



***RUBUS ARMANIACUS, EPILOBIUM HIRSUTUM, CORNUS
KOUSA, DIOSPYROS LOTUS, SIMILAX NIPONICA VE CORYLUS
HETEROPHYLLA* BİTKİ İZOLATLARININ *IN VITRO*
PARKINSON MODELİNDE MPP⁺ TOKSİSİTESİNE KARŞI
NÖRON KORUYUCU ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Ahmet YILMAZ

**Yüksek Lisans Tezi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Enes ARSLAN**

**2020
Her hakkı saklıdır.**



**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

***RUBUS ARMANIACUS, EPILOBIUM HIRSUTUM, CORNUS KOUSA,
DIOSPYROS LOTUS, SIMILAX NIPONICA VE CORYLUS HETEROPHYLLA***
**BİTKİ İZOLATLARININ *IN VITRO* PARKINSON MODELİNDE MPP⁺
TOKSİSİTESİNE KARŞI NÖRON KORUYUCU ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Ahmet YILMAZ

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Enes ARSLAN

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Erzurum

2020

Her hakkı saklıdır

T.C.
ERZURUM TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ ONAY FORMU

RUBUS ARMANIACUS, EPILOBIUM HIRSUTUM, CORNUS KOUSA,
DIOSPYROS LOTUS, SIMILAX NIPONICA VE CORYLUS HETEROPHYLLA
BİTKİ İZOLATLARININ *IN VITRO* PARKINSON MODELİNDE MPP⁺
TOKSİSİTESİNE KARŞI NÖRON KORUYUCU ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Enes ARSLAN danışmanlığında, Ahmet YILMAZ tarafından hazırlanan bu çalışma 01 / 06 / 2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oy birliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Abdulgani TATAR *İmza* :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ENES ARSLAN *İmza* :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ayşenur YAZICI *İmza* :

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Arzu GÖRMEZ
Enstitü Müdürü

Bu tez çalışması, Erzurum Teknik Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından 2019/3 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki tüm bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

12 / 05 / 2020

Ahmet YILMAZ

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***RUBUS ARMANIACUS, EPILOBIUM HIRSUTUM, CORNUS KOUSA,
DIOSPYROS LOTUS, SIMILAX NIPONICA VE CORYLUS HETEROPHYLLA***
**BİTKİ İZOLATLARININ *IN VITRO* PARKINSON MODELİNDE MPP⁺
TOKSİSİTESİNE KARŞI NÖRON KORUYUCU ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Ahmet YILMAZ

Erzurum Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Enes ARSLAN

Parkinson hastalığı (PH), henüz kesin bir tedavi yöntemi bulunmayan, başlıca bradikinezi, akinezi, tremor, rijidite ve postüral instabilite gibi motor semptomların yanı sıra, yorgunluk hissi, artan gündüz uykusu süresi, depresyon ve anksiyete gibi motor olmayan semptomlar ile karakterize bir nörodejeneratif hastalıktır. Son yıllarda Parkinson hastalığının tedavisinde kullanılmak için doğrudan veya mevcut terapilere ek olarak kullanılacak, bitkisel kaynaklı ilaç araştırmaları artarak önem kazanmıştır. Yapılan bu tez çalışmasında *Rubus armaniacus*, *Epilobium hirsutum*, *Cornus kousa*, *Diospyros lotus*, *Similax niponica* ve *Corylus heterophylla* bitkilerinin yapraklarından elde edilen izolatların, retinoik asit (RA) uygulamasıyla nöron benzeri yapılara dönüştürülmüş ve MPP⁺ bileşiği ile indüklenmiş SHSY-5Y in-vitro Parkinson modeli üzerindeki nöron koruyucu etkileri incelenmiştir. Deneysel Parkinson modeline geniş doz aralığında (3 - 200 µg/ml) bitki izolatları uygulanmış ve nöron koruyucu etkileri 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazolyum Bromid (MTT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) canlılık testleri uygulanarak belirlenmiştir. Canlılık testleri sonucunda nöron koruyucu etkilerinin olduğu belirlenen izolatların, SHSY-5Y hücrelerindeki oksidatif stres üzerindeki etkileri, toplam antioksidan durum (TAS) ve toplam oksidatif durum (TOS) testleri ile ölçülmüştür. Son olarak akış sitometrisi ile, bitki izolatlarının SHSY-5Y Parkinson hücre modelindeki ölüm yolları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sonuçlar, *Diospyros lotus* ve *Similax niponica* bitki yapraklarından elde edilen izolatların, nöron koruyucu etki göstererek deneysel in-vitro Parkinson modelindeki MPP⁺ bileşiğinin neden olduğu oksidatif stres sonucu meydana gelen apoptoz oranını azalttığını göstermiştir.

2020, 59 sayfa

Anahtar Kelimeler: Parkinson hastalığı, *In vitro*, Deneysel model, SHSY-5Y, Bitki izolatları, Nöron koruyucu etki

ABSTRACT

MS. Thesis

DETERMINATION OF NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF RUBUS ARMANIACUS, EPILOBIUM HIRSUTUM, CORNUS KOUSA, DIOSPYROS LOTUS, SIMILAX NIPONICA AND CORYLUS HETEROPHYLLA PLANT EXTRACTS, AGAINST MPP⁺ TOXICITY IN IN VITRO PARKINSON'S DISEASE MODEL

Ahmet YILMAZ

Erzurum Technical University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Asst. Prof. Mehmet Enes ARSLAN

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease characterized by motor symptoms such as bradykinesia, akinesia, tremor, rigidity, and postural instability, as well as non-motor symptoms such as fatigue, increased daytime sleepiness, depression and anxiety. There is no definitive treatment for Parkinson's disease yet. In recent years, herbal medicine researches that can be used directly or in addition to existing therapies for the treatment of Parkinson's disease have gained increasing importance. In the thesis study, the extracts obtained from the leaves of *Rubus armaniacus*, *Epilobium hirsutum*, *Cornus kousa*, *Diospyros lotus*, *Similax niponica* and *Corylus heterophylla* plants have been investigated for their neuroprotective effects on SHSY-5Y *in vitro* Parkinson's disease model induced with MPP⁺ by converting into neuron-like structures via retinoic acid (RA) treatment. Plant extracts were applied to the experimental Parkinson's disease model over a wide dose range (3 - 200 µg/ml) and their neuroprotective effects were determined by 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) and lactate dehydrogenase (LDH) cell viability tests. The effects of plant extracts, which were determined to have neuroprotective effects as a result of viability tests, on oxidative stress were measured by total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) tests. Finally, the effects of plant extracts on the cell death pathways in the SHSY-5Y Parkinson's disease model were investigated by flow cytometry. The results showed that extracts from *Diospyros lotus* and *Similax* plant leaves reduce the rate of apoptosis caused by oxidative stress caused by MPP⁺ in the experimental *in vitro* Parkinson's disease model.

2020, 59 page

Keywords: Parkinson's disease, *In vitro*, Experimental disease model, SHSY-5Y, Plant extracts, Neuroprotective effect

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimim ile başlayan ve bu tez çalışmasına kadar geçen süre içerisinde, desteğini benden hiç esirgemeyen ve üzerimde çok büyük emekleri bulunan, değerli danışman hocam, Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Enes ARSLAN'a,

Eđitimim boyunca bana yol göstermiş, değerli bilgileriyle katkıda bulunmuş, tüm Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı đretim yelerine,

Tez alışması boyunca bana destek olarak yardımlarını sunan değerli arkadaşlarım, Arř. Gör. Recep KKDOĐRU, Arř. Gör. Özge ÇAĐLAR, İlkan MUDU, Sibel RUA ve Abdulmelik AYTATLI'ya,

Hayatım boyunca desteđini ve sevgisini hissettiđim sevgili aileme,

Sonsuz teőekkürler...

Ahmet YILMAZ
Mayıs 2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Parkinson Hastalığı	1
1.2. İnsidansı ve Prevalansı	2
1.3. Klinik Özellikleri	3
1.3.1. Motor semptomlar	4
1.3.1.1. Bradikinezi	4
1.3.1.2. Akinezi	4
1.3.1.3. Tremor	4
1.3.1.4. Rijidite	5
1.3.1.5. Postüral instabilite	5
1.3.2. Motor olmayan semptomlar	5
1.4. Etiyolojisi	7
1.4.1. Çevresel faktörler	7
1.4.2. Genetik faktörler	8
1.4.2.1. SNCA	8
1.4.2.2. PARK2	9
1.4.2.3. PINK1	9
1.4.2.4. PARK7	10
1.4.2.5. LRRK2	10
1.4.3. Yaşlanma faktörü	11
1.4.4. Cinsiyet faktörü	12
1.5. Patogenezi	13
1.5.1. α -sinüklein ve Lewy cisimleri	13

1.5.2. MPTP	14
1.5.3. Demir	14
1.5.4. Oksidatif stres ve lipit peroksidasyonu	15
1.6. Mevcut Terapi Yaklaşımları	16
1.6.1. Bitkisel yaklaşımlar.....	17
2. KAYNAK ÖZETLERİ	18
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	22
3.1. Kullanılan Materyaller	22
3.1.1. SHSY-5Y hücre hattı (ATCC® CRL-2266™).....	22
3.1.2. MPP ⁺ iyodür.....	22
3.1.3. Deneylerde kullanılan bitkiler.....	22
3.1.4. Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F12)	22
3.1.5. Retinoik asit	23
3.1.6. Fetal bovin serum (FBS)	23
3.1.7. Penisilin/Streptomisin	23
3.1.8. Fosfat tamponlu tuz (PBS).....	23
3.1.9. Tripsin/EDTA	23
3.1.10. 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazolyum bromid (MTT).....	23
3.1.11. CyQUANT™ LDH cytotoxicity assay	24
3.1.12. Triton™ X-100.....	24
3.1.13. Dimetil sülfoksit (DMSO)	24
3.1.14. Trypan blue	24
3.1.15. Total Antioxidant Status (TAS) kiti.....	24
3.1.16. Total Oxidant Status (TOS) kiti	24
3.1.17. Annexin V-FITC apoptoz tanı kiti	25
3.1.18. Propidyum iyodür.....	25
3.1.19. Laminar kabin	25
3.1.20. CO2 inkübatörü.....	25
3.1.21. Invert mikroskop	25
3.1.22. Mikroplaka okuyucu	25
3.1.23. Su banyosu	26
3.1.24. Ultra saf su cihazı.....	26
3.1.25. Santrifüj cihazı	26

3.1.26. Analitik terazi.....	26
3.1.27. Liyofilizatör.....	26
3.1.28. Akış sitometrisi	26
3.2. Uygulanan Yöntemler	27
3.2.1. Bitki ekstraktlarının elde edilmesi	27
3.2.2. SHSY-5Y hücre kültürünün hazırlanması	27
3.2.3. SHSY-5Y hücrelerinde nöronal farklılaşmanın sağlanması	27
3.2.4. Deneysel <i>in vitro</i> Parkinson modelinin oluşturulması	28
3.2.5. Bitki izolatlarının toksisite Testi	28
3.2.6. Bitki izolatlarının deneysel <i>in vitro</i> Parkinson modeline uygulanması	28
3.2.7. Hücre canlılık testleri	29
3.2.7.1. MTT testi.....	29
3.2.7.2. LDH testi.....	29
3.2.8. TAS ve TOS testleri	29
3.2.9. Akış sitometrisi	30
3.2.10. İstatistiksel analizler.....	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	31
4.1. SHSY-5Y Hücrelerinin Nöronal Farklılaşması	31
4.2. Farklılaşmış SHSY-5Y Hücrelerindeki MPP ⁺ Toksisitesi.....	32
4.3. Farklılaşmış SHSY-5Y Hücrelerindeki İzolat Toksisitesi	34
4.4. İzolatların Deneysel <i>In Vitro</i> Parkinson Modelindeki Koruyucu Etkileri	37
4.5. İzolatların Deneysel <i>In Vitro</i> Parkinson Modelindeki TAS ve TOS seviyeleri	41
4.6. Akış Sitometrisi Analizi.....	42
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	44
KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ.....	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler Açıklama

°	Derece
aa	Aminoasit
µM	Mikromolar
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
mM	Milimolar
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre

Kısaltmalar

6-OHDA	6-hidroksidopamin
ATP	Adenozin trifosfat
KBB	Kan beyin bariyeri
DAT	Dopamin taşıyıcı
IC ₅₀	%50 öldüren toksik değer (Inhibitory concentration)
iPSC	İndüklenmiş pluripotent kök hücre (induced pluripotent stem cell)
LB	Lewy cisimcileri (Lewy bodies)
LDH	Laktat dehidrogenaz
MTT	3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il) 2,5-difeniltetrazolyum bromid
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
MPP ⁺	1-metil-4-fenilpiridinyum
MAO-B	Glial monamin oksidaz B
OCT-3	Organik katyon taşıyıcı enzim
PH	Parkinson hastalığı
ROS	Reaktif oksijen türleri (Reactive oxygen species)

SN	Substantia nigra
SNpc	Substantia nigra pars compacta
TAS	Toplam antioksidan durum (Total Antioxidant Status)
TOS	Toplam oksidan durum (Total Oxidant Status)
UPDRS	Birleşik parkinson hastalığı derecelendirme skalası
UPS	Ubikuitin-proteozom sistemi



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 Normal ve farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin 10x görüntüsü.....	31
Şekil 4.2 Normal ve farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin 20x görüntüsü.....	31
Şekil 4.3 Normal ve farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin 40x görüntüsü.....	32
Şekil 4.4 MPP ⁺ uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	33
Şekil 4.5 MPP ⁺ bileşiğinin logaritmik konsantrasyon grafiği.....	33
Şekil 4.6 <i>Rubus armaniacus</i> izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	34
Şekil 4.7 <i>Epilobium hirsutum</i> izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	35
Şekil 4.8 <i>Cornus kousa</i> izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	35
Şekil 4.9 <i>Diospyros lotus</i> izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	36
Şekil 4.10 <i>Similax niponica</i> izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	36
Şekil 4.11 <i>Corylus heterophylla</i> izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	37
Şekil 4.12 Deneysel <i>in vitro</i> Parkinson modelinde <i>Rubus armaniacus</i> izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	38
Şekil 4.13 Deneysel <i>in vitro</i> Parkinson modelinde <i>Epilobium hirsutum</i> izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	38
Şekil 4.14 Deneysel <i>in vitro</i> Parkinson modelinde <i>Cornus kousa</i> izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	39
Şekil 4.15 Deneysel <i>in vitro</i> Parkinson modelinde <i>Diospyros lotus</i> izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	39
Şekil 4.16 Deneysel <i>in vitro</i> Parkinson modelinde <i>Similax niponica</i> izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	40
Şekil 4.17 Deneysel <i>in vitro</i> Parkinson modelinde <i>Corylus heterophylla</i> izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları	40

Şekil 4.18 Bitki izolatları uygulanan deneysel <i>in vitro</i> Parkinson modelindeki oksidatif stresin değerlendirilmesi.	42
Şekil 4.19 Akış sitometrisi analizi.	43



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Bitki izolatları uygulanan deneysel <i>in vitro</i> Parkinson modelindeki TAS ve TOS seviyeleri.....	43
--	----



1. GİRİŞ

1.1. Parkinson Hastalığı

Günümüzde Alzheimer hastalığından sonra en sık görülen nörodejenaratif hastalıklardan biri olan Parkinson hastalığı (PH), bundan yaklaşık 200 yıl önce, James Parkinson tarafından, “titrek felç” ismiyle ilk kez tanımlanmıştır. James Parkinson, hastalıkla ilgili semptomları, zeka ve duyularla ilgili bir sorun olmaksızın gelişen istem dışı titreme, kas gücünde azalma ve gövdeyi öne eğme olarak tanımlamıştır (Parkinson, 2002). Hastalığın ismi, tanısından yaklaşık 50 yıl sonra, öğrencileri ile birlikte hastalığın klinik spektrumu üzerinde çalışmalar yaptığı sırada, Parkinson hastası tüm bireylerde tremor bulunma zorunluluğunun olmadığını keşfederek, “titrek felç” isminin kullanımına karşı çıkan Jean-Martin Charcot tarafından verilmiştir (Charcot, 1886).

Dünya çapında yapılan araştırmalarda PH'nin insidansı genellikle 100.000 kişide 10-50 kişi olarak, prevalansı ise her 100.000 kişi üzerinden yaklaşık olarak 250-570 kişi olarak yorumlanır. Hastalığın insidansı ve prevalansının yaşa bağlı olarak arttığı gözlemlenmiştir. Popülasyonun yaşlanma grafiği göz önüne alındığında 2030 yılında nüfusu yoğun ülkelerdeki Parkinson hastası birey sayısının iki katına ulaşması beklenir (Pringsheim et al., 2014; Vincent P. Calabrese, 2019).

PH, akinezi, bradikinezi, tremor, rijidite ve postüral instabilite gibi birincil motor semptomların yanında, yürüyüş ve konuşma bozuklukları gibi ikincil motor semptomlar ile karakterize dejeneratif bir nörolojik hastalıktır (Moustafa et al., 2016). Bununla birlikte, anksiyete ve depresyon gibi motor olmayan semptomlar PH'de yaygın olarak görülür. Anksiyete bozuklukları arasında; genel anksiyete bozukluğu, panik bozukluğu, agorafobi, obsesif kompulsif bozukluk, sosyal veya spesifik fobi bulunur (Dissanayaka et al., 2014).

Hastalığın kesin tanısı, hastanın ölümünden sonra beyinde yapılan histopatolojik incelemeler sonucunda; α -sinüklein içeren anormal protein agregatlarının birikmesi sonucu oluşan Lewy cisimciklerinin (LB) görülmesine, substantia nigra içerisinde

1. GİRİŞ

striatuma uzanan dopaminerjik hücre ölümlerinin varlığına ve aktif mikroglial hücrelerin birikmesi ile oluşan mikrogliyozis tespitine bağlıdır (Dexter and Jenner, 2013).

Bilinen kesin bir tedavisi olmadığından dolayı PH üzerindeki terapi yaklaşımları semptomatik iyileştirmeler üzerine yoğunlaşmıştır. Günümüzde PH tedavisinde kullanılan mevcut yaklaşımlar içerisinde levodopa gibi ilaç tedavileri ve derin beyin stimülasyonu gibi cerrahi müdahaleler bulunmaktadır. Ancak medikal veya cerrahi yöntemlerle bile hastaların, yürüme ve vücut dengesi gibi özelliklerinde giderek artan bozulmalar gözlemlenmektedir (Abbruzzese et al., 2016)

1.2. İnsidansı ve Prevalansı

PH yaygın bir nörodejeneratif hastalıktır. Hastalığın insidansı ve prevalansını açıklamaya odaklanan epidemiyolojik çalışmalar hastalığın doğası ve risk faktörleri ile ilgili önemli bilgiler sunar. Dünya çapında yapılan araştırmalarda PH'nin ortalama insidansı 100.000 kişi üzerinden 40 yaş ve üzeri kadınlar için 37 kişi, erkekler için ise 61 olarak hesaplanmıştır. 80 yaş ve üzeri kadınlardaki insidans 100.000 kişide 103 kişi iken, erkeklerde bu sayı 258 kişiye ulaşmıştır. Yapılan analizler hastalığın insidansının yaşa bağlı olarak anlamlı bir şekilde arttığını göstermiştir. Ayrıca her yaş aralığında erkeklerin kadınlara oranla daha yüksek insidansa sahip oldukları görülmüştür (Hirsch et al., 2016)

Yapılan çalışmalarda hastalığın prevalansı, her 100.000 kişi üzerinden 40-49 yaş aralığındaki kadınlarda 45, erkeklerde ise 36 olarak, 50-59 yaş aralığındaki kadınlarda 41, erkeklerde ise 134 olarak, 60-69 yaş aralığındaki kadınlarda 392, erkeklerde ise 389 olarak, 70-79 yaş aralığındaki kadınlarda 813, erkeklerde ise 932 olarak, 80 yaş ve üzeri kadınlarda 1517, erkeklerde ise 2101 kişi olarak hesaplanmıştır. Yaş grupları arasında cinsiyete bağlı olarak PH gelişimi yalnızca 50-59 yaş aralığında önemli derecede farklılık oluşturmuştur. Hastalığın kıtalar arası prevalansı, 80 yaş ve üzeri hastalarda, Asya kıtasında 1418, Avrupa kıtası, Kuzey Amerika kıtası ve Avustralya kıtası ortak grubunda 2953 ve Güney Amerika kıtasında 6095 kişi olarak değerlendirilmiştir (Pringsheim et al., 2014)

1.3. Klinik Özellikleri

PH, bradikinezi, akinezi, tremor, rijidite ve postüral instabilite gibi belirgin motor semptomlar ile karakterize bir hastalıktır. Bu motor semptomlar Parkinson hastalarında, hastalığın alt türlerine ayrılmasına sebep olacak şekilde heterojenite gösterir. PH'nin alt türlerinin sınırları kesin olarak belirlenememiş olmasına karşın, deneysel klinik araştırmaların önerdiği haliyle iki büyük PH alt türü vardır; diğer motor semptomların göreceli yokluğu ile fenotipe daha fazla etki eden tremor baskın alt tür ve diğer motor semptomların da fenotipte etkisini gösterdiği tremor baskın olmayan alt tür. Hastalığın alt türleri arasında, tremor-baskın fenotipin, tremor baskın olmayan fenotipe oranla, hastalığın daha yavaş ilerlemesi ve daha az işlev kaybına sebep olması şeklinde bir ilişki görülür (Jankovic, 2008; Thenganatt and Jankovic, 2014).

PH'nin motor olmayan semptomları genellikle hastalığın erken evrelerinde ortaya çıkmakla beraber, daha çok hastanın yaşam kalitesiyle ilgilidir (Martinez-Martin et al., 2011). Koku alma duyusunun azalması, gündüz uykularının sıklaşması, yorgunlukla beraber görülen ağrı, psikiyatrik bozukluklar, anksiyete, bilişsel duylarda körelme gibi semptomlar hastalığın premotor semptomları olarak değerlendirilir (Shulman et al., 2002).

Parkinson hastalarında, hastalığın seyri ve derecelendirilmesi için bazı skalalar kullanılmıştır. Yaygın olarak kullanılan skalalardan biri hastalığı 0 ile 5 arasında değerlendiren Hoehn ve Yahr skalasıdır. Bu skalaya göre PH'nin genel durumu doğrusal olarak, hastalık belirtisinin olmaması durumundan (0), hastanın tamamen tekerlekli sandalyeye bağlı veya yatalak olması durumuna (5) ölçeklendirilebilir (Bhidayasiri and Tarsy, 2012). Son zamanlarda klinik tanı sürecinde altın oran olarak görülen birleşik Parkinson hastalığı derecelendirme skalasına (UPDRS) göre, hastalık doğrusal bir ölçeklenmeden ziyade kendi içerisinde kısımlara ayrılarak takip edilir. UPDRS başlıca şu bölümlerden oluşur; hastanın mental durumu ve davranışlarının incelenmesi (I), konuşma, yürüme, yazma, gibi günlük rutin hareketlerinin değerlendirilmesi (II), motor semptomlara yönelik klinisyen puanlaması (III), tedavinin yan etkilerinin değerlendirilmesi (IV) (Ebersbach et al., 2006; "The Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS)", 2003).

1.3.1. Motor semptomlar

Hastalığın motor semptomları ilk kez 1817 yılında Dr. James Parkinson tarafından tanımlanmış ve günümüzde kadar hastaların hareket yetenekleri ve yaşam kalitelerinin üzerine olan etkileri çokça çalışılmıştır (Gómez-Esteban et al., 2007; Müller et al., 2013). Motor semptomlar PH'nin klinik hikayesinin büyük kısmını oluştururlar.

1.3.1.1. Bradikinezi

Bradikinezi, Parkinson hastalarında görülen en önemli semptomlardan biridir ve UPDRS ölçeğine göre hastalığın tanısı için mutlaka gereklidir (Pal and Goetz, 2013). Bazal gangliadaki fonksiyon bozuklukları ile birlikte gelişir ve hastanın günlük rutin hareketleri sırasında gözle görülür bir yavaşlamaya neden olur. Hastaların el becerilerinin giderek azaldığı, daha kısa adımlarla yürümeye başladıkları ve postürlerinde belirli bir eğrilmenin görüldüğü rapor edilir (Berardelli et al., 2001; Shiner et al., 2012).

1.3.1.2. Akinezi

Parkinson hastalarında, hareket içeren eylemlere başlamada zorluk yaşanması ve günlük hayatın parçası olan, yürüyüş sırasında kolların sallanması gibi otonom hareketlerin, bradikinezideki yavaşlamadan farklı olarak, büyük bir ölçüde veya tamamen kaybolması durumudur. Ayrıca hastalarda yüz kaslarının hareketsizliğine bağlı olarak duygusal ifadelerde azalmalar görülür. (Bermanzohn and Siris, 1992).

1.3.1.3. Tremor

Tremor en genel hali ile hastalarda istem dışı ve ritmik olarak görülen titremeler veya seğirmeler olarak tanımlanır (Elble, 2017). Tremorun, PH tanısı açısından bradikinezi gibi var olma zorunluluğu olmamakla beraber, var olması durumunda diğer etkilerden daha büyük bir dereceye sahip olacağı ön görülmektedir (Hughes et al., 1993). Tremor, PH içerisinde tek bir form olarak görülmez. En bilinen ve yaygın formu dinlenme tremorudur. Dinlenme tremoru varlığında idiopatik PH görülme sıklığı %95 olarak rapor

1. GİRİŞ

edilmiştir. Klasik dinlenme tremorunun frekansı, hastalığın ilerlemesi ile paralellik gösterme zorunluluğu bulunmadan, 4-9 Hertz arasında bir değer alır (Deuschl et al., 2000).

1.3.1.4. Rijidite

Rijidite, Parkinson hastalarında görülen harekete karşı pasif bir dirençten sorumlu ve kaslardaki gerginliğin artışı ile karakterize bir motor semptomdur. Hastaların hareketleri süreklilik arz etmek yerine robotik ve kademeli bir şekilde görülür. Dopaminerjik ilaçlara karşı duyarlı olduğundan, bir tanı kriteri olarak görülüp, tedavi amaçlı müdahalelerin gerekliliğini değerlendirmek için kullanılır (Xia, 2011). PH'nin erken evrelerinde özellikle rijidite ve bradikenezi ile ilişkili olarak ortaya çıkan omuz ağrıları rapor edilmiştir (Stamey et al., 2008).

1.3.1.5. Postüral instabilite

Postüral instabilite, Parkinson hastalarının yaşam kalitesini doğrudan etkileyen ve PH tanısında önemli rol oynayan kısıtlayıcı bir semptomdur. Hastaların, vücut hareketlerini gerçekleştirmek için mekanik destek aldığı vücut kısımlarının yerçekimi vektörüne doğru yönelmemesi durumudur (Kim et al., 2013). Postüral instabiliteye bağlı düşmeler neticesinde meydana gelen kemik kırıklıkları veya daha ileri yaralanmalar hastalar için önemli sorunlara yol açar (Błaszczyk et al., 2007; Roller et al., 1989). Postüral instabilitenin kısıtlayıcı etkilerinin her ne kadar hastalığın ilerlemesi ile doğrusal olarak geliştiği bilinse de, yapılan çalışmalar, denge bozuklukları hedef alınarak uygulanan egzersiz terapilerin, hastaların postürlerinde anlamlı derecede iyileşmelere neden olabileceğini göstermiştir (Klamroth et al., 2016).

1.3.2. Motor olmayan semptomlar

PH'nin motor olmayan semptomları en genel haliyle, bilişsel, psikiyatrik, duyuşsal bozuklukları içerir ve genellikle hastalarda motor semptomların ortaya çıkmasından daha önce görülür. Başlıca motor olmayan semptomlar arasında, koku alma duyusunun

1. GİRİŞ

körelmesi, yorgunluk hissi, artan gündüz uykusu süresi, uyku sırasında hızlı göz hareketi düzensizlikleri, depresyon ve anksiyete durumları bulunur (Chaudhuri and Naidu, 2008).

Parkinson hastalarında demans, hastaların bilgiyi yavaş işlemelerine bağlı olarak, görsel ve mekansal ilişki kurmalarını, odaklanma ve icra becerilerini, günlük hayatta karşılaştıkları sorunlara çözüm üretebilme yeteneklerini oldukça kısıtlar (Williams-Gray et al., 2006). Yapılan bir çalışmada Parkinson hastası bireylerde demans görülme sıklığının, hasta olmayan bireylere oranla altı kat daha fazla olabileceği saptanmıştır (Aarsland et al., 2001). Başka bir çalışmada Parkinson hastalarında birikimli demans prevalansının %80'e kadar çıkabileceği belirtilmiştir (Aarsland et al., 2003).

Parkinson hastalarında depresyon görülme sıklığı %20-40 olarak rapor edilmiştir (Cummings, 1992). Depresyondaki Parkinson hastaları, depresyon göstermeyen hastalara kıyasla, hastalığın ilerlemesinde görülen artış ve yaşam kalitesindeki belirgin düşüş bakımından önem arz ederler. Depresyondaki Parkinson hastaları azalmış ilgi, iştah ve kilo kaybının yanı sıra, uykusuzluk, yorgunluk, kendini değersiz hissetme veya umutsuzluk gibi semptomlar üzerinden değerlendirilirler (Starkstein et al., 2008).

Parkinson hastalarında görülen sosyal fobi, agorafobi, obsesif-kompulsif bozukluk, panik gibi durumlarla ilişkilendirilmiş anksiyetenin Parkinson hastalarındaki prevalansı, yapılan çalışmalar sonucunda %55'e varan oranlarda tespit edilmiştir (Broen et al., 2016). Hastalarda genellikle depresyon ile birlikte seyreder. Ayrıca genellikle hastalığın tanısından sonra ortaya çıkmasına rağmen bazı durumlarda motor semptomlara öncülük edebilir (Richard et al., 1996). Yapılan bir çalışmada anksiyetenin özellikle, açık-kapalı motor dalgalanmalarının kapalı fazında artış gösterdiği belirtilmiştir (Siemers et al., 1993).

1.4. Etiyolojisi

1.4.1. Çevresel faktörler

Substantia nigra (SN)'daki dopaminerjik nöronlara zarar vererek Parkinson eşdeğeri bir sendroma yol açan, 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) bileşiğinin keşfedilmesiyle birlikte (Langston et al., 1983), özellikle sporadik PH'nin etiyojisini açıklamak amacıyla çevresel faktörlerin araştırılması artarak hız kazanmıştır. MPTP bileşiği astrositlerde toksik 1-metil-4-fenilpiridinyum (MPP⁺) kationuna dönüşür ve dopaminerjik nöronlarda mitokondriyal hasara neden olarak hücre ölümüne yol açar. (Przedborski and Jackson-Lewis, 1998).

Yapılan çalışmalarda PH ve tarım ile ilgilenen kişiler arasında anlamlı bir ilişki rapor edilmiştir (Gorell et al., 1998). Bu kişilerde görülen pestisit ve herbisitlere maruz kalma durumunun, hastalığın gelişimi açısından önem arz ettiği düşünülmektedir. Tarımda herbisit olarak kullanılan parakuat bileşiğinin toksisitesi üzerine yapılan bir çalışma, bu bileşiğin hücrelerde lipid peroksidasyonuna neden olarak dopaminerjik nöronların kaybına neden olabileceğini önermiştir (Dinis-Oliveira et al., 2006). Yaygın bir pestisit olarak kullanılan rotenon bileşiğinin ise, mitokondriyal kompleks I inhibitörü olarak davrandığı ve dopaminerjik hücre ölümünü tetiklediği rapor edilmiştir (Sherer et al., 2003).

Dünya genelinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, hayatının en az bir döneminde düzenli sigara ve kahve kullanmış kişilerde, PH riskinin dikkate değer bir biçimde daha az olduğu tespit edilmiştir (Driver et al., 2009; Hernán et al., 2002). Nikotinin nöron koruyucu etkisi *in vitro* ve *in vivo* modeller üzerinde doğrulanmıştır ancak moleküler mekanizması tam olarak açıklanamamıştır (Lu et al., 2017). Buna karşılık son zamanlarda yapılan bir çalışmada, Parkinson hastalarına uygulanan nikotin ve kafein terapisinin, beklenenin aksine hastalığın semptomlarında anlamlı bir iyileşme ile sonuçlanmadığı rapor edilmiştir (Wood, 2017).

1. GİRİŞ

Hava kirliliğinin PH üzerine birikimli etkileri, epidemiyolojik çalışmaların sıkça inceleme konusu olmuştur. 60 yaş üzeri ve ortalama 30 yıl maruziyet süresi bulunan hastalarda yapılan bir çalışmada (Ritz Beate et al., 2016), motorlu taşıt trafiğinin neden olduğu havadaki azot dioksit (NO₂) ve karbon monoksit (CO) kirliliğinin, anlamlı derecede PH lehine ilişkili olduğu gösterilmiştir. Genç yaştan itibaren hava kirliliğine maruz kalan kişilerde, kan beyin bariyeri (KBB) fonksiyon bozuklukları, artan inflamatuvar sitokin seviyesi, α -sinüklein ve amiloid beta birikimi görülür (Calderón-Garcidueñas et al., 2008).

1.4.2. Genetik faktörler

En çok çalışılan ve PH ile ilişkisi kesin olarak saptanmış beş majör gen vardır. Bunlar; α -sinüklein proteinini kodlayan *SNCA* geni (OMIM#163890), parkin proteinini kodlayan *PARK2* geni (OMIM#602544), PTEN-bağımlı putatif kinaz 1 enzimini kodlayan *PINK1* geni (OMIM#608309), DJ-1 proteinini kodlayan *PARK7(DJ-1)* geni (OMIM#602533) ve lösince zengin tekrar kinaz 2 enzimini kodlayan *LRRK2* genidir (OMIM#609007).

1.4.2.1. SNCA

Yüksek oranda korunmuş *SNCA* geni, 140 aminoasitlik (aa), katlanmamış, çözünebilir α -sinüklein proteinini kodlar (Davidson et al., 1998). Hücre içerisindeki fonksiyonu tam olarak açıklanamamış α -sinüklein proteininin nöronlara özgü presinaptik terminallerde lokalize olarak, istemli ve istemsiz hareketlerin başlamasında kritik öneme sahip dopamin salınımı için yeterli sinaptik vezikül sağlanmasında görev aldığı düşünülür (Lotharius and Brundin, 2002). α -sinükleinin sinaptik vezikül döngüsündeki bu kritik rolü, sinaptik proteinlerin katlanmasına yardımcı olarak moleküler bir şaperon gibi davranmasıyla açıklanır (Bonini and Giasson, 2005).

SNCA genindeki mutasyonlar ailesel PH vakalarının dominant kalıtım öyküsünü oluşturur. İtalyan bir ailedeki patojenik p.Ala53Thr varyantının keşfedilmesi ile parkinson ile pozitif ilişkili ilk gen olarak rapor edilmiştir. Alaninin treonin ile yer

1. GİRİŞ

değiştirmesinin, proteindeki alfa sarmal yapıların bozulup beta yaprak yapısının uzamasına neden olacağı öngörülmüştür. Beta yaprak yapısının, proteinin kendi üzerine birikmesiyle amiloid benzeri yapıların oluşmasına yol açacağı düşünülmüştür (Polymeropoulos et al., 1997).

Sitoplazma içerisinde yüksek konsantrasyonlarda kendi üzerine katlanan α -sinüklein proteinlerinin majör bileşen olarak neden olduğu LB birikmesi, mutant *SNCA* geninin bir sonucudur (Spillantini et al., 1997). Nöronal hücrelerde yoğunlaşmış LB birikimlerinin, Parkinson hastalarında beş kata kadar daha fazla demans görülmesi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Hurtig et al., 2000).

1.4.2.2. PARK2

PARK2 geni 12 ekzon ve bunların geniş intronik bölgeler içeren büyük bir genidir. Otozomal resesif kalıtım gösterir. 465 aa'ten oluşan parkin proteinini kodlar. Parkin proteini ubiquitin-proteozom sisteminde (UPS) görev alarak, hücre içerisinde proteozomlar tarafından degrade edilecek proteinleri etiketleyen bir ubiquitin (E3) ligazı olarak işlev görür (Shimura et al., 2000). UPS, hücre döngüsünde, sinyal iletiminde ve metabolizma sürecinde görev alan kısa ömürlü proteinlerin seviyesinin düzenlenmesinde ve yanlış katlanan proteinlerin tespit edilmesinde kritik rol oynar. UPS'de meydana gelen işlev bozukları nörodejeneratif etki ile yorumlanır (Ciechanover and Brundin, 2003).

Yapılan çalışmalarda *PARK2* geninin 12 ekzonu üzerinde dağılan mutasyonların erken başlangıçlı PH ile karakterize olduğu gösterilmiştir. (Koziorowski et al., 2010; Padmaja et al., 2012). *PARK2* mutasyon pozitif hastaların dopamin tedavisine karşı duyarlı olduğu rapor edilmiştir (Lücking et al., 2000).

1.4.2.3. PINK1

PINK1 geni çekirdekte transkript edilen ve mitokondriyi hedefleyen bir putatif kinaz enzimini kodlar. Enzimin hücre içi fonksiyonu tam olarak anlaşılamamıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda bu enzimin aslında bir psödökinaz olduğu, substratları

1. GİRİŞ

doğrudan fosforile etmek yerine fosforile edecek diğer kinazlar için bir iskele görevi görerek, hücreyi mitokondriyal fonksiyon bozukluklarının toksik etkilerinden korumakta rol aldığı düşünülmektedir (Pogson et al., 2011).

PINK1 mutasyonlarının PH'de *PARK2* mutasyonlarından sonra en sık görülen ikinci otozomal resesif mutasyonlar olduğu ve erken başlangıçlı, yavaş ilerleyen Parkinsonizm ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Beilina et al., 2005; Hatano et al., 2004). Daha sonradan çalışılmış *PINK1* mutasyonlarının, klinik spektrumu geç başlangıçlı sporadik PH'yide içine alacak şekilde genişlettiği belirtilmiştir (Gelmetti et al., 2008).

1.4.2.4. PARK7

Önceleri onkogen olarak bildirilmiş ve beyin dahil olmak üzere vücudun çoğu bölgesinde ifade edilen DJ-1 geni (Nagakubo et al., 1997), nörodejenerasyon ile olan ilişkisi açıklandıktan sonra (Bonifati et al., 2003) *PARK7* geni olarak isimlendirilmiştir. 8 ekzondan oluşur ve 189 aa'ten oluşan, yüksek oranda korunmuş, nöron koruyucu DJ-1 proteinini kodlar (Nagakubo et al., 1997). DJ-1 proteininin ifadesi, oksidatif strese karşı hücrel bir yanıt olarak artış gösterir (Mitsumoto and Nakagawa, 2001). Ayrıca oksidatif koşullar altında redoks bağımlı bir moleküler şaperon aktivitesi göstererek, α -sinüklein birikimini engeller (Shendelman et al., 2004). Mitokondri regülasyonunda koruyucu rol üstlenerek mitokondriyal kompleks I aktivitesinde bağlayıcı protein olarak görev alır (Hayashi et al., 2009).

Parkinson ile ilişkili mutasyonları *PARK2* ve *PINK1* kadar yaygın olmasa da, bazı *PARK7* gen mutasyonları da tıpkı *PARK2* ve *PINK1* gibi erken başlangıçlı, yavaş ilerleyen ve dopamin terapisine duyarlı PH ile karakterizedir (Abou-Sleiman et al., 2004).

1.4.2.5. LRRK2

Beyin dahil olmak üzere birçok organ ve dokuda ifade edilen *LRRK2* geni, 51 ekzondan oluşan ve 2527 aa'lık oluşan bir enzimi kodlayan oldukça büyük bir genidir. Homoloğu olan *LRRK1* geni ile birlikte protein kinaz ailesinin küçük bir parçasını

1. GİRİŞ

oluştururlar. N-terminal uçlarında lösince zengin tekrar bölgeleri bulunduğu için kodladıkları proteinler lösince zengin tekrar kinaz enzimleri olarak isimlendirilirler. Ayrıca yapılarında bulunan ras benzeri kompleks domainler sayesinde putatif GTPaz olarak aktivite gösterebilirler (Mata et al., 2006).

LRRK2 geninde meydana gelen patojenik mutasyonların geç başlangıçlı PH ile ilişkisi bilinmektedir. Tıpkı *SNCA* geninde olduğu gibi otozomal dominant olarak kalıtlı ve levodopa tedavisine karşı duyarlıdır (Zimprich et al., 2004). *LRRK2* geninin hücre içi normal fonksiyonları hala gizemini korumaktadır. Ancak yapılan çalışmalar ile *LRRK2* genini mitokondriyal fonksiyonlar, vezikül transferi ve otofaji dahil olmak üzere çeşitli hücrel fonksiyonlar ve iki farklı enzim yeteneğine sahip olmasının doğal bir sonucu olarak çeşitli sinyal yolları ile ilişkilendirilmiştir (Wallings et al., 2015). Ayrıca gendeki mutasyonların patojenik mekanizması anlaşılammış olmasına rağmen, Parkinson hastası bireylerde SN dejenerasyonu ve Lewy cisimciklerinin oluşumu ile karakterize olduğu gözlemlenmiştir. *LRRK2* ilişkili Parkinson hastalarında en yaygın görülen p.Gly2019Ser mutasyonuna hem sporadik hem ailesel vakalarda rastlanır ve toplum frekansı %40'a kadar değişiklik gösterir (Biskup and West, 2009).

1.4.3. Yaşlanma faktörü

Hastalığın insidansı 60 yaşın üzerinde katlanarak artması ve 85-90 yaş aralığında en yüksek değerine ulaşması, yaşlanma sürecinin PH'de önemli bir risk faktörü olarak düşünülmesine sebep olmuştur (Driver et al., 2009). Substantia nigra pars compacta(SNpc)'da bulunan nöronlara özgü gri rengi veren nöromelanin pigmentinin azalması PH ile ilişkilendirilmiştir (Hirsch et al., 1989). Nöromelaninin, sağlıklı insan beyinde normal yaşlanma sürecine bağlı olarak her on yılda %7 civarında azalması (Ma et al., 1999b), PH ile yaşlanma faktörü arasındaki ilişkiyi destekler.

Tüm vücut hücrelerinde mitokondriyal aktivite sonucu üretilen oksidatif strese ek olarak, dopaminerjik nöron hücreleri, dopamin metabolizması sırasında, H₂O₂ dahil olmak üzere diğer reaktif oksijen türlerinin (ROS)'ların stresine de maruz kalır. Dopaminerjik hücreleri söz konusu fazladan oksidatif strese karşı koruyan dopamin taşıyıcı membran proteini, dopamini sinaptik yarıktan sitozole geri pompalayarak, hücre

içi dopamin seviyesini düzenler (Vaughan and Foster, 2013). Parkinson hastalarında dopamin taşıyıcı proteini kodlayan *DAT1* geninin ifadesinde belirgin bir azalma görülmesi (Harrington et al., 1996) ve insan SN'lerinde yapılan immünohistokimyasal çalışmalar sonucunda, dopamin taşıyıcı (DAT) proteinin yaşa bağlı olarak azaldığının gösterilmesi (Ma et al., 1999a), PH etiyojisinde yaşlanma faktörünün önemini vurgular.

Normal yaşlanma sürecinin bir sonucu olarak ilerlemiş yaş ile SN'de görülen demir içeriği birikiminin (Bilgic et al., 2012; Daugherty and Raz, 2013), PH'de, SN nöronlarının demir içeriğinin Fenton reaksiyonu sonucu ürettiği ROS ile dopaminerjik nöron kaybına neden olması arasında bir ilişki kurulabileceği düşünülmüş olsa da, son çalışmalardaki bulgular, PH'deki demir toksisitesinin, demirin hücre içerisindeki miktarından daha çok kararsızlığının bir sonucu olduğu yönündedir (Friedman et al., 2009; Wypijewska et al., 2010).

1.4.4. Cinsiyet faktörü

PH'nin epidemiyolojik ve klinik özellerinde cinsiyetle ilgili belirgin farklılıklar görülür. PH'nin erkeklerde görülme oranı, kadınlarda görülme oranının yaklaşık 2 katı kadardır (Baldereschi et al., 2000). Özellikle motor olmayan semptomların dağılımı ve şiddeti de cinsiyetler arasında farklılık gösterir. 951 Parkinson hastası ile yapılan bir çalışmada, yorgunluk, gerginlik, üzüntü, huzursuz bacak sendromu, kabızlık ve ağrı kadınlarda daha şiddetliken, erkeklerde ise gündüz uykusu ve azalmış cinsel ilgi durumunun daha yoğun görüldüğü bildirilmiştir (Martinez-Martin et al., 2012).

Cinsiyet faktörünün Parkinson hastaları üzerine etkisi, PH'nin levodopa ile motor semptomlarının kontrolüne dayalı tedavisinde de ortaya çıkar. Kadınlarda erkeklere oranla, daha yüksek levodopa biyoyararlanımı ve buna karşılık daha yüksek oranda levodopa ilişkili diskinezi riski görülür (Kumagai et al., 2014).

Östrojenin nöron koruyucu etkisi tartışmaya açıktır. Östrojenik bir steroid hormon olan 17 β -östradiolün antioksidan özellik göstererek nöron hücrelerini ROS'ların yıkıcı etkilerinden korur (Mann et al., 2007; Moosmann and Behl, 1999). Yaşam boyu düşük

1. GİRİŞ

ve yüksek östrojen maruziyeti görülen Parkinson hastaları arasındaki karşılaştırmalı kıyaslamalar sonucunda, düşük maruziyet görülen hastalardaki DAT varlığının, yüksek maruziyet grubuna göre anlamlı derecede azaldığı, ayrıca yüksek maruziyet grubundaki hastaların, düşük maruziyet grubundaki hastalara göre daha düşük aylık levodopa dozuna ihtiyaç duydukları görülmüştür (Lee et al., 2019).

1.5. Patogenezi

1.5.1. α -sinüklein ve Lewy cisimleri

PH, SNpc'deki dopaminerjik nöronların kaybıyla ve beyin etkilenmiş bölgelerinde Lewy cisimleri (LB) olarak adlandırılan, α -sinüklein içeren, çözünemeyen, hücre içi birikimler ile karakterizedir. LB'nin saflaştırma ve karakterizasyon çalışmaları sırasında, nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde yol oynayabileceği düşünülmüş (Iwatsubo et al., 1996) ve hastalığın mekanizmasını araştıran çalışmalar için ilgi odağı haline gelmiştir. α -sinüklein, SNCA geni tarafından kodlanan, 140 aa'ten oluşan, beyinde diğer vücut bölgelerine oranla daha fazla ifade edilen, sinüklein protein ailesinin bir üyesidir (Davidson et al., 1998). Sinüklein proteinin ailesinin diğer üyeleri β -sinüklein ve γ -sinüklein gibi yüksek oranda korunmuş ve α -sarmal lipit bağlayıcı bölge içeren bir proteindir (George, 2002). Nörodejeneratif hastalıklar ile ilişkini daha iyi anlayabilmek adına bir dizi SNCA geninin işlevini baskılayıcı çalışmalar yapılmış ve α -sinükleinin, sinaptik vezikül havuzlarının regülasyonunda ve sinapsların olgunlaşmasında (Murphy et al., 2000), olfaktör nöronların yenilenmesi ve nöroplastisitesinde (Duda et al., 1999), presinaptik vezikül oluşumunda ve kontrolünde görev aldığı rapor edilmiştir (Cabin et al., 2002).

Daha önceden de bahsedildiği üzere α -sinükleinin, LB'nin ana bileşiklerinden biri olarak beyinde birikmesinin sebebinin, SNCA geninde meydana gelen bir mutasyon ile proteinin α -sarmal formunun bozulup β -yaprak formuna geçmesiyle kendi üzerine katlanması olabileceği düşünülmüştür (Polymeropoulos et al., 1997). PH'nin genetik ile ilişkili olmayan türlerinde görülen LB'lerin oluşumunu anlamak amacıyla yapılan *in vitro* çalışmalarda, Calpain 1 ve 2 enzimlerinin öncülük ettiği bir post-translasyonel mekanizma sonucunda α -sinükleinin C-terminal ucunun kesilmesi ile LB oluşumu

1. GİRİŞ

arasında anlamlı bir ilişki görülmüştür (Mahul-Mellier et al., 2018; Mishizen-Eberz et al., 2003). Ayrıca çeşitli E3 ligazların ubikuitinasyonu engellemesi sonucunda hücre içerisinde α -sinüklein proteinlerinin birikerek inklüzyon oluşturdukları bildirilmiştir (Rott et al., 2017).

α -sinüklein oligomerizasyonunun, kompleks I aktivitesini inhibe ederek mitokondriyal işlev bozukluğuna yol açtığı rapor edilmiştir (Esteves et al., 2011). Ayrıca α -sinüklein birikiminin, nöron hücresindeki oksidasyon stresini artırarak sitoplazmik dopaminin kolaylıkla oksitlenmesine neden olduğundan, dopamin toksisitesine bağlı hücre ölümü ile PH'ye yol açabileceği düşünülmüştür (Lotharius et al., 2002).

1.5.2. MPTP

MPTP, KBB'den serbestçe geçebilecek kadar küçük bir bileşiktir. KBB'yi geçerek astrositlere ulaşan MPTP, glial monamin oksidaz B (MAO-B) enzimi tarafından MPP⁺ toksik formuna çevrilerek organik katyon taşıyıcı (OCT-3) enzimi üzerinden dopaminerjik nöronlara taşınır. Dopaminerjik nöronlar içerisinde MPP⁺, kompleks I inhibitörü olarak davranır ve oksidatif fosforilasyonu engeller. Bu inhibisyon hücre içerisinde adenosin trifosfat (ATP) seviyesini düşürüp, ROS üretimini artırarak, dopaminerjik hücre ölümü ile sonuçlanacak lipid peroksidasyonuna yol açar (Przedborski and Jackson-Lewis, 1998). MPTP ile muamele edilmiş babunların SN'sinde, LB ile oldukça benzer α -sinüklein inklüzyonlarına rastlanmıştır (Kowall et al., 2000).

1.5.3. Demir

Hücre içerisinde bir elektron vericisi gibi davranarak, enzim aktivitelerini katalizlemede ve çeşitli redoks tepkimelerinde görev alan demir hücre içerisinde biriktiğinde, tüm biyolojik moleküllere zarar veren toksik radikallerin oluşumuna neden olur (Ponka, 1999). SNpc'da görülen demir birikiminin Fenton reaksiyonları ile hidroksil radikallerinin oluşumuna yol açarak, oksidatif strese katkıda bulunduğu ve dopaminerjik nöronların ölümünü teşvik ettiği bilinmektedir (Hadzhieva et al., 2014).

Geçmişten günümüze yapılmış *in vivo* postmortem çalışmalar, beyindeki yüksek miktarda demir içeren bölgelerdeki nörodejenerasyon ile PH arasındaki ilişkiyi sabitlemesine rağmen (Berg ve Hochstrasser, 2006; Dexter et al., 1987) demir birikiminin hastalığın bir nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu belirsizliğini korumaktadır. PH'deki demir birikiminin, Parkinson hastalarının beyin hücrelerindeki demir bağlayıcı Transferrin reseptörlerinin aşırı ifade edilmesiyle oluştuğunu savunan bir hipotezi test etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, hücredeki demir regülasyonundan sorumlu Transferrin reseptör yoğunluğunun, Parkinson hastalarının beyindeki SN bölgesinde kontrol grubuna göre yaklaşık %60 oranında azaldığı rapor edilmiştir (Morris et al., 1994). Bu şaşırtıcı sonucu destekler nitelikte bir *in vivo* çalışmada ise, Transferrin demir taşıma proteinin yokluğunda hücrelerdeki demir yoğunluğunun daha fazla olduğu gösterilmiştir (Takeda et al., 1998). Sonuçlar Transferrin taşıyıcı proteini veya Transferrin reseptörü ifadesindeki azalmanın PH patogenezinde rol oynayacak demir birikimine neden olduğu hipotezini ileri sürer.

Ferritin, demirin kontrollü bir şekilde depolaması ve salınmasından sorumlu, canlılar arasında iyi korunmuş ve tüm vücutta bulunan bir hücre içi proteindir. Yapılan çalışmalarda ferritin ve demir arasındaki reaksiyonların, hücredeki oksidatif stresi artırarak lipit peroksidasyonuna neden olan, hidrojen peroksit üretimi ile sonuçlandığını rapor edilmiştir (Yoshida et al., 1995).

1.5.4. Oksidatif stres ve lipit peroksidasyonu

PH gibi nörodejeneratif bozuklukların patogenezinde, metaller ve serbest radikal içeren birikimler önemli rol oynar. Ağır metal kaynaklı oksidatif stres, hücre içerisinde kritik biyolojik moleküllere zarar vererek mitokondriyal disfonksiyon ve serbest kalsiyum tetiklediği enzim reaksiyonlarının sebep olduğu eksitotoksisite gibi hücre ölümüne yol açan bir dizi olayı başlatabilir. Hücre içerisinde artan metal birikimi serbest radikal oluşumunu teşvik ederek, azalmış antioksidan seviyeleri ve oksidatif hasar ile beyin bazı bölgelerine zarar verdiğine dair kanıtlar vardır (Olanow and Arendash, 1994). Yapılan bir çalışma, endojen veya eksojen toksik maddelerin oluşturduğu ROS aktivitesinin, SN dokusunda ölüm anına kadar artan lipit peroksidasyonuna katkıda bulunduğunu belirtmiştir (Dexter et al., 1989).

1.6. Mevcut Terapi Yaklaşımları

PH'nin bilinen kesin bir tedavisi henüz bulunamamıştır. Semptomları tamamen durdurabilecek veya hastalığın ilerlemesini geri çevirebilecek herhangi bir yaklaşım mevcut değildir. PH tedavisinde kullanılan ilaçlar beyindeki dopamin seviyesini artırarak, kaybolan dopaminin etkilerini simüle etmeye yöneliktir.

PH tedavisi, şu anda altın standart olarak anılan levodopa takviyesi ile motor semptomların kontrolüne dayanmaktadır. Ancak uzun süreli ve yüksek dozda levodopa maruziyeti, levodopa kaynaklı diskinezi, yıpranma ve açık-kapalı faz ile karakterize motor komplikasyonlarının gelişimi ile ilişkilidir (Fabbrini et al., 2007). MAO-B inhibitörü olarak davranarak hücreyi oksidatif strese karşı koruyan selegiline, doğrudan bir tedavi etmeni olarak kullanılmanın aksine levodopa ile birlikte levodopanin yan etkilerini azaltıcı takviye ilaç olarak kullanılır (Pålhagen et al., 2006).

Cabergoline gibi oldukça uzun yarılanma ömrüne sahip dopamin reseptörü agonistleri, motor tedavisi için gerekli levodopa dozunu düşürmek veya levodopa kullanımını ertelemek amacıyla tek başına kullanılmasının yanı sıra, daha etkili bir tedavi için levodopa ile birlikte de kullanılabilir. Erken PH'de maruziyetin levodopaya kıyasla motor komplikasyonların gelişiminin %50 oranında daha düşük olduğu gösterilmiştir (Bracco et al., 2004). Bir başka dopamin reseptörü agonisti olan pramipeksolun, levodopa kullanımından bağımsız olarak sürekli motor semptom iyileşmesi göstermiştir. Hatta pramipeksolun tek başına kullanımı, levodopa ile birlikte kullanımından daha fazla iyileşme sağlamıştır (Wong et al., 2003). Bazı hastalarda dopamin reseptörü agonistlerinin, mide bulantısı, kompulsif davranış bozuklukları, halüsinasyon görme, periferik ödem oluşumu ve diskinezi gibi yan etkilerinin görüldüğü bildirilmiştir (Wood, 2010).

Yaygın tedavi yöntemleri dışında PH tedavisine önemli katkı sağlayabilecek adaylar arasında, nöron koruyucu etkisi araştırılmaya devam eden nikotin (Ross ve Petrovitch, 2001), antioksidan bir enzim olan glutatyon peroksidazın etkisini artıran selenyum (Dominiak et al., 2016) peroksidasyonunu engelleyebilecek anti oksidan etkileri iyi bilinen B, C, D, E vitaminleri (Zhao et al., 2019) ile demir birikimine bağlı

dopaminerjik hücrelerin kaybını önlemeyi amaçlayan deferoksamin gibi demir şelatlayıcı bileşikler (Jiang et al., 2006) bulunur.

1.6.1. Bitkisel yaklaşımlar

Günümüzde, PH tedavisinde mevcut ilaçların yan etkilerini azaltacak veya kendilerine olan bağlılığı tamamen ortadan kaldıracak alternatif ilaç denemeleri yapılmakta ve bu çalışmalar içerisinde bitkisel yaklaşımların önemli bir yeri bulunmaktadır. PH tedavisi için etkileri araştırılan bitkilerin bir çoğu, yerel halkların uzun yıllardır geleneksel olarak hastalıkların tedavisinde kullandığı bitkileri de kapsar (de Rus Jacquet et al., 2017b, 2017a). Bu tür bitkisel yaklaşımların odak noktasındaki amaç, PH patogenezinde büyük öneme sahip oksidatif stresi azaltmaktır. Buna ek olarak, azalmış dopamin ve asetilkolin seviyeleri ile mitokondriyal kompleks I aktivitesini iyileştirmek, bitkisel yaklaşımların hedefleri arasındadır. Bu doğrultuda bir çok bitkiden elde edilmiş izolatlar, *in vivo* ve *in vitro* PH modelleri üzerinde çalışmış ve bu bitkilerin, nöron koruyucu etkileri, antioksidan ve antiapoptotik etkileri, beyindeki süperoksit dismutaz, glutasyon, katalaz gibi enzim aktiviteleri ile dopamin ve asetilkolin gibi nörotransmitterlerin seviyelerini artırma kapasiteleri rapor edilmiştir (Rabiei et al., 2019).

Bilinen kesin bir tedavi yöntemi keşfedilememiş PH için bitkisel terapi yöntemleri yeni sayılabilecek, umut verici bir yaklaşımdır. Daha fazla bitkinin PH üzerine etkisi incelenerek mevcut bilgi birikimi artırılmalıdır. Bu amaç doğrultusunda yapmış olduğumuz tez çalışmasında, *Rubus armaniacus*, *Epilobium hirsutum*, *Cornus kousa*, *Diospyros lotus*, *Similax niponica*, ve *Corylus heterophylla* bitki yapraklarından elde edilen izolatların, MPP⁺ ile indüklenmiş, *in vitro* Parkinson modeli üzerindeki, nöron koruyucu etkilerini araştırdık.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

(Ahmad et al., 2006) yaptıkları çalışmada, *Delphinium denudatum* bitkisinden elde ettikleri izolatu, 6-OHDA ile indüklenmiş Parkinson sıçan modeli üzerindeki nöron koruyucu etkisini incelemişlerdir. Test hayvanları 22 gün boyunca 200, 400 ve 600 mg/kg oranında *Delphinium denudatum* izolatu maruz bırakılmıştır. 22. günün sonunda test hayvanlarının sağ striatumlarına 2µl 6-OHDA enjekte edilmiştir. 6-OHDA enjeksiyonlarından 3 hafta sonra incelenen dokularda, dopamin seviyesinde önemli bir azalma ve striatumdaki dopaminerjik reseptör sayısında artış gözlemlenmiştir. Her iki durum da bitki izolatu tedavisi ile önemli ölçüde geri çevrilmiştir. Ayrıca artan lipid peroksidasyonunun ve SN'de azalmış glutatyon aktivitesinin de bitki izolatu tedavisi ile önemli ölçüde iyileştirildiği rapor edilmiştir.

(Zhao et al., 2008) yaptıkları çalışmada, kurutulmuş *Chaenomeles speciosa* meyvesinden elde ettikleri izolatu, 6-OHDA ile indüklenmiş heybeli sıçan ve MPTP ile indüklenmiş fare Parkinson modellerinde, 250, 500 ve 1000 mg/kg konsantrasyon aralığında uygulayarak, DAT regülasyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda *Chaenomeles speciosa* meyvelerinden elde edilen izolatların, DAT'ı sürekli olarak ifade eden heybeli sıçan yumurtalık hücrelerinde, dopamin alımını inhibe ettiğini, ayrıca MPTP ile indüklenmiş fare Parkinson modelinde, SN'deki tirozin hidroksilaz pozitif nöronların kaybını önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuşlardır.

(Shalavadi et al., 2012) yaptıkları çalışmada, Sprague-Dawley sıçanları üzerinde striatal 6-OHDA ile indüklenmiş Parkinson hastalığı modelinde, *Stereospermum chelonoides* yapraklarından elde edilen izolatu nöron koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Test hayvanları, 42 gün boyunca 125, 250 ve 500 mg/kg dozunda *Stereospermum suaveolens* yaprak izolatu ile muamele edilmiştir. Elde edilen sonuçlar davranışsal, kendiliğinden lokomotor aktivite ve kas koordinasyonu üzerinden yorumlanmıştır. *Stereospermum suaveolens* izolatının artan dozu ile doğru orantılı olarak davranışsal aktivitede belirgin artış ve gelişmiş kas koordinasyonu gözlemlenmiştir. Test grubunda, kontrol grubuna göre, anlamlı derecede azalmış lipid peroksidasyonu ve artmış antioksidan enzim seviyeleri rapor edilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

(Seoposengwe et al., 2013) yaptıkları çalışmada, *Lansea schweinfurthii*, *Zanthoxylum capense*, *Scadoxus puniceus* ve *Crinum bulbispermum* bitkilerinden elde edilen izolatların, rotenon ile indüklenmiş SHSY-5Y nöroblastoma hücre hattı ile kurulan Parkinson hastalık modelindeki nöron koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Rotenonun 24 saatlik muameleden sonra hücre için ROS ve glutasyon seviyelerini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Tüm bitki izolatları glutasyon seviyesindeki düşüşü ve rotenon ile indüklenmiş kaspaz-3 aktivasyonunu tolere ederken, *Scadoxus puniceus* ve *Crinum bulbispermum* izolatlarının, rotenonun ROS seviyesi üzerindeki etkisini tersine çevirdiği rapor edilmiştir. *Crinum bulbispermum* izolatının aynı zamanda rotenonun mitokondriyal membran potansiyelini azaltmasına da karşı koyduğu bildirilmiştir.

(de Rus Jacquet et al., 2017a) yaptıkları çalışmada, Kuzey Amerika'daki Pikuni Blackfeet kabilesinde, geleneksel tıpta kullanılan bitkilerin tanımlanmasını, ayrıca hücrel antioksidan yanıtta kritik bir rol oynayabilecek nükleer faktör eritroid 2 (Nrf2) aracılı antioksidan yolağının aktivasyonunu teşvik etme yeteneklerinin anlaşılmasını ve PH'de görülen nöron kaybına karşı koruma sağlamaları açısından karakterize edilmelerini amaçlamışlardır. Her bitki örneği geleneksel yöntemlere sadık kalınarak ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Uzun bir tedavi süresi boyunca her bir izolatın toksik olmayan konsantrasyonunu belirlemek için, SHSY-5Y hücreleri 7 gün boyunca RPMI ortamında hem izolatsız hem de izolat ile birlikte gözlemlenmiştir. Özütlemin nöron koruyucu etkilerinin araştırılması için en düşük toksik konsantrasyonun altındaki bir konsantrasyon seçilmiştir. Nörotoksisite modeli hazırlamak için SHSY-5Y hücreleri rotenon ile muamele edilmiş ve %50 öldüren toksik konsantrasyon (IC₅₀) belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, PH ile ilgili semptomlar dahil olmak üzere çeşitli rahatsızlıkları ve hastalıkları geleneksel olarak tedavi etmek için kullanılan 19 bitkinin karakterizasyonu yapılmıştır. Primer kortikal astrositlerde Nrf2 aracılı transkripsiyon aktivitesini göstermek amacıyla kullanılan 10 bitki izolatından 7'sinin (*Achillea millefolium* yaprakları, *Allium sativum* çiçekleri, *Datura stramonium* yaprakları, *Datura stramonium* kökü, *Filipendula ulmaria* yaprakları ve çiçekleri, *Salvia officinalis* yaprakları ile *Trifolium pratense* çiçekleri) pozitif sonuç verdiği rapor edilmiştir. *Allium sativum* çiçekleri, *Trifolium pratense* çiçekleri ve *Amelanchier arborea* meyvelerinden hazırlanan izolatların, rotenon ile hazırlanmış SHSY-5Y nörotoksisite modelinde nöron koruyucu

2. KAYNAK ÖZETLERİ

etki gösterdiği bildirilmiştir. Son olarak *Allium sativum* çiçek ve *Amelanchier arborea* meyve izolatlarının, dopaminerjik hücre ölümünü azalttığı gözlemlenmiştir.

(de Rus Jacquet et al., 2017b) yaptıkları çalışmada, Kuzey Carolina'daki Lumbee Kabilesinde, geleneksel tıpta kullanılan bitkilerin PH tedavisinde kullanım olanaklarını araştırmışlardır. Yerel halkın önerileri doğrultusunda Kuzey Carolina, Pembroke ve çevre kasabalarından toplanan bitki örneklerinin izolatları, geleneksel yöntemlere sadık kalınarak elde edilmiştir. Özütlelerin, kortikal astrositlerde Nrf2 aracılı antioksidan yolağının aktivasyonunu teşvik etme yetenekleri araştırılmıştır. Nöron koruyucu etkinin analizini de içeren deneyler için Purdue Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi tarafından onaylanan yöntemler kullanılarak, hamile Sprague-Dawley sıçanlarından elde edilen E17 embriyolarının diseksiyonu yoluyla primer orta beyin kültürleri hazırlanmıştır. Deneyler için gerekli nörotoksosite ortamı, primer orta beyin kültürlerine rotenon maruziyeti ve α -sinükleinin mutant formu A53T kodlayan adenovirüs transdüksiyonu ile sağlanmıştır. Çalışma sonucunda, PH ile ilişkili semptomların tedavisinde kullanılan 32 bitki ve diğer hastaların tedavisinde kullanılan 40 bitki ile toplam 72 bitki belgelenmiştir. Özellikle *Sambucus caerulea* çiçeklerinden elde edilen polifenolce zengin bir izolattan, kortikal astrositlerde, iPSC türevi astrositlerde ve primer orta beyin kültürlerinde, ubikuitin proteazom sisteminin aracılık ettiği Nrf2 degradasyonunun inhibisyonu üzerinden Nrf2 aracılı antioksidan yanıtını aktive ettiği ve birincil orta beyin kültürlerinde rotenon ve α -sinüklein ile indüklenen nörotoksositeyi hafiflettiği rapor edilmiştir.

(Silva et al., 2018) yaptıkları çalışmada, deniz yosunlarından elde edilen izolatların, 6-OHDA ile indüklenmiş insan SHSY-5Y nöroblastom toksik modeli üzerindeki nöron koruyucu etkilerini incelemişlerdir. 6-OHDA'nın 10, 30, 100, 300 ve 1000 μ M konsantrasyon aralığında, SHSY-5Y hücreleri ile 12-24 ve 48 saat inkübasyonu sonucunda IC₅₀ değeri 100 μ M olarak belirlenmiştir. Aynı çalışma grubunun daha önceden yapmış olduğu bir nörotoksosite çalışması (Pinteus et al., 2017) ile belirledikleri, 27 deniz yosunu türünden, SHSY-5Y üzerinde nörotoksik etkisi olmadığı gözlemlenmiş 6 deniz yosunu türünün, (*Sargassum muticum*, *Sacchorhiza polyshides*, *Padina pavonica*, *Sargassum muticum*, *Codium tomentosum* ve *Ulva compressa*), nöron koruyucu etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda *Sacchorhiza polyshides*, *Padina pavonica*, *Sargassum*

2. KAYNAK ÖZETLERİ

muticum, *Codium tomentosum* ve *Ulva compressa*'dan elde edilen izolatların, 100 μ M 6-OHDA varlığında hücre yaşayabilirliğini etkin bir şekilde koruduğu rapor edilmiştir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu tez çalışmasının her basamağı, Erzurum Teknik Üniversitesi, Yüksek Teknoloji ve Araştırma Merkezi (YÜTAM) laboratuvarlarında yapılmıştır.

3.1. Kullanılan Materyaller

3.1.1. SHSY-5Y hücre hattı (ATCC® CRL-2266™)

Parkinson toksisite modeli oluşturma amacıyla kullanılmıştır. ATCC® (Amerika Birleşik Devletleri) firmasından temin edilmiştir.

3.1.2. MPP⁺ iyodür

SHSY-5Y (ATCC® CRL-2266™) hücre hattının, Parkinson hastalık modeline dönüştürülmesi amacıyla kullanılmıştır. Sigma-Aldrich® (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.3. Deneyleerde kullanılan bitkiler

Rubus armaniacus, *Epilobium hirsutum*, *Cornus kousa*, *Diospyros lotus*, *Similax niponica*, ve *Corylus heterophylla* bitkilerinin yaprakları, 2018 yılının Temmuz ayında, Erzurum ilinin Tortum ilçesinde bulunan Yedigöller bölgesinden taze olarak toplanmıştır.

3.1.4. Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F12)

SHSY-5Y hücreleri için besiyeri ortamı olarak kullanılmıştır. Gibco® (Amerika Birleşik Devletleri) firmasından temin edilmiştir.

3.1.5. Retinoik asit

SHSY-5Y hücrelerinin nöronal farklılaşmasını uyarması amacıyla besiyeri bileşeni olarak kullanılmıştır. Sigma-Aldrich® (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.6. Fetal bovin serum (FBS)

SHSY-5Y hücrelerinin çoğalmasını teşvik etmesi amacıyla besiyeri bileşeni olarak kullanılmıştır. Gibco® (Amerika Birleşik Devletleri) firmasından temin edilmiştir.

3.1.7. Penisilin/Streptomisin

Antibiyotik bileşen olarak besiyerinde kullanılmıştır. Sigma-Aldrich® (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.8. Fosfat tamponlu tuz (PBS)

Hücrelerin pasajı ve MTT çözeltisi hazırlamak için izotonik tampon çözelti olarak kullanılmıştır. Sigma-Aldrich® (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.9. Tripsin/EDTA

Hücrelerin hasat işlemi için kullanılmıştır. Sigma-Aldrich® (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.10. 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazolyum bromid (MTT)

Hücre canlılık testlerinde kullanılmıştır. Sigma-Aldrich® (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.11. CyQUANT™ LDH cytotoxicity assay

Hücre canlılık testlerinde kullanılmıştır. Thermo Fisher Scientific® (Amerika Birleşik Devletleri) firmasından temin edilmiştir.

3.1.12. Triton™ X-100

Hücre canlılık testlerinde pozitif kontrol için kullanılmıştır. Sigma-Aldrich® (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.13. Dimetil sülfoksit (DMSO)

MTT canlılık testinde, formazan kristallerini çözmek için kullanılmıştır. Sigma-Aldrich® (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.14. Trypan blue

Canlı hücre sayımı için kullanılmıştır. Thermo Fisher Scientific® (Amerika Birleşik Devletleri) firmasından temin edilmiştir.

3.1.15. Total Antioxidant Status (TAS) kiti

Bitki izolatları ile muamele sonrası SHSY-5Y hücrelerindeki toplam antioksidan durumunu ölçmek için kullanılmıştır. Rel Assay Diagnostics (Türkiye) firmasından temin edilmiştir.

3.1.16. Total Oxidant Status (TOS) kiti

Bitki izolatları ile muamele sonrası SHSY-5Y hücrelerindeki toplam oksidan durumunu ölçmek için kullanılmıştır. Rel Assay Diagnostics (Türkiye) firmasından temin edilmiştir.

3.1.17. Annexin V-FITC apoptoz tanı kiti

Akış sitometrisinde apoptoz tayini için kullanılmıştır. Sigma-Aldrich® (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.18. Propidyum iyodür

Akış sitometrisinde hücre canlılığının ölçülmesi için floresan boya olarak kullanılmıştır. Sigma-Aldrich® (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.19. Laminar kabin

Tüm doku kültürü çalışmaları sırasında steril ortam olarak kullanılmıştır. ESCO® (Singapur) firmasının Airstream® Gen 3 model ürünüdür.

3.1.20. CO2 inkübatörü

Hücre kültürünün inkübasyon süreleri boyunca vücut ortamını simüle etmek amacıyla kullanılmıştır. ESCO® (Singapur) firmasının CCL-170B-9 model ürünüdür.

3.1.21. Invert mikroskop

Tripan mavisi ile canlı hücre sayımında, SHSY-5Y hücrelerinin nöronal farklılaşmasını görüntülemeye kullanılmıştır. Leica Microsystems (Almanya) firmasının DFC450C model ürünüdür.

3.1.22. Mikroplaka okuyucu

Hücre canlılık testleri, TAS ve TOS testlerinde kullanılmıştır. BioTek Instruments® (Amerika Birleşik Devletleri) firmasının Epoch™ marka 1. model ürünüdür.

3.1.23. Su banyosu

Hücre kültürüne uygulanacak kimyasalların vücut ısısına ulaştırılmasında kullanılmıştır. Witeg Labortechnik (Almanya) firmasının WB-6 230 V model ürünüdür.

3.1.24. Ultra saf su cihazı

Toplanan bitkilerin ekstraksiyon işleminde kullanılmıştır. Millipore® (Amerika Birleşik Devletleri) firmasının Direct-Q® marka ürünüdür.

3.1.25. Santrifüj cihazı

Hücre hasatı sırasında tripsinin uzaklaştırılması ve akış sitometri analizinde hücrelerin çöktürülmesi işlemlerinde kullanılmıştır. Hettich (Almanya) firmasının UNIVERSAL 320 model ürünüdür.

3.1.26. Analitik terazi

Tez çalışması boyunca gereken madde miktarlarının ölçümünde kullanılmıştır. Shimadzu (Japonya) firmasının ATX 224 model ürünüdür.

3.1.27. Liyofilizatör

Konsantrasyonlarını belirlemek için, bitki izolatlarını liyofilize etme işleminde kullanılmıştır. Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen (Almanya) firmasının Alpha 1-2 LDplus model ürünüdür.

3.1.28. Akış sitometrisi

Hücre ölüm yolaklarının analizi için kullanılmıştır. Sysmex Europe GmbH (Almanya) firmasının CyFlow® Cube 6 marka ürünüdür.

3.2. Uygulanan Yöntemler

3.2.1. Bitki ekstraktlarının elde edilmesi

Rubus armaniacus, *Epilobium hirsutum*, *Cornus kousa*, *Diospyros lotus*, *Similax niponica*, ve *Corylus heterophylla* yaprakları -80 °C’de dondurulduktan sonra havanda ezilip sulandırılmıştır. Bir gece oda sıcaklığında suda bekletildikten sonra santrifüj yapılarak, süpernatant üzerinden liyofilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Liyofilize haldeki izolatlar hassas terazi ile ölçülerek konsantrasyonları belirlenmiştir. İzolatlar, SHSY-5Y hücre kültürlerine uygulanmak üzere 0.40 µm membran filtreden geçirilmiştir.

3.2.2. SHSY-5Y hücre kültürünün hazırlanması

Hücrelerin büyütüleceği besiyeri, %1 penisilin streptomisin, %5 fetal bovin serum ve %94 DMEM/F12 kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri 37°C sıcaklığa getirildikten sonra, 5ml alınarak T25 flask içerisine aktarılmış ve SHSY-5Y hücreleri ekilmiştir. Hücreler flask içerisinde %80 yoğunluğa ulaşana kadar, inkübatörde 37°C ve %5 CO₂ koşullarında inkübe edilmiştir. Her 2 günde bir flasktaki eski besiyeri uzaklaştırılmış, hücre kalıntıları PBS ile yıkanmış ve yeni besiyeri ile inkübasyona devam edilmiştir.

3.2.3. SHSY-5Y hücrelerinde nöronal farklılaşmanın sağlanması

Hücreler %80 yoğunluğa ulaştınca, eski besiyeri ortamdaki uzaklaştırılıp, hücre kalıntıları PBS ile yıkanmıştır. Yeni besiyerine 10 µl retinoik asit eklenerek hücreler tekrar inkübasyona bırakılmıştır. 14 gün boyunca, hücreler bir gün retinoik asit içeren besiyerine diğer gün retinoik asit içermeyen besiyerine maruz bırakılarak nöronal hücre farklılaşmasının sağlanması amaçlanmıştır. Her besiyeri değişikliğinden sonra invert mikroskop ile 10x, 20x ve 40x görüntüleri kaydedilmiştir.

3.2.4. Deneysel *in vitro* Parkinson modelinin oluşturulması

14. günün sonunda farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri, tripsin ile hasat edilerek, 96 kuyucuklu hücre ekim plakasına, her kuyucuğa yaklaşık 104 hücre gelecek şekilde ekim yapılmış ve hücrelere 12, 24, 47, 94, 188, 375, 750 ve 1500 µg/ml konsantrasyon aralığında üçer tekrar halinde, toplam hacim her kuyucuk için 200µl olacak şekilde MPP⁺ iyodür uygulanmıştır. Negatif kontrol kuyucuklarında sadece besiyeri ve hücre bulunurken, pozitif kontrol kuyucuklarına hücre ve besiyerine ek olarak %1 oranında Triton™ X-100 uygulanmıştır. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücrelere canlılık testleri yapılarak, MPP⁺ toksik maddesinin farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerindeki IC₅₀ konsantrasyonu belirlenmiştir

3.2.5. Bitki izolatlarının toksisite Testi

Farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri, tripsin ile hasat edilerek 96 kuyucuklu hücre ekim plakasına, her kuyucuğa yaklaşık 104 hücre gelecek şekilde ekim yapılmış ve hücrelere, üçerli tekrar halinde, 12, 25, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml konsantrasyon aralığında bitki izolatları, her kuyudaki toplam hacim 200µl olacak şekilde uygulanmıştır. Negatif kontrol kuyucuklarında sadece besiyeri ve hücre bulunurken, pozitif kontrol kuyucuklarına hücre ve besiyerine ek olarak %1 oranında Triton™ X-100 uygulanmıştır. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücrelere canlılık testleri yapılarak, bitki izolatlarının hücreler üzerindeki toksik etkisi ölçülmüştür.

3.2.6. Bitki izolatlarının deneysel *in vitro* Parkinson modeline uygulanması

Farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri, tripsin ile hasat edilerek 96 kuyucuklu hücre ekim plakasına, her kuyucuğa yaklaşık 104 hücre gelecek şekilde ekim yapılmış ve hücrelere, daha önceden belirlenmiş IC₅₀ oranında MPP⁺ iyodür uygulanmıştır. Ardından 3, 6, 12, 25, 50, 100 ve 200 µg/ml konsantrasyon aralığında bitki izolatları, her kuyudaki toplam hacim 200µl olacak şekilde üçerli tekrar halinde uygulanmıştır. Negatif kontrol kuyucuklarında sadece besiyeri ve hücre bulunurken, pozitif kontrol kuyucuklarına hücre ve besiyerine ek olarak %1 oranında Triton™ X-100 uygulanmıştır. MPP⁺ kontrol

3. MATERYAL ve YÖNTEM

hücrelerine ise sadece besiyeri ve IC₅₀ konsantrasyonunda MPP⁺ iyodür uygulanmıştır. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücrelere canlılık testleri yapılarak, bitki izolatlarının deneysel *in vitro* Parkinson modelindeki nöron koruyucu etkileri ölçülmüştür.

3.2.7. Hücre canlılık testleri

3.2.7.1. MTT testi

Canlılık testlerinde kullanılan MTT solüsyonu 5 mg/ml olacak şekilde PBS içerisinde çözülerek hazırlanmış, 24 saat sonunda inkübasyon süresi biten hücre ekim plakasının her bir kuyucuğuna, kuyucuktaki toplam hacmin %10'u kadar uygulanmıştır. Daha sonra hücreler tekrardan 37°C ve %5 CO₂ koşullarında 3 saat inkübasyon sürecine bırakılmıştır. 3 saatin sonunda kuyucuklardaki süpernatant uzaklaştırılmış ve kuyucuğun dibine yapışık haldeki formazan kristalleri DMSO kullanılarak çözdürülmüştür. Kuyucuklardan, mikroplaka okuyucu ile 570 ve 630 nm dalga boylarında ölçüm alınmıştır.

3.2.7.2. LDH testi

Canlılık testlerinde kullanılan LDH solüsyonu üretici Thermo Fisher Scientific® (Amerika Birleşik Devletleri) firmasının hazırlanmış olduğu yönergeye göre hazırlanmıştır. 24 saat sonunda inkübasyon süresi biten hücre ekim plakasının her bir kuyucuğundan 50 µl süpernatant yeni bir hücre ekim plakasına aktarılmış, üzerine 50 µl reaksiyon karışımı eklenmiştir. Yarım saat oda sıcaklığındaki karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Ardından her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklenerek, kuyucuklardan mikroplaka okuyucu ile 490 ve 680 nm dalga boylarında ölçüm alınmıştır.

3.2.8. TAS ve TOS testleri

Bitki izolatlarının deneysel *in vitro* Parkinson modeline uygulanmasından elde edilen sonuçlarda, nöron koruyucu etkisi olduğu belirlenmiş olanların, toplam oksidan ve

antioksidan oranları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. TAS testi, örneklerdeki antioksidan içeriğin, koyu mavi-yeşil renkteki 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikalini indirgeyerek, renksiz formuna dönüştürmesi prensibine dayanır. 660nm dalga boyundaki absorbands farkı, örneklerdeki antioksidan seviyesi ile ilişkilidir ve mM Trolox Equiv./L olarak ifade edilmiştir. TOS testi ise, örneklerde bulunan oksidan içeriğin, demirli iyon şelatör kompleksini ferrik iyona okside eder ve ferrik iyon asidik bir ortamda kromojen ile renkli bir kompleks oluşumuna yol açar. 530nm dalga boyunda ölçülen renk yoğunluğu örneklerdeki oksidan madde miktarıyla ilişkilidir ve $\mu\text{M H}_2\text{O}_2$ Equiv/L olarak ifade edilir.

3.2.9. Akış sitometrisi

Bitki izolatları ve MPP⁺ ile 24 saat boyunca inkübe edilen SHSY-5Y hücreleri, tripsin ile hasat edilmiş ve santrifüj yardımıyla çöktürülmüştür. Çöken hücreler 500 μl bağlanma tamponu ile süspanse edildikten sonra, 5 μl Annexin V-FITC ve propidyum iyodür eklenerek, akış sitometrisinde analiz edilmiştir.

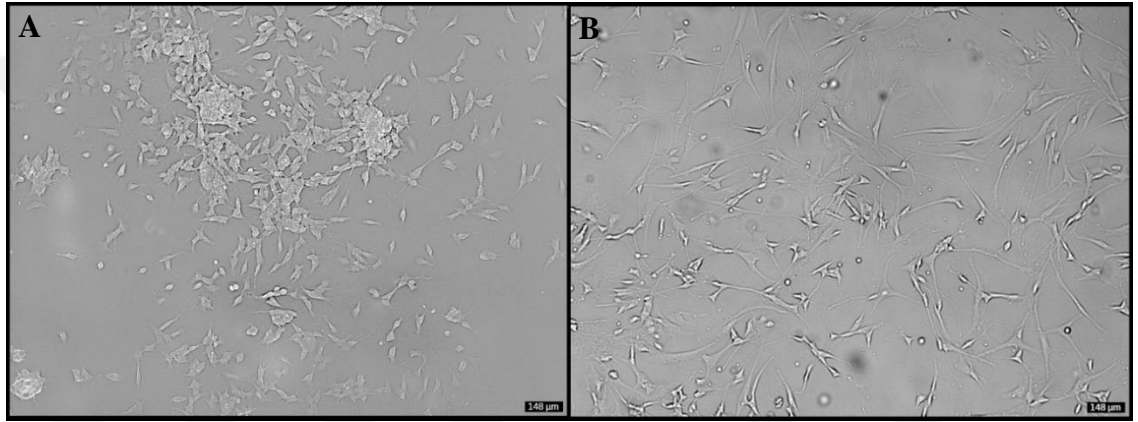
3.2.10. İstatistiksel analizler

Çalışmalardan elde edilen veriler GraphPad Prism® istatistik programı ile analiz edilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler, tek yönlü ANOVA ve Dunnett testleri uygulanarak yapılmıştır. İstatistiksel önemlilik seviyesi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

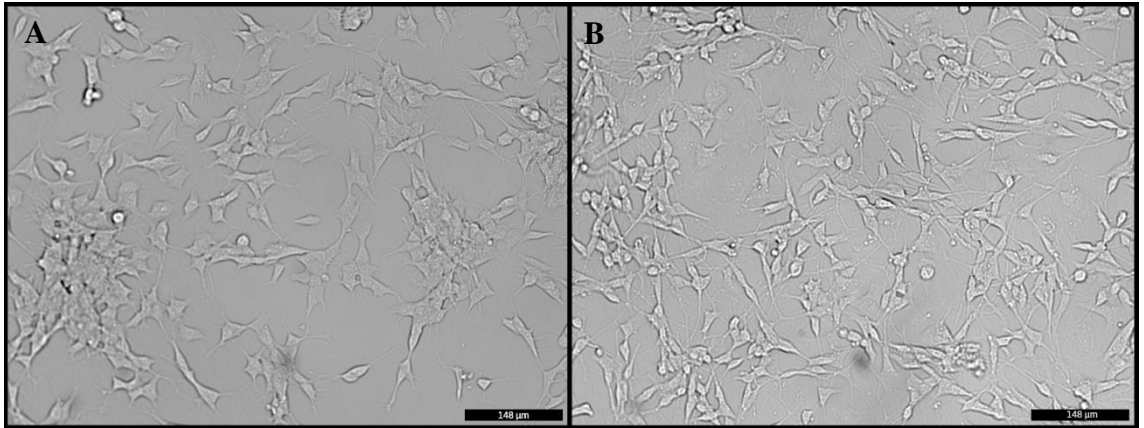
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. SHSY-5Y Hücrelerinin Nöronal Farklılaşması

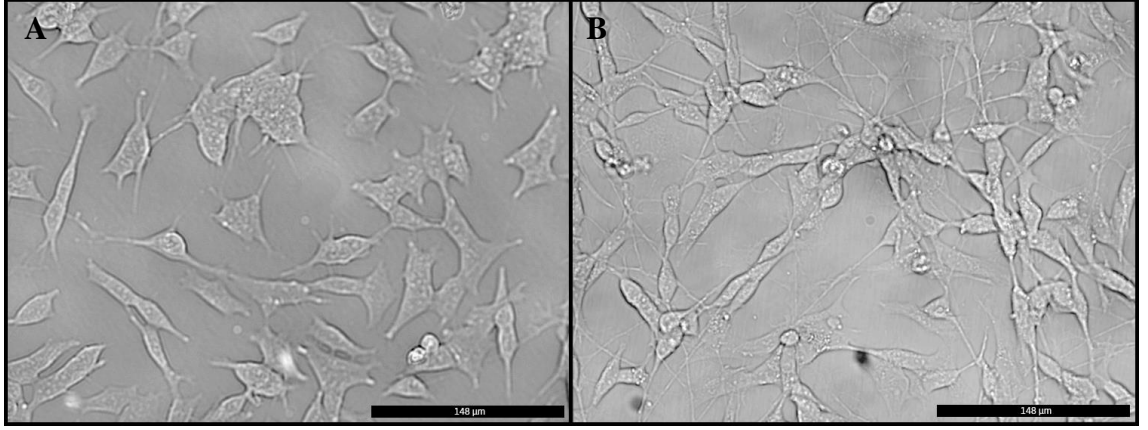
Başlangıçta deltoid şeklinde ve kümeleşmeye meyilli SHSY-5Y hücreleri, 14 gün süren RA maruziyetinden sonra uzayan gövde yapısı geliştirmeye ve kümeleşme davranışından kaçınmaya başlamışlardır. Ayrıca hücreler arasında sayısı giderek artan dentrit benzeri yapıların oluştuğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3).



Şekil 4.1 Normal ve farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin 10x görüntüsü. (A) Normal SHSY-5Y hücreleri. (B) Farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri.



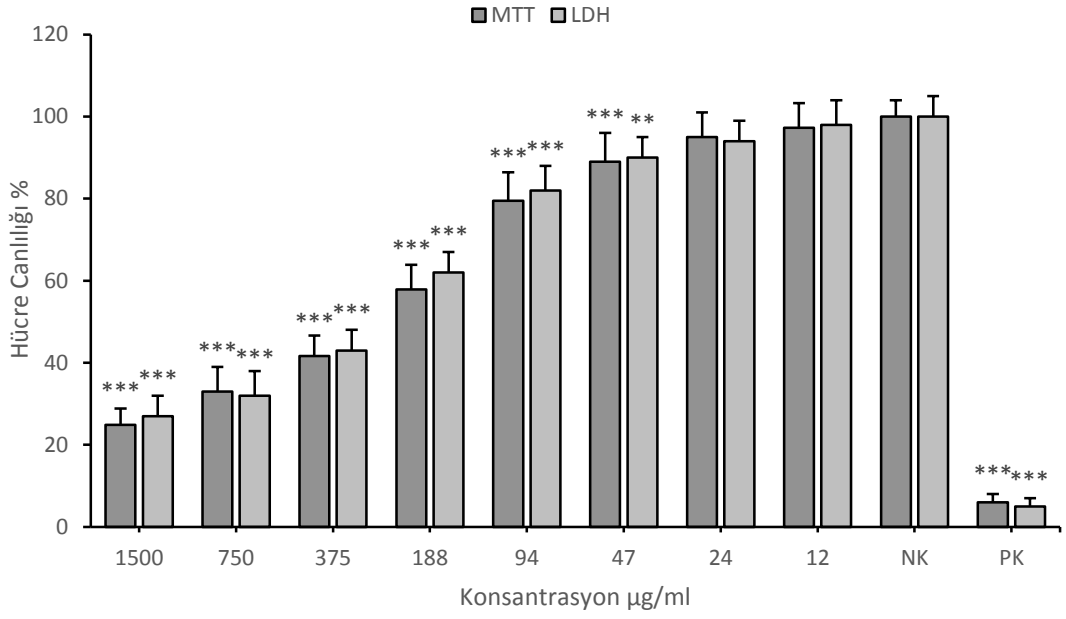
Şekil 4.2 Normal ve farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin 20x görüntüsü. (A) Normal SHSY-5Y hücreleri. (B) Farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri.



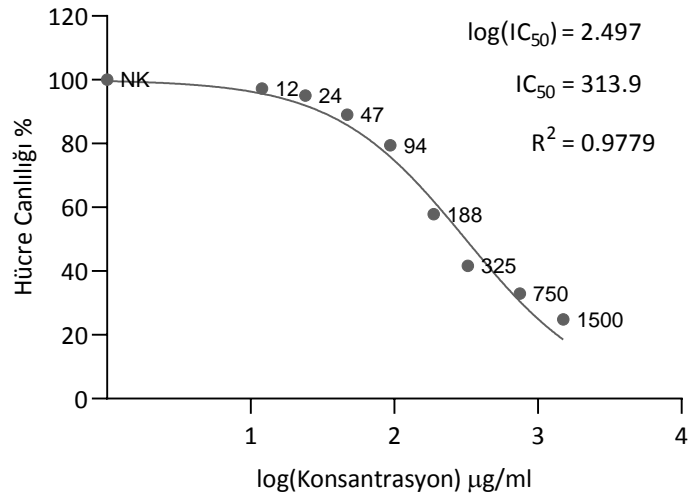
Şekil 4.3 Normal ve farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin 40x görüntüsü. (A) Normal SHSY-5Y hücreleri. (B) Farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri.

4.2. Farklılaşmış SHSY-5Y Hücrelerindeki MPP⁺ Toksisitesi

DeneySEL *in vitro* Parkinson modeli oluşturmak için kullanılacak MPTP'nin toksik metaboliti olan MPP⁺ bileşiğinin IC₅₀ konsantrasyonunu tayin etmek için, daha önceden RA ile farklılaştırılmış SHSY-5Y hücrelerine, 1500, 750, 375, 188, 94, 47, 24 ve 12 µg/ml konsantrasyonlarında MPP⁺ uygulanmış ve 24 saatin sonunda hücre canlılık testleri yapılmıştır (Şekil 4.4). Canlılık testleri sonucunda uygulanan MPP⁺ konsantrasyonlarının logaritmik grafiği oluşturulmuş ve MPP⁺ için IC₅₀ konsantrasyon değeri yaklaşık 300 µg/ml olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.5). Hesaplanan IC₅₀ konsantrasyonu, literatürdeki SHSY-5Y hücrelerindeki MPP⁺ toksisite deneyleri ile uyumluluk göstermektedir (Xicoy et al., 2017).



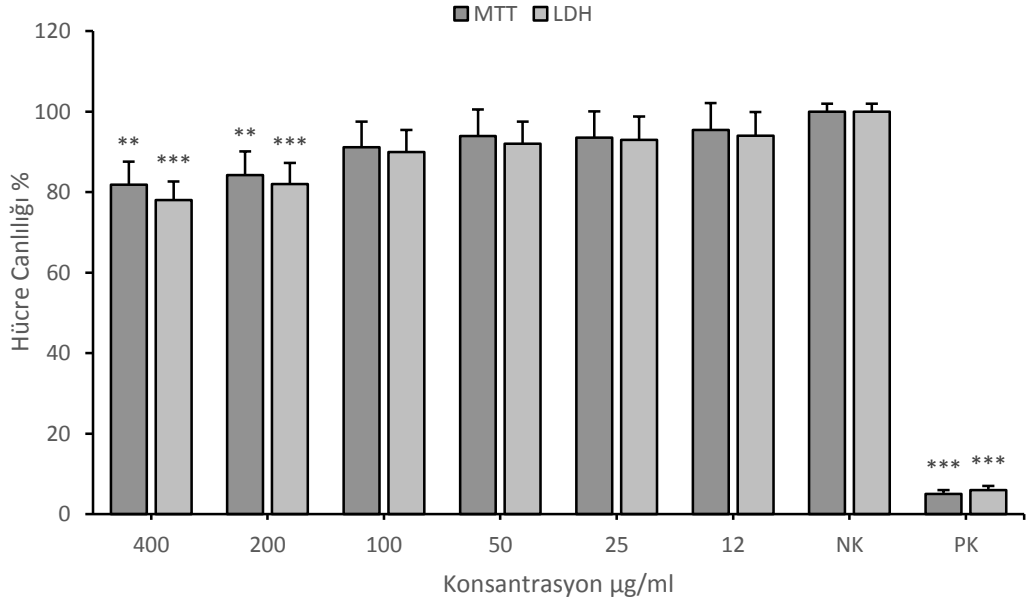
Şekil 4.4 MPP⁺ uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamda büyütülmüş negatif kontrol hücreleri. (PK) % 1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett çoklu kıyaslama testi sonuçların göre negatif kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık ***p<0.001, **p<0.01 ve *p<0.05 olarak gösterilmiştir.



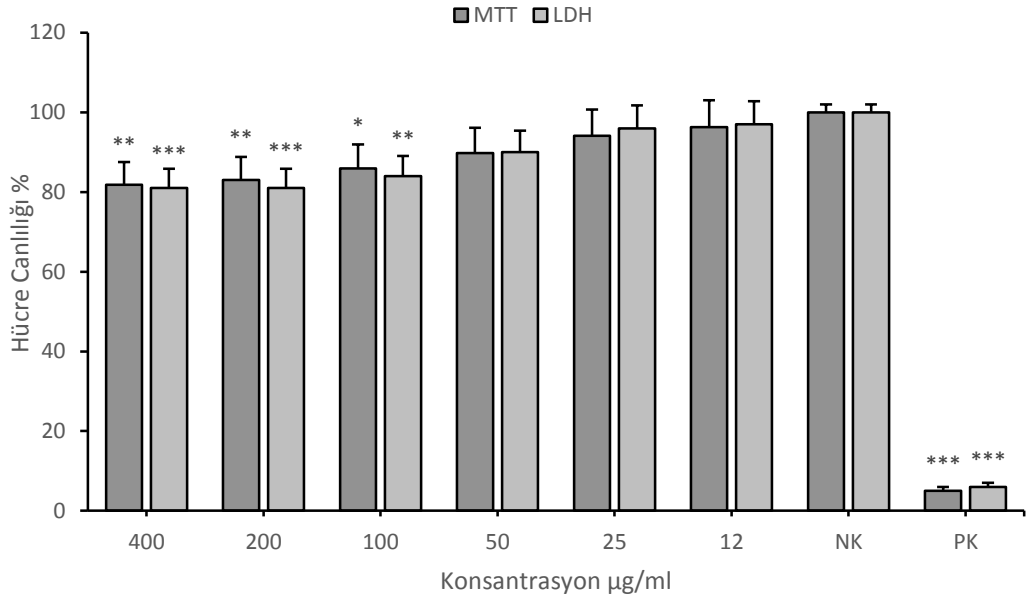
Şekil 4.5 MPP⁺ bileşiğinin logaritmik konsantrasyon grafiği. Çizilen eğrinin konsantrasyon değerlerine uygunluğu $R^2=0.9779$ derecesinde anlamlıdır ve eğri üzerinde, %50 hücre canlılığına karşılık gelen en uygun konsantrasyon olarak, 313.9 µg/ml değeri belirlenmiştir.

4.3. Farklılaşmış SHSY-5Y Hücrelerindeki İzolat Toksisitesi

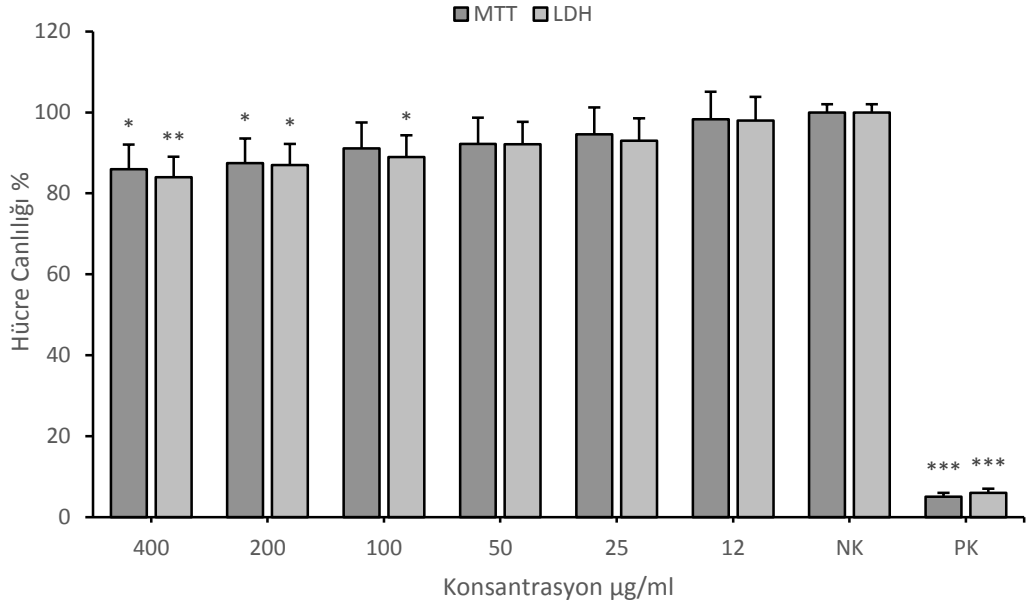
Rubus armaniacus, *Epilobium hirsutum*, *Cornus kousa*, *Diospyros lotus*, *Similax niponica* ve *Corylus heterophylla* bitkilerinden elde ettiğimiz izolatların, farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri üzerindeki toksik etki potansiyellerini incelemek için, her bir bitki izolatu, ayrı ayrı, 400, 200, 100, 50, 25, 12 ve 6 µg/ml konsantrasyon aralığında, 3 tekrarlı olacak şekilde SHSY-5Y hücrelerine uygulanmıştır. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda, hücre canlılık testleri yapılmış ve izolatların farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri üzerindeki toksik etki potansiyelleri istatistiksel olarak incelenmiştir. Bitki izolatlarının artan konsantrasyona bağlı olarak hücre canlılığında azalmaya yol açtığı, ancak hiçbir bitki izolatının 100 µg/ml konsantrasyonun altında toksik etki göstermediği belirlenmiştir.



Şekil 4.6 *Rubus armaniacus* izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre negatif kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ ve * $p < 0.05$ olarak gösterilmiştir.

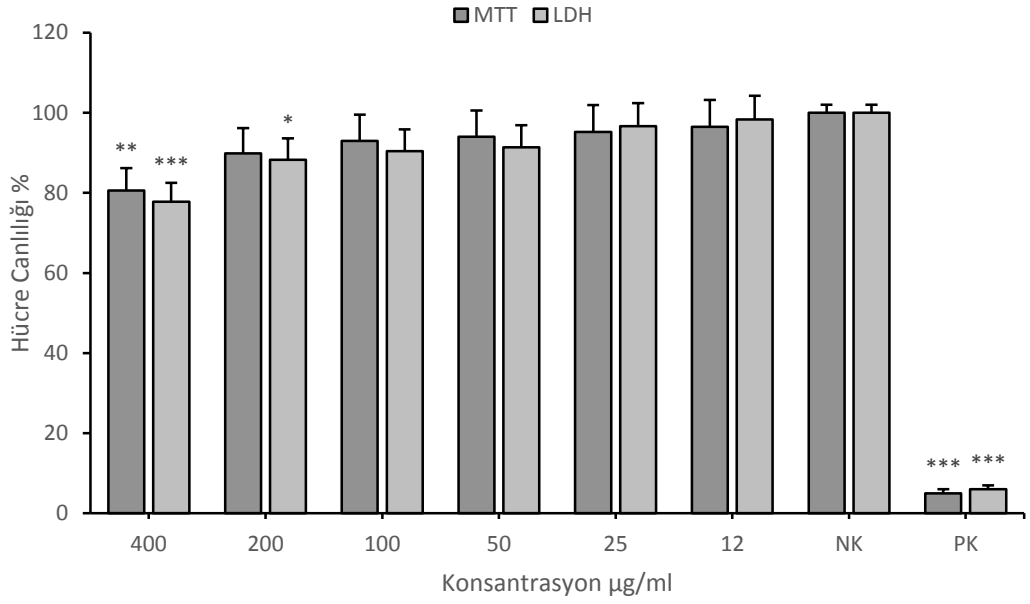


Şekil 4.7 *Epilobium hirsutum* izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre negatif kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ ve * $p < 0.05$ olarak gösterilmiştir.

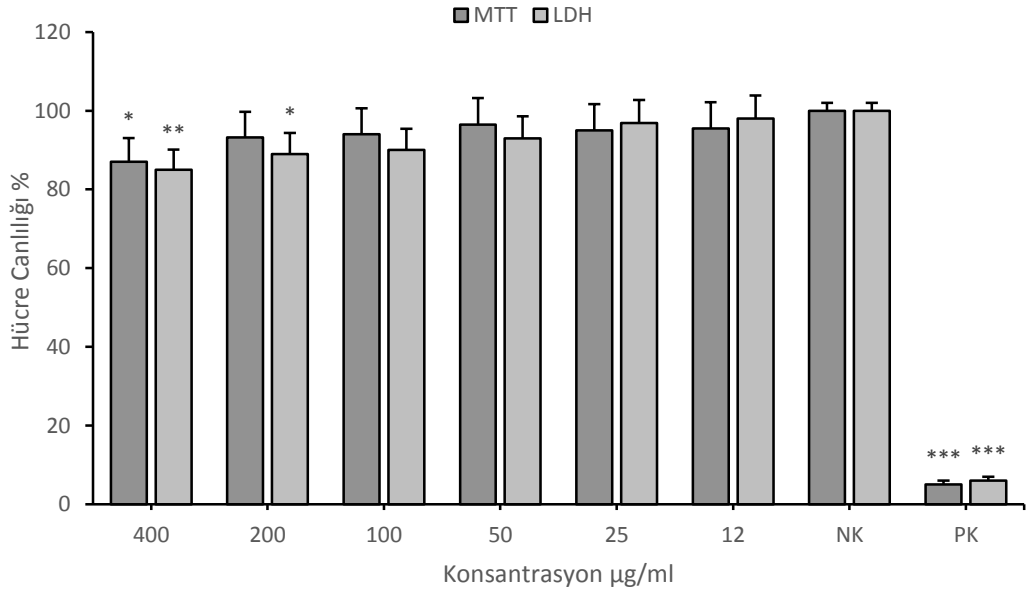


Şekil 4.8 *Cornus kousa* izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre negatif kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ ve * $p < 0.05$ olarak gösterilmiştir.

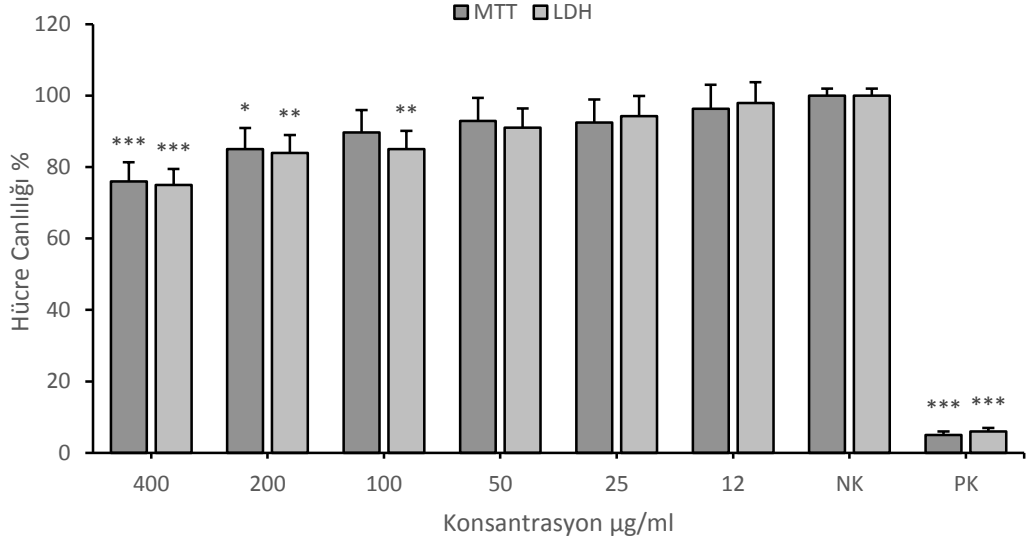
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA



Şekil 4.9 *Diospyros lotus* izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre negatif kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ ve * $p < 0.05$ olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.10 *Similax niponica* izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre negatif kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ ve * $p < 0.05$ olarak gösterilmiştir.

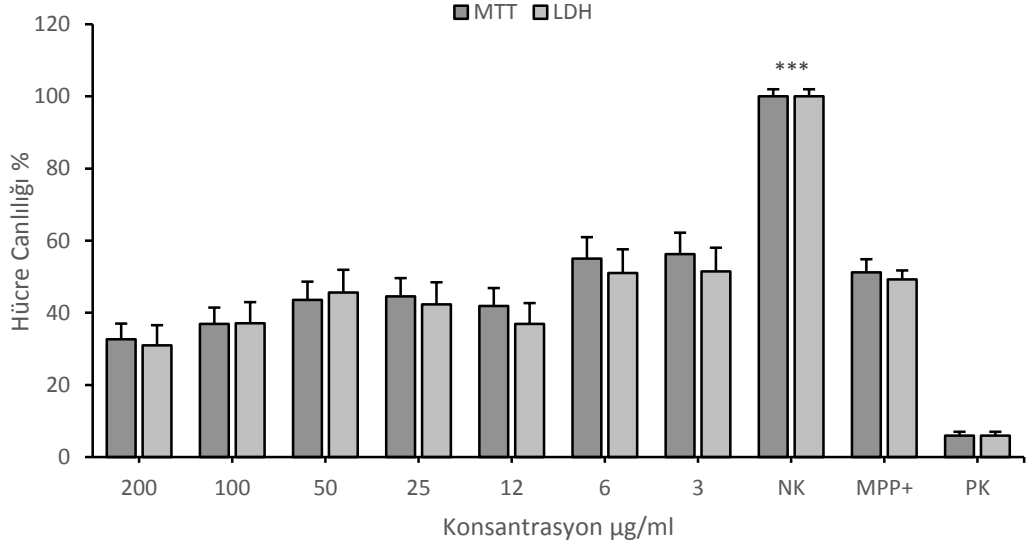


Şekil 4.11 *Corylus heterophylla* izolatu uygulanan farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre negatif kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ ve * $p < 0.05$ olarak gösterilmiştir.

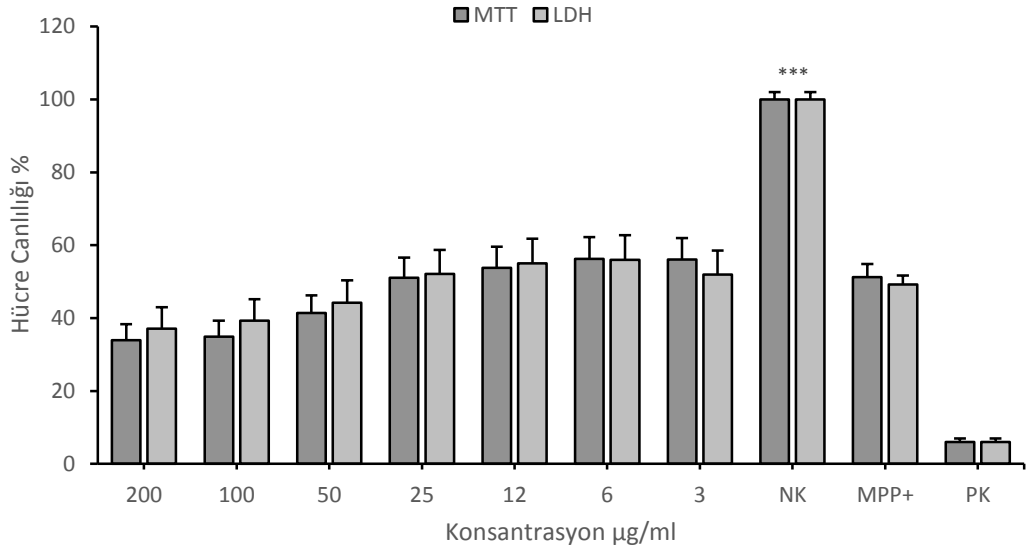
4.4. İzolatların Deneysel *In Vitro* Parkinson Modelindeki Koruyucu Etkileri

Rubus armaniacus, *Epilobium hirsutum*, *Cornus kousa*, *Diospyros lotus*, *Similax niponica* ve *Corylus heterophylla* bitkilerinden elde ettiğimiz izolatların nöron koruyucu etkilerinin araştırılması için, farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri, daha önceden belirlenen IC_{50} konsantrasyonunda (300 µg/ml) MPP^+ bileşiği ile muamele edilmiş ve her bitki izolatından ayrı ayrı, 200, 100, 50, 25, 12, 6 ve 3 µg/ml konsantrasyon aralığında, 3 tekrarlı olacak şekilde SHSY-5Y hücrelerine uygulanmıştır. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda, hücre canlılık testleri yapılmış ve izolatların MPP^+ ile indüklenmiş *in vitro* Parkinson modeli üzerindeki nöron koruyucu etkileri istatistiksel olarak incelenmiştir. Diğer bitki izolatlarının, IC_{50} MPP^+ kontrol grubuna kıyasla, hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olmamalarına karşılık, *Diospyros lotus* izolatının, 12 µg/ml konsantrasyonunda yaklaşık %15 ve 6 µg/ml konsantrasyonunda yaklaşık %10; *Similax niponica* izolatının ise, 12 µg/ml konsantrasyonunda yaklaşık %15 oranında istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$).

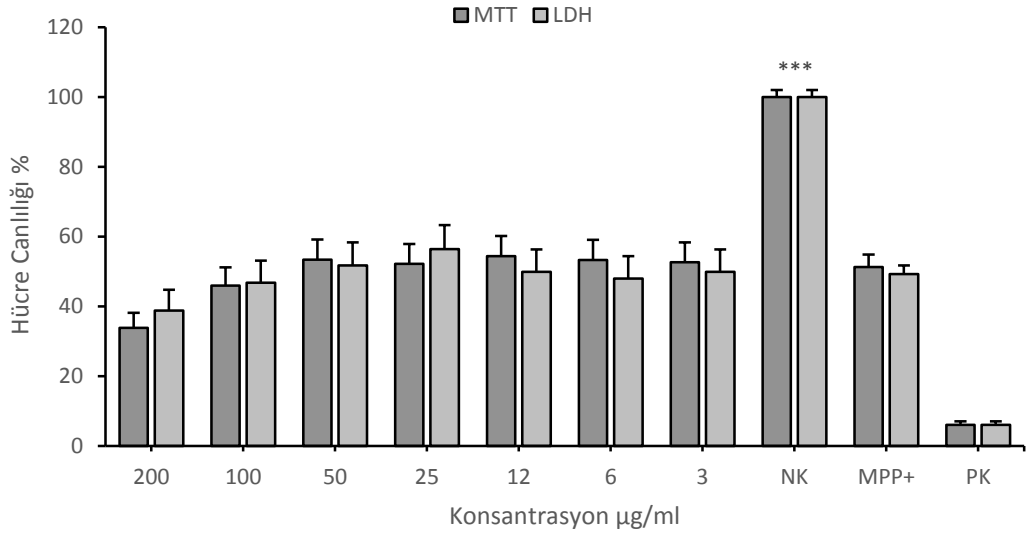
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA



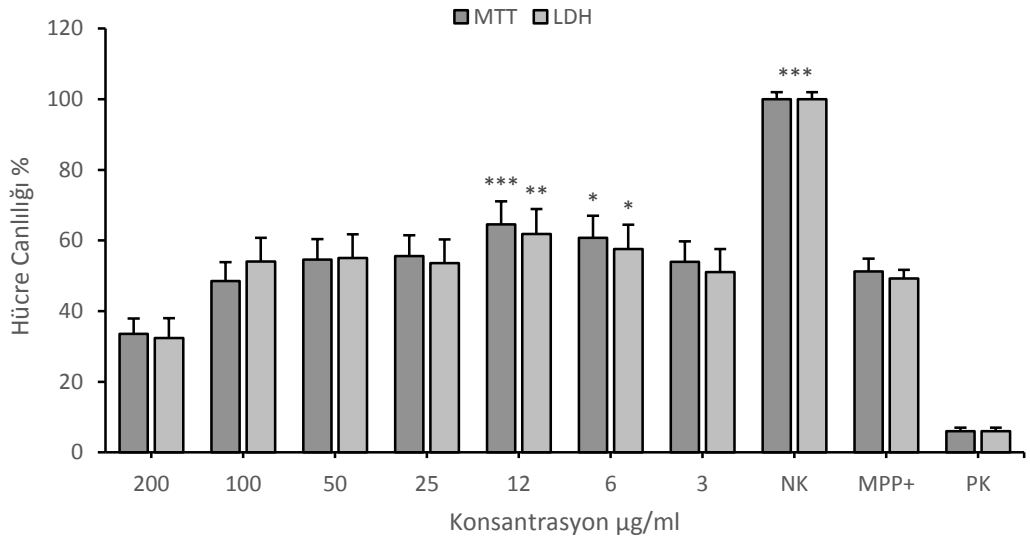
Şekil 4.12 Deneysel *in vitro* Parkinson modelinde *Rubus armaniacus* izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (MPP⁺) 300 µg/ml konsantrasyonunda MPP⁺ uygulanmış kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre MPP⁺ kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık ***p<0.001, **p<0.01 ve *p<0.05 olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.13 Deneysel *in vitro* Parkinson modelinde *Epilobium hirsutum* izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (MPP⁺) 300 µg/ml konsantrasyonunda MPP⁺ uygulanmış kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre MPP⁺ kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık ***p<0.001, **p<0.01 ve *p<0.05 olarak gösterilmiştir.

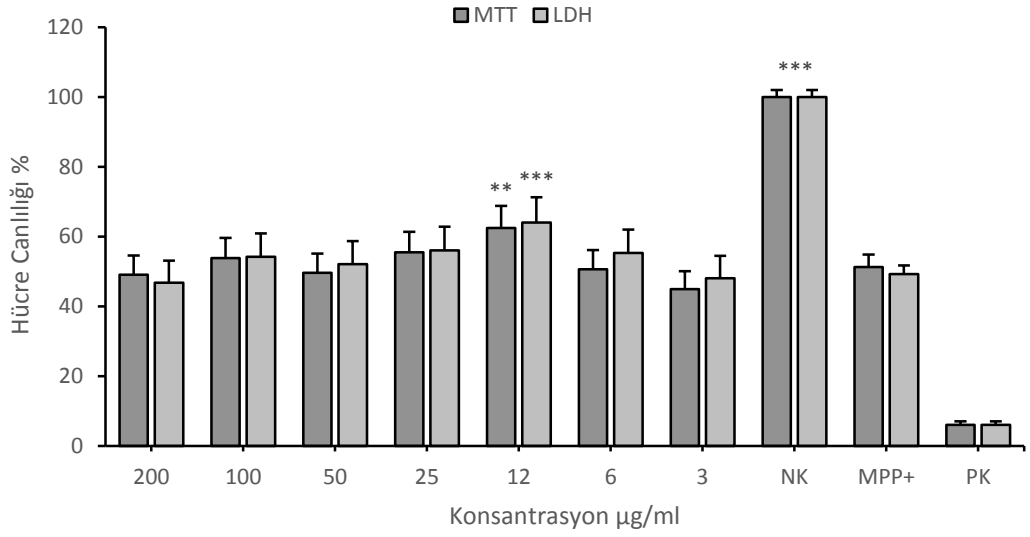


Şekil 4.14 Deneysel *in vitro* Parkinson modelinde *Cornus kousa* izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (MPP⁺) 300 µg/ml konsantrasyonunda MPP⁺ uygulanmış kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre MPP⁺ kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık ***p<0.001, **p<0.01 ve *p<0.05 olarak gösterilmiştir.

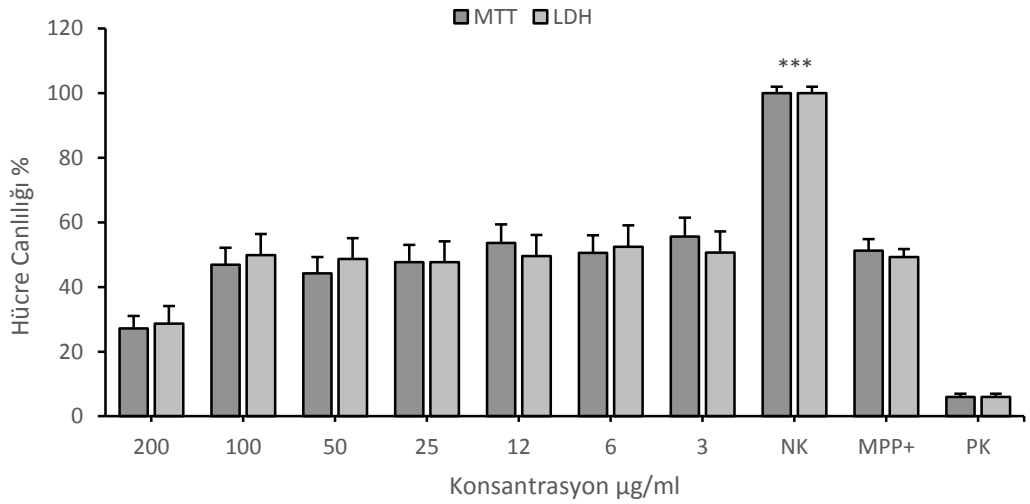


Şekil 4.15 Deneysel *in vitro* Parkinson modelinde *Diospyros lotus* izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (MPP⁺) 300 µg/ml konsantrasyonunda MPP⁺ uygulanmış kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre MPP⁺ kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık ***p<0.001, **p<0.01 ve *p<0.05 olarak gösterilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA



Şekil 4.16 Deneysel *in vitro* Parkinson modelinde *Similax niponica* izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (MPP⁺) 300 µg/ml konsantrasyonunda MPP⁺ uygulanmış kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre MPP⁺ kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık ***p<0.001, **p<0.01 ve *p<0.05 olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.17 Deneysel *in vitro* Parkinson modelinde *Corylus heterophylla* izolatu uygulanan SHSY-5Y hücrelerinin canlılık oranları. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (MPP⁺) 300 µg/ml konsantrasyonunda MPP⁺ uygulanmış kontrol hücreleri. (PK) %1 Triton X-100 ile muamele edilmiş pozitif kontrol hücreleri. Tek yönlü ANOVA ve Dunnett testi sonuçların göre MPP⁺ kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılık ***p<0.001, **p<0.01 ve *p<0.05 olarak gösterilmiştir.

4.5. İzolatların Deneysel *In Vitro* Parkinson Modelindeki TAS ve TOS seviyeleri

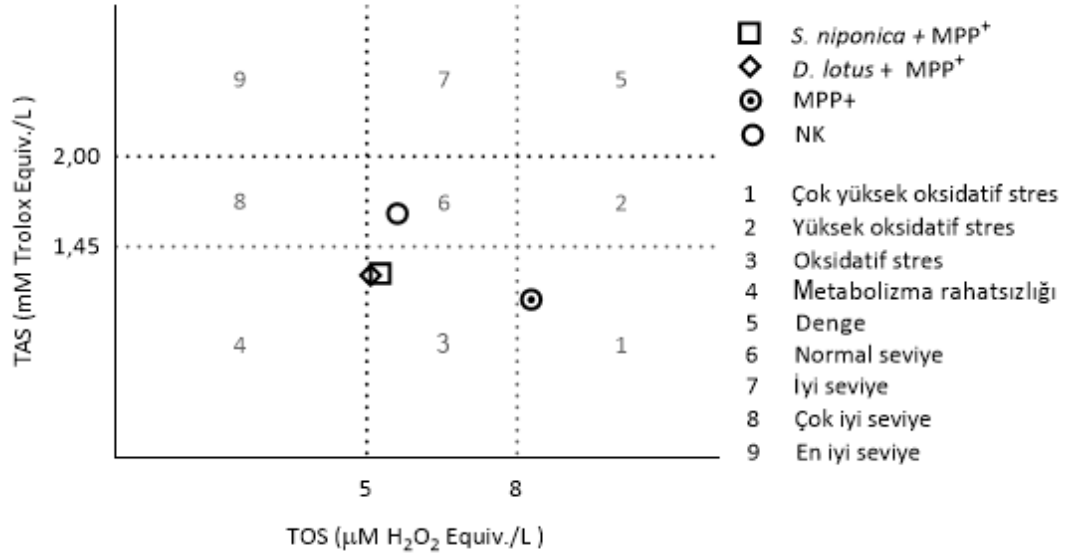
PH'de görülen ROS seviyelerindeki artışın, hücrel makromoleküllere hasar vererek hücre ölümüne neden olduğu düşünülür (Drechsel and Patel, 2008). Deneysel Parkinson modeli oluşturmak için kullandığımız MPP⁺ metaboliti, mitokondride kompleks I inhibitörü olarak davranarak oksidatif fosforilasyonu engellediği ve ROS üretimini artırarak hücreleri apoptoza yönlendirdiği bildirilmiştir (Fall and Bennett, 1999; Lee and Lee, 2011).

MPP⁺ ile indüklenmiş, deneysel *in vitro* Parkinson modelinde nöron koruyucu etkisini gözlemlendiğimiz, *Diospyros lotus* ve *Similax niponica* bitki izolatları, hücrelerdeki oksidan ve antioksidan seviyeleri üzerindeki etkilerini belirlemek adına, IC₅₀ konsantrasyonunda MPP⁺ ile birlikte farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerine 24 saatlik inkübasyon süresince uygulanmıştır. 24 saatin sonunda TAS ve TOS değerleri, Rel Assay Diagnostics (Türkiye) firmasından temin edilmiş kitler ile ölçülmüştür.

MPP⁺'nin negatif kontrol hücrelerine kıyasla, literatüre paralellik göstererek (Fall and Bennett, 1999; Mani et al., 2018), antioksidan seviyelerini önemli derecede düşürdüğü ve oksidan seviyelerini artırdığı belirlenmiştir. Bitki izolatlarının, MPP⁺ kontrol grubuna kıyasla, hücrelerdeki oksidan seviyesini önemli derecede düşürdüğü ancak antioksidan seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.1 Bitki izolatları uygulanan deneysel *in vitro* Parkinson modelindeki TAS ve TOS seviyeleri. MPP⁺ kontrol hücrelerine göre istatistiksel anlamlılık *p<0.05 ile belirtilmiştir.

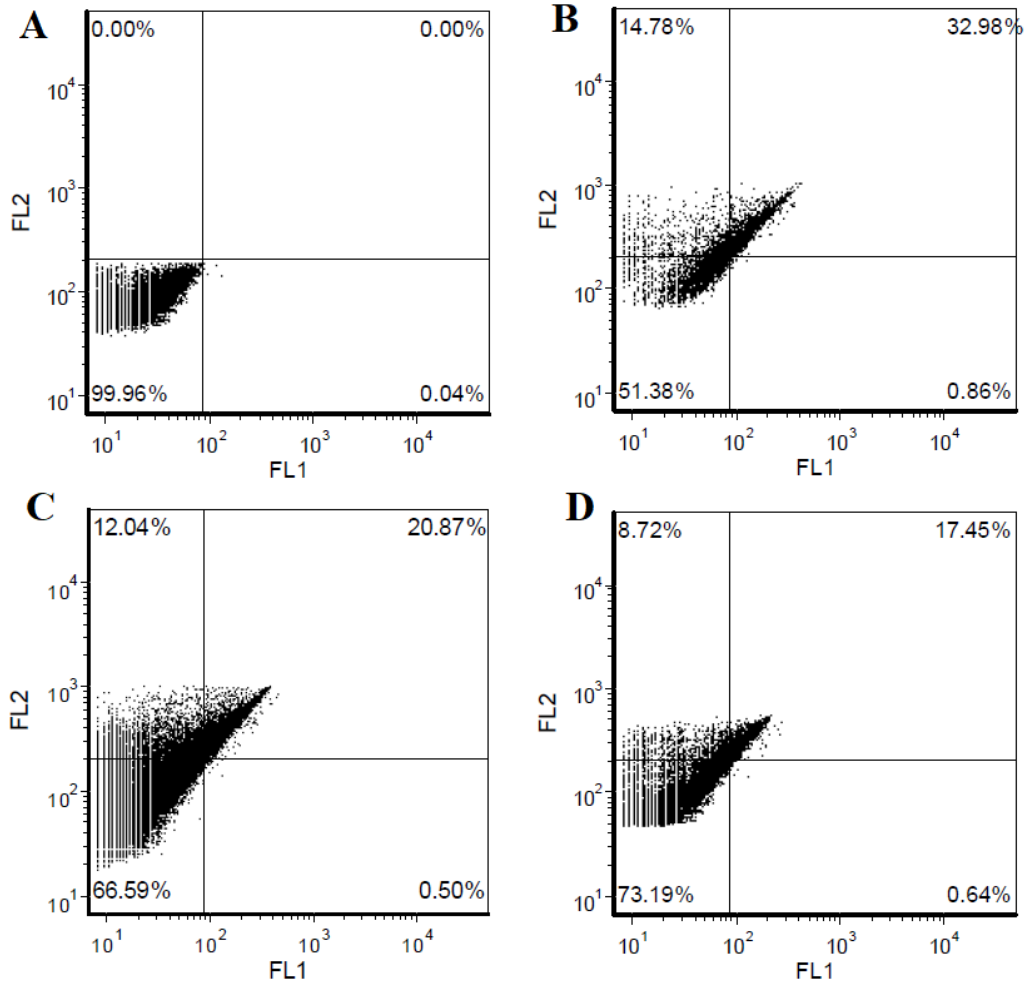
Gruplar	TAS (mM Trolox Equiv./L)	TOS (µM H ₂ O ₂ Equiv./L)
<i>D. lotus</i> + MPP ⁺	1,21±0,08	5,08±0,36 *
<i>S. niponica</i> + MPP ⁺	1,22±0,09	5,27±0,37 *
NK	1,62±0,11 *	5,61±0,39 *
MPP ⁺	1,05±0,07	8,28±0,58



Şekil 4.18 Bitki izolatları uygulanan deneysel *in vitro* Parkinson modelindeki oksidatif stresin değerlendirilmesi. (NK) Sadece besiyeri içeren ortamdaki negatif kontrol hücreleri. (MPP⁺) 300 µg/ml konsantrasyonunda MPP⁺ uygulanmış kontrol hücreleri. Oksidatif stres skalası, kit üreticisinin yönergesine göre hazırlanmıştır (Rel Assay DiagnoSquare®).

4.6. Akış Sitometrisi Analizi

Hücreler 24 saat boyunca IC₅₀ konsantrasyonunda MPP⁺ ile 12 µg/ml konsantrasyonunda *Diospyros lotus* ve *Similax niponica* izolatları ile inkübe edildikten sonra, ölüm yollarının belirlenebilmesi için akış sitometrisi yapılmıştır. Sonuçlar MPP⁺ kontrol grubunun, farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerindeki apoptozu artırdığını ortaya çıkarmıştır. Bu sonuç literatürdeki, MPP⁺'nin sebep olduğu oksidatif stres sonucunda apoptoz yolağını aktifleştirdiğini belirten çalışmalar ile paralellik göstermiştir (Kaul et al., 2003; Sheehan et al., 1997). Ayrıca *Diospyros lotus* ve *Similax niponica* izolatlarının MPP⁺ kontrol grubuna kıyasla apoptozla bağlı ölüm seviyelerini düşürmesi, yapılan hücre canlılık testlerini ve oksidatif stres testlerini doğrular niteliktedir. Bu bitkilerden elde edilen izolatların, farklılaşmış SHSY-5Y hücrelerindeki MPP⁺'nin sebep olduğu oksidatif stresi inhibe ederek, apoptoz aracılı ölüm seviyesinde azalmaya yol açtığı düşünülmektedir.



Şekil 4.19 Akış sitometrisi analizi. (A) Negatif Kontrol. (B) MPP⁺ Kontrol. (C) *Diospyros lotus* izolatu. (D) *Similax niponica* izolatu.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan tez çalışması ile Parkinson hastalığının tedavisinde doğrudan veya tedaviye ek yardımcı bileşen olarak kullanılabilecek, yeni bitkisel yaklaşımların literatüre kazandırılması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda yapılan çalışmalarda, kültüre alınan normal SHSY-5Y hücrelerine 14 gün boyunca RA terapisi uygulanmış ve SHSY-5Y hücrelerinin akson ve dentrit benzeri yapılar geliştirerek, hücre dönüşümüne uğradığı gösterilmiştir (Şekil 4.1 – Şekil 4.3). Farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri MPTP'nin toksik metaboliti olan MPP⁺ organik katyonu ile indüklenerek deneysel *in vitro* Parkinson modeli oluşturulmuş ve MPP⁺ bileşiğinin farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri üzerindeki IC₅₀ toksik konsantrasyonu, literatürdeki benzer çalışmalar ile (Xicoy et al., 2017) paralellik gösterir nitelikte belirlenmiştir (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5). Toksik etkilerinin belirlenebilmesi için, farklılaşmış SHSY-5Y hücreleri, *Rubus armaniacus*, *Epilobium hirsutum*, *Cornus kousa*, *Diospyros lotus*, *Similax niponica* ve *Corylus heterophylla* bitkilerinden elde edilen izolatlar ile 24 saat inkübe edilmiş ve izolatların, tıbbi kullanım için uygun olan dozlarda toksik etki göstermediği belirlenmiştir (Şekil 4.6 – Şekil 4.11). Toksik etki göstermedikleri konsantrasyon aralığındaki nöron koruyucu etkilerinin belirlenmesi için izolatlar, IC₅₀ konsantrasyonunda MPP⁺ ile indüklenmiş deneysel *in vitro* Parkinson modeli ile 24 saat inkübe edilmiş ve canlılık testleri sonucunda, *Diospyros lotus* ve *Similax niponica*, bitki izolatlarının nörokoyucu etki gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 4.15, Şekil 4.16). Parkinson etiyojisinde önemli bir yere sahip oksidatif stres üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla, *Diospyros lotus* ve *Similax niponica*, bitki izolatları ile terapi uygulanan deneysel *in vitro* Parkinson modelinde TAS ve TOS testleri uygulanmış ve izolatların MPP⁺ kontrol grubuna kıyasla, hücrelerde oksidan seviyelerini düşürdüğü, fakat antioksidan seviyesine anlamlı bir katkıda bulunmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.18). Hücrelerin ölüm yolları akış sitometrisi ile incelenmiş ve *Diospyros lotus* ve *Similax niponica* izolatlarının MPP⁺ kontrol grubuna kıyasla apoptoza bağlı ölüm seviyesini, canlılık testleri ve oksidatif stres testleri ile paralellik gösterir nitelikte azalttığı belirlenmiştir (Şekil 4.19).

Tezimizin de dahil olduğu *in vitro* çalışmaları, hastalığın tedavisinde kullanılacak etken maddelerin, canlı sistemlerdeki kan beyin bariyeri ve metabolizma süreci gibi önemli değişkenlerin etkilerini yansıtmayacağı için, bulgularımızın doğrudan hastalık

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

tedavisinde kullanılabilirliği tartışmaya açıktır. Böyle bir durumda, daha ileri teknikler kullanılarak *Diospyros lotus* ve *Similax niponica* bitki izolatlarından elde edilecek etken maddeleri, Parkinson hastalığının tedavisinde, doğrudan veya ana tedaviye ek, yardımcı ajan olarak kullanılabilirliğini belirleyebilmek adına *in vivo* çalışmalar için önermekteyiz.



KAYNAKLAR

- Aarsland, D., Andersen, K., Larsen, J.P., Lolk, A., and Kragh-Sørensen, P. 2003. Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson disease: an 8-year prospective study. *Arch. Neurol.* 60, 387-392.
- Aarsland, D., Andersen, K., Larsen, J.P., Lolk, A., Nielsen, H., and Kragh-Sørensen, P. 2001. Risk of dementia in Parkinson's disease: a community-based, prospective study. *Neurology* 56, 730-736.
- Abbruzzese, G., Marchese, R., Avanzino, L., and Pelosin, E. 2016. Rehabilitation for Parkinson's disease: Current outlook and future challenges. *Parkinsonism Relat. Disord.* 22, S60-S64.
- Abou-Sleiman, P.M., Healy, D.G., and Wood, N.W. 2004. Causes of Parkinson's disease: genetics of DJ-1. *Cell Tissue Res.* 318, 185-188.
- Ahmad, M., Yousuf, S., Khan, M.B., Ahmad, A.S., Saleem, S., Hoda, M.N., and Islam, F. 2006. Protective effects of ethanolic extract of *Delphinium denudatum* in a rat model of Parkinson's disease. *Hum. Exp. Toxicol.* 25, 361-368.
- Baldereschi, M., Di Carlo, A., Rocca, W.A., Vanni, P., Maggi, S., Perissinotto, E., Grigoletto, F., Amaducci, L., and Inzitari, D. 2000. Parkinson's disease and parkinsonism in a longitudinal study: two-fold higher incidence in men. ILSA Working Group. *Italian Longitudinal Study on Aging. Neurology* 55, 1358-1363.
- Beilina, A., Van Der Brug, M., Ahmad, R., Kesavapany, S., Miller, D.W., Petsko, G.A., and Cookson, M.R. 2005. Mutations in PTEN-induced putative kinase 1 associated with recessive parkinsonism have differential effects on protein stability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 5703-5708.
- Berardelli, A., Rothwell, J.C., Thompson, P.D., and Hallett, M. 2001. Pathophysiology of bradykinesia in Parkinson's disease. *Brain* 124, 2131-2146.
- Berg, D., and Hochstrasser, H. 2006. Iron metabolism in Parkinsonian syndromes. *Mov. Disord.* 21, 1299-1310.
- Bermanzohn, P.C., and Siris, S.G. 1992. Akinesia: A syndrome common to parkinsonism, retarded depression, and negative symptoms of schizophrenia. *Compr. Psychiatry* 33, 221-232.
- Bhidayasiri, R., and Tarsy, D. 2012. Parkinson's Disease: Hoehn and Yahr Scale. Bhidayasiri, R., and Tarsy, D. (Ed.), *Movement Disorders: A Video Atlas: A Video Atlas, Current Clinical Neurology.* Humana Press, Totowa, NJ, ss. 4-5.

- Bilgic, B., Pfefferbaum, A., Rohlfing, T., Sullivan, E.V., and Adalsteinsson, E. 2012. MRI Estimates of Brain Iron Concentration in Normal Aging Using Quantitative Susceptibility Mapping. *Neuroimage* 59, 2625-2635.
- Biskup, S., and West, A.B. 2009. Zeroing in on LRRK2-linked pathogenic mechanisms in Parkinson's disease. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis., Parkinson's Disease* 1792, 625-633.
- Błaszczak, J.W., Orawiec, R., Duda-Kłodowska, D., and Opala, G. 2007. Assessment of postural instability in patients with Parkinson's disease. *Exp. Brain Res.* 183, 107-114.
- Bonifati, V., Rizzu, P., van Baren, M.J., Schaap, O., Breedveld, G.J., Krieger, E., Dekker, M.C.J., Squitieri, F., Ibanez, P., Joosse, M., van Dongen, J.W., Vanacore, N., van Swieten, J.C., Brice, A., Meo, G., van Duijn, C.M., Oostra, B.A., and Heutink, P. 2003. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science* 299, 256-259.
- Bonini, N.M., and Giasson, B.I. 2005. Snaring the function of alpha-synuclein. *Cell* 123, 359-361.
- Bracco, F., Battaglia, A., Chouza, C., Dupont, E., Gershanik, O., Masso, J.F.M., Montastruc, J.-L., and PKDS009 2004. The Long-Acting Dopamine Receptor Agonist Cabergoline in Early Parkinson's Disease. *CNS Drugs* 18, 733-746.
- Broen, M.P.G., Narayan, N.E., Kuijf, M.L., Dissanayaka, N.N.W., and Leentjens, A.F.G. 2016. Prevalence of anxiety in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Mov. Disord.* 31, 1125-1133.
- Cabin, D.E., Shimazu, K., Murphy, D., Cole, N.B., Gottschalk, W., McIlwain, K.L., Orrison, B., Chen, A., Ellis, C.E., Paylor, R., Lu, B., and Nussbaum, R.L. 2002. Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking alpha-synuclein. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 22, 8797-8807.
- Calderón-Garcidueñas, L., Solt, A.C., Henríquez-Roldán, C., Torres-Jardón, R., Nuse, B., Herritt, L., Villarreal-Calderón, R., Osnaya, N., Stone, I., García, R., Brooks, D.M., González-Maciel, A., Reynoso-Robles, R., Delgado-Chávez, R., and Reed, W. 2008. Long-term air pollution exposure is associated with neuroinflammation, an altered innate immune response, disruption of the blood-brain barrier, ultrafine particulate deposition, and accumulation of amyloid beta-42 and alpha-synuclein in children and young adults. *Toxicol. Pathol.* 36, 289-310.
- Charcot, J.M. 1886. *Lecons sur, les maladies du système nerveux.* Lecrosnier et Babé.
- Chaudhuri, K.R., and Naidu, Y. 2008. Early Parkinson's disease and non-motor issues. *J. Neurol.* 255 Suppl 5, 33-38.

- Ciechanover, A., and Brundin, P. 2003. The ubiquitin proteasome system in neurodegenerative diseases: sometimes the chicken, sometimes the egg. *Neuron* 40, 427-446.
- Cummings, J.L. 1992. Depression and Parkinson's disease: a review. *Am. J. Psychiatry* 149, 443-454.
- Daugherty, A., and Raz, N. 2013. Age-Related Differences in Iron Content of Subcortical Nuclei Observed in vivo: A Meta-Analysis. *NeuroImage* 70, 113-121.
- Davidson, W.S., Jonas, A., Clayton, D.F., and George, J.M. 1998. Stabilization of alpha-synuclein secondary structure upon binding to synthetic membranes. *J. Biol. Chem.* 273, 9443-9449.
- de Rus Jacquet, A., Tambe, M.A., Ma, S.Y., McCabe, G.P., Vest, J.H.C., and Rochet, J.-C. 2017a. Pikuni-blackfeet traditional medicine: neuroprotective activities of medicinal plants used to treat parkinson's disease-related symptoms. *J. Ethnopharmacol.* 206, 393-407.
- de Rus Jacquet, A., Timmers, M., Ma, S.Y., Thieme, A., McCabe, G.P., Vest, J.H.C., Lila, M.A., and Rochet, J.-C. 2017b. Lumbee traditional medicine: Neuroprotective activities of medicinal plants used to treat Parkinson's disease-related symptoms. *J. Ethnopharmacol.* 206, 408-425.
- Deuschl, G., Raethjen, J., Baron, R., Lindemann, M., Wilms, H., and Krack, P. 2000. The pathophysiology of parkinsonian tremor: a review. *J. Neurol.* 247 Suppl 5, V33-48.
- Dexter, D.T., Carter, C.J., Wells, F.R., Javoy- Agid, F., Agid, Y., Lees, A., Jenner, P., and Marsden, C.D. 1989. Basal Lipid Peroxidation in Substantia Nigra Is Increased in Parkinson's Disease. *J. Neurochem.* 52, 381-389.
- Dexter, D.T., and Jenner, P. 2013. Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms. *Free Radic. Biol. Med.* 62, 132-144.
- Dexter, D.T., Wells, F.R., Agid, F., Agid, Y., Lees, A.J., Jenner, P., and Marsden, C.D. 1987. Increased nigral iron content in postmortem parkinsonian brain. *Lancet Lond. Engl.* 2, 1219-1220.
- Dinis-Oliveira, R.J., Remião, F., Carmo, H., Duarte, J.A., Navarro, A.S., Bastos, M.L., and Carvalho, F. 2006. Paraquat exposure as an etiological factor of Parkinson's disease. *NeuroToxicology* 27, 1110-1122.
- Dissanayaka, N.N.N.W., White, E., O'Sullivan, J.D., Marsh, R., Pachana, N.A., and Byrne, G.J. 2014. The clinical spectrum of anxiety in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 29, 967-975.

- Dominiak, A., Wilkaniec, A., Wroczyński, P., and Adamczyk, A. 2016. Selenium in the Therapy of Neurological Diseases. Where is it Going? *Curr. Neuropharmacol.* 14, 282-299.
- Drechsel, D.A., and Patel, M. 2008. Role of reactive oxygen species in the neurotoxicity of environmental agents implicated in Parkinson's disease. *Free Radic. Biol. Med.* 44, 1873-1886.
- Driver, J.A., Logroscino, G., Gaziano, J.M., and Kurth, T. 2009. Incidence and remaining lifetime risk of Parkinson disease in advanced age. *Neurology* 72, 432-438.
- Duda, J.E., Shah, U., Arnold, S.E., Lee, V.M.-Y., and Trojanowski, J.Q. 1999. The Expression of α -, β -, and γ -Synucleins in Olfactory Mucosa from Patients with and without Neurodegenerative Diseases. *Exp. Neurol.* 160, 515-522.
- Ebersbach, G., Baas, H., Csoti, I., Müngersdorf, M., and Deuschl, G. 2006. Scales in Parkinson's disease. *J. Neurol.* 253 Suppl 4, IV32-35.
- Elble, R.J. 2017. Tremor. Touse, B., and Cummings, J. (Ed.), *Neuro-Geriatrics: A Clinical Manual*. Springer International Publishing, Cham, ss. 311-326.
- Esteves, A.R., Arduño, D.M., Silva, D.F.F., Oliveira, C.R., and Cardoso, S.M. 2011. Mitochondrial Dysfunction: The Road to Alpha-Synuclein Oligomerization in PD [WWW Document]. *Park. Dis.*
- Fabbrini, G., Brotchie, J.M., Grandas, F., Nomoto, M., and Goetz, C.G. 2007. Levodopa-induced dyskinesias. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 22, 1379-1389; quiz 1523.
- Fall, C.P., and Bennett, J.P. 1999. Characterization and time course of MPP⁺-induced apoptosis in human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *J. Neurosci. Res.* 55, 620-628.
- Friedman, A., Galazka-Friedman, J., and Kozirowski, D. 2009. Iron as a cause of Parkinson disease – a myth or a well established hypothesis? *Parkinsonism Relat. Disord.*, Proceedings of WFN XVIII World Congress on Parkinson's Disease and Related Disorders 15, S212-S214.
- Gelmetti, V., Ferraris, A., Brusa, L., Romano, F., Lombardi, F., Barzaghi, C., Stanzione, P., Garavaglia, B., Dallapiccola, B., and Valente, E.M. 2008. Late onset sporadic Parkinson's disease caused by PINK1 mutations: clinical and functional study. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 23, 881-885.
- George, J.M. 2002. The synucleins. *Genome Biol.* 3, reviews3002.1-reviews3002.6.
- Gómez-Esteban, J.C., Zarranz, J.J., Lezcano, E., Tijero, B., Luna, A., Velasco, F., Rouco, I., and Garamendi, I. 2007. Influence of motor symptoms upon the quality of life of patients with Parkinson's disease. *Eur. Neurol.* 57, 161-165.

- Gorell, J.M., Johnson, C.C., Rybicki, B.A., Peterson, E.L., and Richardson, R.J. 1998. The risk of Parkinson's disease with exposure to pesticides, farming, well water, and rural living. *Neurology* 50, 1346-1350.
- Hadzhieva, M., Kirches, E., and Mawrin, C. 2014. Review: iron metabolism and the role of iron in neurodegenerative disorders. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 40, 240-257.
- Harrington, K.A., Augood, S.J., Kingsbury, A.E., Foster, O.J.F., and Emson, P.C. 1996. Dopamine transporter (DAT) and synaptic vesicle amine transporter (VMAT2) gene expression in the substantia nigra of control and Parkinson's disease. *Mol. Brain Res.* 36, 157-162.
- Hatano, Y., Li, Y., Sato, K., Asakawa, S., Yamamura, Y., Tomiyama, H., Yoshino, H., Asahina, M., Kobayashi, S., Hassin-Baer, S., Lu, C.-S., Ng, A.R., Rosales, R.L., Shimizu, N., Toda, T., Mizuno, Y., and Hattori, N. 2004. Novel PINK1 mutations in early-onset parkinsonism. *Ann. Neurol.* 56, 424-427.
- Hayashi, T., Ishimori, C., Takahashi-Niki, K., Taira, T., Kim, Y., Maita, H., Maita, C., Ariga, H., and Iguchi-Ariga, S.M.M. 2009. DJ-1 binds to mitochondrial complex I and maintains its activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 390, 667-672.
- Hernán, M.A., Takkouche, B., Caamaño-Isorna, F., and Gestal-Otero, J.J. 2002. A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 52, 276-284.
- Hirsch, E.C., Graybiel, A.M., and Agid, Y. 1989. Selective vulnerability of pigmented dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Acta Neurol. Scand. Suppl.* 126, 19-22.
- Hirsch, L., Jette, N., Frolkis, A., Steeves, T., and Pringsheim, T. 2016. The Incidence of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroepidemiology* 46, 292-300.
- Hughes, A.J., Daniel, S.E., Blankson, S., and Lees, A.J. 1993. A clinicopathologic study of 100 cases of Parkinson's disease. *Arch. Neurol.* 50, 140-148.
- Hurtig, H.I., Trojanowski, J.Q., Galvin, J., Ewbank, D., Schmidt, M.L., Lee, V.M., Clark, C.M., Glosser, G., Stern, M.B., Gollomp, S.M., and Arnold, S.E. 2000. Alpha-synuclein cortical Lewy bodies correlate with dementia in Parkinson's disease. *Neurology* 54, 1916-1921.
- Iwatsubo, T., Yamaguchi, H., Fujimuro, M., Yokosawa, H., Ihara, Y., Trojanowski, J.Q., and Lee, V.M. 1996. Purification and characterization of Lewy bodies from the brains of patients with diffuse Lewy body disease. *Am. J. Pathol.* 148, 1517-1529.
- Jankovic, J. 2008. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 79, 368-376.

- Jiang, H., Luan, Z., Wang, J., and Xie, J. 2006. Neuroprotective effects of iron chelator Desferal on dopaminergic neurons in the substantia nigra of rats with iron-overload. *Neurochem. Int.* 49, 605-609.
- Kaul, S., Kanthasamy, A., Kitazawa, M., Anantharam, V., and Kanthasamy, A.G. 2003. Caspase-3 dependent proteolytic activation of protein kinase C δ mediates and regulates 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺)-induced apoptotic cell death in dopaminergic cells: relevance to oxidative stress in dopaminergic degeneration. *Eur. J. Neurosci.* 18, 1387-1401.
- Kim, S.D., Allen, N.E., Canning, C.G., and Fung, V.S.C. 2013. Postural Instability in Patients with Parkinson's Disease. *CNS Drugs* 27, 97-112.
- Klamroth, S., Steib, S., Devan, S., and Pfeifer, K. 2016. Effects of Exercise Therapy on Postural Instability in Parkinson Disease: A Meta-analysis. *J. Neurol. Phys. Ther. JNPT* 40, 3-14.
- Kowall, N.W., Hantraye, P., Brouillet, E., Beal, M.F., McKee, A.C., and Ferrante, R.J. 2000. MPTP induces alpha-synuclein aggregation in the substantia nigra of baboons. *Neuroreport* 11, 211-213.
- Koziorowski, D., Hoffman-Zacharska, D., Sławek, J., Szirkowiec, W., Janik, P., Bal, J., and Friedman, A. 2010. Low frequency of the PARK2 gene mutations in Polish patients with the early-onset form of Parkinson disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 16, 136-138.
- Kumagai, T., Nagayama, H., Ota, T., Nishiyama, Y., Mishina, M., and Ueda, M. 2014. Sex differences in the pharmacokinetics of levodopa in elderly patients with Parkinson disease. *Clin. Neuropharmacol.* 37, 173-176.
- Langston, J.W., Ballard, P., Tetrud, J.W., and Irwin, I. 1983. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 219, 979-980.
- Lee, D.-H., and Lee, Y.J. 2011. Astaxanthin protects against MPTP/MPP⁺-induced mitochondrial dysfunction and ROS production in vivo and in vitro. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 49, 271-280.
- Lee, Y.H., Cha, J., Chung, S.J., Yoo, H.S., Sohn, Y.H., Ye, B.S., and Lee, P.H. 2019. Beneficial effect of estrogen on nigrostriatal dopaminergic neurons in drug-naïve postmenopausal Parkinson's disease. *Sci. Rep.* 9, (1), 1-9.
- Lotharius, J., Barg, S., Wiekop, P., Lundberg, C., Raymon, H.K., and Brundin, P. 2002. Effect of mutant alpha-synuclein on dopamine homeostasis in a new human mesencephalic cell line. *J. Biol. Chem.* 277, 38884-38894.
- Lotharius, J., and Brundin, P. 2002. Impaired dopamine storage resulting from alpha-synuclein mutations may contribute to the pathogenesis of Parkinson's disease. *Hum. Mol. Genet.* 11, 2395-2407.

- Lu, J.Y.D., Su, P., Barber, J.E.M., Nash, J.E., Le, A.D., Liu, F., and Wong, A.H.C. 2017. The neuroprotective effect of nicotine in Parkinson's disease models is associated with inhibiting PARP-1 and caspase-3 cleavage. *PeerJ* 5.
- Lücking, C.B., Dürr, A., Bonifati, V., Vaughan, J., De Michele, G., Gasser, T., Harhangi, B.S., Meco, G., Denèfle, P., Wood, N.W., Agid, Y., Nicholl, D., Breteler, M.M.B., Oostra, B.A., De Mari, M., Marconi, R., Filla, A., Bonnet, A.-M., Broussolle, E., Pollak, P., Rascol, O., Rosier, M., Arnould, A., and Brice, A. 2000. Association between Early-Onset Parkinson's Disease and Mutations in the Parkin Gene. *N. Engl. J. Med.* 342, 1560-1567.
- Ma, S.Y., Ciliax, B.J., Stebbins, G., Jaffar, S., Joyce, J.N., Cochran, E.J., Kordower, J.H., Mash, D.C., Levey, A.I., and Mufson, E.J. 1999a. Dopamine transporter-immunoreactive neurons decrease with age in the human substantia nigra. *J. Comp. Neurol.* 409, 25-37.
- Ma, S.Y., Røytt, M., Collan, Y., and Rinne, J.O. 1999b. Unbiased morphometrical measurements show loss of pigmented nigral neurones with ageing. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 25, 394-399.
- Mahul-Mellier, A.-L., Altay, M.F., Burtscher, J., Maharjan, N., Ait-Bouziad, N., Chiki, A., Vingill, S., Wade-Martins, R., Holton, J., Strand, C., Haikal, C., Li, J.-Y., Hamelin, R., Croisier, M., Knott, G., Mairet-Coello, G., Weerens, L., Michel, A., Downey, P., Citron, M., and Lashuel, H.A. 2018. The making of a Lewy body: the role of α -synuclein post-fibrillization modifications in regulating the formation and the maturation of pathological inclusions. *bioRxiv* 500058.
- Mani, S., Sekar, S., Chidambaram, S.B., and Sevanan, M. 2018. Naringenin protects against 1-methyl-4-phenylpyridinium- induced neuroinflammation and resulting reactive oxygen species production in SH-SY5Y cell line: An in Vitro model of parkinson's disease. *Pharmacogn. Mag.* 14, 458.
- Mann, V., Huber, C., Kogianni, G., Collins, F., and Noble, B. 2007. The antioxidant effect of estrogen and Selective Estrogen Receptor Modulators in the inhibition of osteocyte apoptosis in vitro. *Bone* 40, 674-684.
- Martinez-Martin, P., Falup Pecurariu, C., Odin, P., van Hilten, J.J., Antonini, A., Rojo-Abuin, J.M., Borges, V., Trenkwalder, C., Aarsland, D., Brooks, D.J., and Ray Chaudhuri, K. 2012. Gender-related differences in the burden of non-motor symptoms in Parkinson's disease. *J. Neurol.* 259, 1639-1647.
- Martinez-Martin, P., Rodriguez-Blazquez, C., Kurtis, M.M., Chaudhuri, K.R., and NMSS Validation Group 2011. The impact of non-motor symptoms on health-related quality of life of patients with Parkinson's disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 26, 399-406.

- Mata, I.F., Wedemeyer, W.J., Farrer, M.J., Taylor, J.P., and Gallo, K.A. 2006. LRRK2 in Parkinson's disease: protein domains and functional insights. *Trends Neurosci.* 29, 286-293.
- Mishizen-Eberz, A.J., Guttman, R.P., Giasson, B.I., Day, G.A., Hodara, R., Ischiropoulos, H., Lee, V.M.-Y., Trojanowski, J.Q., and Lynch, D.R. 2003. Distinct cleavage patterns of normal and pathologic forms of alpha-synuclein by calpain I in vitro. *J. Neurochem.* 86, 836-847.
- Mitumoto, A., and Nakagawa, Y. 2001. DJ-1 is an indicator for endogenous reactive oxygen species elicited by endotoxin. *Free Radic. Res.* 35, 885-893.
- Moosmann, B., and Behl, C. 1999. The antioxidant neuroprotective effects of estrogens and phenolic compounds are independent from their estrogenic properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 8867-8872.
- Morris, C.M., Candy, J.M., Omar, S., Bloxham, C.A., and Edwardson, J.A. 1994. Transferrin receptors in the parkinsonian midbrain. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 20, 468-472.
- Moustafa, A.A., Chakravarthy, S., Phillips, J.R., Gupta, A., Keri, S., Polner, B., Frank, M.J., and Jahanshahi, M. 2016. Motor symptoms in Parkinson's disease: A unified framework. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 68, 727-740.
- Murphy, D.D., Rueter, S.M., Trojanowski, J.Q., and Lee, V.M. 2000. Synucleins are developmentally expressed, and alpha-synuclein regulates the size of the presynaptic vesicular pool in primary hippocampal neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 3214-3220.
- Müller, B., Assmus, J., Herlofson, K., Larsen, J.P., and Tysnes, O.-B. 2013. Importance of motor vs. non-motor symptoms for health-related quality of life in early Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 19, 1027-1032.
- Nagakubo, D., Taira, T., Kitaura, H., Ikeda, M., Tamai, K., Iguchi-Ariga, S.M., and Ariga, H. 1997. DJ-1, a novel oncogene which transforms mouse NIH3T3 cells in cooperation with ras. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 231, 509-513.
- Olanow, C.W., and Arendash, G.W. 1994. Metals and free radicals in neurodegeneration. *Curr. Opin. Neurol.* 7, 548-558.
- Padmaja, M.V., Jayaraman, M., Srinivasan, A.V., Srisailapathy, C.R.S., and Ramesh, A. 2012. PARK2 gene mutations in early onset Parkinson's disease patients of South India. *Neurosci. Lett.* 523, 145-147.
- Pal, G., and Goetz, C.G. 2013. Assessing Bradykinesia in Parkinsonian Disorders. *Front. Neurol.* 4.

- Pålhagen, S., Heinonen, E., Hägglund, J., Kaugesaar, T., Mäki-Ikola, O., Palm, R., and Swedish Parkinson Study Group 2006. Selegiline slows the progression of the symptoms of Parkinson disease. *Neurology* 66, 1200-1206.
- Parkinson, J. 2002. An Essay on the Shaking Palsy. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 14, 223-236.
- Pinteus, S., Silva, J., Alves, C., Horta, A., Fino, N., Rodrigues, A.I., Mendes, S., and Pedrosa, R. 2017. Cytoprotective effect of seaweeds with high antioxidant activity from the Peniche coast (Portugal). *Food Chem.* 218, 591-599.
- Pogson, J.H., Ivatt, R.M., and Whitworth, A.J. 2011. Molecular mechanisms of PINK1-related neurodegeneration. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 11, 283-290.
- Polymeropoulos, M.H., Lavedan, C., Leroy, E., Ide, S.E., Dehejia, A., Dutra, A., Pike, B., Root, H., Rubenstein, J., Boyer, R., Stenroos, E.S., Chandrasekharappa, S., Athanassiadou, A., Papapetropoulos, T., Johnson, W.G., Lazzarini, A.M., Duvoisin, R.C., Di Iorio, G., Golbe, L.I., and Nussbaum, R.L. 1997. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276, 2045-2047.
- Ponka, P. 1999. Cellular iron metabolism. *Kidney Int. Suppl.* 69, S2-11.
- Pringsheim, T., Jette, N., Frolkis, A., and Steeves, T.D.L. 2014. The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 29, 1583-1590.
- Przedborski, S., and Jackson-Lewis, V. 1998. Mechanisms of MPTP toxicity. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 13 Suppl 1, 35-38.
- Rabiei, Z., Solati, K., and Amini-Khoei, H. 2019. Phytotherapy in treatment of Parkinson's disease: a review. *Pharm. Biol.* 57, 355-362.
- Richard, I.H., Schiffer, R.B., and Kurlan, R. 1996. Anxiety and Parkinson's disease. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 8, 383-392.
- Ritz Beate, Lee Pei-Chen, Hansen Johnni, Lassen Christina Funch, Ketzel Matthias, Sørensen Mette, and Raaschou-Nielsen Ole 2016. Traffic-Related Air Pollution and Parkinson's Disease in Denmark: A Case-Control Study. *Environ. Health Perspect.* 124, 351-356.
- Roller, W.C., Glatt, S., Vetere-Overfield, B., and Hassanein, R. 1989. Falls and Parkinson's Disease. *Clin. Neuropharmacol.* 12, 98-105.
- Ross, G.W., and Petrovitch, H. 2001. Current Evidence for Neuroprotective Effects of Nicotine and Caffeine Against Parkinson's Disease. *Drugs Aging* 18, 797-806.
- Rott, R., Szargel, R., Shani, V., Hamza, H., Savyon, M., Elghani, F.A., Bandopadhyay, R., and Engelender, S. 2017. SUMOylation and ubiquitination reciprocally

regulate α -synuclein degradation and pathological aggregation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114, 13176-13181.

- Seoposengwe, K., van Tonder, J.J., and Steenkamp, V. 2013. In vitro neuroprotective potential of four medicinal plants against rotenone-induced toxicity in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *BMC Complement. Altern. Med.* 13, 353.
- Shalavadi, M.H., Chandrashekhar, V.M., Avinash, S.P., Sowmya, C., and Ramkishan, A. 2012. Neuroprotective activity of *Stereospermum suaveolens* DC against 6-OHDA induced Parkinson's disease model. *Indian J. Pharmacol.* 44, 737-743.
- Sheehan, J.P., Palmer, P.E., Helm, G.A., and Tuttle, J.B. 1997. MPP⁺ induced apoptotic cell death in SH-SY5Y neuroblastoma cells: an electron microscope study. *J. Neurosci. Res.* 48, 226-237.
- Shendelman, S., Jonason, A., Martinat, C., Leete, T., and Abeliovich, A. 2004. DJ-1 is a redox-dependent molecular chaperone that inhibits alpha-synuclein aggregate formation. *PLoS Biol.* 2, e362.
- Sherer, T.B., Betarbet, R., Testa, C.M., Seo, B.B., Richardson, J.R., Kim, J.H., Miller, G.W., Yagi, T., Matsuno-Yagi, A., and Greenamyre, J.T. 2003. Mechanism of Toxicity in Rotenone Models of Parkinson's Disease. *J. Neurosci.* 23, 10756-10764.
- Shimura, H., Hattori, N., Kubo, S. i, Mizuno, Y., Asakawa, S., Minoshima, S., Shimizu, N., Iwai, K., Chiba, T., Tanaka, K., and Suzuki, T. 2000. Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat. Genet.* 25, 302-305.
- Shiner, T., Seymour, B., Symmonds, M., Dayan, P., Bhatia, K.P., and Dolan, R.J. 2012. The Effect of Motivation on Movement: A Study of Bradykinesia in Parkinson's Disease. *PLOS ONE* 7, e47138.
- Shulman, L.M., Taback, R.L., Rabinstein, A.A., and Weiner, W.J. 2002. Non-recognition of depression and other non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 8, 193-197.
- Siemers, E.R., Shekhar, A., Quaid, K., and Dickson, H. 1993. Anxiety and motor performance in Parkinson's disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 8, 501-506.
- Silva, J., Alves, C., Pinteus, S., Mendes, S., and Pedrosa, R. 2018. Neuroprotective effects of seaweeds against 6-hydroxidopamine-induced cell death on an in vitro human neuroblastoma model. *BMC Complement. Altern. Med.* 18.
- Spillantini, M.G., Schmidt, M.L., Lee, V.M.-Y., Trojanowski, J.Q., Jakes, R., and Goedert, M. 1997. α -Synuclein in Lewy bodies. *Nature* 388, (6645), 839-840.

- Stamey, W., Davidson, A., and Jankovic, J. 2008. Shoulder Pain: A Presenting Symptom of Parkinson Disease. *JCR J. Clin. Rheumatol.* 14, 253–254.
- Starkstein, S.E., Merello, M., Jorge, R., Brockman, S., Bruce, D., Petracca, G., and Robinson, R.G. 2008. A validation study of depressive syndromes in Parkinson's disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 23, 538-546.
- Takeda, A., Devenyi, A., and Connor, J.R. 1998. Evidence for non-transferrin-mediated uptake and release of iron and manganese in glial cell cultures from hypotransferrinemic mice. *J. Neurosci. Res.* 51, 454-462.
- The Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS): Status and recommendations 2003. . *Mov. Disord.* 18, 738-750.
- Thenganatt, M.A., and Jankovic, J. 2014. Parkinson Disease Subtypes. *JAMA Neurol.* 71, 499-504.
- Vaughan, R.A., and Foster, J.D. 2013. Mechanisms of dopamine transporter regulation in normal and disease states. *Trends Pharmacol. Sci.* 34.
- Vincent P. Calabrese, M.D. 2019. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030.
- Wallings, R., Manzoni, C., and Bandopadhyay, R. 2015. Cellular processes associated with LRRK2 function and dysfunction. *Febs J.* 282, 2806-2826.
- Williams-Gray, C.H., Foltynie, T., Lewis, S.J.G., and Barker, R.A. 2006. Cognitive Deficits and Psychosis in Parkinson's Disease. *CNS Drugs* 20, 477-505.
- Wong, K.S., Lu, C.-S., Shan, D.-E., Yang, C.-C., Tsoi, T.H., and Mok, V. 2003. Efficacy, safety, and tolerability of pramipexole in untreated and levodopa-treated patients with Parkinson's disease. *J. Neurol. Sci.* 216, 81-87.
- Wood, H. 2017. Caffeine and nicotine do not provide symptomatic relief in Parkinson disease. *Nat. Rev. Neurol.* 13, (12), 707-707.
- Wood, L.D. 2010. Clinical Review and Treatment of Select Adverse Effects of Dopamine Receptor Agonists in Parkinson's Disease. *Drugs Aging* 27, 295-310.
- Wypijewska, A., Galazka-Friedman, J., Bauminger, E.R., Wszolek, Z.K., Schweitzer, K.J., Dickson, D.W., Jaklewicz, A., Elbaum, D., and Friedman, A. 2010. Iron and reactive oxygen species activity in parkinsonian substantia nigra. *Parkinsonism Relat. Disord.* 16, 329-333.
- Xia, R. 2011. Physiological and Biomechanical Analyses of Rigidity in Parkinson's Disease. *Etiol. Pathophysiol. Park. Dis.*
- Xicoy, H., Wieringa, B., and Martens, G.J.M. 2017. The SH-SY5Y cell line in Parkinson's disease research: a systematic review. *Mol. Neurodegener.* 12, 10.

- Yoshida, T., Tanaka, M., Sotomatsu, A., and Hirai, S. 1995. Activated microglia cause superoxide-mediated release of iron from ferritin. *Neurosci. Lett.* 190, 21-24.
- Zhao, G., Jiang, Z.-H., Zheng, X.-W., Zang, S.-Y., and Guo, L.-H. 2008. Dopamine transporter inhibitory and antiparkinsonian effect of common flowering quince extract. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 90, 363-371.
- Zhao, X., Zhang, M., Li, C., Jiang, X., Su, Y., and Zhang, Y. 2019. Benefits of Vitamins in the Treatment of Parkinson's Disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.*
- Zimprich, A., Biskup, S., Leitner, P., Lichtner, P., Farrer, M., Lincoln, S., Kachergus, J., Hulihan, M., Uitti, R.J., Calne, D.B., Stoessl, A.J., Pfeiffer, R.F., Patenge, N., Carbajal, I.C., Vieregge, P., Asmus, F., Müller-Myhsok, B., Dickson, D.W., Meitinger, T., Strom, T.M., Wszolek, Z.K., and Gasser, T. 2004. Mutations in LRRK2 Cause Autosomal-Dominant Parkinsonism with Pleomorphic Pathology. *Neuron* 44, 601-607.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı : Ahmet Yılmaz
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : 20.09.1995 Erzurum
Medeni Hali : Bekar
Telefon : +90 534 348 24 88
e-mail : ahmet.yilmaz27@erzurum.edu.tr

Eğitim

Derece	Üniversite	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Erzurum Teknik Üniversitesi	-
Lisans	Erzurum Teknik Üniversitesi	2017
Lise	Tevfik İleri Anadolu Lisesi	2013

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Erzurum Teknik Üniversitesi, 2017
ATAGEN Genetik Hastalıkları Tanı Merkezi, 2019

Yayınlar (SCI, SCI-Expanded)

Karatas, O., Teber, S., Yılmaz, A., Baltacıoğlu, A., Kilic, S., Poyraz, E., Aytatlı, A., Öztürk, S., Varol, A., 2018. Current Cancer Stem Cell Biomarkers In Tongue Squamous Cell Carcinoma, Trakya University Journal of Natural Sciences. 197-207.

Hakemli Dergiler

Ulusal Kongre Sunum

Uluslararası Kongre Sunum

Türkez, H., Arslan, M,E,. Yılmaz, A., Mudu, İ., Rua, S., Doru, F., 2019. Deneysel Parkinson Modelinde Diospyros lotus İzolatının Nöropotektif Etkilerinin Değerlendirilmesi, Hoca Ahmet Yesevi 2. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Kongresi, 6-8 Aralık, Erzurum.