



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**Sporadik Parkinson Hastalığında VDR Gen
Polimorfizmlerinin Araştırılması**

**TEZ TİPİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

AYSAN AFAGH

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üy. OĞUZ ÇİLİNGİR**

2018



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**Sporadik Parkinson Hastalığında VDR Gen
Polimorfizmlerinin Araştırılması**

**TEZ TİPİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

AYSAN AFAGH

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üy. OĞUZ ÇİLİNGİR**

KABUL VE ONAY SAYFASI

Aysan AFAGH' ın Yüksek Lisans olarak hazırladığı "Sporadik Parkinson Hastalığında VDR Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

03.04.2018


Üye : Doç.Dr. Beyhan DURAK ARAS



Üye : Dr.Öğr.Üy. Oğuz ÇİLİNGİR (Danışman)



Üye : Dr.Öğr.Üy. Onur EROĞLU



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 09.04/2018 tarih ve 1166./1.5739 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ
Enstitü Müdürü



Özet

Sporadik Parkinson Hastalığında VDR Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması

Amaç: Parkinson hastalığı, nöron dejenerasyonu ve dopaminerjik nöronların bozulmasıyla oluşan ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır. Hücreler arasında sinyal iletilmemesi sonucunda bazal ganglionun uyarıcı etkisi beyin korteksinde azalır ve istirahat halinde izlenen titreme (tremor), hareketlerin yavaşlaması ve hareketsizlik (akinezi ve bradikinezi), katılık (rijidite), denge sorunları (postural instabilite) gibi motor belirtilere neden olur.

Dopaminerjik nöronlar özellikle beyin sapında substantia nigra ve bazal ganglioda bulunmaktadır. *In vitro* bir çalışmada, beyinde özellikle substantia nigra bölgesinde dopamin nöronlarında vitamin D reseptörün yoğun ekspresyonunun artmasının adrenal medulla hücrelerinde 1,25(OH)₂ D₃ etkisiyle dopamin sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan tirozin hidroksilazın ekspresyonunun arttırdığı bildirilmiştir.

VDR vitamin D'nin biyolojik fonksiyonlarında primer aracıdır. VDR gen polimorfizmleri VDR protein fonksiyonunu ve gen ekspresyon düzeyini etkileyebilmektedir. Beyinde hipotalamus ve substantia nigradaki dopaminerjik nöronlarda VDR geninin yüksek düzeyde ekspresyonu bulunmuştur. VDR gen polimorfizmlerinden ikinci ekzondaki Fok I ve intron sekizdeki Bsm I, multiple skleroz ve Alzheimer hastalığının da dahil olduğu çeşitli nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bu çalışma Parkinson hastalığı ve VDR gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılmasında öncülük edecektir.

Yöntem: Çalışmamızda VDR geninde tanımlanmış olan Fok I (rs2228570) ve Bsm I (rs1544410) polimorfizmlerini araştırmayı planladık. Çalışmada 130 Parkinson hastası ile 70 sağlıklı bireyden toplanan kanlardan DNA izole edildi. Polimorfizmlerin saptanabilmesi için PCR-RFLP yöntemi kullanıldı. Çalışmada her polimorfik bölge için o polimorfik bölgeyi içine alan primerler kullanılarak PCR aracılığıyla bu polimorfik bölgeler çoğaltılıp uygun restriksiyon enzimleri (Fok I ve Bsm I) ile PCR ürününün kesiminin ardından elde edilen fragmentler agaroz jel elektroforezinde yürütülerek analiz edildi.

Bulgular ve Sonuç: Çalışmamız sonucunda, Fok I ve Bsm I polimorfizmleri ile Parkinson hastalığı arasında, grupların karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı.

Anahtar kelimeler: Parkinson hastalığı, Vitamin D reseptör geni, Fok I, Bsm I, vitamin D, polimorfizm

Summary

Investigation Of VDR Gene Polymorphisms In Sporadic Parkinson Disease

Aim: Parkinson's disease is a progressive neurodegenerative disease caused by neuronal degeneration and impaired dopaminergic neurons. As a result of the inability to transmit signals between cells, the stimulatory effect of basal ganglia is reduced in the brain cortex, and causes motor symptoms such as tremor, akinesia/bradykinesia, rigidity, postural instability.

Dopaminergic neurons are found especially in the the substantia nigra and basal ganglia. In an *in vitro* study, expression of tyrosine hydroxylase, is a rate-limiting enzyme in the synthesis of dopamine by the action of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in adrenal medulla cells, is increased by intensive expression of the vitamin D receptor in brain, especially in the substantia nigra region.

VDR is the primer tool for the biological functions of vitamin D. VDR gene polymorphisms may effect on VDR protein function and gene expression level.

A high level of expression of the VDR gene was found in the hypothalamus and substantia nigra dopaminergic neurons in the brain. The VDR gene polymorphisms such as Fok I and Bsm I on the second exon and 8. intron have been associated with a variety of neurodegenerative diseases including multiple sclerosis and Alzheimer's disease. This study will lead to the discovery of the relationship between Parkinson's disease and VDR gene polymorphisms.

Method: In this study, we aimed to investigate the association between single nucleotide polymorphisms in Fok I (rs2228570) and Bsm I (rs1544410) regions of VDR gene and PD. 130 PD patients and 70 matched-healthy controls were genotyped by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis in. PCR-RFLP method was used to detect polymorphisms.

Results and Conclusion: As a result of our study, there was no statistically significant difference in the comparison of Fok I and Bsm I polymorphisms with Parkinson's disease groups.

Keywords: Parkinson's disease, Vitamin D receptor gene, Fok I, Bsm I, vitamin D, polymorphism

İçindekiler

Özet	iii
Summary	iv
İçindekiler	v
Tablo Dizini	ix
Şekil Dizini	x
Simge ve Kısaltmalar Dizini	xi
1- GİRİŞ ve AMAÇ	1
2- GENEL BİLGİLER	4
2.1. Parkinson	4
2.1.1. Parkinson Hastalığının Tarihçesi	4
2.1.2. Parkinson Hastalığının Epidemiyolojisi	4
2.1.3. Parkinson Hastalığının Etiyolojisi	5
2.1.4. Parkinson Hastalığının Patolojisi	6
2.1.4.1. Lewy Cisimleri	8
2.1.4.2. Dopamin	9
2.1.5. Parkinson Hastalığının Klinik Özellikleri	10
2.1.5.1. Tremor	10
2.1.5.2. Rijidite.....	10
2.1.5.3. Akinezi/Bradikinezi	11
2.1.5.4. Postural Kararsızlık (İnstabilite)	11

2.1.6. Parkinson Hastalığının Tedavi Yöntemleri	14
2.1.7. Parkinson Hastalığının Genetiği	15
2.1.7.1 Geç Başlangıçlı Parkinson Hastalığı İle İlişkili Genler	17
2.1.7.2 Erken başlangıçlı Parkinson Hastalığı İle İlişkili Genler	17
2.1.8. Parkinson ve Gen Polimorfizmleri	18
2.2. Vitamin D' nin Tarihçesi ve Tanımı	18
2.2.1. Vitamin D' nin Metabolizması	19
2.2.2. Vitamin D reseptörü (VDR)	20
2.2.3. Vitamin D Reseptör Geni ve Polimorfizmleri	23
2.2.4. Vitamin D ve Beyin	25
2.2.5. Vitamin D Reseptörü ve Beyin	26
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	27
3.1. Gereç	27
3.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri	27
3.1.2. Kullanılan cihaz ve gereçler	27
3.1.3. Kullanılan malzemeler ve kimyasal maddeler	28
3.2. Yöntem	28
3.2.1. DNA izolasyonu	28
3.2.1.1. Kandan Genomik DNA Eldesi protokolü	28
3.2.1.2. İzole edilen DNA miktarının ölçümü	29
3.2.2. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR İle Amplifikasyonu	29

3.2.2.1. Kullanılan Çözeltiler	30
3.2.2.1.1. Master miks	30
3.2.2.1.2. Primer	30
3.2.2.1.2.1. Primer Sulandırılması	30
3.2.2.1.2.2. Fok I GEN BÖLGESİ İÇİN KULLANILAN PRİMERLER	31
3.2.2.1.2.3. Bsm I GEN BÖLGESİ İÇİN KULLANILAN PRİMERLER	31
3.2.2.2. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR İle Amplifikasyonu	31
3.2.2.3. Fok I Ve Bsm I Gen Bölgesi İçin Kullanılan Amplifikasyon Şartları	31
3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi	32
3.2.3.1. Agaroz Jel Elektroforezde Yürütme İçin DNA Miktarı	32
3.2.3.2. Güç Miktarı	32
3.2.3.3. Agaroz Jel PCR ürünün büyüklüğüne göre hazırlanmalı	33
3.2.4. Restriksiyon Enzimleri İle Kesim	33
3.2.4.1. VDR Geni rs2228570 T>C Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi	34
3.2.4.2. VDR Geni rs1544410 G>A Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi	35
3.2.4.3. Agaroz Jel Elektroforezi	35
4- BULGULAR	36
4.1. Allel Frenkans Sonuçları	37
4.2. Genotip Dağılımı Sonuçları	38
4.3. İstatistiksel Değerlendirme	39
5- TARTIŞMA	40

6- SONUÇ VE ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR DİZİNİ	48



Tablo Dizini

TABLO 2.1. Parkinson hastalığı tanısı ve sınıflandırılması	12
TABLO 2.2. Hoehn ve Yahr Çizelgesi ve Parkinson Hastalığı Evreleri	13
TABLO 3.1. PCR miks hazırlanışı	30
TABLO 3.2. Primerlerle Uygun Olan PCR Programı	32
TABLO 3.3. Fok I kesim enzimi ve çalışma koşulları.....	34
TABLO 3.4. Bsm I kesim enzimi ve çalışma koşulları.....	34
TABLO 3.5. Bsm I ve Fok I primerleri ve RFLP fragment uzunlukları	35
TABLO 4.1. Fok I polimorfizmi allel frekansı	37
TABLO 4.2. Bsm I polimorfizmi allel frekansı	37
TABLO 5.1. PH'de Fok I ve Bsm I polimorfizmlerinin genotip dağılımı ve allel sıklığı.....	44

Şekil Dizini

ŞEKİL 2.1. Substantia nigra	6
ŞEKİL 2.2. Parkinson hastası ve sağlıklı bireyde substantia nigra	7
ŞEKİL 2.3. Sustantia nigra ve Lewy cisimciği	9
ŞEKİL 2.4. PH ilçları ve dopamin metabolizmasında etkileri	15
ŞEKİL 2.5. Vitamin D üretimi ve metabolizması	20
ŞEKİL 2.6. Vitamin D reseptörü	21
ŞEKİL 2.7. Vitamin D' nin etki mekanizması.....	22
ŞEKİL 2.8. VDR gen yapısı ve önemli polimorfizmleri.....	23
ŞEKİL 2.9. CYP27B1 ve CYP24A1 enzimleri ve Vitamin D ile ilişkileri	26
ŞEKİL 3.1. Fok I PCR ürünleri.	33
ŞEKİL 3.2. Bsm I PCR ürünleri	33
ŞEKİL 3.3. Fok I enzimi tanıma dizisi	34
ŞEKİL 3.4. Bsm I enzimi tanıma dizisi.....	35
ŞEKİL 4.1. Fok I enzimi ile kesilen VDR gen bölgesi.....	36
ŞEKİL 4.2. Bsm I enzimi ile kesilen VDR gen bölgesi	37

Simge ve Kısaltmalar Dizini

PH: Parkinson Hastalığı
VDR: Vitamin D reseptör
RXR: Retinoid X reseptör
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism
DNA: Deoksiribonükleik asit
SNP: Tek Nükleotit Polimorfizmi
OD: Otozomal dominant
OR: Otozomal resesif
PARK: Parkin genleri
SNCA: α -synuclein protein
DJ1: Protein deglycase 1
PINK1: PTEN-induced putative kinase 1
LRRK2: Leucine-rich repeat kinase 2
NGF: Nerve growth factor
NF: Nükleer Faktör
COMT: Katekol-O metiltransferaz enzimi
MAO-A ve B: Monoamin oksidaz A ve B enzimleri
GST M1, P1, T1: Glutatyon S-transferazlar
NAT 2: N-asetil transferaz 2
ACE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
DAT: Dopamin Trasnporter
DBP: Vitamin D binding proteine
DBD: DNA binding domain
LBD: Ligand binding domain
GWAS: Genome Wide Association Studies
LD: Linkage Disequilibrium
ng: Nanogram
 μ l: Mikrolitre
PSP: Progressive Supranuclear Palsy
REM: Rapid eye movement
1,25(OH)₂D₃: kalsitriol, 1,25 dihidroksivitamin D
7-DHC: inaktif provitamin D₃
MSA: Multiple System Athropy
ALS: Amyotrofik Lateral Skleroz
MS: Multipl Skleroz

1- GİRİŞ VE AMAÇ

Parkinson hastalığı (PH) genetik ve çevresel faktörlerin karmaşık etkileşiminden kaynaklanan ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır. Bu hastalığa ilk olarak 1817 yılında İngiliz hekim James Parkinson tarafından "shaking palsy" (titrek felç) adı verilmiştir. Bu hastalık, Alzheimer hastalığından sonra en sık görülen nörodejeneratif hastalıktır. Parkinson hastalığının yaklaşık %10-15'i ailesel ve %85'i ise sporadiktir. Ancak bu hastalığın %5'i tek gen mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (Mendel tipi kalıtım) (Cordato & Chan, 2004).

Beynin substantia nigra bölgesindeki dopaminerjik nöronların kaybı ve "Lewy cisimcikleri" adı verilen protein agregatlarının oluşumu ile meydana gelen PH, 65 yaş üstü populasyonun yaklaşık %1'ini etkilemektedir (Mouradian, 2002). Dopaminerjik nöronların yaklaşık %60-65'inin kaybı sonucu, dopamin seviyesinde meydana gelen %80-85'lik azalma, motor fonksiyonlarını etkiler ve bu bozukluklar bradikinezi, tremor, rijidite ve duruş bozukluğu gibi semptomların ortaya çıkmasına sebep olur (Lester & Otero-Siliceo, 2006; Ozansoy & Başak, 2004).

Hastalığın oluşumunda genetik, çevresel ve mekanik etkilerin yanında travma, PSP (Progressive Supranuclear Palsy) ve MSA (Multiple System Athropy) gibi diğer nörodejeneratif hastalıklar ve intoksikasyonların da rolü olduğu düşünülmekle birlikte Parkinson hastalığının temel bir klinik tanımlaması yoktur (Calne, 2005).

Son dönemde yapılan araştırmalarda genetik değişimlerin hastalığın patolojisinde rolü olduğu ortaya konulmuştur (Gwinn Hardy, 2002). Türkiye' de 2004 yılında Özansoy M. ve Başak A.N. PH'nin nörodejenerasyonunun moleküler biyolojisi ve genetiği hakkında çalışmalar yapıp aday genleri belirlemişlerdir. Bu çalışmaların sonucu α -sinüklein, PARK, DJ-1, PINK1, LRRK2 gibi birçok gende mutasyonlar bulunmuş ve hastalıkla ilişkili oldukları saptanmıştır (Ozansoy & Başak, 2004). Dopaminerjik nöron kaybının sebeplerini moleküler olarak araştırırken birçok mutasyon ve polimorfizmin PH oluşumunda rol aldığı görülmüştür.

Vitamin D, klasik olarak kemik metabolizmasındaki ve kalsiyum-fosfor homeostazındaki etkileri ile bilinmektedir. Yakın zamanda yapılan araştırmalarda, vitamin D'nin birçok hücre tipinde immunmodülatuar, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiproliferatif etkileri olduğu gösterilmiştir (Ohyama et al., 1994).

Parkinson hastalığı, Multipl skleroz, Alzheimer hastalığı, Amyotrofik lateral skleroz gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıkların etyopatogenezinde,

VDR ve vitamin D seviyelerinin genetik ve çevresel olarak etkileyen faktörler olabileceği üzerinde duruluyor (G. DeLuca, Kimball, Kolasinski, Ramagopalan, & Ebers, 2013; Lv, Tang, Sun, Yan, & Guo, 2012).

Vitamin D, şimdi bir vitamin olmaktan ziyade bir hormon olarak düşünülmektedir ve bu vitamin, nöronal sağkalım ile ilgili birçok işlemi düzenler ve son zamanlarda yapılan çalışmalarda PH patogenezinde çevresel modifiye edici bir faktör olarak önerilmiştir (Ohyama et al., 1994).

Hem Kafkaslar'da ve hem Japonlar'da, 25(OH)D düzeyleri Parkinson hastalarında önemli derecede düşük bulunmuştur (Ohyama et al., 1994; Ünal, Özkan, Çayır, Kaya, & Orbak, 2012).

Bugüne kadar ama 1,25(OH)₂D₃'ün beyindeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır. 1,25(OH)₂D₃'ün nöroblastomda proliferasyonu azalttığı, bunda da etkili mekanizmanın hücresel farklılaşma arttığında vitamin D'nin inaktif metabolitlerine çevrilerek proliferasyonu azaltıp bir denge sağladığı düşünülmektedir (Gumireddy, Ikegaki, Phillips, Sutton, & Reddy, 2003).

Uzun süredir VDR genin varyantlarındaki etkileri nörodejeneratif hastalıklarda dikkat çekmektedir. Vitamin D reseptörü, vitamin D'nin biyolojik etkilerinin ana aracıdır. VDR, hem merkezi hem de periferik sinir sistemlerinde yaygın olarak eksprese edilmektedir. En yüksek ekspresyon seviyesi, hipotalamusta ve substantia nigra'nın dopaminerjik nöronlarında bulunur, bu da VDR'nin bu hastalığın patogenezinde rol oynayabileceği düşüncesini desteklemektedir.

Vitamin D'nin nöroprotektif etkisini, VDR seviyesini arttırarak veya L-tipi kalsiyum kanallarının ekspresyonunu azaltarak gösterebileceği öne sürülmüştür (Taniura et al., 2006). Bu sebeple vitamin D eksikliğinin nörolojik hastalıkların oluşma riskini arttıran bir faktör olarak düşünülebilmektedir. Embriyolojik dönemde VDR ekspresyonunun artmasının apoptozu arttırıp mitozu azalttığı ve hücre proliferasyonunu etkilediği ve nöron gelişiminde de önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Veenstra et al., 1998). Ancak henüz beyinde 1,25(OH)₂D₃ aktivitesi tam olarak anlaşılamamıştır. 1,25(OH)₂D₃ 'un nöroblastomda proliferasyonu azalttığı, bunda da etkili mekanizmanın hücresel farklılaşma arttığında vitamin D'nin inaktif metabolitlerine çevrilerek proliferasyonu azaltıp bir denge sağladığı düşünülmektedir (Gumireddy et al., 2003). 1,25(OH)₂D₃'ün özellikle gelişmekte olan nöronlarda belirgin olan nöron büyüme faktörü (NGF)'nin sinyal iletiminde güçlü regülatör etkisinin olduğu ve böylece beyinde nöronların gelişiminde, migrasyonunda önemli olabileceği savunulmuştur (Sanchez, Relova, Gallego, Ben Batalla, & Perez Fernandez, 2009).

Son yıllarda yapılan çalışmaların sonucunda VDR gen polimorfizmleri ile PH riski arasında bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur (Butler et al., 2011; Kim et al., 2005; Suzuki et al., 2012). Ancak sonuçlar çelişkilidir (Loiola, 2016).

Bu alışmada, VDR gen polimorfizmlerinin Parkinson hastalığı ile ilişkisinin araştırılmasını amaçladık. Bu genin toplum taraması yönünden değerlendirilmesi lkemizde Parkinson hastalığının gelişimindeki genetik yatkınlığın oranlarının belirlenmesine yönelik bilimsel katkı sağlayacaktır.



2- GENEL BİLGİLER

2.1. Parkinson

Parkinson hastalığı substantia nigra başta olmak üzere bazal ganglion dejenerasyonunun gözlendiği ve etyolojisinde birden çok risk faktörünün yer aldığı, kronik, ilerleyici ve nörodejeneratif bir hastalıktır.

Bu hastalık dopamin üreten beyin hücrelerinin kaybıyla ve beyin sapı ve serebral korteksteki α -sinüklein proteinlerinin anormal katlanmalarından dolayı oluşan Lewy cisimcikleri nedeniyle ortaya çıkan bir hastalıktır.

2.1.1. Parkinson hastalığının tarihçesi

PH ilk olarak 1817 yılında İngiliz hekim James Parkinson tarafından "An essay on the Shaking Palsy" adlı makaleyle tanımlanmıştır. Londra'lı Dr.James makalesinde kendisinin muayene ettiği üç hasta ve Londra sokaklarında gözlemlediği üç olguyu bildirmiştir. Bu olguların ortak özelliklerine göre tremor, rijidite, bradikinezi/akinezi, postural refleks bozukluğu hastalığın temel ölçütleri olarak kabul edilmiştir (Veenstra et al., 1998).

Bu hastalık hakkında 1841 yılında ise Marshall Hall "paralysis agitans" terimini kullanmıştır (Suzuki et al., 2012). Ancak Dr.James'in makalesinin yayınlanmasından 60 yıl sonra Fransız nörolog Jean Martin Charcot, Parkinson hastalığına gereken önemi vermiş ve üzerinde geniş çaplı bir araştırma yaptıktan sonra, hastalığa Dr. James Parkinson'un adından dolayı "Parkinson" adını vermiştir (Veenstra et al., 1998).

2.1.2. Parkinson hastalığının epidemiyolojisi

PH tüm dünyada, tüm sosyoekonomik sınıflarda, her ırk ve etnik toplumda görülmektedir. Ancak Afrika kökenli Amerikalıların insidansı beyazların dörtte biridir. Asyalıların insidansı beyazların üçte biri ile yarısı arasındadır. Kuzey Amerikalılarda daha sık görüldüğü tespit edilmiştir. Tüm Avrupa ülkelerinde insidansı benzerdir (Saadat, 2013).

Birçok çalışmada, iki cinsiyet arasında eşit sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir (Bain et al., 1994; Benito-León, Bermejo-Pareja, Louis, & Group, 2005) ancak Louis ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları meta analiz çalışmasında erkek cinsiyet baskınlığı dikkat çekmiştir (1,8:1)(Raming & Gould, 1986).

Bu hastalık tipik olarak orta ve ileri yaş grubunun hastalığı olarak bilinmektedir ve ortalama 50 yaşından sonra başlar, yaklaşık 10-20 yıllık bir süreçte progresif olarak ilerler ve hastalık 65 yaş üstü populasyonun %1'ini etkiler (Rajput & Birdi, 1997). Hastalığın görülme sıklığı ve yaşam kalitesi arasında çizgisel bir ilişki bulunmaktadır (Koller, 1992). Bu hastalık genç yaşlarda nadiren görülebilir ve erken başlangıçlı Parkinson hastalığı olarak ve 20 yaşından önce hastalığın semptomları ortaya çıktığında "Juvenil PH" olarak adlandırılmaktadır.

Tüm hasta bireylerin %5'inde hastalığın 40 yaşından önce başladığı bilinmektedir (Roos, Jongen, & Van der Velde, 1996). Yıllık prevalans 100.000 kişide 80,6-187 arasında ve insidans ise 100.000'de 4,5-21 arasında değişmektedir. İnsidans ve prevalans değerleri yaşla birlikte artış göstermektedir (Dogu, Louis, Sevim, Kalegasi, & Aral, 2005).

Yaşlanma hızları göz önüne alındığında prevalans verileri mevcut olan 10 ülkede hasta sayısının 2030 yılında yaklaşık olarak iki katına çıkacağı öne sürülmektedir (Dorsey et al., 2007). Türkiye için prevalans değeri Eskişehir'de yapılmış olan bir çalışmaya göre 111/100000 olarak bildirilmiştir (Torun, Uysal, Gücüyener, & Özdemir, 1995).

2.1.3. Parkinson hastalığının etiyolojisi

PH'nin etiyolojisi tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte genetik yatkınlığı bulunan bireylerde mekanizması net bir şekilde ortaya konulamamaktadır.

SNCA geninde oluşan mutasyonlar bu hastalığa sebep olur. Bu gen hastalığın etiyolojisinde en önemli rolü olan α -sinuklein proteinini kodlayan gendir. Bu protein sitozolde bulunur ve presinaptik veziküllerin işlevi ve olgunlaşmasında önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Bu presinaptik veziküller nörotransmitterlerin yayın sürecinde bir negatif regülatör olarak rol almaktadır (Xia et al., 2001).

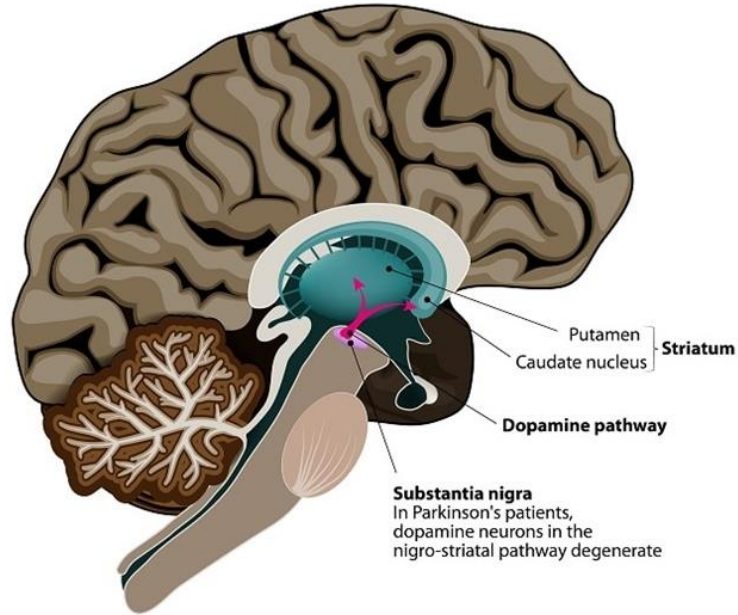
Parkinsonizm etiyolojik nedenden ziyade klinik bir tablodur ve çeşitli nedenlere bağlı olarak gelişebilir (Tan & Jankovic, 2006). Çevresel faktörlerin hastalığın oluşmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Son çalışmalarda bulunan genetik ve biyokimyasal veriler sayesinde genetik ve/veya çevresel nedenlerle hasara uğrayan proteozom-ubiquitin sisteminin bu hastalığın patogenezinde sorumlu ana mekanizma olduğu düşünülmektedir (Saadat, 2013; Tolosa, Martí, Valldeoriola, & Molinuevo, 1998).

James Parkinson makalesinde bu hastalığın nedenini üst servikal medulla spinalis ve medulla seviyesinde inflamasyon ve hasara sebep olabilecek travmaların sorumlu olabileceğini belirtmiştir. Hastalığın etiolojisinin aydınlatılmasında hastalık sürecinde gelişen patolojik değişikliklerin anlaşılması oldukça önemlidir. (Saadat, 2013) Böylece etiolojik faktörlerin hastalığa sebep olma mekanizması daha iyi anlaşılacaktır. Bu yolla etiolojiden sorumlu tutulan faktörlerin hastalığa nasıl neden olduğu daha iyi anlaşılacaktır.

Parkinson hastalığı patolojik olarak beyin ve çevresel sinir sisteminin birçok bölgesinde oluşan nörodejeneratif değişikliklerden meydana gelmektedir. Sitoplazmik inklüzyonlar olan Lewy cisimcikleri, sinir sisteminde parkinsoniyen nörodejenerasyonun temelini oluşturur (Trojanowski & LEE, 2003).

2.1.4. Parkinson hastalığının patolojisi

PH, beyin sapı bölgesinde hasara uğrayan substantia nigranın ve dolayısıyla dopamin salgılayan hücrelerin kaybı ve/veya dejenerasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Ama bu hasarın ortaya çıkma mekanizması ve bu hücrelerin tükenme nedeni henüz belli değildir (Moriwaka et al., 1996)(Şekil 2.1).

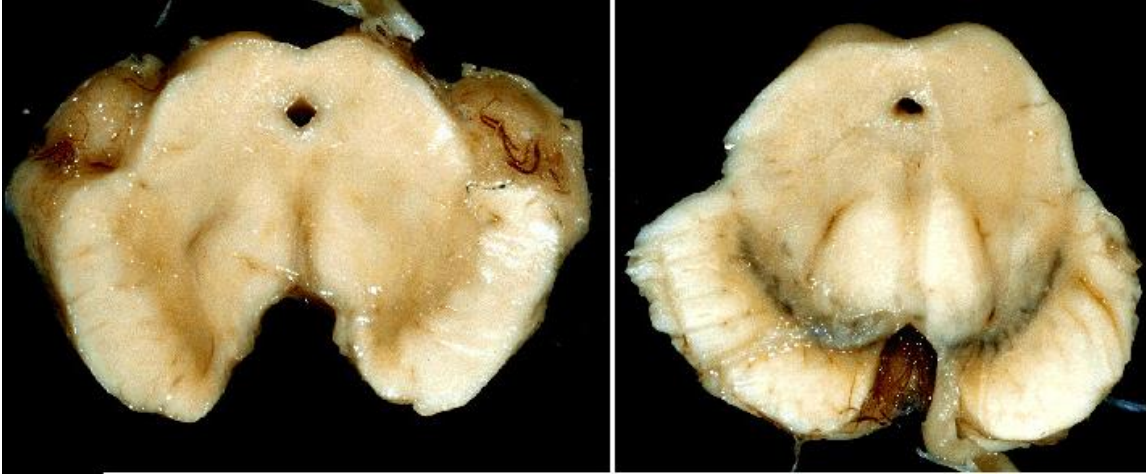


Şekil 2.1. Substantia nigra (Por el Dr. Ananya Mandal)

Substantia nigra bünyesinde 800.000 civarında hücre barındırır. PH'nin belirtilerinin görülebilmesi için bu hücrelerin en az %60-80'inin kaybolması

gerekir. Bu da aslında hastalığın, belirtiler ortaya çıkmadan çok önce başladığı anlamına gelir. Belirtiler, hücre kaybının yavaş ilerlemesi, sistemin rezervinin fazla olması nedeniyle, tüm hücrelerin %60-80'i kaybedildikten sonra ortaya çıkar. Yaşamları boyunca hiçbir PH belirtisi göstermeden, başka bir sebepten vefat eden insanlar vardır. Bu insanların beyinleri histopatolojik ve morfolojik olarak incelendiğinde ise substantia nigrada %50 oranında hücre kaybı görülmüştür (Agid, 1991; De Lau & Breteler, 2006).

Nöromelanin içeren dopaminerjik nöronların kaybı ve gliosis nedeniyle, substantia nigra çıplak gözle bile soluk görünür (Şekil 2.2). Lewy cisimcikleri, demir, hiperfosforile nörofilament proteinleri, ubikuitin, lipidler içerir. Patolojik çalışmalar, Lewy cisimcikleri ve karakteristik dejeneratif değişikliklerin sadece substantia nigra'da değil merkezi sinir sisteminin birçok bölgesinde de varlığı gösterilmiştir (Braak et al., 2006).



Şekil 2.2. PH'de substantia nigra'nın depigmentasyonu (sağda). Sağlıklı bireyde substantia nigra (solda)(S. A. Mandel, Morelli, Halperin, & Korczyn, 2010)

PH'nin nöropatolojik etkenlerini; geçirilmiş beyin enfeksiyonları, damar hastalıkları, ateroskleroz, travma, ailevi sebepler, bazı ilaçlar, toksinler (örn: MPTP), zehirlenmeler, tümörler ve kandaki alyuvarların aşırı yükselmesine bağlı sinaps kaybı, nöron ve diğer nörotransmitterlerin kaybı olarak sıralayabiliriz (Zhou et al., 2015).

Parkinson hastalığının patogeneğinde çevresel faktörler ve genetik yatkınlığın birlikte rol oynadığı düşünülmektedir. Bu yüzden genetik, çevresel faktörler, yaşlanma ve virüsler gibi faktörler araştırmalarda dikkate alınmaktadır.

Bu hastalık; (LRRK2, SNCA, Parkin genleri, vs.) genetik mutasyonlara sahip olan kişilerde daha sık görülmektedir. Ailesel Parkinson tipinde bazı proteinlerin varlığı tespit edilmiştir. Örnek olarak lewy cisimciği proteinlerin PH patogenezinde etkisi saptanmıştır (Dawson & Dawson, 2003).

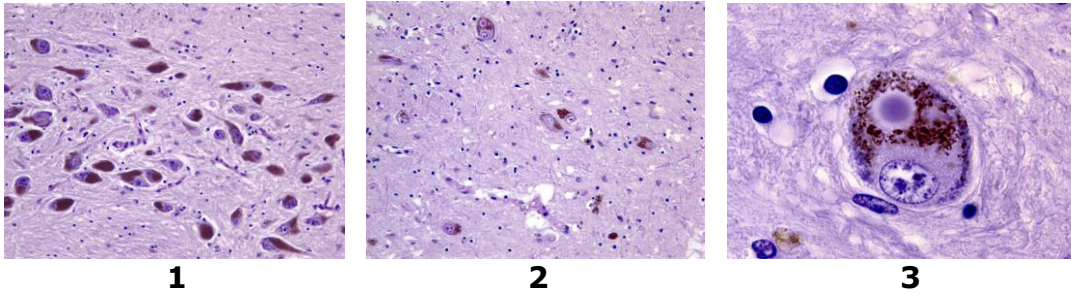
Ailede bir kişide PH varsa; ailenin diğer üyelerinde ya da kuşaklarında bir başka olguya rastlama ihtimali %15 civarındadır. Buna rağmen geç başlangıçlı Parkinson hastalığının; tek yumurta ikizlerde her iki kardeşte görülme riski çift yumurta ikizlere göre daha yüksek değildir. İkizlerde genç yaş Parkinson hastalığında ise bu oran daha yüksektir (Nakamura et al., 2016).

Yapısal bir yatkınlık temelinde ve yaşlanma süreci içinde, hastalığın bazı çevresel faktörlerin katkısıyla ortaya çıktığı düşünülmektedir (Dawson & Dawson, 2003).

2.1.4.1. Lewy cisimleri

Parkinson hastalığının temelinde, beyin sapı ve serebral korteksteki, α -sinüklein proteinlerinin anormal katlanmalarından oluşan Lewy cisimcikleri bulunmaktadır.

Lewy cisimciklerinin Parkinson hastalığı ile ilişkili olduğu ilk kez 1912 yılında Friedrich Lewy tarafından gösterilmiştir. Bunlar ilgili sinir hücrelerini ve sinir hücresi bağlantılarını ortadan kaldırıp ileticilerin (dopamin ve asetilkolin vb.) bağlantılarını keserler. Parkinson hastalarında bu hatlarda bilgilerin iletilmemesinden dolayı, örnek olarak hareket bozuklukları meydana gelmektedir (Hülya Deniz, 1998).



Şekil 2.3. 1- PH olan bir hastada substantia nigra nöronlarının kaybı. 2- Sağlıklı beyinde sustantia nigra 3- PH olan bir hastada pozitif Lewy cisimciği (Melanin granülleri kırmızı-kahverengidir) (S. A. Mandel, et al.)

Lewy cisimcikleri, demir, hiperfosforile nörofilament proteinleri, ubikuitin, lipidlere-sinüklein içerir ve PH için karakteristik, olmazsa olmaz bir bulgu haline gelmiştir (Şekil 2.3).

2.1.4.2. Dopamin

Dopamin düzgün ve kontrollü hareketler üretmek için iki beyin alanı (substantia nigra ve korpus striatum) arasında bir haberci olarak görev almaktadır.

Parkinson hastalığında görülen hareket bozuklukları genellikle substantia nigra'daki dopamin üreten hücrelerin kaybindan ve dolayısıyla dopamin eksikliğinden ortaya çıkmaktadır. Bu hareket bozukluklarının şiddeti dopamin kaybının miktarına bağlıdır.

Beyindeki diğer hücrelerin dejenere olmasından dolayı Parkinson hastalığının diğer semptomları ortaya çıkar. Motor semptomlarına neden olan dopamin eksikliğinin Parkinson hastalığında rol aldığı bilirse de dopamin üreten beyin hücrelerinin kaybının sebebi henüz belli olmamıştır.

Genetik ve patolojik çalışmalar çeşitli disfonksiyonel hücresel süreçlerin, inflamasyonun ve stresin hücre hasarına katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur. Genel olarak, yapılan çalışmalar sonucu dopamin kaybının genetik ve çevresel faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklandığı gösterilmektedir (Doktorix).

2.1.5. Parkinson hastalığının klinik özellikleri

Parkinson hastalığının, istirahat halinde izlenen titreme, hareketlerin yavaşlaması ve hareketsizlik (akinezi ve bradikinezi), katılık (rijidite), denge sorunları (postural instabilite) gibi dört ana motor belirtisi vardır (Dewey Jr, 2000).

2.1.5.1. Tremor

Parkinson hastalığında tremor (titreme) en iyi tanınan ve en spesifik ana bulgudur. Hastaların %75'inde görülen ilk motor belirtisidir ve hareket esnasında ortadan kaybolur, ancak ekstremitelere belli bir postürü aldıktan kısa bir süre sonra tekrar belirir. Kasların kısa süreli kasılmasından dolayı bu hareket bozukluğu meydana çıkar. Tremor sıklıkla ellerde bazen de kollarda, bacaklarda, başta, dil, çene, dudak ve hatta seste titreme şeklinde de görülebilir ve hastanın günlük hayatını etkilemese de ağır olduğunda yaşam kalitesini bozabilmektedir (Jankovic, 2003; uludağ).

2.1.5.2. Rijidite

Normalde kasların dinlenme halinde yumuşak ve gevşek olması gerekirken rijidite varlığında dinlenme halinde bile sabit biçimde gergin ve elle hissedilebilen belli bir sertlikte olduğu görülmektedir.

Kollar, bacaklar veya gövde kaslarında normal tonüsün artış göstermesi ve buna bağlı hareketlerde yavaşlama ortaya çıkar. Bu belirti hekimin muayene sırasında saptadığı bir bulgudur. Rijidite sıklıkla el bileğinde pasif rotasyon hareketleri ve dirsekte fleksiyon ve ekstansiyon hareketleri ile değerlendirilir.

Hafif olgularda rijiditeyi ortaya çıkartmak, ancak karşı ekstremiteye tekrarlayıcı hareketler (diğer elin açılıp kapatılması, parmaklarının sayılması, havada kare çizilmesi gibi) yaptırmakla mümkün olabilir.

Parkinson hastalarında rijidite distal (el ve ayak bilekleri) ve proksimal (boyun, omuz, kalça bölgelerinde) şeklinde görülebilir. Rijidite hastada eklemelerde ağrı, kaslarda tutukluk gibi yakınmalara neden olur (uludağ).

Rijidite istemli hareket hızını sınırladığı halde, rijiditesi olan bazı hastalar motor işlevlerini rahat sürdürebilirler ve bradikinezi, hastanın özür lülüğünde rijiditeden daha belirleyici bir rol oynamaktadır (Jankovic, 2003).

2.1.5.3. Akinezi/Bradikinezi

Akinezi hareketin olmayışını, bradikinezi ise yavaşlığını tanımlar. Bazal ganglion fonksiyon bozukluğunun en karakteristik belirtisi bradikinezidir.

Hastalarda sadece istemli motor hareketlerde değil, aynı zamanda yüzde ifadesiz görünüm, göz kırpmada azalma, yürürken kolları sallama veya yutma işlevinin yavaşlamasına bağlı ağızda salya birikimi ve akması gibi otomatik hareketlerde de bir azalma söz konusudur.

Bradikinezi ve akinezi tüm parkinson hastalarında görülür ve hastaların yaşam kalitesini en fazla düşüren belirtilerin arasında yer almaktadır (Jankovic, 2003).

2.1.5.4. Postural dengesizlik (İnstabilite)

Parkinson hastalarında rijidite ve akinezi nedeniyle ortaya çıkan bir belirtidir ve bu hastalığın belirtileri arasında en fazla özürlük yaratan ve tedaviye en az yanıt veren bulgudur.

Normal bireylerde vücudun ani pozisyon değişikliklerinde dengeyi sağlamak üzere refleks olarak postürünü ayarlama durumu söz konusudur. Buna postüral refleks denir. Parkinson hastalarında postüral reflekslerde azalma görüldüğünden, düşmeler görülebilir. Postüral instabilite ve buna bağlı düşmeler daha çok hastalığın geç evrelerinde görülmektedir (Jankovic, 2003; Zhou et al., 2015).

PH'de non-motor sinir sisteminde de değişiklikler görülmektedir. Bu belirtiler motor bulguları ortaya çıkmadan önce kendini gösterebilir. İdrar kaçırma, barsak hareketlerinde düzensizlikler, kabızlık, ağrı ve koku alma bozukluğu, postural hipotansiyon (ayağa kalkıldığında tansiyon düşmesi), ciltte aşırı yağlanma, gözlerde kuruma, REM (hızlı göz hareketi) ve uyku davranış bozukluğu (canlı rüyalar görüp, etrafındakilere zarar verebilecek kadar bir uyku bozukluğu) gibi bulgular izlenebilmektedir (Jankovic, 2003).

Bu hastalık geleneksel olarak motor sistem hastalığı olarak düşünülse de, bugün artık motor, non-motor (otonomik, davranışsal, bilişsel ve duyuşsal) ve karışık motor/non-motor tutuluş paterni ile çok daha karışık bir sendrom olarak kabul edilmektedir (Ertan, 2005).

PH tanısı üç ana kategoride sınıflandırılır ve bu alanların sorgulanması ile birlikte hastalık tespit edilebilir (Ertan, 2005) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Parkinson hastalığı tanısı ve sınıflandırılması

MOTOR BELİRTİLER	Bradikinezi	hareketlerde yavaşlama
	Rijidite	Katılık
	Tremor	eller, ayaklar, kollar, bacaklar, çene veya dilde titreme (genellikle istirahat halinde belirgin)
	Postüral Dengesizlik	özellikle dönüşlerde düşme eğilimi gösterme
NON-MOTOR BELİRTİLER	Mizaç	depresyon, anksiyete, sinirlilik
	Bilişsel Değişiklikler	dikkat,görsel-uzamsal sorunlar, bellek bozukluğu, kişilik değişikliği, psikoz/halüsinasyon
	Ortostatik Hipotansiyon	sersemlik ve ayağa kalkınca kan basıncında düşme
	Kabızlık ve Çabuk Doyma Hissi	küçük miktarlarda gıda alımından sonra şişkinlik hissi
	Hiperhidrozis	aşırı terleme
	Seboreik Dermatit	kuru cilt ve kepeklenme
	İdrar aciliyeti	sık idrara çıkma ve idrar kaçırma
	Anosmi	koku duyusunda kayıp
	Uyku Bozuklukları	insomni, gündüz aşırı uyku hali, REM uykusu davranış bozukluğu, huzursuz bacak sendromu ve uykuda periyodik bacak hareketleri
	Ağrı, Sertlik Hissi, Uyuşma	
KARIŞIK MOTOR VE NON-MOTOR BELİRTİLER	Siyalore	tükürük salgısının yutma sıklığındaki azalmaya bağlı olarak ağız kenarından dışarı akması
	Konuşma ve Yutma Sorunları	

PH'de belirtiler sinsi bir şekilde başlar ve belirtiler git gide ağırlaşır (Ertan, 2005). Bu nedenle hastalığın şiddetine göre klinik evreleme yapılmaktadır. Bunun için de 1960'larda Melvin Yahr ve Margaret Hoehn tarafından evreleme için geliştirilmiş olan "Hoehn ve Yahr çizelgesi" kullanılmaktadır (Hierholzer et al., 1994) (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Hoehn ve Yahr Çizelgesi ve Parkinson Hastalığı Evreleri

0. Parkinson hastalığı bulgusu yok.
Evre 1. Tek tarafta PH bulguları var. Prodrom (preseptomatik) dönem
Evre 2. İki taraflı PH belirtileri var ama yürüme güçlüğü yok. Erken (preklinik) dönem
Evre 3. İki taraflı PH belirtileri var ve çok az yürüme güçlüğü var. Hafif tremor dönemi
Evre 4. İki taraflı PH belirtileri var ve orta derecede yürüme güçlüğü var. Hasta tek başına yürüyemeyecek durumdadır. Orta derecede tremor dönemi
Evre 5. İki taraflı PH belirtileri var ve hasta yürüyemez. Hasta tekerlekli sandalye kullanmak zorundadır ve yatağa bağımlıdır. Şiddetli tremor dönemi

Parkinsonizm semptomlarının bulunduğu birçok hastalığın bu hastalıkla karışabilmesi nedeniyle, PH'nin tanısı için geliştirilmiş olan değişik tanı kriterleri arasında, Hughes ve arkadaşlarının 1992 yılında yayınladıkları "İngiltere Parkinson Hastalığı Derneği Beyin Bankası klinik tanı kriterleri " en sık kullanılmaktadır (Hughes, Ben-Shlomo, Daniel, & Lees, 1992; Hughes, Daniel, Kilford, & Lees, 1992).

Parkinsonizm bulguları ile birlikte görülen heredodejeneratif hastalıkların başlıcaları Wilson Hastalığı, Machado-Joseph Hastalığı, Huntington Hastalığı, Haller Vorden- Spatz Hastalığı, Familial Bazal ganglion kalsifikasyonu ve Nöroakantositozistir (Kütükçü, 2008; Saadat, 2013).

Parkinson hastaları, parkinsonizm vakalarının yaklaşık %80'nini oluşturmaktadır (Saadat, 2013). PH'nin bu kadar değişik semptomatoloji göstermesi hastalığın erken döneminde tanı karmaşası ve tedavinin gecikmesine yol açabilmektedir.

2.1.6. Parkinson hastalığının tedavi yöntemleri

Parkinson hastalığının tedavisinin asıl amacı, hastalarda olabileceği kadar en uzun süre, en iyi işlevsel iyileşmeyi sağlamak ve hastalığın belirtilerini kontrol altına almaktır. Bu hastalığın önlemeye ve tamamen ortadan kaldırmaya yönelik bir tedavi henüz bulunmamaktadır.

PH'nin motor semptomları üzerine olumlu etkileri olan farklı antiparkinson ilaçlar ve cerrahi tedavi uzun zamandır kullanılmaktadır (Stanley Fahn, Jankovic, & Hallett, 2011).

LD PH'nin tremor, bradikinezi ve rijidite gibi semptomlarında etkin bulunmuştur. Oral olarak alınan LD, periferik organlarda parçalandığından sadece % 1'i kan-beyin bariyerini geçebilir.

Bu nedenle "dopa-dekarboksilaz enzim inhibitörleri" LD'nin periferde metabolize olmasını engelleyip ve santral sinir sistemindeki etkinliğini arttırmak için LD preparatlarına eklenmiştir. Ayrıca periferde dopamin miktarı az olduğundan dolayı mide bulantısı, kusma, ortostatik hipotansiyon gibi yan etkiler de engellenmiş olur (Baker et al., 2009).

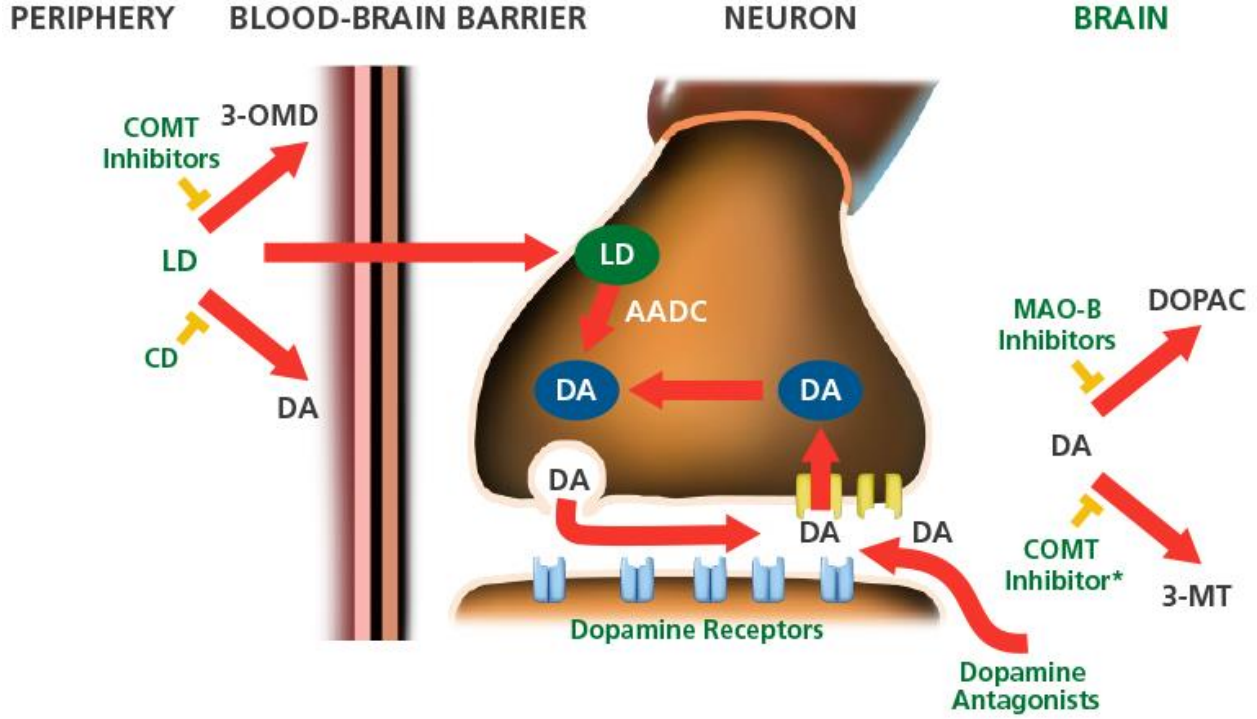
Ancak LD'nin kronik kullanımı ile hastanın yaşam kalitesini bozan bazı komplikasyonlar (doz sonu kötüleşmesi ve diskineziler) oluşturabilme potansiyeli nedeniyle, bu komplikasyonlardan kaçınmak ya da ortaya çıkışını geciktirmek için, yeni ilaçlar ve tedavi seçenekleri geliştirilmiştir.

LD halihazırda semptomları baskılamada en etkin ilaç seçeneğidir. Ancak, özellikle genç hastalarda kronik ve yüksek doz kullanımı sonucu motor komplikasyonların gelişme riskinin yüksek olma potansiyeli nedeniyle, farklı dopamin agonistleri tedavide erken dönemde daha sık kullanılmaya başlanmıştır (S Fahn, 1992).

PH tedavisinde kullanılan ilaçlar arasında semptom baskılayıcı etkisi olan LD'den sonra en fazla kullanılan dopamin agonistler, dopamin reseptörlerini doğrudan uyarabilen ilaç grubudurlar.

Bu iki ana grup dışında Parkinson hastalığının tedavisinde antikolinergik ilaçlar, COMT (katekol-O metiltransferaz enzimi) ve MAO-B (Monoaminooksidaz-B enzimi) inhibitörleri, amantadin kullanılmaktadır (Stanley Fahn et al., 2011).

Parkinson hastalığının tedavi yönelik ilaçlar ve dopamin metabolizmasında etkileri (Şekil 2.4)'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Parkinson hastalığının tedavi yönelik ilaçlar ve dopamin metabolizmasında etkileri (Simpson)

Seçilmiş bazı hastalarda da cerrahi tedavi yöntemi (ablatif ve derin beyin stimülasyonu) uygulanabilmektedir (Arica & Akbostancı, 2008).

2.1.7. Parkinson hastalığının genetiği

Geçen yıllarda yapılan genetik araştırmalar, DNA dizilerindeki varyantların hastalığın gelişim sürecinde oldukça önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Parkinson hastalarının en az bir birinci derece akrabasında bu hastalığın gözükmesi %15'tir. İkiz çalışmalarında tek yumurta ikizlerde %8, çift yumurta ikizlerde ise %5 oranında PH görüldüğü belirlenmiştir (Duvoisin, Eldridge, Williams, Nutt, & Calne, 1981).

1888 yılında bu hastalıkla ilgili ilk aile çalışması Gowers tarafından yapılmıştır (Spacey & Wood, 1999). O günden beri genetik faktörlerin hastalığın patolojisinde rol oynadığı düşünülmüştür ve ardından çeşitli çalışmalar yapılmaktadır.

Yapılan çalışmalar sonucunda mutasyon halinde doğrudan genetik geçişli hastalığa sebep olan birçok gen belirlenmiştir (Elbaz et al., 2003)

Genetik geçişli parkinson hastalığı'nda yapılan çalışmalar sonucunda mutasyonu halinde doğrudan hastalığa yol açan ondan fazla genetik lokus saptanmıştır. Bunlar 4.kromozom üzerinde α -sinüklein (OD) ve UCH-L1 (Ubiquitin C-terminal hidrolaz) (OD) genleri, 6.Kromozom üzerindeki Parkin geni (OR), 1. kromozom üzerindeki DJ-1 geni (OR) ve 1,2,4,12 kromozomlar üzerinde yeri saptanan ancak henüz tam olarak tanımlanmayan gen lokuslarıdır (Elbaz et al., 2003) (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Genetik Geçişli Parkinson Hastalığı'nda şimdiye kadar bulunmuş lokuslar ve bu lokuslarda tanımlanmış genler ile kalıtım şekilleri (OD: Otozomal dominant, OR: Otozomal resesif).

Lokus	Gen	Pozisyon	Kalıtım şekli	Parkinsonizm tipi
PARK 1/4	SNCA	4q21	OD	Erken
PARK 2	Parkin	6q25.2-q27	OR	Juvenil ve erken
PARK 6	PINK1	1p35-p36	OR	Erken
PARK 7	DJ-1	1p36	OR	Erken
PARK 8	LRRK2	12q12	OD (düşük penetrans)	Geç
PARK 9	ATP13A2	1p36	OR	Kufor-Rakeb sendromu
PARK 3	?	2p13	OD	Geç
PARK 5	UCHL1	4p14	OD	Geç
PARK 10	?	1p32	?	Geç
PARK 11	GIGYF2	2q36-q37	OD (düşük penetrans)	Geç
PARK 12	?	Xq21-25	?	?
PARK 13	Omi/HTRA2	2p12	?	?
PARK 14	PLA2G6	22q13.1	OR	Erişkin başlangıçlı distoni parkinsonizm
PARK 15	FBXO7	22q12-q13	OR	Erken başlangıçlı parkinsonian piramidal sendrom
PARK 16	?	1q32	?	Geç
PARK 17	?	4	?	Geç
PARK 18	?	HLA	?	Geç

İlk defa 1996' da kalabalık İtalyan asıllı bir ailedeki otozomal dominant geçişli PH olgularının incelenmesi ile 4q21-q23 kromozomu üzerinde α -sinüklein genine ait A53T mutasyonu genetik geçişli PH'de ilk mutasyon olarak tanımlandı. SNCA geninde oluşan A53T mutasyonu farklı α -sinüklein proteinin sentezine sebep olup ve protofibril oluşumunu tetikler ki bu protofibriller sinaptik veziküllerin zarlarının parçalanmasına sebep olmaktadır. Böylece veziküllerde mevcut olan dopamin, hücre içine salınarak oksidatif stres yaratır ve toksisiteye neden olur (Gwinn Hardy, 2002).

Alman bir ailede A30P mutasyonu ikinci mutasyon olarak tanımlanmıştır (Altinkut Uncuoğlu, 2010). Bu mutasyonun klinik tablosunun sporadik Parkinson hastalığına çok benzediği keşfedilmiştir (Krüger et al., 1998). Bulunan son mutasyon ise E36K mutasyonudur ve bu mutasyona sahip bireylerin klinik tablosunda demans ön plana çıkmaktadır (Gwinn Hardy, 2002).

Parkinson hastalığı genellikle genetik geçişli olarak iki şekilde görülmektedir. Geç başlangıçlı PH otozomal dominant ve erken başlangıçlı PH otozomal resesif olarak ikiye ayrılabilir. Geç başlangıçlı PH ortalama 50 yaşlarında ve erken başlangıçlı PH ise 45'den önce ortaya çıkar. Bu gruba dahil edilen jüvenil PH'nin başlangıç yaşı ise 20'nin altındadır (Potenza, Voon, & Weintraub, 2007).

2.1.7.1 Geç başlangıçlı parkinson hastalığı ile ilişkili genler

Hastalığın büyük çoğunluğu ileri yaşlarda başlayan ve ailesel olmayan Parkinson hastalığının %90'ının sebebi tam olarak bilinmemektedir (Chartier-Harlin et al., 2004).

Geç başlangıçlı PH'ye yatkınlık oluşturduğu düşünülen genler GWAS'a göre; UCH-L1, PARK3, Sitokrom P450 izoenzimleri (CYP2D6 ve CYP1A1, CYP1A2), GIGYF2, Monoamin oksidaz A ve B (MAO-A ve MAO-B), Glutasyon S-transferazlar (GST M1, P1, T1 ve Z1), N-asetil transferaz 2 (NAT 2), Anjiyotensin-dönüştürücü enzim (ACE), Dopamin Trasnporter (DAT), Mitokondriyel Kompleks I, Dopamin Reseptör genleri (D2, D4)' dir (Vines, Larumbe, Gaminde, & Artazcoz, 1999). Bu genlerde oluşan mutasyon ve polimorfizmler popülasyonlar arası farklılık yaratır ve genetik olmayan faktörlerle ve birbirleriyle ilişkilidir.

2.1.7.2 Erken başlangıçlı parkinson hastalığı ile ilişkili genler

Erken yaşta belirtileri ortaya çıkan hastalığın genetik olma olasılığı daha fazladır. Akraba evliliği yapan aileler ve aile öyküsü olan bireyler risk

altında olup bu kişilerde yatkınlık gözükabilir. Bu ailelerde genetik tanı konulduktan sonra genetik danışma verilmelidir.

Erken başlangıçlı PH ile ilişkili olan genler SNCA (α -sinüklein), PARK2, ATP13A2, LRRK2, PLA2G6, FBXO2, PINK1, DJ1 genlerdir, bu genlerdeki mutasyonlar ailevi parkinsonizmin nedeni olarak gösterilmiştir (Barone et al., 1999).

2.1.8. Parkinson ve gen polimorfizmleri

Yıllardır araştırmalarda Parkinson hastalığının genetiği inceleniyor. PH klinik olarak tespit edilmekle birlikte genom üzerinde yer alan bazı polimorfizmlerin bu hastalık için risk oluşturduğu belirlenmiştir (Ozansoy & Başak, 2004).

Bugüne kadar genom üzerinde genetik geçişli Parkinson'a neden olan ondan fazla lokus tanımlanmış olup, bunlardan altı tanesinde sorumlu gen bulunabilmiştir. Bunlar; otozomal dominant α -sinüklein ve otozomal dominant UCH-L1 genleri, otozomal resesif parkin geni, otozomal resesif DJ-1 geni ve yeri saptanan ancak henüz tam olarak tanımlanmayan gen lokuslarıdır (Nussbaum & Ellis, 2003).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda vitamin D seviyesinin Parkinson hastalarında düşük olduğu gösterilmiştir ve VDR gen polimorfizmleri ile PH riski arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır (Butler et al., 2011; Kim et al., 2005; Suzuki et al., 2012).

2.2. Vitamin D' nin Tarihçesi ve Tanımı

1919 yılında Edward Mellan yulafla beslenen köpeklerin daha sık raşitizm olduğunu fark etmesiyle vitamin D'nin keşfine yol açan ilk adımı atmıştır (Wolf, 2004). Ancak nobel tıp-fizyoloji ödülü, 1928 yılında bu vitaminin keşfinde yaptığı çalışmalardan dolayı Adolf Windausin'e verilmiştir.

Vitamin D; A,E,K vitaminleri gibi yağda eriyen vitaminlerin grubundadır. Hem yapısı hem fonksiyonları açısından bir vitamin ya da gıda kaynağı olmayan gerçekte çok yaygın ve çeşitli biyolojik etkileri olan vitamin D aslında bir hormondur (Öngen, Kabaroğlu, & Parıldar, 2008).

Uygun biyolojik ortamda vücutta sentezlenebilen vitamin D, steroid yapıda bir prohormon molekül olarak artık bilinse de tarihsel sebeplerden dolayı hala vitamin olarak adlandırılmaktadır (H. F. DeLuca, 2004).

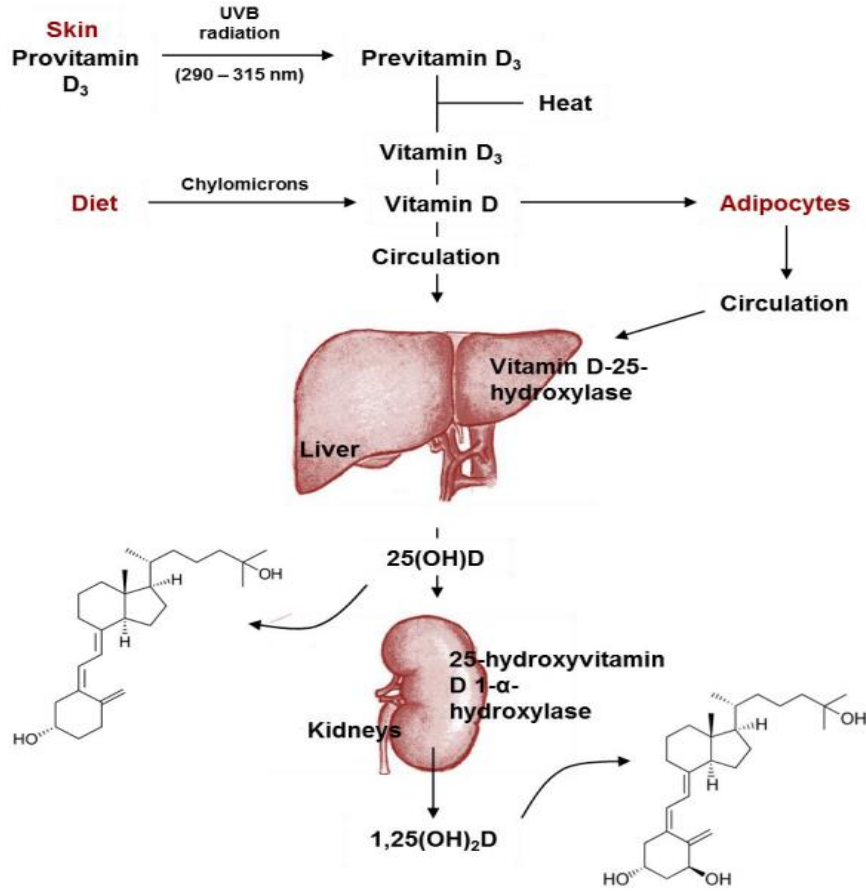
Vitamin D steroid yapısında, ekstra ve intrasellüler fosfor ve kalsiyum yoğunluğunun düzenlemesinde en etkili hormondur. Bununla birlikte vitamin D'nin 470'ten fazla geni kontrol ettiğini ve farklı dokularda hücrelerin farklılaşması, çoğalması, apoptozu, immün mekanizmaları, anjiyogenezi ve kardiyovasküler sistem üzerinde de (renin anjiyotensin sisteminin down regülasyonu) hayati fonksiyonlarının olduğu gösterilmiştir. Zaten kemik mineralizasyon ve kalsiyum hemostazide görevi çok uzun zamandır bilinmektedir (Kinuta et al., 2000; Uitterlinden, Fang, van Meurs, Pols, & van Leeuwen, 2004).

2.2.1. Vitamin D' nin metabolizması

Vitamin D'nin kendisi, biyolojik olarak aktif değildir. Aktif hale gelebilmesi için, karaciğerde sentezlenen kolesterol, burada 7-DHC'ye çevrildikten sonra periferik kana geçerek derinin stratum granulosum tabakasına gelir. 290-315 nm boyutundaki UVB radyasyon epidermisi geçerek 7-DHC'deki çift bağlar tarafından absorbe olur. Bunun sonucunda, inaktif provitamin D₃ (7-DHC) previtamin D₃'e dönüşür. Previtamin D₃ stabil olmayan bir moleküldür vücut sıcaklığında hızlı bir şekilde vitamin D₃'e dönüşür. Epidermisteki bu süreçler enzimatik olmayan termal ve fotokimyasal reaksiyonlar şeklinde gerçekleşir.

Oluşan vitamin D₃, derinin bazal tabakasından diffüzyonla dolaşıma geçer. Vitamin D dolaşımıyla bir α-1 globülin olan vitamin D Bağlayıcı Proteine (DBP) bağlanarak karaciğere geçer. Hepatosit mitokondri veya mikrozomlarında bulunan CYP27A1, CYP2R1 ve diğer olası enzimler (25-hidroksilaz enzimleri) ile 25(OH)D₃'e (25-hidroksikolekalsiferol, kalsidiol) dönüşerek dolaşıma katılır. 25(OH)D₃, vitamin D'nin hem dışarıdan alımını hem endojen yapımını göstermesi nedeniyle vücuttaki total vitamin D düzeyini en iyi gösteren formudur.

25(OH)D₃, DBP'ye bağlanarak kan yoluyla böbreğe gelir ve böbreklerde proksimal tübül hücrelerinde mitokondrial CYP27B1 (25-hidroksikolekalsiferol 1-α hidroksilaz) enzimi ile aktif formu olan 1,25(OH)₂D₃'e (1,25-dihidroksikolekalsiferol, kalsitriol) çevrilerek metabolize olur (Bozkurt, 2015) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Vitamin D üretimi ve metabolizması (James & Asuni, 2013)

Vitamin D'nin en aktif formu olan 1,25(OH)₂D₃; plazma yarı ömrü 4-6 saattir. Kan dolaşım düzeyi 25(OH)D₃'ten daha azdır (Bozkurt, 2015). Aktif vitamin D hedef hücreye geldiğinde DBP' den ayrılıp ve lipofilik olması sebebiyle hücre zarından hızla geçip hedef organlarda etkilerini göstermek için nukleustaki vitamin D reseptörüne (VDR) bağlanır (Bozkurt, 2015).

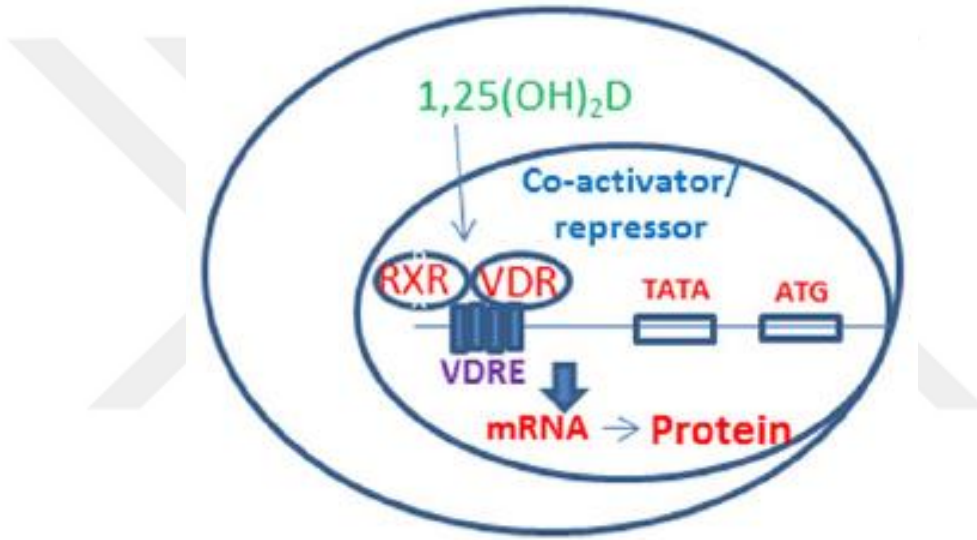
2.2.2. Vitamin D reseptörü (VDR)

Vitamin D çoğunlukla biyolojik etkilerini vitamin D reseptörü (VDR) vasıtasıyla gerçekleştirir.

Vitamin D çok az sayıda hücrede, vitamin D reseptöründen bağımsız ve genomik olmayan sinyal yolağıyla biyolojik etkilerini gerçekleştirir ancak bu yolağın mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Bu mekanizmanın intrasellüler Ca iyonu mobilizasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Cancela, Nemere, & Norman, 1988).

VDR proteini, ligand ile aktif olan nükleer hormon reseptör ailesinin bir üyesidir. Bu aile steroid, retinoid ve tiroid hormonları ve vitamin D, vitamin A gibi lipofilik ligand görevi yapan 60'dan fazla nükleer reseptörden oluşur. Bu reseptörler ligand ile aktive olarak gen transkripsiyonunu düzenlerler (Warda, 2015).

VDR hücre tipine göre retinoik asit reseptörlerinin biriyle (RXR α , RXR β , RXR γ) homodimer ya da heterodimer oluşturur. VDR homodimer ve ya VDR-RXR heterodimer özel enhancer faktörlere bağlanıp, 1,25(OH) $_2$ D $_3$ hedef genlerin promotörlerinde transkripsiyonu başlatır.



Şekil 2.6. Vitamin D reseptörü (Chandel, Malhotra, & Singhal, 2015)

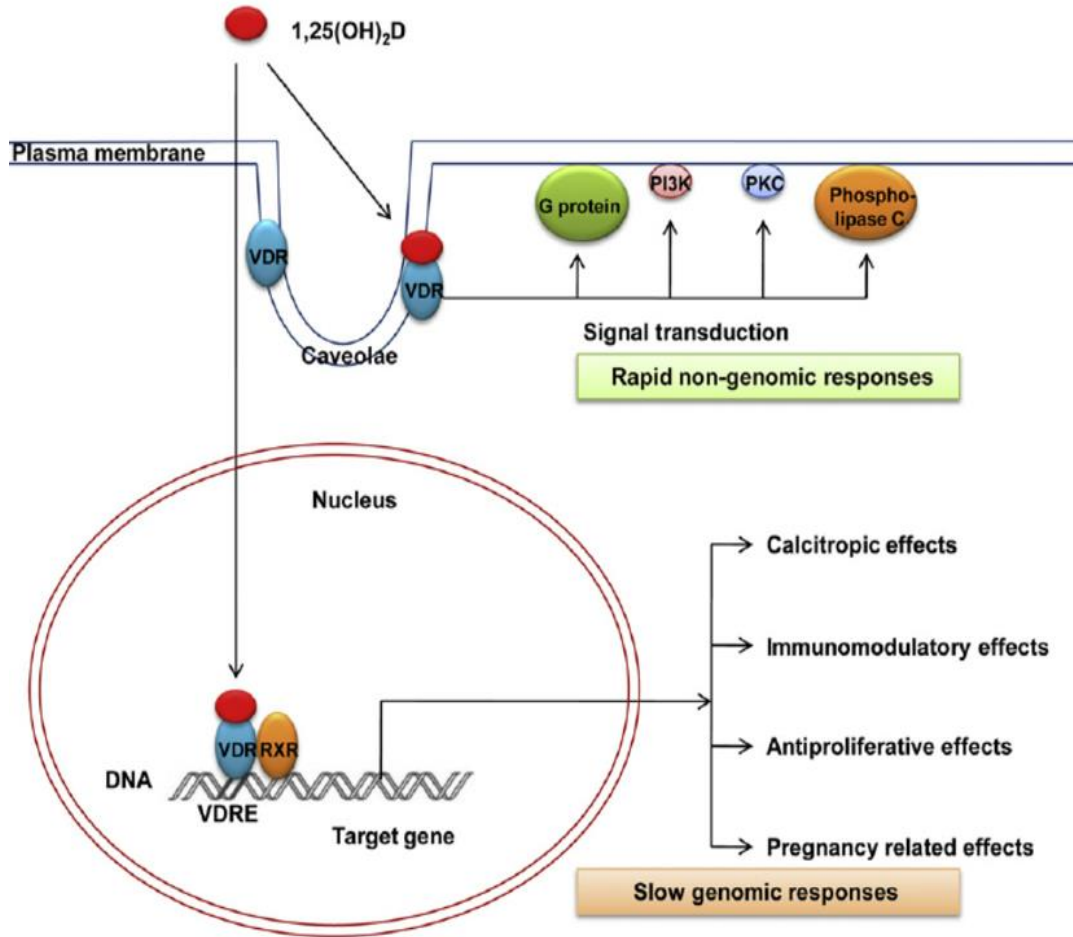
VDR iki bağlayıcı bölgeden oluşur; 1. ligand bağlayıcı bölge (LBD ,Ligand binding domain) ve 2. DNA bağlayıcı bölge (DNA binding domain, DBD)

1,25(OH) $_2$ D $_3$ ilk olarak, VDR'nin LBD bölgesine bağlanır ve VDR'de yapısal değişiklikler oluşup aktif hale gelir. 1,25(OH) $_2$ D $_3$, VDR-RXR heterodimerizasyonunu ve bu kompleksin nukleusa translokasyonunu indükler. 1,25(OH) $_2$ D $_3$ -VDR kompleksi başka bir reseptöre, 9-cis retinoik asit RXR'ye bağlanarak 1,25(OH) $_2$ D $_3$ -VDR-RXR kompleksini oluşturur.

Bu heterodimerizasyon, DNA'ya ligand-bağımlı yüksek afiniteli bağlanma ve transkripsiyon başlangıç faktörlerinin bir araya toplanması için gereken bir komplekstir.

VDR'nin DBD parçası vitamin D ile ilişkisi olan genlerin promotor bölgelerinde bulunan VDRE bölgesine (PuG(G/T)TCA motifinin tekrarlarından oluşan DNA dizisi) bağlanıp genlerin ekspresyonu ve transkripsiyonunu regüle eder (Bozkurt, 2015) (Şekil 2.6).

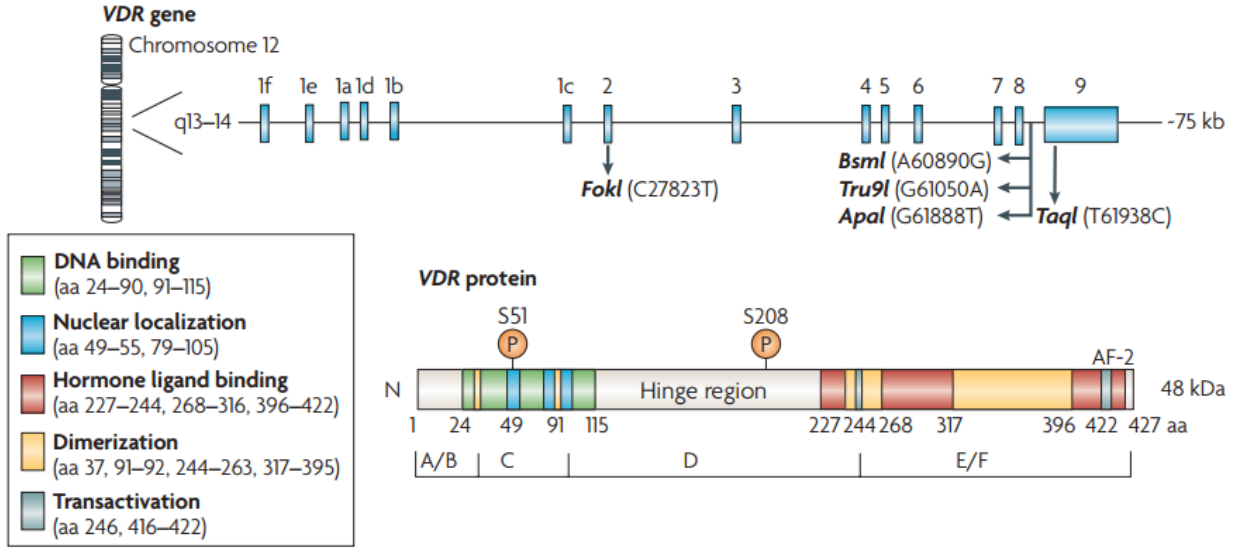
VDR, VDRE'yi 3 farklı yolla düzenler. Bunlar; hedef genlerin promotor bölgelerinde olan VDRE'ye bağlanıp gen ekspresyonunu düzenlenmesi, "negatif" VDRE'ye bağlanarak gen transkripsiyonunu engellenmesi ya da nükleer faktör (NF)-AT ve (NF)-kB gibi transkripsiyon faktörlerini antagonize ederek bazı genlerin ekspresyonunun inhibe edilmesi şeklinde olur (Mora, Iwata, & Von Andrian, 2008). Buda vitamin D'nin hücrelerin diferansiyasyonunda, proliferasyonunun düzenlenmesinde ve immün sistem düzenlenmesinde etkisi olabileceğini göstermektedir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Vitamin D'nin etki mekanizması ve hedef gen ekspresyon (Shin, Choi, Longtine, & Nelson, 2010)

2.2.3. Vitamin D reseptör geni ve polimorfizmleri

12q13-14 bölgesinde lokalize olan VDR geni, 100 kb büyüklüğünde ve toplam 14 ekzondan oluşan bir gendir. Genin 3' ucu ekzonları translasyona uğrar ve fonksiyonel ürün verir, 5' ucunda lokalize olan (1a-1f) ekzonlar ise translasyona uğramazlar (Uitterlinden et al., 2004) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. VDR gen yapısı, VDR genindeki önemli polimorfizmlerin yerleri ve VDR'nin aminoasit dizilimi (Deeb, Trump, & Johnson, 2007)

Bu gen normalde 427 amino asitten oluşan ve 48.3 kD ağırlığında moleküler kütleyle sahip bir proteini kodlar (Köstner et al., 2009; Miyamoto et al., 1997). Bu genin farklı transkriptleri de tanımlanmaktadır. Bugüne kadar VDR geninde 470'in üzerinde polimorfizm (SNP) tanımlanmıştır. Bunların sıklığı ve dağılımı ırklar ve etnik toplumlara göre değişmektedir.

VDR gen SNP'lerinin saptanması polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragment length polimorfizm (PCR-RFLP) metodu ile yapılmaktadır. Allelde restriksiyon enzimiyle kesilebilen alan olursa enzimin ilk harfinin küçüğü ve restriksiyon enziminin kesebileceği alan yok ise enzimin ilk harfinin büyük sembolüyle gösterilir.

Örnek olarak X restriksiyon enzimi ile kesim yapılan allelin kesim durumuna göre kişinin genotipi xx, Xx, XX olabilir.

Bugüne kadar VDR geninde en çok çalışılan SNP' ler; Fok I, Bsm I, Taq I, Apa I ve Cdx 2 polimorfizmleridir. Bunlar en çok rastlanılan ve çeşitli metabolik düzenlenmelerle ilişkisi bulunan polimorfizmlerdir ve insülin

bağımlı diyabet, addison, multipl skleroz, Parkinson hastalığı ve graves hastalıkları gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu saptanmıştır (Abd, Abdul, Metwali, & Abd, 2012; Pani, Seissler, Usadel, & Badenhoop, 2002).

VDR gen polimorfizmlerinin yer aldıkları lokalizasyona göre etkileri değişmektedir. Ekzon 2'de bulunan Fok I polimorfizmi (başlangıç kodon polimorfizmi), 5' ucunda bulunmaktadır ve başlangıç kodonunda yer almaktadır. Fok I restriksiyon enzimi bu polimorfizmi belirlemek için kullanılmaktadır.

Başlangıç kodonu olan ATG'de T>C değişimi olmadığı takdirde translasyon ilk ATG'den başlar ve 427 aminoasitlik VDR proteini sentezlenir. Ama T>C değişimi olursa ATG, ACG'ye dönüşür ve translasyon ikinci ATG'den başlar ve bunun sonucu olarak 424 aminoasit uzunluğunda VDR proteini sentezlenir. Bu protein kısa olmasına rağmen fonksiyonel bir proteindir.

427 aminoasitlik VDR proteinin sentezine sebep olan Fok I polimorfizmi gen bölgesi f olarak ve 424 aminoasitlik VDR proteinin sentezine sebep olan Fok I polimorfizmi gen bölgesi ise F olarak adlandırılmıştır. Ancak kısa formun uzun formuna göre fonksiyonel olarak daha aktif olduğu düşünülmektedir (Uitterlinden et al., 2004).

Diğer bir polimorfizm olan Bsm I, 3' ucundaki, ekzon 8 ve 9 arasında yer alan introndadır. Bsm I polimorfizmi, kodlanan proteinde amino asit dizisini değiştirmeyen sessiz bir varyant olduğu ve VDR protein yapısını etkilemediği düşünülmektedir.

Ancak Bsm I, 3' ucunda translate edilmeyen bölgede bulunan 3 tekrarlı poly A ile ilişkilidir ve mRNA stabilitesini düzenleyerek gen ekspresyonunu etkileyebilmektedir. Bu da hedef hücrede ne kadar az VDR ekspresyonu olursa o kadar vitamin D'ye daha az yanıt verilme anlamına gelmektedir (Uitterlinden et al., 2004). Bsm I restriksiyon enzimi bu polimorfizmi belirlemek için kullanılmaktadır.

Sekizinci intronun 5' ucundan 1280 baz çift ilerde bulunan Apa I VDR geninin başka bir polimorfizmidir ve onu belirlemek için Apa I restriksiyon enzimi kullanılmaktadır.

Dokuzuncu Ekzonda bulunan Taq I polimorfizminde T>C değişimi sonucunda ATT kodonu ATC'ye dönüşür. Bu polimorfizmin iki varyantı da aynı aminoasidi (izolösin) kodlamaktadır. Taq I restriksiyon enzimi bu polimorfizmi belirlemek için kullanılmaktadır (Zmuda, Cauley, & Ferrell, 2000).

VDR geninin 3' UTR bölgesinde lokalize olan Apa I, Bsm I ve Taq I polimorfizmlerine ait olan alleller birbirlerine çok yakın oldukları için aralarında kuvvetli bir Linkage Disequilibrium (LD) vardır. Diğer polimorfizmler ve Fok I polimorfizmi arasında ise LD yoktur (Zmuda et al., 2000).

2.2.4. Vitamin D ve beyin

Yapılan çalışmalarda, vitamin D'nin beyinde önemli etkilere sahip olabileceği ve santral sinir sisteminde hücre proliferasyonunda, diferansiyasyonda, nörotransmisyonunda, nöroplastisitede farklı değişken rollere sahip olduğu ve nörotrofik, nöroprotektif etki gösterdiği belirtilmektedir. Bu etkilerinden dolayı nörosteroid olarak kabul edilebileceği rapor edilmektedir (Eyles, Burne, & McGrath, 2013).

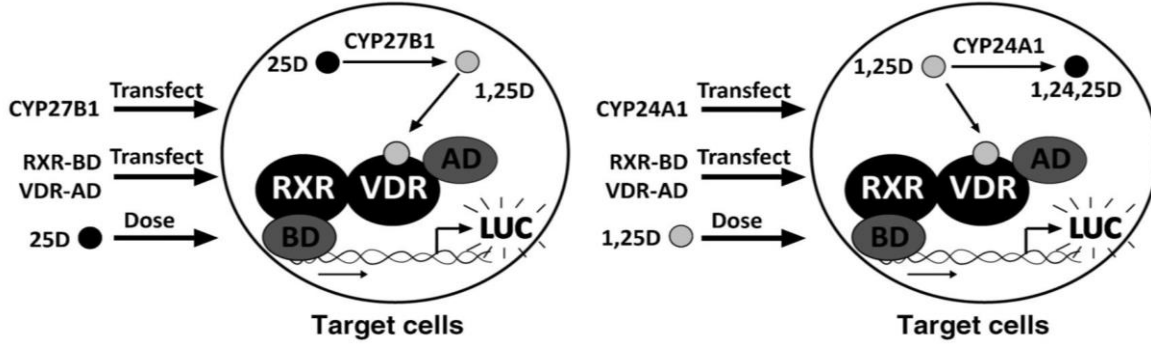
Vitami D seviyesinin nörodejeneratif hastalıklar olan Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, Multipl skleroz (MS), Amyotrofik lateral skleroz (ALS) ile ilişkili olabileceği tartışılmaktadır.

Vitamin D ve türlerinin beyinde bulunması ile ilgili ilk çalışmalar Stumpf ve ark. tarafından otoradyografik yöntemi kullanılarak yapılmıştır (O'Brien & Stumpf, 2015).

Daha önce bahsettiğimiz vitamin D türleri, insan beyinde ve omurilik sıvısında tespit edilmiştir (Balabanova et al., 1984). CYP27B1, 25(OH)D₃'ü 1,25(OH)₂D₃'e dönüştüren enzimi kodlar (Şekil 2.9). Bu gen primer olarak böbrekte bulunur ancak yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda serebral kortekste, fetal insan beyinde ve glial hücre kültürlerinde de varlığı gösterilmiştir (Zehnder et al., 2001). Bu gen substantia nigra, para ventriküler nükleus ve hipotalamus supraoptikte de bulunmaktadır. Bu, vitamin D'nin daha az aktif olan formudur ve bu enzimin de beyinde varlığı gösterilmiştir (Eyles, Smith, Kinobe, Hewison, & McGrath, 2005).

Vücutta 1,25(OH)₂D₃ miktarı yeterliyse bir miktarı CYP24A1 enzimiyle inhibe edilip 24,25(OH)₂D₃'e çevrilir. Buda fonksiyon olarak vitamin D'nin daha az aktif olan formu sayılır (Şekil 2.9). CYP24A1 enzim olarak beyinde varlığı tespit edilmiştir fakat mRNA'sı beyin dokusunda gözükmemiştir.

CYP24A1 hücre kültür çalışmasında, beyin hücrelerine 1,25(OH)₂D₃ ilave edildikten sonra ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir. Bu açıklamalar vitamin D'nin beyinde aktif olarak bulunup, elimine edildiğini göstermektedir.



Şekil 2.9. CYP27B1 ve CYP24A1 enzimleri ve Vitamin D ile ilişkileri (Jacobs et al., 2013)

2.2.5. Vitamin D reseptörü ve beyin

VDR'nin beyindeki ekspresyonuna ait ilk çalışmalar Alzheimer ve Huntington Koreli postmortem insan beyinlerinde yapılmıştır (Sutherland et al., 1992). Nöroblastoma hücre hatlarında da bu genin eksprese olduğu gösterilmiştir. İmmunohistokimyasal çalışmalarda da VDR'nin insan beyinde mevcut olduğu doğrulanmıştır. (Prüfer, Veenstra, Jirikowski, & Kumar, 1999; Walbert, Jirikowski, & Prüfer, 2001).

Bazal ganglion, hipotalamus, talamus, serebellum, hipokampus, olfaktor sistem, temporal ve orbital bölgelerde VDR varlığı tespit edilmiştir (Walbert et al., 2001).

Eyles ve ark. yaptığı çalışmada VDR ekspresyonunun serebellumda granül hücrelerine sınırlı olduğu, hipokampüste güçlü aktivite gösterdiği ve tüm santral sinir sisteminde varlığı gösterilmiştir (Eyles et al., 2005).

Periferik nöronlarda VDR bulunmaktadır. Bazı yapılan araştırmaların sonuçları beyin gelişimi esnasında VDR'nin fonksiyonu olduğu düşünülmektedir (Erben et al., 2002; Y. C. Li et al., 1997).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırma grubu bireyleri

Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji polikliniğinin'de Parkinson tanısı konulmuş, 50 yaş üstü 130 hasta ve herhangi bir patolojik bulgusu olmayan 70 sağlıklı birey ile gerçekleştirildi.

Çalışmamız aşağıdaki aşamalardan oluşmuştur:

- 1- Parkinson hastaları ve sağlıklı kontrollerin EDTA'lı tüpe 10 ml periferik kan alınması
- 2- Kandan genomik DNA izolasyonu
- 3- DNA'nın miktar ve kalitesinin Nanodrop ile ölçülmesi
- 4- İzole edilen DNA'dan VDR genindeki Fok I ve Bsm I bölgelerinin PCR'la çoğaltılması
- 5- Elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi ve UV cihazında görüntülenmesi
- 6- Fok I ve Bsm I gen bölgelerinin uygun restriksiyon enzimleriyle kesimi
- 7- Elde edilen kesim ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi ve UV cihazında görüntülenmesi
- 8- Elde edilmiş olan jel görüntülerini inceleyerek genotiplerin belirlenmesi ve istatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesi.

3.1.2. Kullanılan cihaz ve gereçler

- Buzdolabı (Arçelik)
- Mikrosantrifüj (Eppendorf)
- Derin Dondurucu (Arçelik)
- Su banyosu
- Hassas Terazi, XB220 A (Presica, İSVİÇRE)
- Isıtıcıli Manyetik karıştırıcı
- Nanodrop 1000 (peqLab)
- Vorteks (Heidolph)
- Mikrodalga (Arçelik)

- Yatay Elektroferez Sistemleri: MultiSub Midi Cleaver Scientific
- Thermal cycler (PE GeneAmp PCR System 9700)
- Mikro pipet takımı (2-20-100-1000 µl) (Gilson)
- Ependorf Tüpü (1.5 ml'lik)
- Electrophoresis power supply (CS-300V)
- Çeker Ocak

3.1.3. Kullanılan malzemeler ve kimyasal maddeler

- DNA izolasyon kiti (EZNA)
- 10X Buffer A (Vivantis)
- MgCl₂ (Vivantis)
- dNTP (Q.Bio Gene)
- Primerler (Oligomer)
- H₂O (Vivantis)
- Taq Polimeraz (Vivantis)
- Restriksiyon enzimleri (Thermo Fisher Scientific)
- FastDigest Green Buffer (Thermo Fisher Scientific)
- 10x Buffer R (Thermo Fisher Scientific)
- 6x Loading Dye (yükleme boyası)
- 100 bp Plus DNA Ladder (Vivantis)
- 20x TBE
- Seakem LE Agarose
- Ethidium bromide (fisher bioreagents)

3.2. Yöntem

3.2.1. DNA izolasyonu

3.2.1.1. Kandan genomik DNA eldesi protokolü

1. Örnekten 250 µl alınıp free 1,5 ml tüplere koyulur. Üzerine 250 µl Buffer BL, 25 µl Protease Enzimi ve 5 µl RNase eklenir. 10-15 saniye iyice vortekslenir.
2. Tüpler sıcak su banyosuna yerleştirilir ve oluşan lizat solüsyonu 42 °C' de 25 dk inkübe edilir (bu aşamada tüpler 1-2 kez vortekslenir)
3. Sıcak su banyosundan alınan tüpler üzerine 260 µl etanol ilave edilir, vortekslenir (10-15 sn).
4. Tüp içeriği 2 ml santrifüj tüpüne yerleştirilmiş HiBind DNA spin kolona aktarılır.

5. 10.000 rpm' de 1 dk. santrifüj edilir.
6. Alttaki tüpler atılır ve spin yeni bir santrifüj tüpüne yerleştirilir. Üzerine 500 µl HB Buffer ilave edilir.
7. 10,000 rpm' de 1 dk. santrifüj edilir.
8. Alttaki tüp içindeki sıvı dökülür, aynı tüp içine yerleştirilen spin üzerine 600 µl Wash Buffer ilave edilir ve 10.000 rpm' de 1 dk. santrifüj edilir.
9. Wash buffer ile yıkama işlemi 2 kere daha tekrarlanır.
10. Tüpler değiştirilmeden bir kere daha 10.000 rpm' de 1 dk. santrifüj edilerek artıkların tamamen spinden ayrılması sağlanır.
11. Spinler 1.5 ml' lik tüplere yerleştirilir ve üzerine 100 µl önceden ısıtılmış Elution Buffer eklenir.
12. 10.000 rpm' de 1 dk. santrifüj edilir.
13. Tüpler değiştirilmeden tekrar 100 µl Elution Buffer ilave edilir ve tekrar 10.000 rpm' de 1 dk. santrifüj edilir.
14. Spin kolonlar atılır ve 1.5 ml tüplerin içindeki DNA solüsyonu kullanıma hazırdır.

3.2.1.2. İzole edilen DNA miktarının ölçümü

Elde edilen DNA örneklerinin saflığının ve konsantrasyonlarının belirlenmesi için spektrofotometre (Nanodrop 1000) kullanılarak ölçüm yapıldı. 260 nm ve 280 nm dalga boylarında ölçülen DNA örneklerinde, 260/280 oranlaması yapıldığında 3 ng ve üzeri sonuca sahip DNA örneklerinin saf olarak elde edildiğini göstermektedir.

3.2.2. İzole edilen DNA örneklerinin PCR ile amplifikasyonu

Elde edilen DNA örneklerinden VDR Geni Fok I ve Bsm I polimorfik bölgeleri tespiti için PCR-RFLP yöntemleri uygulandı. Yapılan ilk PCR'da Fok I ve Bsm I için Han ve arkadaşlarının çalışmalarında kullandıkları primerler, seçilerek PCR yapıldı (Han, Xue, Li, Chen, & Xie, 2012). Elde edilen PCR ürünlerine ikinci aşamada Fok I ve Bsm I enzimleriyle kesim yapıldı.

3.2.2.1. Kullanılan Çözeltiler

3.2.2.1.1. Master miks

Genomik DNA'sı izole edilen örneklerden Fok I ve Bsm I polimorfizmlerinin analizlerini yapabilmek için PCR yöntemi kullanılmıştır. Deneyde kullanılan PCR işlemi için belirlenen miks solüsyonu şu şekildedir: Total PCR reaksiyon miks her bir örnek için 45 mikrolitre olacak şekilde hazırlandı. 10X Buffer A, MgCl₂ (50 mM), dNTP (25 mM), primerler (2 pmol/ml) , H₂O, Taq Polimeraz' dan (5 Iü/ml) oluşan miks her bir reaksiyon tüpüne dağıtıldı ve en son DNA örnekleri eklendi (Tablo 3.1).

Tablo 3.1.PCR miks hazırlanışı

Solüsyon	Miktar	Solüsyon	Miktar
10X Buffer A	5 µl	Reverse Primerler (2 pmol/ml)	5 µl
MgCl ₂ (50 mM)	2 µl	Taq Polimeraz (5 Iü/ml)	0,4 µl
dNTP (25 mM)	0,25 µl	H ₂ O	17,35 µl
Forward Primerler (2 pmol/ml)	5 µl	DNA	10 µl

3.2.2.1.2. Primer

Liyofilize edilmiş olan primerler 100 µl distile su ile çözündürüldü. Hazırlanan bu primer çözeltisi stok çözelti olarak kullanıldı. Daha sonra bu stok çözeltilerden 2 µl alınarak üzeri su ile tamamlandı.

3.2.2.1.2.1. Primer sulandırılması

Çalışmamızda kullanılan primerlerin sulandırma prosedürü:

Fok I F: 628 µl distile su 2 µl primere ilave edildi.

Fok I R: 728 µl distile su 2 µl primere ilave edildi.

Bsm I F: 618 µl distile su 2 µl primere ilave edildi.

Bsm I R: 698 µl distile su 2 µl primere ilave edildi.

Tüm çalışma boyunca hem kontroller ve hem de Parkinson hastalarının genomik DNA'larının Fok I ve Bsm I polimorfizmleri, gen bölgelerinin çoğaltılması için aşağıdaki primer dizileri kullanılmıştır.

3.2.2.1.2.2. Fok I gen bölgesi için kullanılan primerler

Fok I gen polimorfizmlerinin allellerinin tespiti için:

F:5'-AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGGCTCT-3'

Ve

R:5'-ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3' kullanılmıştır.

3.2.2.1.2.3. Bsm I gen bölgesi için kullanılan primerler

Tüm deneklerin BsmI polimorfizmlerini belirlemek için:

F: 5'-CAACCAAGACTACAAGTACCGCGTCAGTGA-3'

Ve

R: 5'-AACCAGCGGAAGAGGTCAAGGG-3' kullanılmıştır.

3.2.2.2. İzole edilen DNA örneklerinin PCR ile amplifikasyonu

Araştırma grubu bireylerinden elde edilen DNA örneklerinin PCR ile amplifikasyonu için 45 µl lik karışım hazırlanmıştır.

3.2.2.3. Fok I ve Bsm I gen bölgesi için kullanılan amplifikasyon şartları

Gen bölgesi için uygun PCR kondisyonu aşağıda verilmiştir:

Tablo 3.2. Primerlerle Uygun Olan PCR Programı

Ön Denatürasyon	94 °C	2 dakika	
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	35 döngü
Primer bağlanma	65 °C	30 saniye	
Uzama	72 °C	30 saniye	
Son uzama	72 °C	7 dakika	
4 °C		∞	

3.2.3. Agaroz jel elektroforezi

%2 'lik agaroz jel hazırlamak için 112,5 ml 1X TBE (Tris-Borik Asit-EDTA) ölçülüp behere aktarıldı ve 2,25 g agaroz tartılarak 112,5 ml 1X TBE solüsyonuna ilave edildi. Beher içindeki heterojen karışım mikrodalga fırında homojen bir görünüm elde edilene kadar ve içerisindeki köpükler gidene kadar 30 saniyelik aralıklarla ısıtıldı. Solüsyona 0,6 µl etidyum bromür eklendi. Karışım çalkalanarak etidyum bromidin tüm çözeltiliye dağılması sağlandı. Yatay elektroforez setine jel tarakları yerleştirildi. Agaroz jel karışımı elektroforez setine dökülerek polimerizasyona bırakıldı. 30 dakika oda sıcaklığında biyogüvenlik kabininde bekletildi. Polimerize olmuş jelden taraklar uzaklaştırıldı. Jel yeterli miktarda 1X TBE solüsyonu içeren elektroforez tankına yerleştirildi. 10 µl PCR ürünü, 2 µl 6X Loading Dye (yükleme boyası) ile jelin kuyucuklarına yüklendi. 120 volttaki elektrik akımında yürütüldü. Elektroforez işleminden sonra, bantlar UV cihaz altında görüntülenerek incelendi.

3.2.3.1. Agaroz jel elektroforezde yürütme için DNA ve solüsyonların miktarı

Kontrol: 2 µl DNA Ladder(50 ve 100), 2.5 µl Loading Dye, 5.5 µl H₂O

PCR ürünü: 2.5 µl Loading Dye, 10 µl PCR ürünü

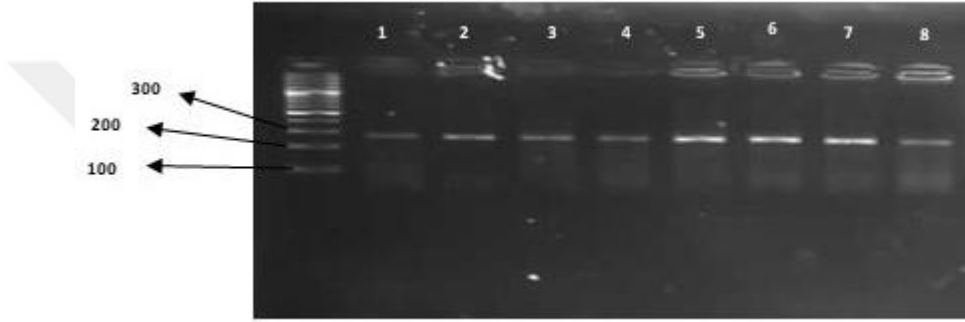
3.2.3.2. Güç miktarı

45 dakikada 120 volt, 80 amper

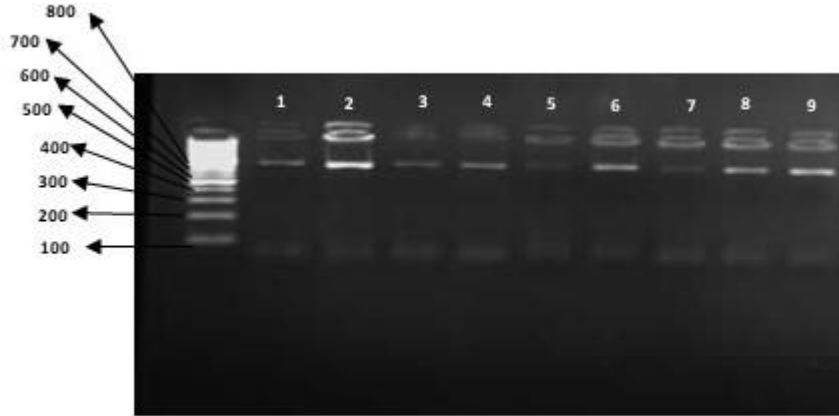
3.2.3.3. Agaroz Jel PCR ürünün büyüklüğüne göre hazırlanmalı

Fok I ve Bsm I için elde edilen PCR ürünlerinin büyüklükleri sırası ile 265 bp ve 825 bp' dir.

Fok I primeri ile elde edilmiş olan PCR ürünlerinin incelenmesi için % 4' luk agaroz jeli ve Bsm I primeri ile elde edilmiş olan PCR ürünlerini % 2' lik agaroz jeli hazırlayıp örnekler agaroz jelde yürütüldü. Agaroz jel görüntüleri (Şekil 3.1) ve (Şekil 3.2)' de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. VDR gen bölgesi için 265 bp bandı, Fok I PCR ürünleri. (100 bp marker)



Şekil 3.2. VDR gen bölgesi için 825 bp bandı, Bsm I PCR ürünleri. (100 bp marker)

3.2.4. Restriksiyon enzimleri ile kesim

Uygun PCR şartlarda çoğaltılan PCR ürünlerde, Fok I polimorfizmi için 1 saat 37 °C' de Fok I restriksiyon enzimi ile ve Bsm I polimorfizmi için 37 °C' de Bsm I restriksiyon enzimi ile 16 saat aşağıda belirtilen şartlara göre enzimatik kesim işlemi yapıldı (Tablo 3.3)(Tablo 3.4).

Tablo 3.3. Fok I kesim enzimi ve çalışma koşulları

PCR ürünü	10 µl
FastDigest FokI enzimi	1 µl
FastDigest Green Buffer	2 µl
H₂O	17 µl
İnkübasyon	37 °C'de 60 saat
enzimatik inaktivasyon	65 °C'de 5 dk
4 °C	∞

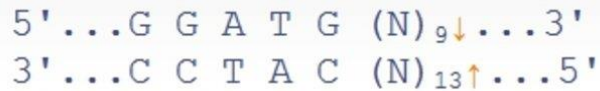
Tablo 3.4. Bsm I kesim enzimi ve çalışma koşulları

PCR ürünü	10 µl
Mva1269I (BsmI) enzimi	0,3 µl
10x Buffer R	2 µl
H₂O	17,7 µl
İnkübasyon	37 °C'de 16 dk
enzimatik inaktivasyon	65 °C'de 5 dk
4 °C	∞

3.2.4.1. VDR geni rs2228570 T>C polimorfizmi için enzim kesimi

Fok I (FastDigest FokI - Thermo Fisher Scientific) enzimi ile 265 bp'lik genom bölümü 265, 196 ve 69 bp'lik parçalara ayrıldı.

FastDigest FokI



Şekil 3.3. Fok I enzimi tanıma dizisi

3.2.4.2. VDR geni rs1544410 G>A polimorfizmi için enzim kesimi

Bsm I (Mva1269I (BsmI) - Thermo Fisher Scientific) enzimi ile 825 bp'lik genom bölümü 825, 650 ve 175 bp'lik parçalara ayrıldı.



Şekil 3.4. Bsm I enzimi tanıma dizisi

Tablo 3.5. Bsm I ve Fok I primerleri ve RFLP fragment uzunlukları

SNP	Restriksiyon Enzimi	Primerler	PCR ürünü (bp)	RFLP fragment uzunluğu (bp)
rs2228570	FokI	F:5'-AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGGCTCT-3' R:5'-ATGGAA ACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3'	265	FF:265 Ff:265,196,69 ff:196,69
rs1544410	BsmI	F:5'-CAACCAAGACTACAAGTACCGCGTCAGTGA-3' R:5'-AACCAGCGGAAGAGGTCAAGGG-3'	825	BB:825 Bb:825,650,175 bb:650,175

3.2.4.3. Agaroz jel elektroforezi

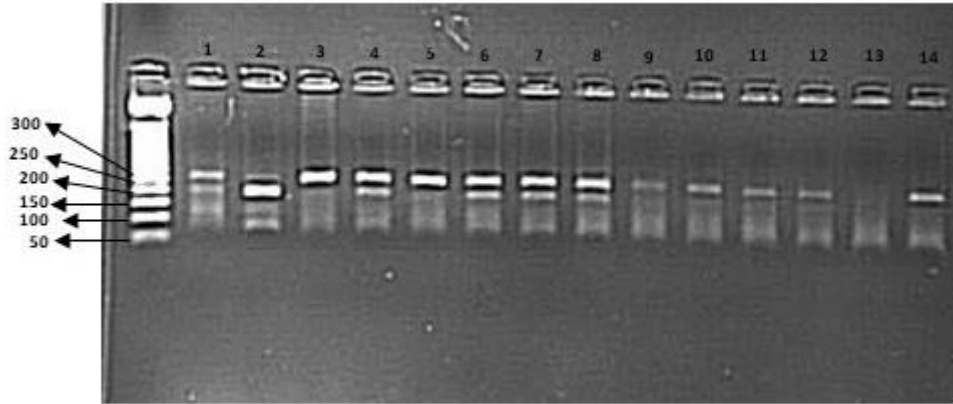
PCR aşamasından sonra Fok I enzimini kullanarak elde ettiğimiz kesim ürünleri % 4' luk ve Bsm I' in kesim ürünleri % 2' lik Agaroz Jel Elektroforezde bir saat yürütüldü.

4- BULGULAR

Parkinson hastalarında Fok I ve Bsm I gen polimorfizmlerinin etkisini araştırmak amacıyla yaptığımız çalışmada Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Polikliniğinin'de Parkinson hastası tanısı almış yaş ortalamaları $69,67 \pm 9,21$ (54-90) olan 130 hasta (50 kadın, 80 erkek) ve yaş ortalaması $76,33 \pm 4,98$ (65-84) olan 70 (35 kadın, 35 erkek) kontrol bireyine ait kan örneklerinden elde edilen DNA materyalinde, ilgili bölgeler PCR ile çoğaltıldı ve amplifiye olan örnekler, uygun enzimler kullanılarak enzim kesimi gerçekleştirildi.

Fok I enzimi ile kesilen Fok I gen bölgesinde C alleli var ise 265 bç bandı ve eğer T alleli var ise 196 ve 69 bç'lik bantlar, heterozigot olanlarda ise 265 bç, 196 bç ve 69 bç'lik bantların görülmesi gerekmektedir.

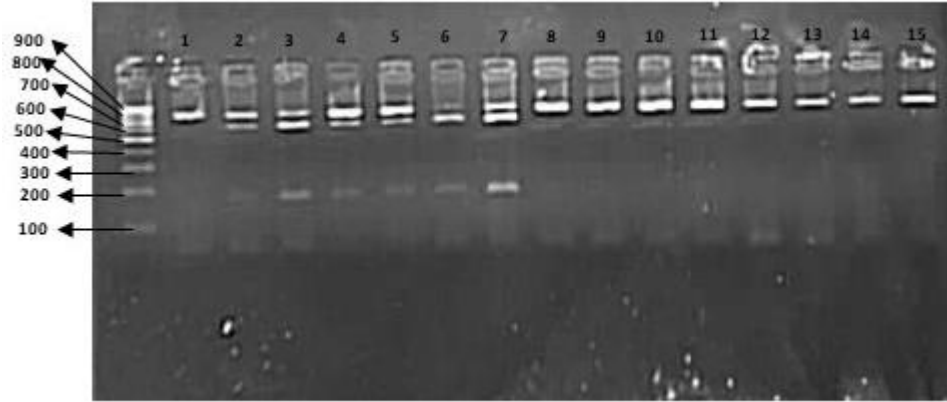
Buna göre Şekil 4.1' de gözlenen bantların durumuna göre; 50 bp' lik marker 1.örneğin heterozigot (T veya C alleleri), 2. örneğin homozigot TT (iki adet T alleli) ve 3. örneğin ise homozigot CC (İki adet C alleli) genotiplerine sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 4.1. Fok I enzimi ile kesilen VDR gen bölgesi (50 bp marker)

Bsm I enzimi ile kesilen Bsm I gen bölgesinde A alleli var ise 825 bç bandı ve eğer G alleli var ise 650 ve 175 bç'lik bantlar, heterozigot olanlarda ise 825 bç, 650 bç ve 175 bç'lik bantların görülmesi gerekmektedir.

Buna göre Şekil 4.2' de gözlenen bantların durumuna göre; 100 bp' lik marker, 1.örneğin homozigot AA genotipi (İki adet A alleli), 2. heterozigot (G veya A alleleri) ve 6. örneğin ise homozigot GG (iki adet G alleli) genotiplerine sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 4.2. Bsm I enzimi ile kesilen VDR gen bölgesi (100 bp marker)

4.1. Allel Frenkans Sonuçları

Elde ettiğimiz sonuçlara baktığımızda, 130 Parkinson hastasından oluşan grupta Fok I polimorfizmi açısından, 177 adet C alleli (%68) ve 83 adet T alleli (%32) olduğu tesbit edildi. 70 Kontrol grubunda ise 94 adet C alleli (%67) görülürken, 46 adet T alleli (%33) tesbit edildi (Tablo 4.1)

Araştırdığımız bir diğer gen polimorfizmi olan Bsm I polimorfizm sonuçları ise Tablo 4.2' de görüldüğü gibi, 130 Parkinson hastasında 146 adet A alleli (%56) ve 114 adet G alleli (%44) olduğu tesbit edildi. 70 Kontrol grubunda ise 75 adet A alleli (%54) görülürken, 65 adet G alleli (%46) tesbit edildi.

Tablo 4.1. Fok I polimorfizmi allel frekansı

Allel	PH (%)	Kontrol (%)	P
rs2228570 (Fok I)			
C (%)	177 (68)	94 (67)	>0.05
T (%)	83 (32)	46 (33)	>0.05

Tablo 4.2. Bsm I polimorfizmi allel frekansı

Allel	PH (%)	Kontrol (%)	P
Rs1544410 (Bsm I)			
A (%)	146 (56)	75 (54)	>0.05
G (%)	114 (44)	65 (46)	>0.05

4.2. Genotip Dağılımı Sonuçları

Genotipler açısından Fok I polimorfizmi değerlendirildiğinde, 130 Parkinson hastasının 61'i (%46,9) CC genotipi, 14'u (%10,8) TT genotipi ve 55'i (%42,3) TC heterozigot olarak belirlenmiş, kontrol grubunun ise 29'u (%41,4) CC genotipi, 5'i (%7,1) TT genotipi ve 36'sı (%51,4) TC heterozigot olarak bulunmuştur (Tablo 4.3).

Genotipler açısından Bsm I polimorfizmi değerlendirildiğinde, 130 Parkinson hastasının 49'u (%37,7) AA genotipi, 33'u (%25,4) GG genotipi ve 48'i (%36,9) GA heterozigot olarak belirlenmiş, kontrol grubunun ise 24'u (%34,3) AA genotipi, 19'u (%27,1) GG genotipi ve 27'si (%38,6) GA heterozigot olarak bulunmuştur (Tablo 4.4).

Tablo 4.3. Fok I polimorfizmi genotipleri

Genotip	PH (%)	Kontrol (%)	OR	95% CI	P
rs2228570 (Fok I)					>0.05
CC	61 (46.9)	29 (41.4)	1	-	-
TC	55 (42.3)	36 (51.4)	1.377	(0.748-2.534)	>0.05
TT	14 (10.8)	5 (7.1)	0.751	(0.247-2.286)	>0.05
TC+TT	145	98	1.250	(0.695-2.248)	>0.05

Tablo 4.4. Bsm I polimorfizmi genotipleri

Genotip	PH (%)	Kontrol (%)	OR	95% CI	P
Rs1544410 (Bsm I)					>0.05
AA	49 (37.7)	24 (34.3)	1	-	-
GA	48 (36.9)	27 (38.6)	1.148	(0.583-2.264)	>0.05
GG	33 (25.4)	19 (27.1)	1.176	(0.557-2.479)	>0.05
GA+GG	145	98	1.159	(0.631-2.129)	>0.05

4.3. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences, version 21) paket programı kullanılarak, klinik bulgular ile genotipler arasındaki ilişki incelendi. Hasta ve kontrol grupları arasındaki allel ve genotip frekanslarını karşılaştırmak için ki kare testi kullanılarak P değerleri hesaplandı. P değeri $P < 0.05$ için anlamlı, $P > 0.05$ için ise anlamsız kabul edildi.

Çalışmamız sonucundaki veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde aşığıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Parkinson hastaları, VDR gen Fok I polimorfizmi açısından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; hem genotip hem de frekans allel açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmemiştir ($p=0.413$, $p=0.849$), (Tablo 4.1 ve 4.3).

VDR Bsm I genotip dağılımı açısından kontrol grubu ve PH' li hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p= 0.891$), (Tablo 4.4). Benzer şekilde, allel dağılımı açısından da iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p= 0.673$), (Tablo 4.2).

Genotiplerde risk faktörleri değerlendirildiğinde, Fok I polimorfizmi için TC ve TT genotip frekansı hasta ve kontrol grubu açısından CC ile karşılaştırıldığında ($OR=1,377$) ve ($OR=0,751$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 4.3).

Bsm I polimorfizmi'de ise GA ve GG genotip frekansı hasta ve kontrol grubu açısından AA ile karşılaştırıldığında ($OR=1,148$) ve ($OR=1,176$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 4.4).

5- TARTIŞMA

Parkinson hastalığı geri dönüşü olmayan kronik nörodejeneratif bir hastalıktır. Yaşlı bireylerde tremor türleri arasında oldukça sık gözlenmektedir. Yaşa bağlı olarak beyinde dopamin salgılayan hücrelerin hasara uğraması ve azalması nedeniyle beyinde dopamin adı verilen nörotransmitterin kaybıyla ortaya çıktığı bilinmektedir (Lester & Otero-Siliceo, 2006; Ozansoy & Başak, 2004).

Hücrelerin kaybına ek olarak substantia nigradaki hücrelerin içinde bulunan lewy cisimcikleri denilen protein agregatları da bu hastalığa sebep olan faktörlerdendir. Hastalık tremor, bradikinezi, rijidite ve instabilite ile karakterizedir (Lester & Otero-Siliceo, 2006; Ozansoy & Başak, 2004).

Parkinson hastalığına sebep olan çeşitli faktörlerin olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle hastalığa yol açan mekanizmaları tamamen çözülmesi gerekmektedir. Parkinson hastalığı gibi multigenik hastalıklarda çevresel faktörlerin ve genetik yatkınlığın, bu hastalığın patogenezinde birlikte rol aldıkları düşünülmektedir.

Son zamanlarda, PH üzerinde VDR genindeki genetik varyantların etkisi ilgi çekmektedir. Ancak VDR polimorfizmleri ile PH arasındaki ilişki belirsizdir.

Vitamin D; reseptörü olan VDR aracılığıyla etkisini göstermektedir. VDR geni, kromozom 12q13-14' te yer almaktadır. Bugüne kadar en çok çalışılan polimorfizmler; Apa I, Bsm I, Fok I ve Taq I polimorfizmleridir (Uitterlinden et al., 2004).

Başlangıç kodon polimorfizmi olan Fok I, ekzon 2'de bulunur ve iki başlangıç kodonu içerir. VDR Fok I polimorfizmi f allel varlığında, ilk başlangıç kodonunun (ATG) kullanılması sonucu 427 aminoasit sayılı VDR proteini sentezi gerçekleşir. F allel varlığında, birinci başlangıç kodonu olan ATG'de bulunan T>C değişimi sonucunda ATG, ACG'ye dönüşür ve translasyon ikinci ATG'den başlar. Bunun sonucunda 3 aminoasit daha kısa VDR proteini sentezlenir. F ve f allel varlığına göre yapısal özellikleri değişen VDR proteini, 1,25(OH)₂D₃ vitaminine farklı yanıtların gelişmesine neden olur (Niu, Wang, & Xie, 2015; Zmuda et al., 2000). Bsm I polimorfizmi ise VDR mRNA'sının stabilitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Jurutka et al., 2001; C. Li et al., 2015).

Bu bağlamda çalışmamızda VDR gen polimorfizmleri ve PH arasındaki ilişkinin araştırılması amacıyla 130 hasta ve 70 kontrol olgusunda RFLP Yöntemiyle VDR geninde Fok I ve Bsm I polimorfizmleri çalışılmış ve literatür eşliğinde tartışılmıştır.

Literatürde, çeşitli VDR gen polimorfizmi ile Parkinson hastalığı arasındaki ilişki araştırılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Literatür verileri Tablo 5.1' de özetlenmiştir.

Suzuki ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları çalışmada, 137 parkinson olgusunda sekanslama ile Fok I gen polimorfizmlerini incelemişler ve kanda vitamin D' nin farklı formlarının seviyesini ölçmüşlerdir. Bu çalışmada genotiplerin sıklığı yaklaşık olarak; ff genotipi için %32.8, Ff genotipi için %52.6 ve FF genotipi için ise %14.6 olarak tespit edilmiştir. Parkinsona sebep olan vitamin D seviyesi ile VDR gen polimorfizmleri arasında bir ilişki olmadığını rapor etmişlerdir. Ancak istatistiksel açıdan Fok I polimorfizmi ve Parkinson hastalığına yatkınlık ile ilişkili bulunmuştur ($p=0.002$) (Suzuki et al., 2012).

Han ve arkadaşları 2012 yılında 260 PH ve 282 kontrol olgusunda VDR genine ait Fok I ve Bsm I bölgelerin polimorfizmlerini araştırmışlardır. Fok I polimorfizmi genotipler açısından değerlendirildiğinde, 260 PH' nin %43.8'inin ff genotipi, %47.7'sinin Ff genotipi ve %8.5'isini ise FF genotipi taşıdığı belirlenmiştir. Kontrol grubunun ise %38.7'si ff, %44.6'sı Ff ve %16.7'si ise FF genotipi olarak tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol grubu genotip frekansı açısından istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bulunmuştur ($p=0.016$). Fok I gen polimorfizmi için allel dağılımının hasta grubunda f %67.7, F %34.6 ve kontrol grubunda f %61, F %39 şeklinde olduğunu bildirmişler ve iki grup arasında allel sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptamışlardır ($p=0.023$) (Han et al., 2012).

Török ve arkadaşları, 100 PH ve 109 sağlıklı kontrolde yaptıkları çalışmada VDR geni Fok I ve Bsm I polimorfizmleri ile Parkinson hastalığı arasındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda hasta grubunda Fok I gen polimorfizmi genotip dağılımının ff %42, Ff %48, FF %10 şeklinde olduğu, allel dağılımının ise f allelinin %34, F allelinin ise %66 sıklıkta gözlemlendiği tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise; ff %32.1, Ff %45, FF %22.9 sıklıkta olduğunu saptamışlardır. VDR Fok I genotip dağılımı açısından kontrol grubu ve Parkinson hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmiştir ($p= 0.035$). İki grup arasında allel sıklığında da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.017$) (Török et al., 2013).

Kim ve arkadaşları, 2005 yılında PCR metoduyla yaptıkları çalışmalarında 85 Parkinson hastası ve 231 sağlıklı kişiyi araştırmışlardır. 85

parkinson hastasında bb genotipinin %84.7, Bb %12.9, BB %2.4 ve 231 sağlıklı kontrollerde bb genotipinin %72.7, Bb %26.0, BB %1.3 sıklıkta olduğunu, allel dağılımının ise hasta grubunda B %8.8, b %91.2 ve kontrol grubunda B %14.3, b %85.7 şeklinde olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda VDR Bsm I genotip dağılımının istatistiksel olarak anlamlı olduğunu rapor etmişlerdir (p= 0.043). Allel dağılımı açısından ise iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p= 0.069) (Kim et al., 2005).

Özetle Suzuki ve ark. Han ve ark. ve Török ve ark. yaptıkları çalışmalarla Parkinson hastalığı ve Fok I gen polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit etmişlerdir. Ancak çalışma verilerimiz değerlendirildiğinde, PH ve Fok I polimorfizmleri arasında istatistiksel bir anlam gözlenmemiştir. Bunun yanı sıra verilerimiz Bsm I polimorfizmi ile PH arasında ilişki olduğunu savunan Kim ve arkadaşlarının bulgularını desteklememektedir.

Çalışmamız sonucunda özetle Bsm I polimorfizmlerinin de Fok I' de olduğu gibi hastalıkla ilişkili olmadığı düşüncesindeyiz. Diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında; literatürde her iki polimorfizm içinde çelişkili dotalar bulunmaktadır. Çalışma sonuçlarındaki temel farklılık olguların etnik kökenlerindeki farklılık olabilir ki popülasyonlar arası fark polimorfizm çalışmalarının handikapı olarak yorumlanabilir. Bunun yanı sıra yaşam tarzı ve çevresel faktörlerin etkisi, hastalıkla ilişkili diğer gen ve polimorfizmlerin hastalığa yatkınlığı artırabileceğide göz ardı edilmemelidir. Ancak özellikle polimorfizm çalışmalarında olgu sayısının yüksek tutulması ve her etnik gruptan bireyle çalışma yapılması daha net sonuçlara ulaştırabilecektir.

Kang ve arkadaşları 137 Parkinson hastası ve 163 sağlıklı kontrolde VDR gen polimorfizmlerini Real time metodu kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda 137 PH olgusunda Fok I gen polimorfizmi genotip dağılımının FF %33.6, Ff %46, ff %42 şeklinde olduğu saptanırken, kontrol grubunda ise (n=163); FF %29.4, Ff %48.5, ff %42 sıklıkta olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada VDR Fok I genotip dağılımı açısından olgu ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p= 0.74) (Kang et al., 2016).

2016 yılında Mohammadzadeh ve arkadaşları 150 parkinson olgusu ve 160 kontrol bireyinde RFLP metodu ile Parkinson hastalığı ve VDR gen Fok I polimorfizmi ile arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu çalışmada; parkinson hastalarında ff genotipi %82, Ff %18, FF %0 sıklıkta, allel dağılımı açısından ise f alleli % 82, F alleli %18 sıklıkta olduğu saptanmıştır. Kontrol grubunda ise ff genotipi %83.75, Ff %16.25, FF %0 sıklıkta iken allel dağılımı; f alleli % 83.75, F alleli %16.25 sıklıkla gözlenmiştir. Çalışma

sonucunda Parkinson ve Fok I polimorfizmi arasında istatistiksel olarak bir anlam gözlenmemiştir ($p=0.85$) (Mohammadzadeh & Pazhouhesh, 2016).

Türkiye’de ilk kez 2016 yılında İstanbul Üniversitesi’nde yapılan bir çalışmada VDR gen polimorfizmleri ve Parkinson hastalığı arasında olan ilişki araştırılmıştır. Bu çalışma 382 parkinson hasta ve 242 kontrolü kapsamaktadır. Fok I gen polimorfizmi real time PCR tekniği ve Bsm I VDR gen polimorfizmi ise RFLP metoduyla belirlenmiştir. 382 parkinson olgusunda Fok I gen polimorfizmi genotip dağılımının ff %47.4, Ff %42.9, FF %9.7 şeklinde olduğu, allel dağılımının ise f allelinin %68.8, F allelinin %31.7 sıklıkta olduğu saptanmıştır. Kontrol grubunda ise ($n=70$); ff %44.3, Ff %45.1, FF %10.5 sıklıkta, f alleli %66.9, F alleli %33.1 sıklıkta olduğu gözlenmiştir. İki grup arasında genotip dağılımı ve allel sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.75$, $p=0.47$) (Gezen-Ak et al., 2017).

2014 yılında Petersen ve arkadaşları 121 parkinson hastasını ve 235 sağlıklı kişiyi VDR gen polimorfizmleri açısından araştırmışlardır. Çalışmada; olgu grubunda vitamin D değerleri ve VDR gen polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bsm I genotipleme Real time PCR metodu kullanılarak yapılmıştır. Olgu grubunda BB genotipinin %39.7, Bb %43.8, bb %16.5 sıklıkta gözleendiği, kontrollerde ise BB genotipinin %35.7, Bb %49.8, bb %14.5 olduğunu bildirilmiştir. Allel dağılımının hasta grubunda B %61.6, b %38.4 ve kontrol grubunda B %60.6, b %39.4 olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar VDR Bsm I genotip dağılımı açısından kontrol grubu ve Parkinson hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit etmişlerdir ($p=0.56$). Allel dağılımı açısından ise iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.81$) (Petersen, Bech, Christiansen, Schmedes, & Halling, 2014).

Han ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Bsm I polimorfizmi açısından hasta grubunda BB %85.4, Bb %13.1, bb %1.5; kontrol grubunda ise BB %86.5, Bb %12.8, bb %0.7 genotip sıklığı saptamışlardır. Bu çalışmada genotip sıklığı açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.92$) (Han et al., 2012).

Kang ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada değerlendirilen Bsm I polimorfizminin hasta grubunda BB %89.8, Bb %9.5, bb %0.7; kontrol grubunda ise BB %89, Bb %10.4, bb %0.6 genotip sıklığı bulmuşlardır. Bsm I polimorfizmi genotip sıklığı açısından hasta ve kontrol grubunda anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.92$) (Kang et al., 2016).

Çalışma verilerimiz, Fok I polimorfizmi açısından Kang ve ark. Mohammadzadeh ve ark., Duygu Gezen ve arkadaşlarının bulgularını ayrıca

Bsm I polimorfizmi açısından ise Han ve ark., Török ve ark., Peterse ve ark., Kang ve ark. ve Duygu Gezen ve ark. çalışmalarını destekler niteliktedir.

Çalışmamız ve diğer araştırmacıların bulguları eşliğinde bu iki polimorfizmin parkinsona yatkınlık oluşturmadığını düşünmekteyiz. Ancak hem olgu sayısı artırılarak yapılacak olan çalışmalar, hemde bu olgularda yapılacak ekspresyon analizleriyle verilerimizin desteklenmesi gerekmektedir.

Sonuçlarımız daha önce yayınlanan genetik çalışmalara ek olarak PH'nin tek bir nedenden kaynaklanmadığını, kökeninde pek çok faktörün rol oynadığını göstermektedir. Parkinson hastalığının patogenezi içindeki vitamin D'nin rolünü tanımlamak için VDR'nin ve PH ile olan ilişkisinin ileri araştırmalarının yapılması gerekmektedir. Özellikle heterozigot ve homozigot değişiklik saptanan vakalarımızda vitamin D miktarlarının belirlenmesi gerekmektedir.

Tablo 5.1. Farklı populasyonlarda Parkinson hastalarda Fok I ve Bsm I polimorfizmlerinin genotip dağılımı ve allel sıklığı

Fok I (T/C)		Olgu Sayısı Ve Allel Dağılımı			Genotip dağılımı		
Yazar, Yıl	Ülke	PH (%)	Kontrol (%)	P değeri	PH (%)	Kontrol (%)	P değeri
Han ve ark., 2012	Çin	n= 520 F: %34.6 f: %67.7	n= 564 F: %39 f: %61	0.023	FF: 22(8.5) Ff: 124(47.7) ff: 114(43.8)	FF: 47(16.7) Ff: 126(44.6) ff: 109(38.7)	0.016
Török ve ark., 2013	Macaristan	n= 200 F: %34 f: %66	n= 218 F: %45.5 f: %34	0.017	FF: 10(10) Ff: 48(48) ff: 42(42)	FF: 25(22.9) Ff: 49(45) ff: 35(32.1)	0.035
Suzuki ve ark., 2012	Japonya	n= 274 F: %40.9 f: %59.1	-	-	FF: 20(14.6) Ff: 72(52.6) ff: 45(32.8)	-	0.002
Kang ve ark., 2016	Kore	n= 292 F: % f: %	n= 308 F: % f: %	-	FF: 46(33.6) Ff: 63(46) ff: 42(42)	FF: 48(29.4) Ff: 79(48.5) ff: 42(42)	0.74
Mohammadzadeh ve ark., 2015	Iran	n= 300 F: %18 f: %82	n= 320 F: %16.25 f: %83.75	0.85	FF: 0(0) Ff: 27(18) ff: 123(82)	FF: 0(0) Ff: 26(16.25) ff: 134(83.75)	0.85

Duygu Gezen ve ark. ,2016	Türkiye	n= 764 F: %31.7 f: %68.8	n= 474 F: %33.1 f: %66.9	0.47	FF: 37(9.7) Ff: 164(42.9) ff: 181(47.4)	FF: 25(10.5) Ff: 107(45.1) ff: 105(44.3)	0.75
Bizim Çalışma mız	Türkiye	n= 260 F: %32 f: %68	n= 140 F: %33 f: %67	0.84	FF: 14(10.8) Ff: 55(42.3) ff: 61(46.9)	FF: 5(7.1) Ff: 36(51.4) ff: 29(41.4)	0.41
Bsm I (G/A)		Olgu Sayısı Ve Allel Dağılımı			Genotip Dağılımı		
Yazar, Yıl	Ülke	PH (%)	Kontrol (%)	P değeri	PH (%)	Kontrol (%)	P değeri
Kim ve ark. ,2005	Kore	n= 85 B: %8.8 b: %91.2	n= 231 B: %14.3 b: %85.7	0.069	BB: 2(2.4) Bb: 11(12.9) bb: 72(84.7)	BB: 3(1.3) Bb: 60(26.0) bb: 168(72.7)	0.043
Han ve ark. ,2012	Çin	n= 520 B: %91.9 b: %8.1	n= 564 B: %92.9 b: %7.1	0.56	BB: 222(85.4) Bb: 34(13.1) bb: 4(1.5)	BB: 244(86.5) Bb: 36(12.8) bb: 2(0.7)	0.0647
Török ve ark. ,2013	Macaris tan	n= 200 B: %51.5 b: %48.5	n= 218 B: %51 b: %49	0.905	BB: 27(27) Bb: 49(49) bb: 24(24)	BB: 27(24.8) Bb: 57(52.3) bb: 25(22.9)	0.0902
Petersen ve ark. ,2014	Faroe Adaları	n= 242 B: %61.6 b: %38.4	n= 470 B: %60.6 b: %39.4	0.81	BB: 48(39.7) Bb: 53(43.8) bb: 20(16.5)	BB: 84(35.7) Bb: 117(49.8) bb: 34(14.5)	0.56
Kang ve ark. ,2016	Kore	n= 292 B: % b: %	n= 308 B: % b: %	-	BB: 123(89.8) Bb: 13(9.5) bb: 1(0.7)	BB: 145(89) Bb: 17(10.4) bb: 1(0.6)	0.92
Duygu Gezen ve ark. ,2016	Türkiye	n= 760 B: %53.4 b: %46.6	n= 478 B: %55.6 b: %44.4	0.44	BB: 136(35.8) Bb: 134(35.5) bb: 110(28.9)	BB: 94(39.3) Bb: 78(32.6) bb: 67(28)	0.66
Bizim Çalışma mız	Türkiye	n= 260 B: %44 b: %56	n= 140 B: %46 b: %54	0.67	BB: 33(25.4) Bb: 48(36.9) bb: 49(37.7)	BB: 19(27.1) Bb: 27(38.6) bb: 24(34.3)	0.89

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji polikliniğinin'de Parkinson tanısı konulmuş, 50 yaş üstü 130 hasta ve 70 sağlıklı birey ile gerçekleştirildi. Çalışmamızda VDR geninde tanımlanmış olan Fok I ve Bsm I polimorfizmlerini PCR-RFLP yöntemi ile araştırılması planlanmıştır.

Bizim çalışmamızda;

- 1- 130 PH hastada Fok I gen polimorfizmi genotip dağılımının FF %46.9, Ff %42.3, ff %10.8 şeklinde olduğu, Kontrol grubunda ise (n=70); FF %41.4, Ff %51.4, ff %7.1 sıklıkta saptanmıştır. İki grup arasında genotip dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.41).
- 2- Fok I açısından hastalarda allel dağılımının ise; F allelinin %68, f allelinin %32 sıklıkta ve kontrol grubunda, F alleli %67, f alleli %33 sıklıkta idi. Allel sıklığı açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.84).
- 3- Bu çalışmada Bsm I gen polimorfizmi genotip dağılımının BB %37.7, Bb %36.9, bb %25.4 şeklinde olduğu ve 70 kontrol grubunda BB %34.3, Bb %38.6, bb %27.1 sıklıkta olduğu saptandı. Bsm I genotip dağılımı açısından kontrol grubu ve PH hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. (p=0.89)
- 4- Bsm I Allel dağılımı açısından B allelinin %56, b allelinin %44 sıklıkta olduğu saptanmıştır. 70 kontrol grubunda ise; B alleli %54, b alleli %46 sıklıkta saptandı. Bsm I allel dağılımı açısından iki grup arasında anlamlı fark olduğu görülmemiştir. (p=0.67)

Son yıllarda yapılan bazı çalışmaların sonucunda VDR gen polimorfizmleri ile PH riski arasında bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur. Ancak diğer literatürlere göre bu hastalık ve VDR gen polimorfizmleri arasında bir ilişki görülmemiştir; bu nedenle sonuçlar çelişkilidir.

Sonuç olarak toplumdan topluma ve çalışmadan çalışmaya değişen ve birbiriyle çelişen sonuçlar mevcuttur. Bu uyumsuzluk polimorfizmlerin etnik popülasyonlarda farklı sıklıklarda görülmesi ve poligenik-multifaktöriyel kalıtılan özelliklerle ilgili genetik çalışmalarda çalışmaya dahil edilmemiş diğer genetik etkilerin de dikkate alınması gerektiği bilgisini doğrulamaktadır.

Yapılan çalışmalarda vitamin D düzeyi ile VDR gen polimorfizmleri arasında bir ilişki olmadığı düşünülmektedir. Buna rağmen literatüre göre düşük vitamin D seviyesi PH ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle çalışmanın devamında hasta ve kontrol grupların vitamin D düzeyini ölüp, aynı zamanda veri sayısı arttırılarak, vitamin D düzeyi normal olan kişileri daha güvenilir bir sonuç elde etmek için araştırmamıza dahil etmeyi planlıyoruz.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abd, S. E. G., Abdul, E. S., Metwali, A., & Abd, M. E. G. (2012). Vitamin D receptor gene polymorphism and its association with 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ in patients with Graves disease in an Egyptian population: a pilot study. *18*(2), 132-139.
- Agid, Y. (1991). Parkinson's disease: pathophysiology. *The Lancet*, *337*(8753), 1321-1324.
- Altınkut Uncuoğlu, A. (2010). Moleküler Markırlar ve Haritalama, Modern Biyoteknoloji ve Uygulamaları. *Erciyes Üniversitesi Yayınları*(180).
- Arica, B., & Akbostancı, C. (2008). Parkinson Hastalığı ve Diğer Hareket Bozukluklarında Cerrahi Uygulamalar İçin Hasta Seçimi: Preoperatif ve Postoperatif Değerlendirme. *Türkiye Klinikleri Journal of NeuroSurgery Special Topics*, *1*(2), 13-18.
- Bain, P., Findley, L., Thompson, P., Gresty, M., Rothwell, J., Harding, A., & Marsden, C. (1994). A study of hereditary essential tremor. *Brain*, *117*(4), 805-824.
- Baker, W. L., Silver, D., White, C. M., Kluger, J., Aberle, J., Patel, A. A., & Coleman, C. I. (2009). Dopamine agonists in the treatment of early Parkinson's disease: a meta-analysis. *Parkinsonism & related disorders*, *15*(4), 287-294.
- Balabanova, S., Richter, H.-P., Antoniadis, G., Homoki, J., Kremmer, N., Hanle, J., & Teller, W. (1984). 25-Hydroxyvitamin D, 24, 25-dihydroxyvitamin D and 1, 25-dihydroxyvitamin D in human cerebrospinal fluid. *Klinische Wochenschrift*, *62*(22), 1086-1090.
- Barone, P., Bravi, D., Bermejo-Pareja, F., Marconi, R., Kulisevsky, J., Malagu, S., . . . Group, P. M. S. (1999). Pergolide monotherapy in the treatment of early PD A randomized, controlled study. *Neurology*, *53*(3), 573-573.
- Benito-León, J., Bermejo-Pareja, F., Louis, E. D., & Group, N. D. i. C. S. S. (2005). Incidence of essential tremor in three elderly populations of central Spain. *Neurology*, *64*(10), 1721-1725.
- Bozkurt, D. A. (2015). Akneli hastalarda serum D vitamini düzeylerinin ve vdr gen polimorfizmlerinin araştırılması.
- Braak, H., Bohl, J. R., Müller, C. M., Rüb, U., de Vos, R. A., & Del Tredici, K. (2006). Stanley Fahn Lecture 2005: The staging procedure for the inclusion body pathology associated with sporadic Parkinson's disease reconsidered. *Movement Disorders*, *21*(12), 2042-2051.
- Butler, M. W., Burt, A., Edwards, T. L., Zuchner, S., Scott, W. K., Martin, E. R., . . . Wang, L. (2011). Vitamin D receptor gene as a candidate gene for Parkinson disease. *Annals of human genetics*, *75*(2), 201-210.
- Calne, D. (2005). A definition of Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, *11*, S39-S40.
- Cancela, L., Nemere, I., & Norman, A. W. (1988). 1 α , 25 (OH) 2 vitamin D₃: a steroid hormone capable of producing pleiotropic receptor-mediated biological responses by both genomic and nongenomic mechanisms. *Journal of steroid biochemistry*, *30*(1-6), 33-39.
- Chandel, N., Malhotra, A., & Singhal, P. C. (2015). Vitamin D receptor and epigenetics in HIV infection and drug abuse. *Frontiers in microbiology*, *6*.
- Chartier-Harlin, M.-C., Kachergus, J., Roumier, C., Mouroux, V., Douay, X., Lincoln, S., . . . Hulihan, M. (2004). α -synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease. *The Lancet*, *364*(9440), 1167-1169.
- Cordato, D. J., & Chan, D. K. (2004). Genetics and Parkinson's disease. *Journal of Clinical Neuroscience*, *11*(2), 119-123.

- Dawson, T. M., & Dawson, V. L. (2003). Molecular pathways of neurodegeneration in Parkinson's disease. *Science*, 302(5646), 819-822.
- De Lau, L. M., & Breteler, M. M. (2006). Epidemiology of Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*, 5(6), 525-535.
- Deeb, K. K., Trump, D. L., & Johnson, C. S. (2007). Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nature reviews cancer*, 7(9), 684-700.
- DeLuca, G., Kimball, S., Kolasinski, J., Ramagopalan, S., & Ebers, G. (2013). The role of vitamin D in nervous system health and disease. *Neuropathology and applied neurobiology*, 39(5), 458-484.
- DeLuca, H. F. (2004). Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *The American journal of clinical nutrition*, 80(6), 1689S-1696S.
- Dewey Jr, R. B. (2000). Clinical features of Parkinson's disease *Parkinson's Disease and Movement Disorders* (pp. 71-84): Springer.
- Dogu, O., Louis, E. D., Sevim, S., Kaleagasi, H., & Aral, M. (2005). Clinical characteristics of essential tremor in Mersin, Turkey. *Journal of neurology*, 252(5), 570-574.
- Doktorix. Parkinson hastalığı. Retrieved from <http://www.doktorix.com/parkinson-hastaligi-nedir-parkinson-hastaligi-belirtileri-nedenleri-tedavisi/>
- Dorsey, E., Constantinescu, R., Thompson, J., Biglan, K., Holloway, R., Kieburtz, K., . . . Siderowf, A. (2007). Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology*, 68(5), 384-386.
- Duvoisin, R. C., Eldridge, R., Williams, A., Nutt, J., & Calne, D. (1981). Twin study of Parkinson disease. *Neurology*, 31(1), 77-77.
- Elbaz, A., Bower, J. H., Peterson, B. J., Maraganore, D. M., McDonnell, S. K., Ahlskog, J. E., . . . Rocca, W. A. (2003). Survival study of Parkinson disease in Olmsted county, Minnesota. *Archives of Neurology*, 60(1), 91-96.
- Erben, R. G., Soegiarto, D. W., Weber, K., Zeitz, U., Lieberherr, M., Gniadecki, R., . . . Balling, R. (2002). Deletion of deoxyribonucleic acid binding domain of the vitamin D receptor abrogates genomic and nongenomic functions of vitamin D. *Molecular Endocrinology*, 16(7), 1524-1537.
- Ertan, S. (2005). Parkinson Hastalığının Klinik Özellikleri. *Nöroloğ Olmayanlar için Nöroloji, Ocak 2005 İstanbul*, 42, 249-254.
- Eyles, D. W., Burne, T. H., & McGrath, J. J. (2013). Vitamin D, effects on brain development, adult brain function and the links between low levels of vitamin D and neuropsychiatric disease. *Frontiers in neuroendocrinology*, 34(1), 47-64.
- Eyles, D. W., Smith, S., Kinobe, R., Hewison, M., & McGrath, J. J. (2005). Distribution of the vitamin D receptor and 1 α -hydroxylase in human brain. *Journal of chemical neuroanatomy*, 29(1), 21-30.
- Fahn, S. (1992). *Adverse effects of levodopa, The Scientific Basis for the Treatment of Parkinson's Disease*.
- Fahn, S., Jankovic, J., & Hallett, M. (2011). *Principles and Practice of Movement Disorders E-Book*: Elsevier Health Sciences.
- Gezen-Ak, D., Alaylıoğlu, M., Genç, G., Gündüz, A., Candaş, E., Bilgiç, B., . . . Gürvit, H. (2017). GC and VDR SNPs and vitamin D levels in Parkinson's disease: the relevance to clinical features. *Neuromolecular medicine*, 19(1), 24-40.
- Gumireddy, K., Ikegaki, N., Phillips, P. C., Sutton, L. N., & Reddy, C. D. (2003). Effect of 20-epi-1 α , 25-dihydroxyvitamin D 3 on the proliferation of human neuroblastoma: role of

- cell cycle regulators and the Myc–Id2 pathway. *Biochemical pharmacology*, 65(12), 1943-1955.
- Gwinn Hardy, K. (2002). Genetics of parkinsonism. *Movement disorders*, 17(4), 645-656.
- Han, X., Xue, L., Li, Y., Chen, B., & Xie, A. (2012). Vitamin D receptor gene polymorphism and its association with Parkinson's disease in Chinese Han population. *Neuroscience letters*, 525(1), 29-33.
- Hierholzer, J., Cordes, M., Schelosky, L., Richter, W., Keske, U., Venz, S., . . . Felix, R. (1994). Dopamine D2 receptor imaging with iodine-123-iodobenzamide SPECT in idiopathic rotational torticollis. *Journal of Nuclear Medicine*, 35(12), 1921-1927.
- Hughes, A. J., Ben-Shlomo, Y., Daniel, S. E., & Lees, A. J. (1992). What features improve the accuracy of clinical diagnosis in Parkinson's disease A clinicopathologic study. *Neurology*, 42(6), 1142-1142.
- Hughes, A. J., Daniel, S. E., Kilford, L., & Lees, A. J. (1992). Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 55(3), 181-184.
- Hülya Deniz. (1998). Lewy Cisimli Demans - Tanı ve Tedavi 8.
- Jacobs, E. T., Van Pelt, C., Forster, R. E., Zaidi, W., Hibler, E. A., Galligan, M. A., . . . Jurutka, P. W. (2013). CYP24A1 and CYP27B1 polymorphisms modulate vitamin D metabolism in colon cancer cells. *Cancer research*, 73(8), 2563-2573.
- James, L. E., & Asuni, A. A. (2013). Parkinson's Disease and the "sunshine" vitamin. *Journal of Alzheimer's Disease & Parkinsonism*, 3(2), 1-10.
- Jankovic, J. (2003). Pathophysiology and clinical assessment of parkinsonian symptoms and signs. *Neurological Disease and Therapy*, 59, 71-108.
- Jurutka, P. W., Whitfield, G. K., Hsieh, J.-C., Thompson, P. D., Haussler, C. A., & Haussler, M. R. (2001). Molecular nature of the vitamin D receptor and its role in regulation of gene expression. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*, 2(2), 203-216.
- Kang, S. Y., Park, S., Oh, E., Park, J., Youn, J., Kim, J. S., . . . Jang, W. (2016). Vitamin D receptor polymorphisms and Parkinson's disease in a Korean population: Revisited. *Neuroscience letters*, 628, 230-235.
- Kim, J.-S., Kim, Y.-I., Song, C., Yoon, I., Park, J.-W., Choi, Y.-B., . . . Lee, K.-S. (2005). Association of vitamin D receptor gene polymorphism and Parkinson's disease in Koreans. *Journal of Korean medical science*, 20(3), 495-498.
- Kinuta, K., Tanaka, H., Moriwake, T., Aya, K., Kato, S., & Seino, Y. (2000). Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology*, 141(4), 1317-1324.
- Koller, W. C. (1992). When does Parkinson's disease begin? *Neurology*, 42(4 Suppl 4), 27-31; discussion 41-28.
- Köstner, K., Denzer, N., Mueller, C. S., Klein, R., Tilgen, W., & Reichrath, J. (2009). The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. *Anticancer research*, 29(9), 3511-3536.
- Krüger, R., Kuhn, W., Müller, T., Voitalla, D., Graeber, M., Kösel, S., . . . Riess, O. (1998). AlaSOPro mutation in the gene encoding α -synuclein in Parkinson's disease. *Nature genetics*, 18(2), 106-108.
- Kütükçü, Y. (2008). Parkinson Hastalığının Ayırıcı Tanısı. *Türkiye Klinikleri Journal of Neurology Special Topics*, 1(4), 35-45.
- Lester, J., & Otero-Siliceo, E. (2006). Parkinson's disease and genetics. *The neurologist*, 12(5), 240-244.

- Li, C., Qi, H., Wei, S., Wang, L., Fan, X., Duan, S., & Bi, S. (2015). Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of Parkinson's disease. *Neurological Sciences, 36*(2), 247-255.
- Li, Y. C., Pirro, A. E., Amling, M., Delling, G., Baron, R., Bronson, R., & Demay, M. B. (1997). Targeted ablation of the vitamin D receptor: an animal model of vitamin D-dependent rickets type II with alopecia. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 94*(18), 9831-9835.
- Loiola, M. N. d. (2016). Níveis de 25 (OH) vitamina D, desempenho funcional, composição corporal e qualidade de vida em idosos com Doença de Parkinson.
- Lv, Z., Tang, B., Sun, Q., Yan, X., & Guo, J. (2012). Association study between vitamin d receptor gene polymorphisms and patients with Parkinson disease in Chinese Han population. *International Journal of Neuroscience, 123*(1), 60-64.
- Mandel, S. A., et al. Chapter 9 degenerative diseases -parkinson's disease-December, 2016. Retrieved from <http://neuropathology-web.org/chapter9/chapter9dPD.html>
- Mandel, S. A., Morelli, M., Halperin, I., & Korczyn, A. D. (2010). Biomarkers for prediction and targeted prevention of Alzheimer's and Parkinson's diseases: evaluation of drug clinical efficacy. *EPMA Journal, 1*(2), 273-292.
- Miyamoto, K.-i., Kesterson, R. A., Yamamoto, H., Taketani, Y., Nishiwaki, E., Tatsumi, S., . . . Pike, J. W. (1997). Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Molecular Endocrinology, 11*(8), 1165-1179.
- Mohammadzadeh, R., & Pazhouhesh, R. (2016). Association of vdr foki and apai genetic polymorphisms with parkinson's disease risk in south western iranian population.
- Mora, J. R., Iwata, M., & Von Andrian, U. H. (2008). Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nature Reviews Immunology, 8*(9), 685-698.
- Moriwaka, F., Tashiro, K., Itoh, K., Honma, S., Okumura, H., Kikuchi, S., . . . Kurokawa, Y. (1996). Prevalence of Parkinson's disease in Hokkaido, the northernmost island of Japan. *Internal medicine, 35*(4), 276-279.
- Mouradian, M. M. (2002). Recent advances in the genetics and pathogenesis of Parkinson disease. *Neurology, 58*(2), 179-185.
- Nakamura, K., Mori, F., Tanji, K., Miki, Y., Toyoshima, Y., Kakita, A., . . . Wakabayashi, K. (2016). α Synuclein pathology in the cranial and spinal nerves in Lewy body disease. *Neuropathology, 36*(3), 262-269.
- Niu, M.-Y., Wang, L., & Xie, A.-M. (2015). ApaI, BsmI, FokI, and TaqI polymorphisms in the vitamin D receptor gene and Parkinson's disease. *Chinese medical journal, 128*(13), 1809.
- Nussbaum, R. L., & Ellis, C. E. (2003). Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *New England Journal of Medicine, 348*(14), 1356-1364.
- O'Brien, L., & Stumpf, W. (2015). 1, 25 (OH) 2 vitamin D3 sites of action in the brain.
- Ohyama, Y., Ozono, K., Uchida, M., Shinki, T., Kato, S., Suda, T., . . . Kato, Y. (1994). Identification of a vitamin D-responsive element in the 5'-flanking region of the rat 25-hydroxyvitamin D3 24-hydroxylase gene. *Journal of Biological Chemistry, 269*(14), 10545-10550.
- Öngen, B., Kabaroğlu, C., & Parıldar, Z. (2008). Vitamini'nin Biyokimyasal ve Laboratuvar Değerlendirmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi, 6*(1), 23-31.
- Ozansoy, M., & Başak, A. N. (2004). Parkinson hastalığının genetiği ve nörodejenerasyonun moleküler biyolojisi. *Parkinson Hastalığı Hareket Bozuklukları Dergisi, 7*, 109-120.
- Pani, M. A., Seissler, J., Usadel, K.-H., & Badenhop, K. (2002). Vitamin D receptor genotype is associated with Addison's disease. *European journal of endocrinology, 147*(5), 635-640.

- Petersen, M. S., Bech, S., Christiansen, D. H., Schmedes, A. V., & Halling, J. (2014). The role of vitamin D levels and vitamin D receptor polymorphism on Parkinson's disease in the Faroe Islands. *Neuroscience letters*, *561*, 74-79.
- Por el Dr. Ananya Mandal, D. E. M. Retrieved from [https://www.news-medical.net/health/Parkinsons-Disease-Pathophysiology-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Parkinsons-Disease-Pathophysiology-(Spanish).aspx)
- Potenza, M. N., Voon, V., & Weintraub, D. (2007). Drug insight: impulse control disorders and dopamine therapies in Parkinson's disease. *Nature Clinical Practice Neurology*, *3*(12), 664-672.
- Prüfer, K., Veenstra, T. D., Jirikowski, G. F., & Kumar, R. (1999). Distribution of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 receptor immunoreactivity in the rat brain and spinal cord. *Journal of chemical neuroanatomy*, *16*(2), 135-145.
- Rajput, A., & Birdi, S. (1997). Epidemiology of Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, *3*(4), 175-186.
- Raming, L., & Gould, W. (1986). Speech characteristic in Parkinson's disease. *Neurol Consult*, *4*, 1-8.
- Roos, R., Jongen, J., & Van der Velde, E. (1996). Clinical course of patients with idiopathic Parkinson's disease. *Movement disorders*, *11*(3), 236-242.
- Saadat, S. M. (2013). *Parkinson hastalığı ile divalent metal transporter 1 (dmt1) geni polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırılması*.
- Sanchez, B., Relova, J. L., Gallego, R., Ben Batalla, I., & Perez Fernandez, R. (2009). 1, 25 Dihydroxyvitamin D3 administration to 6 hydroxydopamine lesioned rats increases glial cell line derived neurotrophic factor and partially restores tyrosine hydroxylase expression in substantia nigra and striatum. *Journal of neuroscience research*, *87*(3), 723-732.
- Shin, J. S., Choi, M. Y., Longtine, M. S., & Nelson, D. M. (2010). Vitamin D effects on pregnancy and the placenta. *Placenta*, *31*(12), 1027-1034.
- Simpson, R. Retrieved from <http://slideplayer.com/slide/4310345/>
- Spacey, S. D., & Wood, N. W. (1999). The genetics of Parkinson's disease. *Current opinion in neurology*, *12*(4), 427-432.
- Sutherland, M. K., Somerville, M. J., Yoong, L. K., Bergeron, C., Haussler, M. R., & McLachlan, D. R. C. (1992). Reduction of vitamin D hormone receptor mRNA levels in Alzheimer as compared to Huntington hippocampus: correlation with calbindin-28k mRNA levels. *Molecular Brain Research*, *13*(3), 239-250.
- Suzuki, M., Yoshioka, M., Hashimoto, M., Murakami, M., Kawasaki, K., Noya, M., . . . Urashima, M. (2012). 25-hydroxyvitamin D, vitamin D receptor gene polymorphisms, and severity of Parkinson's disease. *Movement Disorders*, *27*(2), 264-271.
- Tan, E.-K., & Jankovic, J. (2006). Genetic testing in Parkinson disease: promises and pitfalls. *Archives of Neurology*, *63*(9), 1232-1237.
- Taniura, H., Ito, M., Sanada, N., Kuramoto, N., Ohno, Y., Nakamichi, N., & Yoneda, Y. (2006). Chronic vitamin D3 treatment protects against neurotoxicity by glutamate in association with upregulation of vitamin D receptor mRNA expression in cultured rat cortical neurons. *Journal of neuroscience research*, *83*(7), 1179-1189.
- Tolosa, E., Martí, M. J., Valldeoriola, F., & Molinuevo, J. L. (1998). History of levodopa and dopamine agonists in Parkinson's disease treatment. *Neurology*, *50*(6 Suppl 6), S2-S10.
- Török, R., Török, N., Szalardy, L., Plangar, I., Szolnoki, Z., Somogyvari, F., . . . Klivenyi, P. (2013). Association of vitamin D receptor gene polymorphisms and Parkinson's disease in Hungarians. *Neuroscience letters*, *551*, 70-74.

- Torun, Ş., Uysal, M., Gücüyener, D., & Özdemir, G. (1995). Parkinson's disease in Eskişehir, Turkey. *Eur J Neurol*, 2(suppl 1), 44-45.
- Trojanowski, J. Q., & LEE, V. M. Y. (2003). Parkinson's Disease and Related α Synucleinopathies Are Brain Amyloidoses. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 991(1), 107-110.
- Uitterlinden, A. G., Fang, Y., van Meurs, J. B., Pols, H. A., & van Leeuwen, J. P. (2004). Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*, 338(2), 143-156.
- uludağ, P. D. B. Parkinson hastalığı nedir? Retrieved from <http://www.burhanettinuludag.com.tr/Herkes/Parkinson%20hastaligi/>
- Ünal, T., Özkan, B., Çayır, A., Kaya, A., & Orbak, Z. (2012). Is low serum 25 (OH) vitamin D a risk factor for childhood pneumonias&63. *Dicle Medical Journal*, 39(4), 531-535.
- Veenstra, T. D., Prüfer, K., Koenigsberger, C., Brimijoin, S. W., Grande, J. P., & Kumar, R. (1998). 1, 25-Dihydroxyvitamin D 3 receptors in the central nervous system of the rat embryo. *Brain research*, 804(2), 193-205.
- Vines, J., Larumbe, R., Gaminde, I., & Artazcoz, M. (1999). Incidence of idiopathic and secondary Parkinson disease in Navarre. Population-based case registry. *Neurologia (Barcelona, Spain)*, 14(1), 16-22.
- Walbert, T., Jirikowski, G., & Prüfer, K. (2001). Distribution of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 receptor immunoreactivity in the limbic system of the rat. *Hormone and metabolic research*, 33(09), 525-531.
- Warda, S. (2015). *The Effect of Vitamin D Deficiency on Periodontal Inflammation*. University of California, Los Angeles.
- Wolf, G. (2004). The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus. *The Journal of nutrition*, 134(6), 1299-1302.
- Xia, Y., Saitoh, T., Uéda, K., Tanaka, S., Chen, X., Hashimoto, M., . . . Yoshimoto, M. (2001). Characterization of the human α -synuclein gene: Genomic structure, transcription start site, promoter region and polymorphisms1. *Journal of Alzheimer's Disease*, 3(5).
- Zehnder, D., Bland, R., Williams, M. C., McNinch, R. W., Howie, A. J., Stewart, P. M., & Hewison, M. (2001). Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(2), 888-894.
- Zhou, T.-t., Zu, G., Wang, X., Zhang, X.-g., Li, S., Liang, Z.-h., & Zhao, J. (2015). Immunomodulatory and neuroprotective effects of ginsenoside Rg1 in the MPTP (1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine)-induced mouse model of Parkinson's disease. *International immunopharmacology*, 29(2), 334-343.
- Zmuda, J. M., Cauley, J. A., & Ferrell, R. E. (2000). Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. *Epidemiologic Reviews*, 22(2), 203-217.

Özgeçmiş

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Aysan AFAGH
Doğum tarihi ve yeri : 02.06.1988/ IRAN
Uyruğu : IRAN
Medeni durumu : BEKAR
İletişim adresleri : Büyükdere mah. Mehmet Osman sok.
No:40/9 ESKİŞEHİR

Eğitim Durumu

Yabancı Diller: İngilizce, Türkçe, Farsça, Azerice

Öğrenim Durumu:

2008-2011: Lisans, Oroumıyeh Azad Üniversitesi, Hücresel ve Moleküler Biyoloji Dalı

2002-2006: Lise, Eram Lisesi-Iran, Oroumiye

Mesleki Deneyim :

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:

Yayınlar

(Makale, Sözlü Bildiri, Poster Bildiri, Kitap, Kitap Bölümü vd.)

Bilimsel Etkinlikler

Burslar :
Ödüller :
Projeler :
Sözlü Konferans veya Seminerler :
Kurslar ve Eğitim Programları :

