	0,017	1,31
O08547	Vesicle-trafficking protein SEC22b	4	0,009	0,011	1,31
Q80UW2	F-box only protein 2	4	0,004	0,007	1,30
P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	7	0,004	0,007	1,30
E9Q3L2	Phosphatidylinositol 4-kinase alpha	6	0,001	0,005	-1,30
P35505	Fumarylacetoacetase	4	0,008	0,010	-1,30
C0HKE4	Histone H2A type 1-E	5	0,008	0,010	-1,30
P41105	60S ribosomal protein L28	4	0,004	0,007	-1,31
Q6ZQ12	Ninein-like protein	4	0,014	0,014	-1,31
P84228	Histone H3,2	5	0,002	0,005	-1,31
O54983	Ketimine reductase mu-crystallin	5	0,005	0,008	-1,31
P10853	Histone H2B type 1-F/J/L	3	0,000	0,002	-1,32
P13020	Gelsolin	4	0,001	0,005	-1,32
P62627	Dynein light chain roadblock-type 1	3	0,027	0,021	-1,33
P60879	Synaptosomal-associated protein 25	17	0,003	0,006	-1,33
Q9WTP7	GTP:AMP phosphotransferase AK3_mt	6	0,009	0,011	-1,33
Q9D898	Actin-related protein 2/3 complex subunit 5-like protein	3	0,000	0,003	-1,33
Q7TQD2	Tubulin polymerization-promoting protein	9	0,001	0,004	-1,33
Q11011	Puromycin-sensitive aminopeptidase	21	0,002	0,005	-1,34
Q9D2D7	Zinc finger protein 687	3	0,001	0,005	-1,34
Q9CQE8	UPF0568 protein C14orf166 homolog	6	0,008	0,010	-1,34
Q91VM5	RNA binding motif protein_X-linked-like-1	7	0,043	0,028	-1,34

Tablo 28. PTX1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P21107	Tropomyosin alpha-3 chain	3	0,003	0,007	-1,35
P61089	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 N	5	0,002	0,005	-1,36
Q6IRU5	Clathrin light chain B	12	0,000	0,002	-1,37
P68033	Actin_alpha cardiac muscle 1	6	0,004	0,007	-1,37
P10630	Eukaryotic initiation factor 4A-II	6	0,008	0,010	-1,37
P01942	Hemoglobin subunit alpha	7	0,002	0,005	-1,38
P49615	Cyclin-dependent-like kinase 5	5	0,000	0,003	-1,38
Q9Z0P4	Paralemmin-1	10	0,001	0,004	-1,39
P60843	Eukaryotic initiation factor 4A-I	6	0,005	0,008	-1,39
Q02248	Catenin beta-1	12	0,002	0,006	-1,40
P54227	Stathmin	5	0,006	0,009	-1,40
Q3U0V1	Far upstream element-binding protein 2	6	0,003	0,006	-1,41
O55022	Membrane-associated progesterone receptor component 1	4	0,000	0,002	-1,41
Q9QXV0	ProSAAS	7	0,002	0,005	-1,41
P63037	DnaJ homolog subfamily A member 1	4	0,005	0,008	-1,41
O35295	Transcriptional activator protein Pur-beta	9	0,001	0,005	-1,41
Q91ZZ3	Beta-synuclein	3	0,003	0,006	-1,43
P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	4	0,003	0,007	-1,43
Q9Z0H4	CUGBP Elav-like family member 2	5	0,001	0,004	-1,43
Q8CIS0	Caspase recruitment domain-containing protein 11	4	0,000	0,003	-1,43
Q06890	Clusterin	9	0,010	0,011	-1,44
O55042	Alpha-synuclein	6	0,005	0,008	-1,44
Q80YN3	Breast carcinoma-amplified sequence 1 homolog	9	0,003	0,006	-1,44
P42230	Signal transducer and activator of transcription 5A	3	0,028	0,021	-1,45
P16460	Argininosuccinate synthase	4	0,001	0,005	-1,45
Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa_mt	8	0,000	0,002	-1,45
Q99K48	Non-POU domain-containing octamer-binding protein	7	0,002	0,006	-1,47
P0DP28	Calmodulin-3	8	0,002	0,005	-1,48
Q6P9K8	Caskin-1	3	0,003	0,006	-1,49
P48725	Pericentrin	4	0,005	0,008	-1,51
Q61387	Cytochrome c oxidase subunit 7A-related protein_mt	4	0,005	0,008	-1,53
P05480	Neuronal proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	3	0,003	0,006	-1,53
P15116	Cadherin-2	4	0,001	0,005	-1,55
A6H8H2	DENN domain-containing protein 4C	3	0,001	0,005	-1,56
Q8C0N1	Kinesin-like protein KIF2B	3	0,000	0,003	-1,57
P04370	Myelin basic protein	13	0,000	0,002	-1,65
P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	7	0,000	0,003	-1,67
P0CG50	Polyubiquitin-C	4	0,037	0,025	-1,69

Tablo 28. PTX1'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

Q9WV80	Sorting nexin-1	3	0,004	0,007	-1,72
Q9QWI6	SRC kinase signaling inhibitor 1	21	0,001	0,004	-1,73
P97450	ATP synthase-coupling factor 6_mt	7	0,000	0,003	-1,74
Q8C0E2	Vacuolar protein sorting-associated protein 26B	4	0,001	0,004	-1,77
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	8	0,000	0,003	-1,77
P21278	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11	9	0,000	0,003	-1,77
A2AQP0	Myosin-7B	4	0,004	0,007	-1,79
P27601	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13	11	0,001	0,004	-1,81
O88741	Ganglioside-induced differentiation-associated protein 1	3	0,002	0,005	-1,81
Q9QZM0	Ubiquilin-2	3	0,000	0,002	-1,83
Q9D8B3	Charged multivesicular body protein 4b	3	0,005	0,008	-1,93
Q811D0	Disks large homolog 1	7	0,000	0,003	-2,01
Q9DCL9	Multifunctional protein ADE2	4	0,000	0,004	-3,16
O08756	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	3	0,003	0,006	-3,44
Q00612	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase X	5	0,001	0,005	-4,25

Tablo 29. PTX2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
Q6NZK5	Protein hinderin	3	0,000	0,006	2,97
Q8VHN7	G-protein coupled receptor 98	3	0,000	0,006	2,14
P50153	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-4	3	0,001	0,010	2,09
Q9DCR2	AP-3 complex subunit sigma-1	3	0,009	0,023	2,05
Q8R0W0	Epiplakin	3	0,002	0,012	1,91
P62881	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-5	3	0,000	0,006	1,91
Q9ESW4	Acylglycerol kinase_mt	5	0,003	0,013	1,87
Q91Y97	Fructose-bisphosphate aldolase B	3	0,001	0,010	1,86
Q9DCV7	Keratin_type II cytoskeletal 7	5	0,001	0,010	1,83
P60202	Myelin proteolipid protein	8	0,002	0,013	1,79
Q9CPU4	Microsomal glutathione S-transferase 3	3	0,000	0,007	1,79
Q8BLK9	Ribosomal protein S6 kinase delta-1	3	0,008	0,021	1,77
Q9CZT8	Ras-related protein Rab-3B	5	0,013	0,028	1,76
Q61831	Mitogen-activated protein kinase 10	3	0,032	0,047	1,72
Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase_ decarboxylating	3	0,003	0,014	1,67
Q3TXX4	Vesicular glutamate transporter 1	4	0,010	0,024	1,65

Tablo 29. PTX2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P47806	Zinc finger protein GLI1	3	0,003	0,013	1,64
Q9R0Q7	Prostaglandin E synthase 3	5	0,000	0,007	1,64
Q9JI46	Diphosphoinositol polyphosphate phosphohydrolase 1	4	0,001	0,010	1,63
Q99KX1	Myeloid leukemia factor 2	3	0,031	0,046	1,61
O35633	Vesicular inhibitory amino acid transporter	3	0,003	0,013	1,59
P61750	ADP-ribosylation factor 4	3	0,004	0,017	1,59
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	6	0,001	0,010	1,56
Q6P8J7	Creatine kinase S-type_mt	3	0,000	0,007	1,54
P09528	Ferritin heavy chain	9	0,001	0,008	1,53
P35979	60S ribosomal protein L12	4	0,014	0,030	1,53
P63213	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-2	12	0,009	0,022	1,52
Q8BH44	Coronin-2B	7	0,002	0,012	1,48
P11679	Keratin_type II cytoskeletal 8	3	0,001	0,010	1,47
P35762	CD81 antigen	3	0,000	0,006	1,46
P20917	Myelin-associated glycoprotein	14	0,001	0,010	1,45
Q791V5	Mitochondrial carrier homolog 2	6	0,009	0,023	1,45
Q6X893	Choline transporter-like protein 1	4	0,003	0,014	1,45
P28474	Alcohol dehydrogenase class-3	6	0,009	0,023	1,43
P16054	Protein kinase C epsilon type	3	0,021	0,036	1,43
Q62167	ATP-dependent RNA helicase DDX3X	3	0,014	0,030	1,43
P35802	Neuronal membrane glycoprotein M6-a	8	0,002	0,012	1,41
Q8BIJ6	Isoleucine--tRNA ligase_mt	4	0,001	0,010	1,41
P47809	Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 4	7	0,012	0,026	1,40
P48962	ADP/ATP translocase 1	11	0,007	0,021	1,40
Q8VD37	SH3-containing GRB2-like protein 3-interacting protein 1	5	0,000	0,007	1,39
Q8R1Q8	Cytoplasmic dynein 1 light intermediate chain 1	9	0,001	0,009	1,39
Q8VCH0	3-ketoacyl-CoA thiolase B_peroxisomal	6	0,002	0,011	1,39
Q9R0Q6	Actin-related protein 2/3 complex subunit 1A	9	0,002	0,012	1,39
Q923T9	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit gamma	10	0,010	0,024	1,38
Q9CR61	NADH dehydrogenase[ubiquinone]1 beta subcomplex subunit7	7	0,017	0,032	1,37
P63330	Serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit alpha isoform	11	0,000	0,007	1,37
O88990	Alpha-actinin-3	5	0,022	0,037	1,36
Q9R1V6	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 22	7	0,010	0,025	1,35
P63242	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1	5	0,006	0,019	1,34

Tablo 29. PTX2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi(devam)

Q9CQJ8	NADH dehydrogenase[ubiquinone]1 beta subcomplex subunit9	7	0,001	0,010	1,33
P62838	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 D2	3	0,001	0,010	1,33
Q5SSL4	Active breakpoint cluster region-related protein	5	0,000	0,007	1,33
P62761	Visinin-like protein 1	10	0,002	0,012	1,32
Q8CHP8	Glycerol-3-phosphate phosphatase	3	0,004	0,017	1,32
Q8VED5	Keratin_ type II cytoskeletal 79	5	0,011	0,026	1,32
Q8R5J9	PRA1 family protein 3	3	0,034	0,049	1,31
Q62419	Endophilin-A2	8	0,007	0,021	1,31
P97315	Cysteine and glycine-rich protein 1	10	0,000	0,007	1,30
P28740	Kinesin-like protein KIF2A	5	0,029	0,045	1,30
P63216	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-3	8	0,004	0,016	1,30
Q6ZQ12	Ninein-like protein	4	0,006	0,020	-1,31
P51880	Fatty acid-binding protein_ brain	3	0,018	0,033	-1,31
P55088	Aquaporin-4	3	0,002	0,012	-1,31
Q810U4	Neuronal cell adhesion molecule	21	0,002	0,011	-1,31
Q9D2D7	Zinc finger protein 687	3	0,006	0,019	-1,31
Q02248	Catenin beta-1	12	0,001	0,010	-1,32
P28656	Nucleosome assembly protein 1-like 1	3	0,003	0,014	-1,32
P27600	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12	4	0,010	0,024	-1,33
P16460	Argininosuccinate synthase	4	0,032	0,047	-1,33
P01942	Hemoglobin subunit alpha	7	0,026	0,042	-1,33
Q8BH95	Enoyl-CoA hydratase_mt	8	0,015	0,031	-1,34
Q9WU78	Programmed cell death 6-interacting protein	4	0,027	0,043	-1,34
Q8CJ19	[F-actin]-methionine sulfoxide oxidase MICAL3	3	0,019	0,034	-1,34
P29758	Ornithine aminotransferase_mt	4	0,033	0,048	-1,34
P31786	Acyl-CoA-binding protein	4	0,013	0,028	-1,34
Q78ZA7	Nucleosome assembly protein 1-like 4	4	0,034	0,049	-1,34
P49615	Cyclin-dependent-like kinase 5	5	0,001	0,010	-1,35
Q8BLF1	Neutral cholesterol ester hydrolase 1	5	0,002	0,011	-1,35
Q8BK64	Activator of 90 kDa heat shock protein ATPase homolog 1	8	0,002	0,012	-1,35
P68033	Actin_ alpha cardiac muscle 1	6	0,020	0,036	-1,36
P63318	Protein kinase C gamma type	17	0,001	0,010	-1,36
Q99K48	Non-POU domain-containing octamer-binding protein	7	0,003	0,014	-1,39
Q9ER00	Syntaxin-12	6	0,007	0,021	-1,39
P13020	Gelsolin	4	0,002	0,012	-1,39
P70175	Disks large homolog 3	4	0,021	0,037	-1,40

Tablo 29. PTX2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P26040	Ezrin	8	0,001	0,010	-1,40
O54983	Ketimine reductase mu-crystallin	5	0,006	0,019	-1,40
P0DP28	Calmodulin-3	8	0,007	0,021	-1,40
D3YVF0	A-kinase anchor protein 5	10	0,000	0,006	-1,40
O55042	Alpha-synuclein	6	0,022	0,037	-1,41
P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	7	0,031	0,047	-1,41
Q99020	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B	5	0,026	0,042	-1,41
Q9QWI6	SRC kinase signaling inhibitor 1	21	0,006	0,020	-1,42
Q91VN4	MICOS complex subunit Mic25	6	0,004	0,015	-1,44
Q8CIS0	Caspase recruitment domain-containing protein 11	4	0,001	0,009	-1,46
Q63810	Calcineurin subunit B type 1	9	0,014	0,030	-1,47
A6H8H2	DENN domain-containing protein 4C	3	0,002	0,012	-1,47
Q9QXV0	ProSAAS	7	0,002	0,012	-1,52
Q7TMB8	Cytoplasmic FMR1-interacting protein 1	7	0,001	0,010	-1,52
P41105	60S ribosomal protein L28	4	0,016	0,032	-1,53
P21278	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11	9	0,002	0,011	-1,54
Q9R257	Fructose-bisphosphate aldolase B	4	0,010	0,024	-1,55
Q9QZM0	Ubiquilin-2	3	0,014	0,030	-1,55
Q8C0N1	Kinesin-like protein KIF2B	3	0,015	0,031	-1,56
P63037	DnaJ homolog subfamily A member 1	4	0,003	0,014	-1,59
O55022	Membrane-associated progesterone receptor component 1	4	0,000	0,006	-1,59
P35505	Fumarylacetoacetase	4	0,017	0,032	-1,60
P54227	Stathmin	5	0,018	0,034	-1,66
Q8C0E2	Vacuolar protein sorting-associated protein 26B	4	0,001	0,010	-1,68
Q811D0	Disks large homolog 1	7	0,007	0,021	-1,69
P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	4	0,001	0,008	-1,73
P97450	ATP synthase-coupling factor 6_mt	7	0,005	0,017	-1,75
P20152	Vimentin	18	0,000	0,006	-1,77
Q9D8B3	Charged multivesicular body protein 4b	3	0,008	0,021	-1,77
P35278	Ras-related protein Rab-5C	6	0,000	0,006	-1,78
P52760	2-iminobutanoate/2-iminopropanoate deaminase	8	0,000	0,002	-1,81
A2AQP0	Myosin-7B	4	0,003	0,013	-1,81
P27601	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13	11	0,001	0,010	-1,87
O88741	Ganglioside-induced differentiation-associated protein 1	3	0,000	0,007	-1,88
P42230	Signal transducer and activator of transcription 5A	3	0,002	0,012	-1,89
P12023	Amyloid-beta A4 protein	14	0,000	0,007	-2,04
P0CG50	Polyubiquitin-C	4	0,004	0,016	-2,10
P03995	Glial fibrillary acidic protein	34	0,000	0,006	-2,18

Tablo 29. PTX2'de 5xFAD'a kıyasla korteks bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi (devam)

P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	8	0,000	0,006	-2,20
Q9DCL9	Multifunctional protein ADE2	4	0,009	0,023	-2,49
Q06890	Clusterin	9	0,001	0,009	-2,64
P08226	Apolipoprotein E	20	0,000	0,007	-2,66
O08756	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	3	0,001	0,010	-3,29
Q00612	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase X	5	0,016	0,032	-3,35

Tablo 30. PTX1'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değışiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
P60202	Myelin proteolipid protein	5	0,000	0,015	2,37
P60710	Actin_cytoplasmic 1	3	0,001	0,034	2,31
P35762	CD81 antigen	3	0,002	0,037	1,95
P62880	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-2	6	0,001	0,034	1,67
P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	4	0,003	0,048	1,53
G5E829	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 1	9	0,000	0,016	1,49
P15105	Glutamine synthetase	13	0,002	0,043	1,49
Q60930	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	9	0,001	0,034	1,46
Q99PJ0	Neurotrimin	4	0,000	0,015	1,41
Q8K0U4	Heat shock 70 kDa protein 12A	7	0,001	0,034	1,41
Q8R081	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L	11	0,001	0,036	1,39
P14869	60S acidic ribosomal protein P0	3	0,002	0,037	1,39
Q91WC3	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 6	5	0,003	0,044	1,37
Q9QUI0	Transforming protein RhoA	4	0,000	0,015	1,37
P20152	Vimentin	28	0,002	0,043	-1,53
Q9QZM0	Ubiquilin-2	4	0,002	0,040	-1,67
Q3THE2	Myosin regulatory light chain 12B	5	0,001	0,034	-1,71
O35737	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	4	0,001	0,034	-2,18
O08756	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	3	0,002	0,040	-2,43
Q9WV55	Vesicle-associated membrane protein-associated protein A	6	0,000	0,015	-2,79
P70372	ELAV-like protein 1	3	0,000	0,014	-4,56

Tablo 31. PTX2'de 5xFAD'a kıyasla serebellum bölgesinde anlamlı ifade değişiklikleri görülen proteinlerin listesi

Uniprot no	Protein ismi	öps	p	q	DO
P60202	Myelin proteolipid protein	5	0,000	0,042	2,27



EK 2

Etik kurul izni



9 ÖZGEÇMİŞ











