



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HİDROKSİDOPAMİN İLE İNDÜKLENEN SIÇAN PARKİNSON
HASTALIĞI MODELİNDE VARENİKLİNİN ETKİSİ**

**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Ecz. F. Rüyal TAN

**Ocak 2015
DENİZLİ**

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİDROKSİDOPAMİN İLE İNDÜKLENEN SIÇAN PARKİNSON
HASTALIĞI MODELİNDE VARENİKLİNİN ETKİSİ**

**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Ecz. F. Rüyal TAN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İzzettin HATİP

**Ocak 2015
DENİZLİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU

Fatma Rüyal TAN tarafından Prof. Dr. İzzettin HATİP yönetiminde hazırlanan "**Hidroksidopamin İle İndüklenen Sıçan Parkinson Hastalığı Modelinde Vareniklin'in Etkisi**" başlıklı tez tarafımızdan okunmuş olup, kapsamı ve niteliği açısından bir yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

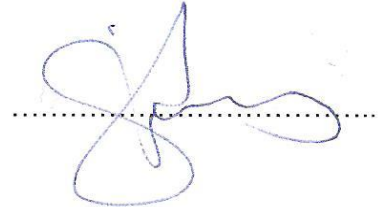
Başkan (Danışman): Prof. Dr. İzzettin HATİP
Pamukkale Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Selim KORTUNAY
Pamukkale Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. M. Bülent ÖZDEMİR
Pamukkale Üniversitesi



Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 15.1.15
Tarih ve 28 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zekiye Melek BOR KÜÇÜKATAY

Müdür



Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırılmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Öğrenci Adı Soyadı : F. Rüyal TAN

İmza :

ÖZET

HİDROKSİDOPAMİN İLE İNDÜKLENEN SIÇAN PARKİNSON HASTALIĞI MODELİNDE VARENİKLİN'İN ETKİSİ

F. Rüyal TAN

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Farmakoloji AD
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. İzzettin HATİP

Ocak 2015, 70 Sayfa

Parkinson hastalığı (PH) esas olarak nigrostriatal dopaminerjik sistemde bozulma ile karakterize nörodejeneratif bir hastalık olarak ele alınsa da, hasar ilerledikçe nöronal nikotinic asetilkolin reseptörleri (nAChR) sayısında azalma görülmektedir. Sağlıklı durumda nAChR'lerin aktivasyonunun striatal dopaminerjik aktiviteyi artırdığı göz önünde bulundurulduğunda nAChR'ler PH tedavisinde yepyeni bir hedef haline gelmiştir. Santral sinir sisteminde (SSS) en yaygın görülen nikotinic reseptör tipi $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ 'dir. Vareniklin tartarat parsiyel $\alpha 4\beta 2$ agonisti ve $\alpha 7$ tam agonistidir. Bu çalışmada PH'de nAChR'lerin rolünü ve vareniklinin etkisini göstermek amacıyla davranış testleri ve beyin dokusu analizleri yapılmıştır. 6-OHDA ile PH modelinin oluşturduğu apomorfin ile indüklenen dönme testi ile kanıtlanmıştır. Aktivitemetrede ölçülen parametrelerden hareketsizlik, stereotipik hareket ve ambulatuvar hareket üzerine vareniklin etkisi anlamlılık gösterirken, vertikal hareket ve toplam hareket mesafesine etkisi olmadığı görülmüştür. Silindir testi, vibrissae (bıyık kılı) ile gerçekleşen önkol yerleştirme asimetrisinin ölçüm testi, rotarod testi ve kafa pozisyonu testinde de vareniklinin parkinsonlu sıçanlarda etkisi gözlenmemiştir. Davranış testlerinin yanısıra dekapite edilen sıçanlarda beyin lizati hazırlanarak dot blot analizi ve immunohistokimyasal (IHC) boyama yapılmış, PH'de nAChR sayısındaki azalma gözlenmiştir. Vareniklin uygulanan grupta ise nAChR ekspresyonundaki artış anlamlıdır.

Sonuç olarak; PH'da görülen bazı kinetik bozukluklar unilaterale PH modelinde de oluşturulabilmektedir. Vareniklin, hareket değil, kinetik bozuklukları iyileştirebilmektedir. Alfa7 alt ünitesinin hem PH hem de vareniklinin etkisinde daha büyük rol oynadığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Parkinson hastalığı, Vareniklin, Nikotinic asetilkolin reseptörleri, 6-hidroksidopamin.

Bu çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2012SBE017).

ABSTRACT**EFFECT OF VARENIKLIN ON HYDROXYDOPAMINE-INDUCED RAT MODEL OF PARKINSON'S DISEASE**

TAN, F. Rüyal

M.Sc. Thesis in Pharmacology

Supervisor: Prof. İzzettin HATİP(MD, PhD)

January 2015, 70 Pages

The Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease basically characterised by impairment of the dopaminergic system. Reduction of neuronal nicotinic acetylcholine receptors (nAChR) number is evident with the advance of the degeneration. Since nAChR activation enhance striatal dopaminergic function, nAChR had become a novel target in PD therapy. The $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ are the most prevalent subunits in the central nervous system. Varenicline tartrate is a partial agonist of $\alpha 4\beta 2$ and full agonist of $\alpha 7$. This study aimed at investigating role of nAChR in PD, using behavioral tests and determining nAChR subunits in substantia nigra (SN). The PD model was induced by unilateral 6-hydroxydopamine (6-OHDA) lesion of rats SN (PD rats), and the induction of the model was verified by apomorphine-circling. The nAChR subunits were determined immunohistochemically and dot blot. The results showed that, varenicline improved akinesia, stereotyped movements and ambulation, whereas it did not change movements distance, forearm placing asymmetry, rotarod and head position. The nAChR subunits, $\alpha 7$ and $\alpha 4\beta 2$ were nonsignificantly decreased in PD, whereas varenicline increased these subunits especially the $\alpha 7$.

In conclusion: Some of the kinetic disorders observed in PD could be induced in unilateral PD model. Varenicline improved the kinetic, but not the movement disorders. $\alpha 7$ subunit seems playing greater role in PD and the effect of varenicline.

Keywords: Parkinson's disease, Varenicline, nicotinic acetylcholine receptors, 6-hydroxydopamine.

This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit through project numbers 2012SBE017.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı ve danışman hocam Prof. Dr. İzzettin HATİP' e, tezimin tüm aşamalarında bilgi ve yardımlarını benimle paylaşan Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Funda F. BÖLÜKBAŞI HATİP'e, ders aşamalarındaki katkıları için Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Selim KORTUNAY'a, deneysel çalışmalarımında destek ve yardımlarını gördüğüm Uzm.Dr. Nermin BÖLÜKBAŞI'na, Uzm. Ecz. Öznur AÇIKALIN'a ve Ecz. S. Onur TURUNÇ'a teşekkür ederim.

Eğitim sürem ve tez çalışmam boyunca beni destekleyerek bana güç veren biricik eşim Serkan TAN'a, her koşulda yanımda olan sevgili annem Muradiye KOYU'ya, bana inanarak bu yolda yorulmadan ilerlememi sağlayan canım babalarım Dr. Hasan KOYU'ya ve İbrahim TAN'a, sonsuz manevi desteği ve yazım aşamasındaki emeğiyle yardımlarını esirgemeyen sevgili ablam Meral TAN'a, hep yanımda olan biricik kardeşim Emir KOYU'ya ve sıkıntıya düştüğüm her anımda gülen gözleriyle içimi aydınlatan küçük kızım Defne TAN'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1 Amaç.....	2
2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI	3
2.1. Parkinson Hastalığının Epidemiyolojisi ve Klinik Özellikleri.....	3
2.1.1. Epidemiyoloji.....	3
2.1.2. Klinik Özellikler.....	4
2.1.2.1. Bradikinezi.....	6
2.1.2.2. Tremor.....	6
2.1.2.3. Rijidite.....	7
2.1.2.4. Postural İnstabilite	7
2.1.2.5. Diğer Bulgular.....	7
2.2. Parkinson Hastalığının Nöropatolojisi.....	8
2.2.1. A-Sinüklein Yapısı, Fibrilizasyonu ve PH Patogenezindeki Olası Rolü.....	10
2.3. Parkinson Hastalığının Patogenezini Ve Moleküler Mekanizmalar... 11	
2.4. Bazal Ganglionların Nöroanatomi.....	12
2.5. Parasempatik Sistem.....	17
2.5.1. Asetilkolin Reseptörleri (AChR)	17
2.5.1.1. Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri (nAChR)	18
2.5.1.1.1. Nöronal Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri	20

2.6. Nikotinik Reseptörler Ve Parkinson Hastalığı İle İlişkisi.....	21
2.6.1. Nikotinik Reseptörler Ve Nigrostriatal Sistem.....	22
2.6.1.1. Nikotinik Reseptör Aktivasyonu İle Motor Aktivite İlişkisi.....	22
2.6.1.2. Nikotinin Nigrostriatal Dejenerasyona Karşı Koruyucu Etkisi...	22
2.6.1.3. Nikotinik Reseptör Aktivasyonunun Bazal Gangliyadan Dopamin Salınımını Uyarması.....	23
2.6.1.4. Bazal gangliyadaki nikotinik reseptör çeşitliliği.....	24
2.7. Nigrostriatal Dopaminerjik Nöronlar	26
2.8. 2,4,5-Trihidroksifeniletamin (6-OHDA) Sıçan Parkinson Hastalığı Modeli.....	27
2.8.1. 6-OHDA Otoksidasyonu.....	27
2.8.2. 6-OHDA Nörotoksitesinin Mekanizması.....	28
2.8.3. 6-OHDA'nın SNpc Bölgesine Enjeksiyonu İle Model Oluşturulması.....	29
2.9. Hipotez.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	31
3.1. Deney Protokolü.....	31
3.2. 6-OHDA PH Modeli Oluşturulması.....	31
3.3. Davranışsal Testler.....	33
3.3.1. Apomorfin İle İndüklenen Dönme Testi.....	33
3.3.2. Open Field Aktivitemetre Testi.....	33
3.3.3. Silindir Test.....	34
3.3.4. Önkol Yerleştirme Asimetrisi Testi	34
3.3.5. Rotarod testi.....	34
3.3.6. Kafa Pozisyonu Testi.....	35
3.4. Sıçan Beyin Lizatı Hazırlama ve Western Blot yöntemi.....	35
3.5. İmmunohistokimyasal (IHC) boyama.....	35
3.6. İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	37
4.1. Apomorfin İle İndüklenen Dönme Testi.....	37
4.2. Open Field Aktivitemetre Testi.....	38
4.2.1. Hareketsizlik (Resting)	38
4.2.2. Stereotipik Hareket	38
4.2.3. Ambulatuvar Hareket	39
4.2.4. Dikey Hareket (Rearing)	40

4.2.5. Toplam Hareket Mesafesi.....	40
4.3. Silindir Testi	41
4.4. Önkol Yerleştirme Asimetrisi Testi.....	42
4.5. Rotarod Test.....	42
4.6. Kafa Pozisyonu Testi.....	43
4.7. Dot Blot.....	43
4.8. İmmunohistokimyasal (IHC) boyama.....	45
5. TARTIŞMA.....	46
6. SONUÇLAR.....	54
7. KAYNAKLAR.....	55
8. ÖZGEÇMİŞ.....	70

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1 α -sinüklein yapısının şematik gösterimi.....	10
Şekil 2 Oksidatif stresi tetikleyerek nigrostriatal yolaktaki dopaminerjik nöronların kaybında rol oynayan mekanizmalar	11
Şekil 3 Motor aktivite, apati ve disinhibisyondan sorumlu talamostriatal devrelerin patofizyolojisi.....	15
Şekil 4 Bazal gangliya-talamokortikal devrenin normal koşullar altında ve PH'de şematize edilmiş hali.....	16
Şekil 5 6-OHDA molekülünün yapısı.....	27
Şekil 6 6-OHDA'nın hücre içine alınması ve hasar mekanizması.....	28
Şekil 7 Fenton reaksiyonu ile serbest radikal oluşumu.....	28
Şekil 8 Çalışma protokolü ve zaman çizelgesi.....	31
Şekil 9 Stereotaksik cerrahi işlem uygulanması.....	32
Şekil 10 Apomorfin verilen sıçanlarda bir saat süresince dönme sayıları ve vareniklinin etkisi.....	37
Şekil 11 Parkinsonlu sıçanlarda hareketsizlik yüzdesi ve vareniklinin etkisi.....	38
Şekil 12 Parkinsonlu sıçanlarda stereotipik hareket yüzdesi ve vareniklinin etkisi.....	39
Şekil 13 Parkinsonlu sıçanlarda ambulatuvar hareket yüzdesi ve vareniklinin etkisi.....	39
Şekil 14 Parkinsonlu sıçanlarda vertikal hareket sayısı ve vareniklinin etkisi.....	40
Şekil 15 Parkinsonlu sıçanlarda toplam hareket mesafesi ve vareniklinin etkisi...	41
Şekil 16 Parkinsonlu sıçanlarda silindir test kontralateral kol kullanım yüzdesi ve vareniklinin etkisi.....	41
Şekil 17 Parkinsonlu sıçanlarda kontralateral önkol yerleştirme asimetrisi yüzdesi ve vareniklinin etkisi.....	42
Şekil 18 Parkinsonlu sıçanlarda rotarod test ölçümü ve vareniklinin etkisi.....	43
Şekil 19 Dot Blot yöntemi analiz sonuçları.....	44
Şekil 20 SNpc bölgesindeki $\alpha 7$ ve $\beta 2$ nikotinik asetilkolin reseptör altünitelerinin yoğunluğunun parkinson ile değişimi ve vareniklinin etkisi.....	44
Şekil 21 SNpc bölgesindeki $\alpha 4$, $\alpha 7$, $\beta 2$ nikotinik asetilkolin reseptör altünitelerinin ekspresyonunun parkinson ile değişimi ve vareniklinin etkisi.....	45

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1 PH'de motor tutulum ile bağlantılı belirti ve bulgular	5
Tablo 2 PH'de nonmotor tutulum ile bağlantılı belirti ve bulgular.....	8

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A β	Amiloid beta
ACh.....	Asetilkolin
AMPA.....	α -Amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonikasit
AP.....	Anterior-posterior
ATP.....	Adenozin trifosfat
BCA.....	Bicinchoninic Acid
BG.....	Bazal gangliya
BSA.....	Bovin serum albumin
cLSN.....	Kaudal lateral substansiya nigra
CM.....	Centro median
CPu.....	Kaudal-putamen kompleks
Cx.....	Korteks,
DA.....	Dopamin
DAT.....	Dopamin taşıyıcısı
DL.....	Dorsolateral
DMPP.....	Dimetilfenilpiperazinium
DNA.....	Deoksiribonükleikasit
DV.....	Dorso-ventral
ECL.....	Enhanced chemiluminescence
eNOS.....	Endotelial nitrikoksit sentaz
ETZ.....	Elektron transport zinciri
FADH ₂	Flavin adenin dinükleotit
FCx.....	Frontal korteks
GABA.....	Gamaamino bütirik asit
GP.....	Globus pallidus
GPe.....	Globus pallidus eksterna
GPI.....	Globus pallidus interna
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IHC.....	İmmünohistokimyasal boyama
iNOS.....	İndüklenebilen nitrikoksit sentaz
L.....	Lateral
LC.....	Lewy cisimciği
L-dopa.....	Levodopa
m.....	Medial
mAChR.....	Muskarinik asetilkolin reseptörü
MAO.....	Monoamin oksidaz
MFB.....	Medial ön beyin demeti
NAC.....	Non-amiloid komponent
nACC.....	Nucleus accumbens
nAChR.....	Nikotinik asetilkolin reseptörü
NADH.....	Nikotinamid adenin dinükleotit
NAT.....	Noradrenalin taşıyıcısı
Ng.....	Gangliyon tipi nikotinik reseptörler
Nm.....	Çizgili kas tipi nikotinik reseptörler
NMDA.....	N-metil-D-aspartat

nNOS.....	Nöronal nitrikoksit sentaz
NO.....	Nitrik oksit
NOS.....	Nitrikoksit sentaz
6-OHDA.....	6-hidroksidopamin
PCR.....	Polimeraz zincir tepkimesi
PH.....	Parkinson hastalığı
PPN.....	Pedinkülopontin nucleus
RIPA.....	Radioimmunoprecipitation assay buffer
RNS.....	Reaktif azot türleri
ROS.....	Reaktif oksijen türleri
SN.....	Substantia nigra
SNpc.....	Substantia nigra pars kompakta
SNpr.....	Substantia nigra pars reticulata
SSS.....	Santral sinir sistemi
STN.....	Subtalamik nucleus
TBS.....	Tris buffered saline
TBS-T.....	Tris buffered saline tween 20
TH.....	Tirozin hidroksilaz
TL.....	Talamus
TNF α	Tümör nekroz faktör alfa
UCH-L1.....	Ubikuitin C-terminal hidrolaz L1
UK.....	Birleşik krallık
UPS.....	Ubikitin Proteazomal Sistem
v.....	Ventral
vA.....	Ventral anterior
vL.....	Ventral lateral
VTA.....	Ventral tegmental alan
Ca $^{+2}$	+2 değerlikli kalsiyum iyonu
Na $^{+}$	+1 değerlikli sodyum iyonu
K $^{+}$	+1 değerlikli potasyum iyonu
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Sigma

1.GİRİŞ

İngiliz hekim James Parkinson tarafından 1817 yılında ilk kez “shaking palsy” (titrek felç) şeklinde tanımlanan Parkinson hastalığı (PH), beyinde başta substantia nigra (SN) olmak üzere, beyin sapındaki diğer pigmentli nöronlarda da dejenerasyona yol açan ve yavaş seyreden bir hastalıktır (Apaydın 2001, Stephen 2003, Mauro 2011). Hastalığın etiyolojisi ve hücre kaybına yol açan fizyopatolojik olayların niteliğinin henüz tam anlaşılabilmesi ile birlikte, günümüzde hem çevresel (bazı toksinler, kuyu suyu tüketimi, tarım ilaçları) hem de genetik faktörlerin PH'ye neden olduğu yönündeki görüşler egemendir (Apaydın 2001, Grosset 2009).

Nörodejeneratif hastalıklar içinde en sık görülenlerden biri olan PH, 65 yaş üstü popülasyonun %1'ini etkiler (Fahn 1987, Van Den Eeden 2003). Hastalık 50-60 yaş civarında başlar ve görülme insidansı da yaş arttıkça giderek artar. Hastalık daha genç yaşlarda başlayabilir ve hastaların %5'inde 40 yaşından önce başlama öyküsü söz konusudur (Van Den Eeden 2003).

PH akinezi, bradikinezi, postural instabilite ve tremor ile karakterize, esas olarak nigrostriatal yolakta dopaminerjik nöronların dejenerasyonu ile giden ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır. Biyokimyasal olarak dopaminerjik sistemdeki bu bozulma gözlenen klinik semptomların çoğu ile yakından ilişkilidir (Guan 2002).

PH primer olarak dopaminerjik bir bozukluk olarak ele alınsa da patogenezinde santral sinir sisteminde (SSS) farklı alanların etkilendiği ve farklı nörotransmitter ve nöromodülatörlerde değişiklik olduğu gözlemlenmiştir. Bu sistemlerden biri olan nikotinik kolinerjik sistem de son yıllarda ilgi çekmektedir. Zira nikotin ve nikotinik agonistlerin hastalığın motor semptomlarını azaltmada ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde ortaya çıkan bilişsel fonksiyonlardaki bozulmayı düzeltmede yararlı etkilerinin olduğu ve tedavide yeri olabileceğini göstermektedir. Yapılan çalışmalarda

PH'de kronik nikotin kullanımının koruyucu/düzeltilici etkilerinin olabileceği bildirilmektedir (Quik 2007, Simola 2010).

Dopaminerjik fonksiyonu düzenleyen nikotinic asetilkolin reseptör (nAChR) alt tiplerinin tanımlanması ve nigrostriatal hasar durumunda bu reseptörlerde oluşan değişikliklerin gösterilmesi ile PH'de nAChR ligandlarının tedavide etkili olabileceği düşünülmektedir. nAChR'lerinin alt tiplerinin çeşitliliği ve yerleşimi türler arasında farklılık göstermektedir. Bu amaçla PH'de nikotinic alt tip reseptörlerin; özellikle nAChR $\alpha 4$, $\alpha 6$ ve $\alpha 7$ 'nin hücresele ekspresyonlarının gösterilmesine yönelik olan çalışmalardan elde edilen sonuçlarda birbirinden farklıdır (Quik 2000, Banerjee 2000, Burghaus 2003). Dolayısı ile nAChR'leri üzerinden özellikle nigrostriatal ve kortikostriatal uyarının dopaminerjik ve glutamerjik aktivite üzerine etkisi açık değildir.

Vareniklin çok sayıda nAChR alt tipini etkilemekle birlikte özellikle $\alpha 4\beta 2$ parsiyel agonistik ve $\alpha 7$ tam agonistik etkileri yönünden ilginç bir terapötik ajandır. Son 5 yılda vareniklinin nikotin bağımlılığı tedavisi yanı sıra, madde bağımlılığı tedavisi, antidepresan ve anksiyolitik etkileri, hareket bozukluklarındaki etkileri araştırılmaya başlanmıştır. Vareniklinin etkileri doza ve kullanılma süresine bağlı olarak değişmektedir. PH'de ise vareniklinin tedavide kullanılmasına ait bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.

1.1. Amaç

Bu çalışmanın amacı parsiyel $\alpha 4\beta 2$ agonisti ve $\alpha 7$ tam agonisti olduğu bilinen vareniklin tartaratin (7,8,9,10-Tetrahidro-6,10-metano-6H-pirazino[2,3-h][3]benzazepin tartarat) , SN'ye 6-OHDA verilerek PH modeli oluşturulan sıçanlarda etkisini araştırmaktır. Bu amaçla lokomotor aktivite, rotarod test, apomorfin ile indüklenen dönme testi, silindir testi, önkol yerleştirme asimetrisi testi ve kafa pozisyonu testi uygulanmıştır. Vareniklinin nAChR alt tiplerinden $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ etkisi ile sözü edilen reseptör alt tiplerinin ekspresyonu dot blot yöntemi ve immunohistokimyasal boyama (IHC) ile araştırılmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI

2.1. Parkinson Hastalığının Epidemiyolojisi ve Klinik Özellikleri

Parkinsonizm, tremor, rijidite, bradikinezi, akinezi ve postüral anormallikler ile karakterize klinik bir sendromdur. PH ise parkinsonizm sendromunun en sık görülen varyantı olup, özgün patolojisi, klinik tablosu ve dopaminerjik tedaviye verdiği belirgin yanıt ile ayırt edilir. PH 1817 yılında İngiliz hekim James Parkinson tarafından "shaking palsy" (titrek felç) adı ile tanımlanmıştır. PH'nin patolojisi, SN'deki dopaminerjik nöronlar başta olmak üzere beyin sapındaki pigmentli nöronların dejenerasyonu ve sağ kalan hücrelerde saptanan Lewy cisimcikleri (LC) ile spesifiktir. Klinik değerlendirme ve izlem PH'nin diğer parkinsonizm varyantlarından (progressif supranükleer paralizi, multipl sistem atrofi grubu hastalıklar gibi) ayrılması açısından önemlidir. Ancak tanı ve ayırıcı tanının klinik olması, kullanılan değişik tanı ölçütleri ve tarama yöntemlerine rağmen PH'nin epidemiyolojik araştırmaları için güçlük yaratmaktadır.

2.1.1. Epidemiyoloji

PH, hareket bozuklukları arasında esansiyel tremordan sonra en sık görülen tablodur. PH'nin tüm dünyada, tüm ırklar ve tüm etnik gruplarda görüldüğü bilinmektedir. Ancak PH'nin epidemiyolojisi konusundaki veriler hastalığın doğası nedeniyle bir hayli komplikedir. Bunun en önemli nedeni hastalığın tanısının tamamen nörolojik öykü ve muayene bulgularına dayanmasıdır. İkinci nedeni, farklı çalışmalarda kullanılan tanı kriterlerinin farklılığının karşılaştırma ve meta-analizler yapılmasını imkansız kılmasıdır. Diğer bir neden ise hastalığın klinik bulgularının uzun ve tam olarak süresi öngörülemeyen bir latent evreden sonra ortaya çıkmasıdır. PH tipik olarak orta ve ileri yaşın hastalığı olup, ortalama 50-60 yaşlarda başlayıp, yaklaşık 10-20 yıllık bir süreçte progressif olarak ilerlemektedir. Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilse de, genel olarak parkinsonizm yıllık insidansının 4.5-21/100000

arasında değiştiği bilinmektedir (Tanner 1997, Rajput 1997, 2003). En güvenilir insidans değerlerinin elde edildiği Rochester, Minnesota'da 1935-1990 yılları arasında yapılan değişik çalışmalarda, parkinsonizm insidansının buyk bir değişiklik göstermeksizin 18,2-20,5/105 arasında değiştiği görülmektedir (Rajput 2003). Değişik toplumlarda yapılan çalışmalarda parkinsonizm prevalansı için de 18-328/100000 arasında değişen rakamlar bildirilmektedir (Tanner 1997, Rajput 1997, 2003). Parkinsonizm tablolarının en sık görülen formu olarak, bu oranların yaklaşık %75-80'ini PH olguları oluşturmaktadır. Eskişehir'de yapılan bir çalışmada Türkiye için prevalans değeri 111/100000 olarak bildirilmiştir (Torun 1995). PH 50 yaşından önce ender olarak görülmekte ve yaklaşık %5'lik bir grubun 40 yaşından önce başladığı bilinmektedir.

Yapılan alışmalar PH'nin erkeklerde kadınlara göre biraz daha sık görüldüğünü göstermektedir. Irklar arasında da görülme sıklığı açısından farklar olduğu bilinmektedir. Genel olarak PH'nin en sık beyaz ırkta, daha sonra sarı ırkta, en az da siyah ırkta görüldüğü kabul edilmektedir (Tanner 1997). Ayrıca değişik coğrafik bölgelerde de PH görülme sıklığının farklı olabildiği bilinmektedir. Bu coğrafik farklılıkların çevresel nedenlerden (içme suyu, endüstriyel kimyasallar, herbisit ve pestisitler, ağır metaller gibi) kaynaklandığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak PH ile ilgili tüm bu epidemiyolojik bilgilerin kullanılan çalışma dizaynı, tanı kriterleri ve hasta dahil edilme kriterleri gibi nedenlerle artefaktlar içerebileceği unutulmamalıdır.

2.1.2. Klinik zellikler

PH, geleneksel olarak motor sistem hastalığı olarak ele alınmaktaysa da, bugün artık motor ve nonmotor (otonomik, davranışsal, bilişsel ve duysal) olarak çok daha kompleks bir sendrom olarak kabul edilmektedir. PH'nin bu kadar zengin ve farklı semptomatoloji göstermesi hastalığın erken döneminde tanı karmaşasına ve tedavinin gecikmesine yol açabilmektedir.

PH'de belirtiler sinsi bir şekilde başlar ve yıllar içinde tablo giderek ağırlaşır. Hastalık genellikle belirsiz ve nonspesifik semptomlar ile ilerleyen bir prodrom dönemi ile baslar. Bu dönemde çabuk yorulma, halsizlik ya da kişilik değişiklikleri gözlenebilir ve motor bulgular da bu dönemde belirli belirsiz yakınmalar şeklinde (güçsüzlük hissi, ılımlı inkoordinasyon, yazma zorluğu gibi) olabilir (Paulson 1997). Hastalar sadece rijidite, yazma güçlüğü, yavaşlık ya da ağırlardan yakınarak hekime başvurabilir. Hastaların çoğunda belirtiler bedeninin bir tarafındadır ve yaklaşık %50 oranında tremor şeklinde başlangıç söz konusudur. Bulgular zamanla bedeninin diğer yarısına geçse de,

genellikle ilk başladığı tarafta belirgin bir asimetrik tutulum dikkat çekicidir. Tremorun erken evrede görülmediği hastalarda parkinson tanısı daha da zorlaşıp bulgular basit artrit, bursit, depresyon, normal yaşlanma, Alzheimer hastalığı ya da inme gibi yorumlanabilmektedir (Jankovic 2003). Bazen tanı ancak motor bulguların bilateral hale gelmesi ile yani aylar veya yıllar içinde konulabilmektedir. PH tanısında altın standart halen nörolojik muayenedir. PH, prototip hastalık olup, diğer bir nörolojik tutuluşa ait belirti olmaksızın, izole parkinsonian bulguların varlığı ile karakterizedir.

Tablo 1 PH'de motor tutulum ile bağlantılı belirti ve bulgular

TEMEL BULGULAR
İstirahat tremor
Rijidite (dişli çark belirtisi)
Akinezi
Bradikinezi
Postür al instabilite (postür al reflekslerin kaybı)
DİĞER KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR
Postür bozukluğu (Antefleksiyon, kifoz, skolyoz)
Yürüyüş bozukluğu (Küçük adımla, ayakları sürüyerek yürüme)
Festination (Giderek hızlanan yürüyüş)
Freezing (Kilitlenme hali)
Assosiy e hareketlerin kaybı
Paradoksal hiperkinezi
Hipomimi (Maske yüz)
Glabellar refleks artışı (Myerson belirtisi)
Distoni
Mikrografi
Hipofoni
Yatakta dönme güçlüğü
Disfaji
Konuşma bozukluğu (Hipokinetik dizartri)
Siyalore
Periferik ödem
Solunum problemleri
Nöroftalmolojik bulgular
Dopaminerjik tedavi ile bağlantılı motor bulgular

PH'nin diğer parkinsonizm tablolarından klinik olarak ayırt edilmesine yardımcı olan özellikleri ise parkinsonian bulguların asimetrisi, belirgin istirahat tremoru, levodopa (L-dopa)'ya klinik olarak anlamlı yanıtın varlığı ve hastalığın erken evresinde denge problemlerinin az ya da hiç olmamasıdır. Her hastada semptom ve bulguların kombinasyonu farklı olsa da, hastalığı dominant olan belirgin olan motor semptomatolojiye göre alt gruplara ayırmak mümkündür. Bu şekilde başlangıçtan itibaren 3 temel tipten söz edilebilir: erken dönemde tremor ile başlayan tremor dominant tip, bradikinezi, postural instabilite ve yürüyüş bozukluğunun baskın olduğu akinetik rijid tip ve belirli bir bulgunun baskın olmadığı mikst tip. Genel olarak mikst tip

daha sık görülmektedir. Ayrıca hastalığı başlangıç yaşına göre genç başlangıçlı (40 yaş öncesi) ve juvenil başlangıçlı (20 yaş öncesi) olarak sınıflandırmakta mümkündür. Hastalığın temel motor bulguları ve motor tutukluk ile bağlantılı diğer bulguları Tablo 1'de özetlenmiştir.

2.1.2.1. Bradikinezi

Bradikinezi (hareketlerde yavaşlama), PH'de bazal gangliya (BG) disfonksiyonunun en karakteristik semptomudur. Altın standart olarak kabul edilen "UK Brain Bank" tanı kriterlerine göre PH tanısı için bradikinezi varlığı şarttır (Hughes 1992). Bradikinezi sıklıkla hareketin başlatılmasında gecikme, hareketin amplitüdünün küçülmesi, bir hareketten diğerine geçememe, aynı anda iki hareketi yapamama, hareket fakirliği (hipokinezi) ve hareket edememe (akinezi) anlamında da kullanılır. Bradikinezi, her hastada er ya da geç görülür. Bradikinezi komplikasyonları arasında yüzün ifadesiz bir görünüm alması (bradimimi), göz kırpmada azalma, yazının küçülmesi (mikrografi), monoton (hipokinetik) dizartri, yutma işlevinin yavaşlamasına bağlı ağızda salya birikimi ve akması (siyalore), yürüme sırasındaki otomatik kol hareketlerinin azalması ve kaybolması (assosiyasyon hareketlerin kaybı) sayılabilir.

Bradikinezi de diğer parkinsonian bulgular gibi hastanın emosyonel durumu ile bağlantılıdır. Bunun en önemli görüntüsü paradoksal hiperkinezi (paradoksal kinezi) adı verilen fenomendir. Bu durumda immobil bir hastanın ani bir emosyonel tepki ile hızlı hareketler yapabildiği ya da bir topu yakalayabildiği görülür. Bu fenomen PH'de motor programların intakt olduğunu, ancak hastanın eksternal bir tetikleyicinin yardımı olmadan bunlara ulaşmakta ve kullanmakta güçlük çektiğini göstermektedir.

PH'de özürülük yaratan en temel belirti bradikinezi olup, hastalık ilerledikçe, hastanın en basit günlük işlerini dahi bağımsız olarak sürdürememesine yol açmaktadır.

2.1.2.2. Tremor

İstirahat tremoru, PH'nin en iyi tanınan ve en spesifik temel bulgusudur. Olguların %50-75'inde ilk motor semptom olarak tremor ortaya çıkar (Rajput 1995). Klinik izlem boyunca hafiften belirgin kadar değişik ölçülerde tremor saptanma sıklığı %85'e ulaşır. Ancak %15'lik bir grup hastada hastalığın hiçbir evresinde tremor gözlenmez (Martin 1983). PH'de klasik 4-6 Hz istirahat tremoru yanında olguların %40-

60'ında daha hızlı frekanslı (5-8 Hz) postüral-kinetik tremor tabloya eşlik eder. PH'nin ilk bulgusu esansiyel tremora benzer şekilde postüral tremor olabilir. PH'de postüral tremorun ayırt edici özelliği kolların ileriye uzatılması ile tremorun ortaya çıkması arasında saniyeler ile bir dakikaya kadar süren bir latent evrenin olmasıdır (Jankovic 2003). PH'de tremor en sık ellerde, bazen de ayaklar, dil, çene ya da dudakta olabilir. PH'de ses ve bas tremoru görülmez. Tremor stres ile, mental aktivite sırasında (örneğin bir aritmetik işlemi yaparken), yürürken, diğer ekstremitenin motor hareketi sırasında artar. O ekstremitenin harekete başlamasıyla ve uyku sırasında kaybolur.

2.1.2.3. Rijidite

Rijidite, agonist ve antagonist kaslarda eş zamanlı olarak tonusun artmasıdır. Proksimal (boyun, omuz, kalça bölgesinde) ve distal (el ve ayak bilekleri gibi) yerleşimli olabilir. Rijidite tremora göre daha az değişken bir bulgu olup, hastanın fonksiyonel disabilitesini daha iyi yansıtır. Hafif olgularda rijiditeyi ortaya çıkartmak, ancak karşı ekstremiteye tekrarlayıcı hareketler (havada kare çizdirmek gibi) yaptırmakla mümkün olabilir. Rijidite sıklıkla el bileğinde pasif rotasyon hareketleri ve dirsekte fleksiyon ve ekstansiyon hareketleri ile değerlendirilir. Hastalar rijiditeyi ekstremitelerde, boyunda, bazen de sırt kaslarında subjektif sertlik veya kasıklık şeklinde tanımlayabilir. Bazen rijiditeye bağlı rahatsızlık ve gerçek ağrı hastanın geliş yakınması olabilir. Rijiditeye bağlı ağrılı omuza yanlılıkla artrit, bursit ya da rotator cuff tanısı konulabilir. Rijidite sıklıkla boyun ve gövdede fleksiyon gibi postural deformitelerle birlikte dir.

2.1.2.4. Postural instabilite

Postural instabilite, PH'nin en az spesifik, ancak en fazla özür lülük yaratan temel bulgusudur (Jankovic 2003). Propulsiyon ya da retropulsiyon ile bağlantılı denge kaybı şeklinde ve genellikle hastalığın geç evrelerinde ortaya çıkar. Postural reflekslerin kaybına bağlı gelişen bu bulgu, PH'deki düşmelerin en sık nedenlerinden biridir. Postür al instabilitenin derecesini değerlendirmek için "çekme (pull) testi" kullanılır. Bu testte hastanın arkasından omuzlarına uygulanan ani bir çekmeye verdiği postür al yanıt değerlendirilir. Postür al instabilitesi olan olgularda, özellikle gövdede fleksiyon postürü varlığında, "festination" şeklinde giderek hızlanan yürüyüş ortaya çıkar. Burada hasta adeta düşmemek için ağırlık merkezini yakalamaya çalışır şekilde hızla yürür ve durmakta güçlük çeker.

2.1.2.5. Diğer bulgular

PH'de motor tutulum ile bağlantılı sekonder bulgular arasında oküler, fasial ve orofaringeal disfonksiyona bağlı bulgular, iskelet sistemi deformiteleri sayılabilir (Tablo 1). Hastalıkta var olan nonmotor tutulum ile bağlantılı bulgular Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2 PH'de nonmotor tutulum ile bağlantılı belirti ve bulgular

Bilişsel/Nöropsikiyatrik
Demans
Depresyon
Anksiyete
Panik Ataklar
Bradifreni
Uyku bozuklukları
Dopaminerjik tedavi ile bağlantılı psikoz
Yorgunluk
Otonomik bozukluklar
Konstipasyon
Ortostatik hipotansiyon
Artmış terleme
Seksüel disfonksiyon (empotans, libido kaybı)
Üriner disfonksiyon (nokturi, urgency, inkontinans)
Ağrı ve duysal bozukluklar
Kramplar
Ağrı
Parestezi/dizestezi
Olfaktör disfonksiyon
Seboroid dermatit

2.2. Parkinson Hastalığının Nöropatolojisi

PH'nin temel nedeni Substantia Nigra'daki (SN) dopaminerjik nöron kaybına bağlı olarak striatal dopaminin (DA) azalması ve buna bağlı motor bozukluğu semptomların ortaya çıkmasıdır. PH morfolojik olarak SN pars kompakta (SNpc) ve diğer subkortikal çekirdeklerde melanin pigmenti içeren ve DA üreten nöronların seçici ve progressif kaybı ile birlikte sıklıkla subkortikal çekirdekler ve hippocampusta, daha az sıklıkla da serebral kortekste eosinofilik intrasitoplazmik LC ve distrofik LC varlığı ile karakterizedir (Pollanen 1993, Forno 1996, Fearnley 1997, Hurtig 2000, Jellinger 2002).

“In vivo” izotop radyografik beyin görüntülemeleri ve postmortem beyin dokusu incelemelerinden elde edilen verilere göre PH’de patolojik değişimler hastalık semptomlarından yıllar önce başlamaktadır. BG’deki dopaminerjik nöron kaybı dejeneratif sürecin subklinik veya preklinik fazında %50-%75 gibi bir orana ulaşmaktadır. Striatal DA seviyelerindeki azalma %80 oranına ulaştığında ise klinik belirtiler ortaya çıkmaktadır (Graham 1995, Fearnley 1997, Hurtig 2000).

PH’de nörodejenerasyon ile DA üreten hücrelerin yanı sıra, SNpc’deki nöromelanin içeren nöronların da kaybı söz konusudur. Klinik belirtilerin de temelini striyatal dopaminerjik deafferentasyon oluşturmaktadır. PH’nin iki majör klinik alt tipinin farklı morfolojik lezyon özellikleri gösterdiği bildirilmiştir. Akinetik rijid formda SN’nin ventrolateral bölümünde şiddetli hücre kaybı söz konusuyken, tremorun ağırlıklı olduğu klinik formda ise SNpc’nin medialinde ve retrorubral alan A8’de daha şiddetli nöron kaybı olduğu görülmüştür (Jellinger 2002).

PH’de mezensefalonun ventral tegmental alanında (VTA) nöron dejenerasyonu saptanmıştır. Buradan kaynağını alan hücrelerin aksonları entorinal, hippokampal, anterior singulat gibi frontal kortikal alanlara ve nukleus accumbens, hipotalamus, ve amigdaloid nukleus gibi limbik alanlara projekte olurlar. Gerek mezokortikal, gerekse mezolimbik projeksiyonlar davranış ve kognisyon ile ilgili işlevlerin gerçekleşmesine katkıda bulunur. PH’de VTA bazal ön beyin-kortikal döngüde hafif-orta derecede DA kaybı olmaktadır ve bu durum kognisyon ve davranış ile ilgili problemlere, özellikle de demansı olmayan birçok PH hastasında bildirilen zihinsel işlevlerde yavaşlığa neden olabilir (Tröster 2000).

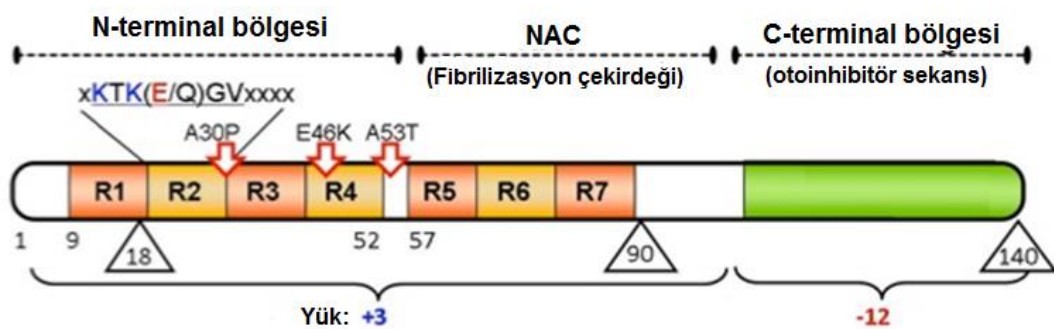
PH’deki klasik patolojik bulgulardan bir diğeri de, nigral nöronlarda postmortem olarak görülebilen intrasitoplazmik LC’dir. İlk olarak Alman patolog Lewy tarafından 1914 yılında tanımlanmış ve söz konusu patolojik bulgunun eponim olarak tanımlanması 1919 yılında Tretiakoff tarafından yapılmıştır. LC, 5–25 mm boyutlarında olup, klasik olarak değişen oranlarda eozinofili gösteren çekirdek, gövde ve bir halodan ibaret 3 tabakadan oluşur (Gibb 1986). LC’nin α -sinüklein, ubikuitin, sinfilin-1, parkin, ubikuitin C-terminal hidrolaz L1 (UCH-L1), proteazomal elemanlar, ısı şok proteinleri, torsin A, hiperfosforile nörofilament proteinleri gibi çok sayıda protein ve lipidler, redoks-aktif demir gibi yapılar içerebildiği bilinmektedir (Mc Naught 2003). α -Sinüklein LC’nin majör fibriller komponentidir. LC’nin ilgili sinir hücrelerini ve sinir hücresi bağlantılarını yok ettiği ve ileticilerin (öncelikle DA ve asetilkolin (ACh)) alışverişini kestiği, bu nedenle bu yolakta sinyal iletiminin durduğu yada yavaşladığı için ilgili

merkezlerde (örn; hareket ve dikkat kontrolü gibi) fonksiyon kaybına neden olduğu öne sürülmüştür (Fearnley 1997). LC'leri PH'ye spesifik olmayıp, parkinsonizme yol açan multisistem atrofi, progressif supranükleer felç, Hallervorden-Spatz hastalığı, gibi bir dizi başka hastalık tabloları ile birlikte de tanımlanmıştır (Fearnley 1997, Arawaka 1998, Siderof 2003). Tüm bu hastalıklardaki hücresel ve bölgesel LC düzeyleri farklıdır. Ancak parkin gen mutasyonunda olduğu gibi PH'nin bazı genetik formlarında LC'leri gözlenmemektedir (Riess 2002, Dawson 2003).

PH'da LC'lerinin dağılımı çok yaygın olabilir ve serebral korteks, diensefalon, mezensefalon, pons, bulbus, medulla spinalis, vertebral sempatik gangliyonlar, gastrointestinal traktus gibi yapılarda yer aldıkları gösterilmiştir (Fearnley 1997). PH'da demans gelişen hastaların %30-%100'ünde neokorteks ve limbik korteks nöronlarında LC bulunmaktadır (Hughes 1993, Apaydın 2002).

2.2.1. α -Sinükleinin yapısı, fibrilizasyonu ve PH patogenezindeki olası rolü

α -Sinüklein 140 aminoasitten oluşan, kıvrılmamış bir protein olup (şekil 1), in vitro koşullarda kendiliğinden fibrilize olabilir. Proteinin üç temel bölgesi vardır: 1- lipid membranlarla ilişkiyi sağlayan N terminal bölgesi; 2-NAC (non-amiloid komponent) bölgesi- hidrofobik olan ve Alzheimer hastalığında amiloid agregasyonuna çekirdek teşkil eden bu bölge fibrilizasyon için kritik kısmı oluşturmaktadır ve 3-C terminal bölgesi daha çok diğer proteinlerle etkileşen kısımdır (Clayton 1998).

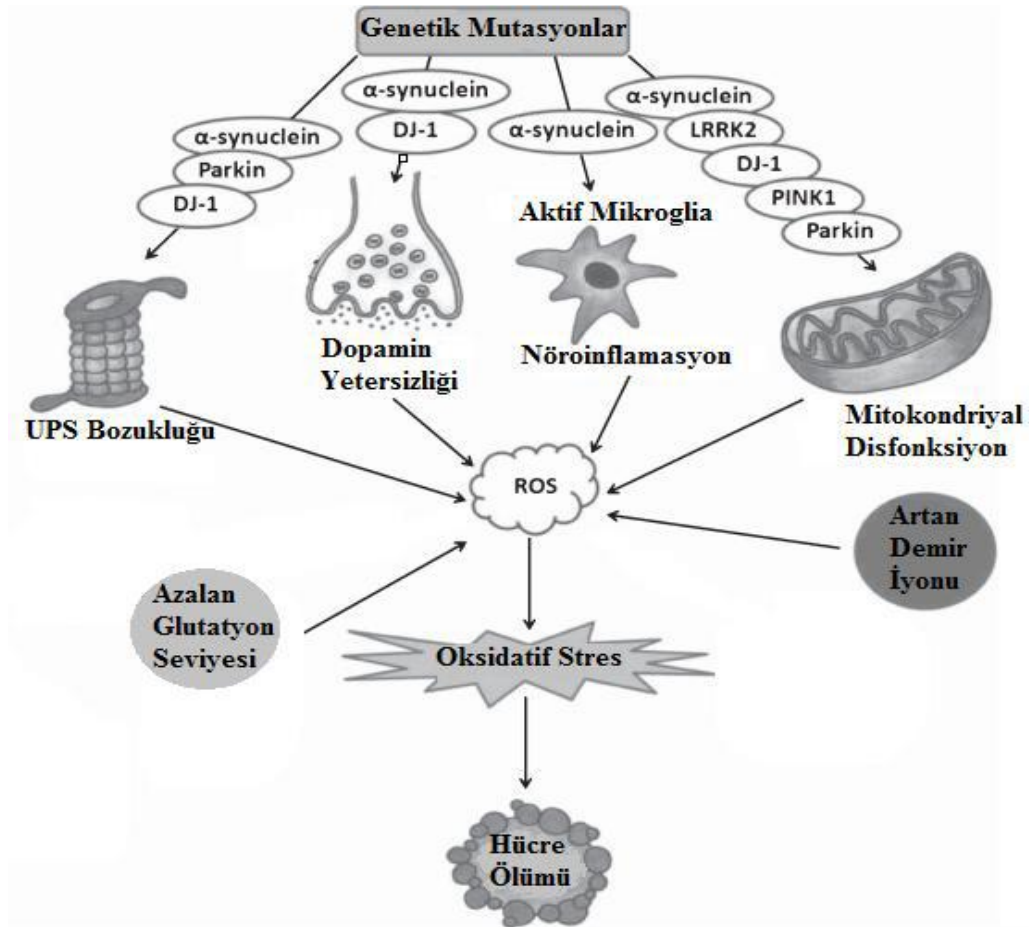


Şekil 1 α -Sinüklein yapısının şematik gösterimi

İn vitro çalışmalar doğal olarak kıvrılmamış ve çözünür halde bulunan α -sinüklein monomerlerinin çeşitli ısı, pH değişiklikleri gibi faktörlerle β plakaları içeren fibriller şeklinde agrege olabildiğini, ailevi PH'da bulunan gen mutasyonlarının (özellikle

Ala53Thr tipi) bu süreci kolaylaştırdığını ortaya koymaktadır (Conway 1998, Giasoson 1999). α -Sinükleinin proteolitik aktivite ile kısa fragmanlara (özellikle NAC bölgesini içeren) bölünmesi, proteinin bu çekirdek yapı üzerinde agregasyonunu kolaylaştırmaktadır (Clayton 1998, Hashimoto 1999a, Hashimoto 1999b). Tüm bu gelişmelere rağmen α -sinüklein agregasyonu ile dopaminerjik nöronların selektif kaybı arasındaki ilişki henüz tam anlaşılammıştır. Ancak, bahsedilen modellerde DA varlığında oluşan serbest radikallerin α -sinüklein toksisitesini artırması, yine α -sinükleinin okside DA formları ile oluşturduğu kovalan yapılanmanın profibril yapısını stabilize etmesi, ve ayrıca çözünebilir α -sinüklein formlarının oksidatif DA metabolizmasıyla tetiklenen apoptotik süreçlerin inhibisyonunda şaperon göreviyle rol alan 14-3-3 proteinini bağlayarak tüketmesi nörodejenerasyondaki seçiciliği açıklayabilecek deliller olarak yorumlanabilir (Conway 2001, Xu 2002).

2.3. Parkinson Hastalığının Patogenezi ve Moleküler Mekanizmalar



Şekil 2 Oksidatif stresi tetikleyerek nigrostriatal yolaktaki dopaminerjik nöronların kaybında rol oynayan mekanizmalar (Dias ve ark. 2013) UPS: Ubikitin Proteazomal Sistem, ROS: Reaktif Oksijen Türleri.

Nigrostriatal yolaktaki dopaminerjik nöronların kaybında çeşitli mekanizmaların rol oynadığı bulunmuştur. Genetik faktörlerden bağımsız gelişen idiyopatik PH'lerde mitokondriyal disfonksiyon ve buna bağlı oksidatif stresin oluşması ile geri dönüşümsüz olarak nöron kaybının tetiklenmesi bu mekanizmalarının temelinde yer almaktadır (Jenner 2003, Beal 2005, Jenner ve Olanow 2006, Parker ve ark. 2008, Zhu ve Chu 2010, Schapira ve Jenner 2011). Hastalarda fazla demir iyonu birikimi de oksidasyonun bir katalizörü olarak rol alır ve var olan oksidatif stresi daha da artırmaktadır (Jomova ve Valko 2011, Núñez ve ark. 2012, Tolleson ve Fang 2013). Oksidatif strese katkı sağlayan bir diğer faktör de glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılması sonucu ortaya çıkan eksitotoksistedir (Olney 1990, Beal 1998, Bano ve ark. 2005). Bu oksidatif strese mikroglia aktivasyonu eşlik etmekte ve beyinde inflamatuvar bir yanıtı tetiklemektedir (Block ve ark. 2007, Schapira ve Jenner 2011). Tüm bu mekanizmalar göz önünde bulundurulduğunda olgularda nöronal kaybın oksidatif stresin indüklenmesi sonucu oluştuğu öne sürülmektedir (Şekil 2) (Dias ve ark. 2013).

2.4. Bazal Gangliya Nöroanatomisi

BG, talamusun (TL) lateralinde ve her iki hemisferin derinlerinde yer alan nöron gruplarıdır.

BG'nin temel parçalarını striatum (kaudat nukleus ve putamen) ve GP (eksternus (GPe) ve internus (GPi)) oluşturur. Diğer iki subkortikal çekirdek, diensefelonda yer alan subthalamic nucleus (STN) ve mezensefelonda yer alan SN (pars compacta ve pars reticulata) ile TL'nin intralaminer nucleusları BG'nin spesifik kısımlarından olmadıkları halde, bu sistemle fonksiyonel ve anatomik olarak ilgilidirler (Waters 2000). GP, GPi ve GPe olmak üzere iki lateral segmentten oluşurken Substantia nigra da iki bölüme ayrılır : SN pars compacta (SNpc) ve SN pars reticulata (SNpr). Putamen ve nukleus kaudatus'a birlikte neostriatum; putamen ve GP'ye, "nucleus lentiformis" de denir (Bolam 2000).

Striatum BG'nin başlıca input çekirdeğini oluştururken GP (İnternus ve eksternus) ise başlıca çıktı (output) bileşenidir. (Waters 2000, Cossette 2005). SN, ventralde yer alan ve sitolojik olarak GP'ye benzeyen pars reticulata ile dorsalde yer alan ve nöromelanin içeren koyu pigmentli pars compactadan oluşmaktadır.

İntralamik nucleuslar serebral korteksten BG'ye doğru ve ters yönde giriş ve çıkış yollarını oluştururlar (Waters 2000).

Striatum BG'nin birincil olarak uyarı alan bölgesidir ve korteksin birçok yerinden eksitatör glutamerjik uyarı alır. Striatumdaki çoğu nöron projeksiyonlarını diğer BG yapılarına yapar. Striatum %90'ı inhibitor etkili gama amino bütirik asit (GABA) nörotransmitterini kullanan orta dikenli GABAerjik projeksiyon nöronlar ve %10 internöronlardan oluşmaktadır. Bu internöronların %2'si kolinerjik internöronlar geri kalanı ise dikensiz GABAerjik internöronlardır (Parent 1995, Hauber 1998).

Striatumdan çıkan uyarılar direkt ve indirekt olmak üzere iki farklı yol izlerler. Direkt ve indirekt yolların kaynaklandığı striatumdaki nöronlar bazı özellikleri açısından birbirlerinden farklıdır. Her iki yolu oluşturan nöronlar da SNpc'den kaynağını alan dopaminerjik aksonlar tarafından modüle edilir ve her iki yolda GABAerjiktir. Direkt yolu oluşturan nöronlar ön planda D1 tipi (D1-D5) dopaminerjik reseptörleri membranlarında bulundururlar ve substans P ile dinorfin isimli nöropeptidlerin ko-lokalizasyonu ile ayırdedilebilirler. Bu nöronları içeren striatum bölgesinde ayrıca TL'dan gelen aksonlar sonlanır. İndirekt yolu oluşturan nöronlar ise öncelikle D2 tip (D2-D3-D4) reseptörlerini bulundururlar, korteks kaynaklı uyarıcı aksonların büyük kısmının sonlandığı yörededirler ve nöropeptid olarak enkefalin ekspresyonu ile karakterizedirler. Dopaminerjik reseptörler açısından söz konusu ayırım çok katı olmasa da bu reseptörlerin özellikleri nedeniyle oluşan modülasyon sonucunda direkt yolun işlevi fasilite olurken indirekt yolun aktivitesi baskılanır. Dopaminerjik etki yok varsayıldığında direkt yolun etkisi TL'un disinhibisyonu ve sonuçta kortikal aktivite artıdır. İndirekt yolun etkisi ise talamik nöronların baskılanması ve kortikal nöronların aktivasyonunun frenlenmesidir (Albin 1989, Wichmann 2003).

Frontal korteksten (motor korteks, premotor alan, suplamenter motor alan, singulat korteks, dorso-lateral ve orbitolateral frontal korteks) ve parietal korteksten gelen BG'nin afferent girdileri direkt yolda, putamene girdikten sonra BG içindeki diğer yollara uğramadan doğrudan GPi ve SNpr'ye yönelirler ve TL üzerinden kortekse geri dönerler. İndirekt yolda ise korteksten putamene giren sinyaller GPe, STN ara istasyonlarından geçtikten sonra çıkış kapısına, yani GPi ve SNR'ye yönelirler ve TL üzerinden kortekse geri dönerler (Parent 1995, Wooten 2001).

D1 tip reseptörü G proteini ile kenetli olup adenilat siklaz aktivitesini stimüle ederek GABAerjik orta dikenli output nöronlarını aktive eder. D2 reseptörleride

Gproteini ile kenetlidir ancak adenilat siklazı inhibe ederek GABAerjik output nöronların aktivasyonunu engeller (Wooten 2001). Buna bağlı olarak direkt (D1 ile) ve indirekt (D2 ile) yolak zıt etkilere sahiptir ancak korteksin motor bölgelerinin aktivasyonunda aynı net etkiyi sağlarlar. Örneğin, direkt striatal GABAerjik yolaktaki D1 reseptörlerinin aktivasyonu TL'yi inhibe eden GABAerjik bağlantıları olan GPi/SNpr inhibisyonuna yol açarak TL aktivitesinin artmasına ve sırayla korteksteki motor bölgelerin uyarılmasına neden olur. Buna alternatif olarak, indirekt yolaktaki D2 reseptörlerinin aktivasyonu striatal inhibitör GABAerjik nöronları inhibe ederek STN üzerine inhibitör GABAerjik bağlantıları olan GPe'nin disinhibisyonu yani inhibisyonun ortadan kalkarak uyarılmasına yol açar. Sonuç olarak GPi/SNpr yi glutamerjik olarak uyaran STN'nin azalan aktivasyonu indirekt olarak TL'nin uyarılmasına yol açarak yine korteksteki motor bölgeleri pozitif yönde etkiler. Ve her iki yolaktada zıt ilerleyen ancak net olarak aynı sonucu veren bir etki elde edilmiş olur (Gerfen 1990, Mink 1996, Wooten 2001). Kısaca özetlemek gerekirse nigrostriatal yolakta DA salınımı sonucu direkt yolu uyarıp indirekt yolu baskılayarak talamokortikal çıkış sinyallerini her iki yolda artırır ve korteks aktive olur bunun sonucunda istemli hareketlerin gerçekleşmesine olanak sağlar (Gerfen 1990).

Normalde bu iki yol dengededir. İdiyopatik PH'nda DA azalması sonucunda bu denge indirekt yolun lehine bozulur. Sonuçta TL üzerine indirekt yolun artmış etkisi ortaya çıkar. BG'den TL'ye çıkışın artması sonucunda kortikal aktivasyonda azalma olur. Bu, parkinsoniyen belirtilerin çoğunun oluşmasından sorumludur (Zileli 1989, Taner 1998, Waters 2000).

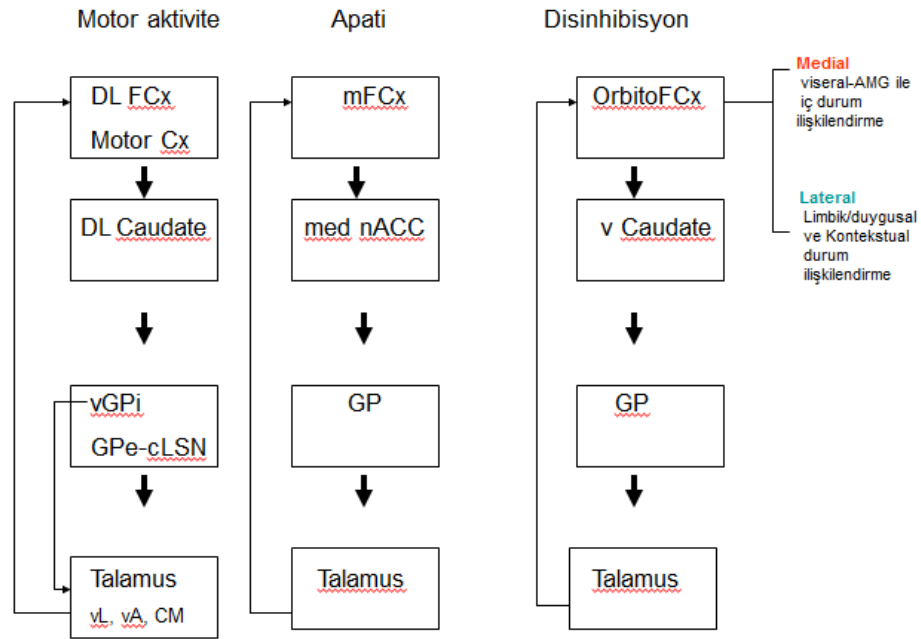
BG'nin ana görevi kontrol, ince ayar ve modülasyondur. İlgili işlevlerini yerine getirebilmek için kontrol edip, ince ayarını yapacağı bölgelerden bilgi almak (afferent uyarılar) ve o bölgelere bilgi vermek (efferent uyarılar) durumundadır.

BG'nin afferent girdilerinin önemli bir kısmı frontal korteksten (motor korteks, premotor alan, suplamenter motor alan, singulat korteks, dorso-lateral ve orbitolateral frontal korteks) bir kısmı da parietal korteksten gelir. Bu afferent sinyaller BG'ye striatum (putamen, nucleus caudatus ve ventral striatum) üzerinden giriş yapar. BG'de işlem gören bilgiler GPi ve SNpr üzerinden çıkış yapar. BG'de işlem gören ve GPi ve SNpr üzerinden çıkış yapan efferent sinyallerin çok büyük bir kısmı TL'ye, küçük bir kısmı ise beyin sapındaki pedinkülopontin nukleusa giderler (Waters 2000).

BG, serebellumun lateral hemisferleri ile birlikte, istemli motor hareketin

planlanması, başlatılması ve ardışık hareketlerin belli bir düzen içinde başarılmasında rol oynar.

- BG, ekstrapiramidal sistemin bir komponenti olarak, öğrenilmiş hareketin bilinçaltı düzeyde, otomatik olarak yerine getirilmesinde, motor kortekse yardımcı olur.
- İstemli bir motor hareket önce korteksin duyuşsal assosiasyon alanlarında 'düşünce' şeklinde ortaya çıkar. BG'nin nucleus caudatus'unda ve serebellar lateral hemisferlerde hareketin planı yapılır. Daha sonra motor korteks inen yollar ile (kortiko-spinal yollar) hareket emrini medulla spinalise yollar. BG ve lateral serebellumda hareket ile ilgili nöronların, hareket başlamadan hemen önce uyarıldıkları saptanmıştır.
- BG'nin (özellikle nucleus caudatus'ta) kognitif (bilişsel) fonksiyonlarla da ilişkisi vardır.
- BG düşünceyi motor eyleme çevirir.



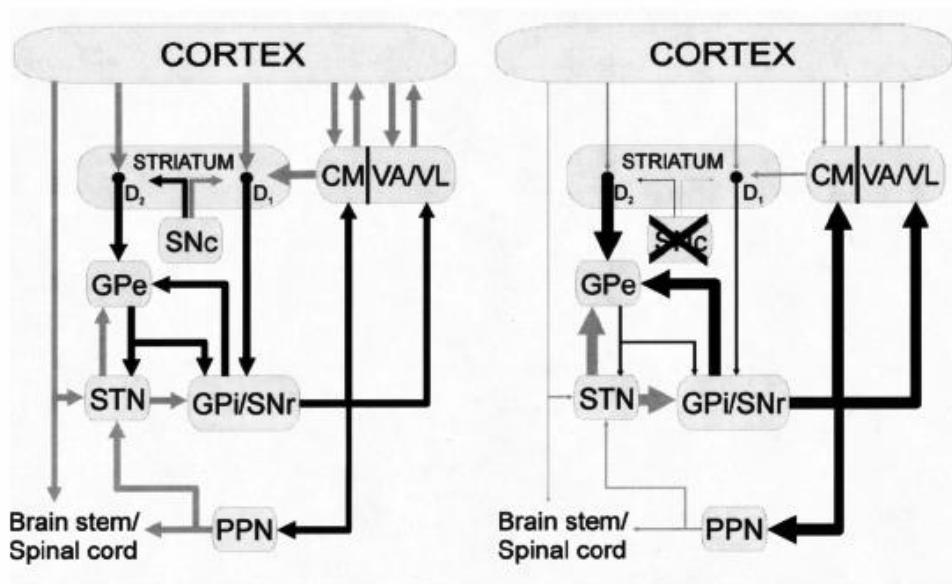
Şekil 3 Motor aktivite, apati ve disinhibisyondan sorumlu talamostriatal devrelerin patofizyolojisi.

DL: Dorsolateral, Cx: korteks, FCx: Frontal korteks, m: Medial, v: Ventral, GP: Globus Pallidus, GPi: Globus Pallidus interna, vL : ventral lateral, vA: Ventral anterior, CM: centro median talamus, nACC: nucleus accumbens, cLSN: caudo lateral substantia nigra

Serebellumdan farklı olarak BG, medulla spinalisden input almaz, bütün uyarıları beyin korteksinden alır. BG, motor kontroldeki rollerine ek olarak duyuşsal ve bilişsel süreçlerde de rol oynar. Striatum hareket başlamadan önce deşarjlarına başlar (hareketin planlanması). Putamen aktivasyonu vücudun, nucleus caudatus aktivasyonu ise göz hareketlerinin oluşumu ile ilişkilidir. Primer görme ve işitme alanları dışında

beyin korteksinin pek çok bölgesi özellikle sensori-motor ve prefrontal kortikal bölgeler striatuma projekte olur.

Temel frontal-subkortikal devreler prefrontal korteksten doğan 3 farklı davranışsal devreden oluşur: motor aktiviteyi modüle eden Dorsolateral-prefrontal devre, motivasyonel mekanizmaları içeren Anterior-singulat devre ve lateral ve medial bölümlerden oluşan orbitofrontal devredir (Şekil 3) (Bonelli 2007).



Şekil 4 Bazal gangliya-talamokortikal devrenin normal koşullar altında (solda) ve PH'de (sağda) şematize edilmiş hali.

SNc: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, GPe: Globus pallidus eksterna, GPi: Globus pallidus interna, PPN: Pedinkulopontin nucleus, STN: Subtalamik nucleus, CM: Centro median (talamus), VA: Ventral anterior (talamus), VL: Ventral lateral (talamus).

Özelliklerinden bahsedilen direkt BG-TL-korteks döngüsünün striyatal nöronların aktivasyonu ile talamokortikal nöronlar üzerindeki baskıyı kaldırdığı ve istemli hareketlerin gerçekleşmesini kolaylaştırdığı varsayılmaktadır. Buna karşın indirekt yolun başlangıcındaki striyatal nöronların aktivasyonu ile BG'nin çıkış kapısındaki aktivitenin, dolayısıyla talamokortikal nöronlar üzerindeki baskının arttığı ve istemli hareketler esnasında, özellikle amaçlanan hareket ile ilişkili olmayan kortikospinal nöronların aktivitesinin engellediği düşünülmektedir. Hareket sırasında GPi nöronlarının çoğunda kaydedilen elektriksel boşalım frekansı artışı bu görüşü desteklemektedir (Wichmann 2003). Yapılan çalışmalar BG devrelerinin hareketin hızı ve genliğinin kontrolünde etkin olduğunu düşündürmektedir.

PH'da nigrostriatal yolda DA aktivitesinin azalmasına paralel olarak direkt yolun baskılanması ve indirekt yolun aktivasyonunun ön plana geçmesi ile bradikinezinin ortaya çıkması bu model ile açıklanabilmektedir (Şekil 4). MPTP ile oluşturulan Parkinsonizm modelinde ve PH'da cerrahi girişimler sırasında yapılan elektrofizyolojik kayıtlarda sağlıklı deneklere kıyasla GPe nöronlarının aktivitesinin azalması, buna koşut olarak STN, GPi ve SNpr nöronlarının aktivitelerinin artması bradikinezinin gelişim mekanizması açısından öne sürülen modeli desteklemektedir. Bunun yanı sıra TL'dan striatumdaki direkt yolu oluşturan nöronlara yönelik uyarıcı aktivitenin azalması, pedinkülopontin nucleus (PPN) üzerinde SNpr'nin baskılayıcı etkisinin artışı ve PPN'nin SNpc ve beyinsapı-medulla spinalis motor nöronları üzerindeki aktive edici etkisinin azalması da bradikineziye katkıda bulunabilir. PPN'nin SNpc üzerinde aktive edici etkisi olduğu ve bu çekirdeğin sağlıklı maymunlarda hasara uğratılmasının parkinsonizm oluşturduğu bilinmektedir (Kojima 1997).

2.5. Parasempatik Sistem

2.5.1. Asetilkolin reseptörleri (AChR)

Kolinerjik Sistem, sempatik ve parasempatik sistemin 1. sıra nöronlarından ve parasempatik sistemin ek olarak 2. sıra nöronlarından oluşur. Bu nöronların ganglionlardaki veya nöroefektör kavşaklardaki akson uçlarından salıverilen ve sinaptik aşırımdan sorumlu olan nörotransmitteri ACh'dir (Kayaalp 2000). ACh reseptörleri (AChR), farmakolojik özelliklerine göre sınıflandırılmıştır. Sınıflandırma nikotin ve muskarin adlı iki alkaloidin reseptördeki farmakolojik aktivitesi üzerine kuruludur. Muskarinik asetilkolin reseptörlerinin (mAChR) antagonisti atropin ile, nAChR'lerin antagonisti d-tübokürarin adlı ajanların tamamen farklı aktiviteleri vardır. Bu da ACh için birden fazla reseptör olduğunu desteklemektedir (Siegel 1999, Kayaalp 2000, Sharples ve Wonnacott 2001).

Nöromusküler kavşaktaki nAChR'leri, N1/Nm reseptörler; ganglionlardaki nAChR'leri N2/Ng reseptörler olarak bilinir. SSS'de bulunan çok sayıda farklı nöronal nAChR vardır. Bunlar kaslardakilerden çok ganglionlardaki nAChR'lerine benzerler. Günümüzde MSS'de en az 10 farklı nikotinik reseptör α alt ünitesi ve 4 farklı β alt ünitesi geni tanımlanmış ve klonlanmıştır (Newman 2002). Nikotinik ve muskarinik

reseptörlerin alttıpleri periferik sinir sisteminde ayrı anatomik lokalizasyonlar gösterirler ve bu da sınıflandırmayı kolaylaştırır. İskelet kaslarının reseptörleri nöromusküler kavşak veya postsinaptik motor son plak bölgesinde birarada bulunmaktadır (Kayaalp 2000). Adrenal bezde parasempatik ve sempatik ganglionlarda postsinaptik nöronlarda ganglionik nikotinik reseptörler bulunur. Ganglionik nikotinik reseptörler embriyonik nöral krestten köken alan dokularda bulunur. Sempatik ve parasempatik ganglionlarda benzer özellikler gösterir. Muskarinik reseptörler postganglionik parasempatik transmisyonundan sorumludur. Ancak terleme, piloereksiyon gibi sempatik sinir sisteminden kaynaklanan olaylar muskarinik reseptörlerce yönetilir (Kayaalp 2000).

2.5.1.1. Nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR)

nAChR'ler, yapıcı ligand kapılı katyon kanallarıdır. nAChR proteini beş polipeptid altünitesinden oluşan pentamerik bir yapıya sahiptir. Altüniteler α , β , γ , δ ve ϵ 'dir. Bu altüniteler bir merkezi boşluk çevresinde yerleşmişlerdir. Bu merkezi boşluk bir iyon kanalıdır. Dinlenme durumunda iyonlara geçirgen değildir. Aktive olduğunda açılmakta ve açık kanal katyonlara selektif hale gelmektedir. Kanal temelde Na^+ , Ca^{+2} ve K^+ katyonlarını geçirmekle beraber, ACh ile aktive edilip açıldığında Na^+ kanalı gibi çalışır ve depolarizasyona yol açar.

İki α altünitesi, γ ile δ altünitelerinin α altünitesine bakan yüzleri agonist ve kompetitif antagonist bağlanma bölgelerini oluşturur. Dolayısıyla α altünitesine ligand bağlanırken, β altünitesi reseptöre ligand bağlanmasını ve reseptörün desensitizasyon hızını modüle eder.

Ligand kapılı katyon kanalı yapısındaki reseptör ailesinin hepsinde α altünitesinde 128. pozisyondaki sistein ile 142. pozisyondaki sistein arasında disülfid köprüsü vardır. Yine α altünitesinde ayırdedici yapısal özellik olarak 192-193. sistein aminoasitleri arasında disülfid köprüsü vardır. α altünitesindeki 185. ve 200. rezidüel agonist ve antagonist bağlanma yüzeylerinin bir kısmını oluşturduğu için önemlidir. Agonist bağlayan bölgeler tirozin ve triptofan gibi aromatik yan zincirler içerirler ki bunlar agonistlerle katyonik etkileşim sağlarlar (Siegel 1999, Kayaalp 2000, Sharples ve Wonnacott 2001).

Her bir altünite polipeptid zinciri 4 tane membranı geçen 4 hidrofobik segmentten oluşur. Bu transmembran bölgeler 210. kalıntıdan sonradır ve molekül extrasellüler yüzeyde amino terminal kısım ile son bulur. Bu 4 segment, M1, M2, M3 ve M4 olarak isimlendirilmektedir. M3 ve M4 arasında geniş stoplazmik bir loop vardır. Bu intrasellüler loop serin/treonin kinazlar içindir. M2 iyon kanalına göre proximaldedir. A

helikal yapıdadır ve kanal lümenine doğru serin ve treonin kalıntıları içerir. Reseptörün iyon kanalının, kanalın derinliklerinde sitoplazmik bölgede yer alan bir kapısı olduğu düşünülmektedir. İyon selektivitesini kanalın çevresinde yerleşim gösteren her 5 altünitenin yüklü aminoasitlerinin oluşturduğu halka kontrol eder. Bu kontrol bölgesi extrasellüler kısımda α -Glu 262'den stoplazmik kısımdaki α -Glu 241'e kadardır. α -Thr 244'e denk gelen pozisyondaki amidlerin hidrojen iskeletleri ve karbonil grupları ve hidroksillenmiş aminoasitlerin oluşturduğu halka ile iyon selektivitesi ve permeabilitesi ayarlanır (Siegel 1999).

nAChR'leri dinlenme konumundayken ACh'ye göreceli olarak düşük affinite gösterir. Agonist bağlandığında, iyon kanalı kapalı-dinlenme konumundan açık konuma geçer, Na^+ , K^+ , ve Ca^{+2} akımı olur. Aktivasyon esnasında ACh'e ilgi artmıştır, allosterik etkileşimle diğer bir ACh molekülünün bağlanması artmaktadır. Yüksek konsantrasyonlarda ACh varlığında ACh'e affinite de artmaktadır. Agonistin ortamdaki varlığının devam etmesiyle iyon kanalı kapanır ve reseptör desensitize olur. Bu durumda, nAChR'ler agonist bağlanmasına yüksek affinite gösterse de aktivasyona dirençlidir. Desensitize haldeki reseptörün birçok durumu vardır. Desensitizasyon ve geri dönüş oranı nAChR alttipine göre değişir. Örn: $\alpha 7$ nAChR çok hızlı desensitize olur. Uzayan agonist uygulaması reseptörü inaktive duruma geçirebilir ve geri dönüşü çok yavaş olur. $\alpha 4\beta 2$ nöronal nAChR'leri kronik nikotin tedavisiyle inaktivasyona eğilimlidir. Dinlenme, açık ve desensitize konumlar arası geçişler reversibldir.

Agonistler, reseptörü aktive (açık) konuma getirirler, antagonistler ise tercihen nAChR'lerini dinlenme veya desensitize konfigürasyonlardan biri şeklinde kapalıkonumda tutarlar (Foye 1995, Sharples ve Wonnacott 2001). nAChR'ler, daha önce değinildiği gibi bir katyon kanalının intrinsik bir bölümünü teşkil ederler veya başka bir deyişle bu kanalla direkt olarak kenetlenmişlerdir. nAChR'lerin ACh ve diğer nikotinic reseptör agonistleri tarafından aktive edilmesi kanalın kısa bir süre için açılmasına neden olur; bu sırada kanalın iletkenliği nisbeten fazlaca artar (gangliyon alt-tipinde 35-40 ve çizgili kas alt-tipinde 35-50 pikoSiemens). nAChR'nin kenetlendiği katyon kanalı tipi esas olarak Na^+ 'u ve daha az derecede olarak Ca^{+2} ve K^+ 'u geçiren kanallardır. Bu kanalların açılması hücreleri depolarize eder; gangliyon ve iskelet kası hücrelerinde eksitator postsinaptik potansiyel (EPSP) oluşturur. Bu potansiyel çizgili kasın nöromüsküler kavşağında son plak potansiyeli diye adlandırılır (Kayaalp 2000). α 'ların en az 10 ve β 'ların en az 4 alttipi vardır ($\alpha 1$ 'den $\alpha 10$ 'a kadar, $\beta 1$ 'den $\beta 4$ 'e kadar). Reseptörün yerine ve tipine göre içerdiği alt birim türleri değişkenlik gösterir.

nAChR'ler otonom ganglionlarda, adrenal kromaffin hücreleri, primer duysal nöronlarda ve iskelet kas liflerinde olmak üzere periferde geniş bir dağılım gösterir (Sharples ve Wonnacott 2001, Newman 2002). Kas son plaktaki nAChR'leri ($\alpha 1$) $2\beta 1\epsilon\delta$ şeklindeki altünite kombinasyonu gösterir halbuki extrajunctional nAChR'leri ($\alpha 1$) $2\beta 1\gamma\delta$ şeklindeki altünite kombinasyonundan oluşur (Fetal ve denerve kaslarda) (Sharples, ve Wonnacott 2001). Beynin hemen her bölgesinde hem presinaptik hem postsinaptik olarak yerleşmişlerdir. nAChR'ler daha çok prejunctionaldır (Kayaalp 2000).

Nikotinik asetilkolin reseptörlerinin alttipleri

Çizgili kasların nöromusküler kavşaklarındaki nAChR'ler ve otonomik ganglionlarla, adrenal medullanın kromaffin hücrelerindeki nAChR'ler belirli blokör ilaçlara karşı duyarlılığının farklı olmasına bakarak ayırt edilmiştir. Bunlardan 1. tip, çizgili kas tipi (N1/Nm) reseptörler ve 2. tip, ganglion tipi (N2/Ng) reseptörlerdir. Daha sonra SSS nöronlarında nöronal nAChR'leri tanımlanmıştır.

Çizgili kas tipi (Nm) reseptörler α -tübokürarin, pankuronyum ve benzeri çizgili kas felç edici ilaçlar tarafından selektif ve güçlü bir şekilde bloke edilirler. Ganglion (Ng) tipi reseptörler heksametonyum, mekamilamin ve diğer gangliyon bloke edici ilaçlar tarafından selektif bir şekilde bloke edilirler; dimetilfenilpiperazinium (DMPP) maddesi bu reseptörlerin selektif bir agonistidir. Bir yılan zehiri olan α -bungarotoksin çizgili kas tipi reseptörleri selektif olarak bloke eder, fakat gangliyon tipi reseptörlere etkisizdir. Diğer bir yılan zehiri κ -bungarotoksin (diğer adıyla nöronal bungarotoksin) gangliyon tipi reseptörleri selektif olarak bloke eder. ACh ve nikotin, çizgili kas ve gangliyon tipi kolinerjik reseptörlerin non-selektif agonistleridir. Nöronal SSS tipi reseptörlerin altbirim bileşimi diğerlerinden farklı olmakla beraber, yukarıda sayılan toksin ve ilaçlara duyarlıkları gangliyon tipi reseptörlerinki ile aynıdır. Nm reseptörler, erişkin kasında 2 tane $\alpha 1$ ve birer tane $\beta 1$, ϵ ve δ alt birimlerinden oluşur, iletkenliği 35-50 pS'dir. Ng'ler genellikle sadece $\alpha 3$ ve $\beta 4$ alt birimlerinden oluşan pentamerlerdir (Kayaalp 2000).

2.5.1.1.1. Nöronal nikotinik asetilkolin reseptörleri

1980'de [3H]-Nikotinin sıçan beyinde bağlanma bölgeleri olduğu ve bu bölgelerin eşsiz nikotinik farmakolojiye sahip olduğu rapor edilmiştir. [3H]-Nikotin, α -bungarotoksin ile bloke olmaz. Bildirilen klonlanmış ilk nöronal nAChR alttipi 1986'da $\alpha 3$ 'dür. Günümüzde memelilerde saptanan nöronal nAChR altüniteleri 11 ($\alpha 2$ - $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 2$ - $\beta 4$) tanedir.

nAChR'leri daha önce de belirtildiği gibi santral ve periferik sinir sisteminin her yerinde bulunurlar. Otonomik nörotransmisyon ve kas kontraksiyonunun başlatılması şeklindeki asıl rolüne ek olarak, SSS'de nAChR'leri daha çok modülatör rolü oynar (Siegel 1999). Nöronal nAChR'leri, PH, Alzheimer, Şizofreni, Tourette Sendromu, Dikkat Bozukluğu gibi hastalıklarla ilişkisi nedeniyle önem kazanmaya başlamıştır. Nöronal nAChR'leri bu hastalıkların tedavisinde ilaçlar için hedef olarak algılanmaktadır (Sharples ve Wonnacott 2001).

Nöronal nAChR'leri, α ve β altünitelerinin pentamerik kombinasyonlarından oluşur, bu da nöronal nAChR'lerine çeşitlilik sağlar. $\alpha 2$, $\alpha 3$ ve $\alpha 4$ altünitelerinin $\beta 2$ ve $\beta 4$ altüniteleriyle ikili kombinasyonları fonksiyonel nAChR'lerini oluşturur, ancak $\alpha 5$ ve $\beta 3$ altüniteleri genellikle fonksiyonel nAChR'lerini oluşturamaz. Bunlar da en azından diğer altünitelerle bir araya gelerek heteromerler oluştururlar. $\alpha 6$ altünitesi, $\beta 4$ ile fonksiyonel nAChR'ler oluşturabilir. Yine $\alpha 6$ altünitesi $\beta 3$ ile kombinasyon oluşturur. $\alpha 6$ altünitesi biyojenik amin içeren nöronlarda lokalizedir. $\alpha 7$, $\alpha 8$ ve $\alpha 9$ altüniteleri sağlam homomerik reseptörler oluştururlar. $\alpha 10$ altünitesi sadece fonksiyonel $\alpha 9$ altünitesi ile birlikte reseptör oluşturacak şekilde ifade edilir. $\alpha 9$ altünitesi içeren reseptörler muskarinik reseptörlerin bazı özelliklerini taşır.

nAChR'lerin alttiplerinden sadece birkaçı detaylı olarak tanımlanmıştır. Bunlardan biri $\alpha 4\beta 2$ 'dir. SSS'de göreceli olarak çok miktardadır, SSS'nin predominant kombinasyonudur. Diğer major alttip $\alpha 7$ 'dir. Genellikle SSS'de ve PSS'de homomerik nAChR şeklinde bulunur. İnvivo şartlarda $\alpha 7$ altünitesi içeren reseptörün yüksek Ca^{+2} permeabilitesi vardır. $\alpha 3$ altünitesi genellikle $\beta 2$, $\beta 4$ ve $\alpha 5$ altüniteleriyle daha çok periferik ganglionlarda bulunmaktadır. SSS'deki nAChR'leri presinaptik lokasyonlarda fonksiyon gösterirler ve nörotransmitterlerin salınımını düzenlerler. Elektrofizyolojik ve mikrodializ çalışmaları sonucunda elde edilen kanıtlar göstermektedir ki glutaminerjik, dopaminerjik, serotonerjik, peptiderjik ve kolinerjik yollar presinaptik nikotinik reseptörlerin kontrolü altındadır (Wonnacott 1997, Siegel 1999).

2.6. Nikotinik Reseptörler ve Parkinson Hastalığı ile İlişkisi

Nikotinik reseptör aktivasyonu striatal dopaminerjik aktiviteyi doğrudan etkilediğinden BG'deki nikotinik kolinerjik sistem ve nigrostriatal hasar ile nikotinik reseptörlerde meydana gelen değişiklikler PH'yi yorumlayabilmek ve semptomatik tedavisinde selektif ilaçlar tasarlayabilmek için anahtar role sahiptir.

2.6.1. Nikotinik reseptörler ve nigrostriatal sistem

2.6.1.1. Nikotinik reseptör aktivasyonu ile motor aktivite ilişkisi

Lokomotor aktivitenin kontrolü oldukça karmaşık ve akıl almazdır ki, basal gangliadaki nikotinik reseptörlerin kaybı PH'de hareket bozukluklarına yol açmaktadır.

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada nikotinin unilateral nigrostriatal hasar sonrasında rotasyonel dönüş davranışını modüle ettiği (Lapin 1987) ve spesifik nikotinik reseptör alttiplerine antisense uygulaması ile lokomotor aktivitede değişiklikler olduğu görülmüştür (Le Novere 1999). Ayrıca, maymunlar üzerinde yapılan çalışmalar nikotin ya da nikotinik agonistlerin parkinsonian semptomları geri döndürmek için L-dopa ile sinerjistik olarak etkileştiğini ancak nikotinik ligandların tek başına hareket bozuklukları üzerinde hissedilebilir bir fark yaratmadığını göstermiştir (Schneider 1998, Domino 1999). Bu bilgiden yola çıkarak L-dopa ile kombine olarak verilen nikotinik ilaçlar, L-dopa dozunun azaltılmasına olanak sağlayarak diskinezi, on-off fenomeni gibi bir çok advers etkinin görülmediği maksimum klinik etkinin sağlandığı bir tedavi olanağı sağlayabilirler (Calon 2000, Graybiel 2000, Nutt 2000, Obeso 2000, Olanow 2000, Ahlskog ve Muentner 2001).

Bunun yanında Parkinson hastalarında nikotinik reseptör aktivasyonunun motor bozuklukları iyileştirdiği görülmüştür. Nikotin patchleri yada sakızı kullanan yaşlı Parkinson hastası bireylerde tremor ve/veya bradikinezinin azaldığı ortaya konulmuştur (Fagerstrom 1994). Buna ek olarak, PH'nin erken evresi ile orta evresinde olan 15 hastada yapılan bir çalışmada kombine olarak kullanılan i.v. nikotin ile nikotin patchlerinin motor performans hızında artış, parmak becerisinde iyileşme gibi motor kontrolde gelişmeler saptanmıştır (Kelton 2000). Tek başına sigara içmek bile PH'nin erken evrelerinde tremor, rijidite ve bradikinezide azalma yapmaktadır (Ishikawa ve Miyateke 1993).

Özet olarak nikotin ya da selektif nikotinik reseptör agonistlerinin monoterapi ya da L-dopa ile kombine tedavide nigrostriatal hasara bağlı lokomotor disfonksiyonu iyileştirdiği görülmüştür.

2.6.1.2. Nikotinin nigrostriatal dejenerasyona karşı koruyucu etkisi

Nikotinik reseptörlerin uyarımı sadece lokomotor aktivite üzerinde akut iyileştirmeler yapmakla kalmaz ayrıca nigrostriatal nöronlarıda toksik etkenlerden korur. Kültür sistemlerinde, nikotin ön-uygulamasının striatal, kortikal, serebellar ve mezensefalik nöronları glutamat ile indüklenen nörotoksisiteden koruduğu görülmüştür (Akaike 1994, Marin 1994, Shimohama 1996, Sullivan 1997, Kaneko 1997, Meyer 1998, Minana 1998, Maggio 1998). Nikotine maruz bırakılan farklı sistemlerde β amiloid toksisitesini (Kihara 1997, Kim 1997, Meyer 1998), etanole bağlı toksisiteyi (Li 1999) ve sinir büyüme faktörü deprivasyonunu (Meyer 1998) azalttığıda kanıtlanmıştır.

Rodentlere in vivo olarak nikotin uygulamasının nigrostriatal hasara karşı koruyucu etkisi yine benzer sonuçlar vermiştir. Sıçanlara kronik nikotin infüzyonu striatum ve SN'deki dejeneratif etkiyi azaltmaktadır (Janson 1988,1991, Fuxe 1990).

İlginç olarak hayvan modelleri ile yapılan çok sayıda in vivo ve in vitro çalışmanın yanında epidemiyolojik verilerde sigara kullanımının PH'de nöroprotektif rol oynayarak gözle görülür bir azalma yarattığını göstermektedir. sigara içerisinde bulunan bir çok kimyasal biyolojik sürece etki edebilecek potansiyelde olduğundan sigaranın nöroprotektif etkisinin neye bağlı olduğunu açıklamaya çalışan sayısız hipotez ortaya konmuştur. Bunlardan olası bir tanesi de tütün içerisinde tanımlanamayan bir bileşik metabolik enzim aktivitesini değiştirmektedir. Bu fikir ile tutarlı olarak sigara içen bireylerin beyinlerinde monoamin oksidaz (MAO) A ve B aktivitesinin azaldığı görülmektedir (Fowler 1996 a,b). Bu sayede DA'nın enzimatik oksidasyonunun azaltıp oksidatif stresi düşürerek ya da toksisite potansiyeli olan ksenobiotiklerin MAO aracılı aktivasyonunu bloke ederek nöroproteksiyon sağladığı öne sürülmüştür(Langston 1996, Jenner 1998). Bizim bu çalışmada üzerine yoğunlaştığımız asıl olasılık ise; tütün ürünleri içerisindeki nikotinin çok iyi bilinen bir meziyeti olan SSS dopaminerjik sistem ile etkileşimi sayesinde nöroprotektif etkiyi sağlamasıdır.

2.6.1.3. Nikotinik reseptör aktivasyonunun bazal gangliyadan dopamin salınımını uarması

Olası ve oldukça önemli primer hücrel mekanizmalardan biride nikotinin striatumdaki nikotinik reseptörlerle etkileşerek nigrostriatal fonksiyonu modüle etmesidir (Wonnacott 1997, Macdermott1999). Bu düzenleme çok yönlüdür ve dopaminerjik terminallerdeki nikotinik reseptörleri direkt olarak uyararak DA salıverilmesine yol

açmasının yanısıra daha kompleks bir mekanizma olan striatal glutamerjik afferentlerdeki nikotik reseptörleri uyararak glutamat ile hemen ardından da DA salıverilmesine yol açar (Giorguieff 1976,1979, Westfall 1976, Rapier 1988, Grady 1992, Sacaan 1995, Sershen 1995, Soliakov 1995, Clarke ve Reuben 1996, Marshall 1997, Dluzen ve Anderson 1998, Kaiser ve Wonnacott 2000, Zhou 2001). Striatal sinir terminallerindeki bu harekete ek olarak DA hücre gövdelerine nikotinin iyontoforetik uygulaması SN'nin zona compacta bölgesinde nöronal ateşlemeyi hızlandırır (Lichtensteiger 1982, Clarke 1985a). Tüm bu çalışmalarda ortaya konulduğu üzere nikotin hem hücre gövdesinde hem de sinir ucu düzeyinde nigrostriatal dopaminerjik fonksiyonu modüle etmektedir.

2.6.1.4. Bazal gangliadaki nikotik reseptör çeşitliliği

Nikotinin hücre salınımına etki ederek bunun sonucunda fizyolojik fonksiyonları modüle etmesi ve/veya nöroprotektif etki oluşturması gibi farklı yanıtlar açığa çıkardığı mekanizmaları tam olarak anlayabilmek için bunların temelinde yatan nikotik reseptör alttiplerini tanımak son derece önemlidir. Nikotin genel olarak multipl altünitelerden oluşan ligand kapılı kanallar üzerinden etki etmektedir. Aslında 12 adet nöronal nikotik reseptör alttipi tanımlanmıştır. Bunlar, ligandın bağlandığı bölgeyi kodlayan $\alpha 2-10$ altüniteleri ve yapısal altüniteler olan $\beta 2-\beta 4$ altüniteleridir (Dani ve Heineman 1996, Lindstrom 1996, Role ve Berg 1996, Albuquerque 1997, Gerzanich 1997, Wonnacott 1997, Changeux 1998, Jones 1999, Lukas 1999, Cordero-Erausquin 2000, Paterson ve Nordberg 2000, Dani 2001, Dwoskin ve Crooks 2001). Bu altünitelerin pentamerik olarak bir araya getirdiği ve birçok farklı fonksiyonu üstlenen nikotik reseptör tipi bulunmaktadır. $\alpha 7-\alpha 9$ altünitelerinden oluşanlar α -bungarotoksin ile bağlanabilen homomerik yapıda kanallar $\alpha 2-\alpha 6$ altünitelerinden oluşanlar genellikle $\beta 2-\beta 4$ altüniteleri ile kombine yapıda bulunan kanallardır.

Polimeraz zincir tepkimesi (PCR) gibi çeşitli yöntemlerle yapılan çalışmalarda kemirgen striatumunun $\alpha 3-5-7-$ ve $\beta 2-\beta 4$ altünitelerini, SN'nin ise $\alpha 2-7$ ve $\beta 2-\beta 4$ altünitelerini içerdiği görülmüştür (Wada 1989, Dineley-Miller ve Patrick 1992, Marks 1992,1996, Seguela 1993, Le novere 1996, Winzer-Serhan ve Leslie 1997, Charpantier 1998, Elliott 1998). Maymunlar üzerinde yapılan çalışmalarda ise maymun striatumunda $\alpha 4-7$ ve $\beta 2-\beta 4$ altüniteleri, BG'de ise $\alpha 2-4-7$ ve $\beta 2-\beta 4$ altüniteleri bulunmuştur (Quik 2000a,b, Han 2000). Rodentler ve maymunlar üzerinde yapılan çalışmalar kadar yaygın olmasada insan beyni üzerinde de bir çok çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar insan striatumunda $\alpha 4-7$ ve $\beta 2$

altünitelerinin bulunduğunu göstermiştir (Rubboli 1994, Court ve Clementi 1995, Breese 1997, Agulhon 1998).

Bazal gangliya fonksiyonunda önemli olan nikotinik reseptör alttipleri:

1. $\alpha 4\beta 2$ nikotinik reseptörü:

Hem kemirgenlerde hemde primatlarda striatum ve SN'de görülen nikotinik reseptördür. Bu reseptörler nigrostriatal terminallerden DA salınımının düzenlenmesinde ve nikotinin lokomotor uyarıcı etkisinde anahtar rol oynar (Stolerman 1997, Grottick 2000, Kempstil ve Pratt 2000). Ciddi nigrostriatal hasar rodentlerde (Schwartz 1984, Clarke ve Pert 1985), maymunlarda ve PH'de striatal dokuda $\alpha 4\beta 2$ reseptörlerindeyden neden olur (Aubert 1992, Perry 1995, Court 2000, Hellstorm ve Court 2000) fakat bu bölgelerin kaybının BG disfonksiyonu ile gözlenen motor ve diğer hasarların ortaya çıkmasında rol oynaması olası değildir.

2. $\alpha 6$ nikotinik reseptörü:

Davranış çalışmaları $\alpha 6$ reseptörünün lokomotor aktivitedeki anahtar rolüne dikkat çekmektedir. $\alpha 6$ altünitesine oligonükleotid uygulaması sıçanlarda nikotinin lokomotor aktivite üzerine etkisini azaltmıştır. Buda bu altüniteyi içeren reseptörlerin nigrostriatal sistemde nikotinin bazı etkilerine aracılık ettiğini düşündürmektedir (Le novere 1999).

3. $\alpha 7$ nikotinik reseptörü:

Rodentlerde, maymunlarda ve insanlarda $\alpha 7$ reseptörlerinin striatumdaki yoğunlukları diğer reseptör alttiplerine göre daha düşük olsada (Marks 1996, Quik 2000b, Court ve Clementi 1995) striatal DA salınımının düzenlenmesinde rol oynadıkları düşünülmektedir (Kaiser ve Wonnacott 2000). Davranış çalışmaları bu reseptörlerin nikotinin lokomotor stimulan etkisine aracılık etmez ve oluşturduğu yanıtlar α -bungarotoksin yada AR-R17779 ile bloke edilemez (Stolerman 1997, Grottick 2000, Kempstil ve Pratt 2000). Ancak $\alpha 7$ reseptörleri nöromodülasyon, sinaptik plastisite ve nöroproteksiyonda rol oynamaktadır (Role ve Berg 1996, Wonnacott 1997, Jones 1999, Dani 2001).

4. Diğer altüniteleri içeren nikotinik reseptörler:

Nikotinik reseptör altünite çeşitliliğinin fazla olması bu altünitelerin çeşitli şekillerde biraraya geldiğinde ortaya çıkan reseptör tiplerinin oldukça fazla olduğunu göstermektedir.

Yabanıl ve mutant sıçan ve farelerden alınan kesitlerle yapılan çalışmalarda dopaminerjik nöronlarda $\alpha 4\alpha 5(\beta 2)_2$ ve $\alpha 4\alpha 6\alpha 5(\beta 2)_2$ reseptör alttiplerinin bulunduğunu göstermiştir. İlave olarak $\beta 3$ altünite mRNAsının SN'de eksprese olduğu bilinmektedir. (Le Novere 1996, Han 2000, Quik 2000b). Bu sonuçlarla tutarlı olarak bu altüniteyi içeren reseptör alttiplerinin BG fonksiyonunda rol oynadığı düşünülmektedir. Özellikle $\beta 3$ knockout farelerde lokomotor aktivitede azalma görülmesi bunu doğrulamaktadır (Booker 1999).

2.7. Nigrostriatal Dopaminerjik Nöronlar

Şimdiye kadar yapılan çalışmaların sonucuna dayanarak nikotinik reseptörler hem SN de hemde striatumda çeşitli nörotransmitterlerin hücre gövdesinde ve sinir terminallerinde lokalizasyon göstermektedirler (Quik 2002, Gotti 2004). Bu nöronlar:

1.Nigrostriatal dopaminerjik nöronlar:

6-OHDA nörotoksinleri nigral dopaminerjik nöronları yok ettiğinden, bu nörotoksinin uygulanmasıyla ortaya çıkan nigral $\alpha 3-\alpha 7$ ve $\beta 2-\beta 4$ mRNA larındaki azalma bu altünitelerin dopaminerjik nöronlarda yer aldığı fikrini doğurmuştur (Charpantier 1998, Elliott 1998, Quik 2000b).

Sıçanlardan, yabanıl farelerden ve $\alpha 4(-/-), \alpha 7(-/-), \beta 2(-/-)$ farelerden alınan nigral kesitlerin elektrofizyolojik kayıtları ile kombine yürütülen single cell RT-PCR çalışmaları $\alpha 4, \alpha 5, \alpha 6, \beta 2$ altünitelerinin yanında $\alpha 7$ ninde nigral dopaminerjik nöronlardaki varlığını kanıtlamıştır.(Kulak 1997, Klink 2001). Dahası immunohistokimyasal yaklaşımlar $\alpha 6$ ve $\beta 2$ altünitelerini içeren reseptörler ile $\alpha 4$ ve $\beta 2$ den oluşan reseptörlerinde nigral dopaminerjik hücre gövdelerinde ve/veya striatal sinir terminallerde olduğunu göstermiştir (Kulak 1997, Kaiser 1998, Sorenson 1998, Arroyo-Jim nez 1999, Sharples 2000, Jones 2001).

$\alpha 2-\alpha 7$ ve $\beta 2-\beta 4$ altünitelerini içeren reseptörlerin SN'de dopaminerjik hücre gövdelerinde ve striatal dopaminerjik terminallerde olduğunu destekleyen birçok çalışma yürütülmektedir.

2. GABAerjik nigral nöronlar:

Klink ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada sadece nigral DA nöronlarındaki değil GABAerjik nöronlardaki nikotinik reseptör çeşitliliğinin de ortaya koymuştur (Kulak 1997). Nigradaki GABA nöronları aynı zamanda $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$, $\alpha 4\alpha 6\alpha 5(\beta 2)_2$, $(\alpha 7)_5$ reseptör alttıplerine sahiptir.(Tsuneki 2000, Klink 2001).

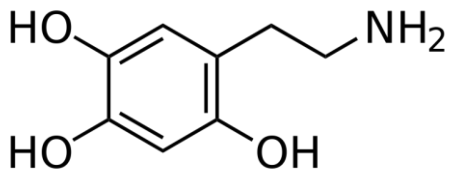
3. Striatum glutamaterjik sinir terminalleri:

Kaiser ve Wonnacott (2000) tarafından yapılan çalışmalar glutamaterjik ve nikotinik reseptörlerin striatal DA salınımını kontrol altında tuttuğunu açığa çıkarmıştır. Bu çalışmalar ile glutamat salınımı ile ardından dopaminerjik terminallerdeki presinaptik glutamat reseptörlerini aktive ederek DA salınımını uyaran striatal glutamaterjik afferentlerdeki presinaptik $\alpha 7$ nikotinik reseptörlerinin varlığı kanıtlanmıştır.

4. Striatuma giren serotonerjik raphe afferentleri:

Selektif serotonerjik nörotoksini 5,7dihidroksitriptamin'in sıçanlara verilmesi striatal 3H nikotin bağlanma bölgelerinin kaybına yol açmıştır. (Schwartz 1984). Bu da $\alpha 4\beta 2$ reseptörlerinin bir kısmının raphe çekirdeğindeki afferentlerde de bulunduğunu göstermektedir.

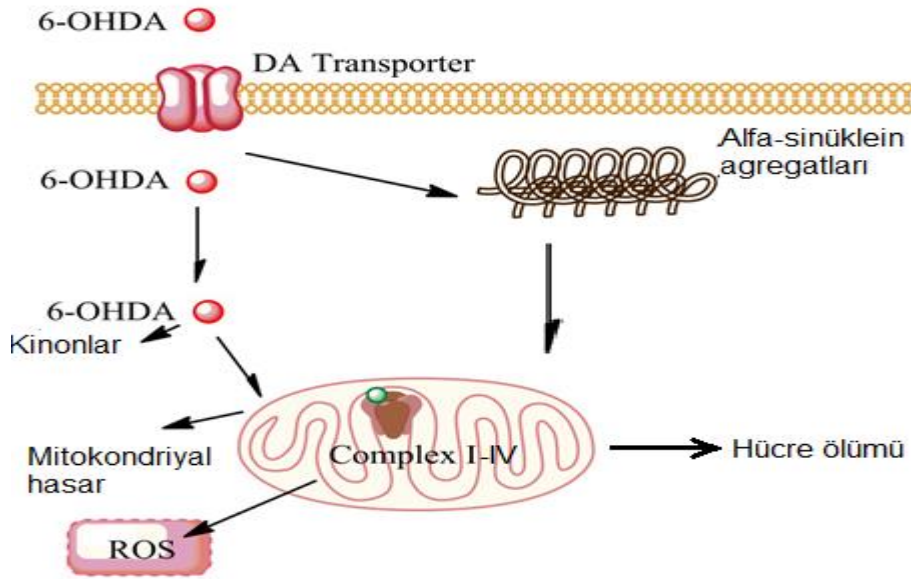
2.8. 2,4,5-Trihidroksifenilettilamin (6-OHDA) Sıçan Parkinson Hastalığı Modeli



Şekil 5 6-OHDA molekülünün yapısı

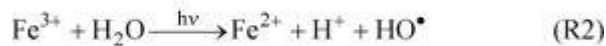
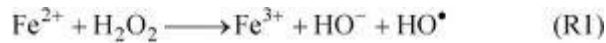
2.8.1. 6-OHDA otooksidasyonu

Dopamin taşıyıcıları (DAT) ile hücre içine alınan 6-OHDA molekülleri α -sinüklein agregatlarının oluşumuna ve mitokondriyal hasara neden olmaktadır. Bu süreçte kinonlar ve serbest oksijen radikalleri (ROS) açığa çıkarak hücreyi ölüme sürüklemektedir (Şekil 6).



Şekil 6 6-OHDA'nın hücre içine alınması ve hasar mekanizması

Fizyolojik koşullar altında, 6-OHDA hızla ve nonenzimatik olarak oksitlenerek H_2O_2 ve p-kinon açığa çıkarır. Henüz tam olarak açıklanabilmiş olmasa da bunu izleyen oksidatif reaksiyonlar tarafından açığa çıkarılan ROS metabolitleri ile nörotoksik etki yaptığı bilinmektedir (Cohen 1976, Cadet 1989, Ben-Shachar 1991, Kumar 1995).



Şekil 7 Fenton reaksiyonu ile serbest radikal oluşumu

6-OHDA'nın otooksidasyonu sonucu oluşan H_2O_2 ; Fenton reaksiyonu ile demir iyonu varlığında kolaylıkla indirgenerek yaşayan hücreler için en zararlı serbest radikal olan OH^- iyonu açığa çıkmasına neden olur (Şekil 7).

2.8.2. 6-OHDA nörotoksitesinin mekanizması

6-OHDA, PH patogenezi ve ilerlemesini araştırmak amacıyla (Breese ve Breese 1998) oldukça yaygın olarak kullanılan seçici bir katekolaminerjik nörotoksindir. (Ungerstedt 1968). 6-OHDA nörotoksininin seçiciliği katekolaminerjik nöronlara spesifik

olan transport mekanizmaları tarafından geri alımı ve birikimiyle ilişkilidir (Jonsson ve Sachs 1970, Ljungdahl 1971) .

PH hayvan modelleri arasında en popüler olanı sıçanlarda 6-OHDA'nın medial ön beyin demeti (MFB)'ye ya da SN'ye unilateral stereotaksik enjeksiyonudur. Bu 2 model sayesinde nigral dopaminerjik nöronlar ve onların striatumdaki terminallerinin tamamı ya da neredeyse tamamına yakını hasarlanmış olur. Ve bu şekilde sınırlı bir alan içerisindeki DA seviyesi azaltılmış olur.

6-OHDA'nın model oluşturmanın yanı sıra; PH patogenezinde de olası nörotoksik ajan olduğu öne sürülmüştür. Bu iddianın nedeni PH hastası olan sıçan (Senoh 1959) ve insanların (Curtius 1974) hem beyinde hem de idrarında (Andrew 1993) ortaya çıkan 6-OHDA metabolitinin saptanmasıdır.

6-OHDA nörotoksitesi ile ilgili olarak bir başka mekanizma ise; 6-OHDA' nın direkt olarak mitokondriyel respiratuar enzimleri (kompleks 1 ve 4) üzerindeki potansiyel inhibitör etkisine bağlı olduğudur (Glinka 1997). Bu enzimlerin blokajına bağlı olarak hücre içi ATP'nin tükenmesiyle nöronlar normal fizyolojik fonksiyonlarını yerine getiremezler ve sonucunda ölümler (Blum 2001).

6-OHDA nörotoksitesi ile ilgili bu iki görüş her ne kadar biokimyasal olarak bağımsız olsa da in vivo ortamda sinerjistik etki oluşturduğu düşünülmektedir (Glinka 1997). Temel olarak PH dopaminerjik nigrostriatal yolaktaki dejenerasyondan kaynaklandığı için; geliştirilen hayvan modelleri 6-OHDA'nın dopaminerjik sistemde yol açtığı lezyonlardan faydalanmaktadır. DA hem dopaminerjik hem de noradrenerjik sinir uçlarından taşınabilir. Gereken seçiciliği sağlayabilmek için 6-OHDA uygulamasından önce noradrenalin transporterını bloke eden desipramin verilerek DA'nın noradrenerjik sinir hücrelerine alınımı büyük ölçüde önlenmiş olur. Nigrostriatal yolak için daha fazla seçicilik; bu yolağın belirli bölümlerine toksinin enjekte edilmesiyle sağlanabilir.

Klinik öncesi hayvan deneylerinde sıçan modeli oluştururken 6-OHDA; SNpc, MFB ya da kaudat-putamen kompleks (CPu) yapılarından birisine enjekte edilir.

2.8.3. 6-OHDA'nın SNpc bölgesine enjeksiyonu ile model oluşturulması

PH için daha seçici bir model oluşturmak ve daha sınırlı bir alanda DA yoksunluğu oluşturmak için 6-OHDA'nın SNpc bölgesine verilmesi gerektiği

belirlenmiştir. Unilateral ya da bilateral 6-OHDA enjeksiyonu ile SNpc bölgesinde yaklaşık olarak %88'e varan dopaminerjik nöron kaybı görülmektedir (Carman 1991).

İlginç olarak; SNpc'ye hem laterale tek enjeksiyon hemde medial ve laterale çift enjeksiyon ile 6-OHDA verildiğinde medial SNpc'deki dopaminerjik hücrelerin lateral SNpc'dekilerden daha fazla korunduğu görünmüştür (Carman 1991, Dentresangle 2001). Bu da PH hastalarındaki temel hücre kaybının lateralde olup; sağ kalan dopaminerjik hücrelerin de medial'de bulunduğunu göstermektedir (German 1989, Goto 1989). Ayrıca çok ilginç olan bir diğer konuda lezyonlanan SNpc'de kalan Tirozin hidroksilaz (TH) immunreaktif nöron sayısı ile apomorfine ile indüklenen dönme sayısı korelasyon gösterirken D-amfetaminle indüklenen dönme sayısı arasında bir bağlantı kurulmamıştır (Carman 1991). Ayrıca CPU'daki TH-immunoreaktif fiberlerin dağılımının nigral hücre korunumuna paralel bir şekilde olduğu görülmüştür: lezyon tarafındaki lateral CPU normalden daha az yoğunlukta innerve edilmiştir (Carman 1991). Buna ek olarak TH-immunoreaktif aksonlar tarafından innerve edilen CPU bölge yüzdesi SNpc'deki TH-immunoreaktif hücre sayısı ile doğru orantılıdır. Son olarak yine TH-immunoreaktif aksonlar tarafından innerve edilen CPU bölge yüzdesi apomorfine ile indüklenen dönme sayısı ile de doğru orantılıdır. Buna rağmen amfetaminle indüklenen dönme sayısı arasında bir bağ bulunamamıştır. Bu nedenle; SNpc'deki bölgesel lezyonlarla oluşturulan bu hayvan modelinde SNpc'deki hücre kaybı ve CPU'daki akson kaybını apomorfine ile indüklenen dönme testi sayesinde gözlemlenebilmektedir.

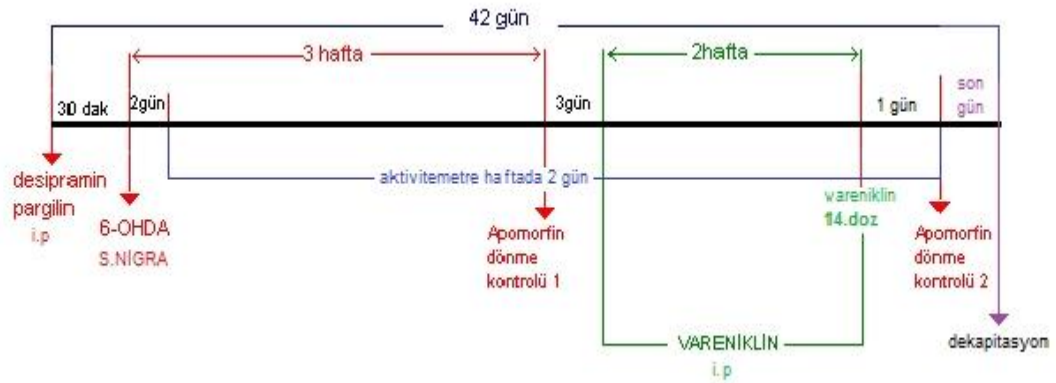
2.9. Hipotez

Davranışsal olarak saptanabilen Unilateral 6-OHDA sıçan PH modeli oluşturulması, PH ile ilgili nAChR altünitelerinin önemi ve $\alpha 4\beta 2$ parsiyel agonisti ve $\alpha 7$ tam agonisti olan vareniklinin olası iyileştirici etkilerinin farmakolojik (davranışsal ve moleküler olarak) ortaya çıkarılmasıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deneysel Protokolü

Çalışmada ağırlığı 200-250g olan toplam 30 adet erkek sıçan kullanılmıştır. Deneysel hayvanlarının beslenmeleri serbest bırakılmış, oda ısısında, %50±5 nem oranında ve 12 saat karanlık/ aydınlık ortamda yaşamları sağlanmıştır. Çalışma sonunda tüm sıçanlara dekapitasyon yolu ile ötanazi uygulanmıştır. Tüm deneysel aşamalar Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneysel Etik Kurulu yönergesine ve İyi Laboratuvar Uygulamaları Kılavuzuna göre yürütülmüştür. Etik Kurul onayı ekteydir.



Şekil 8 Çalışma protokolü ve zaman çizelgesi

3.2. 6-OHDA ile PH Modeli Oluşturulması:

Stereotaksik çalışmalardan önce deneklere noradrenerjik nöronların zarar görmesini engellemek için 30 mg/kg i.p. desipramin ve 10mg/kg i.p. pargilin verilmiştir. Sıçanlar, 80-100 mg/kg Ketamin- 10mg/kg Ksilazin ile anestezi edildikten sonra stereotaksa yerleştirilip sabitlenmiştir.



Şekil 9 Stereotaksik cerrahi işlem uygulanması

6-OHDA ile PH modeli oluşturulmak istenen sıçanlara 6-OHDA 2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ yoğunluğunda %0.1 askorbik asid içinde çözülerek SN bölgesine unilateral olarak sağ tarafa verilmiştir. Toplam 6-OHDA miktarı olan 8 μg , 4 μl içinde ve perfüzyon pompası ile 1 $\mu\text{l}/\text{dk}$ oranında injekte edilmiştir. İnjesiyonlar Paxinos -Watson sıçan beyin atlasına göre ve aşağıdaki koordinatlarda (mm) yapılmıştır: anteroposterior (AP) -4.8mm (bregmadan), lateral (L) 2.4mm (Midsagittal sütürden), ve dorsaventral (DV) 8mm (kafatası yüzeyinden) koordinatlarına verilmiştir (Şekil 9). Kontrol grubundaki sıçanlara aynı koordinatlara kanül ile girilip salin verilmiştir. Cerrahi işlemlerden sonra üç gün boyunca sıçanlara 100000 IU i.m. penisilin ve 5mg/kg s.c. deksketoprofen verilmiştir.

6-OHDA enjeksiyonunun 3. gününden itibaren haftada 2 kez aktivitemetre ölçümü yapılmıştır. PH modelinin oluşması için 6-OHDA'dan sonra beklenen 3 haftalık sürenin sonunda apomorfinle indüklenen dönme testi yapılmıştır. Apomorfin verilerek kontralateral yönde dönüşler ile PH olduğu kanıtlanan sıçanlara (PH sıçanlar) 3 gün sonra nAChR agonist olarak 1mg/kg/gün i.p. vareniklin 14 gün boyunca verilmiştir. Deney sonunda sıçanlar dekapite edilerek Dot Blot ve Immunhistokimyasal analiz için beyin dokuları saklanmıştır.

Çalışmada kullanılan sıçanlar üç ayrı gruba ayrılmıştır: 1.Kontrol+salin (n=10), 2. PH + salin (n=10) ve 3.PH+ Vareniklin (n=10)

3.3. Davranışsal Testler

3.3.1. Apomorfin ile indüklenen dönme testi

Denekler 28 cm çapı ve 38 cm yüksekliği olan bir silindir içine konularak 5 dk alışma süresinden sonra 0.5 mg/kg i.p. Apomorfin HCl verilmiştir. Enjeksiyondan bir dakika sonra, 60 dakika boyunca 360 derecelik dönme sayısı hesaplanmıştır. Kontralateral ve ipsilateral dönmeler sırasıyla pozitif ve negatif skor olarak kabul edilerek ve net dönme sayısı pozitif dönme – negatif dönme olarak tanımlanmıştır (Fujita 1996).

3.3.2. Open field aktivitemetre testi:

Sıçanlarda open field aktivite ölçümü için 42x42x42cm ölçülerindeki aktivitemetre (May Act 508) kullanılmıştır. Kızıl ötesi ışığa geçirgen transparan kafes ile etrafını şerit halinde saran kızıl ötesi alıcılardan oluşan ve veri kayıt sistemine bağlı otomatik bir cihazdır. Bu kafes içindeki deney hayvanı herhangi bir hareket yaptığında karşılıklı IR sensörler arasındaki iletişimi kestiği için deneğin yaptığı hareketin şekline göre aktiviteleri farklı parametreler şeklinde kaydedilmiştir. Üç cm yükseklikte bulunan alıcılar yatay hareketleri algılarken, 15cm yükseklikte bulunanlar ise dikey hareketleri algılamaktadır.

Bu sistem sayesinde hayvanın deney süresince gittiği toplam hareket mesafesi, stereotipik hareket yüzdesi, dikey hareket sayısı, ambulatuvar hareket yüzdesi ve hareketsizlik (resting) yüzdesi elde edilmiştir. Toplam hareket mesafesi cm cinsinden hayvanın kayıt süresince aldığı yoldur. Deneğin kafes içinde dikilme haricinde yaptığı her türlü yer değiştirme (gezinme) hareketleri de “ambulatuvar hareket” olarak değerlendirilir. Test süresi içerisinde deney hayvanının yer değiştirme ve dikilme hareketleri yapmaksızın olduğu yerde yaptığı hareketler “stereotipik hareket” olarak; üst sensörler yardımı ile algılanan dikilme hareketleri (arka ekstremiteleri üzerinde yükselme) ise “dikey hareket” olarak kaydedilmiştir.

Sıçanlar davranış ve lokomasyon analizi için transparan kafes içine teker teker bırakılarak 3dk boyunca kayıt edilmiştir Haftada 2 kez tekrarlanan bu test sayesinde lokomotor aktivitedeki artma ya da azalma saptanmıştır.

3.3.3. Silindir test

Bu test tek taraflı nigrostriatal hasardan sonra motor fonksiyonun ve Parkinsonizm'in değerlendirilmesi için kullanılmaktadır. Hayvanlar şeffaf bir silindire (20cm çapında - 30cm yüksekliğindeki) yerleştirilir ve 5 dakikalık süre zarfında gözlemlenerek değerlendirilir. Hayvanın gözlemciye arkası dönük iken de önkol hareketlerinin görüntülenebilmesi için silindirin arkasına bir ayna yerleştirilir. Deneğin ayakları üzerindeyken sağlam (lezyon tarafına ipsilateral) ve bozulmuş (kontralateral) kolları ile silindir duvarını incelemesi veya düşmesi izlenir, total kol kullanımı ile karşılaştırılır ve % kullanım olarak ifade edilir.

1-Bozulmamış kol kullanımı; 2-Bozulmuş kol kullanımı; 3-Sol ve sağ kolların ayaktaiken veya duvar boyunca lateral hareketlerde simültane kullanımı; 4-ayaktayken inişe geçerken sol ve sağ kolların simültane kullanımı (Schallert 2000)

Silindir testi 15 gün boyunca vareniklin uygulamasından hemen önce ve vareniklin enjeksiyonundan 60dk sonra uygulanmıştır.

3.3.4. Önkol yerleştirme asimetrisi testi

Vibrissae (bıyık kılı) ile gerçekleştirilen önkol yerleştirme asimetrisi testinde denekler kol ve bacaklar serbest kalacak şekilde gövdelerinden tutulur, sakinleştirme, kas gevşemesini kolaylaştırmak ve çırpınmayı önlemek amacıyla, yukarı-aşağı sallanır. Her denemede ilgili kola taraf olan vibrissae bir masa kenarına dokundurulur. Bu test bir defa/deneme olarak 10 kez yapılır. Lezyonsuz denekler her iki kolu masa üzerine koyarlar. Unilateral lezyonlularda ise, lezyon tarafına göre, ipsilateral kolda bozukluk beklenmezken kontralateral tarafta kol yerleştirme bozukluğu gözlenir. Her doğru yerleştirmeye bir (1) skor verilir. Doğru yerleştirme yüzdesi (%) hesaplanır (Schallert 2000).

3.3.5. Rotarod testi:

Test için 4 kulvarlı otomatik rotarod ünitesi (MAY RR 0711) kullanılmıştır. bu cihaz 7.3cm çapında dönebilen bir mil ve her sıçana özgü bireysel kompartmanlardan oluşan ve bu mil ile dönen kulvarlar bulundurmaktadır. İstenen hız ve ivme ayarlanabilir ve kaydedilebilir. Kızılötesi sensörler ile cihazın zeminine düşen sıçan algılanıp, o sıçana ait kulvarın gösterdiği süre cihaz tarafından otomatik olarak sabitlenerek

kaydedilir. 4 sıçandan hepsi düşünceye kadar ya da sisteme girilen süre bitinceye kadar sistem çalışmaya devam eder (Rozas 1997).

Çalışmaya başlamadan önce sıçanların alıştıırılabilmesi için 3 gün boyunca 15'er dakika 5 rpm'de training yaptırılmıştır. 3. gün sonunda hiç düşmeden 300 sn boyunca rotarod üzerinde kalabilen sıçanlar seçilmiş ve test aşamasına geçilmiştir. Rotarod testi haftada 1 gün aynı saatte tüm gruplara uygulanmıştır. Test için sıçanlar rotarod üzerine yerleştirilmiş ve 10 rpm'de yürütülerek rotarod üzerinde kalma süreleri kaydedilmiştir.

3.3.6. Kafa pozisyonu testi

Kafanın orta çizgiden 10 dereceden fazla dönme sayısı 60 saniye boyunca her saniye kaydedilir. Herhangi tarafa dönme meyili ipsilateral-kontralateral dönme farkından hesaplanır (Henderson 2003).

3.4. Sıçan Beyin Lizatı Hazırlama ve Dot Blot Yöntemi

Çalışma protokolünü tamamlayan sıçanlar dekapite edilerek SN bölgesi hızla dissekte edilir. 5 katı hacimde buz soğukluğunda RIPA lizis buffer'da teflon glass homogenizatörle homogenize edilerek 12000 rpm'de 20 dakika ve +4°C'de santrifüjasyon sonrası lizatın protein içeriği BCA (Bicinchoninic Acid) yöntemine göre saptanır. Lizat PVDF membran üzerine 2'şer µl konularak membranın emerek kurumaması beklenir. Daha sonra TBS-T içerisinde %5lik BSA çözeltisi hazırlanır ve membran bu çözelti içerisinde oda sıcaklığında 1 saat bekletilir. Ardından primer antikor ile 30dk muamele edilir. TBS-T ile 3 kez 5'er dk yıkanır ve sekonder antikor ile 30 dk bekletilir. Tekrar 3 kere 5'er dk TBS-T ile yıkanıp son olarak 1 kez de TBS ile yıkanır. Membranlara ECL çözeltisi eklenerek görüntüleme yapılır.

3.5. İmmunohistokimyasal (IHC) Boyama

Tüm boyamalar Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalından hizmet alımı şeklinde yapılmıştır. IHC işleminde izlenen aşamalar sırasıyla; sıçan beyin dokusundan elde edilen örneklerden 4-5 mikron kalınlığında ardışık seri kesitler hazırlanmıştır. IHC boyamalar için formalin'de tespit edilmiş, parafine gömülü dokulardan elektrostatik yüklü lamlara (X-traTM, Surgipath Medical Industries,

Richmond, Illinois, USA) 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak, 60°C'de en az iki saat kurutulmuştur. Deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarma işlemleri de dahil olmak üzere tüm boyama süreci Ventana, BechMark XT tam otomatik IHC boyama cihazında gerçekleştirilmiştir. Zıt boyama Hematoksilen ve mavileştirici solüsyon ile cihazda tamamlanmıştır. Kesitlerin dehidratasyonu, ksilen ile şeffaflaştırılmaları ve lamel ile kapatılma aşamaları elde yapılarak IHC boyama protokolü tamamlanmıştır.

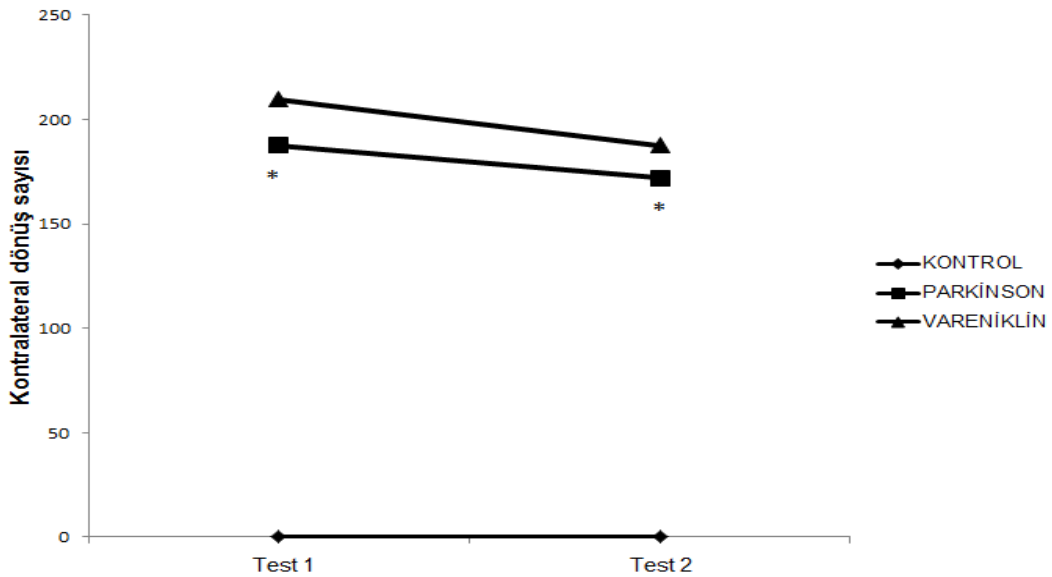
3.6. İstatistiksel Analiz

Veriler, ortalama \pm standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel değerlendirme için ANOVA ve çoğul karşılaştırma için Tukey post hoc testi uygulanmıştır. $P < 0,05$ olan veriler anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Apomorfin ile İndüklenen Dönme Testi

Apomorfin testinin birincisi, 6-OHDA ile PH modeli oluşturulmak istenen sıçanlarda modelin oluşup oluşmadığını test etmek amacıyla stereotaksik işlemden 3 hafta sonra uygulanır. İkincisi ise, kontrol ve parkinson grubuna salın, vareniklin grubuna ise vareniklin verilen 15 günün sonunda yapılır. Kontrol grubunda her iki testte kontralateral ya da ipsilateral yönde herhangi bir dönüş gözlenmezken; sağ tarafa unilateral olarak 6-OHDA verildikten sonra yapılan birinci testte parkinson ve vareniklin gruplarında kontralateral yönde dönüşler gözlenmiştir (dönüş sayısı>185). İlk testten 15 gün sonra yapılan ikinci apomorfin testinde ise parkinson ve vareniklin gruplarında ilk teste göre daha az sayıda kontralateral dönüş gözlenmiştir (dönüş sayısı>170). Her iki testte parkinson ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlılık bulunup ($p<0.01$), parkinson ve vareniklin grupları arasında anlamlılık yoktur (Şekil 10).

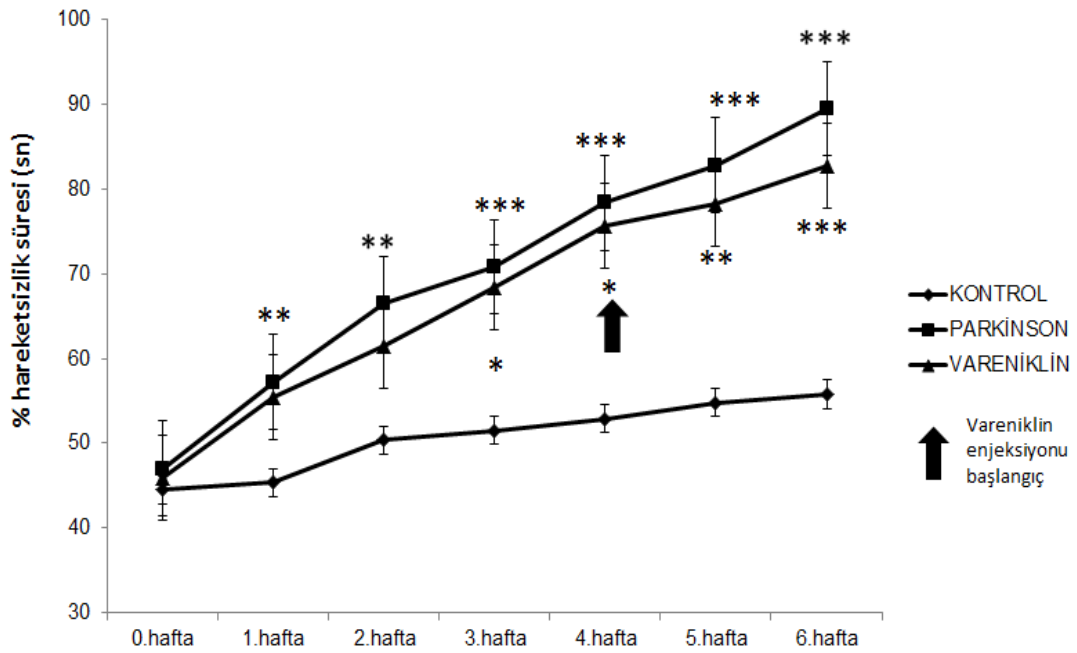


Şekil 10 Apomorfin verilen sıçanlarda 1 saat süresince dönme sayıları ve vareniklinin etkisi * $p<0.05$ Kontrol vs. Parkinson

4.2. Open Field Testi:

4.2.1. Hareketsizlik (Resting)

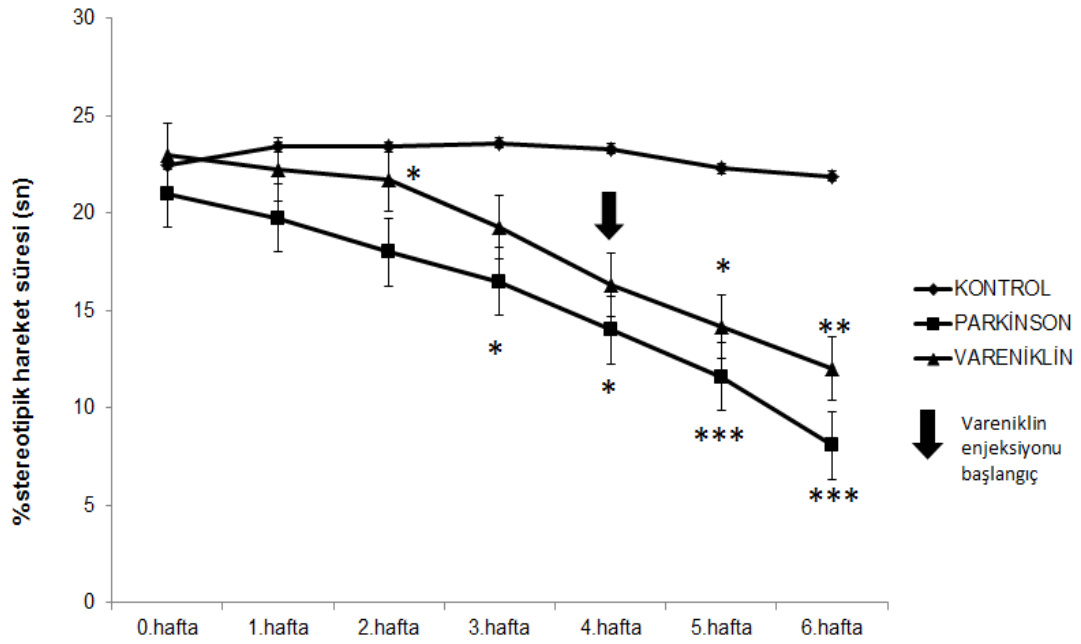
Tüm gruplarda ilk haftadan itibaren artan hareketsizlik yüzdesi parkinson ve vareniklin gruplarında daha yüksek olup, 1.haftadan sonra parkinson ve kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlılık kazanmıştır ($p < 0.01$). Parkinson ve vareniklin grupları arasında ise 3. haftadan sonra anlamlılık ($p < 0.05$) görülmeye başlanmıştır (Şekil 11).



Şekil 11 Parkinsonlu sıçanlarda hareketsizlik yüzdesi ve vareniklinin etkisi * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$: Kontrol vs. Parkinson; Vareniklin vs. Parkinson.

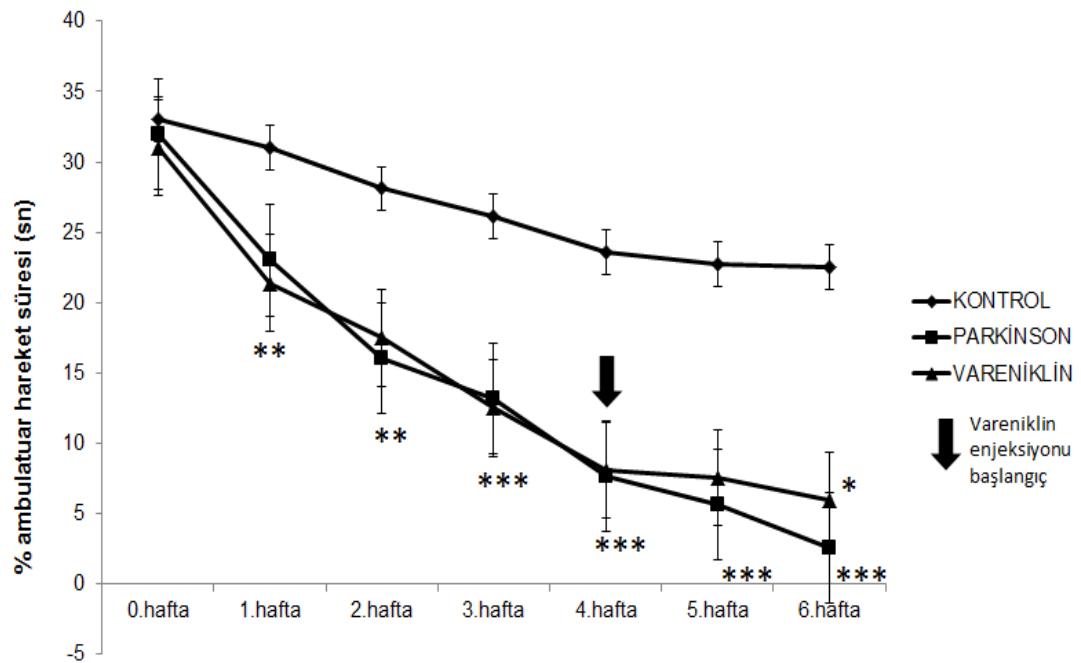
4.2.2. Stereotipik hareket

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında parkinsonlu sıçanlarda ciddi bir azalma gösteren stereotipik hareket yüzdesi 3. haftadan sonra istatistiksel olarak anlam kazanmıştır ($p < 0.05$). Vareniklin ve parkinson grupları arasında ise vareniklinin verildiği 5. haftadan itibaren anlamlılık ($p < 0.05$) ortaya çıkmıştır (Şekil 12).



Şekil 12 Parkinsonlu sıçanlarda stereotipik hareket yüzdesi ve vareniklinin etkisi * $p < 0.03$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$: Kontrol vs. Parkinson, Parkinson vs. Vareniklin

4.2.3. Ambulatuvar hareket yüzdesi

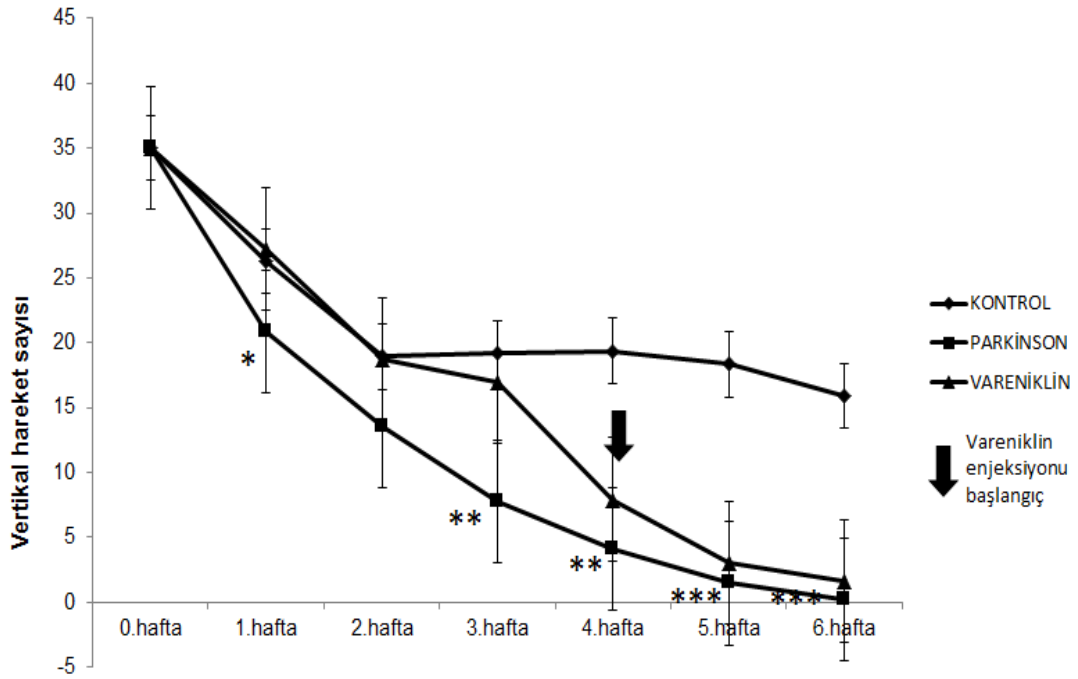


Şekil 13 Parkinsonlu sıçanlarda ambulatuvar hareket yüzdesi ve vareniklinin etkisi * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$: Kontrol vs. Parkinson; Vareniklin vs. Parkinson.

Tüm gruplarda azalış gösteren ambulatuvar hareket yüzdesi kontrol ile karşılaştırıldığında parkinson ve vareniklin gruplarında daha ciddi bir azalma eğrisi çizmiştir. Kontrol ve parkinson grupları karşılaştırıldığında 1.haftadan itibaren anlamlılık görülürken ($p<0.001$) parkinson ve vareniklin gruplarında sadece 6.haftada anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur (Şekil 13).

4.2.4. Dikey hareket (rearing) sayısı

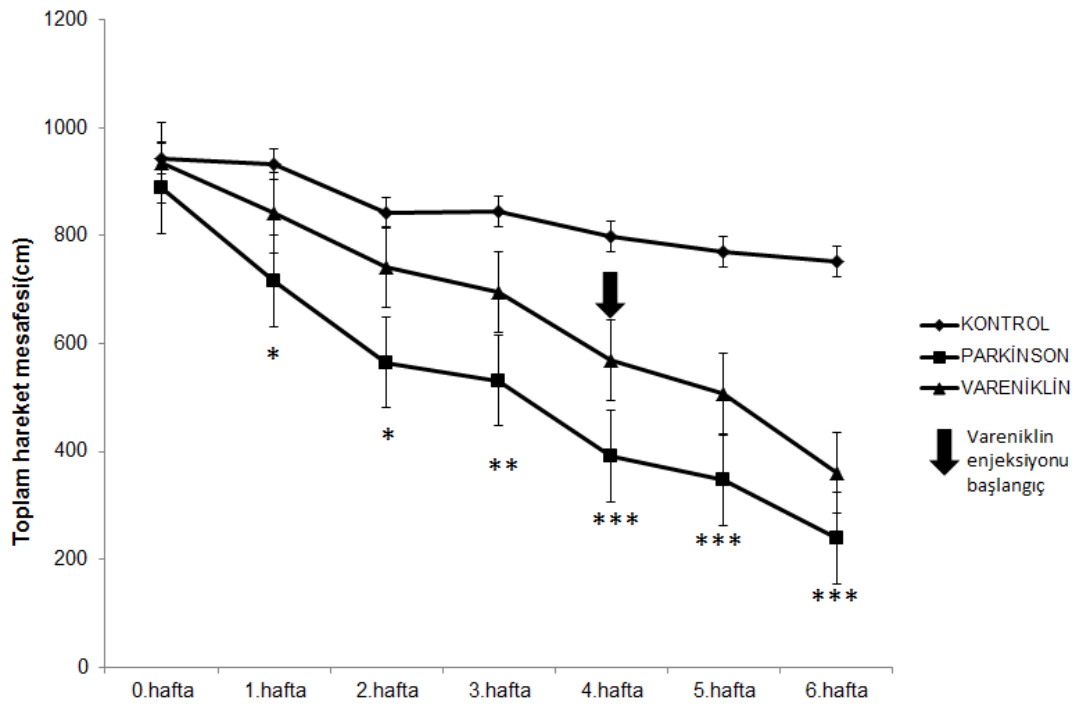
Dikey hareketlerde genel olarak azalma söz konusudur. Parkinson grubunda 3 dakika içinde gözlenen rearing sayısı 0'a kadar inmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak vareniklin grubunda herhangi bir anlamlılık söz konusu değildir (Şekil 14).



Şekil 14 Parkinsonlu sıçanlarda dikey hareket sayısı ve vareniklinin etkisi * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$: Kontrol vs. Parkinson

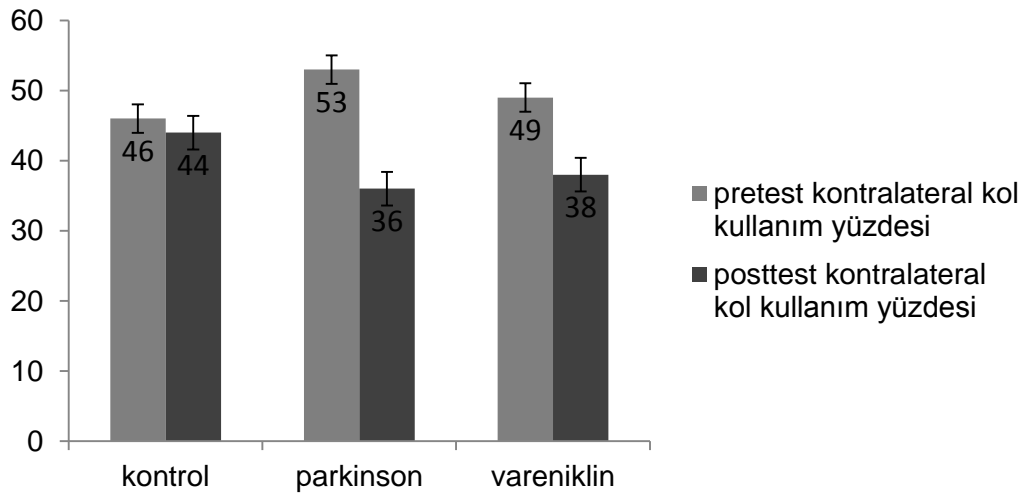
4.2.5. Toplam hareket mesafesi

Tüm gruplarda giderek azalan toplam hareket mesafesi en fazla Parkinson grubunda azalış göstermiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıdır. Ancak vareniklin ile parkinson grupları arasında bir anlamlılık bulunamamıştır (Şekil 15).



Şekil 15 Parkinsonlu sıçanlarda toplam hareket mesafesi ve vareniklinin etkisi * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; Parkinson vs. Kontrol

4.3. Silindir Test



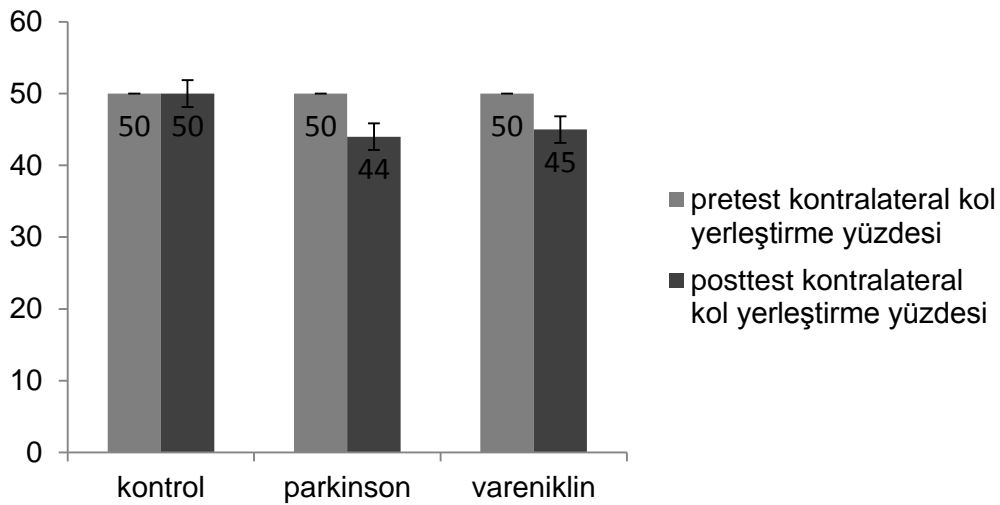
Şekil 16 Parkinsonlu sıçanlarda silindir test kontralateral kol kullanım yüzdesi ve vareniklinin etkisi

Silindir testi 0.haftada stereotaksi öncesi (pretest) ve 3.haftadan sonra her hafta (posttest) olmak üzere uygulanmıştır. Kontrol grubunda hem pre hem posttestte her iki kol kullanımı birbirine neredeyse eşit olup, kontralateral kol kullanımı değişiklik

göstermemiştir. Ancak parkinson ve vareniklin grubunda kontralateral kol kullanımı belirgin şekilde azalmıştır. Parkinson grubunda kontralateral kol kullanım kaybı %17 oranında, vareniklin grubunda ise %11 oranındadır (Şekil 16). İstatistiksel olarak anlamlılık yoktur.

4.4. Önkol Yerleştirme Asimetrisi Testi

Vibrissae ile gerçekleşen ön kol yerleştirme asimetrisi testi 0.haftada stereotaksi öncesi (pretest) ve 3.haftadan sonra her hafta (posttest) olmak üzere uygulanmıştır. Kontrol grubunda hem pre hem posttestte her iki kol kullanımı birbirine eşit olup, kontralateral kol yerleştirme yüzdesi değişkenlik göstermemiştir. Parkinson ve vareniklin gruplarında ise kontralateral kol yerleştirme oranı sırasıyla %12 ve %10 azalmıştır. Ancak parkinson ve vareniklin grupları karşılaştırıldığında herhangi bir anlamlılık yoktur (Şekil 17).

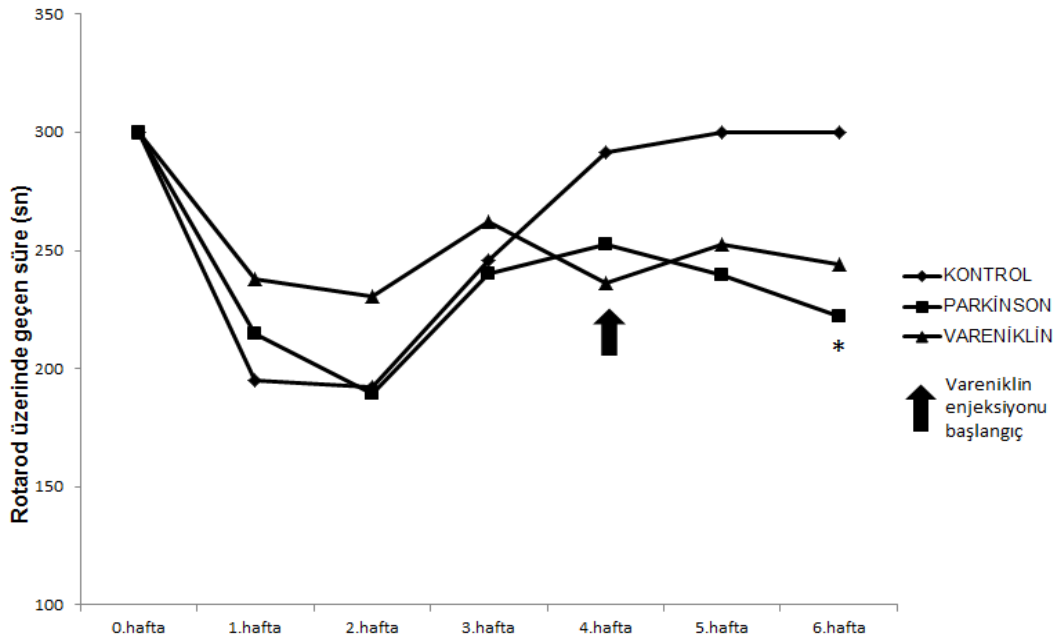


Şekil 17 Parkinsonlu sıçanlarda kontralateral önkol yerleştirme asimetrisi yüzdesi ve vareniklinin etkisi

4.5. Rotarod Test

Tüm gruplara 1.haftada stereotaksik cerrahi işlem uygulandığından hareketlilikleri azalmış olup bu işlemin etkisinin geçmesiyle kontrol grubunda motor fonksiyonlar eski haline dönüp tekrar 300sn rotarod üzerinde kalabilmişlerdir. Ancak parkinson ve vareniklin gruplarında sırasıyla %26 ve %19 motor fonksiyon kaybı söz

konusudur. Kontrol ve parkinson grupları karşılaştırıldığında 6.haftada istatistiksel anlamlılık bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak vareniklin ve parkinson arasında herhangi bir anlamlılık söz konusu değildir (Şekil 18).



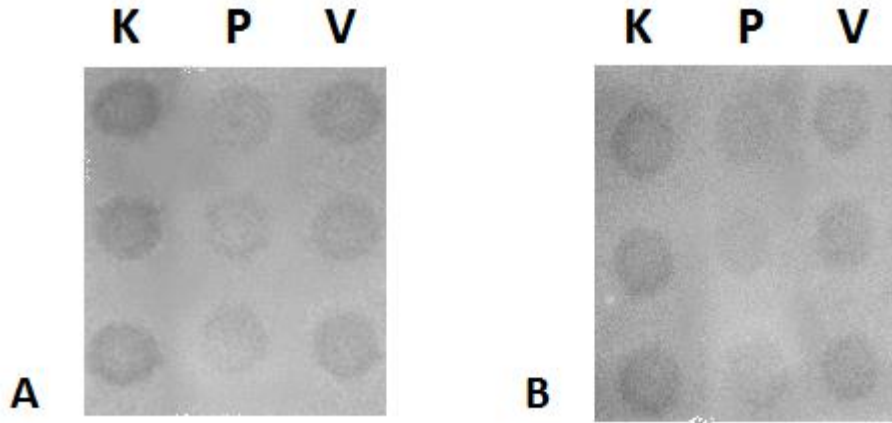
Şekil 18 Parkinsonlu sıçanlarda rotarod test ölçümü ve vareniklinin etkisi * $p<0.05$; Parkinson vs. Kontrol

4.6. Kafa Pozisyonu Testi

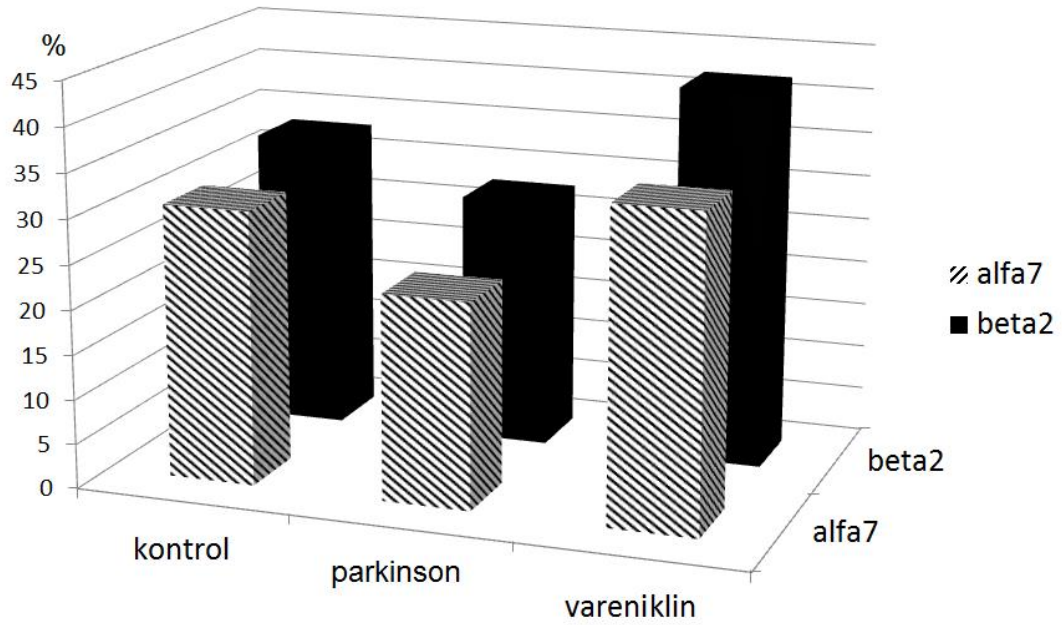
Kafa pozisyonunda farklılık ya da herhangi bir tarafa dönme meyili görülmemiştir.

4.7.Dot Blot

Her iki nAChR yoğunluğunda parkinson grubunda azalma görülmüştür. $\alpha 7$ parsiyel agonisti ve $\alpha 7$ agonisti olan vareniklinin verildiği grupta ise hem $\alpha 7$ hem de $\beta 2$ reseptör altünitelerinin yoğunluğunda parkinson grubuna göre ciddi bir artış gözlenmiştir. Bu artış $\alpha 7$ için istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuş ($p<0.05$) ancak $\beta 2$ için anlamlılık saptanamamıştır (Şekil 20).

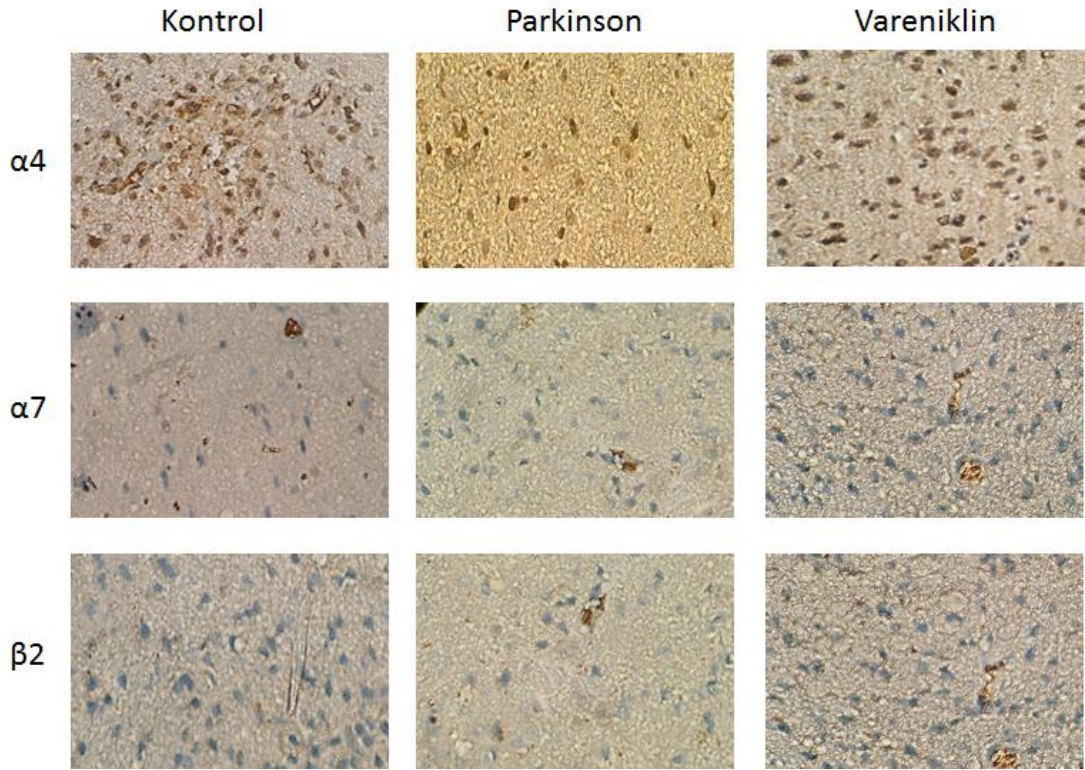


Şekil 19 Dot Blot yöntemi ile her üç grup için analiz sonuçları. **A.** $\alpha 7$ nikotinik asetilkolin reseptör antikoru ile çalışılmıştır. **B.** $\beta 2$ nikotinik asetilkolin reseptör antikoru ile çalışılmıştır. K: Kontrol grubu, P: Parkinson grubu, V: Vareniklin grubu.



Şekil 20 SNpc bölgesindeki $\alpha 7$ ve $\beta 2$ nikotinik asetilkolin reseptör altünitelerinin yoğunluğunun parkinson ile değişimi ve vareniklinin etkisi. * $p < 0.05$; Parkinson vs. Kontrol, Vareniklin vs. Parkinson.

4.8.İmmunohistokimyasal (IHC) boyama



Şekil 21 SNpc bölgesindeki $\alpha 4$, $\alpha 7$ ve $\beta 2$ nAChR ekspresyonunun parkinson ile değişimi ve vareniklinin etkisi. İlgili reseptörler IHC boyama yöntemiyle gösterilmiştir. Detaylar gereç yöntemlerde verilmiştir (X100).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Parkinson grubunda hem nöron sayısı hemde nAChR ekspresyonunun azaldığı gözlemlenmiştir. Vareniklin grubunda ise hem nöron sayısında hem de reseptör ekspresyonundaki artış gözle görülür düzeydedir (Şekil 21).

5. TARTIŞMA

Nörodegeneratif hastalıklar içinde en sık görülenlerden biri olan PH, 65 yaş üstü popülasyonun %1'ini etkiler (Fahn 1987, Van Den Eeden 2003). Hastalık 50-60 yaş civarında başlar ve görülme insidansı da yaş arttıkça giderek artar. Hastalık daha genç yaşlarda başlayabilir ve hastaların %5'inde 40 yaşından önce başlama öyküsü söz konusudur (Van Den Eeden 2003).

PH akinezi, bradikinezi, postural instabilite ve tremor ile karakterize, esas olarak nigrostriatal yolakta dopaminerjik nöronların dejenerasyonu ile giden ilerleyici nörodegeneratif bir hastalıktır. Biyokimyasal olarak dopaminerjik sistemdeki bu bozulma gözlenen klinik semptomların çoğu ile yakından ilişkilidir (Guan 2002).

Rezerpin ve haloperidolun hayvanlarda geçici parkinson benzeri duruma neden olması ve bu parkinson benzeri semptomların L-DOPA tarafından geri döndürülebilmesi PH hayvan modelleri için önemli bir buluştur. Bu sayede PH'nin temel semptomatik tedavisinin araştırılabildiği yeni bir çağ açılmıştır. Daha da önemlisi 6-OHDA'nın SNpc ya da MFB'ye stereotaksik olarak injeksiyonu ile nigrostriatal hasar oluşması PH modeli için toksin kullanımının başladığı yeni bir çağı açmıştır (Ungerstedt 1968). 6-OHDA PH modelinin bulunması dekarboksilaz inhibitörleri, L-DOPA, karbidopa gibi tedavi hedeflerinin de araştırılmasına olanak sağlamıştır.

PH hayvan modellerimde sıkça kullanılan iki kimyasalla indüklenen model 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) ve 6-OHDA modelidir. Her iki kimyasalda nörotoksik olup DAT için substrattır. 6-OHDA yalnızca DAT için spesifik olmayıp noradrenalin taşıyıcıları (NAT) için de substrattır.

Çalışmamızda PH modeli olarak 6-OHDA sıçan modelini kullandık. Bu model hastalığın patolojik mekanizmalarını açıklamak ve yeni tedavi stratejileri geliştirmek için sıkça kullanılan bir modeldir. Bu modeli sıçanlarda uygulamak farelere göre daha

elverişlidir. Sıçan anatomik yapısı sterotaksik cerrahi ve davranış deneylerine daha fazla olanak tanır.

6-OHDA modeli unilateral ya da bilateral olarak uygulanabilir. Her iki modelin birbirine karşı üstünlükleri vardır. İnsanlarda PH hastalığı doğaldır ki beynin her iki tarafını da etkileyerek bilateral oluşmaktadır. Dolayısı ile unilateral uygulamadaki gibi sağlam kalacak olan bir beyin bölgesinin diğer tarafın fonksiyonlarını kompanse etmesi söz konusu olmayacaktır. Ancak bilateral 6-OHDA modelinde apomorfinle indüklenen dönme davranışı görülemeyecektir. Yine aynı nedenle ön kol yerleştirme asimetrisi testi ve silindir testi bilateral model için uygun değildir. Bu nedenle modelin gerçekleşip gerçekleşmediğini test etmek zordur.

Unilateral modelde ise rotasyonel hareketler kolaylıkla görülür ve modelin oluşup oluşmadığı test edilebilir. DA agonistleri ile indüklenen dönme davranışı standart PH hayvan modelinde en sık kullanılan davranışsal ölçümdür. (Iancu 2005, Metz 2005, Han 2013). 6-OHDA ile presinaptik uçların zedelenmesi sonucu DA salınımı azalır ve postsinaptik uçlardaki DA reseptörleri hipersensitise olurlar. DA agonisti olan apomorfin verildiğinde hipersensitivasyona uğramış bu reseptörlerin aşırı uyarılmasına yol açarak kontraversiyal yönde dönme hareketine neden olur. Striatal DA reseptörlerinin %90'ndan fazla kaybı sonucu apomorfin dönme hareketi gerçekleşir (Mandel 2000).

Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda apomorfinle indüklenen dönme hareketi görülmezken, 6-OHDA unilateral lezyonlu sıçanlarda anlamlı olarak dönme sayısındaki artış striatal DA reseptörlerinin kaybını göstermektedir. Aynı zamanda bu sonuç sıçan PH modelinin oluştuğunu da göstermektedir. Vareniklin grubunda ise PH modeli oluşturulan sıçanlarda benzer şekilde dönme hareketi oluşmuş ve tedavi sonunda da bu hareket sayısında azalma saptanmamıştır.

PH primer olarak dopaminerjik bir bozukluk olarak ele alınsa da patogenezinde SSS'de farklı alanların etkilendiği ve farklı nörotransmitter ve nöromodülatörlerde değişiklik olduğu gözlemlenmiştir. Bu sistemlerden biri olan nikotinik kolinerjik sistem de son yıllarda ilgi çekmektedir. Zira nikotin ve nikotinik agonistlerin hastalığın motor semptomlarını azaltmada ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde ortaya çıkan bilişsel fonksiyonlardaki bozulmayı düzeltmede yararlı etkilerinin olduğu ve tedavide yeri olabileceğini göstermektedir. Yapılan çalışmalarda PH'de kronik nikotin kullanımının koruyucu/düzeltilici etkilerinin olabileceği bildirilmektedir (Quik 2007, Simola 2010).

PH'de nigrostriatal hasar ilerledikçe nöronal nAChR sayısında azalma söz konusudur. nAChR'lerinin kaybı nörodejeneratif ve psikiyatrik hastalıkları da içeren birçok hastalık grubu ile yakından ilişki göstermektedir. nAChR'lerinin aktivasyonu striatal dopaminerjik aktiviteyi güçlendirmektedir. Buna dayanarak özellikle nörodejenartif hastalıkların tedavisinde nAChR'leri yepyeni bir hedef haline gelmiştir (Quik 2011, Shimohama 2009, Meyer 2008).

Nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde potansiyel bir hedef arayışı olarak araştırılan nAChR'lerinin çok farklı alt tipleri vardır. Bu alt tiplerin çeşitliliği ve değişik kombinasyonlarda bir araya gelmeleri ile farklı nikotinik reseptörler oluşmakta ve bunlar çeşitli anatomik dağılımlar göstermektedir. Santral sinir sisteminde en yaygın görülen nikotinik reseptör tipi $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ dir (Burghaus 2003). PH'de özellikle $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ü alt tipinde azalma olduğu belirtilirken, $\alpha 7$ nAChR'ü alt tipinde kortekste artış ve fakat hipokampusta azalma olduğu bildirilmektedir (Quik 2007, Guan 2002).

Vareniklin tartarat parsiyel $\alpha 4\beta 2$ agonisti ve $\alpha 7$ tam agonistidir. Vareniklin mezolimbik dopaminerjik sistemi aktive eder. VTA'da bulunan $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ nAChR dopaminerjik, glutamerjik ve GABAerjik nöronlarda lokalizedir. Bu reseptörlerin uyarılması ile DA salıverilmesini artır (Mihalak 2006, Kamens 2010, Coe 2005).

PH modelindeki olası vareniklin etkisinin değerlendirilmesi ve nAChR'nin rolünün ortaya konulması amacıyla, openfield aktivitemetre testi, silindir testi, önkol yerleştirme asimetrisi testi, rotarod testi, kafa pozisyonu testi gibi davranış testleri yapılmıştır.

Aktivitemetre ölçümleri; deney hayvanlarında motor hasar ya da lokomotor aktivitedeki değişiklikler hakkında fikir vermektedir. Çalışmamızda da aktivitemetre ölçümleri değerlendirilmiştir. Locomotor aktivite DA transmitterinin seviyesindeki değişikliğe bağlı olarak azalıp artmaktadır. Artan DA seviyesi hiperaktiviteye neden olurken azalan DA seviyesinde hipoaktiviteyle sonuçlanır (Meredith 2006).

Open field aktivitemetre testi ile sıçanların hareketsiz kalarak dinlenme (resting) halinde olduğu süre yüzdesi, deney süresince gittiği toplam yol (cm), stereotipik hareketlerin yüzdesi ve ambulatuvar hareket süre yüzdesi, dikey hareket sayısı ölçülmüştür.

Hareketsiz kalarak dinlenme (resting) süre yüzdelerine bakıldığında kontrol grubunda başlangıçta %46 olan hareketsizlik yüzdesi çalışmanın sonunda %54'e ulaşarak %8'lik bir artış göstermiştir. Bu ufak artışın nedeninin çevreyi tanıdıkça keşfetme davranışının azalmasına bağlı olduğu düşünüerek normal kabul edilebilir. Ancak parkinson ve vareniklin grupları kontrolden farklı olarak çalışma sonunda sırasıyla %89,5 ve %82'ye ulaşan hareketsizlik oranları göstermiştir. Parkinson grubu ilk haftadan itibaren kontrole karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir. PH oluşturulduktan 4 hafta sonra 15 gün boyunca verilen vareniklinin 6.haftada PH grubuna göre %7 oranında azalma göstermiş olup bu vareniklinin PH'da görülen resting davranışı üzerine etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Stereotipi kemirgenlerin bir gözlem kafesinde ambulatuvar (gezinme) hareketi dışında kalan ve yineleyerek yaptığı hareketlerdir. Kemirgenlerde gözlenen belli başlı stereotipik davranışlar: Kemirme (gnawing), taranma (grooming), dikilme (rearing) ,sık sık başını havaya kaldırma (head weaving), havayı koklama (sniffing), esneme (yawning), yalanma (licking), çiğneme (chewing), ve ekseni etrafında dönme (turning behaviour) gibi davranışlarla karakterizedir. Gelişen stereotipik hareketlerin şiddeti ile paralel olarak bu hareketlerden sadece biri, birkaçı veya tümü bir denekte ortaya çıkabilir. Stereotipinin şiddeti birim zamanda deney hayvanının yaptığı stereotipik hareketlerin sayılması ile veya ortaya çıkan stereotipik hareketlerin çeşidi ve sayısı skorlanarak ifade edilebilir. Stereotipik hareketler dopamin homeostazının bozukluğu sonucu ortaya çıkmış olabileceği gibi artmış dopaminerjik aktivitenin değerlendirilmesinde bir ölçüt olarak da kullanılabilir (Uzbay 2004).

Stereotipik hareketlerin daha belirgin olarak gözlemlendiği asıl yöntem apomorfin ile indüklenen stereotipik davranış testidir. Bu testte deneklere 1.5mg/kg apomorfin subkutan enjeksiyon ile verilerek şeffaf bir silindir içerisine konulur. Kemirgenlerde en sık görülen stereotipik hareketler olan koklama ve kemirme gözlemci tarafından şu şekilde skorlandırılır: 0-stereotipi görülmemesi, 1-nadir sıklıkta koklama(sniffing), 2-nadir sıklıkta koklama(sniffing) ve kemirme(gnawing), 3-sık görülen kemirme(gnawing), 4-sürekli kemirme(gnawing), 5-sürekli kemirme(gnawing) ve aynı noktada kalma (Erbaş 2014).

Bizim çalışmamızda 6-OHDA sıçan PH modelinin oluştuğunu kanıtlamak için kullandığımız apomorfinle indüklenen rotasyon testi için deneklere 0.5mg/kg apomorfin verilmektedir. Stereotipik davranışların gözlenmesi için düşük bir doz olsada apomorfin

verilen sıçanlarda dönme davranışının yanısıra beklenen tüm stereotipik hareketler gözlenmiştir.

Open field aktivitemetre ile ölçülen stereotipik hareketler toplam hareketlere olan oranı yüzde olarak verirken bu hareketlerin gözlenmesi araştırmacı tarafından yapılmıştır. Çalışmamızda stereotipik hareket yüzdesi kontrol grubunda çalışma süresince değişmezken bu oran parkinson grubunda %13, vareniklin grubunda ise %11 oranında azalmıştır. Parkinson ve vareniklin grupları arasındaki bu küçük fark vareniklinin ciddi bir etkisi olmadığını ancak 4.haftada vareniklin verildikten sonra istatistiksel anlamlılığın ortaya çıkması az da olsa etkisi olduğunu düşündürmektedir.

Deneğin kafes içinde dikilme haricinde yaptığı her türlü yer değiştirme (gezinme) hareketleri de “ambulator hareket” olarak değerlendirilmekte ve hipoaktivite nedeniyle bu hareket yüzdesinin PH’li sıçanların bulunduğu parkinson ve vareniklin gruplarında azalması beklenmektedir (Meredith 2006). Çalışmamızın sonuçları bu beklentiyle paraleldir ve parkinson ile kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlılık vardır. Sadece 6.haftada bulunan vareniklin ve parkinson grupları arasındaki istatistiksel anlamlılık vareniklinin geç çıkan bir etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Dikey hareket beynin striatum bölgesi ile ilişkili olup etrafı keşfetme dürtüsü ile alakalıdır (Al-Khatib 1995). Bu davranışsal parametre silindir test ile gözlenebileceği gibi open field aktivitemetre testi ile de otomatik olarak izlenebilir. PH’li sıçanlarda dikey hareketin azalması beklenmektedir (Shi 2004, Rizelio 2010). Tüm gruplarda ilk 2 hafta boyunca azalma görülürken daha sonra kontrol grubunda haftalar arası fark bulunmamaktadır. Parkinson grubundaki dikey hareket sayısı son hafta 0’a kadar düşerken kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır. Vareniklinde dikey hareket sayısı 1,6’ya düşmüş ve herhangi bir anlamlılık görülmediğinden bu hareket üzerine etkisinin olmadığı düşünülmektedir.

Yine PH’de azalan DA seviyesine bağlı olarak hipoaktivitenin ortaya çıkması ve hareketsiz kaldığı süreyle ters orantılı olarak sıçanların deney süresince katettiği toplam hareket mesafesinin azalması beklenir (Meredith 2006). Kontrol grubunda ilk hafta ile son hafta mesafeleri arasındaki fark %20 iken parkinson grubunda bu fark % 73, vareniklin grubunda %61’dir. Rauch (2010) çalışmasında 6-OHDA ile PH modeli oluşturduğu sıçanlarda kontrol grubuna göre hareket mesafesinin azaldığını ortaya koymuştur. Bizim çalışmamızda da buna paralel olarak kontrol ve parkinson grupları

arasında istatistiksel anlamlılık bulunmaktadır. Ancak vareniklin grubunda parkinson grubuna göre total hareket mesafesinin %12 daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır (Welch 2013).

Genel olarak open field aktivitemetre testini değerlendirmek gerekirse vareniklinin hareketsiz kalma (resting) süresi, stereotipik hareket ve ambulatuvar hareket üzerinde etkisi anlamlı şekilde görülmektedir. Bu sonucun $\alpha 4\beta 2$ parsiyel agonisti ve $\alpha 7$ tam agonisti olan vareniklinin nAChR'leri uyararak DA salınımını artırması ve PH'de DA hipoaktivitesinden dolayı ortaya çıkan bazı bozuklukların giderilmesi sayesinde olduğu düşünülür. Ancak dikey hareket ve toplam hareket mesafesi üzerine vareniklinin bir etkisi bulunamamıştır.

Silindir testi ya da bir başka deyişle ön kol asimetri testi unilateral 6-OHDA sıçan PH modelinin doğrulanması için kullanılan bir yöntemdir (Meredith 2006). Apomorfine ile indüklenen rotasyon testinden farkı anormal davranışı gözlemleyebilmek için bir ilaç uygulaması gerektirmemesidir. Bunun yanında silindir testinin apomorfine testinden daha hassas olduğu ve DA kaybının derecesini ölçebildiği düşünülmektedir (Shi 2004, Chang 2008). Şeffaf silindir sıçanlarda keşfetme davranışına teşvik eder ve sıçanlar bu yüzden ya ayakta kalırlar ya da sık sık inip tekrar kalkarlar (Schallert 2000). Normal sıçanlar silindir pleksiglas içerisine yerleştirildiğinde ayağa kalkıp her iki kolunu kullanarak duvara dayanır ve sağa ya da sola doğru hareketini bu iki kola neredeyse eşit şekilde dengeleyerek devam ettirir. Aksine PH'li sıçanlar lezyonlu bölgenin ipsilateralindeki sağlam olan kollarına vücut ağırlıklarını verir ve duvara dayanarak hareket edebilmek için bu kolu kullanırlar (Chang 2008). Çalışmamızda sıfırıncı haftada stereotaksik işlem den önce (pretest) ve çalışmanın son haftasında (posttest) kontralateral ön kol kullanım yüzdelere bakılmıştır. Unilateral olarak sağ hemisferde SN'ye verilen 6-OHDA'nın, kontralateral olan sol kol kullanımını azaltması beklenir (Schallert 2000). Bizim çalışmamızda da buna paralel olarak kontrol grubunda pre ve posttest sonuçları birbirine oldukça yakınken (sırasıyla %46, %44), parkinson grubunda pretestte %53 olan sol kol kullanım oranı posttestte %36'ya düşmüştür. Vareniklin grubunda ise bu oranlar %49'dan %38'e düşmüştür. İstatistiksel olarak kontrol grubu ile parkinson grubu arasında anlamlılık vardır ($p < 0.05$). Bu sonuçlara göre 6-OHDA'nın unilateral verilmesiyle oluşan PH modeli başarıyla gerçekleşmiştir. Ancak vareniklinin etkisi olduğunu gösteren istatistiksel bir anlamlılık bulunamamıştır. Daha önce yapılan çalışmalarla paralel olarak nikotin ve nikotinik agonistlerin bu tür motor fonksiyonlara etkisi olmadığı düşünülebilir (Bordia 2008).

Duyusal uyaranlara karşı motor yanıt oluşabilmesi için dorsal striatumun sağlam dopaminerjik innervasyonunu gereklidir. Vibrissae ile gerçekleşen önkol yerleştirme asimetrisinin ölçüm testinde sıçanların bıyıklarının duyusal olarak uyarılması sonucunda motor yanıt oluşur. Yani; sıçanların kolları serbest kalacak şekilde gövdelerinden tutularak bir masaya yaklaştırıldığında hangi taraftaki bıyık masaya değerse o kolu koymaları beklenir. Ancak unilateral olarak PH oluşturulan sıçanlarda silindir test ile aynı mekanizma üzerinden kontralateral kol kullanımının azalması beklenir (Schallert 2000). Çalışmamızda hem bu görüşe hemde silindir teste paralel olarak kontrol grubunda her iki kol kullanımı eşitken, parkinson ve vareniklin gruplarında çalışmanın son haftası yapılan posttest sonuçlarında kontralateral kol kullanımı azalmıştır. Ancak vareniklinin etkili olduğuna dair bir anlamlılık bulunamamıştır.

Rotarod testi sıçanlarda motor koordinasyon, fiziksel kondisyon, denge ve motor planlamanın bozulup bozulmadığını test etmek için kullanılan bir yöntemdir (Iancu 2005). Rotarod üzerinde kalma süresiyle orantılı olarak DA kaybının derecesi yorumlanabilmektedir (Rogers 2001). Stereotaksik işlemden önce tüm hayvanlar rotarod üzerinde minimum 300 sn kalabiliyor iken stereotaksiden sonra 2 hafta boyunca tüm gruplarda rotarod süresi düşmüştür. Bu düşüşün stereotaksi işleminin etkisiyle olduğu düşünülmekte ve 2.haftadan sonra işlemin etkisi geçmeye başlamaktadır. PH'li olan parkinson ve vareniklinli gruplarda rotarod üzerinde kalma sürelerinin azalması beklenmektedir (Iancu 2005). Buna paralel olarak çalışmamızda kontrol grubu iyileşme sürecini tamamlayıp yeniden 300sn ye çıkabilirken, parkinson ve vareniklin gruplarında motor fonksiyonun tam olarak iyileşmediği görülmektedir. 4.haftadan itibaren verilen vareniklinin motor fonksiyon üzerinde belirgin bir etkisi olmayıp sadece 6.haftada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Takeuchi (2009) yaptığı çalışmada nikotinik reseptör stimülasyonunun rotenon ile oluşturulan PH modelinde rotarod üzerinde kalma sürelerini uzattığını belirtmiştir.

Kafa pozisyonu testi tüm gruplar için deney protokolü boyunca izlenmiş olup belirgin bir pozisyon değişikliği gözlenememiştir.

PH'de nigrostriatal hasar ilerledikçe nöronal nAChR sayısında azalma beklenmektedir. Tüm sıçanların dekapite edilerek substantia nigra dokularının alınması ve dot blot analizi ile nAChR'lerinin yoğunluğunun saptanması sonucunda hem $\alpha 7$ hem de $\beta 2$ reseptör altünitelerinin yoğunluğunda parkinson grubunda azalma görülmüştür. $\alpha 4\beta 2$ parsiyel agonisti ve $\alpha 7$ agonisti olan vareniklinin verildiği grupta ise her iki

reseptör altünitelerinin yoğunluğunda parkinson grubuna göre ciddi bir artış gözlenmiştir.

IHC analiz sonuçlarında ise yine dot blot sonuçlarıyla paralel olarak parkinsonlu sıçanlarda nAChR ekspresyonunda ve nöron sayısında büyük oranda azalma gerçekleşirken, vareniklin verilen grupta bu nöronların sayısının kontrole oldukça yakın olduğu hatta bazı bölgelerde çok daha yoğun eksprese edildiği görülmüştür. Nikotinik bir agonist olan vareniklinin uyarıcı etkisi sonucunda ortaya çıkan moleküler analiz sonuçları çalışmanın bütünüyle paralel niteliktedir.

6. SONUÇLAR

6-OHDA ile PH modelinin oluşturulduğu apomorfin ile indüklenen dönme testi kullanılarak kanıtlanmıştır. Open field aktivitemetre testinde ölçülen parametrelerden hareketsizlik, stereotipik hareket ve ambulatuvar hareket üzerine vareniklin etkisi PH'li sıçanlarda anlamlılık göstermiştir, ancak dikey hareket ve toplam hareket mesafesine herhangi bir etkisi olmadığı görülmüştür.

Silindir testi, önkol yerleştirme asimetrisi testi, rotarod testi ve kafa pozisyonu testinde de vareniklinin parkinsonlu sıçanlarda anlamlı bir etkisi gözlenmemiştir.

Davranış testlerinin yanısıra dekapite edilen sıçanlarda nAChR ekspresyonundaki değişiklikleri saptamak amacıyla beyin lizati hazırlanarak dot blot analizi ve immunohistokimyasal (IHC) boyama yapılmıştır. Hem dot blot hemde IHC analiz sonuçları vareniklinin nAChR ekspresyonunu artırdığı ve artan nAChR'lerin DA sentezinin artırarak PH'de olumlu etkisi olabileceğini ortaya koymuştur.

KAYNAKLAR

Agulhon C, Charnay Y, Vallet P, Abitbol M, Kobetz A, Bertrand D, Malafosse A. Distribution of mRNA for the $\alpha 4$ subunit of the nicotinic acetylcholine receptor in the human fetal brain. **Brain Res Mol Brain Res** 1998;58:123–131.

Ahlskog JE, Muentner MD. Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. **Mov Disord** 2001;16: 448–458.

Akaike A, Tamura Y, Yokota T, Shimohama S, Kimura J. Nicotine-induced protection of cultured cortical neurons against N-methyl-D-aspartate receptor-mediated glutamate cytotoxicity. **Brain Res** 1994; 644(2):181–187.

Albin RL, Young AB, Penney JB. The functional anatomy of basal ganglia disorders. **Trends Neurosci** 1989; 12: 366-375.

Albuquerque EX, Alkondon M, Pereira EF, Castro NG, Schratzenholz A, Barbosa CT, Bonfante-Cabarcas R, Aracava Y, Eisenberg HM, Maelicke A. Properties of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: pharmacological characterization and modulation of synaptic function. **J Pharmacol Exp Ther** 1997; 280:1117–1136.

Al-Khatib IMH, Dökmeci İ, Fujiwara M. Differential Role of Nucleus Accumbens and Caudate-Putamen in Mediating the Effect of Nomifensine and Methamphetamine on Ambulation and Rearing of Rats in the Open-Field Test. **Jpn. J. Pharmacol** 1995; 67: 69-77.

Andrew R, Watson DG, Best SA, Midgley JM, Wenlong H, Petty RKH. The determination of hydroxydopamines and other trace amines in the urine of parkinsonian patients and normal controls. **Neurochem. Res.** 1993; 18: 1175–1177.

Apaydın H, Ahlskog JE, Parisi JE, Boeve BF, Dickson DW. Parkinson Disease Neuropathology: later-developing dementia and loss of the levodopa response. **Arch Neurol** 2002; 59: 102-112.

Apaydın H. Parkinson hastalığının klinik özellikleri. **Parkinson Hastalığı ve Hareket Bozuklukları Dergisi** 2001; 4(2): 114-24.

Arawaka S, Saito Y, Murayama S, Mori H. Lewy body in neurodegeneration with brain iron accumulation type 1 is immunoreactive for alpha-synuclein. **Neurology** 1998; 51: 887-889

Arroyo-Jimenez MM, Bourgeois JP, Marubio LM, Le Sourd AM, Ottersen OP, Rinvik E, Fairen A, Changeux JP. Ultrastructural localization of the $\alpha 4$ -subunit of the neuronal acetylcholine nicotinic receptor in the rat substantia nigra. **J Neurosci** 1999;19:6475–6487.

Aubert I, Araujo DM, Cecyre D, Robitaille Y, Gauthier S, Quirion R. Comparative alterations of nicotinic and muscarinic binding sites in Alzheimer's and Parkinson's

diseases. *J Neurochem* 1992;58:529–541.

Bano D, Young KW, Guerin CJ, Lefevre R, Rothwell NJ, Naldini L, Rizzuto R, Carafoli E, Nicotera P. Cleavage of the Plasma Membrane Na⁺/Ca²⁺ Exchanger in Excitotoxicity. *Cell* 2005; 120(2): 275-285.

Banerjee C, Nyengaard JR, Wevers A, de Vos RA, Jansen Steur ENH, Lindstrom J, Pilz K, Nowacki S, Bloch W, Schröder H. Cellular Expression of $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Protein in The Temporal Cortex in Alzheimer's And Parkinson's Disease- A Stereological Approach. *Neurobiol of Dis* 2000; 7: 666-672.

Beal MF. Excitotoxicity and nitric oxide in Parkinson's disease pathogenesis. *Annals of neurology* 1998; 44(3): 110-S114.

Beal MF. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Annals of neurology* 2005; 58(4): 495-505.

Ben-Shachar D, Eshel G, Finberg JPM, Youdim MBH. The iron chelator desferrioxamine (desferal) retards 6-hydroxydopamine- induced degeneration of nigrostriatal dopamine neurons. *J. Neurochem.* 1991; 56: 1441–1444.

Blum D, Torch S, Lambeng N, Nissou M, Benabid AL, Sadoul R, Verna JM. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: Contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Prog. Neurobiol.* 2001; 65: 135–172.

Block ML, Zecca L, Hong JS. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nature Reviews Neuroscience* 2007; 8(1): 57-69.

Bolam JP, Hanley JJ, Booth PA, Bevan MD. Synaptic organisation of the basal ganglia. *J Anat* 2000; 196: 527-542.

Bonelli RM, Cummings JM. Frontal-subcortical circuitry and behavior. *Dialogues Clin Neurosci* 2007; 9(2): 141-151.

Booker TK, Allen RS, Marks MJ, Grady SR, Whiteaker P, Smith KW, Collins AC, Heinemann SF. Analysis of the $\beta 3$ nicotinic acetylcholine receptor subunit in mouse brain using $\beta 3$ null mutant mice. *Neuronal Nicotinic Receptor Symp.* 1999; 22.

Bordia T, Campos C, Huang L, Quik MJ. Continuous and intermittent nicotine treatment reduces L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)-induced dyskinesias in a rat model of Parkinson's disease. *Pharmacol Exp Ther.* 2008; 327(1): 239-247.

Breese CR, Adams C, Logel J, Drebing C, Rollins Y, Barnhart M, Sullivan B, Demasters BK, Freedman R, Leonard S. Comparison of the regional expression of nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ mRNA and [¹²⁵I]- α -bungarotoxin binding in human postmortem brain. *J Comp Neurol* 1997;387:385–398.

Breese CR and Breese GR. The use of neurotoxins to lesion catecholamine-containing neurons to model clinical disorders, in ed Kostrzewa RM. Highly selective neurotoxins: basic and clinical applications. *Humana press*, Totowa, NJ, 1998, s19-73.

Burghaus L, Schütz U, Krempel U, Lindstrom J, Schröder H. Loss of Nicotinic Acetylcholine Receptor Subunits $\alpha 7$ and $\alpha 4$ in The Cerebral Cortex of Parkinson Patients. *Parkinsonism Relat Disord* 2003; 9(5): 243-246.

Cadet JL, Katz M, Jackson-Lewis V, Fahn S. Vitamin E attenuates the toxic effects of intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) in rats: behavioral and biochemical evidence. **Brain Res.** 1989; 476: 10–15.

Calon F, Grondin R, Morissette M, Goulet M, Blanchet PJ, Di Paolo T, Bedard PJ. Molecular basis of levodopa-induced dyskinesias. **Ann Neurol** 2000;47: 70–78.

Carman LS, Gage FH, Shults CW. Partial lesion of the substantia nigra: Relation between extent of lesion and rotational behavior. **Brain Res.** 1991; 553: 275–283.

Chang JY, Shi LH, Luo F, Zhang WM, Woodward DJ. Studies of the neural mechanisms of deep brain stimulation in rodent models of Parkinson's disease. **Neurosci Biobehav Rev** 2008; 32: 352–366.

Charpantier E, Barneoud P, Moser P, Besnard F, Sgard F. Nicotinic acetylcholine subunit mRNA expression in dopaminergic neurons of the rat substantia nigra and ventral tegmental area. **Neuroreport** 1998;9:3097–3101.

Changeux JP, Bertrand D, Corringier PJ, Dehaene S, Edelstein S, Lena C, Le Novere N, Marubio L, Picciotto M, Zoli M. Brain nicotinic receptors: structure and regulation, role in learning and reinforcement. **Brain Res Brain Res Rev** 1998;26:198–216.

Clarke PB and Reuben M. Release of [3H]-noradrenaline from rat hippocampal synaptosomes by nicotine: mediation by different nicotinic receptor subtypes from striatal [3H]-dopamine release. **Br J Pharmacol** 1996;117:595–606.

Clarke PB and Pert A. Autoradiographic evidence for nicotine receptors on nigrostriatal and mesolimbic dopaminergic neurons. **Brain Res** 1985;348:355–358.

Clarke PB, Schwartz RD, Paul SM, Pert CB, Pert A. Nicotinic binding in rat brain: autoradiographic comparison of [3H]acetylcholine, [3H]nicotine, and [125I]-bungarotoxin. **J Neurosci** 1985a;5:1307–1315.

Clayton DF, George JM. The Synucleins: a family of proteins involved in synaptic function, plasticity, neurodegeneration and disease. **TINS** 1998; 21: 249-254.

Coe JW, Brooks PR, Vetelino MG, Wirtz MC, Arnold EP, Huang J, Sands SB, Davis TI, Lebel LA, Fox CB, Shrikhande A, Heym JH, Schaeffer E, Rollema H, Lu Y, Mansbach RS, Chambers LK, Rovetti CC, Schulz DW, Tingley FD, O'neil BT. Varenicline an $\alpha 4\beta 2$ Nicotinic Receptor Partial Agonist For Smoking Cessation. **J. Med. Chem** 2005; 48, 3474-3477.

Cohen G, Heikkila RE, Allis B, Cabbat F, Demblec D, MacNamee D, Mytilineou C, Inston B. Destruction of sympathetic nerve terminals by 6-hydroxydopamine: protection by 1-phenyl-3-(2-thiazolyl)-2-thiourea, diethyldithiocarbamate, methimazole, cysteamine, ethanol and *n*-butanol. **J Pharmacol Exp Ther** 1976; 199: 336–352.

Cordero-Erausquin M, Marubio LM, Klink R, Changeux JP. Nicotinic receptor function: new perspectives from knockout mice. **Trends Pharmacol Sci** 2000;21:211–217

Conway KA, Harper JD, Lansbury PT. Accelerated in-vitro fibril formation by a mutant alpha-synuclein linked to early-onset Parkinson's disease. **Nature Med** 1998; 4: 1318-1320.

Conway KA, Rochet JC, Bieganski RM, Lansbury PT. Kinetic stabilization of alpha-synuclein protofibril by a dopamine-alpha-synuclein adduct. **Science** 2001; 294:1346-1349.

Cossette M, Levesque D, Parent A. Neurochemical characterization of dopaminergic neurons in human striatum. **Parkinsonism and Related Disorders** 2005;11: 277-286.

Court J, Clementi F. Distribution of nicotinic subtypes in human brain. **Alzheimer Dis Assoc Disord** 1995;9:6-14.

Court JA, Piggott MA, Lloyd S, Cookson N, Ballard CG, McKeith IG, Perry RH, Perry EK. Nicotine binding in human striatum: elevation in schizophrenia and reductions in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Alzheimer's disease and in relation to neuroleptic medication. **Neuroscience** 2000;98: 79-87.

Curtius HC, Wolhensberger M, Steinmann B, Redweik S. Mass fragmentography of dopamine and 6-OH-dopamine. Application to the determination of dopamine in human brain biopsies from the caudate nucleus. **J. Chromatogr.** 1974; 99: 529-540.

Dani JA and Heinemann S. Molecular and cellular aspects of nicotine abuse. **Neuron** 1996;16:905-908.

Dani JA. Overview of nicotinic receptors and their roles in the central nervous system. **Biol Psychiatr** 2001;49:166-174.

Dawson TM, Dawson VL. Rare genetic mutations shed light on the pathogenesis of Parkinson disease. **J Clin Invest** 2003; 111: 145-151.

DeLong MR, Georgopoulos AP. Physiology of the basal ganglia- A brief overview. **Adv Neurol** 1979; 23:137-153.

Dentresangle C, Le Cavorsin M, Savasta M, Leviel V. Increased extracellular DA and normal evoked DA release in the rat striatum after a partial lesion of the substantia nigra. **Brain Res.** 2001; 893: 178-185.

Dineley-Miller K, Patrick J. Gene transcripts for the nicotinic acetylcholine receptor subunit, b4, are distributed in multiple areas of the rat central nervous system. **Brain Res Mol Brain Res** 1992;16: 339-344.

DiasV, Junn E, Mouradian MM. The Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. **Journal of Parkinson's disease** 2013; 3(4): 461-491.

Dluzen DE, Anderson LI. The effects of nicotine on dopamine and DOPAC output from rat striatal tissue. **Eur J Pharmacol** 1998;341:23-32.

Domino EF, Ni L, Zhang H. Nicotine alone and in combination with L-DOPA methyl ester or the D2 agonist N-0923 in MPTP-induced chronic hemiparkinsonian monkeys. **Exp Neurol** 1999;158:414-421.

Dwoskin LP, Crooks PA. Competitive neuronal nicotinic receptor antagonists: a new direction for drug discovery. **J Pharmacol Exp Ther** 2001;298:395-402.

Elliott KJ, Jones JM, Sacaan AI, Lloyd GK, Corey-Naeve J. 6-Hydroxydopamine lesion of rat nigrostriatal dopaminergic neurons differentially affects nicotinic acetylcholine

receptor subunit mRNA expression. *J Mol Neurosci* 1998;10:251–260.

Erbas O, Akseki HS, Solmaz V, Aktuğ H, Taşkıran D. Fatty liver-induced changes in stereotypic behavior in rats and effects of glucagon-like peptide-1 analog on stereotypy. *Kaohsiung J Med Sci* 2014; 30(9): 447-452

Fahn S, Elton RS. “Unified Parkinson’s Disease Rating Scale”, Recent Developments in Parkinson’s disease, Eds. Fahn S, Marsden CD, Calne DB, Goldstein M, **Raven Press**, New York, 1987, s.153-163.

Fagerstrom KO, Pomerleau O, Giordani B, Stelson F. Nicotine may relieve symptoms of Parkinson’s disease. *Psychopharmacology (Berl)* 1994;116:117–119.

Fearnley J, Lees AJ. “Parkinson’s Disease: Neuropathology”, Movement Disorders, Eds. Watts RL, Koller WC, , **McGraw-Hill**, New York ,1997, 263-278.

Fowler JS, Volkow ND, Wang GJ, Pappas N, Logan J, MacGregor R, Alexoff D, Shea C, Schlyer D, Wolf AP, Warner D, Zezulko I, Cilento R. Inhibition of monoamine oxidase B in the brains of smokers. *Nature* 1996a; 379:733–736.

Fowler JS, Volkow ND, Wang GJ, Pappas N, Logan J, Shea C, Alexoff D, MacGregor RR, Schlyer DJ, Zezulko I, Wolf AP. Brain monoamine oxidase A inhibition in cigarette smokers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996b; 93:14065–14069.

Forno LS. Neuropathology of Parkinson’s disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996; 55: 259-272.

Foye WO, Lemke TL, Williams DA. Principles of Medicinal Chemistry. **Lippincott Williams and Wilkins**, Philadelphia,1995.

Fujita M, Nishino H, Kumazaki M, Shimada S, Tohyama M, Nishimura T. Expression of dopamine transporter mRNA and its binding site in fetal nigral cells transplanted into the striatum of 6-OHDA lesioned rat. *Mol Brain Res* 1996; 39: 127–136

Fuxe K, Janson AM, Jansson A, Andersson K, Eneroth P, Agnati LF. Chronic nicotine treatment increases dopamine levels and reduces dopamine utilization in substantia nigra and in surviving forebrain dopamine nerve terminal systems after a partial diencephalic hemitranssection. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1990;341:171–181.

Gerfen CR, Engber TM, Mahan LC, Susel Z, Chase TN, Monsma FJ Jr, Sibley DR. D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 1990; 250:1429-1432.

Gerzanich V, Kuryatov A, Anand R, Lindstrom J. Orphan a6 nicotinic AChR subunit can form a functional heteromeric acetylcholine receptor. *Mol Pharmacol* 1997;51:320–327.

German DC, Manaye K, Smith WK, Woodward DJ, Saper CB. Midbrain dopaminergic cell loss in Parkinson’s disease: Computer visualization. *Ann. Neurol.* 1989; 26: 507–514.

Giasoson BI, Uryu K, Trojanowski JQ, Lee VM. Mutant and wild type human alpha-synucleins assemble into elongated filaments with distinct morphologies in-vitro. *J Biol Chem* 1999; 274: 7619-7622

Gibb WRG. Idiopathic Parkinson's disease and the Lewy body disorders. **Neuropathol Apl Neurobiol** 1986; 12: 223-234.

Giorguieff MF, Le Floc'h ML, Westfall TC, Glowinski J, Besson MJ. Nicotinic effect of acetylcholine on the release of newly synthesized 3H-dopamine in rat striatal slices and cat caudate nucleus. **Brain Res** 1976;106:117–131.

Giorguieff MF, Kemel ML, Besson MJ, Glowinski J. Intrastratial regulation of DA release from dopaminergic terminals. **Int J Neurol** 1979;13:127–134.

Glinka Y, Gassen M, Youdim MB. Mechanism of 6 hydroxydopamine neurotoxicity. **J. Neural Transm. Suppl.** 1997; 50: 55–66.

Gotti C, Clementi F. Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology. **Prog Neurobiol** 2004;74(6):363-396.

Goto S, Hirano A, Matsumoto S. Subdivisional involvement of nigrostriatal loop in idiopathic Parkinson's disease and striatonigral degeneration. **Ann. Neurol.** 1989; 26: 766–770.

Grady S, Marks MJ, Wonnacott S, Collins AC. Characterization of nicotinic receptor-mediated [3H]dopamine release from synaptosomes prepared from mouse striatum. **J Neurochem** 1992;59: 848–856.

Graham DI, Bell JE, Ironside JW. "Degenerative diseases", Color Atlas and Text of Neuropathology, **Mosby-Wolfe**, London, 1995, s.101-122.

Grosset DG, Grosset KA, Okun MS, Fernandez HH. Clinician's desk reference: Parkinson's disease. **Manson publishing Ltd**, London, 2009.

Graybiel AM. The basal ganglia. **Curr Biol** 2000;10: 509–511.

Grottick AJ, Trube G, Corrigan WA, Huwiler J, Malherbe P, Wyler R, Higgins GA. Evidence that nicotinic $\alpha 7$ receptors are not involved in the hyperlocomotor and rewarding effects of nicotine. **J Pharmacol Exp Ther** 2000;294:1112–1119.

Guan ZZ, Nordberg A, Mousavi M, Rinne JO, Lindahl E. Selective Changes in The Levels Of Nicotinic Acetylcholine Receptor Protein And Of Corresponding mRNA Species in The Brains Of Patients With Parkinson's Disease. **Brain Research** 2002; 956(2): 358-366.

Han B, Hu J, Shen J, Gao Y, Lu Y, Wang T. Neuroprotective effect of hydroxysafflor yellow A on 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's disease in rats. **Eur J Pharmacol** 2013; 714(1-3): 83-88.

Han ZY, Le Novere N, Zoli M, Hill Jr, JA, Champtiaux N, Changeux JP. Localization of nAChR subunit mRNAs in the brain of *Macaca mulatta*. **Eur J Neurosci** 2000;12:3664–3674.

Hashimoto M, Masliah E. Alpha-synuclein in Lewy body disease and Alzheimer's disease. **Brain Pathology** 1999a; 9: 707-720.

Hashimoto M, Hsu LJ, Xia Y, Takeda A, Sisk A, Sundsmo M, Masliah E. Oxidative

stress induces amyloid-like aggregate formation of NACP/alpha synuclein invitro. **Neuro Report** 1999b; 10: 717-721.

Hauber W. Involvement of basal ganglia transmitter systems in movement initiation. **Prog Neurobiol** 1998; 56: 507-540.

Hellstrom-Lindahl E and Court JA. Nicotinic acetylcholine receptors during prenatal development and brain pathology in human aging. **Behav Brain Res** 2000;113:159–168.

Henderson J.M, Watson S, Halliday G.M, Heinemann T, Gerlach M. Relationships between various behavioural abnormalities and nigrostriatal dopamine depletion in the unilateral 6-OHDA-lesioned rat. **Behavioural Brain Research** 2003; 139: 105-113

Hurtig H. “What is Parkinson’s Disease? Neuropathology, Neurochemistry and Pathophysiology”, Parkinson’s Disease and Movement Disorders, Eds. Adler CH, Ahlskog JE, **Humana Press**, New Jersey, 2000, s.57-70.

Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson’s disease: a clinico-pathological study of 100 cases. **J Neurol Neurosurg Psychiatry** 1992; 55: 181-184.

Hughes AJ, Daniel SE, Blankson S, Lees AJ. A clinicopathologic study of 100 cases of Parkinson’s disease. **Arch Neurol** 1993; 50: 140-148.

Iancu R, Mohapel P, Brundin P, Paul G. Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson’s disease in mice. **Behavioural Brain Research** 2005; 162: 1–10.

Iravani MM, Sadeghian M, Leung CC, Jenner P, Rose S. Lipopolysaccharide-induced nigral inflammation leads to increased IL-1 β tissue content and expression of astrocytic glial cell line-derived neurotrophic factor. **Neuroscience letters** 2012; 510(2): 138-142.

Isajevs S, Isajeva D, Beitnere U, Jansone B, Kalvinsh I, KlusaV. Mildronate as a Regulator of Protein Expression in a Rat Model of Parkinson’s Disease. **Medicina (Kaunas)** 2011; 47(10):552-559.

Ishikawa A and Miyatake T. Effects of smoking in patients with early on set Parkinson’s disease. **J Neurol Sci** 1993;117: 28–32.

Jankovic J. “Pathophysiology and Clinical Assessment of Parkinsonian Symptoms and Signs”, Handbook of Parkinson’s Disease, Eds. Pahwa R, Lyons KE, Koller WC, **Marcel Dekker Inc**, New York, 2003, s.71-107.

Janson AM, Fuxe K, Agnati LF, Kitayama I, Harfstrand A, Andersson K, Goldstein M. Chronic nicotine treatment counteracts the disappearance of tyrosine hydroxylase immunoreactive nerve cell bodies, dendrites and terminals in the mesostriatal dopamine system of the male rat after partial hemitransection. **Brain Res** 1988;455:332–345.

Janson AM, Meana JJ, Goiny M, Herrera-Marschitz M. Chronic nicotine treatment counteracts the decrease in extracellular neostriatal dopamine induced by a unilateral transection at the mesodiencephalic junction in rats: a microdialysis study. **Neurosci Lett** 1991;134:88–92.

Jellinger KA. Recent developments in the pathology of Parkinson's disease. **J Neurol Transm Suppl** 2002; 62: 347-376.

Jenner P. Oxidative mechanisms in nigral cell death in Parkinson's disease. **Mov Disord** 1998;13: 24–34.

Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease. **Annals of neurology** 2003; 53(S3): 26-38.

Jenner P and Olanow CW. The pathogenesis of cell death in Parkinson's disease. **Neurology** 2006; 66(10 suppl 4): S24-S36.

Jonsson G and Sachs C. Effects of 6-hydroxydopamine on the uptake and storage of noradrenaline in sympathetic adrenergic neurons. **Eur. J. Pharmacol** 1970; 9: 141–155.

Jones IW, Bolam JP, Wonnacott S. Presynaptic localisation of the nicotinic acetylcholine receptor b2 subunit immunoreactivity in rat nigrostriatal dopaminergic neurones. **J Comp Neurol** 2001; 439:235–247.

Jones S, Sudweeks S, Yakel JL. Nicotinic receptors in the brain: correlating physiology with function. **Trends Neurosci** 1999; 22:555–561.

Jomova K and Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. **Toxicology** 2011; 283(2): 65-87.

Kaiser SA, Soliakov L, Harvey SC, Luetje CW, Wonnacott S. Differential inhibition by a-conotoxin-MII of the nicotinic stimulation of [3H]dopamine release from rat striatal synaptosomes and slices. **J Neurochem** 1998;70:1069–1076

Kaiser S, Wonnacott S. a-Bungarotoxin-sensitive nicotinic receptors indirectly modulate [3H]dopamine release in rat striatal slices via glutamate release. **Mol Pharmacol** 2000;58:312–318.

Kamens HM, Andersen J, Picciotto MR. The Nicotinic Acetylcholine Receptor Partial Agonist Varenicline Increases The Ataxic And Sedative Hypnotic Effects Of Acute Ethanol Administration in C57BL/6J Mice, Alcoholism. **Clinical and Experimental Research** 2010;34(12): 2053-2060.

Kaneko S, Maeda T, Kume T, Kochiyama H, Akaike A, Shimohama S, Kimura J. Nicotine protects cultured cortical neurons against glutamate-induced cytotoxicity via a7-neuronal receptors and neuronal CNS receptors. **Brain Res** 1997;765:135–140.

Kayaalp SO. Tibbi Farmakoloji, **Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd**, Ankara, 2005, s1524.

Kelton MC, Kahn HJ, Conrath CL, Newhouse PA. The effects of nicotine on Parkinson's disease. **Brain Cogn** 2000;43: 274–82.

Kempson FE and Pratt JA. Mecamylamine but not the a7 receptor antagonist a-bungarotoxin blocks sensitization to the locomotor stimulant effects of nicotine. **Br J Pharmacol** 2000;131:997–1003

Kihara T, Shimohama S, Sawada H, Kimura J, Kume T, Kochiyama H, Maeda T, Akaike A. Nicotinic receptor stimulation protects neurons against b-amyloid toxicity. *Ann Neurol* 1997;42(2): 159–163.

Kim SH, Kim YK, Jeong SJ, Haass C, Kim YH, Suh YH. Enhanced release of secreted form of Alzheimer's amyloid precursor protein from PC12 cells by nicotine. *Mol Pharmacol* 1997;52(3): 430–436.

Klink R, de Kerchove d'Exaerde A, Zoli M, Changeux JP. Molecular and physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors in the midbrain dopaminergic nuclei. *J Neurosci* 2001;21:1452–1463.

Kojima J, Yamaji Y, Matsumura M, Nambu A, Inase M, Tokuno H, Takada M, Imai H. Excitotoxic lesions of the pedunculo-pontine tegmental nucleus produce contralateral hemiparkinsonism in the monkey. *Neurosci Lett* 1997; 226(2):111-114.

Kopito RR. Aggresomes, inclusion bodies and protein aggregation. *Trends in cell biology* 2000; 10(12): 524-530.

Kulak JM, Nguyen TA, Olivera BM, McIntosh JM. α -Conotoxin MII blocks nicotine-stimulated dopamine release in rat striatal synaptosomes. *J Neurosci* 1997;17:5263–5270.

Kumar R, Agarwal AK, Seth PK. Free radical-generated neurotoxicity of 6-hydroxydopamine. *J. Neurochem.* 1995; 64: 1703– 1707.

Langston JW. The etiology of Parkinson's disease with emphasis on the MPTP story. *Neurology* 1996;47:153–160.

Lapin EP, Maker HS, Ser-shen H, Hurd Y, Lajtha A. Dopamine like action of nicotine: lack of tolerance and reverse tolerance. *Brain Res* 1987;407:351–363.

Le Novere N, Zoli M, Changeux JP. Neuronal nicotinic receptor $\alpha 6$ subunit mRNA is selectively concentrated in catecholaminergic nuclei of the rat brain. *Eur J Neurosci* 1996;8:2428–2439.

Le Novere N, Zoli M, Lena C, Ferrari R, Picciotto MR, Merlo-Pich E, Changeux JP. Involvement of $\alpha 6$ nicotinic receptor subunit in nicotine-elicited locomotion, demonstrated by in vivo antisense oligonucleotide infusion. *Neuroreport* 1999;10(12): 2497-2501.

Li Y, King MA, Grimes J, Smith N, de Fiebre CM, Meyer EM. $\alpha 7$ Nicotinic receptor mediated protection against ethanol-induced cytotoxicity in PC12 cells. *Brain Res* 1999;816:225–228.

Lichtensteiger W, Hefti F, Felix D, Huwyler T, Melamed E, Schlumpf M. Stimulation of nigrostriatal dopamine neurones by nicotine. *Neuropharmacology* 1982;21:963–968.

Lindstrom J, Anand R, Gerzanich V, Peng X, Wang F, Wells G. Structure and function of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Prog Brain Res* 1996;109:125–137.

Ljungdahl A, Hokfelt T, Jonsson G, Sachs C. Autoradiographic demonstration of uptake and accumulation of 3H-6-hydroxydopamine in adrenergic nerves. *Experientia* 1971; 27: 297–299.

Lukas RJ, Changeux JP, Le Novere N, Albuquerque EX, Balfour DJ, Berg DK, Bertrand D, Chiappinelli VA, Clarke PB, Collins AC, Dani JA, Grady SR, Kellar KJ, Lindstrom JM, Marks MJ, Quik M, Taylor PW, Wonnacott S. International Union of Pharmacology. Part XX. Current status of the nomenclature for nicotinic acetylcholine receptors and their subunits. *Pharmacol Rev* 1999;51: 397–401.

MacDermott AB, Role LW, Siegelbaum SA. Presynaptic ionotropic receptors and the control of transmitter release. *Annu Rev Neurosci* 1999;22: 443–485.

Maggio R, Riva M, Vaglini F, Fornai F, Molteni R, Armogida M, Racagni G, Corsini GU. Nicotine prevents experimental parkinsonism in rodents and induces striatal increase of neurotrophic factors. *J Neurochem* 1998;71(6): 2439–2446.

Mandel RJ. Effect of Acute L-Dopa Pretreatment on Apomorphine-Induced Rotational Behavior in a Rat Model of Parkinson's Disease. *Exp Neurol*. 2000;161(1):212-219.

Marin P, Maus M, Desagher S, Glowinski J, Premont J. Nicotine protects cultured striatal neurones against N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neurotoxicity. *Neuroreport* 1994; 5(15): 1977–1980.

Marks MJ, Pauly JR, Gross SD, Deneris ES, Hermans-Borgmeyer I, Heinemann SF, Collins AC. Nicotine binding and nicotinic receptor subunit RNA after chronic nicotine treatment. *J Neurosci* 1992;12:2765–2784.

Marks MJ, Pauly JR, Grun EU, Collins AC. ST/b and DBA/2 mice differ in brain a-bungarotoxin binding and a7 nicotinic receptor subunit mRNA levels: a quantitative autoradiographic analysis. *Brain Res Mol Brain Res* 1996;39:207–222.

Marshall DL, Redfern PH, Wonnacott S. Presynaptic nicotinic modulation of dopamine release in the three ascending pathways studied by in vivo microdialysis: comparison of naive and chronic nicotine-treated rats. *J Neurochem* 1997;68:1511–1519.

Martin WE, Loewenson RB, Resch JA, Baker AB. Parkinson's disease: Clinical analysis of 100 patients. *Neurology* 1983; 23: 783-790.

Mauro T, Saitoh Y, Hosomi K, Kishima H, Shimokawa T, Hirata M, Goto T, Morris S, Harada Y, Yanagisawa T, Aly MM, Yoshimine T. Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus improves temperature sensation in patients with Parkinson's disease. *PAIN* 2011; 152: 860–865.

Meredith GE, Kang UJ. Behavioral models of Parkinson's disease in rodents: a new look at an old problem. *Mov Disord* 2006; 21: 1595-1606.

Metz GA, Tse A, Ballermann M, Smith LK, Fouad K. The unilateral 6-OHDA rat model of Parkinson's disease revisited: an electromyographic and behavioural analysis, *European Journal of Neuroscience* 2005; 22: 735–744.

Meyer EM, Kuryatov A, Gerzanich V, Lindstrom J, Papke RL. Analysis of 3-(4-hydroxy, 2-methoxybenzylidene)anabaseine selectivity and activity at human and rat a7 nicotinic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;287(3):918–925.

Mihalak KB, Carroll FI, Luetje CW. Varenicline is a Partial Agonist at $\alpha 4\beta 2$ and a Full Agonist at $\alpha 7$ Neuronal Nicotinic Receptors. *Molecular Pharmacology* 2006; 70(3): 801-805.

Minana MD, Montoliu C, Llansola M, Grisolia S, Felipe V. Nicotine prevents glutamate-induced proteolysis of the microtubule associated protein MAP-2 and glutamate neurotoxicity in primary cultures of cerebellar neurons. **Neuropharmacology** 1998;37(7): 847–857.

Mink JW. The basal ganglia: Focused selection and inhibition of competing motor programs. **Prog Neurobiol** 1996; 50: 381-425.

Muller FL, Liu Y, Van Remmen H. Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. **Journal of Biological Chemistry** 2004; 279(47): 49064-49073.

Newman MB, Arendash GW, Shytle RD, Brickford PC, Tighe T, Sanberg PS. Nicotine's oxidative and antioxidant properties in CNS. **Life Sciences** 2002; 71

Núñez MT, Urrutia P, Mena N, Aguirre P, Tapia V, Salazar J. Iron toxicity in neurodegeneration. **Biometals** 2012; 25(4): 761-776.

Nutt JG, Obeso JA, Stocchi F. Continuous dopamine-receptor stimulation in advanced Parkinson's disease. **Trends Neurosci** 2000; 23: 109–115.

Obeso JA, Olanow CW, Nutt JG. Levodopa motor complications in Parkinson's disease. **Trends Neurosci** 2000; 23: 2–7.

Olanow W, Schapira AH, Rascol O. Continuous dopamine receptor stimulation in early Parkinson's disease. **Trends Neurosci** 2000; 23: 117–126.

Olanow CW and McNaught KSP. Ubiquitin–proteasome system and Parkinson's disease. **Movement disorders** 2006; 21(11): 1806-1823.

Olney J. Excitotoxicity: an overview. **Canada diseases weekly report= Rapport hebdomadaire des maladies au Canada** 1990; 16: 47.

Parent A, Hazrati LN. Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. **Brain Res Rev** 1995; 20:128-154.

Parker Jr WD, Parks JK, Swerdlow RH. Complex I deficiency in Parkinson's disease frontal cortex. **Brain research** 2008; **1189**: 215-218.

Paterson D and Nordberg A. Neuronal nicotinic receptors in the human brain. **Prog Neurobiol** 2000;61: 75–111.

Paulson HL, Stern MB. "Clinical manifestations of Parkinson's disease", *Movement Disorders: Neurologic Principles and Practice*, Eds. Watts RL, Koller WC, **McGraw-Hill**, New York, 1997, s.183-199.

Perry DC, Kellar KJ. [3H]epibatidine labels nicotinic receptors in rat brain: an autoradiographic study. **J Pharmacol Exp Ther** 1995;275:1030–1034.

Pollanen MS, Dickson DW, Bergeron C. Pathology and biology of the Lewy body. **J Neuropathol Exp Neurol** 1993; 52: 183-191.

Quik M, Jeyarasasingam G. Nicotinic Receptors And Parkinson's Disease. **European Journal of Pharmacology** 2000; 393: 223-230.

Quik M, Polonskaya Y, Gillespie A, Lloyd GK, Langston JW. Differential alterations in nicotinic receptor $\alpha 6$ and $\beta 3$ subunit messenger RNAs in monkey substantia nigra after nigrostriatal degeneration. **Neuroscience** 2000a; 100(1): 63–72.

Quik M, Polonskaya Y, Gillespie A, Jakowec M, Lloyd GK, Langston JW. Localization of nicotinic receptor subunit mRNAs in monkey brain by in situ hybridization. **J Comp Neurol** 2000b;425(1): 58–69.

Quik M, Kulak JM. Nicotine and Nicotinic Receptors; Relevance to Parkinson's Disease. **NeuroToxicology** 2002; 23: 581–594

Quik M, Bordia T, O'Leary K. Nicotinic Receptors As CNS Targets For Parkinson's Disease. **Biochemical Pharmacology** 2007; 74: 1224-1234.

Quik M, Bordia T, Huang L, Perez X. Targeting nicotinic receptors for Parkinson's disease therapy. **CNS Neurol Disord Drug Targets** 2011;10(6):651-658.

Rajput AH. "Clinical features of tremor in extrapyramidal syndromes", Handbook of Tremor Disorders, Eds. Findley LJ, Koller WC, **Marcel Dekker Inc**, New York, 1995, 275-291.

Rajput AH, Birdi S. Epidemiology of Parkinson's Disease. **Parkinsonism Relat Disord** 1997; 3: 175-186.

Rajput AH, Rajput A, Rajput M. "Epidemiology of Parkinsonism", Handbook of Parkinson's Disease, Eds. Pahwa R, Lyons KE, Koller WC, **Marcel Dekker Inc**, New York, 2003, 17-42.

Rapier C, Lunt GG, Wonnacott S. Stereoselective nicotine-induced release of dopamine from striatal synaptosomes: concentration dependence and repetitive stimulation. **J Neurochem** 1988;50: 1123–1130.

Rauch F, Schwabe K, Krauss JK. Effect of deep brain stimulation in the pedunculopontine nucleus on motor function in the rat 6-hydroxydopamine Parkinson model. **Behavioural Brain Research** 2010; 210: 46–53.

Riess O, Krüger R, Schulz JB. Spectrum of phenotypes and genotypes in Parkinson's disease. **J Neurol** 2002; 249(Suppl3): III15-III20.

Rizelio V, Szawka RE, Xavier LL, Achaval M, Rigon P, Saur L, Matheussi F, Delattre AM, Anselmo-Franci JA, Meneses M, Ferraz AC. Lesion of the subthalamic nucleus reverses motor deficits but not death of nigrostriatal dopaminergic neurons in a rat 6 hydroxydopamine-lesion model of Parkinson's disease. **Braz J Med Biol Res** 2010; 43(1): 85-95.

Role LW and Berg DK. Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapses. **Neuron** 1996;16:1077–1085.

Rogers DC, Peters J, Martin JE, Ball S, Nicholson SJ, Witherden AS, Hafezparast M, Latcham J, Robinson TL, Quilter CA, Fisher EM. SHIRPA, a protocol for behavioral assessment: validation for longitudinal study of neurological dysfunction in mice. **Neurosci Lett**. 2001; 306 (1-2): 89-92.

Rozas G, Garcia JLL. Drug-free evaluation of rat models of parkinsonism and nigral grafts using a new automated rotarod test. **Brain Research** 1997; 749: 188–199.

Rubboli F, Court JA, Sala C, Morris C, Perry E, Clementi F. Distribution of neuronal nicotinic receptor subunits in human brain. **Neurochem Int** 1994;25:69–71.

Sacaan AI, Dunlop JL, Lloyd GK. Pharmacological characterization of neuronal acetylcholine gated ion channel receptor-mediated hippocampal norepinephrine and striatal dopamine release from rat brain slices. **J Pharmacol Exp Ther** 1995;274:224–230.

Schallert T, Fleming SM, Leasure JL, Tillerson JL, Bland ST. CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury. **Neuropharmacology** 2000; 39: 777–787

Schapira AH and Jenner P. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. **Movement Disorders** 2011; 26(6): 1049-1055.

Schneider JS, Pope-Coleman A, Van Velson M, Menzaghi F, Lloyd GK. Effects of SIB-1508Y, a novel neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonist, on motor behavior in parkinsonian monkeys. **Mov Disord** 1998;13: 637–642.

Schwartz RD, Lehmann J, Kellar KJ. Presynaptic nicotinic cholinergic receptors labeled by [3H]acetylcholine on catecholamine and serotonin axons in brain. **J Neurochem** 1984;42:1495–1498.

Seguela P, Wadiche J, Dineley-Miller K, Dani JA, Patrick JW. Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain $\alpha 7$: a nicotinic cation channel highly permeable to calcium. **J Neurosci** 1993;13:596–604.

Senoh S, Creveling CR, Udenfriend S, Witkop B. Chemical, enzymatic and metabolic studies on the mechanism of oxidation of dopamine. **J Am Chem Soc** 1959; 81: 6236–6240.

Sershen H, Toth E, Lajtha A, Vizi ES. Nicotine effects on presynaptic receptor interactions. **Ann New York Acad Sci** 1995;757:238–244.

Sharples CG, Kaiser S, Soliakov L, Marks MJ, Collins AC, Washburn M, Wright E, Spencer JA, Gallagher T, Whiteaker P, Wonnacott S. UB-165: a novel nicotinic agonist with subtype selectivity implicates the $\alpha 4\beta 2^*$ subtype in the modulation of dopamine release from rat striatal synaptosomes. **J Neurosci** 2000;20(8):2783–2791.

Sharples CGV and Wonnacott S. Neuronal nicotinic receptors. **Toctris Reviews** 2001; 19: 1-12

Shi LH, Woodward DJ, Luo F, Anstrom K, Schallert T, Chang JY. High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus reverses limb-use asymmetry in rats with unilateral 6 -hydroxydopamine lesions. **Brain Res** 2004; 1013: 98–106.

Shimohama S, Akaike A, Kimura J. Nicotine-induced protection against glutamate cytotoxicity. Nicotinic cholinergic receptor-mediated inhibition of nitric oxide formation. **Ann New York Acad Sci** 1996; 777: 356–361.

Siderof A, Stern M. Update on Parkinson Disease. **Annals of Internal Medicine** 2003; 138(8): 651-658.

Siegel GJ. Basic Neurochemistry, **Lippincott Raven**, Philadelphia, 1999.

Simola N, Pinna A, Fenu S. Pharmacological Therapy Of Parkinson's Disease: Current Options And New Avenues. **Recent Pat CNS Drug Discov** 2010; 5(3): 221-38.

Soliakov L, Gallagher T, Wonnacott S. Anatoxin-a-evoked [3H]dopamine release from rat striatal synaptosomes. **Neuropharmacology** 1995;34:1535–1541.

Sorenson EM, Shiroyama T, Kitai ST. Postsynaptic nicotinic receptors on dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta of the rat. **Neuroscience** 1998;87:659–673.

Stolerman IP, Chandler CJ, Garcha HS, Newton JM. Selective antagonism of behavioural effects of nicotine by dihydro-berythroidine in rats. **Psychopharmacology (Berl)** 1997;129:390–397.

Sullivan JP, Donnelly-Roberts D, Briggs CA, Anderson DJ, Gopalakrishnan M, Xue IC, Piattoni-Kaplan M, Molinari E, Campbell JE, McKenna DG, Gunn DE, Lin NH, Ryther KB, He Y, Holladay MW, Wonnacott S, Williams M, Arneric SP. ABT-089 [2-methyl-3-(2-(S)-pyrrolidinylmethoxy)pyridine]. Part I. A potent and selective cholinergic channel modulator with neuroprotective properties. **J Pharmacol Exp Ther** 1997; 283(1): 235–246.

Takeuchi H, Yanagida T, Inden M, Takata K, Kitamura Y, Yamakawa K, Sawada H, Izumi Y, Yamamoto N, Kihara T, Uemura K, Inoue H, Taniguchi T, Akaike A, Takahashi R, Shimohama S. Nicotinic Receptor Stimulation Protects Nigral Dopaminergic Neurons in Rotenone-induced Parkinson's Disease Models. **Journal of Neuroscience Research** 2009; 87: 576–585.

Taner D. Fonksiyonel nöroanatomi. ODTÜ geliştirme vakfı yayıncılık ve iletişim AŞ, **METU press**, Ankara 1998:170-179.

Tanner CM, Hubble JP, Chan P. "Epidemiology and genetics of Parkinson's disease", Movement Disorders: Neurologic Principles and Practice, Eds. Watts RL, Koller WC, **McGraw-Hill**, New York, 1997, s.137-52.

Tolleson CM and Fang JY. Advances in the Mechanisms of Parkinson's Disease. **Discovery medicine** 2013; 15(80): 61-66.

Torun S, Uysal M, Gücüyener D, Özdemir G. Parkinson's disease in Eskişehir, Turkey. **Eur J** 1995; 2 (suppl. 1): 44-45.

Tröster AI, Fields JA, Koller WC. "Parkinson's disease and Parkinsonism", Textbook of Geriatric Neuropsychiatry, Eds. Coffey CE, Cummings JL, **American Psychiatric Press**, Washington, 2000, s.559-600.

Tsuneki H, Klink R, Lena C, Korn H, Changeux JP. Calcium mobilization elicited by two types of nicotinic acetylcholine receptors in mouse substantia nigra pars compacta. **Eur**

J Neurosci 2000;12: 2475–2485.

Ungerstedt U. 6-Hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurons. **Eur. J. Pharmacol** 1968; 5: 107–110.

Uzbay IT, Sağlam E, Kayir H, Çelik T, Beyazyürek M. Effects of fluoxetine on ethanol withdrawal syndrome in rats. **Journal of Psychiatric Research** 2004; 38(4): 445-450.

Van Den Eeden SK, Tanner CM, Bernstein AL, Fross RD, Leimpeter A, Bloch DA, Nelson LM. Incidence of Parkinson's Disease: Variation by Age, Gender, and Race/Ethnicity. **Am J Epidemiol** 2003;157:1015–1022.

Wada E, Wada K, Boulter J, Deneris E, Heinemann S, Patrick J, Swanson LW. Distribution of $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, and $\beta 2$ neuronal nicotinic receptor subunit mRNAs in the central nervous system: a hybridization histochemical study in the rat. **J Comp Neurol** 1989;284:314–335.

Waters CH. Parkinson Hastalığının Tanısı ve Tedavisi. **Turgut yayıncılık ve Tic. A.Ş.**, İstanbul, 2000.

Welch KD, Pfister JA, Lima FG, Green BT, Gardner DR. Effect of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonists and antagonists on motor function in mice. **Toxicology and Applied Pharmacology** 2013; 266: 366–374.

Westfall TC, Besson MJ, Giorguieff MF, Glowinski J. The role of presynaptic receptors in the release and synthesis of 3Hdopamine by slices of rat striatum. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol** 1976;292:279–287.

Wichmann T, DeLong MR. Functional neuroanatomy of the basal ganglia in Parkinson's disease. **Adv Neurol** 2003; 91: 9-18.

Winzer-Serhan UH, Leslie FM. Codistribution of nicotinic acetylcholine receptor subunit $\alpha 3$ and $\beta 4$ mRNAs during rat brain development. **J Comp Neurol** 1997;386:540–554.

Wonnacott S. Presynaptic nicotinic ACh receptors. **Trends Neurosci** 1997;20: 92–928.

Wooten GF. Anatomy and function of dopamine receptors: understanding the pathophysiology of fluctuations in Parkinson's disease. **Parkinsonism Relat Disord** 2001; 8: 79-83.

Xu J, Kao SY, Lee FJ, Song W, Jin LW, Yankner BA. Dopamine-dependent neurotoxicity of alpha-synuclein: a mechanism for selective neurodegeneration Parkinson's disease. **Nat Med** 2002; 8(6): 600-606.

Zhou FM, Liang Y, Dani JA. Endogenous nicotinic cholinergic activity regulates dopamine release in the striatum. **Nat Neurosci** 2001;19:19.

Zhu J and Chu CT. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. **Journal of Alzheimer's Disease** 2010; 20: 325-334.

Zileli T, Baysal Aİ. Nöroanatomi-Nörofizyoloji esasları. **Hacettepe Üniv. Yayınları**, Ankara, 1989, s.10-15

ÖZGEÇMİŞ

Fatma Rüyal Tan, 2 Haziran 1988 Ankara doğumlu olup, Denizli Erbakır Fen Lisesi'nden 2006 yılında başarıyla mezun olmuş ve Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesine girmeye hak kazanmıştır. 2011 yılında Eczacılık mezunu olarak Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji bölümüne yüksek lisans öğrencisi olarak kabul edilmiştir. Ocak 2012'den bu yana Araştırma görevlisi olarak yüksek lisansına devam etmektedir.

Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Kursu ve Eskişehir Anadolu Üniversitesi P4 Sertifika Programı'nı başarıyla tamamlayarak sertifika almaya hak kazanmıştır. 2011 Tfd Ulusal Kongresi-Eskişehir ve 2012 Fens Neuroscience Congress-Barcelona olmak üzere yurtiçi ve yurtdışı kongrelere katılmıştır. Evli ve bir çocuk annesidir.