

İleri Alzheimer Hastalarında Azalmış Serum VEGF ve TGF-B1 Seviyeleri; bir ön çalışma

Decreased Serum VEGF and TGF-B1 Levels in Advanced Alzheimer's Patients; a preliminary study

¹Ender KAYA , ^{2,3}Durmuş AYAN , ²Esma ÖZMEN , ²Seyyid Mehmet BULUT , ⁴İsmail SARI , ^{2*}Serpil ERŞAN 

¹Prof. Dr. Cemil Taşçıoğlu Şehir Hastanesi, Psikiyatri Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Niğde, Türkiye

³Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Niğde, Türkiye

⁴Kırklareli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Kırklareli, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author
E-mail: serpilersan@gmail.com

Geliş Tarihi/ Date of Submission: 09.08.2024

Kabul Tarihi/ Date of Acceptance: 11.09.2024

Yayın Tarihi/ Date of Publication: 30.09.2024

Değerlendirme/ Peer-Review: İki Dış Hakem, Çift Taraflı Körleme / Two external, Double anonymized

EtikBeyan / Ethical Statement: Bu çalışmanın hazırlanma sürecinde bilimsel ve etik ilkelere uyulduğu ve yararlanılan tüm çalışmaların kaynakçada belirtildiği beyan olunur./It is declared that scientific and ethical principles have been followed while carrying out and writing this study and that all the sources used have been properly cited.

Benzerlik Taraması/ Plagiarism checks: Yapıldı – Turnitin/ Yes – Turnitin

Çıkar Çatışması/ Conflicts of Interest: Çıkar çatışması beyan edilmemiştir/The author(s) has no conflict of interest to declare

Finansman/ Grant Support: Bu araştırmayı desteklemek için dış fon kullanılmamıştır/The author(s) acknowledge that they received no external funding in support of this research

Telif Hakkı & Lisans/Copyright & License: Yazarlar dergide yayınlanan çalışmalarının telif hakkına sahiptirler ve çalışmalarını CC BY-NC 4.0 lisansı altında yayımlanmaktadır /Authors publishing with the journal retain the copyright to their work licensed under the CC BY-NC4.0

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada ileri evre Alzheimer hastalığında (AH) VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü) ve TGF-β1 (Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta 1) seviyelerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntemler: Çalışma kapsamında toplam 60 katılımcı değerlendirilmiştir. Bunların 30'u hasta grubunu, 30'u ise kontrol grubunu oluşturmaktadır. Hasta ve kontrol grubuna ait serum örneklerinde VEGF ve TGF-β1 düzeyleri (ELISA) yöntemiyle ölçülmüştür.

Bulgular: AH ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımlarının benzer olduğu belirlendi. AH grubunda serum VEGF düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı saptandı (1373,66±486,07 ng/L'e karşılık 986,27±261,44 ng/L, p<0,001). Aynı şekilde, TGFβ-1 düzeylerinin de AH grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi (21,26±3,77 ng/L'e karşılık 24,63±2,73 ng/L, p<0,001).

Sonuç: Bulgularımız, AH grubunda VEGF ve TGF-β1 düzeylerindeki azalmanın hastalıkla ilişkili olabileceğini göstermektedir, ancak daha kapsamlı ve geniş katılımlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, VEGF, TGF-β1

ABSTRACT

Objective: This study aimed to investigate Vascular endothelial growth factor (VEGF) and Transforming growth factor beta 1(TGF-β1) levels in advanced Alzheimer's disease (AD).

Material and Methods: A total of 60 participants were evaluated within the scope of the study. 30 of them constituted the patient group and 30 constituted the control group. VEGF and TGF-β1 levels in serum samples of the patient and control groups were measured by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

Results: In the AD group, serum VEGF levels were found to be statistically significantly lower than in the control group (1373.66±486.07 ng/L vs. 986.27±261.44 ng/L, p<0.001). TGFβ-1 levels were also found to be significantly decreased in the AD group compared to the control group (21.26±3.77 ng/L vs. 24.63±2.73 ng/L, p<0.001).

Conclusion: Our findings suggest that the decrease in VEGF and TGF-β1 levels in the AD group may be related to the disease. However, more comprehensive and large-scale studies are needed.

Keywords: Alzheimer disease, VEGF, TGF-β1

Giriş

Demans, toplumda giderek artan bir ciddi sağlık sorunudur. Birçok demans türü bulunmakla birlikte, en sık görüleni Alzheimer hastalığı (AH)'dır (1). AH, bilişsel ve hafıza bozukluğu ile karakterize edilen; ilerleyici, geri dönüşü olmayan ve sinir hücrelerinin hasarına yol açan bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (2). AH, kolinerjik sistemdeki eksiklikler, nörofibriler yumaklar ve amiloid beta (Aβ) birikimi şeklinde ortaya çıkar (3,4). Henüz tam bir tedavisi olmamakla birlikte, hastalığın ilerlemesini engelleyebilecek önlemler alınabilmektedir. Erken teşhis ile hastalığın ilk aşamalarında başlanacak tedavinin kalıcı hasarı önlemede etkili olabileceği vurgulanmaktadır (5).

Transforming growth factor-β1 (TGF-β1), farklı hücrelerden oluşan bir TGF-β ailesinin üyesidir ve birçok hücrede proliferasyon, hücreyel farklılaşma, motilite ve adezyon gibi fonksiyonları kontrol eden bir sitokin türüdür (6,7). TGF-β1, inflamasyonu azaltır, apoptozu ve bağışıklık sistemi fonksiyonunu düzenler, hücrenin hayatta kalmasını sağlar ve hasar sonrası hücre yenilenmesini destekler. TGF-β1, düzenleyici T hücresine bağımlı ve bağımsız mekanizmalarla T hücrelerinin gelişimini, homeostazını ve toleransını kontrol eder (8). TGF-β1 sinyal yolunun bozulması, nöroblastom hücrelerinde nöral distrofi ve artmış Aβ seviyelerine yol açar. Nöronal TGF-β1 sinyallemedeki eksiklik, nörodejenerasyona ve Alzheimer patolojisine katkıda bulunur (9). Bu bulgular, TGF-β1/ treonin kinaz reseptör (TβRII) sinyal ekseninin kusurunun AH patogeneğinde hayati bir rol oynadığını, nöronların büyüme faktörlerine erişimini engellediğini ve nihayetinde amiloid kaynaklı nöral dejenerasyonu hızlandırdığını düşündürmektedir. Nöronal TGF-β1 sinyallemedeki eksiklik, nigrostriatal dejenerasyona neden olur. Yapılan bir hayvan çalışması, farelerde 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin

(MPTP) nörotoksitesinin TGF-β1 sinyal aktivasyonu ile önenebileceğini göstermiştir (10). Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF), özellikle endotel hücreleri için özgül etkilere sahip olan multifonksiyonel bir büyüme faktörü ailesidir ve dimerik yapıya sahip glikoproteinler olarak tanımlanır (11). Bu ailenin üyeleri, anjiyogenez ve lenfanjiyogenez ile ilişkilendirilmiştir ve sinir sisteminde çeşitli roller oynayabilirler (12). VEGF'nin vasküler endotelial hücreler için güçlü, yayılabilir ve spesifik bir faktör olduğu kanıtlanmıştır ve bu molekül, kan damarlarının fizyolojik ve patolojik büyümesinin düzenlenmesinde rol alır (13).

AH ile ilişkili vasküler değişiklikler, kısmen otoregülasyonun bozulması ve serebral kan akışının azalması ile karakterize edilir (14). Hastalığın patogeneğinde, erken dönemde %10 ila %25 oranında serebral kan akışı azalmaları görülür (15). Vasküler disfonksiyon, AH gelişiminde kritik bir rol oynar. VEGF ailesine ait olan diğer bir biyomolekül VEGFA, serebral kan akışını arttırmak yerine, beyin kılcal damarlarının durmasına ve kan akışının azalmasına katkıda bulunur ve muhtemelen bilişsel gerilemeyi hızlandırır (16).

Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda hem VEGF hem de TGF-β1 biyomoleküllerini AH ileri evresinde inceleyip aynı zamanda bu biyomoleküllerin diğer proteinlerle olan olası etkileşimlerini biyoinformatik yaklaşımlar kullanarak değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntemler

Bu çalışma, prospektif olarak tasarlanmıştır. Araştırmamız, Niğde Eğitim ve Araştırma Hastanesi Toplum Ruh Sağlığı Merkezi'ne başvuran 30 ileri Alzheimer hastası ile rastgele seçilen 30 sağlıklı gönüllüden oluşan toplam 60 katılımcı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Mevcut çalışma, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (19/01/2023;2022/110) ve Helsinki

Deklarasyonu'na uyum sağlayarak yürütülmüştür.

Dahil Edilme Kriterleri

Alzheimer tanısı alan hastalar, American Psychiatric Association (APA) tarafından yayımlanan Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM) tanı kriterlerine göre yapılan klinik muayene sonucunda belirlenmiştir. Hastaların bilişsel durumlarını değerlendirmek için fiziki muayene bulgularına dayalı olarak Mini Mental Test (MMT) uygulanmıştır. MMT, 0 ile 30 arasında bir puan aralığına sahiptir ve 17 eşik değeri altında puan alan hastalar AH tanısı almıştır.

Dışlama Kriterleri

Çalışmaya AH dışında herhangi bir nörodejeneratif hastalığı bulunan ve MMT değeri 17'nin üzerinde olan bireyler dahil edilmemiştir.

Laboratuvar Analizleri

Hasta ve kontrol gruplarından alınan kan numuneleri, 4000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve çalışmanın yapılacağı güne kadar -20 derece sıcaklıkta saklanmıştır. Çalışmanın gerçekleştirileceği gün, hasta ve kontrol grubundan alınan serum örnekleri öncelikle +4 derece sıcaklıkta bir süre bekletilmiş ve daha sonra oda sıcaklığına alınarak çözümleri beklenmiştir. Hasta ve kontrol grubunun serum örneklerinde TGF- β 1 ve VEGF düzeyleri Enzim Bağlı İmmün Sorbent Test (ELISA) yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Çalışma grubunun TGF- β 1 (katalog no: E0134Hu) ve VEGF (katalog no: E0050Hu) serum düzeyleri ELISA kiti içeriğinde belirtilen talimatlara göre (Shanghai Korain Biotech, C0., Ltd, China) belirlendi. Numuneler için gerekli kontroller yapılarak hemolizli, lipemik ve sarılık gibi T-serum

indeksleri belirlendi ve çalışmada kullanılan kit içeriğindeki talimatlara aykırı olan örnekler çalışma dışında tutuldu.

Biyoinformatik analizler

Çalışmamızda, VEGF ve TGF- β 'nin diğer ilgili proteinlerle olan etkileşimlerini ve bu etkileşimlerin muhtemel mekanizmalarını incelemek amacıyla STRING veri tabanı kullanılmıştır (<https://string-db.org/>). Bu veri tabanı, protein-protein etkileşimlerini hem fiziksel hem de işlevsel bağlamda sistematik bir şekilde derleyen ve bu etkileşimleri birleştiren bir kaynaktır. Bu veri tabanında bulunan bilgiler, bilimsel literatürden elde edilen otomatik metin madenciliği sonuçları, eş ekspresyon analizi, hesaplamalı etkileşim tahminleri, korunmuş genomik bağlam ile etkileşim deneylerinin bulgularını içeren çeşitli kaynaklardan alınmaktadır. Elde edilen tüm bu etkileşim verileri eleştirel bir şekilde değerlendirilmekte, puanlanmakta ve daha sonra hiyerarşik ortoloji bilgileri aracılığıyla daha az çalışılmış organizmalara aktarılmaktadır (17).

İstatistiksel analiz

SPSS yazılımının 15.0 versiyonu (SPSS Inc. Chicago, IL) istatistik paket yazılımı kullanıldı. Sayısal değişkenler ortalama, standart sapma olarak verildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov Smirnov, Shapiro-Wilk, Skewness, Kurtosis değerleri ve Histogram grafikleri ile belirlendi. Kategorik değişkenlerin analizi için ki-kare analizi yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılım şartını karşıladığı için bağımsız iki grup karşılaştırması parametrik test olan Student-t testi ile yapıldı. Korelasyon analizinde Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Alfa istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

Bulgular

AH ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımları benzer bulundu. AH grubunda serum VEGF düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (1373,66±486,07 ng/L'e karşılık

986,27±261,44 ng/L, $p<0,001$). TGF-β1 düzeylerinin de AH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir (21,26±3,77 ng/L'e karşılık 24,63±2,73 ng/L, $p<0,001$, Tablo 1, 2)

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalamaları

Parametre	Hasta Grubu (n=30)(Ortalama±SS)	Kontrol Grubu (n=30)(Ortalama±SS)	P-değeri
K/E	(15/15)	(15/15)	
YAŞ	77,9±9,56	76,7±8,29	P=0.696

SS: standart sapma, K: Kadın E: Erkek

Tablo 2. Hasta ve kontrol grubunun VEGF ve TGF- β düzeylerininine ait sonuçlar

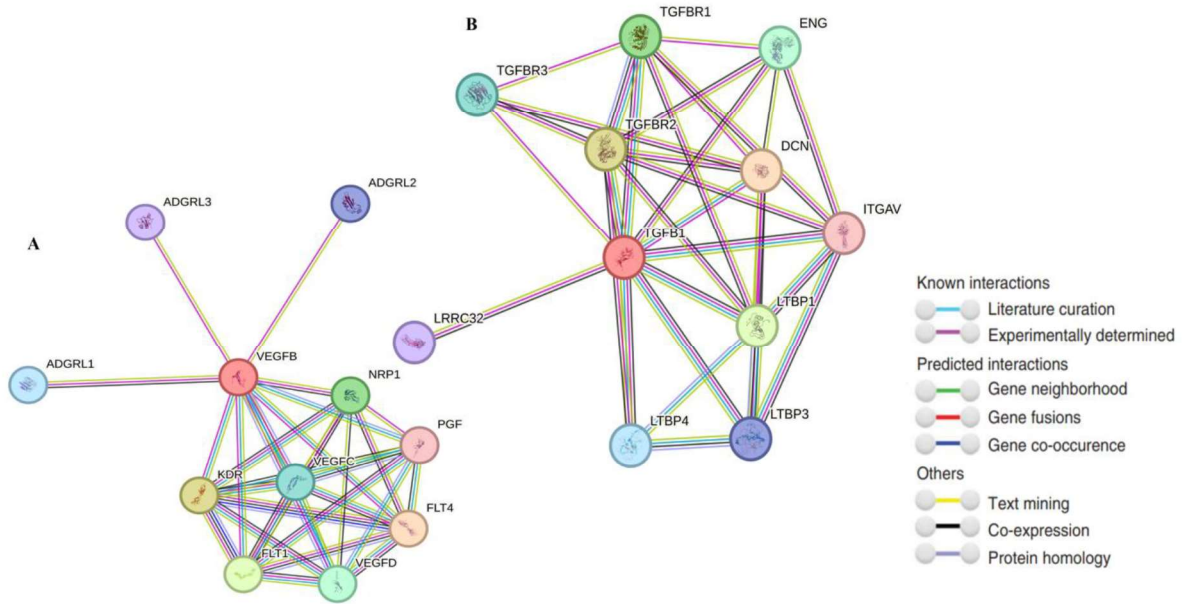
Testler	Hasta Grubu (n=30)(Ortalama±SS)	Kontrol Grubu(n=30) (Ortalama±SS)	P değeri
VEGF (ng/L)	986,27±261,44	1373,66±486,07	<0,001
TGF-β (ng/L)	21,26±3,77	24,63±2,73	<0,001

SS: standart sapma

Korelasyon sonuçlarımıza göre hasta grubunda TGF-β1 ve VEGF düzeyleri arasında istatistiksel bir korelasyon saptanmadı ($r=-0,004$, $p=0,982$). Aynı şekilde kontrol grubunda da TGF-β1 ve VEGF düzeyleri arasında istatistiksel bir korelasyon saptanmadı ($r=-0,172$, $p=0,363$). STRING veri tabanından elde edilen verilere göre sonuçlar Tablo 3 ve Şekil 2'de gösterilmektedir. TGF-β ve VEGF'nin en çok etkileşimde olduğu genler gösterilmektedir.

Tablo 3. Çalışmaya dahil edilen genlerin biyoenformatik veri tabanında protein düzeyinde diğer ilişkili proteinlerle etkileşimleri.

Gen1	Gen2	Protein açıklaması	Kombine skor
DCN	TGF-β1	Dekorin	0,999
TGFBR2	TGF-β1	Transforming growth factor beta reseptör tip-2	0,999
LTBP1	TGF-β1	Gizli dönüştürücü büyüme faktörü beta bağlayıcı protein 1	0,999
TGFBR1	TGF-β1	Transforming growth factor beta reseptör tip-1	0,999
ENG	TGF-β1	Endoglin	0,998
TGFBR3	TGF-β1	Transforming growth factor beta reseptör tip 3	0,997
LTBP4	TGF-β1	Gizli dönüştürücü büyüme faktörü beta bağlayıcı protein 4	0,997
LTBP3	TGF-β1	Gizli dönüştürücü büyüme faktörü beta bağlayıcı protein 3	0,996
LRRC32	TGF-β1	Lösin Zengin Tekrarı İçeren 32 (Transforming growth factor beta aktivatör LRRC32)	0,995
ITGAV	TGF-β1	Integrin alpha-V ağır zincir	0,994
FLT4	VEGFB	Vascular endothelial growth faktör reseptör 3	0,999
KDR	VEGFB	Vascular endothelial growth faktör reseptör 2	0,999
FLT1	VEGFB	Vascular endothelial growth faktör reseptör 1	0,999
NRP1	VEGFB	Neuropilin-1	0,997
VEGFD	VEGFB	Vascular endothelial growth factor D	0,987
VEGFC	VEGFB	Vascular endothelial growth factor C	0,971
ADGRL1	VEGFB	Adhesion G protein-coupled receptor L1	0,969
ADGRL2	VEGFB	Adhesion G protein-coupled receptor L2	0,969
ADGRL3	VEGFB	Adhesion G protein-coupled receptor L3	0,969
PGF	VEGFB	Placenta growth factor	0,964



Şekil 2:A: VEGF ve ilişkili proteinlerin etkileşimi. B: TGF- β ve ilişkili proteinlerin etkileşimi.

Tartışma

Bu çalışmada, ileri evre Alzheimer hastalarının serum VEGF ve TGF- β 1 seviyeleri incelendi. Çalışmamızda göze çarpan önemli bulgumuz ileri evre Alzheimer hastalarında kontrol grubuna kıyasla hasta grubunda serum VEGF ve TGF- β 1 düzeylerinde azalma olmasıydı. Literatürde genel olarak, hastaların beyin dokusundan alınan örneklerle VEGF ve TGF- β 1 düzeyleri üzerine odaklanan çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmamızın önemi, serum seviyelerini yansıtmaması ve bu alandaki az sayıda çalışmadan biri olmasıdır. Ayrıca biyoinformatiksel analiz ile hem TGF- β 'nın hem de VEGF'nin ilişkili olabileceği potansiyel diğer proteinleri tespit ettik. Bildiğimiz kadarıyla serum VEGF ve TGF- β 1 düzeylerinin sadece ileri evre AH ile incelendiği başka bir çalışma bulunmamaktadır.

Huang ve ekibi tarafından yapılan bir çalışma, hafif bilişsel bozukluğu bulunan Alzheimer hastalarında, VEGF ve TGF- β 1 moleküllerinin serum seviyelerinin sağlıklı bireylere göre azaldığını göstermiştir (17). VEGF, kan damarı büyümesini ve damar geçirgenliğini düzenleyen güçlü bir

anjiojenik faktördür. AH'de VEGF, nöroproteksiyon ve nörodejenerasyondaki ikili rolü açısından incelenmiştir. VEGF, serebrovasküler sağlığın korunması için kritik öneme sahiptir. Endotel hücrelerinin uzun süreli işlev görmesine katkıda bulunur, serebral kan akışını artırır ve beyne oksijen ve besin ulaştırmak için gerekli olan anjiyogenezi destekler. AH'de, azalmış serebral kan akışı ve damar disfonksiyonu yaygındır ve bu da VEGF'nin damar fonksiyonunu geri kazandırma ve bilişsel sonuçları iyileştirmede terapötik potansiyele sahip olabileceğini düşündürmektedir (18). Yapılan bir çalışmada VEGF düzeyleri AH bulunan bireylerde düşük bulunmuş ve bu durumun AH'ye bağlı olarak anjiyogenik faktörlerin değişmiş olabileceğinden kaynaklanabileceği ifade edilmiştir (19).

VEGF nörotrofik özelliklere sahiptir, yani nöronların hayatta kalmasını ve büyümesini destekleyebilir. Hayvan modellerinde sinaptik plastisiteyi ve hafıza oluşumunu artırdığı gösterilmiştir (20). Bu durumdan dolayı VEGF, AH'de görülen sinaptik eksiklikleri gidermeye yardımcı olabilir. Bu koruyucu rollere rağmen, VEGF'nin AH'de olası olumsuz etkileri konusunda endişeler vardır. VEGF, vasküler geçirgenliği

artırabilir ve plazma bileşenlerinin beyin parankimine sızmasına yol açabilir, bu da nöroinflamasyonu şiddetlendirebilir ve serebral mikro kanamaların oluşumuna katkıda bulunabilir. Ek olarak, yüksek VEGF seviyeleri, artan A β birikimiyle ilişkilendirilmiştir ve bu da VEGF sinyalleme ile amiloid patolojisi arasında olası bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir (18,21).

AH'de önemli biyobelirteçler olan tau proteini ve glikoz metabolizması gibi faktörlerin VEGF sinyallemesinden etkilendiği düşünülmektedir. Çalışma sonuçlarımızın aksine, VEGF'nin artan ekspresyonu azalmış bilişsel kabiliyetle ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde, Jung ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma, depresyonu olan Alzheimer hastalarında kontrol grubuna göre VEGF seviyelerinin arttığını göstermiştir (22).

Bu bilgilerden de anlaşılacağı gibi AH'de VEGF düzeylerinin azalmasının hastalığın ilerlemesi veya şiddetiyle doğrudan ilişkilendirilmediği, ancak azalmış VEGF düzeylerinin nörotrofik ve nöroprotektif süreçleri etkileyebileceği ifade edilmektedir (19). Çalışmamızda serum VEGF düzeylerini sağlıklı kontrol grubuna göre düşük bulduk. Çalışmamızdaki ileri evre AH'de yukarıda bilgiler göz önüne alındığında düşük VEGF düzeylerinin hastalığın patofizyolojisini üzerine olumsuz etkiler oluşturabileceğini söyleyebiliriz ancak VEGF'nin yukarıda bahsedilen ikili etkileri göz önüne alındığında ileri çalışmalar ile sonuçların desteklenmesi gerekmektedir.

TGF- β 1, bağışıklık tepkilerinin, hücre çoğalmasının ve farklılaşmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan çok işlevli bir sitokindir. AH bağlamında, TGF- β hem nöroprotektif hem de nörodejeneratif süreçlerde rol oynamaktadır (24,25) TGF- β sinyallemesinin, AH'de sıklıkla tehlikeye giren Kan-Beyin Bariyerinin (KBB) bütünlüğünün korunmasında rol oynadığı

bilinmektedir. Çalışmalar, TGF- β 'nin sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu teşvik ederek ve vasküler inflamasyonu azaltarak KBB işlevini artırabileceğini göstermiştir. Bu koruyucu etki önemlidir, çünkü tehlikeye giren bir KBB, periferik bağışıklık hücrelerinin beyne sızmasına yol açarak nöroinflamasyonu ve nöronal hasarı şiddetlendirebilir. Dahası, TGF- β , AH'de gözlemlenen kronik nöroinflamasyonu potansiyel olarak hafifletebilecek anti-inflamatuar özelliklere sahiptir. AH'nin beyindeki iltihabın temel araçları olan mikroglia ve astrositlerin aktivasyonunu engellediği gösterilmiştir. TGF- β , pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini baskılayarak ve anti-inflamatuar faktörlerin salınımını teşvik ederek AH'deki inflamatuvar yükü azaltmaya yardımcı olabilir. Bununla birlikte, TGF- β 'nin AH'deki rolü karmaşıktır ve tıpkı VEGF'de olduğu gibi ikili etkileri olduğundan bahsedilmektedir (25). Verilerin bu yönde oluşu TGF- β 1'in kesin rolüne ilişkin kapsamlı bir bilginin hala belirsizliğini koruduğu göstermektedir (25, 26).

Bazı çalışmalar, TGF- β sinyallemesinin hastalığın bir özelliği olan A β plaklarının birikimini teşvik ederek AH'nin patogenezine de katkıda bulunabileceğini öne sürmektedir. Yükselen TGF- β seviyeleri, muhtemelen amiloid öncü protein (APP) işleme enzimlerinin yukarı regülasyonu yoluyla A β üretiminin artmasıyla ilişkilendirilirken, aynı zamanda A β kaynaklı nörotoksisite ve bilişsel eksiklikleri hafifletmede de rol oynadığı ifade edilmektedir (25, 27).

TGF- β 1 sitokininin AH'de A β birikimi sürecinde rol oynadığı birçok çalışma ile gösterilmiştir (28). Yapılan bir çalışmada, APP ekspresyonunun arttığı ve TGF- β 1'in rolünün olduğu varsayılan iki farklı mekanizma önerilmiştir (29). Bununla birlikte, TGF- β 1'in pleiotropik bir sitokin olması da dikkate alındığında, daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu açıktır.

Çalışmamızda TGF- β düzeylerini de ileri düzey AH olan grupta düşük bulduk. Her iki belirtecin düşük düzeylerinin AH prognozu üzerine olumsuz etkiler oluşturma ihtimali bulunmaktadır. Bu bağlamda, çalışma sonuçlarımıza paralel olarak AH'de hem TGF- β hem de VEGF düzeylerinin düşük bulunduğu çalışma, anjiyogenezin AH'nin başlangıç sürecinde rol oynayabileceğini ve anjiyogenik faktörlerin azalmasının bilişsel bozukluğun şiddetiyle ilişkili olabileceğini ifade etmektedir (17).

Her iki belirteç için AH'de patogenezi üzerine ikili etkiler göz önünde bulundurulduğunda, hem VEGF ve TGF- β 1'in AH prognozu ya da nöroprotektif etkileri üzerine yorum yapmak oldukça güçtür. Yaptığımız STRING analiz sonuçlarına göre VEGFB'nin en fazla muhtemel etkileşimde olduğu FLT4, prefrontal kortekste gösterdiği artmış ekspresyonu ile AH'deki bilişsel gerileme ve artan patoloji ile ilişkilendirilirken (30) VEGFB reseptör düzeyinden fazla VEGFR-2 ile etkileşime girmektedir. VEGFB, VEGFR-2'ye değil, spesifik olarak VEGFR-1'e bağlanır, bu da hem VEGFR-1 hem de VEGFR-2 ile etkileşime giren VEGFA'ya kıyasla VEGFB için farklı bir sinyal yolunu gösterir ve bu farklılık, VEGFB'nin nöroproteksiyon ve anjiyogenezde farklı roller alabileceğini düşündürmektedir (31). FLT1'in VEGFB'yi bağlaması ve artan ekspresyonunun çeşitli kanserlerde kötü prognoz ve hastalık ilerlemesi ile ilişkili olması, VEGFB'nin tümör biyolojisi ve anjiyogenezde önemli bir rol alabileceğini göstermektedir (32). Dekorin, TGF- β 1'e bağlanarak onun aktivitesini nötralize eden doğal bir inhibitör olarak işlev görür ve böylece TGF- β 1 kaynaklı sinyallerin neden olduğu dokulardaki fibroz gelişimini engeller (33). TGF- β reseptör tip II (TGFBR2), yara iyileşmesi ve fibroz süreçlerinde miyofibroblast farklılaşmasında rol alır ve bu şekilde TGF- β 1'in etkilerine aracılık eder (34). Ayrıca, LTBP1 proteini, TGF- β 1'in aktivasyonunda önemli bir rol oynayarak kornea üzerindeki

sinyal yollarının düzenlenmesini kolaylaştırır (35). Farklı hastalıklarda VEGF ve TGF- β 1 ile ilişkili yolaklar böyleyken, bu biyobelirteçlerin AH patogenezi etkilerinin ortaya konulması için farklı yolaklar ile ilişkilerinin aydınlanması gerekmektedir. Bu bağlamda yaptığımız hem deneysel hem de biyoinformatik analizlerin ilerideki çalışmalara ışık tutacağı düşüncesindeyiz.

Sonuç

Çalışma sonuçlarına dayanarak, Alzheimer hastalarında kontrol grubuna göre düşük serum VEGF ve TGF- β 1 düzeylerinin sebeplerini anlayabilmek ve bu düşük düzeylere yol açan mekanizmaları belirleyebilmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, AH'nin patolojisinde önemli olabileceğini düşündüğümüz serum VEGF ve TGF- β 1 düzeylerini inceleyen çalışmaların sayısı oldukça az ve yetersizdir. VEGF ve TGF- β 1'in hem serum hem de gen ekspresyon düzeylerinin hastalığın farklı evrelerindeki seviyelerinin incelenmesi, AH'nin farklı evrelerindeki değişimlerinin gözlemlenmesi, prognoza etkisi ve mekanizmaların anlaşılabilmesi açısından önemlidir. Bu nedenle, özellikle ileri evre AH hastalarında yaptığımız çalışmamızda elde ettiğimiz verilerin araştırmacılara yeni çalışma planlarında rehberlik edebileceğine inanıyoruz.

Çalışma sınırlamaları

Çalışmamız iyi bir şekilde tasarlanmasına rağmen birtakım sınırlamalar içermektedir. En büyük sınırlamamız hasta sayımızın yetersiz olmasıdır. İkinci önemli sınırlamamız ise AH sadece ileri evre grubunda çalışmamızı gerçekleştirmiş olmamız. Hastalığın farklı evrelerine göre biyomoleküllerin serum düzeylerinin farklılık gösterebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu bağlamda, farklı Alzheimer evrelerindeki hastalardan daha geniş bir örneklemin dahil edilmesi, farklı

evlerde hasta gruplarının oluşturulması ve bu proteinlere ait gen düzeyinde çalışmalar yapılarak daha güvenilir sonuçlara ulaşılabileceği kanısındayız.

Etik Onayı

Bu çalışma Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış (19/01/2023;2022/110) ve Helsinki Deklarasyonu'na uygun olarak yürütülmüştür.

DİPNOT: Bu çalışma Türk Biyokimya Derneği'nin düzenlemiş olduğu 27-30 Ekim 2021 tarihinde Gaziantep'te gerçekleştirilen 32. Ulusal Biyokimya Kongresi'nde bildiri özet olarak sunulmuş ve derneğin ilgili kongreye ait dergisinde yayımlanmıştır.

Teşekkür

Yok.

Finansal Kaynak

Yok.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Kaynaklar

1. Keleş E, Özalevli S. Alzheimer hastalığı ve tedavi yaklaşımları. İKÇÜSBFD 2018;3(2):39-42.
2. Odabaşı MD, Tüylü Küçükkinç ZT. Alzheimer hastalığı tedavisindeki güncel yaklaşımlar. HUIPHARM 2021;41(4):266-80.
3. Mantzavinos V, Alexiou A. Biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis. Curr Alzheimer Res 2017;14(11):1149-1154. doi: 10.2174/1567205014666170203125942.
4. Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, Ribeiro FM. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic system. Curr Neuropharmacol 2016;14(1):101-15. doi: 10.2174/1570159x13666150716165726.
5. Aydın S, Taşyürek M, Öztürk C. MR Görüntülerinde evrişimli sinir ağlar kullanılarak Alzheimer hastalık tespiti. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi 2023; 39(3): 357-68.
6. ten Dijke P, Hill CS. New insights into TGF-beta-Smad signalling. Trends Biochem Sci 2004;29(5):265-73. doi: 10.1016/j.tibs.2004.03.008.
7. Şemsi R, Dinçel AS. Yaşın tükürük Transforme Edici Büyüme Faktör Beta (TGF- β) düzeyleri üzerindeki etkisi. Tıp Fakültesi Klinikleri Dergisi 2021; 4(3): 127-33.
8. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AKL, Flavell RA. Transforming growth factor-B regulation of immune responses. Annu Rev Immunol 2006;24:99-146. doi: 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090737.
9. Tesseur I, Zou K, Esposito L, Bard F, Berber E. et al. Deficiency in neuronal TGF- β signaling promotes neurodegeneration and Alzheimer's pathology. J Clin Invest 2006;116(11):3060-9. doi: 10.1172/JCI27341.
10. Tesseur I, Nguyen A, Chang B, Li L, Woodling NS. et al. Deficiency in neuronal TGF- β signaling leads to nigrostriatal degeneration and activation of TGF- β signaling protects against MPTP neurotoxicity in mice. J Neurosci 2017;37(17):4584-4592. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2952-16.2017.
11. Bayram N, Y Karakan, M Uyar, B Ozyurt, A Filiz. Vascular endothelial growth factor in pleural effusions and correlation with radiologic and biochemical parameters. Niger J Clin Pract 2018;21(1):59-62. doi: 10.4103/njcp.njcp_370_16.
12. Lladó J, Tolosa L, Olmos G. Cellular and molecular mechanisms involved in the neuroprotective effects of VEGF on motoneurons. Front Cell Neurosci 2013;7:181. doi: 10.3389/fncel.2013.00181.
13. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor and the regulation of angiogenesis. Recent Prog Horm Res 2000;55:15-35; discussion 35-6.
14. Dai W, Lopez OL, Carmichael OT, Becker JT, Kuller LH. et al. Mild cognitive impairment and Alzheimer disease: Patterns of altered cerebral blood flow at MR imaging. Radiology 2009;250(3):856-66. doi: 10.1148/radiol.2503080751.
15. Bracko O, Cruz Hernández JC, Park L, Nishimura N, Schaffer CB. Causes and consequences of baseline cerebral blood flow reductions in Alzheimer's disease. J Cereb Blood Flow Metab 2021;41(7):1501-1516. doi: 10.1177/0271678X20982383.
16. Ali M, Bracko O. VEGF paradoxically reduces cerebral blood flow in Alzheimer's disease mice. Neurosci

- Insights 2022;17:26331055221109254. doi: 10.1177/26331055221109254.
17. Huang L, Jia J, Liu R. Decreased serum levels of the angiogenic factors VEGF and TGF- β 1 in Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Neurosci Lett* 2013;550:60-3. doi: 10.1016/j.neulet.2013.06.031.
18. Lange C, Storkebaum E, de Almodóvar CR, Dewerchin M, Carmeliet P. Vascular endothelial growth factor: A neurovascular target in neurological diseases. *Nat Rev Neurol* 2016;12(8):439-54. doi: 10.1038/nrneurol.2016.88.
19. Silva, Angelica Miki Stein, Gomes F, Andre Veloso Rueda, Camarini R, et al. Circulating levels of vascular endothelial growth factor in patients with Alzheimer's disease: A case-control study. *Behav Brain Res* 2023;437:114126. doi: 10.1016/j.bbr.2022.114126.
20. Sun Y, Jin K, Xie L, Childs J, Mao XO, et al. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia. *J Clin Invest* 2003;111(12):1843-51. doi: 10.1172/JCI17977.
21. S.S. Zakariaee, Naderi N, Azizi E. Association of vascular endothelial growth factor levels with risk of Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. *J Prev Alzheimers Dis* 2024;11(3):721-729. doi: 10.14283/jpad.2024.
22. Jung J, Kim S, Yoon K, Moon Y, Roh D, et al. The Effect of depression on serum VEGF level in Alzheimer's disease. *Dis Markers* 2015;2015:742612. doi: 10.1155/2015/742612.
23. Mateo I, Llorca J, Infante J, Rodríguez-Rodríguez E, Fernández-Viadero C, et al. Low serum VEGF levels are associated with Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 2007;116(1):56-8. doi: 10.1111/j.1600-0404.2006.00775.x.
24. Wyss-Coray T, Mucke L. Inflammation in neurodegenerative disease: A double-edged sword. *Neuron* 2002;35(3):419-32. doi: 10.1016/s0896-6273(02)00794-8.
25. Su C, Miao J, Guo J. The relationship between TGF- β 1 and cognitive function in the brain. *Brain Res Bull* 2023;205:110820. doi: 10.1016/j.brainresbull.2023.110820.
26. Chen JH, Ke KF, Lu JH, Qiu YH, Peng YP. Protection of TGF- β 1 against neuroinflammation and neurodegeneration in A β 1-42-induced Alzheimer's disease model rats. *PLoS One* 2015;10(2):e0116549. doi: 10.1371/journal.pone.0116549.
27. Lesné S, Docagne F, Gabriel C, Liot G, Lahiri DK, et al. Transforming growth factor-beta 1 potentiates amyloid-beta generation in astrocytes and in transgenic mice. *J Biol Chem* 2003;278(20):18408-18. doi: 10.1074/jbc.M300819200.
28. Zetterberg H, Andreasen N, Blennow K. Increased cerebrospinal fluid levels of transforming growth factor- β 1 in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2004;367(2):194-6. doi: 10.1016/j.neulet.2004.06.001.
29. Vivien D, Ali C. Transforming growth factor- β signalling in brain disorders. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006 :121-8. doi: 10.1016/j.cytogfr.2005.09.011.
30. Mahoney ER, Dumitrescu L, Moore AM, Cambrero FE, De Jager PL, et al. Brain expression of the vascular endothelial growth factor gene family in cognitive aging and Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 2021;26(3):888-896. doi: 10.1038/s41380-019-0458-5.

31. Boer K, Troost D, Wim G. M. Spliet, Peter Gorter JA, et al. Cellular distribution of vascular endothelial growth factor A (VEGFA) and B (VEGFB) and VEGF receptors 1 and 2 in focal cortical dysplasia type IIB. *Acta Neuropathol* 2008;115(6):683-96. doi: 10.1007/s00401-008-0354-6.
32. Fischer C, Mazzone M, Jonckx B, Carmeliet P. FLT1 and its ligands VEGFB and PlGF: drug targets for anti-angiogenic therapy? *Nat Rev Cancer*. 2008;8(12):942-56. doi: 10.1038/nrc2524.
33. Wang S, Qu Y, Fang X, Ding Q, Zhao H, et al. Decorin: a potential therapeutic candidate for ligamentum flavum hypertrophy by antagonizing TGF- β 1. *Exp Mol Med* 2023;55(7):1413-1423. doi: 10.1038/s12276-023-01023-y.
34. Zhang Y, Pan Y, Liu Y, Li X, Tang L, et al. Exosomes derived from human umbilical cord blood mesenchymal stem cells stimulate regenerative wound healing via transforming growth factor- β receptor inhibition. *Stem Cell Res Ther* 2021;12(1):434. doi: 10.1186/s13287-021-02517-0.
35. Nicholas SE, Choi AJ, Lam TN, Basu SK, Mandal N, et al. Potentiation of Sphingolipids and TGF- β in the human corneal stroma reveals intricate signaling pathway crosstalks. *Exp Eye Res* 2023;231:109487. doi: 10.1016/j.exer.2023.109487.