

DERLEME

Nörodejeneratif Hastalık Araştırmalarında *Drosophila melanogaster* Modeli

Cem HAZIR, Gamze BORA, Hayat ERDEM-YURTER

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

ÖZET

Drosophila melanogaster yaşam döngüsünün kısa olması, nükleotit dizisi bilinen küçük bir genoma sahip olması, insan hastalıklarına neden olan genlerin birçoğunun ortologunu bulundurmaması, temel hücresel olayların/sinyal yollarının korunmuş olması ve etik problem yaratmaması gibi önemli avantajları olan omurgasız bir canlıdır. Bu avantajlar sayesinde insan hastalıklarının modellenmesi mümkün olmuş ve patofizyolojilerin araştırılması, yeni genlerin ve genetik düzenleyicilerin tanımlanması, klinik çeşitlilik nedenlerinin açıklanabilmesi ve yeni tanı/tedavi geliştirme çalışmaları hız kazanmıştır. Bu derlemede *Drosophila melanogaster*'in model organizma olarak avantajları ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili araştırmalarda kullanılmasına ilişkin bilgiler özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*. Model organizma. Nörodejeneratif hastalık. Genetik.

Drosophila melanogaster Model in Neurodegenerative Disease Research

ABSTRACT

Drosophila melanogaster is an invertebrate organism which has several advantages including having a short life cycle, a small genome with known sequence, orthologues of several human disease genes, conserved cellular processes/pathways without ethical concerns. Due to these advantages, human disease modelling is possible and research areas such as investigating pathophysiology, identifying new genes/modifiers, understanding the reasons of clinic variability, developing new diagnostics/therapeutics have been accelerated. In this review, advantages of *Drosophila melanogaster* as a model organism as well as its use in neurodegenerative diseases are summarized.

Key Words: *Drosophila melanogaster*. Model organism. Neurodegenerative disease. Genetics.

Drosophila melanogaster'in (*D.melanogaster*/meyve sineği) araştırma amaçlı kullanımı, ilk kez 1901 yılında Harvard Üniversitesi Laboratuvarları'nda W. Castle ve grubu tarafından bildirilmiş olmasına rağmen, *D.melanogaster* araştırmalarının atası olarak kabul edilen ilk bilim insanı T. H. Morgan'dır¹. Morgan, *D.melanogaster*'i model organizma olarak kullanarak, genlerin kromozomlar içerisinde yer aldığını kanıtlamayı başarmış, beyaz göz renginin X kromozomu üzerinde taşındığını göstererek bilim camia-

sının dikkatinin bu modele çevrilmesini sağlamıştır. Genetik alanında yeni bir kapının açılmasına öncülük eden Morgan 1933 yılında "kromozomun kalıtmadaki rolü" ile ilgili keşiflerinden dolayı Fizyoloji ve Tıp Alanında Nobel Ödülü'ne layık görülmüştür². Bundan sonra X ışınlarının mutasyon oranları üzerindeki etkisi, erken embriyonik gelişimin genetik kontrolü, doğuştan gelen bağışıklığın tanımlanması, sirkadyan ritmi kontrol eden moleküler mekanizmaların aydınlatılması başta olmak üzere birçok değerli çalışmada *D.melanogaster* kullanılmasıyla, hücresel ve genetik mekanizmaların aydınlatılması mümkün olmuştur^{3,4}.

Geliş Tarihi: 06.Mayıs.2020
Kabul Tarihi: 10.Ağustos.2020

Dr. Hayat ERDEM-YURTER
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
Sıhhiye, Ankara
Tel: 0312 305 25 41
E-posta: herdem@hacettepe.edu.tr

Yazarların ORCID ID Bilgisi:
Cem HAZIR: 0000-0002-3139-3113
Gamze BORA: 0000-0002-4206-8332
Hayat ERDEM-YURTER: 0000-0002-5883-0643

1. Model organizma olarak *D. melanogaster*

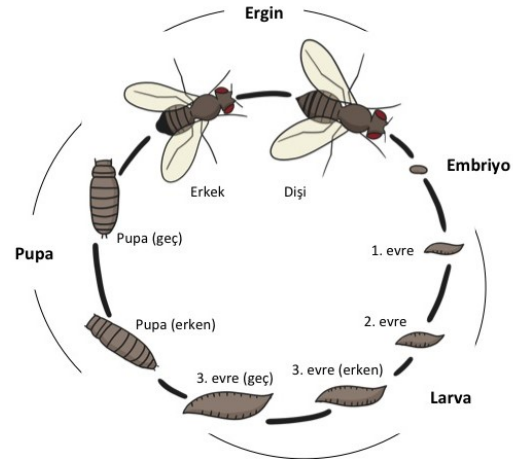
Model organizmalar, insanlarla çalışmanın uygun ve etik olmadığı durumlarda tercih edilen, nörodejeneratif hastalıklar, kanser, immün sistem hastalıkları, enfeksiyon hastalıkları başta olmak üzere insanlarda görülen hastalıkların altında yatan mekanizma ve patolojilerin aydınlatılması, evrimsel biyoloji çalışmalarında taksonlar arasındaki filogenetik ilişkilerin (benzerlik ve farklılıklar) belirlenmesi, gelişim

biyolojisi çalışmalarında omurgalı gelişim sürecinin aydınlatılması, ilaç tarama ve geliştirme çalışmaları gibi farklı alanlarda laboratuvar ortamında kullanılan canlılardır. Kısa sürede hızla çoğalmaları, düşük maliyetle yetiştirilebilmeleri, insan genomu ile kıyaslandığında daha basit bir genoma sahip olmaları, genom haritalarının çıkartılmış olması ve en önemlisi, insan hastalıklarına neden olan birçok genin model organizmalarla homoloji göstermesi, model organizmaları hastalıklarla ilgili araştırmalarda oldukça önemli kılmaktadır^{5,6}.

Drosophilidae ailesine ait bir cins olan *Drosophila*'nın *D.melanogaster*, *D.erecta*, *D.yakuba*, *D.simulans*, *D.santomea* gibi 1500'ün üzerinde türü olduğu bilinmektedir⁷. Tür çeşitliliği çok fazla olsa da hastalık modeli çalışmalarında en sık tercih edilen *D.melanogaster* türünün öne çıkmasında; endemik olmaması, dünyanın her yerinde bulunabilmesi ve kolaylıkla ulaşılabilir olması gibi temel nedenler bulunmaktadır. Ayrıca yüzyılı aşkın süredir çalışılması sayesinde anatomisinin ve fizyolojisinin çok iyi açıklanmış olması, hücre tiplerinin iyi bilinmesi, birçok genin tanımlanmasında kullanılmış olması ve ardından bu genlerin homologlarının insanlarda keşfedilmesi, bu türü diğer türlerden ayırarak ön plana çıkmasını sağlamıştır^{8,9}. İnsan hastalıklarının aydınlatılması için transgenik farelerin model olarak kullanılması da oldukça elverişli bir yol olmakla birlikte bu farelerin oluşturulması ve analizleri pahalı/zaman alıcı olmaktadır¹⁰. Bu nedenle, genetik manipülasyonların *D.melanogaster*'de olduğu gibi yaşam döngüsü daha kısa ve maliyetleri daha düşük olan modellerde gerçekleştirilmesi önemli avantajlar sağlamaktadır. *D.melanogaster*'in omurgalı bir canlı olmaması, kan, kemik, kıkırdak gibi bazı doku tiplerini bulundurmaması, açık dolaşım sistemine sahip olması, insana ait bazı organları bulundurmaması, akıllara insan hastalıkları ile ilişkili araştırmalar için ne kadar uygun olduğu sorusunu getirmektedir⁸. Buna karşılık, gen ifadesi/düzenlenmesi, hücre içi protein trafiği, sinaptogenez, hücre iskelet sisteminin işleyişi ve hücre ölümü başta olmak üzere hücre biyolojisinin temel mekanizmalarının insana benzer olduğu bilinmektedir¹⁰. Kısa zamanda hızla çoğalabilmesi, boyutunun küçük olması (2-3 mm), genomunda değişiklik yapılabilmesi, laboratuvar ortamında kolay/düşük maliyetle yetiştirilebilmesi ve kullanımları için etik izinlere ihtiyaç olmaması, *D.melanogaster*'in model organizma olarak tercih edilme nedenleri arasında bulunmaktadır. 2000 yılında genom dizileme çalışmalarının tamamlanması ile insanda bulunan genlerin %60'ının, insan hastalıklarına neden olan genlerin ise yaklaşık olarak %70'inin *D.melanogaster*'de ortoloğunun bulunduğu açıklanmıştır. Bu benzerlik korunmuş bölgelerde %80-%90'a kadar çıkmaktadır. Bu nedenlerle, *D.melanogaster* insanda görülen hastalıkların modellenmesine ve araştırılmasına uygun bir model olarak kabul edilmektedir^{4,11,12}.

2. *D. melanogaster*'in Yaşam Döngüsü

D.melanogaster metamorfoz geçiren bir canlı olup yaşam döngüsü; embriyo, larva, pupa ve ergin olmak üzere farklı gelişimsel dönemlerden oluşmaktadır. 25°C sıcaklıkta 10-12 gün (28°C'de 8 gün) olan yaşam döngüsü, uygun laboratuvar koşullarında 50 güne kadar uzayabilmektedir. Gelişim süreci, sıcaklığın yanı sıra beslenme şekilleri ve laboratuvar koşullarından da etkilenmektedir¹³. Laboratuvar koşullarında, dişi sinek üzerinde yaşadığı besiyerine bir günde yüzlerce yumurta bırakır ve 24 saatin sonunda yavruların tamamı yumurtadan çıkar. 10-12 günlük süreçte sürekli olarak besiyerinden beslenen larvalar (1. 2. ve 3. evre larva) ortalama olarak 5. günün sonunda larva dönemini tamamlayarak pupa dönemine geçerler. (Şekil 1). Bu dönemde beslenmeye artık ihtiyaç duymayan ve besiyerinden uzaklaşarak depoladıkları besinleri kullanan pupalar, buldukları uygun bir yere tutunarak metamorfoz geçirmeye başlar ve bu sürecin ardından erginleşirler^{1,14}.



Şekil 1.

D.melanogaster'in yaşam döngüsü. Sırasıyla, embriyo, larva dönemleri (1. evre, 2. evre, 3. evre), pupa ve ergin gelişimsel dönemlerinden oluşmaktadır.

3. İnsan Hastalıklarının Modellemesinde *D.melanogaster* Kullanımı

D.melanogaster kullanılarak insan hastalıkları modellenilebilmekte ve bu sayede hastalıkların genetik ve kompleks hücresel mekanizmalarının araştırılmasına yönelik genomik ve fonksiyonel genomik çalışmalar yürütülebilmekte, ayrıca ilaç araştırmaları da gerçekleştirilebilmektedir. En sık modellenen hastalıklar arasında; kanser, kardiyovasküler sistem hastalıkları, metabolik hastalıklar, immün sistem hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet ve poliglutamin hastalıkları sayılmakta, son yıllarda yaşlanma ve bağımlılık konularındaki araştırmalarda da yaygın olarak kullanılmaktadır^{11,15,16}.

Nörodejeneratif Hastalıklar ve *Drosophila melanogaster*

- Kanseler, *D.melanogaster* üzerinde en uzun süredir çalışılan hastalık grubudur. Kanserle neden olan mutasyonun ilk olarak 1967 yılında G. Schneiderman tarafından bu modelde keşfedilmesini takiben tümör oluşumu ve metastaza neden olan genlerin aydınlatılması amacı ile çok sayıda çalışma yapılmıştır¹⁷⁻¹⁹.
- Kardiyovasküler sistem hastalıklarının araştırılmasında da bu model sıklıkla kullanılmaktadır. İnsan ve *D.melanogaster* kalplerinin gelişim süreçlerinin hem yapısal hem de fonksiyonel benzerlikler göstermesi, kardiyovasküler hastalık araştırmalarında kullanılmasını sağlamıştır. *D.melanogaster* kalbinin tıpkı insan kalbinde olduğu gibi 4 odacıklı olması, sinyal yollarının ve kalp gelişimi için temel olan genlerin oldukça korunmuş olması, *Drosophila*'yı uygun bir model haline getirmiştir. Özellikle korunmuş genlerde çeşitli mutasyonlar yaratılarak kalp fonksiyonlarının araştırılması mümkün olmuştur^{20,21}.
- *D.melanogaster*'de karaciğer benzeri bir organ bulunmaması bazı metabolik hastalıkları bu canlılarda çalışmayı zorlaştırmaktadır. Ancak yapılarında yağları ve şekerleri depolamak için bulundukları yağ cisimciklerinin insan hepatositlerine benzer işlev gördüğü ve evrimsel olarak korunmuş olan insülin mekanizması tarafından düzenlendiği bilinmektedir. İnsan hepatositlerinde ifade edilen bazı genlerin homologunun bulunması sayesinde, *D.melanogaster* hepatosit hücrelerinde işlev kaybı görülen bazı metabolik hastalıkları araştırmak üzere kullanılmaktadır²¹.
- *Drosophila* modelinde sıklıkla çalışılan diğer bir grup immün sistem hastalıklarıdır. *D.melanogaster*'de fagositoz, otofaji gibi mekanizmaların evrimsel olarak korunmuş olması, bakteri ve mantar enfeksiyonları sonrasında epitel bariyerler, reaktif oksijen bileşikleri ve antimikrobiyal peptitler gibi yanıtların oluşması immün sistem hastalıklarının araştırılmasına imkan vermiştir²².

4. Nörodejeneratif Hastalıklar ve *D.melanogaster*

Nörodejeneratif hastalıklar, nöron hücrelerinin yapı ve fonksiyon kaybına uğramasıyla ortaya çıkan bilişsel bozukluk, hafıza kaybı, solunum yetmezliği ya da hareket yetersizliği gibi farklı patofizyolojiler ile karakterize olan geniş bir hastalık grubudur. Alzheimer, Parkinson, Spinal müsküler atrofi (SMA), Amyotrofik lateral skleroz (ALS) ve Huntington hastalığı bu gruba örnek olarak verilebilir. Son yüzyılda bu hastalık grubunun içerdiği karmaşık mekanizmaları aydınlatmak için birçok alanda çalışmalar gerçekleştirilmiş, hasta

dokusu eldesindeki zorluklar ve etik sınırlandırmalar bilim insanlarını hayvan modelleri üzerinde çalışmaya yönlendirmiştir^{23,24}.

D.melanogaster, nörodejeneratif hastalıkların modellenmesinde kullanılmasını olanaklı hale getiren bazı avantajlara sahiptir. Bu avantajlar sayesinde, model organizma olarak kullanılabilen ve farklı araştırma yaklaşımları izlenebilmesine imkan yaratmaktadır^{9,25,26}. *D.melanogaster*, genlerin fonksiyonlarının aydınlatılması ve bu sayede hastalıklarla ilgili temel mekanizmaların açıklanmasına katkı sağladığı gibi, hastalıkların tedavisine yönelik araştırmaların yürütülebilmesi nedeniyle transkripsiyonel çalışmalara da katkı sağlamaktadır (Tablo I, Şekil 2). Aşağıda sık görülen bazı nörodejeneratif hastalıkların araştırılmasında *D.melanogaster* kullanılmasına ilişkin bilgiler özetlenmiştir.

4.1. Spinal Müsküler Atrofi (SMA)

SMA genellikle çocukları etkileyen, omuriliğin ön boynuzunda bulunan motor nöron kaybı ile karakterize olan ve kalıtsal bebek ölümlerinin en yaygın nedenini oluşturan nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalık 5q13 kromozom bölgesinde bulunan *SMN1* (*Survival of Motor Neuron 1*) geninin homozigot delesyonu sonucunda ortaya çıkmakta ve SMN protein eksikliği SMA hastalığına neden olmaktadır. Aynı kromozom bölgesinde *SMN1* geninin kopyası olan *SMN2* geni de bulunmakta, iki gen arasındaki birkaç nükleotidik fark *splicing* hatalarına neden olarak, *SMN2* gen bölgesinden fonksiyonel SMN protein üretimini de yaklaşık %90 oranında engellemektedir²⁷⁻³⁰.

D.melanogaster genomunun insan genomu kadar karmaşık olmaması ve çoğu insan geninin sadece bir kopyasını bulundurması bu canlıda yapılan modelleme çalışmalarını kolaylaştırmaktadır. Örneğin, *D.melanogaster*'in insandaki *SMN1* genine oldukça benzer tek bir ortoloğa sahip olması (*Smn*) ve bu gen bölgesinin kolay manipüle edilebilmesi, SMA araştırmaları için uygun bir model olmasını sağlamıştır³¹. Diğer model organizmalardan farklı olarak, SMA'lı *D.melanogaster* modellerinde, aneden köken alan düşük düzeyde yabancıl tip SMN proteini bulunmakta, bu nedenle SMN yokluğunda diğer model organizmalarda görülen embriyonik letalite görülmemektedir²⁵. *D.melanogaster*'in *Smn* geninde farklı mutasyonlar yaratılarak oluşturulan fenotiplerde, hasta bireylere benzer olarak anormal motor davranışlar, sinaptik ve nöromüsküler kavşak bozuklukları gözlenmiştir. Örneğin, DmSMN^{73A0} mutant *Drosophila* modelinde SMN proteinin azalması sineklerde nöromüsküler kavşak bölgelerinde bozukluğa neden olmuştur³².

D. melanogaster modelinde, SMN proteininin kas dokusundaki önemini göstermek de mümkün olmuştur. Chang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, SMN proteininin ifadesi kaslarda ve nöron hücrelerinde baskılandığında, her iki dokudaki azalışın birbirlerin-

den bağımsız olarak erken ölüme neden olduğu, SMN proteininin nöronlar gibi kas hücrelerinde de mutlaka ifade edilmesi gerektiği gösterilmiştir. Ayrıca, SMN proteininin omurgalı canlılarda olduğu gibi Z disklerinde alfa aktin ile kompleks oluşturduğu saptanmış ve bu bulgular SMN proteininin kas dokusuna özel bir fonksiyonunun olabileceğini düşündürmüştür^{31,33}.

SMA'da önemli olan başka bir konu da aynı tip mutasyonu bulduran hastaların fenotiplerinin birbirlerinden çok farklı olmasıdır. Bu farkı açıklamak üzere, hastalığın seyri değişirebilecek aday genlerin ve SMN proteininin etkileşimde olduğu proteinlerin araştırılmasında *D.melanogaster* modelinden yararlanılmaktadır. Örneğin; *D.melanogaster*'in fibroblast büyüme faktörü (FGF) reseptör geni olan *breathless* geninde mutasyon yaratılması, *Smn* ifadesinin RNA interferans ile baskılandığı durumda görülen nöromusküler kavşak hatalarını şiddetlendirmiştir. Ayrıca, *Smn* ifadesi RNA interferans ile baskılandığında FGF sinyal yolağında rol alan bazı proteinlerin transkript düzeylerinin azalması da SMA'da FGF sisteminin önemli olabileceğini göstermiştir³⁴.

4.2. Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS)

ALS üst ve alt motor nöronların dejenerasyonu ile karakterize edilen, nörodejeneratif bir hastalıktır. Sporadik ve ailesel olmak üzere iki tipi bulunan hastalık, en sık 60-85 arası yaş grubunda görülmektedir^{9,35,36}. ALS vakalarının %90-95'i sporadik, %5'i aileseldir. Hastalığa neden olan mutasyonlar ilk olarak *süperoksit dismutaz (SOD1)* geninde tanımlanmış ve bunu izleyen yıllarda hastalığa neden olan (*TDP43*, *VAPB*, *FUS/TLS*, *C9orf72*, *TBK1*, *CHCHD10*, *PFN1* vb) çok sayıda gen bildirilmiştir³⁷.

SOD1 geni, hücreleri oksidatif strese karşı koruyan, toksik süperoksit radikallerini hidrojen peroksit ve oksijene dönüştüren bakır bağımlı bir enzimi kodlamaktadır. *D.melanogaster* ile yapılan bir çalışmada, aşırı ifade edilen *SOD1* proteininin motor nöronlarda biriktiği ve hasara neden olduğu gösterilerek ALS'nin protein birikimi hastalıkları grubuna dahil olabileceği ilk kez düşünülmüştür³⁸.

İnsanlarda ailesel ALS'ye neden olan *SOD1* geni mutasyonlarından A4V ve G85R, *D.melanogaster* nöronlarında ifade ettirildiğinde tırmanma bozuklukla-

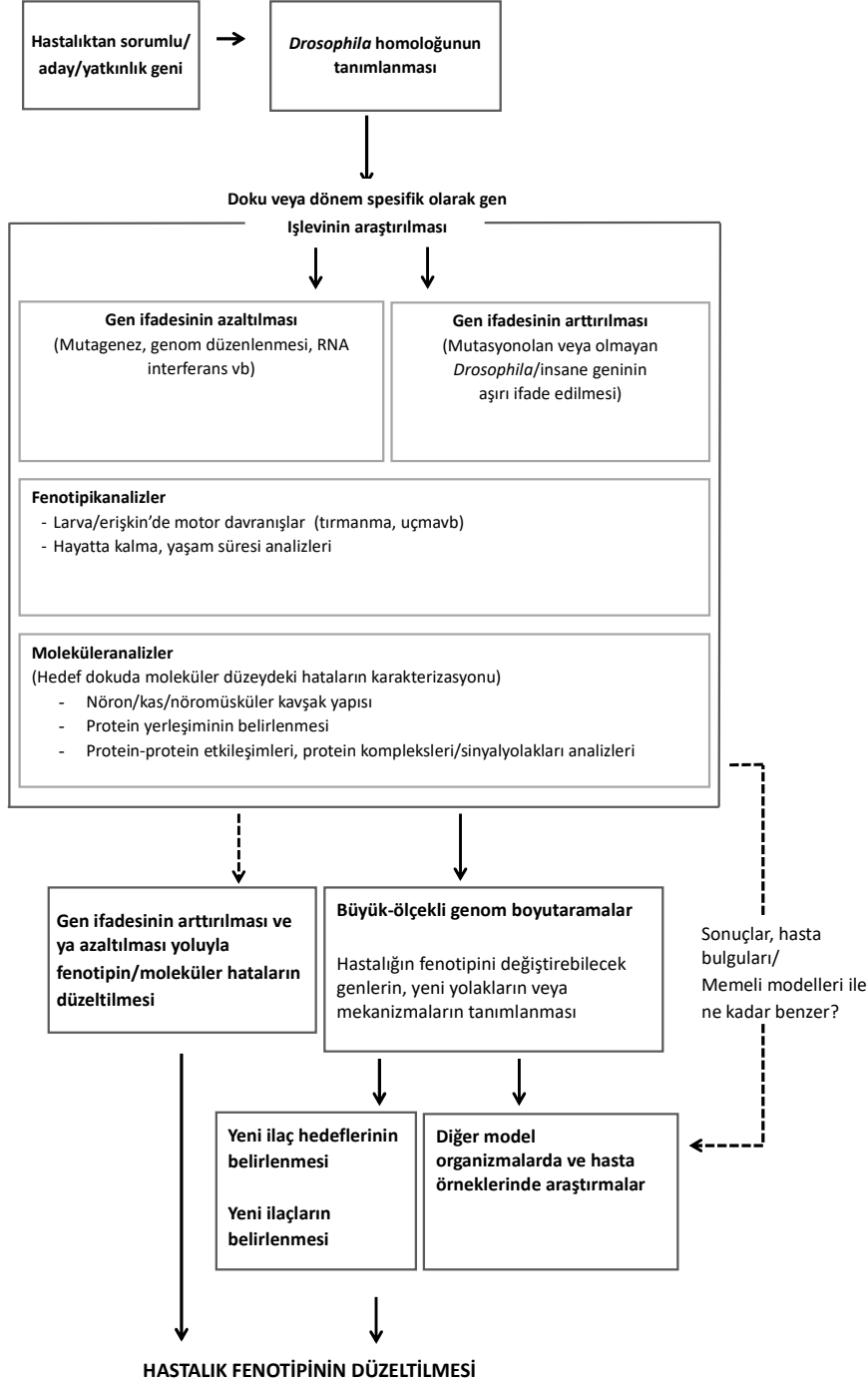
Tablo I. *D. melanogaster*'in model organizma olarak kullanılmasındaki avantajlar/dezavantajlar ve nörodejeneratif hastalıklarla ilgili çalışmalara sağladığı katkılar.

Avantajlar		Temel Bilgi Üretilmesi
<ul style="list-style-type: none"> • Kısa yaşam döngüsü ve süresinin olması • Bakım maliyetlerinin pahalı olmaması • Etik problemlerin olmaması • Temel hücresel olayların ve sinyal yollarının korunmuş olması • Küçük bir genomun olması ve genom dizisinin bilinmesi • Genom manipülasyonun kolaylığı • Transgenik modellerin hızlı ve ucuz bir şekilde oluşturulması • Kompleks merkezi sinir sisteminin, kan beyin bariyerinin ve nöromusküler sistemin varlığı 	→	<ul style="list-style-type: none"> • Gen fonksiyonlarının anlaşılması • Yeni genlerin tanımlanması • Genetik düzenleyicilerin tanımlanması • Moleküler ağların açıklanması
	→	Translational Yararlar <ul style="list-style-type: none"> • Hastalık patolojilerinin açıklanması • Klinik çeşitliliğin anlaşılması • Yeni tanı yaklaşımlarının geliştirilmesi • Tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi • İlaç geliştirilmesi
Dezavantajlar		
<ul style="list-style-type: none"> • Omurgalı olmaması • İnsandaki tüm doku (ör; kan, kemik, kıkırdak) ve organları (ör; karaciğer) bulundurmaması • İnsandaki tüm hastalıkların modellenememesi 		

Nörodegeneratif Hastalıklar ve *Drosophila melanogaster*

rına neden olmuştur. Ayrıca SOD1 proteininin nöronlarda yaşa bağlı olarak biriktiği ve glia etrafında stres yanıtı oluşturduğu gözlenmiştir. Bu bulgular daha sonra yapılacak olan çalışmalarda nöron-glia etkileşimlerinin incelenmesinin önemli olacağı fikrini doğurmuştur³⁹.

İnsanlarda ALS'nin patolojik bir göstergesi olarak kabul edilen mitokondri işlev bozukluğuna *SOD1* mutasyonlarının neden olabileceği hipotezi öne sürülmüş ve *Drosophila* üzerinde test edilmiştir. *SOD1* geni D83S mutasyonu, SOD1 proteininin çinko iyonlarına bağlanmasını engelleyerek hücrel toksisiteye neden olmaktadır. Transgenik bir model oluşturularak,



Şekil 2.

Drosophila modeli kullanılarak yürütülen çalışmalarda izlenen bazı stratejik yaklaşımlar.

çinko iyonlarına bağlanması engellenen insan mutant SOD1 proteini *Drosophila*'da ifade ettirilmiş ve mutant SOD1 ile mitokondri işlev bozukluğu arasındaki ilişkiyi destekleyen kanıtlar elde edilmiştir. Yapılan çalışmalar uçmayı sağlayan kaslarda mitokondri yapılarının bozulduğunu, mutantların beyinlerindeki ATP miktarının kontrole göre azaldığını, vücutlarındaki ATP miktarının ise mutant ve yabancıl tipte değişmediğini göstermiştir. Böylece SOD1 geni D83S mutasyonunun, nöronlarda ATP miktarını azalttığı ve mitokondri işlev bozukluğuyla ilişkili olduğu görüşü desteklenebilmiştir⁴⁰.

Vesicle-associated membrane protein associated protein B/C (VAPB) gen mutasyonları otozomal dominant geçişli ALS'ye neden olmaktadır. *Drosophila*'daki ortoloğunda yaratılan P58S mutasyonunun nöronlarda aşırı ifadesi, larvaların nöron hücrelerinde mikrotübül organizasyonunu bozulmasına, nöron ölümüne, larva hareketinin azalmasına neden olmuştur. Ayrıca mutantlardaki sinaptik taşınımın bozulmasının, VAPB proteininin aşırı ifade edilerek düzeltilmesi, bu proteinin sinaptik fonksiyonda görevi olduğunu düşündürmüştür^{41,42}.

TDP43 proteininin ALS patogenezindeki toksik rolü, *Drosophila*'da fonksiyon kaybı (*loss of function*) ya da fonksiyon kazanımı (*gain of function*) mutasyonları oluşturularak incelenmiştir. Yabancıl tip TDP43 proteininin nöronlarda baskılanması, erişkin sineklerde yaşam süresinin kısalmasına ve hareket yeteneklerinde azalmaya, aşırı ifadesi ise erişkin sineklerin yaşam süresinin kısalmasının yanı sıra hem larva hem erişkin sineklerin hareket yeteneğinin azalmasına neden olmuştur. *Drosophila* beyininde TDP43 proteininin hem baskılanması hem de aşırı ifadesi durumunda, nöron ve akson kayıpları oluşması, TDP43 proteininin fonksiyonel kaybında olduğu gibi fonksiyon kazanımında da toksik etki yaratabileceğini göstermiştir⁴³.

ALS'de fenotipi değiştirebilecek genleri araştırmak amacıyla da *Drosophila* modelinden yararlanılmaktadır. Örneğin TDP43 genindeki Q331K mutasyonunun retinada yarattığı toksisitenin, *Ataxin 2* geninin aşırı ifade edilmesiyle arttığı, baskılanması ile ise azaldığı gösterilmiş ve aday düzenleyici gen olarak kabul edilmiştir⁴⁴.

4.3. Parkinson Hastalığı (PD)

Parkinson hastalığı (PD), dopaminerjik nöron hasarı/kayıbı nedeni ile motor fonksiyon hataları gözlenen, alfa sinüklein birikimlerinin görüldüğü Lewy cisimciklerinin oluşması ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır⁴⁵. Vakaların çoğunun sporadik olduğu bilinmekle birlikte, hastalığın ortaya çıkmasında genetik ve çevresel faktörler de rol oynamaktadır. Ubikitin-proteozom sistemi tarafından yanlış katlanan proteinler, Lewy cisimcikleri içerisinde anormal protein birikimi, oksidatif stres, dopaminerjik nöronların kaybı, anormal protein yıkımı, mitokondri işlev bozukluğu,

hastalığın ortaya çıkmasında rol oynayan bazı anomaliler olarak bilinmektedir⁴⁶⁻⁴⁸. Hastalığa neden olan *LRRK2*, *ATP13A2*, *GBA*, *SNCA*, *PINK1*, *Omi-Htra2*, *DJ-1*, *UCHL1* gibi çok sayıda gen tanımlanmıştır. Bu genlerden bazılarının ortoloğu *D.melanogaster*'de bulunmaktadır (örneğin, *PINK1*, *DJ-1*, *LRRK2*)^{49,50}.

Bugüne kadar Parkinson hastalığının mekanizmasını çözümlenmek, hastalığa neden olan protein etkileşimlerini aydınlatmak, hastalık fenotipini değiştiren genetik düzenleyicileri tanımlamak, hatalı hücresel mekanizmalarla hastalık fenotipini düzelteren ilaç hedeflerini belirlemek ve çevresel etkileri incelemek amacıyla *D.melanogaster*'de çeşitli modeller yaratılmıştır^{10,51}. Örneğin, *Parkin* ve *Pink1* mutant *Drosophila* modellerinin oluşturulması, *Parkin* ve *Pink1* arasındaki ilişkiyi ve mitokondri hasarındaki rollerini anlamakta önemli olmuştur. *Parkin* mutant *Drosophila*'da, yaşam süresinin kısalması, uçmada görev yapan kasların dejenerasyonu, hareket problemleri, kas hücrelerinde mitokondri yapı bozuklukları ve oksidatif strese karşı duyarlılık gözlenmiştir. *Pink1* mutantlarda da kas dejenerasyonu ve benzer mitokondri hatalarının görülmesi *Parkin* ve *Pink1*'in aynı moleküler yolakta görev aldığını düşündürmüştür^{52,53}. *Pink1* mutant *Drosophila*'da görülen fenotipik bulgular, *Parkin* geninin aşırı ifade edilmesi ile düzeltilirken, *Parkin* mutantların bulgularının *Pink1* geninin aşırı ifadesi ile düzeltilmemesi, rol aldıkları yolakta *Pink1* geninin *Parkin*'in yukarısında yer aldığını göstermiştir. *Pink1* ve *Parkin* mutant *Drosophila*'da mitokondri hasarı görülmesi, mitokondri morfolojinin düzenlenmesinde rol oynayan proteinlerin araştırılmasına da imkan sağlamıştır. Örneğin, mitokondri fisyon proteini olan Drp1 proteininin ifadesinin arttırılmasıyla mitokondri hasarı düzeltilmesi mümkün olmuştur⁵⁴.

İnsan alfa sinüklein ve mutantları *Drosophila* dopaminerjik nöronlarında ifade ettirildiğinde nöron kaybı saptanmış, bu bulgu mutasyon içermesinden bağımsız olarak alfa sinüklein protein miktarındaki fazlalığı toksik etki yaratarak dopaminerjik nöron kaybına neden olabileceğini düşündürmüştür. İnsan Hsp70 şaperon proteininin ifadesi sağlandığında ise alfa sinüklein birikimi tarafından indüklenen dopaminerjik nöron hasarı kısmen düzeltilenmiştir. Hsp70'in alfa sinüklein toksisitesi üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla *Drosophila*'da Hsp70 proteinin ortoloğu olan Hsc4 şaperon proteininin trifosfat bağlanma domaininde mutasyon yaratılmıştır. Mutant Hsc4 ve alfa sinüklein proteinin birlikte ifade edildiği bu modelde dopaminerjik nöron kaybının artması, şaperon aktivitesinin yükseltilmesinin Parkinson tedavisinde etkili olabileceğini göstermiştir⁵⁵. Bir başka çalışmada da, *Drosophila*'ların şaperon aktivitesini indükleyen geldanamisin ile beslendiklerinde dopaminerjik nöronlarda alfa sinüklein tarafından indüklenen toksisiteden korundukları gösterilmiştir⁵⁶.

Sporadik Parkinson'un çevresel faktörler ve gen-çevre etkileşimleri sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir. *Drosophila*'da 6-hidroksidopamin, rotenon ve paraquat gibi nörotoksinler uygulanarak hastalığın sporadik formları modellenmiştir. Bu modellerde, Parkinson hastalığında görülen Lewy cisimciklerinde protein birikimi olmamakla birlikte, nörodejenerasyon ve mitokondri yapısında bazı değişiklik/bozuklukların ortaya çıktığı gözlenmiştir⁵⁷.

4.4. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer, ilerleyen hafıza kaybı ile sonuçlanan, korteks ve hipokampüste nöron kaybına neden olan bilincin ve davranışların etkilendiği nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın patogeneğinde hücre dışı amiloid plak birikimi, sinaptik bozulmalar ve nöron ölümleri görülmektedir⁵⁸⁻⁶¹. Amiloid beta plak birikimi Alzheimer hastalığının en temel nedenleri arasındadır. Plaklar, beta sekretaz enziminin öncül amiloid proteinini kesmesiyle meydana gelen amiloid beta peptitlerinin birikmesiyle oluşturulmaktadır. Amiloid beta birikimi, tau-mikrotübül bağlanmasının kontrol bozukluğunu da içeren nörotoksik mekanizmaları aktive etmektedir. Tau, mikrotübüllere bağlanarak stabilize sağlayan bir proteindir. Hiperfosforile olması durumunda tau-mikrotübül etkileşimi bozulmakta, tau birikmekte ve nörofibriler düğümler (*neurofibrillary tangles*) oluşmaktadır^{62,63}.

D.melanogaster modelinde tau ve plazma amiloid beta protein (*Aβ42*) genlerinin aşırı ifade edilmesi ile hastalarda gözlenen nöron kaybı, yaşam süresinin kısalması, lökomotor hareketin bozulması gibi fenotipik değişimler yaratılabilmektedir. *Drosophila* retinasında normal ve mutant tau proteinin aşırı ifadesi retina hücrelerinin ölmesine ve kaba göz fenotipine (*REP*) neden olmuştur. Bu fenotip sineklerde genetik etkileşimleri taramak için sıklıkla kullanılmaktadır. Örneğin, *glikojen sentaz kinaz 3β* (*GSK3β*) geninin ortoloğu olan *shaggy*'nin, tau'nun etkisini modifiye ettiği bu fenotip ile saptanmıştır⁶⁴.

Transgenik *Drosophila* modelleri ilaç araştırmalarının hızlı, etkili ve ekonomik bir şekilde yapılmasını da mümkün kılmaktadır. Örneğin, Aβ40 ve Aβ42 proteinlerinin nörodejenerasyondaki rolünün ve toksisiteye olan etkilerinin araştırılması için transgenik *Drosophila* modellerinden yararlanılmıştır⁶⁵. Aβ40 ve Aβ42 peptitleri ile oluşturulan plaklar, yaşa bağlı nörodejenerasyona ve erken ölümlere neden olmuş ve oluşturulan bu modeller, β-sekretaz inhibitör tarama çalışmaları için kullanılmıştır. Aday inhibitör bileşiklerle beslenen transgenik *Drosophila* larvalarında β-sekretaz enzim aktivitesi azaltılarak, yaşa bağlı nörodejenerasyon fenotipinin normale dönmesi ve erken ölümlerin sonlanması sağlanmıştır⁶⁶.

Sonuç/Tartışma

Morgan'ın laboratuvarında beyaz gözlü mutantları keşfetmesiyle dikkatleri çeken *D.melanogaster*, genetik araştırmalar alanında yeni bir kapı açmış, nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere birçok hastalığın patofizyolojisini, hastalık etiyojisini etkileyen mekanizmaların aydınlatılmasını ve semptomlarının anlaşılmasını sağlamış ve halen sağlamaya devam etmektedir. Hastalıkla ilişkili temel moleküllerin ve sinyal yollarının birçoğunun insandan önce *D.melanogaster*'de keşfedilmesi, moleküler genetik ve hücre biyolojisi alanlarındaki keşiflere hız kazandırmış, model canlıların önemini arttırmıştır. Çalışmalarda, fare, sıçan gibi insana evrimsel açıdan daha yakın model organizmalarla birlikte *Drosophila* modelinin kullanılması ile farklı türler arasında korunmuş düzenleyici genlerin/moleküler yolların tanımlanması mümkün olabilmekte, ortak bulgular aynı moleküler değişikliklerin insanlarda olma olasılığını güçlendirmektedir. *Drosophila* modelinin günümüzde hastalıklara ilişkin birçok bilinmeyen gün yüzüne çıkarma potansiyelinin bulunması, bundan sonraki yıllarda yeni teknolojiler geliştikçe tıp alanındaki sorularımıza cevap arayışımızda önemli roller üstlenmeye devam edeceğinin açık göstergesidir.

Teşekkür

Şekil çizimindeki katkılarından dolayı Nazlı Tunalı'ya teşekkür ederiz.

Etik Kurul Bilgisi:

Yazımızın türünün derleme olması nedeniyle etik kurul onayına gerek bulunmamaktadır.

Kaynaklar

1. Jenning BH. *Drosophila* – a versatile model in biology and medicine. *Materials Today*. 2011;14:190-195.
2. The Nobel Prize in Physiology or Medicine (1933). <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1933/summary/>
3. Tolwinski NS. Introduction: *Drosophila*- a model system for developmental biology. *J Dev Biol*. 2017;5:9.
4. Allocca M, Zola S, Bellosta P. The fruit fly, *Drosophila melanogaster*: the making of a model (Part I). In: Perveen FK, (eds). *Drosophila melanogaster: Model for Recent Advances in Genetics and Therapeutics*. Rijeka, Croatia: InTech;2018:113-130.
5. Ankeny RA, Leonelli S. What's so special about model organisms. *Studies in History and Philosophy of Science*. 2011;42:314-323.
6. Hedges SB. The origin and evolution of model organisms. *Nature*. 2002;3:838-849.
7. Bachli G. TaxoDros: The database on taxonomy of Drosophilidae, (taxodros.uzh.cs). (1999-2006).

8. Gonzalez C. *Drosophila melanogaster*: a model and tool to investigate malignancy and identify new therapeutics. *Nature Rev.* 2013;13:172-183.
9. McGurk L, Berson A, Bonini NM. *Drosophila* as *in vivo* model for human neurodegenerative disease. *Genetics.* 2015;201:377-402.
10. Sang TK, Jackson RG. *Drosophila* models of neurodegenerative disease. *The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics.* 2005;2:438-446.
11. Pandey UB, Nichols CD. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacol Rev.* 2011;63:412-431.
12. Baenas N, Wagner AE. *Drosophila melanogaster* as an alternative model organism in nutrigenomics. *Genes Nutr.* 2019;14:1-11.
13. Moreno MA, Farr CL, Kaguni LS, Garesse R. *Drosophila melanogaster* as a model system to study mitochondrial biology. *Methods Mol Biol.* 2007;372:33-49.
14. Flatt T. Life history evolution and the genetics of fitness components in *Drosophila melanogaster*. *Genetics.* 2020;214:3-48.
15. He Y, Jasper H. Studying aging in *Drosophila*. *Methods.* 2014;68:129-133.
16. Ryvkin J, Bentzur A, Krispil SZ, Ophir GS. Mechanisms underlying the risk to develop drug addiction, insights from studies in *Drosophila melanogaster*. *Front Physiol.* 2018;9:1-12.
17. Yamaguchi M, (eds). *Drosophila models for human diseases.* 1st edition. Singapore: Springer; 2018.
18. Potter CJ, Turenchalk GS, Xu T. *Drosophila* in cancer research an expanding role. *Trends in Genetics.* 2000;16:33-39.
19. Villegas SN. One hundred years of *Drosophila* cancer research: no longer in solidute. *Disease Models and Mechanisms.* 2019;12:1-5.
20. Bodmer R. The gene tinman is required for specification of the heart and visceral muscles in *Drosophila*. *Development.* 1993;118:719-729.
21. Allocca M, Zola S, Bellosta P. The fruit fly, *Drosophila melanogaster*: modeling of human diseases (Part II). In: Perven FK, (eds). *Drosophila melanogaster: Model for Recent Advances in Genetics and Therapeutics.* Rijeka, Croatia: In Tech; 2018:131-156.
22. Bergman P, Esfahani SS, Engstrom Y. *Drosophila* as a model for human diseases—focus on innate immunity in barrier epithelia. *Curr Top Dev Biol.* 2017;121:30-66.
23. Gitler AD, Dhillon P, Shorter J. Neurodegenerative disease: models, mechanisms and a new hope. *Dis Models Mech.* 2017;10:499-502.
24. Peng C, Trojanowski JQ, Lee VM. Protein transmission in neurodegenerative disease. *Nature.* 2020;16:199-212.
25. Aquilina B, Cauchci RJ. Modelling motor neuron disease in fruit flies: Lessons from spinal muscular atrophy. *J Neurosci Methods.* 2018;310:3-11.
26. Ugar B, Chen K, Bellen HJ. *Drosophila* tools and assays for the study of human diseases, disease models and mechanisms. *Dis Model Mech.* 2016;9:235-244.
27. Cartegni L, Krainer AR. Disruption of an SF2/ASF-dependent exonic splicing enhancer in *SMN2* causes spinal muscular atrophy in the absence of *SMN1*. *Nature.* 2002;30:377-384.
28. Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, ve ark. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell.* 1995;80:155-165.
29. Melki J, Lefebvre S, Burglen L, ve ark. De novo and inherited deletions of the 5q13 region in spinal muscular atrophies. *Science.* 1994;264:1474-1477.
30. Groen EJM, Talbot K, Gillingwater TH. Advances in therapy for spinal muscular atrophy: promises and challenges. *Nature Rev Neurol.* 2018;14:214-224.
31. Kreipke RE, Kwon YV, Shcherbata HR, Baker HR. *Drosophila melanogaster* as a model of muscle degeneration disorders. *Current Topics in Developmental Biology.* 2017;121:83-109.
32. Chang HC, Dimlich DN, Yokokura T, ve ark. Modelling spinal muscular atrophy in *Drosophila*. *PLoS ONE.* 2008;3:1-18.
33. Lloyd TE, Taylor JP. Flightless flies: *Drosophila* models of neuromuscular disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1184:1-25.
34. Sen A, Yokokura T, Kankel MW, ve ark. Modeling spinal muscular atrophy in *Drosophila* links Smn to FGF signaling. *J Cell Biol.* 2011;192:481-495.
35. Martin S, Khleifat AA, Chalabi AA. What causes amyotrophic lateral sclerosis. *FI000Res.* 2017;6:1-10.
36. Blacher E, Bashiardes S, Shapiro H, ve ark. Potential roles of gut microbiome and metabolites in modulating ALS in mice. *Nature.* 2019;572:474-480.
37. Tortarolo M, Coco DL, Veglianes P, ve ark. Amyotrophic lateral sclerosis a multisystem pathology: Insights into the role of TNF α . *Mediators of Inflammation.* 2017;2017:1-16.
38. Casci I, Pandey UB. A fruit fly endeavor: Modeling ALS in the fruitfly. *Brain Res.* 2015;1607:1-28.
39. Watson MR, Lagow RD, Xu K, Zhang B, Bonini NM. A *drosophila* model for amyotrophic lateral sclerosis reveals motor neuron damage by human SOD1. *J Biol Chem.* 2008;283:24972-24981.
40. Bahadorani S, Mukai ST, Rabie J, ve ark. Expression of zinc-deficient human superoxide dismutase in *Drosophila* neurons produces a locomotor defect linked to mitochondrial dysfunction. *Neurobiol Aging.* 2013;34:2322-2330.
41. Chai A, Withers J, Koh YH, ve ark. *hVAPB*, the causative gene of a heterogeneous group of motor neuron diseases in humans, is functionally interchangeable with its *Drosophila* homologue *DVAP-33A* at the neuromuscular junction. *Hum Mol Genet.* 2008;17:266-280.
42. Ratnaparkhi A, Lawless GM, Schweizer FE, Golshani P, Jackson GR. *Drosophila* model of ALS: Human ALS-associated mutation in VAP33A suggests a dominant negative mechanism. *PLoS ONE.* 2008;3:1-13.
43. Diaper DC, Adachi Y, Lazarou L, ve ark. *Drosophila* TDP-43 dysfunction in glia and muscle cells cause cytological and behavioural phenotypes that characterize ALS and FTL. *Hum Mol Genet.* 2013;22:883-889.
44. Elden AC, Kim HJ, Hart MP, ve ark. Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS. *Nature.* 2010;466:1070-1077.
45. Radhakrishnan DM, Goyal V. Parkinson's disease: A review. *Neurol India.* 2018;66:26-35.
46. Yamaguchi M, (eds). *Drosophila models for human diseases.* 1st edition. Singapore: Springer; 2018.
47. Baroli B, Loi E, Solari P, ve ark. Evaluation of oxidative stress mechanisms and the effects of phytotherapeutic extracts on Parkinson's disease *Drosophila* PINK1B9 model. *FASEB J.* 2019;33:11028-11034
48. DeMaagd G, Philip A. Parkinson's disease and its management. *P & T.* 2015;40:504-532
49. Wang D, Tang B, Zhao G, ve ark. Dispensable role of *Drosophila* ortholog of LRRK2 kinase activity in survival of dopaminergic neurons. *Mol Neurodegener.* 2008;3:1-7
50. Poole AC, Thomas RE, Andrews LA, ve ark. The PINK1/Parkin pathway regulates mitochondrial morphology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105:1638-1643.
51. Xiong Y, Yu J. (2018) Modeling Parkinson's disease in *Drosophila*: What have we learned from dominant traits?. *Front Neurol.* 2018;9:1-15

Nörodegeneratif Hastalıklar ve *Drosophila melanogaster*

52. Pesah Y, Pham T, Burgess H, ve ark. *Drosophila* parkin mutants have decreased mass and cell size and increased sensitivity to oxygen radical stress. *Development*. 2004;131:2183–2194
53. Greene J., Whitworth A., Kuo I, ve ark. Mitochondrial pathology and apoptotic muscle degeneration in *Drosophila* parkin mutants. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:4078–4083
54. Deng H, Dodson M, Huang H, Guo M. The Parkinson's disease genes Pink1 and Parkin promote mitochondrial fission and/or inhibit fusion in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105: 14503– 14508.
55. Auluck PK, Chan HY, Trojanowski JQ, Bonini NM, Lee VM. Chaperone suppression of alpha synuclein toxicity in a *Drosophila* model for Parkinson's disease. *Science*. 2002;295:865-868
56. Auluck PK., Bonini NM, Meulener MC. Mechanism of suppression of alpha synuclein neuro toxicity by geldanamycin in *Drosophila*. *J Biol Chem*. 2005;280:2873-2878
57. Soriano VM, Paricio N. *Drosophila* models of Parkinson's disease: Discovering relevant pathways and novel therapeutic strategies. *Parkinsons Dis*. 2011; 2011:1-14
58. Khanahmadi M, Farhud DD, Malmir M. Genetic of Alzheimer's disease: A narrative review article. *Iran J of Public Health*. 2015;44:892-901
59. Yamaguchi M, (eds). *Drosophila* models for human diseases. 1st edition. Singapore: Springer; 2018.
60. Ulep MG, Saraon SK, Mclea S. Alzheimer disease. *The Journal for Nurse Practitioners*. 2018;14:129-135
61. Tue NT, Dat TQ, Ly LL, Anh VD, Yoshida H. Insights from *Drosophila melanogaster* model of Alzheimer's disease. *Front Biosci*. 2020;25:134-146
62. Tan FHP, Azzam G. *Drosophila melanogaster*: Deciphering Alzheimer's disease. *Malays J Med Sci*. 2017;24:6-20
63. Buhl E, Higham JP, Hodge JLL. Alzheimer's disease-associated tau alters *Drosophila* circadian activity, sleep and clock neuron electrophysiology. *Neurobiol Dis*. 2019;130:1-9
64. Prüßing K, Voigt A, Schulz JB. *Drosophila melanogaster* as a model organism for Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 2013;8:2-11
65. Iijima K, Liu HP, Chiang AS, ve ark. Dissecting the pathological effects of human A β 40 and A β 42 in *Drosophila*: A potential model for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:6623-6628
66. Greeve I, Kretzschmar D, Tschäpe JA, ve ark. Age-dependent neurodegeneration and Alzheimer-amyloid plaque formation in transgenic *Drosophila*. *J Neurosci*. 2004;24:3899–3906.

