

## Amiloid Beta Peptidler: *in-vitro* Alzheimer Hastalığı Toksikite Modellerinde Kullanımları

Serap Kurt<sup>1</sup>

Fethi Sırrı Çam<sup>2</sup>

### Özet

Alzheimer Hastalığı, hücre içinde amiloid beta plaklarının ve hiperfosforile mikrotübül ile ilişkili proteinin birikmesine bağlı olarak nörofibriler yumakların oluşmasıyla karakterize ilerleyici bir nörodejeneratif durumdur. Deneysel Alzheimer hastalığı modellerinin kullanımı Alzheimer hastalığı patolojisinin anlaşılması ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından çok önemlidir. Ancak temel araştırmalardan elde edilen verilerin klinik çalışmalarda oldukça düşük başarı oranları sergilediği gözlemlenmiştir. Bu nedenle literatürde yer alan bu modellerin güçlü ve sınırlı yönlerinin değerlendirilmesi ve hastalığın çeşitli yönlerini kapsayan modellerle çalışmalar yapılmasının potansiyel tedavilerin başarısını artıracığı öngörülmektedir. Bu bölümde amiloid beta peptidlerin *in-vitro* Alzheimer hastalığı modellerinde kullanımlarının patolojik ve moleküler özellikleri, bu kullanımların avantaj ve dezavantajları tartışılmaktadır.

### 1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı (AD), bilişsel bozukluk, ilerleyici nörodejenerasyon ve amiloid-beta (A $\beta$ ) içeren plakların ve hiperfosforile tau proteinlerinden oluşan nörofibriler yumakların oluşumu ile karakterize edilen karmaşık bir nörodejeneratif hastalıktır [1]. AD' nin patofizyolojisi kolinerjik fonksiyon bozukluğu, amiloid/tau toksisitesi, oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu gibi çeşitli faktörleri içerir [2]. Ek olarak nöroinflamasyonun, plakların ve düğümlerin oluşumunun yanı sıra çok önemli bir rol oynayarak

1 Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Manisa/Türkiye, serapkurt15@gmail.com , ORCID: 0000-0002-0186-7541

2 Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Manisa/Türkiye, sirricam@gmail.com , ORCID: 0000-0002-0972-8896

Alzheimer'ın patogenezinde önemli bir katkıda bulunduğu da tespit edilmiştir [3]. Vasküler risk faktörünün aynı zamanda Alzheimer hastalığının erken ilerlemesine önemli bir katkıda bulunduğu belirlenmesi, hastalık sürecinde serebrovasküler patolojinin rolünün altını çizmektedir [4]. Ek olarak, ghrelin, nörotensin ve hipofiz adenilat siklaz aktive edici polipeptit gibi nöropeptitlerin Alzheimer hastalığının patofizyolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir; bu, nöroendokrin sinyalleme ile hastalığın ilerlemesi arasında bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir [5]. Hipokampusun iskemik sonrası nörodejenerasyonu, hastalık sürecinde vasküler patoloji ile nörodejenerasyon arasındaki etkileşimi vurgulayarak Alzheimer hastalığının gelişiminin altında yatan mekanizmaları açıklamak için bir model olarak önerilmiştir [6]. Ek olarak Golgi aparatındaki düzensizlik ve Alzheimer hastalığı ve periodontit ile ilişkili anahtar genlerin rolü, hastalığın çok yönlü patofizyolojisini anlamamıza daha da katkıda bulunur [7][8]. AD'de nörodejenerasyonun ilerlemesini destekleyen moleküler ve hücrel mekanizmalar hala tam olarak anlaşılammıştır, bu da bu alanda daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğunu vurgulamaktadır [9]. Tau protein agregatlarının birikmesi, AD ve diğer nörodejeneratif hastalıklarda patolojik bir işaret olarak tanımlanmış olup, hastalık sürecinde moleküler nörodejenerasyonun önemini daha da altını çizmektedir [10]. AD'nin moleküler patogenezindeki hipotezleri, amiloid-beta ( $A\beta$ ) ve tau patolojilerini, sinaptik kayıplarla beraber nörodejenerasyon gibi çeşitli faktörleri birleştirir.  $A\beta$  kaskadı hipotezi, beyinde  $A\beta$  peptidlerinin birikmesinin AD'nin patogenezinde merkezi bir olay olduğunu,  $A\beta$  oligomerlerinin nörotoksitede ve AD'nin patolojik bir özelliği olan amiloid plakların oluşumunda rol oynadığını ileri sürmektedir [6][8]. Sonuç olarak Alzheimer hastalığının patofizyolojisi, hastalıkta gözlenen ilerleyici nörodejenerasyona katkıda bulunan genetik, çevresel ve moleküler faktörleri içeren çok faktörlü bir süreçtir. Bu faktörlerin karmaşık etkileşimini anlamak, Alzheimer hastalığına yönelik hedefe yönelik terapötik müdahalelerin ve hastalığı iyileştirici tedavilerin geliştirilmesi açısından çok önemlidir.

## **2. Alzheimer Hastalığı'nın Patofizyolojisini Destekleyen Hipotezler**

### **2.1. Amiloid Kaskad Hipotezi**

Alzheimer Hastalığı, patogenezinin aydınlatmayı amaçlayan çeşitli hipotezlerin konusu olmuştur. 1992'de önerilen amiloid kaskadı hipotezi,  $A\beta$  peptidlerinin beyin parankiminde birikmesinin AD'nin patogenezinde merkezi olay olduğunu öne sürmektedir [12] [14]. Bu hipotez geniş çapta kabul görmüş ve AD'ye yönelik araştırmaların ve terapötik yaklaşımların çoğuna rehberlik etmiştir [15]. Amiloid kaskadı hipotezi, yirmi yılı aşkın

bir süredir Alzheimer hastalığı araştırmalarında merkezi bir yol gösterici ilke olmuştur ve hastalığın patogenezinine ilişkin anlayışımızı şekillendirmiştir [16]. Zamanla hipotez, A $\beta$  oligomerlerinin ve protofibrillerin sinaptik fonksiyon bozukluğu ve nörotoksisitedeki rolüne odaklanacak şekilde gelişti ve bunların hastalık sürecine katkıları vurgulandı [17]. Amiloid kaskadı hipotezi, AD' nin altında yatan moleküler mekanizmaları anlamaya yönelik araştırma çabalarını yönlendirmede etkili olmuştur; özellikle A $\beta$ 'nin, nörodejenerasyona ve bilişsel gerilemeye yol ačan patolojik kaskadı başlatma ve yönlendirmedeki rolüne vurgu yapılmaktadır [7][13]. Hipotez etkili olsa da, AD patolojisinin karmaşıklığını ve bu hipoteze dayalı başarılı ilaç geliştirme eksikliğini tam olarak açıklama yeteneğini sorgulayan bazı çalışmalarla birlikte inceleme ve tartışmalarla da karşı karşıya kaldı [15]. Bununla birlikte amiloid kaskadı hipotezi, hastalığın moleküler temellerini araştırmak için bir çerçeve sağlayarak ve potansiyel terapötik müdahalelerin geliştirilmesine bilgi vererek AD araştırmalarında bir köře taşı olmaya devam ediyor [10][14].

## 2.2 Diğer Hipotezler

Amiloid kaskadı hipotezine ek olarak, tau hipotezi, tau proteininin anormal agregasyonunun ve hiperfosforilasyonunun hastalığın patogenezinde merkezi bir rol oynadığını ileri sürmektedir. Mikrotübülle ilişkili bir protein olan Tau, nöronlardaki mikrotübüllerin stabilitesi için gereklidir. Bununla birlikte, patolojik koşullar altında tau aşırı derecede hiperfosforile olur ve nörofibriler yumaklar (NFT'ler) halinde birikerek nöronal fonksiyon bozukluğuna ve dejenerasyona katkıda bulunur [4][14]. Üstelik çalışmalar, AD'nin patogenezinde nöroinflamasyon, oksidatif stres ve protein fosforilasyonu gibi diğer faktörlerin de rol oynadığını göstermiştir [20] [21]. Örneğin tau patolojisi ile nöroinflamasyon arasındaki ilişki araştırılarak AD'de bu faktörler arasındaki etkileşime ışık tutulmuştur [22]. Ek olarak, tau proteini ve nörofibriler yumaklarda 14-3-3 proteinleri ve cAMP'ye bağımlı protein kinaz fosforilasyonlarının rolü araştırılmış ve AD patogenezinin altında yatan moleküler mekanizmalara ilişkin bilgiler sağlanmıştır [23]. Ayrıca, apolipoprotein E'nin (ApoE) AD patogenezindeki rolü, ApoE4 alelinin A $\beta$ 'nin oligomerizasyonunda ve nörofibriler yumakların oluşumunda rol oynadığı ve AD'de nörodejenerasyona katkıda bulunduğu kapsamlı bir şekilde incelenmiştir [24]. Ek olarak, amiloid-immün hipotezi ve derlin-1'in endoplazmik retikulumla ilişkili bozulmadaki rolü, AD'nin patogenezinin anlaşılmasının karmaşıklığına katkıda bulunarak önerilmiştir [8] [25].

Sonuç olarak AD'nin patogenezi, çeşitli moleküler, hücrenel ve fizyolojik faktörlerin karşılıklı etkileşimini içeren çok yönlüdür. Amiloid kaskadı

hipotezi AD patogenezinine ilişkin anlayışımızı şekillendirmede çok önemli olmuştur, ancak hastalığın kapsamlı bir şekilde anlaşılması için diğer hipotezleri ve faktörleri dikkate almak önemlidir.

### 3. *In-vitro* AD Toksikite Modelinde Kullanılan Hücreler

*In-vitro* Alzheimer Hastalığı modelleri oluşturmada, uygun hücre hatlarının seçimi, hastalık patolojisini doğru bir şekilde temsil etmek için oldukça önemlidir. Çeşitli çalışmalar AD patolojisinin modellenmesi için spesifik hücre hatlarının kullanılmasının önemini vurgulamıştır. Örneğin, insan nöroblastoma SH-SY5Y hücre hatlarının kullanımı, kolinerjik farklılaşmaları ve AD patolojisinin belirli yönlerini taklit etme potansiyeli nedeniyle AD çalışmaları için potansiyel bir *in-vitro* model olarak önerilmiştir [26]. Ek olarak, A $\beta$  ile tedavi edilen birincil kortikal ve hipokampal sinir hücrelerinin kullanımı, AD için *in-vitro* hücre hattı modeli olarak önerilmiş ve A $\beta$ 'nin nörodejeneratif bozukluklar üzerindeki etkilerine dair literatüre bilgiler kazandırmıştır [27].

PC12, nöroendokrin özellikleri ve nöron benzeri hücelere farklılaşma yeteneği nedeniyle AD *in-vitro* modellerinde yaygın olarak kullanılan bir diğer hücrelerdir ve bu da onu nöronal fonksiyon ve fonksiyon bozukluğunu incelemek için değerli bir araç haline getirmektedir [28]. Ayrıca PC12 hücreleri, tau fosforilasyonunu ve bunun nöronal hücre fonksiyonu ve işlev bozukluğu üzerindeki etkilerini araştırmak için kullanılmış olup, tau'nun AD patolojisindeki rolüne ışık tutmaktadır [29]. Ek olarak, çalışmalar tau fosforilasyonunun insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 tarafından düzenlenmesini araştırmak için PC12 hücrelerini kullanmış ve AD'de tau patolojisinin altında yatan moleküler mekanizmalar hakkında bilgi sağlamıştır. PC12 hücrelerinin kullanımı aynı zamanda apoptoz geçiren nöronlarda tau bölünmesinin ve fosforilasyonunun anlaşılmasına da katkıda bulunmuş ve tau'nun AD ile ilişkili apoptotik süreçlere katılımı hakkında değerli bilgiler sunmuştur [30]. Genel olarak, PC12 hücre hattı, tau patolojisi ve bunun AD'deki etkileri konusundaki anlayışımızı ilerletmede etkili olmuştur ve bu da onu AD ile ilgili mekanizmaların incelenmesi için değerli bir *in-vitro* model haline getirmiştir. Bu çalışmalar, AD patolojisini *in-vitro* etkili bir şekilde modellemek için hücre hatlarının dikkatli bir şekilde seçilmesinin ve karakterize edilmesinin önemini altını çizmektedir.

### 4. *In-vitro* AD toksikite modellerinde Amiloid beta Peptidlerinin Kullanımı

Alzheimer hastalığının *in-vitro* modellerinde amiloid beta proteinlerinin kullanımı kapsamlı araştırma ve tartışma konusu olmuştur. A $\beta$  peptidlerinin

*in-vitro* Alzheimer hastalığı toksisite modellerinde kullanımı, hastalığın patofizyolojisinin anlaşılması ve potansiyel terapötik müdahalelerin geliştirilmesi açısından çok önemlidir. [16]. A $\beta$  ve AD' nin diğer faktörlerinin katkısının derinlemesine ve kapsamlı bir şekilde anlaşılması, yeni farmakoterapilerin geliştirilmesi için çok önemlidir [31]. Bu bulgular, AD'ye bağlı mutasyonların tamamının, A $\beta$  hücre dışı konsantrasyonunu artırarak Alzheimer hastalığına neden olabileceğini, dolayısıyla bu yüksek düzeyde amiloidojenik peptidin beyinde birikmesini teşvik ettiğini göstermektedir [32]. *İn-vitro* çalışmalar, A $\beta$  kaynaklı nörotoksitenin, fibriller ve oligomerik formların nöronal canlılık üzerinde farklı etkiler sergilediği, peptidin toplanma durumuna bağlı olduğunu göstermiştir [33]. Bu, AD'de nörotoksisite ve nöronal hücre ölümünün altında yatan mekanizmaları aydınlatmak için *in-vitro* modellerde A $\beta$  peptidlerinin kullanılmasının önemini vurgulamaktadır. Ayrıca A $\beta$  peptidleri AD patolojisinin merkezi olarak kabul edilmiştir ve insandan türetilmiş hücre hatları kullanılarak yapılan *in-vitro* toksisite testleri, insan popülasyonlarında doğrudan test edilebilecek önemli maruz kalma biyobelirteçleri sağlamıştır [3] [34]. Bu *in-vitro* modeller, A $\beta$  peptidlerinin nöronal hücreler üzerindeki toksik etkilerinin değerlendirilmesine olanak tanıyarak AD patogenezinde yer alan moleküler ve hücre yolaklara ilişkin bilgiler sağlar. Ek olarak A $\beta$  peptidlerinin *in-vitro* modellerde kullanılması potansiyel terapötik stratejilerin keşfedilmesini kolaylaştırmıştır. Örneğin, A $\beta$  oligomerleri için seçici hümanize antikorların geliştirilmesi, AD için yeni terapötik hedeflerin belirlenmesinde *in-vitro* modellerin faydasını göstermektedir [35].

A $\beta$  peptidlerini *in-vitro* modellerde tespit etme ve ölçme yeteneği, aynı zamanda AD için potansiyel biyobelirteçlerin tanımlanmasına da katkıda bulunarak hastalık teşhisi ve izlenmesi için değerli araçlar sağlamıştır. Ayrıca *in-vitro* modeller, AD'nin tedavisi için neprilisin gibi çeşitli bileşiklerin toksisitesinin ve terapötik potansiyelinin değerlendirilmesinde çok önemli olmuştur [36][37]. Genel olarak, *in-vitro* AD toksisite modellerinde A $\beta$  peptidlerinin kullanımı, hastalık patofizyolojisi konusundaki anlayışımızı ilerletmede, potansiyel terapötik hedefleri belirlemede ve aday bileşiklerin etkinliğini değerlendirmede etkili olmuştur. Bu modeller A $\beta$  peptidlerinin nörotoksik etkilerini incelemek için kontrollü bir ortam sağlayarak AD'nin altında yatan moleküler ve hücre mekanizmalara ilişkin değerli bilgiler sunar.

## 5. In-vitro AD Toksikite Modellerinde Sentetik Amiloid Beta Fragmanları

### 5.1 Amiloid Beta 25-35

Amiloid beta 25-35 (A $\beta$ 25-35) fragmanı, Alzheimer hastalığının patofizyolojisindeki rolüyle bilinen daha büyük Ap peptidinin proteolitik bir yan ürünüdür. Daha küçük bir fragman olmasına rağmen A $\beta$ 25-35, daha büyük muadili A $\beta$ 1-40 ve A $\beta$ 1-42'nin nörotoksik özelliklerini korur [38]. Çalışmalar A $\beta$ 25-35'in amiloid oluşumu için gerekli olan A $\beta$ 1-42'nin en kısa parçası olduğunu göstermiştir, bu da onun Alzheimer hastalığında gözlenen agregasyon ve toksisitedeki önemine işaret etmektedir [39].

Sentetik A $\beta$ 25-35, nörotoksik etkileri tetikleme ve AD patolojisinin belirli yönlerini taklit etme yeteneği nedeniyle *in-vitro* Alzheimer Hastalığı (AD) toksisite modellerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. A $\beta$ 25-35'in *in-vitro* modellerde kullanılmasının avantajları arasında, uzun vadeli güçlenmeyi hızlı bir şekilde inhibe etme ve seçici sinir hücresi ölümüne neden olma ve onu güçlü bir CNS nörotoksini haline getirme yeteneği yer alır [40]. Ek olarak A $\beta$ 25-35'in *in-vitro* nörodejenerasyonu indüklediği, nörotoksistide peptit düzeni durumunun rolünü incelemek için değerli bir araç sağladığı gösterilmiştir [41]. Ayrıca A $\beta$ 25-35, fibrilojenezin ve A $\beta$ -protein birikiminin *in vivo* inhibisyonunu araştırmak için kullanılmış olup, AD için potansiyel terapötik stratejiler hakkında fikir vermektedir [42]. Yapılan bir çalışmada A $\beta$ 25-35, *in-vitro* modellerde spesifik bir zaman süreci ve bölgesel tepkiler sağlayarak serebral enjeksiyondan sonra indüklenen fizyopatolojik değişikliklerin incelenmesinde etkili olmuştur [43]. A $\beta$ 25-35'in , hipokampal nöronlarda oksidatif stres ve apoptozun hafifletilmesini araştırıldığı bir çalışma, nöroprotektif mekanizmaların incelenmesindeki önemini vurgulamaktadır [44]. Yapılan bir başka çalışma, insan nöroblastoma hücrelerindeki inflamatuvar yanıtı incelemek için A $\beta$ 25-35'i kullanmış olup, AD patolojisinde proinflamatuvar faktörlerin rolüne ışık tutmaktadır [45]. Nörotoksitenin moleküler mekanizmalarını, A $\beta$  biyobelirteçlerini ve tanıyı birbirine bağlamak için kullanılmış olmaktan, oksidatif stres ve nörotoksitenin farklı mekanizmalarının incelenmesinde etkili olmasına kadar bir çok farklı amaçla A $\beta$ 25-35 kullanımına literatürde rastlamaktayız [46], [47].

A $\beta$ 25-35'in *in-vitro* AD toksisite modellerinde kullanılmasında birtakım dezavantajlar da bulunmaktadır. Bunlar arasında nöronal hücrelerde oksidatif stres, apoptoz ve inflamatuvar yanıtları indükleme potansiyeli yer alır ve bu da onun AD patolojisi için bir model olarak özgüllüğünü sınırlayabilir

[44]. Ayrıca A $\beta$ 25-35, hücre hasara ve hücre döngüsü düzenlemesinde değişikliklere yol açabilecek nörotoksik etkileri indükleyebilir ve potansiyel olarak deneysel sonuçların yorumunu karıştırabilir [48], sitotoksik ve nörodejeneratif etkiler sergileyebilir, bu da AD ile ilişkili nörotoksisteyi incelemek için spesifik bir model olarak kullanımını sınırlayabilir [49]. Hipokampal nöronların kullanıldığı çalışmalarda A $\beta$ 25-35, oksidatif stresi ve apoptozu indükleyebilir, bu da potansiyel olarak deneysel sonuçların yorumlanmasını ve spesifik nöroprotektif mekanizmaların tanımlanmasını karıştırabilir [44]. Birlikte ele alındığında, dezavantajları bulunsa da halen A $\beta$  25-35 literatürde kullanımı yaygın olan bir AD mimik ajanıdır.

## 5.2 Amiloid Beta 1-40 ve Amiloid Beta 1-42

Sentetik A $\beta$  1-40 ve 1-42 peptidleri, AD patolojisinin araştırılmasında önemli bileşenlerdir. Bu peptitler, amiloid öncü proteininin (APP) proteolitik işleminden türetilir ve sonuçta ağırlıklı olarak 40 veya 42 amino asit uzunluğunda peptitler elde edilir. Hidrofobik karboksil terminal segmenti, A $\beta$  (29-42), normal fizyolojide yalnızca oligomerik bir beta tabaka halinde bulunur; bu da, bu segmentin, içinde bulunan beta-kıvrımlı tabakayı üretmek üzere tam A $\beta$  (1-42) peptidinin katlanmasını yönlendirdiğine işaret eder [50]. Ayrıca agregre A $\beta$  (1-42), çözünebilir A $\beta$  (1-40)'ın amiloid fibrillere polimerizasyonu için bir çekirdek görevi görebilir [51]. *In-vitro* modellerde, sentetik amiloid-beta peptidleri, özellikle A $\beta$ 1-42, hipokampal nöronların fonksiyonu üzerindeki düşük amiloid düzeyindeki toksisite etkilerini araştırmak için kullanılmıştır. Ek olarak, A $\beta$ 1-42 oligomerlerinin Hafif Bilişsel Bozukluk (MCI) olan hastaların beyinlerinde biriktiği ve hafıza oluşumunun altında yatan sinaptik plastisite süreçlerini bozduğu, bunların AD'deki bilişsel gerilemedeki rollerini vurguladığı gösterilmiştir. Ancak A $\beta$ 1-42'nin A $\beta$ 1-40'tan daha hızlı bir araya toplandığını ve AD patogeneğinde merkezi bir rol oynadığının öne sürüldüğünü belirtmek önemlidir [52].

Sentetik A $\beta$  1-40 ve 1-42 peptidleri AD patolojisine ilişkin anlayışımızı ilerletmede etkili olsa da bazı dezavantajlar da sunmaktadırlar. Örneğin, fibrilojenik 42-amino asit  $\beta$  amiloid (A $\beta$ 42), hücre içi tau birikimi, nöroinflamasyon ve nörodejenerasyon dahil olmak üzere nörotoksik olayların tetiklenmesiyle ilişkilendirilmiş ve sonuçta bilişsel bozukluğa yol açmıştır. Ayrıca, çözünebilir A $\beta$ 1-42, A $\beta$ (1-42) oligomerlerinin AD ve MCI hastalarının beyinlerinde öğrenme ve hafıza kaybına yol açan toksik türler olduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak, sentetik A $\beta$  1-40 ve 1-42 peptidleri, *in-vitro* AD toksisite modellerinde önemli rol oynamış ve AD patolojisinin altında yatan mekanizmalara ışık tutmuştur. Ancak nörotoksik olaylar ve

bilişsel gerileme ile olan ilişkileri, bunların Alzheimer'daki rolünü tam olarak anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğunun altını çizmektedir.

### 5.3 Amiloid beta Peptidlerinin *in-vitro* AD toksisite modellerinde kullanımlarının karşılaştırılması

A $\beta$ 25-35 ve A $\beta$ 1-40/1-42 dahil olmak üzere A $\beta$  peptidleri, Alzheimer Hastalığının *in-vitro* modellerinde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. A $\beta$  peptidinin daha kısa bir parçası olan A $\beta$  25-35'in, deneysel modellerde nörotoksik etkilere neden olduğu ve AD patolojisinin belirli yönlerini taklit ettiği gösterilmiştir [53]. Buna karşılık, peptidin daha uzun formları olan A $\beta$ 1-40 ve A $\beta$ 1-42, AD patolojisinde ana kahramanlar olarak kabul edilir ve AD insan beyninde endojen olarak mevcuttur [49]. A $\beta$ 25-35'in, AD'ye yol açan çeşitli deneysel modellerde A $\beta$ 'nın temel özelliklerini yeniden ürettiği gösterilmiştir; bu, AD ile ilişkili nörotoksitenin incelenmesiyle ilgisini gösterir [53], buna karşılık, A $\beta$ 1-40 ve A $\beta$ 1-42, A $\beta$ 'nın baskın formlarıdır ve amiloid plakların oluşumu ve nörotoksik etkiler de dahil olmak üzere AD patolojisindeki rolleri açısından kapsamlı bir şekilde incelenmiştir [43]. *in-vitro* A $\beta$ 25-35 maruziyetinin hücre ölümünü arttırdığı ve nöropeptit ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir, bu da bunun nörotoksisite ve nöropeptit modülasyonundaki potansiyel rolünü ortaya koymaktadır [54]. Benzer şekilde A $\beta$ 1-40 ve A $\beta$ 1-42'nin deneysel modellerde nörotoksik etkilerin ve amiloid plak oluşumunun tetiklenmesinde rol oynadığı ve AD patolojisine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. A $\beta$ 25-35, belirli bileşiklerin A $\beta$  kaynaklı toksisiteye karşı koruyucu etkilerini incelemek için kullanılmış olsa da, deneysel modellerde günler veya haftalar içinde belirgin toksisite ile ilişkilendirilmiştir, bu da potansiyel nörotoksik etkilerine işaret etmektedir [43]. Buna karşılık, A $\beta$ 1-40 ve A $\beta$ 1-42, nörodejenerasyonun ve tanıma hafızasının bozulmasının indüklenmesiyle bağlantılı olup, AD ile ilişkili nörotoksitedeki rollerini vurgulamaktadır [55]. Ayrıca A $\beta$ 25-35, spesifik bileşiklerin A $\beta$  kaynaklı nörotoksisiteye karşı koruyucu etkilerinin altında yatan moleküler mekanizmaları araştırmak için kullanılmış olup, AD için potansiyel terapötik müdahalelere ışık tutmaktadır [41], benzer şekilde, A $\beta$ 1-40 ve A $\beta$ 1-42, nörotoksik etkilerin ve amiloid plak oluşumunun tetiklenmesindeki rolleri açısından incelenmiştir ve AD'nin patogeneze ışık tutmaktadır [56]. Özetle, hem A $\beta$ 25-35 hem de A $\beta$ 1-40/1-42, AD'nin *in-vitro* modellerinde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir; A $\beta$ 25-35, nörotoksik etkilerle ilişkilendirilir ve A $\beta$ 1-40/1-42, AD patolojisinde rol oynar. Bu peptitler AD ile ilişkili nörotoksitenin altında yatan moleküler mekanizmalar hakkında değerli bilgiler sunmuş ve AD için potansiyel terapötik stratejilerin geliştirilmesinde etkili olmuştur.



## 6. *In-vitro* AD Toksisite Modeli Kullanımının Sınırlılıkları

Amiloid peptid kaynaklı *in-vitro* Alzheimer hastalığı (AD) toksisite modellerinin kullanımı çeşitli sınırlamalarla ilişkilidir. AD'de A $\beta$  kaynaklı nöronal toksisitenin bir işareti olan mitokondriyal işlev bozukluğu, AD patolojisinden önce gelir; bu, mitokondriyal biyoenerjetik açığın fare modellerinde AD patolojisinden önce gelebileceğini gösterir [57]. Bununla birlikte, oligomerik A $\beta$ 'nin *in-vitro* neden olduğu nöronal hücre ölümünün yorumlanması sorunludur ve AD'nin karmaşık patofizyolojisini temsil etmede *in-vitro* modellerin güvenilirliği konusunda endişeleri artırmaktadır [58]. Ek olarak, yaşlanma ve AD'de gözlenen nöroinflamasyonun periferik bağışıklık sistemindeki değişikliklerle birlikte artan amiloidogenezden, A $\beta$ 'nin beyinden temizlenmesinin azalmasından ve Alzheimer hastalarında ortaya çıkan belirgin hafıza ve biliş bozukluklarından sorumlu olup olmadığı tartışmalıdır [59]. Dahası, biriken kanıtlar yaşlanmanın ve A $\beta$  kaynaklı oksidatif DNA hasarının ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun hastalığın gelişimini ve ilerlemesini başlattığını ve katkıda bulunduğunu ileri sürerek AD patogenezinde yer alan faktörlerin karmaşıklığını vurgulamaktadır [60]. Ek olarak mitokondriyal A $\beta$  'nın bağlayıcı proteinlerle etkileşimi, A $\beta$  'nın neden olduğu mitokondriyal ve nöronal stresi ve arızayı şiddetlendirerek AD patolojisinin altında yatan mekanizmaların anlaşılmasını daha da karmaşık hale getirir [61]. Ayrıca, amiloid toksisitesinin neden olduğu nöron kaybının, ortak kültüre edilmiş mikroglia hücreleri tarafından hafifletilmesi, mikroglianın, amiloid toksisitesinin nöronal hayatta kalma üzerindeki etkilerini modüle etmedeki potansiyel rolünü gösterir [62]. Bu sınırlamalar, AD patolojisinin çok yönlü doğasını *in-vitro* modellerde doğru bir şekilde özetlemedeki zorlukların altını çizmektedir.

## Referanslar

- [1] L. Crews and E. Masliah, 'Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease', *Hum. Mol. Genet.*, vol. 19, no. R1, pp. R12-20, Apr. 2010, doi: 10.1093/hmg/ddq160.
- [2] A. Kumar Thakur, P. Kamboj, K. Goswami, and K. Ahuja, 'Pathophysiology and management of alzheimer's disease: an overview', *J. Anal. Pharm. Res.*, vol. 7, no. 2, Apr. 2018, doi: 10.15406/japlr.2018.07.00230.
- [3] M. T. Heneka *et al.*, 'Neuroinflammation in Alzheimer's disease', *Lancet Neurol.*, vol. 14, no. 4, pp. 388-405, Apr. 2015, doi: 10.1016/S1474-4422(15)70016-5.
- [4] J. P. Ferrari-Souza *et al.*, 'Vascular risk burden is a key player in the early progression of Alzheimer's disease', *Neurology*, preprint, Dec. 2021. doi: 10.1101/2021.12.18.21267994.
- [5] X.-Y. Chen, Y.-F. Du, and L. Chen, 'Neuropeptides Exert Neuroprotective Effects in Alzheimer's Disease', *Front. Mol. Neurosci.*, vol. 11, 2019, Accessed: Dec. 19, 2023. [Online]. Available: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnmol.2018.00493>
- [6] R. Pluta, S. Januszewski, and S. J. Czuczwar, 'Post-Ischemic Neurodegeneration of the Hippocampus Resembling Alzheimer's Disease Proteinopathy', *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, no. 1, Art. no. 1, Jan. 2022, doi: 10.3390/ijms23010306.
- [7] Q. Zhou *et al.*, 'Association between APOC1 Polymorphism and Alzheimer's Disease: A Case-Control Study and Meta-Analysis', *PLoS ONE*, vol. 9, no. 1, p. e87017, Jan. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0087017.
- [8] W.-J.-C. Hu, 'Alzheimer's disease is TH17 related autoimmune disease against misfolded beta amyloid', *Nat. Preced.*, pp. 1-1, May 2011, doi: 10.1038/npre.2011.5934.2.
- [9] S. Dujardin *et al.*, 'Neuron-to-neuron wild-type Tau protein transfer through a trans-synaptic mechanism: relevance to sporadic tauopathies', *Acta Neuropathol. Commun.*, vol. 2, p. 14, Jan. 2014, doi: 10.1186/2051-5960-2-14.
- [10] A. Umstead and I. E. Vega, 'Tau13 Antibody Preferentially Immunoprecipitates High Molecular Weight Tau Proteins', *J. Alzheimers Dis. JAD*, vol. 68, no. 2, pp. 511-516, 2019, doi: 10.3233/JAD-181187.
- [11] L. Bertram and R. E. Tanzi, 'The genetic epidemiology of neurodegenerative disease', *J. Clin. Invest.*, vol. 115, no. 6, pp. 1449-1457, Jun. 2005, doi: 10.1172/JCI24761.
- [12] J. A. Hardy and G. A. Higgins, 'Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis', *Science*, vol. 256, no. 5054, pp. 184-185, Apr. 1992, doi: 10.1126/science.1566067.

- [13] K. Broersen, F. Rousseau, and J. Schymkowitz, 'The culprit behind amyloid beta peptide related neurotoxicity in Alzheimer's disease: oligomer size or conformation?', *Alzheimers Res. Ther.*, vol. 2, no. 4, p. 12, Jul. 2010, doi: 10.1186/alzrt36.
- [14] J. J. Rodríguez and A. Verkhratsky, 'Neurogenesis in Alzheimer's disease', *J. Anat.*, vol. 219, no. 1, pp. 78–89, Jul. 2011, doi: 10.1111/j.1469-7580.2011.01343.x.
- [15] 'Beyond Amyloid – Widening the View on Alzheimer's Disease - Behl - 2017 - Journal of Neurochemistry - Wiley Online Library'. Accessed: Dec. 17, 2023. [Online]. Available: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jnc.14137>
- [16] D. J. Selkoe and J. Hardy, 'The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years', *EMBO Mol. Med.*, vol. 8, no. 6, pp. 595–608, Jun. 2016, doi: 10.15252/emmm.201606210.
- [17] A. J. Doig, 'Positive Feedback Loops in Alzheimer's Disease: The Alzheimer's Feedback Hypothesis', *J. Alzheimers Dis. JAD*, vol. 66, no. 1, pp. 25–36, 2018, doi: 10.3233/JAD-180583.
- [18] R. H. Swerdlow, J. M. Burns, and S. M. Khan, 'The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis', *J. Alzheimers Dis. JAD*, vol. 20 Suppl 2, no. Suppl 2, pp. S265-279, 2010, doi: 10.3233/JAD-2010-100339.
- [19] N. Mattsson-Carlgren *et al.*, 'Soluble P-tau217 reflects amyloid and tau pathology and mediates the association of amyloid with tau', *EMBO Mol. Med.*, vol. 13, no. 6, p. e14022, Jun. 2021, doi: 10.15252/emmm.202114022.
- [20] M. A. Smith, P. L. Harris, L. M. Sayre, and G. Perry, 'Iron accumulation in Alzheimer disease is a source of redox-generated free radicals', *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 94, no. 18, pp. 9866–9868, Sep. 1997, doi: 10.1073/pnas.94.18.9866.
- [21] C. M. Moloney *et al.*, 'Phosphorylated tau sites that are elevated in Alzheimer's disease fluid biomarkers are visualized in early neurofibrillary tangle maturity levels in the post mortem brain', *Alzheimers Dement.*, vol. 19, no. 3, pp. 1029–1040, 2023, doi: 10.1002/alz.12749.
- [22] M. J. Metcalfe and M. E. Figueiredo-Pereira, 'Relationship between tau pathology and neuroinflammation in Alzheimer's disease', *Mt. Sinai J. Med. N. Y.*, vol. 77, no. 1, pp. 50–58, 2010, doi: 10.1002/msj.20163.
- [23] A. Michalicova, P. Majerova, and A. Kovac, 'Tau Protein and Its Role in Blood–Brain Barrier Dysfunction', *Front. Mol. Neurosci.*, vol. 13, p. 570045, Sep. 2020, doi: 10.3389/fnmol.2020.570045.
- [24] Y. Yamazaki, M. M. Painter, G. Bu, and T. Kanekiyo, 'Apolipoprotein E as a Therapeutic Target in Alzheimer's disease: A Review of Basic Research

- and Clinical Evidence', *CNS Drugs*, vol. 30, no. 9, pp. 773–789, Sep. 2016, doi: 10.1007/s40263-016-0361-4.
- [25] Y. Honjo *et al.*, 'Derlin-1-immunopositive inclusions in patients with Alzheimer's disease', *NeuroReport*, vol. 23, no. 10, p. 611, Jul. 2012.
- [26] L. Agholme, T. Lindström, K. Kågedal, J. Marcusson, and M. Hallbeck, 'An In Vitro Model for Neuroscience: Differentiation of SH-SY5Y Cells into Cells with Morphological and Biochemical Characteristics of Mature Neurons', *J. Alzheimers Dis.*, vol. 20, no. 4, pp. 1069–1082, Jan. 2010, doi: 10.3233/JAD-2010-091363.
- [27] R. Farahzadi, E. Fathi, and I. Vietor, 'Mesenchymal Stem Cells Could Be Considered as a Candidate for Further Studies in Cell-Based Therapy of Alzheimer's Disease via Targeting the Signaling Pathways', *ACS Chem. Neurosci.*, vol. 11, no. 10, pp. 1424–1435, May 2020, doi: 10.1021/acschemneuro.0c00052.
- [28] M. Em and M. E, 'Biochemistry and cell biology of tau protein in neurofibrillary degeneration', *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 2, no. 7, Jul. 2012, doi: 10.1101/cshperspect.a006247.
- [29] G. V. W. Johnson and W. H. Stoothoff, 'Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction', *J. Cell Sci.*, vol. 117, no. 24, pp. 5721–5729, Nov. 2004, doi: 10.1242/jcs.01558.
- [30] H. M and L. Vm, 'Insulin and insulin-like growth factor-1 regulate tau phosphorylation in cultured human neurons', *J. Biol. Chem.*, vol. 272, no. 31, Jan. 1997, doi: 10.1074/jbc.272.31.19547.
- [31] H. Huang, J. Camats-Perna, R. Medeiros, V. Anggono, and J. Widagdo, 'Altered Expression of the m6A Methyltransferase METTL3 in Alzheimer's Disease', *eNeuro*, vol. 7, no. 5, p. ENEURO.0125-20.2020, 2020, doi: 10.1523/ENEURO.0125-20.2020.
- [32] D. Scheuner *et al.*, 'Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease', *Nat. Med.*, vol. 2, no. 8, pp. 864–870, Aug. 1996, doi: 10.1038/nm0896-864.
- [33] K. N. Dahlgren, A. M. Manelli, W. B. Stine, L. K. Baker, G. A. Krafft, and M. J. LaDu, 'Oligomeric and Fibrillar Species of Amyloid- $\beta$  Peptides Differentially Affect Neuronal Viability \*', *J. Biol. Chem.*, vol. 277, no. 35, pp. 32046–32053, Aug. 2002, doi: 10.1074/jbc.M201750200.
- [34] S. J. Shukla, R. Huang, C. P. Austin, and M. Xia, 'The future of toxicity testing: a focus on in vitro methods using a quantitative high-throughput screening platform', *Drug Discov. Today*, vol. 15, no. 23, pp. 997–1007, Dec. 2010, doi: 10.1016/j.drudis.2010.07.007.

- [35] E. Gibbs *et al.*, 'A Rationally Designed Humanized Antibody Selective for Amyloid Beta Oligomers in Alzheimer's Disease', *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, Art. no. 1, Jul. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-46306-5.
- [36] C. Li, S. Grajales, S. Shuang, C. Dong, and M. Nair, 'β-Amyloid Biomarker Detection for Alzheimer's Disease', *J. Anal. Test.*, vol. 1, no. 2, p. 15, Jun. 2017, doi: 10.1007/s41664-017-0014-8.
- [37] C. I. Webster *et al.*, 'Engineering Neprilysin Activity and Specificity to Create a Novel Therapeutic for Alzheimer's Disease', *PLOS ONE*, vol. 9, no. 8, p. e104001, Aug. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0104001.
- [38] G. Wei, A. I. Jewett, and J.-E. Shea, 'Structural diversity of dimers of the Alzheimer amyloid-β(25–35) peptide and polymorphism of the resulting fibrils', *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 12, no. 14, pp. 3622–3629, Mar. 2010, doi: 10.1039/C000755M.
- [39] B. E. Bisel, K. M. Henkins, and K. D. Parfitt, 'Alzheimer Amyloid β-Peptide A-β25-35 Blocks Adenylate Cyclase-Mediated Forms of Hippocampal Long-Term Potentiation', *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1097, no. 1, pp. 58–63, 2007, doi: 10.1196/annals.1379.020.
- [40] E. N. Cline, M. A. Bicca, K. L. Viola, and W. L. Klein, 'The Amyloid-β Oligomer Hypothesis: Beginning of the Third Decade', *J. Alzheimers Dis.*, vol. 64, no. s1, pp. S567–S610, Jan. 2018, doi: 10.3233/JAD-179941.
- [41] C. J. Pike, D. Burdick, A. J. Walencewicz, C. G. Glabe, and C. W. Cotman, 'Neurodegeneration induced by beta-amyloid peptides in vitro: the role of peptide assembly state', *J. Neurosci.*, vol. 13, no. 4, pp. 1676–1687, Apr. 1993, doi: 10.1523/JNEUROSCI.13-04-01676.1993.
- [42] C. Soto, E. M. Sigurdsson, L. Morelli, R. Asok Kumar, E. M. Castaño, and B. Frangione, 'β-sheet breaker peptides inhibit fibrillogenesis in a rat brain model of amyloidosis: Implications for Alzheimer's therapy', *Nat. Med.*, vol. 4, no. 7, Art. no. 7, Jul. 1998, doi: 10.1038/nm0798-822.
- [43] C. Zussy *et al.*, 'Time-Course and Regional Analyses of the Physiopathological Changes Induced after Cerebral Injection of an Amyloid β Fragment in Rats', *Am. J. Pathol.*, vol. 179, no. 1, pp. 315–334, Jul. 2011, doi: 10.1016/j.ajpath.2011.03.021.
- [44] Y. Ding *et al.*, 'Carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT1) alleviates oxidative stress and apoptosis of hippocampal neuron in response to beta-Amyloid peptide fragment Aβ25-35', *Bioengineered*, vol. 12, no. 1, pp. 5440–5449, Jan. 2021, doi: 10.1080/21655979.2021.1967032.
- [45] J. Xu, W. Wu, H. Zhang, and L. Yang, 'Berberine alleviates amyloid β25-35-induced inflammatory response in human neuroblastoma cells by inhibiting proinflammatory factors', *Exp. Ther. Med.*, vol. 16, no. 6, pp. 4865–4872, Dec. 2018, doi: 10.3892/etm.2018.6749.

- [46] J. Meng *et al.*, 'A combination of curcumin, vorinostat and silibinin reverses A $\beta$ -induced nerve cell toxicity via activation of AKT-MDM2-p53 pathway', *PeerJ*, vol. 7, p. e6716, Apr. 2019, doi: 10.7717/peerj.6716.
- [47] Y. A. Zolotarev *et al.*, 'Pharmacokinetics and Molecular Modeling Indicate nAChR $\alpha$ 4-Derived Peptide HAEE Goes through the Blood-Brain Barrier', *Biomolecules*, vol. 11, no. 6, Art. no. 6, Jun. 2021, doi: 10.3390/biom11060909.
- [48] Y. Cheng, Z. Li, E. Kardami, and Y. P. Loh, 'Neuroprotective effects of LMW and HMW FGF2 against amyloid beta toxicity in primary cultured hippocampal neurons', *Neurosci. Lett.*, vol. 632, pp. 109–113, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.neulet.2016.08.031.
- [49] G. Blivet, F. J. Roman, J. Meunier, L. Ceolin, J.-M. Butterlin, and J. Touchon, 'Neuroprotection Afforded by a Preventive CogniXtra Treatment Against Amyloid Beta A $\beta$ 25-35 Peptide-induced Toxicity in Mice', *Int. J. Clin. Nutr. Diet.*, vol. 2019, Feb. 2019, doi: 10.15344/2456-8171/2019/139.
- [50] C. J. Barrow and M. G. Zagorski, 'Solution Structures of  $\beta$  Peptide and Its Constituent Fragments: Relation to Amyloid Deposition', *Science*, vol. 253, no. 5016, pp. 179–182, Jul. 1991, doi: 10.1126/science.1853202.
- [51] J. Näslund *et al.*, 'Relative abundance of Alzheimer A beta amyloid peptide variants in Alzheimer disease and normal aging.', *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 91, no. 18, pp. 8378–8382, Aug. 1994, doi: 10.1073/pnas.91.18.8378.
- [52] D. A. Butterfield and R. Sultana, 'Methionine-35 of a $\beta$ (1-42): importance for oxidative stress in Alzheimer disease', *J. Amino Acids*, vol. 2011, p. 198430, 2011, doi: 10.4061/2011/198430.
- [53] P. Kabiraj, J. E. Marin, A. Varela-Ramirez, and M. Narayan, 'An 11-mer Amyloid Beta Peptide Fragment Provokes Chemical Mutations and Parkinsonian Biomarker Aggregation in Dopaminergic Cells: A Novel Road Map for "Transfected" Parkinson's', *ACS Chem. Neurosci.*, vol. 7, no. 11, pp. 1519–1530, Nov. 2016, doi: 10.1021/acschemneuro.6b00159.
- [54] S. Pirondi, A. Giuliani, G. Del Vecchio, L. Giardino, T. Hökfelt, and L. Calzà, 'The galanin receptor 2/3 agonist Gal2-11 protects the SN56 cells against  $\beta$ -amyloid25–35 toxicity', *J. Neurosci. Res.*, vol. 88, no. 5, pp. 1064–1073, 2010, doi: 10.1002/jnr.22278.
- [55] S. Sadigh-Eteghad, J. Mahmoudi, S. Babri, and M. Talebi, 'Effect of alpha-7 nicotinic acetylcholine receptor activation on beta-amyloid induced recognition memory impairment. Possible role of neurovascular function', *Acta Cirúrgica Bras.*, vol. 30, pp. 736–742, Nov. 2015, doi: 10.1590/S0102-865020150110000003.

- [56] E. Hughes, R. M. Burke, and A. J. Doig, 'Inhibition of Toxicity in the  $\beta$ -Amyloid Peptide Fragment  $\beta$ -(25–35) Using N-Methylated Derivatives: A GENERAL STRATEGY TO PREVENT AMYLOID FORMATION \*', *J. Biol. Chem.*, vol. 275, no. 33, pp. 25109–25115, Aug. 2000, doi: 10.1074/jbc.M003554200.
- [57] M. Yao, T.-V. V. Nguyen, and C. J. Pike, ' $\beta$ -Amyloid-Induced Neuronal Apoptosis Involves c-Jun N-Terminal Kinase-Dependent Downregulation of Bcl-w', *J. Neurosci.*, vol. 25, no. 5, pp. 1149–1158, Feb. 2005, doi: 10.1523/JNEUROSCI.4736-04.2005.
- [58] E. Karran and B. De Strooper, 'The amyloid cascade hypothesis: are we poised for success or failure?', *J. Neurochem.*, vol. 139, no. S2, pp. 237–252, 2016, doi: 10.1111/jnc.13632.
- [59] S. Dá Mesquita, A. C. Ferreira, J. C. Sousa, M. Correia-Neves, N. Sousa, and F. Marques, 'Insights on the pathophysiology of Alzheimer's disease: The crosstalk between amyloid pathology, neuroinflammation and the peripheral immune system', *Neurosci. Biobehav. Rev.*, vol. 68, pp. 547–562, Sep. 2016, doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.06.014.
- [60] P. Mao and P. H. Reddy, 'Aging and amyloid beta-induced oxidative DNA damage and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease: Implications for early intervention and therapeutics', *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.*, vol. 1812, no. 11, pp. 1359–1370, Nov. 2011, doi: 10.1016/j.bbadis.2011.08.005.
- [61] C. Spuch, S. Ortolano, and C. Navarro, 'New Insights in the Amyloid-Beta Interaction with Mitochondria', *J. Aging Res.*, vol. 2012, p. e324968, Mar. 2012, doi: 10.1155/2012/324968.
- [62] S. Lee and W.-S. Choi, 'Protective Role of Microglia on Neuronal Survival after Exposure to Amyloid Beta', *Chonnam Med. J.*, vol. 58, no. 1, pp. 13–17, Jan. 2022, doi: 10.4068/cmj.2022.58.1.13.

