

ÖZET

Alzheimer Hastalığı (AH), demansın en fazla gözlenen biçimi olup yaşlı nüfusun artması ile gelecek yıllarda görülme sıklığının da artması beklenmektedir. AH nadiren ailesel, sıklıkla ise sporadik nedenlerden dolayı ortaya çıkmaktadır. AH patolojisinde temel olarak senil plaklar ve nörofibriller yumakların(NFT) varlığı söz konusudur. NFT oluşumlarına ayrıca farklı taupatiler, bazı sinükleopatiler ve prion kökenli hastalıklarda da rastlanmaktadır. Tau'nun anormal fosforilasyonu onun NFT oluşturmasını tetiklediğinden, tau kinaz inhibitörlerinin kullanımı AH ve diğer taupatilerde temel, NFT oluşumunun gözlemlendiği diğer proteinopatilerde ise yardımcı terapötik strateji olarak önem taşımaktadır. AH ve diğer nörodejeneratif hastalık (NH)'ların patolojisinde endoplazmik retikulum (ER) stresi ve otofaji temel hücrel olaylardır ancak nörodejeneratif veya nörokoruyucu rolleri tam olarak aydınlatılamamıştır. Epibrassinolid (EBR); brassinosteroid (BR)'ler sınıfından steroid türevli bir bitki büyüme düzenleyicisidir. Yapılan çeşitli çalışmalarda EBR'nin anti-kanser etkinliği gösterilmiş olup, daha yakın tarihteki çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda ise tau kinazlarından olan GSK3 β 'nin potansiyel bir inhibitörü olabileceği gösterilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında ön verilerden yola çıkılarak EBR'nin *in vitro* taupati modeli oluşturulmuş Feokromasitoma-12 (PC12) hücrelerinde nörokoruyucu etkisi ER stres ve otofaji yolları ile ilişkili olarak gösterilmek istenmiştir. İlk olarak EBR'nin doğal tip PC12 hücrelerinde uygun dozu belirlenmiş, daha sonra PC12 hücrelerinde taupati modeli oluşturma başarısı gösterilmiştir. EBR'nin taupati modeli PC12 hücrelerinde, klinik çalışmaları devam eden GSK3 inhibitörü Lityum Klorür (LiCl)'e kıyasla hücre sağkalımını daha anlamlı şekilde tetiklediği gösterilmiştir. Bununla birlikte nörodejenerasyon belirteci proteinlerin anlatımlarını veya fosforilasyon seviyelerini düzenlendiği gösterilmiştir. Tau kinazlarından;Glikojen sentaz kinaz 3 beta (GSK3 β)'nın Ser9 inhibe edici fosforilasyonunun tetiklendiği,Sikline bağımlı kinaz 5 (CDK5) anlatımının ve Ribozomal protein S6

Kinaz beta-1 (p70S6K)'nın aktive edici Ser 371 fosforilasyonu seviyesinin geri çekildiği gösterilmiştir. Taupati modeli PC12 hücrelerinde tetiklendikleri ancak sonuca ulaşmadıkları gösterilen ER stres ve otofajinin EBR uygulanması ile hücre sağkalımını tetikleyecek şekilde düzenlendiği gösterilmiştir.

Elde edilen sonuçlardan yola çıkılarak; sağlıklı hücreler üzerinde toksisitesi düşük olduğu gösterilen EBR'nin potansiyel bir GSK3 β inhibitörü olduğu, bunu yanında otofaji ve ER stres üzerinde düzenleyici etkisi olması nedeni ile AH veya taupatilerde *in vivo* terapötik deneme çalışmalarında kullanımının mümkün olduğu belirlenmiştir.

ABSTRACT

Alzheimer's Disease (AD), is the most common form of dementia, with a dramatic increase in the elderly population worldwide. AD rarely occurs due to familial and often sporadic reasons. The pathology of AD is mainly based on the presence of senile plaques and neurofibrillary tangles (NFT). NFT formations are also seen in different tauopathies, some synucleopathies and prion-derived diseases. Since the abnormal phosphorylation of tau triggers the NFT formation, the use of tau kinase inhibitors is important therapeutic strategy against AD, other tauopathies and other proteinopathies in which NFT formation is observed. In the pathology of AD and other neurodegenerative diseases (NDs), endoplasmic reticulum (ER) stress and autophagy are essential cellular events, but their neurodegenerative or neuroprotective roles have not been fully elucidated. EBR is a plant growth regulator of the BRs class. Several studies have shown the anti-cancer activity of EBR in both *in vitro* and *in vivo* studies recently. Finally, it has been suggested that EBR might be a potential inhibitor of GSK3 β , which is one of the tau kinases.

In this thesis, we aimed to demonstrate the neuroprotective effect of EBR in *in vitro* tauopathy model of pheochromocytoma-12 (PC12) cells in relation to ER stress and autophagy pathways. First, the appropriate dose of EBR in wild-type PC12 cells was determined, then the success of tauopathy model in PC12 cells was demonstrated. EBR has been shown to induce cell survival in the tauopathy model PC12 cells in a more meaningful way than clinical trials of ongoing GSK3 inhibitor lithium chloride (LiCl). In addition, it has been shown that neurodegeneration marker proteins expressions were downregulated following EBR exposure. Furthermore, the tau kinases; such as cyclin-dependent kinase 5 (CDK5) and GSK3 β were downregulated and the GSK3 β Ser9 inhibitory phosphorylation occurred. The tauopathy model has been shown to trigger cell survival by triggering ER stress and autophagy. Based on the results obtained; EBR, which has been shown to have low toxicity on healthy cells, is a potent inhibitor of GSK3 β , and must be considered for further *in vivo*

therapeutic trial studies of AD and other tauopathies due to its regulatory effect on autophagy and ER stress.