

Türk Popülasyonunda APOE Polimorfizmleri ve Alzheimer Hastalığı Arasındaki İlişki

Association Between Alzheimer Disease and APOE Gene Polymorphisms in Turkish Population

¹Oğuz Çilingir, ²Belgin Demet Özbabalık Adapınar, ¹Beyhan Durak Aras, ¹Ebru Erzurumluoğlu Gökalp, ³Serhat Özkan, ¹Serap Arslan, ¹Konül Haziyeve, ¹Sinem Kocagil, ⁴Muzaffer Bilgin, ¹Sevilhan Artan

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye.
²Acıbadem Hastanesi, Nöroloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye.
³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye.
⁴Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

Özet: Alzheimer Hastalığı (AH), demansın en yaygın nedeni olan, sinaps ve nöronların kaybının yanı sıra hücre dışı amyloid plakların ve hücre içi nörofibriller yapıların patolojik oluşumları ile karakterize, en sık görülen progresif nörodejeneratif bir hastalıktır. Geç başlangıçlı AH'da Apolipoprotein E (APOE) gen polimorfizmleri hücre seviyelerinde önemli bir etkiye sahip olmakla beraber aynı zamanda nöropatolojik koşullarla da ilişkilendirilmiştir. APOE gen polimorfizmlerinin AH' ları üzerinde etkisini saptamak amacıyla yaptığımız çalışmamıza 45-90 yaş arasında olan 629 hasta ve 200 sağlıklı birey dahil edilmiştir. APOE geni izoformları gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR) yöntemi ile incelenmiştir. Hasta ve kontrol grupları arasında hem APOE genotip dağılımları ($p < 0.001$) hemde allel frekansları ($p < 0.001$) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir. APOE $\epsilon 4$ allel taşıyıcısı olan bireylerde $\epsilon 4$ alleli taşımayan bireylere göre AH riskinin 5.49 kat fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır (OR= 5.49, %95 CI: 3.86-7.81, $p < 0.001$). MMSE (Mini-Mental Durum Muayenesi) skorunun; $\epsilon 4$ alleli taşıyıcılarında, taşıyıcı olmayanlara göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Bütün bu verilere dayanarak APOE $\epsilon 4$ allelinin AH'nın gelişim riskini arttırdığı sonucuna varılabilir. Sonuçlarımız APOE genotipinin AH için bir risk faktörü olduğunu doğrulamıştır. APOE'nin AH gelişimine katkısını net olarak saptayabilmek için, coğrafi konumun ve etnik kökenin önemi de dikkate alınarak, daha geniş çaplı moleküler çalışmalara ihtiyaç olduğu bir gerçektir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer Hastalığı, APOE, polimorfizm, $\epsilon 4$ allel

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disease and the most common form of the dementia which is characterized by the accumulation of amyloid plaques at the extracellular compartment and formation of neurofibrillar tangles at the intracellular compartment which results in the degeneration of the neuron bodies and synapses. APOE gene polymorphisms in late-onset AD have a significant effect on cellular levels and also have been associated with neuropathological conditions.

To determine the effect of APOE gene polymorphisms on Alzheimer's patients, we have included 629 AD patients between 45-90 years and 200 healthy subjects into the study. APOE gene isoforms were determined by real-time PCR method. APOE genotype distributions were significantly different between the patient and control groups ($p < 0.001$). There was a statistically significant difference in allele frequencies between patient and control groups ($p < 0.001$). At $\epsilon 4$ allele carriers there was a 5.49 times higher risk of AD than the subjects that lack the $\epsilon 4$ allele (OR= 5.49, %95 CI: 3.86-7.81, $p < 0.001$). The MMSE (Mini-Mental State Examination) score was lower among APOE $\epsilon 4$ -carriers when compared to the non-carriers ($p < 0.001$).

On the basis of all these data it can be concluded that the APOE $\epsilon 4$ allele increases the risk of development of AD. Our results confirmed that the APOE genotype is a risk factor for AD. However, considering the importance of the geographic location and ethnicity, it is a fact that larger molecular studies are needed to clearly determine the contribution of the APOE gene to the development of AD.

Keywords: Alzheimer Diseases, APOE, polymorphism, $\epsilon 4$ allel

ORCID ID of the authors: O Ç 0000-0002-5593-4164, B D Ö A 0000-0002-3650-2876, B D A 0000-0003-1881-1912, E E G 0000-0002-1275-5174, S Ö 0000-0002-6310-4590, S A 0000-0002-7112-5658, K H 0000-0002-0936-7816, S K 0000-0003-2595-3919, M B 0000-0002-6072-6466, S A 0000-0001-7658-6309

Received 15.04.2019

Accepted 20.06.2019

Online published 02.07.2019

Correspondence: Oğuz ÇİLİNGİR- Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye
e-mail: drozi1@gmail.com

Cite this article as:

Cilingir O, Özbabalık Adapınar BD, Durak Aras B, Erzurumluoğlu Gökalp E, Özkan S, Arslan S, Haziyeve K, Kocagil S, Bilgin M, Artan S. Association Between Alzheimer Disease And APOE Gene Polymorphisms In Turkish Population, Osmangazi Journal of Medicine, 2020;42(2):222-230 Doi: 10.20515/otd. 553900

1. Giriş

Demans, gelişmiş toplumlarda büyük bir sağlık sorunu olarak kendini gösteren; genetik, metabolik, vasküler ve epigenetik faktörlerin nöronların erken ölümüne yol açtığı multifaktöriyel/kompleks bir bozukluktur. Alzheimer hastalığı (AH) en sık görülen demans şeklidir (%50–70), bunu sırasıyla vasküler demans (%30–40) ve miks demans (%15-20) izlemektedir (1).

Alzheimer Hastalığı, sinaps ve nöronların kaybının yanı sıra hücre dışı amiloid plakların ve hücre içi nörofibriller yapıların patolojik oluşumları ile karakterize progresif bir nörodejeneratif hastalıktır (2,3). *APP*, *PSENI* veya *PSEN2* genlerindeki patojenik varyantlardan kaynaklanan erken başlangıçlı familial AH genellikle 65 yaşın altında gelişmekte ve olguların %1'inden az kısmında görülmektedir. 65 yaşın üstünde gözlenen geç başlangıçlı AH ise olguların %95' den fazlasında izlenmektedir. 65 yaşın üzerindeki bireylerin yaklaşık %13'ünün, 85 yaşın üzerindeki bireylerin ise %45'inin bu hastalığa yakalandığı ve gelişmiş ülkelerde ölümlerin dördüncü önde gelen nedeni olduğu tahmin edilmektedir (4,5).

Moleküler çalışmalar, amiloid plakların ana bileşeninin amiloid beta (A β), nörofibriller yumaklarını oluşturan ana bileşenin ise tau proteini olduğunu göstermiştir. Tüm genom asosiyasyon (GWAS) ve gen dizileme çalışmalarında geç başlangıçlı AH için çok sayıda duyarlılık geni tanımlanmış olmakla birlikte Apolipoprotein E (APOE) gen polimorfizmleri, AH gelişimi için risk altındaki bireylerin tanımlanmasına ve yeni hastalık tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olacak umut verici bir hedef haline gelmiştir.

En yaygın beyin lipoproteini olan APOE' yi kodlayan gen, insanda kromozom 19q13 bölgesinde lokalizedir. Beyinde birbirlerinden bir ya da iki amino asitle farklılık gösteren üç ana izoform ile ifade bulmaktadır: APOE ϵ 2 (Cys112, Cys158), APOE ϵ 3 (Cys112, Arg158) ve APOE ϵ 4 (Arg112, Arg158). Bu üç APOE izoformu arasındaki farklılıklar, moleküler ve hücresel seviyelerde APOE'nin yapısı ve fonksiyonu üzerinde önemli bir

etkiye sahip olmakla beraber aynı zamanda nöropatolojik koşullarla da ilişkilendirilmiştir

(6). Alzheimer ve APOE arasındaki patojenik ilişkinin altında yatan mekanizmalar hala tam olarak anlaşılmamış olsa da, ortaya çıkan veriler APOE'nin hem A β - bağımlı hem de A β -bağımsız yollarla Alzheimer patogenezinde katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (3).

Alzheimer patogenezinde A β klerensindeki genel bozulmanın etkili olduğu düşünülmektedir (7). Özellikle A β birikimi ve APOE ϵ 4 allel dozu arasında anlamlı derecede ilişki bulunmuştur (8-10). Bunun yanı sıra, geç başlangıçlı Alzheimer vakalarında yapılan nöropatolojik incelemelerde de APOE ϵ 4 allel dozunun beyindeki artmış A β , A β oligomerleri ve plak birikimi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (11-13).

Geç başlangıçlı AH için majör genetik risk faktörü olarak kabul edilen APOE genotipine yönelik genetik ve epidemiyolojik çalışmalarda, APOE ϵ 2 allelinin AH için koruyucu rolü olduğu, buna karşılık heterozigot ve homozigot olarak APOE ϵ 4 allelini taşıyanlarda AH gelişme riskinin sırasıyla yaklaşık 2-3 ve 12 kat arttığı ifade edilmektedir. Normal popülasyonda APOE geni allel frekansları %8,4 (ϵ 2), %77,9 (ϵ 3) ve %13,7 (ϵ 4) oranında gözlenmekte iken, AH olgularında ϵ 4 alleli sıklığının %40'a kadar yükseldiği tespit edilmiştir (4). Beyaz ırkta AH olgularının %60 kadarının APOE ϵ 4 taşıyıcısı olduğu ve hastalığın ortaya çıkma yaşını her bir allel başına 7-9 yıl erken döneme çektiği bildirilmektedir. Popülasyon temelli çalışmaların verilerine bakıldığında da, APOE ϵ 4'ün AH ile ilişkisi Afrikan Amerikalılarda (ϵ 4/ ϵ 4, OR 5.7) ve hispanik toplumlarda (ϵ 4/ ϵ 4, OR 2.2) düşük bulunurken, Japonlarda (ϵ 4/ ϵ 4, OR 33.1) beyaz ırkla karşılaştırıldığında (ϵ 4/ ϵ 4, OR 12.5) risk daha yüksek bulunmuştur (14). Bu verilere dayanarak, APOE ϵ 4 allelinin gen doz bağımlı bir modelle AH gelişimi açısından artmış risk faktörü olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, APOE geni polimorfizmlerinin Türk Alzheimer olgularındaki dağılımları ve fenotipe etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda 629

Alzheimer tanısı alan olgu ile yaşla uyumlu 200 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunda APOE geni $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ varyantlarının genotip ve allel frekans dağılımları karşılaştırılmıştır.

2. Gereç ve Yöntem

2011-2017 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Alzheimer Hastalığı tanısı ile refere edilen olgular ile retrospektif bir çalışma hedeflenmiştir. Çalışmaya 45-90 yaşları arasında olan 629 hasta ve 200 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastalardan hasta onam formları, poliklinik muayenesi sırasında alınmıştır. Olgulardan tıbbi öykü ve aile öyküsü alınmış, fizik muayene, standart kan basıncı ölçümü, nörolojik muayene yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen hasta bireylerin bilişsel ve fonksiyonel bozukluğunun değerlendirilmesi için Mini-Mental Durum Muayenesi (MMSE) yapılmıştır.

APOE geni polimorfizm analizleri

Olgulardan alınan periferik kan örnekleri, ApoE geninde kodon 112 ve kodon 158'de tanımlanan 2 mutasyon açısından gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR) yöntemi ile çalışılmıştır. Hastalardan alınan periferik kan örneklerinden robotik DNA izolasyonu (MagNaPure Compact-Roche) sonrası, APOE geni mutasyon analizi, GZ-PZR yöntemi (LightMix Kit ApoE C112R R158C kiti) ile üretici firmanın önerdiği koşullar doğrultusunda gerçekleştirilmiş ve olgularda APOE genotiplendirmesi yapılmıştır. Gerçek-zamanlı PZR'de (Roche LightCycler480 I Cihazı) 228 bp uzunluğundaki APOE geni amplifiye edilmiştir. Analiz sırasında bir SimpleProbe® olan prob 519 (APOE C112R, kanal 530) ve LightCyclerRed 640 ile işaretlenmiş hibridasyon problemleri (APOE R158C, kanal 640) kullanılmıştır. Olgular ile kontrol gruplarında, analiz sonrası APOE $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ allellerinin genotiplendirme süreci Tablo 1'de ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

Tablo1. Gerçek-zamanlı PZR analiz sonuçlarına göre APOE genotiplendirmesi (LightCycler 480 I Cihazı)

Allel Değişimi	(Amino Asit)	112 C/C 158 R/R	112 C/C 158 C/C	112 C/C 158 C/R	112 C/R 158 C/R	112 C/R 158 R/R	112 R/R 158 R/R
ApoE Tipi		$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 2/\epsilon 2$	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 2/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 4/\epsilon 4$

İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler, IBM SPSS 21.0 ile yapılmıştır. APOE genotipi ile allel sıklığı, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ allellerinin frekansları, APOE geni $\epsilon 4$ allel frekanslarının Alzheimer ve kontrol gruplarındaki dağılımları Pearson Ki-kare testi ile değerlendirilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarında, en az bir $\epsilon 4$ alleli taşıyan bireyler ile $\epsilon 4$ alleli taşıyıcısı olmayan bireyler arasında OR (Odds Ratio) değeri lojistik regresyon analizi ile hesaplanmıştır. $\epsilon 4$ allelin MMSE (Mini-Mental Durum Muayenesi) skoru ve hastalık başlangıç yaşına etkisi Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

3. Bulgular

Çalışmamızda, Alzheimer Hastalığı tanısı alan 629 olgu ile, 200 yaşla uyumlu sağlıklı bireyin APOE genotiplerinin dağılımları değerlendirilmiştir. Alzheimer grubunun yaş ortalaması 71.7 ± 12.92 , kontrol grubu yaş ortalaması ise 70.4 ± 11.98 olarak tespit edilmiş olup bu iki grubun yaş dağılımları arasında istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir ($p=0.207$). Kadın/Erkek oranı sırasıyla 372/257 ve 113/87'dir. Hasta ve kontrol grubunda $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ ve $\epsilon 4/\epsilon 4$ genotiplerinin dağılımı Tablo 2'de verilmiştir. APOE genotip dağılımları açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur

($p < 0.001$). Alzheimer grubunda %5.6 sıklıkla $\epsilon 4/\epsilon 4$ genotipi bulunurken, kontrol grubunda bu genotipe sahip bir birey gözlenmemiştir. Her bir allel frekansının gruplar arasındaki dağılımları değerlendirildiğinde ise (Tablo 2) Alzheimer grubunda allel sıklıkları $\epsilon 3$ (%75.6), $\epsilon 4$ (%18.9) ve $\epsilon 2$ (%5.5) olarak sıralanırken, kontrol grubunda da aynı sıra ($\epsilon 3$

%83.8, $\epsilon 4$ %9.3 ve $\epsilon 2$ %7) gözlenmiş olmakla birlikte frekanslar arasında anlamlı farklılık dikkati çekmektedir. Hasta ve kontrol grupları arasında allel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir ($p < 0.001$).

Tablo 2. APOE genotipinin ve allel sıklığının Alzheimer ve kontrol grubunda dağılımı

APOE Genotip	Alzheimer [n (%)]	Kontrol [n (%)]	P*
$\epsilon 2/\epsilon 2$	4 (0.6)	0 (0)	<0.001
$\epsilon 2/\epsilon 3$	55 (8.7)	26 (13)	
$\epsilon 2/\epsilon 4$	6 (1)	2 (1)	
$\epsilon 3/\epsilon 3$	367 (58.3)	137 (68.5)	
$\epsilon 3/\epsilon 4$	162 (25.8)	35 (17.5)	
$\epsilon 4/\epsilon 4$	35 (5.6)	0 (0)	
APOE Allel			
$\epsilon 2$	69 (5.5)	28 (7)	<0.001
$\epsilon 3$	951 (75.6)	335 (83.8)	
$\epsilon 4$	238 (18.9)	37 (9.3)	
Toplam	629 (100)	200 (100)	

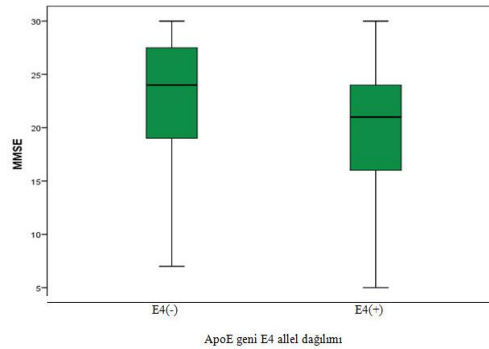
APOE $\epsilon 4$ alleli için; en az bir $\epsilon 4$ alleli taşıma sıklığı, Alzheimer grubunda %32.3, kontrol grubunda da %18.5 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen istatistiksel sonuçlara dayanarak, $\epsilon 4$ allel taşıyıcısı olan bireylerde $\epsilon 4$ alleli taşıyıcısı olmayan bireylere göre riskin 5.49 kat fazla olduğu sonucuna ulaşılmış

(OR=5.49, %95 CI: 3.86-7.81, $p < 0.001$) olup veriler Tablo 3'de özetlenmiştir. $\epsilon 4$ alleli taşıyıcılarında, $\epsilon 4$ alleli taşıyıcısı olmayan bireylere göre MMSE skorunun daha düşük olduğu tespit edilmiş ve istatistiksel olarak bu fark anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Allel dağılımı ve MMSE puanlarının karşılaştırılması Şekil 1'de gösterilmiştir.

Tablo 3. APOE geni $\epsilon 4$ allel frekanslarının dağılımı

Gruplar	E4 allel (+) [n (%)]	E4 allel (-) [n (%)]	Toplam [n (%)]	P*	OR (95% CI)
Hasta	203 (32.3)	426 (67.7)	629 (100)	<0.001	5.49 (3.86-7.81)
Kontrol	37 (18.5)	163 (81.5)	200 (100)		
Toplam	240 (29)	589 (71)	829 (100)		

OR, olasılık oranı; CI, güven aralığı.



Şekil 1. APOE geni $\epsilon 4$ alleli frekanslarının Alzheimer hastalarında MMSE test skorlarına göre dağılımı

Hasta grubumuzda en az bir $\epsilon 4$ allele sahip bireylerde hastalığın başlangıç yaşının, diğer alleleri taşıyan Alzheimer olgularına göre daha erken olduğu tespit edilmiş olmakla birlikte bu bulgu istatistiksel verilere yansımamıştır ($p=0.055$). Heterozigot ve homozigot $\epsilon 4$ genotipine sahip bireyler arasında hastalık başlangıç yaşı açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p= 0.180$).

4. Tartışma

Alzheimer hastalığı (AH), en iyi bilinen ve en sık görülen demans tipidir. Tüm demansların % 59-70'ini AH'nın oluşturmaktadır (15). Günümüzde majör AH risk faktörü olarak değerlendirilen APOE geni $\epsilon 2$ allelinin AH riskini azalttığı (koruyucu allel), $\epsilon 4$ allelinin ise AH riskini arttırdığı bilinmektedir. APOE $\epsilon 4$ allelinin amiloid plak ve nörofibril yumak oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (16). Yapılan genetik ve epidemiyolojik çalışmalarda geç başlangıçlı AH'nın yaklaşık % 50-80 kadarında, APOE geni $\epsilon 4$ varyantının bulunduğu bildirilmiştir (17). APOE ve AH riski arasındaki ilişki çok sayıda popülasyonda çalışılmıştır. APOE $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ allel frekanslarının, coğrafik lokalizasyon

ve etnik köken farklılığından dolayı popülasyonlar arasında değişkenlik gösterdiği gözlenmiştir (14). APOE $\epsilon 4$ allelinin heterozigot veya homozigot durumda bulunmasının hem erken hem de geç başlangıçlı AH riskini artırdığı düşünülmektedir (18). Çalışmamızda hasta grubumuzda en az bir $\epsilon 4$ allele sahip bireylerde hastalık başlangıç yaşının allelleri taşıyan olgulara göre daha erken olduğu gözlenmiş ancak bu bulgu istatistiksel verilere yansımamıştır ($p=0.055$). Heterozigot ve homozigot $\epsilon 4$ genotipine sahip bireyler arasında hastalık başlangıç yaşı açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p= 0.180$). Alzheimer ve kontrol grubunda APOE genotip dağılımlarına bakıldığında; ilk üç sırayı, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ ve $\epsilon 2/\epsilon 3$ genotiplerinin aldığı gözlenmiştir (Tablo 4). Ancak, Alzheimer grubunda $\epsilon 3/\epsilon 3$ ve $\epsilon 2/\epsilon 3$ genotip sıklığının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu, buna karşılık $\epsilon 3/\epsilon 4$ sıklığının daha fazla olduğu dikkati çekmiştir. Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalara benzer olarak hem hasta hem kontrol grubunda $\epsilon 3$ alleli en yaygın gözlenen allel olarak belirlenmiştir (Tablo 5).

Tablo 4.Farklı toplumlarda APOE genotip varyantlarının frekans dağılımları

Ülke (N=Hasta/Kontrol)	AH Hasta Grubu (%)						Kontrol Grubu (%)						Ref.
	$\epsilon 2/\epsilon 2$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/\epsilon 4$	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 2/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 2/\epsilon 2$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/\epsilon 4$	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 2/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	
Ekvator (N=56/58)	-	48.2	17.9	1.8	1.8	30.4	-	81.0	-	6.9	1.7	10.3	(31)
Norveç (N=376/561)	0.3	28.2	15.2	7.4	6.6	42.3	0.7	55.8	2.3	17.1	4.1	20.0	(28)
Tahran,İran(N=105/129)	-	63.8	7.6	1.9	-	26.7	-	82.9	0.8	5.4	-	10.9	(29)
İngiltere(N=630/756)	0.3	32.3	16	5.1	1	45.2	0.3	58.9	1.6	14.3	2.0	23.0	(24)
Tunus(N=58/71)	-	35	17	4	9	35	1	68	2	10	3	16	(36)
Çin (N=1027/1149)	0.2	51.3	8.3	6.2	2.3	31.6	0.7	69.8	0.7	13.4	1.8	13.6	(30)
Brezilya (N=211/144)	0.9	49.7	9.9	2.3	1.4	35.5	0.6	63.1	0.6	12.5	1.3	21.5	(25)
Hindistan (N=156/138)	-	34.63	14.74	1.28	1.28	48.07	3.62	59.43	4.35	5.79	2.17	24.64	(26)
Türkiye (N=53/56)	-	58.5	5.7	7.5	-	28.3	-	67.9	-	17.9	1.8	12.5	(19)
Türkiye (N=68/127)	-	63.2	-	7.4	-	29.4	-	71.7	-	11.8	0.8	15.7	(23)
Türkiye (N=62/56)	-	48.4	3.2	12.9	3.2	32.2	-	67.9	-	14.3	-	17.9	(20)
Çalışmamız (N=629/200)	0.6	58.3	5.6	8.7	1	25.8	-	68.5	-	13	1	17.5	

Tablo 5.Farklı toplumlardaki APOE allel frekans dağılımının literatür karşılaştırması

(N=Hasta/Kontrol)	$\epsilon 2$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$	$\epsilon 2$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$	
Norveç (N=376/561)	7.3	53.1	39.6	11.3	74.3	14.3	(28)
Tahran,İran (N=105/129)	0.95	78.1	21	2.7	91.1	6.2	(29)

İngiltere (N=630/756)	3.3	57.5	39.1	8.0	78	14	(24)
Çin (N=1027/1149)	4.5	70.3	25.2	8.3	83.3	8.4	(30)
Brezilya (N=211/144)	2.8	68.87	28.4	7.6	80.2	12.1	(25)
Hindistan (N=156/138)	1.28	59.30	39.42	7.6	74.64	17.76	(26)
İtalya (N=276/248)	4.0	70	26.0	4.0	90	6.0	(27)
Türkiye (N=62/56)	8.1	70.2	21.8	7.1	83.9	8.9	(20)
Türkiye (N=54/57)	3.71	76.85	19.44	8.77	84.21	7.02	(21)
Türkiye (N=183/154)	2.5	80.3	17.2	6.8	83.4	9.7	(22)
Türkiye (N=68/127)	3.7	81.6	14.7	6.3	85.4	8.3	(23)
Çalışmamız (N=629/200)	5.5	75.6	18.9	7	83.8	9.3	

Farklı popülasyonlarda ve ülkemizde yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde sonuçlarımız APOE genotip dağılımlarının AH üzerine etkisi olduğunu doğrulamıştır (Tablo 4). Heterozigot/homozigot $\epsilon 4$ taşıyıcılığı özellikle Alzheimer vakalarında kontrollere göre daha yüksek sıklıkta bildirilmiştir. Çalışmamızda da homozigot $\epsilon 4/\epsilon 4$ genotipi sadece hasta grubunda gözlenmiştir. Farklı toplumlarda yapılan çalışmaların $\epsilon 4$ homozigot/heterozigot oranları tablo 6' da özetlenmiştir.

Türk popülasyonunda yapılan diğer çalışmalarda da, $\epsilon 4$ allel frekansının demans grubunda % 14.7-21.8, kontrol grubunda da % 7.02- 8.9 arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiş ve $\epsilon 4$ taşıyıcılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir (19-23).

Diğer toplumlarda yapılan çalışmalarda ise $\epsilon 4$ allel frekansları, hasta grubunda %21-39 arasında, kontrol grubunda ise %6-17 arasında olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızla uyumlu olarak, $\epsilon 4$ taşıyıcılığının özellikle demans olgularında yüksek sıklıkta gözlendiği bildirilmiştir (24-30). Ülkemizde ve diğer toplumlarda saptanan APOE allel frekans dağılımları Tablo 5'te özetlenmiştir.

Çalışmamızın sonuçları $\epsilon 4$ allel frekans dağılımları açısından incelendiğinde; Alzheimer (%18.9) ve kontrol (%9.3) grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p<0,001$) olup sonuçlarımız tablo 5'de özetlenen literatür verilerini desteklemektedir. Farklı toplumlarda yapılan çalışmalarda da en az bir $\epsilon 4$ allel taşıyıcısı olan bireylerin $\epsilon 4$ alleli taşımayan bireylere göre Alzheimer geliştirme riskinin sırasıyla; 2.115 (22), 2.21

(23), 2.905 (20), 3.60 (27), 3.468 (26), 4.5 (29), 7.286 (31) kat arttığı tespit edilmiştir. Çalışma grubumuzda en az bir $\epsilon 4$ alleli taşıma sıklığı, hasta grubunda % 32.3, kontrol grubunda % 18.5 olarak saptanmıştır. Elde edilen istatistiksel sonuçlara dayanarak, $\epsilon 4$ allel taşıyıcısı olan bireylerin $\epsilon 4$ alleli taşımayan bireylere göre riski 5.49 kat artmaktadır (OR= 5.49, %95 CI: 3.86-7.81, $p<0.001$). Çalışmamız sonucunda elde edilen veriler, $\epsilon 4$ allelinin AH için bir risk faktörü olduğunu öne süren literatür verilerini destekler niteliktedir.

$\epsilon 4$ allelinin MMSE değerleri üzerindeki etkisi hakkında çelişkili veriler bulunmaktadır. Aslan ve ark. (20) 62 Alzheimer vakası üzerinde yaptıkları çalışmada $\epsilon 4$ alleli taşıyan ve taşımayan bireylerin MMSE skorlarında istatistiksel olarak bir fark gözlememişlerdir ($p>0.05$). Başka bir çalışmada yaşı 90 ve üzeri olanlarda $\epsilon 4$ allelinin MMSE üzerinde etkisi olmadığı tespit edilmiştir (32). Bunun yanı sıra $\epsilon 4$ alleli taşıyıcılarının özellikle homozigot bireylerde MMSE skorunun daha düşük olduğunu tespit eden veriler de bulunmaktadır (33-35). Çalışmamızda $\epsilon 4$ alleli taşıyan bireylerde MMSE skorunun daha düşük olduğu gözlenmiş ve istatistiksel olarak $\epsilon 4$ alleli ile MMSE arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Ancak yapılan çalışmalarda olguların sosyal, ekonomik, eğitim durumlarının da dahil edilmesinin, kognitif durum ve $\epsilon 4$ varlığı ilişkisinin belirlenmesinde daha etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Tablo 6.Farklı toplumlarda Alzheimer vakalarında $\epsilon 4$ homozigot ve heterozigot genotiplerinin frekansı (37, 38)

Ülke	APOE $\epsilon 4/-\%$	APOE $\epsilon 4/\epsilon 4\%$
Avustralya	62.44	11.61
Çin	32.78	5.52
Fransa	56.36	13.61
İtalya	39.08	5.07
Japonya	48.92	9.69
Hollanda	52.04	12.26
Güney Kore	46.25	2.24
İsveç	67.88	15.71
Amerika	55.84	11.47
Türkiye	38.7	3.2
Çalışma grubumuz	26.70	5.6

5. Sonuç

APOE geninin izoformları ve bunların Alzheimer hastalığı ile ilişkilerini inceleyen çok sayıda çalışma, olguların coğrafi konumunun ve etnik kökeninin önemini vurgulamaktadır. $\epsilon 4$ allelinin varlığı etnik gruplar arasında değişkenlik göstermesine rağmen, AH gelişiminde önemli bir risk faktörüdür. Çalışmamız Türk Alzheimer grubunda yapılan en geniş çaplı çalışmalardan birisidir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, $\epsilon 4$ allel frekansı demans grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda saptanmış

ve sonuçlar literatür verilerini desteklemiştir. $\epsilon 4$ allel taşıyıcısı olan bireylerin $\epsilon 4$ alleli taşımayan bireylere göre Alzheimer geliştirme riski 5.49 kat artmaktadır.

Özellikle ülkemiz gibi geniş genetik çeşitlilik gösteren popülasyonlarda AH gelişiminde genetik, etnik ve çevresel faktörlerin birlikte etkili olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, AH gelişimi ve APOE allellerinin ilişkisini belirleyebilmek için moleküler mekanizmaları açıklamaya yönelik daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Cacabelos R, Martínez R, Fernández-Novoa L, Carril JC, Lombardi V, Carrera I, et al. Genomics of dementia: APOE-and CYP2D6-related pharmacogenetics. *Int J Alzheimer's Disease*. 2012;2012.
2. Association As. Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia*. 2013;9:208-45.
3. Yu J-T, Tan L, Hardy J. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease: an update. *Annual review of neuroscience*. 2014;37:79-100.
4. Liu C-C, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nature Reviews Neurology*. 2013;9:106.
5. Association As. 2012 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*. 2012;8:131-68.
6. Zhong N, Weisgraber KH. Understanding the association of apolipoprotein E4 with Alzheimer disease: clues from its structure. *Journal of Biological Chemistry*. 2009;284:6027-31.
7. Mawuenyega KG, Sigurdson W, Ovod V, Munsell L, Kasten T, Morris JC, et al. Decreased clearance of CNS β -amyloid in Alzheimer's disease. *Science*. 2010;330:1774-.
8. Bales KR, Liu F, Wu S, Lin S, Koger D, DeLong C, et al. Human APOE isoform-dependent effects on brain β -amyloid levels in PDAPP transgenic mice. *J Neuroscience*. 2009;29:6771-9.
9. Castellano JM, Kim J, Stewart FR, et al. Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid- β peptide clearance. *Science translational medicine*. 2011;3: 89ra57.
10. Youmans KL, Tai LM, Nwabuisi-Heath E, Jungbauer L, Kanekiyo T, Gan M, et al. APOE4-specific changes in A β accumulation in a new transgenic model of Alzheimer's Disease. *J Biological Chemistry*. 2012;jbc.M112.407957.
11. Christensen DZ, Schneider-Axmann T, Lucassen PJ, Bayer TA, Wirths O. Accumulation of intraneuronal A β correlates with ApoE4 genotype. *Acta neuropathologica*. 2010;119:555-66.

12. Hashimoto T, Serrano-Pozo A, Hori Y, Adams KW, Takeda S, Banerji AO, et al. Apolipoprotein E, especially apolipoprotein E4, increases the oligomerization of amyloid β peptide. *J Neuroscience*. 2012;32:15181-92.
13. Koffie RM, Hashimoto T, Tai H-C, Kay KR, Serrano-Pozo A, Joyner D, et al. Apolipoprotein E4 effects in Alzheimer's disease are mediated by synaptotoxic oligomeric amyloid- β . *Brain*. 2012;135:2155-68.
14. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: a meta-analysis. *Jama*. 1997;278:1349-56.
15. Yavlal F, Güngör HA. Demansta Klinik Bulgular. 2016.
16. Kok E, Haikonen S, Luoto T, et al. Apolipoprotein E-dependent accumulation of Alzheimer disease-related lesions begins in middle age. *Annals of Neurology: American Neurological Association and the Child Neurology Society*. 2009;65:650-7.
17. Edelberg HK, Wei JY. The biology of Alzheimer's disease. *Mechanisms of ageing and development*. 1996;91:95-114.
18. Van Cauwenberghe C, Van Broeckhoven C, Sleegers K. The genetic landscape of Alzheimer disease: clinical implications and perspectives. *Genetics in Medicine*. 2016;18:421.
19. Kaya G, Gündüz E, Acar M, Hatipoğlu ÖF, Acar B, İlhan A, et al. Potential genetic biomarkers in the early diagnosis of Alzheimer disease: APOE and BIN1. *Turkish J med sciences*. 2015;45:1058-72.
20. Aslan D, Ercan F, Aybek H, Sahiner T. APOE epsilon4 allele frequency in patients with dementia in different ethnic and geographic groups. *Turk J Biochem*. 2010;35:163-71.
21. Oznur M, Hatipoglu OF, Ayturk Z, Dede S, Akbas K, Aydin D, et al. Association among ABCA7 Gene Polymorphism, rs3764650 and Alzheimer's Disease in the Turkish Population. *Clinical and Investigative Medicine (Online)*. 2015;38:E187.
22. Alaylıoğlu M, Gezen-Ak D, Dursun E, Bilgiç B, Hanağası H, Ertan T, et al. The association between clusterin and APOE polymorphisms and late-onset Alzheimer disease in a Turkish cohort. *J geriatric psychiatry and neurology*. 2016;29:221-6.
23. Yokes M, Emre M, Harmanci H, Gurvit H, Hanagasi H, Sahin H, et al. The apolipoprotein E (APOE) genotype in a Turkish population with Alzheimer's disease. *Balkan J Med Genet*. 2005;8:57-63.
24. Davidson Y, Gibbons L, Pritchard A, Hardicre J, Wren J, Stopford C, et al. Apolipoprotein E ϵ 4 allele frequency and age at onset of Alzheimer's disease. *Dementia and geriatric cognitive disorders*. 2007;23:60-6.
25. Kerr DS, Stella F, Radanovic M, Aprahamian I, Bertollucci PHF, Forlenza OV. Apolipoprotein E genotype is not associated with cognitive impairment in older adults with bipolar disorder. *Bipolar disorders*. 2016;18:71-7.
26. Jairani P, Aswathy P, Gopala S, Verghese J, Mathuranath P. Interaction with the MAPT H1H1 genotype increases dementia risk in APOE ϵ 4 carriers in a population of Southern India. *Dementia and geriatric cognitive disorders*. 2016;42:255-64.
27. Lanni C, Garbin G, Lisa A, Biundo F, Ranzenigo A, Sinforiani E, et al. Influence of COMT Val158Met polymorphism on Alzheimer's disease and mild cognitive impairment in Italian patients. *J Alzheimer's Disease*. 2012;32:919-26.
28. Sando SB, Melquist S, Cannon A, Hutton ML, Sletvold O, Saltvedt I, et al. APOE ϵ 4 lowers age at onset and is a high risk factor for Alzheimer's disease; A case control study from central Norway. *BMC neurology*. 2008;8:9.
29. Raygani AV, Zahrai M, Raygani AV, Doosti M, Javadi E, Rezaei M, et al. Association between apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer disease in Tehran, Iran. *Neuroscience letters*. 2005;375:1-6.
30. Chen K-L, Sun Y-M, Zhou Y, Zhao Q-H, Ding D, Guo Q-H. Associations between APOE polymorphisms and seven diseases with cognitive impairment including Alzheimer's disease, frontotemporal dementia, and dementia with Lewy bodies in southeast China. *Psychiatric genetics*. 2016;26:124.-31.
31. Montufar S, Calero C, Vinueza R, Correa P, Carrera-Gonzalez A, Villegas F, et al. Association between the APOE ϵ 4 Allele and Late-Onset Alzheimer's Disease in an Ecuadorian Mestizo Population. *International J Alzheimer's Disease*. 2017;2017.
32. Bathum L, Christiansen L, Jeune B, Vaupel J, McGue M, Christensen K. Apolipoprotein e genotypes: relationship to cognitive functioning, cognitive decline, and survival in nonagenarians. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2006;54:654-8.
33. Quintino-Santos SR, Lima-Costa MF, Uchoa E, Firmo JODa, Moriguchi EH, Castro-Costa Éd. Homozygosity for the APOE E4 allele is solely associated with lower cognitive performance in Brazilian community-dwelling older adults: the Bambuí Study. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2012;34:440-5.
34. Small BJ, Rosnick CB, Fratiglioni L, Bäckman L. Apolipoprotein E and cognitive performance: a meta-analysis. *Psychology and aging*. 2004;19:592.
35. Christensen H, Batterham PJ, Mackinnon AJ, Jorm AF, Mack HA, Mather KA, et al. The association of APOE genotype and cognitive decline in interaction with risk factors in a 65–69 year old community sample. *BMC geriatrics*. 2008;8:14.

36. Rassas AA, Khiari HM, Fredj SH, Sahnoun S, Batti H, Zakraoui NO, et al. High APOE epsilon 4 allele frequencies associated with Alzheimer disease in a Tunisian population. *Neurological Sciences*. 2012;33:33-7.
37. Ward A, Crean S, Mercaldi CJ, Collins JM, Boyd D, Cook MN, et al. Prevalence of apolipoprotein E4 genotype and homozygotes (APOE e4/4) among patients diagnosed with Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Neuroepidemiology*. 2012;38:1-17.
38. Aybek H, Ercan F, Aslan D, Şahiner T. Determination of malondialdehyde, reduced glutathione levels and APOE4 allele frequency in late-onset Alzheimer's disease in Denizli, Turkey. *Clinical biochemistry*. 2007;40:172-6.