

**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TİBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PARKİNSON HASTALIĞI İLE DİVALENT METAL TRANSPORTER 1 (DMT1)  
GENİ POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SELVA MOHEB SAADAT**

**DANIŐMAN**  
**Prof. Dr. İrfan DEĞİRMENCİ**

**ŐUBAT 2013**

**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TİBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PARKİNSON HASTALIĞI İLE DİVALENT METAL TRANSPORTER 1 (DMT1)  
GENİ POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SELVA MOHEB SAADAT**

**DANIŐMAN**  
**Prof. Dr. İrfan DEĞİRMENCİ**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Selva MOHEB SAADAT'ın 'in Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak hazırladığı "**Parkinson Hastalığı ile Divalent Metal Transporter 1 (DMT-1) Geni Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması**" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirerek "**KABUL**" edilmiştir.

Tarih  
07.02.2013

Üye : Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ

Üye : Prof. Dr. İrfan DEĞİRMENCİ

Üye : Doç. Dr. Didem TURGUT COŞAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Cengiz ÜSTÜNER

Üye : Doç. Dr. Serhat ÖZKAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 11.02.2013 tarih ve 945.../4393. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Kazım ÖZDAMAR  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Parkinson Hastalığı (PH), geç-başlangıçlı, ilerleyici karakter gösteren, ailesel ve sporadik olarak görülebilen nörodejeneratif bir hastalıktır. Beynin substantia nigra (SN) pars kompakta bölgesinde bulunan dopaminerjik nöronların dejenerasyonu hastalığın temel özelliğidir, dopaminerjik nöronlarda bulunan hücre-içi protein agregatları (Lewy cisimcikleri) nöropatolojik olarak PH'nın ayırıcı kriteridir. Parkinson Hastalığı, Alzheimer hastalığından sonra en sık görülen nörodejeneratif hastalıktır.

Bu hastalık kronik, progresif nörodejeneratif bir hareket hastalığıdır. 65 yaş üstü yaşlı populasyonda %1 sıklığında görülmektedir. Bazal ganglion ve subkortikal nükleusların dejenerasyonu sonucu postural reflekslerde azalma, rijidite gibi hareket bozuklukları ile konuşma, yutma bozuklukları ve kognitif fonksiyonlar, otonomik sinir sistemi ile ilgili sorunlar ortaya çıkmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Parkinsonlu hastaların beyninde demir ve demir- bağlayıcı protein seviyelerinin arttığı belirtilmiştir. Demir taşımada yer alan en önemli proteinlerden biri Divalent metal transporter 1 (DMT1)'dir ve demirin endojen taşınmasında görevlidir. Postmortem Parkinson hastalarının beyin SN'sinde DMT1 seviyelerinin önemli ölçüde artış gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan literatür taramaları sonucunda, Parkinson Hastalığı ile Divalent Metal Transporter 1 (DMT1) Geni Polimorfizmleri arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Ancak bu konuda literatürde çok az bilgiye rastlanmış olup, ülkemizde de bu konu ile ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle hem DMT1 polimorfizmi ile parkinson hastalığı arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemek, hem de ilgili polimorfizmin ülkemizdeki sıklığını belirlemek amacıyla bu tez çalışması planlanmıştır.

Çalışmamız kapsamında 97 Parkinson hastası ile 100 sağlıklı bireyden toplanan kanlardan DNA izole edildi ve Parkinson Hastalığı ile DMT1 genin olası ilişkisini araştırmak için, DMT1 geninde tespit edilen 1254T/C ve IVS4 + 44C/A polimorfizmleri PCR yöntemi ile araştırıldı. Çalışmamız sonucunda, IVS4 + 44C/A polimorfizmi ile

Parkinson Hastalığı arasında ilişki bulunamamakla birlikte, 1254T/C polimorfizmindeki TT genotipinin Parkinson için risk faktörü olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Parkinson, Divalent Metal Transporter 1, 1254T/C ve IVs4+44C/A polimorfizimleri

## SUMMARY

Parkinson's disease (PD) is a late-onset, progressive, familial and sporadic neurodegenerative disorder. The main pathological characteristic of PD is the degeneration of dopaminergic neurons in substantia nigra (SN) pars compacta. The intracellular protein aggregates (Lewy bodies) found in surviving dopaminergic neurons is another important criterium for the neuropathological diagnosis of PD. Parkinson's Disease, the second most common neurodegenerative disease worldwide after Alzheimer disease, is the predominant movement disorder in world populations.

This disease is a chronic, progressive and neurodegenerative movement disorder. It is seen 2% of the population over 65 years of age. As a result of degeneration of basal ganglia and subcortical nuclei functions, some difficulties appear like decreasing postural reflex, movement disorders like rigidity; speech, swallowing and cognitive dysfunctions, and autonomic nervous system trouble.

Studies in the recent years have suggested an increase in iron and iron binding protein levels in the brain of Parkinson's disease patients. Divalent metal transporter 1 (DMT1) is one of the proteins that is responsible for iron transporting and attends in the endogen transport. Postmortem studies have shown an important increase of DMT1 levels in the SN of Parkinson's disease patients. Existing literature suggests a relation between Parkinson's disease and DMT1 gene polymorphisms. But there is a lack of information from large series of patients and there is no data from Turkish patients. consequently this thesis was planned to determine whether there is a relationship between DMT1 polymorphism and parkinson's disease as well to specify the frequency of the polymorphism in our contry.

In this study, we analyzed 1254T/C and Ivs4+44C/A polymorphisms of DMT1 gene in 97 Parkinson's disease patients and 100 healthy controls to investigate a possible relationship between the DMT1 gene and Parkinson's disease. As a result, there is no association were found between IVS4 + 44C / A polymorphism and

Parkinson's disease. But we found that TT genotip in 1254T / C polymorphism is a risk factor for Parkinson disease.

**Keywords:** Parkinson, Divalent Metal Transporter 1, 254T/C and IVs4+44C/A polymorphisms.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
SUMMARY.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	v
TABLolar DİZİNİ .....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Parkinson .....	4
2.1.1. Parkinson'un Tanımı.....	4
2.1.2. Tarihçesi.....	4
2.1.3. Sınıflandırma.....	5
2.1.4. Parkinson Hastalığının Klinik Özellikleri.....	7
2.1.4.1. Tremor.....	7
2.1.4.2. Rijidite.....	7
2.1.4.3. Akinezi/Bradikinezi .....	8
2.1.4.4. Postural İnstabilite.....	8
2.1.5. Epidemiyoloji.....	9
2.1.6. Etiyoloji.....	9
2.1.7. Parkinson Hastalığının Patolojisi.....	10
2.1.7.1. Lewy Cisimleri.....	11
2.1.8. Parkinson Hastalığının Genetiği .....	12
2.1.9. Parkinson ve Genetik Polimorfizmler.....	13
2.2. Demir Metabolizması ve DMT1 .....	13
2.2.1. Demir Metabolizması.....	13
2.2.1.1. Serbest Radikal .....	16
2.2.1.2. Oksidatif Stres.....	19
2.2.1.3. Hücre Ölümü ve Apoptoz.....	20
2.2.1.4. Nörodejenerasyon.....	21
<b>İÇİNDEKİLER (Devam ediyor)</b>	
2.2.2. Divalent Metal Taşıyıcı 1.....	22
2.2.1.3. DMT1 Polimorfizmi.....	23



2.2.2.1.1. Polimorfizm.....	23
2.2.2.1.2. DMT1 Polimorfizm.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Gereç.....	27
3.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri.....	27
3.1.2. Kullanılan Cihaz ve Gereçler.....	28
3.1.3. Kullanılan Malzeme ve Kimyasal Maddeler.....	28
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. DNA İzolasyonu.....	29
3.2.1.1. Tuz Yöntemiyle DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler.....	29
3.2.1.2. Tuz Yöntemi Kullanılarak Yapılan DNA İzolasyonu.....	32
3.2.1.3. İzole Edilen DNA Miktarının Ölçümü.....	33
3.2.2. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR İle Amplifikasyonu.....	33
3.2.2.1. Kullanılan Çözeltiler.....	34
3.2.2.2. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR İle Amplifikasyonu.....	35
3.2.2.3. Kullanılan Amplifikasyon Şartları.....	35
3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi.....	36
3.2.3.1. Agaroz Jel Elektroforezi Çözeltileri.....	36
3.2.3.2. Jelin CCD Kamera ile Değerlendirilmesi.....	37
3.2.4. Restriksiyon Enzimleri İle Kesim.....	38
3.2.4.1. Jelin CCD Kamera ile Değerlendirilmesi.....	39
3.2.5. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	41
4. BULGULAR.....	42
5. TARTIŞMA.....	47
6. SONUÇ.....	50
KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	61

## TABLO DİZİNİ

<b>Tablo 4. 1.</b> 1254T/C ve IVS4+44C/A polimorfizmi genotip ve alel frekansları....	43
<b>Tablo 4. 2.</b> 1254T/C ve IVS4+44C/A polimorfizmi için cinsiyet dağılımı.....	44
<b>Tablo 4. 3.</b> 1254T/C ve IVS4+44C/A polimorfizmi için yaş dağılımı.....	45
<b>Tablo 4. 4.</b> Alele göre hastalık riski .....	45
<b>Tablo 4. 5.</b> Genotipe göre hastalık riski.....	46

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Vücutta demir dengesi.....	15
Şekil 2.2. DMT 1 genin kromozomal yerleşimi.....	26
Şekil 4.1: 1254T/C ve IVS4+44C/A polimorfizmi genotip (solda) ve alel frekansları (sağda) grafiği.....	43
Şekil 4.2. 1254T/C (sağda) ve IVS4+44C/A (solda) polimorfizmi cinsiyet dağılımı grafiği.....	44

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>Simge</b>	<b>Açıklama</b>
bç	Baz çifti
BSA	Bovine serum albümin
CNV	Copy number variation
dATP	Deoksi adenozin trifosfat
dCTP	Deoksi sitozin trifosfat
DCT1	Divalent katyon taşıyıcı 1
Dcytb	Duodenal ferrik redüktaz
dGTP	Deoksi guanozin trifosfat
DMT	Divalent metal taşıyıcı
DMT 1	Divalent metal taşıyıcı 1
dNTP	Deoksi nukleotid trifosfat
dTTP	Deoksi timin trifosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
g	Gram
Gpx	Glutasyon peroksidaz
HFE	Human hemochromatosis protein
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
kD	Kilodalton
mg	Miligram
ml	Mililitre
pmol	Pikomol
mM	Milimolar

<b>Simge</b>	<b>Açıklama</b>
OD	Optik dansite
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PH	Parkinson hastalığı
REM	Rapid eye movement
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
ROP	Reaktif oksijen partikülleri
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SE	Sodyum EDTA
SN	Substantia nigra
STR	Short Tandem Repeat
SOD	Süperoksit dismutaz
TE	Tris EDTA
TBE	Tris borat EDTA
UV	Ultra viyole
VNTR	Variable Number of Tandem Repeat
%	Yüzde işareti
Ins/Del	Insertion/deletion
DNA	Deoksiribonükleikasit
HCl	Hidroklorikasit
CCD	Charge-Coupled Device
(N)	Toplam örnek sayısı

<b>Simge</b>	<b>Açıklama</b>
NRAMP2	Natural resistance associated macrophage protein
SD	Standart Sapma (standard deviation)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
ODPH	Otozomal dominant parkinson hastalığı
ORPH	Otozomal resesif parkinson hastalığı
OR	Odds Ratio
UCH-L1	Ubiquitin C-terminal hidrolaz

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer hastalığından sonra görülen en yaygın nörodejeneratif hastalık Parkinson Hastalığı (PH)'dir. Parkinson Hastalığı, ilk olarak 1817 yılında "shaking palsy" (titrek felç) olarak İngiliz hekim James Parkinson tarafından tanımlanmıştır (92).

Beynin substantia nigra tabakasının pars kompakta bölgesindeki dopaminerjik nöronların kaybı ve "Lewy cisimcikleri" adı verilen protein agregatlarının oluşumu ile karakterize olan PH, 65 yaş üstü populasyonun yaklaşık %1'ini etkilemektedir (68). Dopaminerjik nöronların yaklaşık %60-65'inin kaybı sonucu dopamin seviyesinde meydana gelen %80-85'lik azalma motor fonksiyonlarda bozukluklara yol açar. Bu bozukluklar ise istirahat tremoru, bradikinezi, kaslarda sertlik (rijidite) ve durus bozukluğu gibi semptomların ortaya çıkmasına sebep olur (62,69).

Hastalığın oluşmasında çevresel, genetik ve mekanik etkilerin yanı sıra travma, PSP (Progressive Supranuclear Palsy) ve MSA (Multiple System Atrophy) gibi diğer nörodejeneratif hastalıklar ve intoksikasyonların da [rotenon, MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridine), toluen] rolü olduğu düşünülmekle birlikte Parkinson Hastalığının temel bir klinik tanımlaması yoktur (13).

Parkinson hastalığının yaklaşık %85'i sporadik, %10-15'i ise aileseldir ve hastalığın ancak %5'lik kısmı tek gene bağlı (Mendel tipi kalıtım) bozukluklardan kaynaklanmaktadır (16). Son dönemde yapılan araştırmalar, genetik değişimlerin hastalığın patolojisinde rol oynadığını açıkça ortaya koymaktadır (38).

Özansoy M. ve Başak A.N. 2004 yılında Parkinson hastalığının genetiği ve nörodejenerasyonun moleküler biyolojisi üzerinde çalışmalar yapmış ve aday genleri belirlemişlerdir (69). Dopaminerjik nöron kaybının sebeplerinin araştırılması için yapılan moleküler çalışmalar sırasında birçok mutasyon ve polimorfizmin Parkinson hastalığının oluşumunda rol aldığı görülmüştür. Bu çalışmalar sonucu *alfasinüklein*,

*PARK, DJ-1, PINK1, LRRK2* gibi birçok gende mutasyonlar bulunmuş ve hastalık ile ilişkili oldukları saptanmıştır (56,63).

Bir toplumda sadece tekrarlayan mutasyonlarla sürdürülmeyecek oranlarda var olan, nadir sıklıkta, süreklilik göstermeyen iki veya daha fazla genetik özelliğin birlikte oluşumu durumuna “polimorfizm” denilmektedir. Toplumun %1 veya daha fazlası nadir bir aleli taşıyorsa bu durum polimorfiktir. Polimorfizmler insan genetik araştırmalarında anahtar bir fonksiyon üstlenerek, genetik bir marker gibi görev yapmaktadır (7,24).

Dejeneratif hastalıklar, enfeksiyon veya travma gibi ortak etyolojileri olan diğer nörolojik hastalık gruplarının tersine, sıklıkla klinikopatolojik özellikleri ile bir araya toplanmışlardır. Merkezi sinir sisteminde nöron ve sinaps kaybıyla dejenerasyona yol açmaları, seçici olarak bir veya daha çok fonksiyonel sistemi etkilemeleri ve ilerleyici seyirli olmaları temel özellikleridir (96).

Nörodejeneratif bir hastalık olan Parkinson hastalığının etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte yapılan çalışmalar hastalığın patogeneğinde genetik mutasyonların önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (96).

Bu yüzden bu çalışmada, DMT1 geni polimorfizmi açısından henüz çok az çalışıldığı görülen nörolojik bir hastalık olan Parkinson hastalığı ile ilişkisi araştırıldı. Bu genin toplum taraması yönünden değerlendirilmesi ülkemizde Parkinson hastalığının gelişimindeki genetik yatkınlığın oranlarının belirlenmesine yönelik bilimsel katkı sağlayacaktır.

Yaptığımız literatür araştırmalarında, Türkiye’de DMT1 geninde ile Parkinson hastalığı ile ilgili bir polimorfizm çalışmasına rastlanmamıştır. Bu çalışmamız, Türk popülasyonunda yapılacak diğer moleküler genetik araştırmalara ışık tutması bakımından da önemlidir.



Ayrıca bu çalışma sonucunda; polimorfizm ile hastalık arasında bir ilişki tesbit edildiği takdirde hastalığın tedavisinde farklı seçeneklerin oluşmasına katkı sağlayabileceği de düşünülmektedir.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Parkinson**

#### **2.1.1. Parkinson'un Tanımı**

Parkinson hastalığı (PH) genellikle 50-60 yaşları arasında başlayan, yavaş ilerleyen, kronik bir hastalıktır. Hastalık 20 yaşından önce başlarsa "primer juvenil parkinsonizm," 20-40 yaşları arasında başlarsa "genç başlangıçlı parkinsonizm" olarak adlandırılır. Görülme sıklığı açısından erkek/kadın oranı yaklaşık 3/2'dir (45).

Parkinson hastalığı tüm etnik gruplarda görülen, erkeklerde daha baskın özelliğe sahip bir hastalıktır. Görülme sıklığı 65-90 yaşları arasında artmaktadır. Tüm populasyonun % 0.3'unu etkilemekle beraber, bu oran 65 yaşın üzerinde %1'e yükselmektedir. Semptomlar hastaların % 5-10'unda, 40 yaşın altında ortaya çıkmaktadır (45).

Parkinson hastalığı sinsi başlangıçlı olup, istirahat tremoru, rijidite, akinezi/bradikinezi veya duruş bozukluğu gibi esas belirtileri ortaya çıkmadan önce nonspesifik semptomlardan oluşan ilk belirtilerin ortaya çıktığı bir dönem de var olabilir. İlk motor belirtiden önce çabuk yorulma, kişilik değişiklikleri görülebilir. Hastalar omuz ve kol kaslarında ağrı veya gerginlikten yakınabilirler (25).

#### **2.1.2. Parkinsonun Tarihçesi**

Parkinson çok eski çağlardan beri toplumlar tarafından bilinen bir hastalıktır. Eski Hint sağlık sisteminde "Kampavata" adı ile bilinen Parkinson, batı tıp literatüründe milattan sonra 175 yılında, Dr. Galen tarafından "titremeli felç" olarak tanımlandı. Hastalık ile ilgili ilk ayrıntılı bilgi ise, hastalığa adını veren Londra'lı Dr. James Parkinson tarafından 1817 yılında yayınlanan bir makale ile verildi. Yayınlanan

makalenin tam adı, “Titremeli Felç Üzerine Bir Makale”. Bu makale ile PH tanımlanmış tıbbi bir durum olarak kabul edildi. Makale, Dr. Parkinson’un karşısına çıkan 6 vakanın incelemesine dayanıyor ve bu hastalık üzerine daha fazla araştırma yapılmasını teşvik ediyordu. Makalenin yayınlanmasından ancak 60 sene sonra Fransız Nörolog Jean Martin Charcot, Parkinson hastalığına gereken önemi verdi. Üzerinde geniş çaplı bir araştırma yaptıktan sonra, hastalığa Dr. James Parkinson’un adından dolayı “Parkinson” adını vermiştir. Hastalıkla ilgili ortaya çıkan birçok gerçeğin yanı sıra hala bilinmeyen durumlar da söz konusudur. Hastalık genellikle yaşlı bireylerde görülüyor olup, belirtileri zaman içinde ilerleme özelliği taşımaktadır (47).

Hastalığın nedeninin beyindeki dopamin miktarındaki azalma olduğu biliniyor. Ancak bu duruma neyin yol açtığı hala tam olarak çözülememiştir. Parkinson hastalarının beyinlerindeki kimyasal madde değişikliği ilk olarak 1960’lı yıllarda tanımlandı. Düşük seviyedeki dopamin, beynin substantia nigra (siyah cisim) denilen bölümündeki sinir hücrelerinin dejenerasyonuna neden olmaktadır. Hastalığın etkili ilk tedavisi de bu tanımlamanın yapılmasının ardından gerçekleşti. İlk defa 1960 yılında, Levodopa isimli ilaç Parkinson hastalığının tedavisinde kullanılmaya başlandı. 1960 yılından itibaren giderek artan bir hızla yapılan araştırmalara rağmen hala kesin bir tedavi yöntemi geliştirilememiş olmakla birlikte bu araştırmalar sonucunda hastalığın belirtilerini etkili bir biçimde kontrol edilebilen ve bu belirtilerin şiddeti azaltılabilen tedavi yöntemleri geliştirilmiştir (47).

### **2.1.3. Parkinson Hastalığının Sınıflandırması**

Parkinson hastalığı (PH) Substantia Nigra (SN) başta olmak üzere bazal ganglion dejenerasyonuna bağlı, motor davranışlarda bozuklukların gözlemlendiği klinik bir sendromdur. İdiyopatik Parkinson hastaları, parkinsonizm vakalarının yaklaşık %80’ini oluşturur (2).

Parkinsonizm tablolarını genel olarak dört sınıfta ele almak mümkündür:

### **I- Primer (İdiyopatik) Parkinsonizm**

- Parkinson Hastalığı
- Jüvenil Parkinsonizm

### **II- Sekonder (Edinsel, semptomatik) Parkinsonizm**

- İlaçlara bağlı parkinsonizm: [Dopamin reseptör blokerleri (Antipsikotikler, antiemetikler), rezerpin, tetrabenazin, alfa metil dopa, lityum, flunarizin]
- İnfeksiyöz nedenlere bağlı parkinsonizm: (Postensefalitik, yavaş virüs enfeksiyonu, AIDS)
- Toksik nedenlere bağlı parkinsonizm: (MPTP, CO, Mn, Hg, CS<sub>2</sub>, metanol, etanol)
- Vasküler nedenlere bağlı parkinsonizm: (Multienfarkt demans, Binswanger Hastalığı)
- Posttravmatik: (Boksör ensefalopatisi) parkinsonizm
- Strüktürel lezyonlara bağlı parkinsonizm
- Hemiparkinsonizm (hemiatrofi)
- Diğer nedenler bağlı parkinsonizm: (endokrin ve metabolik nedenler, otoimmün veya inflamatuvar nedenler)

### **III- Parkinson Plus Sendromlar (Multisistem Dejenerasyon)**

### **IV- Heredodejeneratif Parkinsonizm**

Parkinsonizm bulguları ile birlikte görülen heredodejeneratif hastalıkların başlıcaları Huntington Hastalığı, Wilson Hastalığı, Haller Vorden- Spatz Hastalığı, Machodo-Joseph Hastalığı, Familyal Bazal gangliyon kalsifikasyonu ve Nöroakantositozistir (61).

#### **2.1.4. Parkinson Hastalığının Klinik Özellikleri**

Parkinson hastalığında, İstirahat halinde izlenen titreme (tremor), Pasif eklem hareketlerini zorlaştıran kaslarda sertleşme (rijidite), Hareketlerin yavaşlaması ve olmayışı (akinezi ve bradikinezi) ve Ayakta durma dengesinin bozulması (postural instabilite) gibi dört temel klinik belirtilerin tümü izlenmektedir (51).

##### **2.1.4.1. Tremor**

İstirahat tremoru hastaların %75'inde görülen ilk motor belirti olup, hareket sırasında ortadan kaybolur, ancak ekstremitte belli bir postürü aldıktan kısa bir süre sonra tekrar belirir. Sıklıkla üst ekstremitte distalinden unilateral olarak başlar. Bazı hastalarda sadece tek bir parmağı etkileyebilir. Tremor sıklıkla işaret ve baş parmağın ritmik, alternan oppozisyonu ile şekillenen stereotipik para sayma hareketidir. Bazı hastalarda el ve kolun basitçe öne-arkaya hareketi şeklinde de olabilir (51).

##### **2.1.4.2. Rijidite**

Kaslarda sertlik hastanın ekstremitte, boyun veya gövdesinin pasif hareketi sırasında hekimin her yöne ve tüm hareket kabiliyeti boyunca hissettiği artmış direnç rijidite durumunu gösterir. Hareketin hız ve şiddetinden büyük ölçüde etkilenmez ve bu durum hıza bağlı tonusun arttığı, ayrıca yüksek hareket yeteneğine karşı direncin değişkenlik gösterdiği spastisiteden rijiditeyi ayıran bir özelliktir. Rijidite istemli hareket hızını sınırladığı halde, rijiditesi olan bazı hastalar motor işlevlerini rahat

sürdürebilirler ve bradikinezi, bireyin hastalığında rijiditeden daha belirleyici bir rol oynar (51).

#### **2.1.4.3. Akinezi/Bradikinezi**

Akinezi hareketin olmayışını, bradikinezi ise yavaşlığını tanımlar. Hastalarda motor bir plana başlamak ve onu yürütmek güçtür. Hastalarda sadece istemli motor hareketlerde değil, aynı zamanda mimik hareketlerinde, yürürken kolları sallama veya yutkunma gibi otomatik hareketlerde de bir azalma söz konusudur. Akinezi ve bradikinezi tüm PH'larda görülür ve hastalığın yaşam kalitesini en fazla düşüren semptomları arasında yer alır (51).

#### **2.1.4.4. Postural kararsızlık (İnstabilite)**

Postural refleksler dik durmamızı ve herhangi bir postürü sürdürürken dengemizi korumamızı, dönüşlerde veya yürüyüş sırasında yön değiştirirken dengemizi kaybetmememizi sağlar. Postural instabilite, duruşsal dengesizlik durumu Parkinson hastalığı belirtileri arasında en fazla özürüllüğe neden olan ve tedaviye en az yanıt verenidir (51).

Parkinson hastalığının motor bulguları ortaya çıkmadan önce bazı başka belirtiler kendini gösterebilir. Bunlar arasında ağrı, koku alma bozukluğu, REM (Rapid eye movement: hızlı göz hareketi) uyku davranış bozukluğu (geceleri çok canlı rüyalar görüp, etrafındakilere zarar verebilecek vurma gibi bazı hareketlerle ortaya çıkan bir uyku bozukluğudur) ve mesane-bağırsak, tansiyon değişiklikleri gibi bazı otonomik sistem bozukluklarına ait bulgular da izlenebilmektedir (51).

PH'nın tipik bulguları ortaya çıkmaya başladığında yürürken kolları iki yanda normal şekilde sallamama, el ve bacaklar ile çenede istirahat döneminde titreme, mimiklerin kaybının izlendiği maske yüz belirtisi, yazının giderek küçülmesi şeklinde zor okunur bir yazıya sahip olma, göz kırpma sayısında azalma, öne eğik ve yavaş

şekilde yürüme, sık düşmeler, küçük adımlarla yürüme, donup kalmalar, hareketin ve konuşma hızının yavaşlaması, yutma bozuklukları, kabızlık, cinsel işlev bozuklukları, depresyon, psikoz, hayal görme, halüsinasyon, gündüz uyuklama hali, dürtü kontrol bozukluğu, ciltte yağlanmanın artması (sebore) ve bunama da izlenebilir (51).

### **2.1.5. Parkinson Hastalığının Epidemiyolojisi**

Hastalık 40-70 yaşları arasında, sıklıkla 60 yaş üzerinde başlar. Altmış beş yaş sonrası her yüz kişiden birinde görülür. Parkinson hastalarının %5-10'unda hastalık semptomlarının başlangıcı 20-40 yaşları arasında olup, bu olgular juvenil PH gurubunu oluşturur. Erkeklerde görülme sıklığı kadınlara oranla biraz daha fazladır. PH prevalansı yaklaşık olarak 100 000'de 100-300 arasında değişmektedir. Yıllık PH insidansı ise 20/100000'dir. Prevalans ve insidans yaş ile artış gösterir. Uzun yıllar travma, duygusal çöküntü, aşırı çalışma, soğuğa maruz kalma, katı kişilik ve benzer nedenlerin hastalığı kolaylaştırdığı düşünülmüştür, ancak bunlardan herhangi birini destekleyecek anlamlı kanıt yoktur. Tekrarlayan serebral travma ve boksörlerde beyin sarsıntısına bağlı hareket koordinasyonunda bozulma ilişkisi şüpheli bulunmuştur (28,44).

İdiyopatik Parkinson hastalığının Afrikan Amerikalılardaki insidansı beyazların dörtte biridir. Asyalılardaki insidansı ise beyazların üçte biri ile yarısı arasındadır. Hastalık kuzey Amerikalılarda ise siktir. Tüm Avrupa ülkelerinde insidansı benzerdir (76).

### **2.1.6. Parkinson Hastalığının Etiyolojisi**

Klinik olarak tanımlanmasından bu yana iki yüzyıla yakın bir zaman geçmiş ve yaşam boyunca hastalığa yakalanma riski erkeklerde %2, kadınlarda % 1.3 oranları ile oldukça sık rastlanan nörodejeneratif bir hastalık olmasına karşın, PH etiyojisi halen tam olarak ortaya konabilmiş değildir (70).

Alzheimer hastalığından sonra görülen en yaygın nörodejeneratif hastalık olan PH ile ilgili günümüze kadar elde edilen bilgiler, hastalığın oluşmasının tek neden değil, multi faktöriyel bir etiyojisi olduğuna işaret etmektedir (71).

Hastalığı ayrıntıları ile ilk tanımlayan araştırmacı James Parkinson (1817) altta yatan neden olarak, üst servikal medulla spinalis ile medulla seviyesinde inflamasyon ve hasara neden olabilecek travmaların sorumlu olabileceğinden söz etmektedir (71). Ondokuzuncu yüzyılın sonlarında ise; Gowers kalıtsal etkilenimin önemli olabileceğini öne sürmesine karşın, son yıllara kadar ağırlıklı olarak çoğunlukla çevresel faktörlerin etiyojide rol oynadığı görüşü hakim olmuştur (34).

PH'nın etiyojisinin aydınlatılmasında hastalık sürecinde gelişen patolojik değişikliklerin anlaşılması oldukça önemlidir. Bu yolla etiyojiden sorumlu tutulan faktörlerin hastalığa nasıl neden olduğu daha iyi anlaşılacaktır. Hastalık, patolojik olarak beyin ve periferik sinir sisteminde birçok bölgede meydana gelen nörodejeneratif değişiklikleri içermektedir. Sinir sisteminde parkinsoniyen nörodejenerasyonun temelini, sitoplazmik inklüzyonlar olan Lewy cisimcikleri oluşturur (86).

### **2.1.7. Parkinson Hastalığının Patolojisi**

Hastalığın patolojik ayırıcı özelliği; beynin substantia nigra pars kompakta bölgesinde bulunan dopaminerjenik nöronların kaybı ve henüz işlevini kaybetmemiş olan hücrelerin sitoplazmalarında protein kümeleri barındıran Lewy cisimcikleri varlığıdır (69).

Ayrıntılı açıdan PH seçilmiş ancak heterojen nöron popülasyonunun progresif oluşumu ile karakterizedir. Bunlar; substantia nigra pars kompaktadaki nöromelanin yüklü dopaminerjenik nöronlar, seçilmiş beyin sapı aminerjenik nükleusları (katekolominerjenik ve serotonerjenik), Meynert kolinerjenik nükleus bazalisi, hipotalamik nöronlar, küçük kortikal nöronlar, sempatik ganglia ve bağırsaktaki parasempatik nöronları içerir. Substantia nigra pars kompaktada nöronal kayıp, ventrolateral bölgede



daha yoğundur (semptomların başlangıç aşamasında kayıp % 60-70 oranındadır) bunu medial, ventral ve dorsal bölgeler takip eder (27).

Bu tip hücre kaybı Parkinson hastalığına spesifiktir ve bu şekil, normal yaşlanmaya bağlı ve striatonigral dejenerasyon ve progresif supranükleer palside gözlenen durumun tam tersidir. Sonuçta, putamenin dorsal ve intermediate bölümlerinde belirgin olmak üzere, striatal dopamin kaybı meydana gelir (55) ve bu durum akinezi ve rijidite ile sonuçlanmaktadır. Bu tip hücre kaybı paterni aynı zamanda dopamin taşıyıcıları için mesajcı RNA ekspresyon derecesi ile uyumludur (87). Diğer önemli bir patolojik bulguda etkilenmiş beyin sapı bölgelerinde, özellikle vagusun dorsal motor nükleusunda izlenen dejenere ubiquitin-pozitif nöronal işlevler ve Lewy cisimcikleridir (31).

Lewy cisimleri, eozinofilik hialin inklüzyon cisimciğidir. Cisim içinde oluşan nörofilament birikiminin değişken nörofilament ekspresyonundan ziyade, bunların normal sentezini takip eden posttranslasyonel değişimine bağlı olduğu düşünülmektedir (10). Lewy cisimlerinin oluşum mekanizması, PH patogenezindeki önemi ve nörodejenerasyondaki rolü halen bilinmemektedir.

#### **2.1.7.1. Lewy Cisimleri**

Lewy cisimleri, immünreaktif, muhtemelen nöronal distresin belirteci olan inklüzyon cisimleridir. Yakın zamana kadar idyopatik Parkinson hastalığıyla sınırlı olduğu düşünülürdü. Lewy cisimleri merkezi bir çekirdek ve 7-10 nm çapında ve bir merkezden yayılan filamanlardan oluşan proteinöz yapılardır. Nörolojik ve psikiyatrik açıdan normal olan yaşlılarda (50 yaş ve üzeri) % 2-3 oranında görülür ( 21).

### 2.1.8. Parkinson Hastalığının Genetiği

Genetik geçişli olarak iki şekilde görülür. Bunlardan ilki PH otozomal dominant parkinson hastalığı (ODPH) ve otozomal resesif parkinson hastalığı (ORPH)'dir. Otozomal dominant PH geç başlangıçlı olup, ortalama 52 yaşlarında ortaya çıkarken, otozomal resesif PH'da başlangıç yaşı 45'den düşüktür. Bu gruba dahil edilen juvenil PH'nin başlangıç yaşı ise 21'in altındadır (69).

PH ile ilgili ilk ailesel çalışma Gowers tarafından 1888 yılında yapılmıştır (81). Gowers'dan beri hastalığın patolojisinde genetik faktörlerin rol aldığı düşünülmüş ve çok çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar sonucu PH oluşumuna neden olduğu öne sürülen birçok gen belirlenmiştir. Fakat içlerinde tanımlanan ve en çok çalışılan genler; *alfa-sinüklein*, *parkin*, *UCHL-1*, *PINK1*, *DJ-1* ve *LRRK2* genleridir (34, 81).

İlk defa 1996 yılında İtalyan kökenli geniş bir ailedeki ODPH olgularının incelenmesiyle tanımlanan alfa-sinükleine ait A53T mutasyonu genetik geçişli PH'da bulunan ilk mutasyondur. A53T mutasyonunu taşıyan  $\alpha$ -sinüklein proteini protofibril oluşumunu tetiklemekte ve bu protofibriller de sinaptik veziküllerin zarlarının parçalanmasına neden olabilmektedir. Bu durumda da veziküllerdeki dopamin hücre içine salınmakta ve oksidatif stres yaratarak toksisiteye neden olmaktadır. Bu görüş açısından bakıldığında,  $\alpha$ -sinüklein içeren protein agregatları yıkılması gerektiği halde yıkılamadığı için hücrede toksik bir etki yaratmaktadır (38). İkinci mutasyon olan A30P mutasyonu ise Alman bir ailede tanımlanmıştır (4).

A30P mutasyonunun klinik tablosunun sporadik PH'ye çok benzediği bulunmuştur (58). Bulunan son mutasyon ise E36K mutasyonudur ve bu mutasyona sahip bireylerin klinik tablosunda demans ön plana çıkmaktadır (38).

### **2.1.9. Parkinson ve Genetik Polimorfizmler**

Parkinson genetiği ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Parkinson hastalığı klinik olarak tespit edilmekle birlikte genom üzerinde yer alan bazı polimorfizmlerin parkinson hastalığı için risk teşkil ettiği belirlenmiştir (69).

Bugüne kadar genom üzerinde genetik geçişli Parkinson'a neden olan 11 lokus tanımlanmış olup, bunlardan altı tanesinde sorumlu gen bulunabilmiştir (79). Bunlar; otozomal dominant alfa-sinnüklein ve otozomal dominant Ubiquitin C-terminal hidrolaz (UCH-L1) genleri, otozomal resesif parkin geni, otozomal resesif DJ-1 geni ve yeri saptanan ancak henüz tam olarak tanımlanmayan gen lokuslarıdır (3).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Parkinson hastaların beyinde demir ve demir-bağlayıcı protein seviyelerinin arttığı belirtilmiştir. Demir taşımada yer alan en önemli proteinlerden biri divalent metal taşıyıcı 1 (DMT1)dir (6).

## **2.2. Demir Metabolizması ve DMT1**

### **2.2.1. Demir Metabolizması**

PH patofizyolojisinde, demir taşıma ve depolamanın güçlü bir etkisi vardır. Giderek artan rapor sayısına göre PH'larda sistemik demir metabolizmasının anormal olduğu düşünülmektedir. Ayrıca beyinde, substantia nigradaki demir birikimi normal insanlara göre daha fazladır (6).

Beyinde, bazal gangliyonlarda özellikle globus pallidus ve substantia nigrada lokalizasyon gösterecek şekilde demirin mükemmel dağılımı dopamin veya demir arasındaki yakın bir ilişkiyi gösterir. Parkinson hastalığı, st beyin sapı bölgesinde iki yanlı olarak yer alan substantia nigra yani kara çekirdeklerin hücrelerinin azalmasından ileri gelir. Bu hücreler "dopamin" denilen bir madde yapar, depolar ve bunu kimyasal

iletici olarak beynin derinliğindeki “striyatım” denilen yapıların sinir hücreleriyle bağlantı kurmasında kullanır (18).

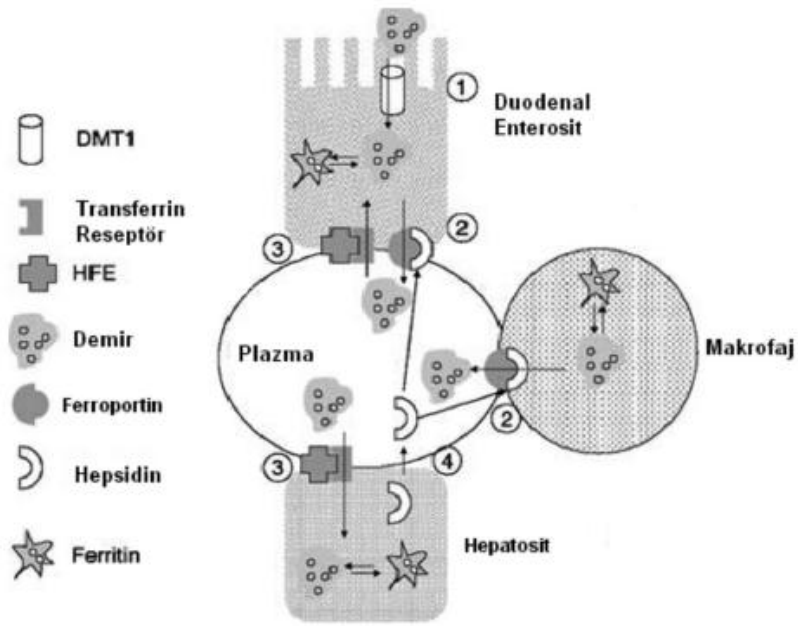
Demir insan için esansiyel bir elementtir. Elektron alıp verme özelliğinden dolayı; oksijen taşınması, enerji yapımı, DNA, RNA ve protein sentezinde yer alır (88). Birçok enzimin yapısına katılır ve/veya fonksiyonu için gereklidir. Demir insan vücudunda ferrik ( $Fe^{+3}$ ) veya ferroz ( $Fe^{+2}$ ) demir olarak iki formda bulunur. Demirin elektron değişimi, ( $Fe^{+3}$ ) ve ( $Fe^{+2}$ ), redoks aktivitesi için gereklidir. Demir fazlalığında oluşan serbest demir, prooksidan olarak serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına yol açar. Bu nedenle demir hiçbir zaman serbest bırakılmamaya çalışılır (78,88).

Organizmada bulunan demirin %60-70'i hemoglobinde, %10'u miyoglobin, sitokromlar ve demir içeren enzimlerde bulunur. Kalan %20-30'u başlıca karaciğer ve makrofajlarda depolanır. Organizmadan demiri atan fizyolojik bir mekanizma yoktur. Gastrointestinal sistemden dökülen epitelial hücreleri ve kanamalar dışında demir kaybı olmaz (30,78).

Demir duodenum ve proksimal jejunumdan emilir. Besinlerle alınan demirin %90 kadarı non-hem demiridir. Non-hem demirinin ancak %5'i emilir. Non-hem demiri gıdalarda  $Fe^{+3}$  kompleksler şeklindedir, emilimi diyetdeki faktörlerden ve kişinin vücudundaki demir durumundan etkilenir. Hem demiri ise yüksek emilim oranına sahip olup, diyetdeki faktörlerden çok az etkilenir. Hem demiri diyetle alınan demirin %10 kadarıdır (30, 65).

Musin demir molekülünü bağlayabilme yeteneği olan bir proteindir. Musin-demir kompleksi duodenumun alkali ortamında emilim için gereklidir. Böylece demir ince bağırsak hücrelerin yüzeyinde bulunan “integrinler” aracılığı ile membrandan geçer ve sitoplazmik bir demir bağlayıcı protein olan “mobilferrin” ile bağlanır. Her bir molekül mobilferrin, bir molekül demir bağlar. Mobilferrin, demiri hücrenin bazolateral yüzeyine taşır. Diyetle alınan  $Fe^{+3}$ , duodenumun fırçamsı kenarında duodenal ferrik redüktaz (Dcytb) ile  $Fe^{+2}$  ye indirgenir ve divalent metal transporter 1 (DMT1) aracılığı

ile fırçamsı kenar membranından enterositlere alınmaktadır.  $Fe^{+2}$  hücrede ferritin olarak depolanıp, dökülen enterositlerle birlikte atılmakta ya da ferroportin aracılığı ile basolateral membrandan plazmaya geçmektedir.  $Fe^{+2}$  hephaestin (Heph) aracılığı ile  $Fe^{+3}$  yükseltgenir ve transferine bağlanarak taşınır. Demir, ihtiyacı olan hücrelerin yüzeyinde bulunan transferrin reseptörü 1 (Tfr1) aracılığı ile hücrelere alınmaktadır (32) (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1.** Vücutta demir dengesi. **1:** DMT1 aracılığıyla demirin matür enterositlerin içine alınışı, **2:** Ferroportin aracılığıyla demirin enterosit ve makrofajlardan sirkülasyona geçişi, **3:** Duodenal enterositlerde ve hepatositlerde transferrin reseptör-2 ve HFE kompleksi aracılığıyla sirkülasyondaki demirin transferrine yüklenmesi. **4:** Hepatositte hepsidin üretilmesi ve sirkülasyona salınımı (32).

Dopaminerjik nöron demir düzeyi sınırlandırılması Parkinson hastalığı ile mücadelede yardımcı olabilir. Nöronların içindeki demir, dopamin üreten enzimler için ko-faktör olarak tamamlayıcı bir rol oynar. Fakat bazen dopamin üretimi için gereken demirin fazlası, oksidatif stres ve hücre ölümüne sebep olabilir (60).

Demirin biyolojik önemi eski çağlardan beri bilinmekle birlikte hücresel düzeyde moleküler kontrol, emilim, depolanma, organizma demir döngüsünün moleküler yolları ile ilgili yeni proteinlerin keşfi ile son on yılda özellikle de son 2-3 yılda demir metabolizmasında çok büyük değişiklikler ve ilerlemeler olmuştur (5).

Demir organizmada esas olarak enerji metabolizmasında yer alır. Dokulara oksijen transportu, elektron transferi, DNA sentezi ve pek çok yaşamsal önemi olan enzimin yapı ve fonksiyonu için gereklidir. Kolaylıkla ferröz ( $Fe^{++}$ ) ve ferrik ( $Fe^{+++}$ ) şeklinde değişebilen kimyası ile, insan varlığı demire bağımlıdır ve demir metabolizmasındaki değişiklikler insan sağlığını önemli şekilde etkilemektedir (5, 73,88).

Demir, hemen hemen tüm canlı hücreler için hayati önem taşır. Oksijen taşıma, DNA sentezi, sitokrom P-450 enziminin oksidatif metabolizması ve elektron taşıma gibi metabolik süreçler için gereklidir. Diğer besinsel metallere farklı olarak demir, büyük ölçüde saklanır ve aktif olarak vücuttan atılamaz (98). Vücuttan sadece pasif şekilde, ciltten veya hücre atılımıyla, ya da kadınlarda regl yoluyla çıkarılır. Bu da demirin fizyolojik olarak esansiyel fakat biyokimyasal olarak tehlikeli olduğunu ortaya çıkartır (20). Diyetle alınan demirin %10'u emilmekte fakat fazla demir organizmadan fazlaca atılamamaktadır. Organizmada eğer kayıp yoksa, ilerleyen yaşla birlikte demir depoları artar. Eskiden ne kadar olursa o kadar iyi denilirken, bugün sağlıklı bir kişide fazla demir deposuna ihtiyaç olmadığı bilinmektedir (67).

Sonuç olarak demirin yaşam için temel unsurlardan biri olmasına rağmen aynı zamanda büyük ölçüde toksisiteye de neden olabileceği düşünülmektedir.

### **2.2.1.1. Serbest Radikal**

Elektron transferi, bir elektronun bir atom veya molekülden diğerine geçmesini sağlayan süreçtir. Demir, bir elektronun verilmesi veya alınması yoluyla kolayca ferrik ( $Fe^{3+}$ ) ve ferröz ( $Fe^{2+}$ ) formları arasında geçiş yapar. Aşırı demir yükü, transferrine

bağlanmayan demir (TBD) oluşumuna yol açar. Böylece, bağlanmayan demir, yeterli konsantrasyonlarda bulduklarında hücre hasarına neden olan  $O_2$ 'nin yanı sıra  $OH$  gibi büyük ölçüde reaktif serbest radikalleri üreten reaksiyonları katalize eder (77).

Parkinson hastalığı oksijen esaslı radikallerle ilişkili olan, spesifik nörodejeneratif hastalıktır. Her ne kadar bu hastalığın sebebi tam olarak anlaşılamamışsada, bu hastalıkta görülen nöral dejenerasyon, kısmen kontrol edilememiş serbest radikal atağı yüzünden meydana gelmektedir (83).

Oksijen insan yaşamı için çok elzem olmasına karşın, normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir. Çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır. Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır (22).

$O_2$  radikallerinin kardiovasküler hastalıklar, enflamasyon hastalıkları, otoimmün hastalıklar, kanser ve bazı nörolojik hastalıkların oluşumunda da rol oynadıkları düşünülmektedir (82, 90).

Parkinson hastalığında substantia nigra'da nöron kaybına neden olan faktörler arasında serbest radikal aktivitesi sonucu lipid peroksidasyonunun uyarılması ve antioksidan enzimlerin eksikliği ileri sürülmüştür (72).

Moleküller bir veya birden fazla atomdan ve bunlar arasındaki etkileşim sonucu oluşan, bağlardan meydana gelen yapılardır. Atomlarda yer alan elektronlar orbital adı verilen uzaysal bölgede çiftler halinde bulunurlar. Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarında son yörüngede eşleşmemiş tek elektron içeren moleküllere

verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere "oksidan moleküller" veya "reaktif oksijen partikülleri (ROP)' de denmektedir (39).

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar (52). Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanan bu moleküllerin üretimi çoğu olayda pato-mekanizmanın bir parçasıdır ve pek çok ksenobiyotiğin toksisitesi, serbest radikal üretimi ile ilgilidir. Kadmiyum ve kurşun gibi bazı çevre kirleticilere uzun süre mesleki maruz kalmalar, oksidatif strese neden olabilir ki bu, biyolojik sistemlerdeki istenmeyen etkilerin altında yatan bir mekanizmadır (39).

Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Oksidatif stres, toksisitenin olası bir mekanizması olarak son on yıldır toksikolojik araştırmaların odağı haline gelmiştir. Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir (10).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen, süperoksit grubuna ( $O_2$ ) bazı demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle indirgenir. Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit grubu, bakırlı bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığında hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve oksijene çevrilir. Süperoksit grubundan daha zayıf etkili olan  $H_2O_2$ , dokularda bulunan katalaz, peroksidaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz kılınır (53, 66).



### 2.2.1.2. Oksidatif Stres

Özellikle mitokondriler, endoplazmik retikulum ve çekirdek membranında yer alan serbest radikaller aracılığı ile oluşan oksidatif stres, Parkinson hastalığında nörodejenerasyon oluşumu ve ilerleme sürecinde önemli rol oynamaktadır (46).

Serbest radikaller, hücrelerin lipit, protein, DNA ve karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler (19,37,54,91). Bu etkilerden ilki hücre membranında gözlenir. Hücre zarında bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir, çok zararlıdır ve geri dönüşümsüzdür (19,36,37,54).

Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenmesi ise aminoasit kompozisyonuna bağımlılık gösterir. Doymamış bağ veya sülfür içeren amino asitler serbest radikaller için önemli birer hedef oluşturarak sülfür ve karbon merkezli radikallerin oluşumuna neden olurlar. Özellikle hem proteinleri serbest radikaller için önemli birer hedeftir (19,36,54).

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı çeşitli hastalıkların patolojisinde önemli rol oynarlar (19,36,54). Vücudumuzda bulunan antioksidan moleküller arasında 'antioksidan enzimler' veya enzim olmayan bileşikler yer almaktadır (41,94).

Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler bunları nötralize eden antioksidanlar üretmektedir. Serbest radikallerin oluşum hızı ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilme hızı arasında bir denge bulunması beklenir. Böylece hücre serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korunur. Eğer bu denge serbest radikaller lehine bozulursa, yani yapımdan daha yavaş nötralize edilirlerse, hücrede

serbest radikaller artar. Serbest radikallerin hücrede artışı ve hücre fonksiyonları üzerinde yaptıkları olumsuz etkiye oksidatif hasar (oksidatif stres) denir.

Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Oksidatif stres, toksisitenin olası bir mekanizması olarak son on yıldır toksikolojik araştırmaların odağı haline gelmiştir (15).

Stabil bir molekül olan DNA da lipidler, karbohidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasallar oksidatif hasara uğrayabilmektedir. İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde  $10^3$  kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür (42). DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle, çok düşük düzeylerde hasar, sağlıklı bireylerde de saptanmaktadır (75).

Dejeneratif hastalıkların gelişiminde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Nöronlar, yani sinir/beyin hücrelerindeki oksidatif stres kendini nörodejeneratif hastalıklar olarak göstermektedir. Özet olarak beyinde farklı sebeplerle artan demir seviyesi serbest radikallerin oluşumunu tetikler. Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse oksidatif stres ve son olarak da hücre ölümüne (apoptoz) sebep olabilir.

### **2.2.1.3. Hücre Ölümü ve Apoptoz**

İnsanlarda, substantia nigra pars kompakta yaklaşık 450.000 dopaminerjik nöron içerir. Pozitron emisyon tomografi (fluoro-l-dopa) ile yapılan çalışmalar ve post mortem incelemeler nigral nöron kaybının başlangıçta daha hızlı olduğunu, ancak daha sonra normal yaş ilintili azalmaya eriştiğini ortaya koymaktadır (14,27).

Parkinsondan sorumlu olan hücre ölümünün mekanizması halen bilinmemektedir. SN pars kompaktadaki hücre ölümünün apoptotik (12) bir mekanizma altında

gerçekleştiği yaygın bir kanı olarak benimsenmesine rağmen, evrensel bir düşünce olarak kabul görmemiştir (57).

Hücre ölümü iki farklı şekilde gerçekleşmektedir: nekrotik ve apoptotik hücre ölümü. Nekroz, hücrede akut, toksik hasarlar sonucu gerçekleşir ('noronal assosiasyon'), apoptoz ise hücre intiharı sürecidir (84). Nöronal hücre kültürlerinde yapılan araştırmalar her iki form arasında benzerlikler göstermiştir. Nörodejeneratif hastalıklarda apoptotik hücre ölümünü destekleyen çok sayıda deneysel kanıtlar bulunmaktadır. "Programlanmış hücre ölümü" demek olan apoptoz, PH'da substantia nigra pars kompakta'daki dopaminerjik nöronların ölüm şeklidir (23).

#### **2.2.1.4. Nörodejenerasyon**

Sinir sistemi oldukça kompleks biyokimyasal, fizyolojik ve anatomik özelliklere sahiptir. Nöronlar arası ileti elektriksel veya kimyasal haberci moleküller tarafından sağlanmaktadır. Bu iletişim sisteminin düzenlenebilmesi için beyinde enerji ihtiyacının sağlıklı olarak karşılanması gereklidir (26,40,85).

Beyin dokusu enerjisini yalnızca oksidatif metabolizmadan elde eder ve vücuttaki oksijenin büyük bölümünü kullanır. Nöronal oksidatif fosforilasyon esnasında mitokondrial elektron transport zincirinden yüksek enerjili elektronların kaçışı serbest radikallerin oluşumunu sağlar (9,26,40).

Beyin dokusu oksidan strese özellikle duyarlıdır. Çünkü, beyin total vücut ağırlığının % 2'sini oluşturmasına rağmen, total vücut oksijeninin % 20'sini kullanır. Nöronların membran yüzeyi sitoplazma hacmine oranlandığında, bu oranın membran yüzeyi lehine arttığı bilinmektedir (26,40).

Beyin hücre zarları büyük oranda doymamış yağ asitlerinden oluşur, bunlar lipid peroksidasyon reaksiyonlarında serbest radikallerin başlıca substratlarıdır. Bununla beraber beyinin savunma mekanizması oldukça zayıftır, hemen hemen hiç katalaz

içermez, glutatyon peroksidaz ve superoksit dismutaz (SOD) enzimleri ile glutatyon ve E vitamini düzeyleri sınırlıdır. Nöronal ağ anatomik açıdan hasara uğramaya uygundur. Periferik hasara bağlı olarak aksonların uzama yeteneği de sınırlıdır. Rejenerasyon kapasitesi sınırlı olan beyinde, serbest radikallerin oluşmasını sağlayan metaller (örneğin demir) spesifik bölgelerde birikebilir (26,40).

Weber yaşlanmayla ilgili teorisinde, oksijen kaynaklı serbest radikallerin, aerobik organizmaların hücrelerinde veya hücreler arasında kendiliğinden kimyasal modifikasyonlara neden olduğunu ve biyolojik olarak dejenerasyonun oluştuğunu ileri sürmüştür. Beyin nörokimyasal oksidasyon ve otooksidasyonun yüksek olduğu bir organdır. Belirli beyin bölgelerinde ortak özelliklere sahip noron populasyonlarının ölümü sonucunda nörodejeneratif hastalıklar ortaya çıkmaktadır (33,91).

Nörodejeneratif hastalıklar, farklı klinik fenotiplere ve genetik etyolojiye sahip bir grup heterojen hastalıktır. Bunlar arasında Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarla birlikte, epilepsi, Friedrich ataksisi, amiyotrofik lateral skleroz (ALS) yer almaktadır (8,9,33).

### **2.2.2. Divalent Metal Taşıyıcı 1**

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Parkinson hastalarının beyinde demir ve demir- bağlayıcı protein seviyelerinin arttığı belirtilmiştir. Demir taşınmasında yer alan en önemli proteinlerden biri olan Divalent metal taşıyıcı 1 (DMT1) doğal dirençle ilişkili makrofaj protein 2 (NRAMP2) ve iki değerlikli katyon taşıyıcı 1 (DCT1) olarak isimlendirilir ve insanlarda SLC11A2 gen tarafından kodlanan bir proteindir. (89).

Adından da anlaşılacağı gibi, DMT1 kadmiyum ( $Cd^{2+}$ ) ve bakır ( $Cu^{2+}$ ) da dahil olmak üzere iki değerlikli metal çeşitlerine bağlanır, ancak en çok ferröz demir ( $Fe^{2+}$ ) taşınmasında rolünün olduğu bilinmektedir; DMT1 demir homeostazını muhafaza

etmek için, vücut demir depoları tarafından düzenlenir. DMT1 manganezin ( $Mn^{2+}$ ) absorpsiyon ve taşımada önemlidir (35).

### **2.2.2.1. DMT1 Polimorfizmi**

#### **2.2.2.1.1. Polimorfizm**

Poli ve morfizmos kelimelerinden oluşan polimorfizm, eski Yunancada "çok şekillilik" anlamı taşıyan bir sözcüktür. Genetik polimorfizm, bir popülasyonda, farklı alellere bağlı olarak, genetik olarak belirlenmiş iki ya da daha çok alternatif fenotipin görülmesidir (17,44).

Başka bir deyişle bir toplumda sadece tekrarlayan mutasyonlarla sürdürülmeyecek oranlarda var olan, nadir sıklıktaki, süreklilik göstermeyen iki veya daha fazla genetik özelliğin birlikte oluşumu durumuna "polimorfizm" denilmektedir. Toplumun %1 veya daha fazlası nadir bir aleli taşıyorsa bu durum polimorfiktir. Polimorfizmler insan genetik araştırmalarında anahtar bir fonksiyon üstlenerek, genetik bir marker gibi görev yapmaktadır (17,44).

İnsan genomunun bütün bölgeleri boyunca DNA yapısında zararsız kalıtsal varyasyonlar vardır. Yani bir bireyin genomu her 100-200 nükleotidde 1-2 baz değişimi içermekte, fakat bu durum kişilerde önemli bir hastalığa yol açmamaktadır. İnsan genomundaki bu değişiklikler "polimorfizm" olarak nitelendirilmektedir (7,24,59).

Polimorfik dizi varyantları, genelde gen dizilerinin dışında kalan DNA bölgelerinde bulunduğu için herhangi bir hastalığa neden olmazlar ancak bazı hastalıklar ile paralellik gösterdikleri durumlarda insan genetik araştırmalarında anahtar bir fonksiyon üstlenerek, genetik bir marker gibi görev yapmaktadır (7,24,59).

Populasyonda %1 den daha fazla görülen genetik çeşitlilikler, polimorfizm olarak tanımlandığından; ABO kan grupları, *Rh* faktörü ve MHC (Büyük Doku Uygunluk Kompleksi) grupları polimorfizme örnek olarak verilebilir. DNA dizisindeki değişikliklerin belirlendiği farklı polimorfizmler bulunur (64).

**Protein polimorfizmi:** Monoklonal antikorlar ile proteinlerin farklı türlerinin tespitini amaçlayan, serolojik ve elektroforez ortamındaki normal ve mutant protein türlerinin farklılığını gösteren, bir kromozomun belli bir gen lokusunda bulunan ve insanlara göre değişkenlik gösteren nükleotid farklılıklarını gösteren, genelde sitozinin timinle yer değiştirmesi şeklinde meydana gelen polimorfizmlerdir (64).

**Tek baz (Single Nucleotide Polymorphism=SNP) polimorfizmi:** Genetik bir lokusta farklı alleller oluşturacak biçimde bir baz veya bazlarda meydana gelen nokta mutasyonlarının sebep olduğu polimorfizmlerdir (4).

**Kesim (Restriksiyon) enzimi parça uzunluk (Restriction fragment length polymorphism=RFLP) polimorfizmi;** DNA çipleri ve FISH tekniklerinin kullanıldığı genetik analizler sayesinde ortaya çıkan kopya sayısının kromozom dublikasyonları veya delesyonları aynı zamanda söz konusu olan dublike/delete kromozom bölgesindeki tüm gen setlerinin de dublikasyon/delesyonuna neden olan, kromozomdan bağımsız olarak gen duplikasyonu (gen amplifikasyonu=gen çoğalması) veya delesyonunu meydana getiren, DNA'yı restriksiyon enzimleri aracılığıyla keserek DNA'daki baz sırası farklılıklarının analiz edilmesini sağlar (64).

**Kopya sayısı değişimi (copy number variation=CNV) polimorfizmi:** 15-100 baz çifti (bç) uzunluğunda tekrarlayan dizilerden oluşan, genlerin içinde veya arasında olabilen değişimlerdir (64).

**Değişken sayılı bitişik tekrar (Variable Number of Tandem Repeat=VNTR) polimorfizmi;** Genom içinde 2-10 bç tekrarları arasında değişebilen adli olaylarda ve genom analizlerinde sıkça kullanılan polimorfizmlerdir (64).

**Kısa tekrar dizileri (Short Tandem Repeat Polymorphism=STR) polimorfizmi;** Genom içindeki 2, 3, veya 4 nükleotidlik ardışık tekrar dizilerinden en yaygın olanı dinükleotidler, mikrosatellitler ve STR (Short Tandem Repeat) dizileri olarak tanımlanır. İnsanlarda en yaygın mikrosatellit türü ikili "C ve A"nın "n" sayıda tekrarını içerir. Genellikle tekrar 2-10 bç tekrarları arasında değişir. Bu bölgeler kriminal incelemeler için kullanılır ve genom analizleri faydalı moleküler belirleyicilerdir (64).

DNA sekanslarında gözlenen bu değişiklikler çok çeşitli olabilir; bunlar tek bir nükleotiddeki değişiklikler (single nucleotide polymorphism, SNP) olabileceği gibi, pek çok baz çiftini etkileyen insersiyon ya da delesyonlar şeklinde de olabilir. Bu tip değişiklikler, genomun önemli bir bölümünü oluşturmalarına rağmen herhangi bir proteine dönüşmeyen intron kısımlarında veya genler arasındaki DNA parçalarında da meydana gelebilir. İnsan genomunda baz değişikliklerine oldukça sık rastlanmaktadır (95).

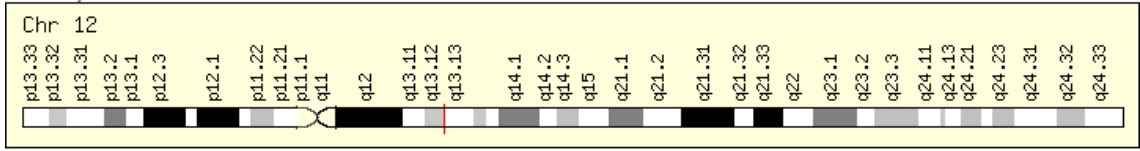
Bazılarına göre bu sıklık her 100 baz çiftinde bir olarak ortaya çıkmaktadır. En sık görülen değişiklikler tekrarlayan baz dizileridir. Bilindiği gibi insan genomunda birçok ardışık tekrarlayan DNA dizisi vardır ve bu tekrar dizilerinin sayısı bireylere göre değişmektedir (95). Bu güne kadar Parkinson hastalığının'da birçok gen, polimorfizm yönünden araştırılmış ve bazılarında önemli bulgular elde edilmiştir.

#### **2.2.2.1.2. DMT1 Polimorfizmi**

Postmortem Parkinson hastaların beyinlerindeki SN'de arttığı bulunan DMT1, demirin alımında ve endozomdan demir translokasyonundan sorumludur (74). Duodenum enterositlerinde (İnce bağırsak mukozasının epitelinde bulunan emme hücreleri) DMT1, diyetten alınan ve hem-olmayan demiri ( $Fe^{2+}$ ) tek yönlü olarak apeks membranından hücre içine taşımakla sorumludur. Divalent metal taşıyıcı protein ayrıca, hem enterositlerde ve hem de eritroid öncü maddelerinde, transferrine bağlanmayan

demiri (TBD) hücre membranlarının bir tarafından diğer tarafına taşımakla da ilgilidir (49).

Bu gen, insan kromozomunda 12q13' de yer almaktadır. NRAMP2 geninde (DMT1) 5 tek nükleotid polimorfizmi tesbit edilmiştir. Bunlardan biri DMT1 kodlama bölgesinde bulunan 1303 C/A'dır ve lösini izolösine dönüştürür. Diğeri aynı bölgede 1254 T/C olup fakat değişime neden olmaz. Kalan 3 polimorfizm DMT1'in intronlarındadır (IVS2 + 11A/G, IVS4 + 44C/A, ve IVS6 + 538G/G). (93) (Şekil 2.2. )



Şekil 2.2. DMT 1 genin kromozomal yerleşimi (93).

Bizim çalışmamızın da amacı, Parkinson Hastalarında Divalent Metal Transporter 1 (DMT1) genine ait 1254T/C ve IVS4 + 44C/A polimorfizmlerinin hastalık ile arasındaki ilişkileri araştırmaktadır.



### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

##### **3.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri**

Bu çalışma, 2012/13 sayılı ve 07.03.2012 tarihli etik kurul kararı ile onayı alınan ve 2012 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Nöroloji polikliniğine başvuran Parkinson tanısı konulmuş 97 hasta ve 100 sağlıklı birey ile gerçekleştirildi.

##### **Çalışmamız şu aşamalardan oluşmuştur:**

- 1- Parkinson hastası ve sağlıklı kontrollerin periferal arterlerinden EDTA'lı tüpe 10 ml kan alınması
- 2- Kandan genomik DNA izolasyonu
- 3- DNA'nın miktar ve kalitesinin Mikro Ölçekli Spektrofometre ile ölçülmesi
- 4- İzole edilen DNA'dan 1254T/C ve IVS4 + 44C/A gen bölgelerinin PCR'da çoğaltılması
- 5- Elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezine tabi tutulması ve UV translüminatörde görüntülenmesi
- 6- 1254T/C ve IVS4 + 44C/A gen bölgelerinin uygun restriksiyon enzimleriyle kesimi
- 7- Elde edilen kesim ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi ve UV translüminatörde görüntülenmesi
- 8- Çekilen jel görüntülerinden faydalanılarak genotiplerin belirlenmesi ve istatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesi.

### **3.1.2. Kullanılan cihaz ve gereçler**

1. Buzdolabı (bosch)
2. Soğutmalı santrifüj (Scanspeed 1580 R)
3. Derin Dondurucu (-20°C)
4. Su banyosu (GFL)
5. pH Metre (Inolab)
6. Hassas terazi (Presica 125 A)
7. Isıtıcılı Manyetik karıştırıcı (Isolab)
8. Vorteks (IKA- MS2 minishaker)
9. Mikro dalga fırın (Arçelik MD 55 I)
10. Elektroforez için güç kaynağı (Bio-Rad power Pac- 3000)
11. PCR cihazı (RunikThermal cycler)(Sacem)
12. Mikro Ölçekli Spektrofometre (ATCGene ASP-3700)
13. Otomatik pipet seti (Bio Hit)
14. UV translüminatör (Syngene Ependörf tüpü)
15. Buz Makinesi (Hoshizaki FM- 120 DE)
16. Çeker Ocak

### **3.1.3. Kullanılan malzeme ve kimyasal maddeler**

1. 2-Propanol
2. Agarose
3. Borik asit
4. Cam Deney Tüpü
5. EDTA
6. EDTA'lı vacutainer tüp (10 ml)
7. Eldiven (Steril ameliyat eldiveni)
8. Ethidium bromide
9. HCl
10. Loading buffer

11. Marker
12. Master Mix PCR için
13. Mikropipet ucu (Silikonlu 1 ml)
14. Mikropipet ucu (Silikonlu 10 µl)
15. Mikropipet ucu (Silikonlu 100 µl)
16. Moleküler weight marker (1 kb)
17. NaCl
18. NaOH
19. Pastör pipeti
20. Polipropilen kapaklı tüp (0.2 ml)
21. Polipropilen kapaklı tüp (1.5 ml)
22. Polipropilen kapaklı tüp (50 ml)
23. Primer
24. Proteinaz K
25. Sodyum dodasil sülfat
26. Tris EDTA
27. Tris HCl
28. Trizma base

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. DNA izolasyonu**

#### **3.2.1.1. Tuz yöntemiyle DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler**

##### **Lysis Buffer (RCL= red cell lysis )**

- 2 M'lık Tris HCl'den 10 ml alınıp 5ml 1 M'lık MgCl ile karıştırıldı.
- Distile su ile 1000 ml.'ye tamamlandı.

- Manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.

### **2 M Tris HCl**

- 315,2 gr Tris HCl tartıldı. Bir mezür içine alınıp üzeri distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Tris HCl pH =7.5'e (1M'lık NaOH veya 0.1M'lık HCl ile ) ayarlandı.

### **1 M MgCl<sub>2</sub>**

- 95.3gr MgCl<sub>2</sub> tartıldı. Bir mezür içine alınıp üzeri distile su ile 1000ml'ye tamamlandı.

### **0.1 M'lık HCl**

- %37'lik HCl'den 8.28 ml alındı, distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

### **1 M'lık NaOH**

- 40 gr. NaOH tartılır üzeri bir mezür içerisinde distile su ile 1000 ml.'ye tamamlandı.

### **Sodyum EDTA (SE)**

- Bir mezür içine 25 ml 3 M'lık NaCl ile 50 ml 0.5 M'lık EDTA kondu.
- Üzeri distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

### **3 M NaCl**

- 175.32 gr NaCl tartıldı. Bir mezürde üzeri distile su ile 1000 ml' ye tamamlandı.

### **0.5 M EDTA**

- 186.1 gr EDTA tartıldı. Bir mezür içinde distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
- Mekanik karıştırıcıda karıştırılarak pH= 8' e ayarlandı.

### **Sodyum Klorür ( 5M NaCl )**

- 292.2 gr. NaCl tartıldı, bir mezür içinde distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
- Manyetik karıştırıcıda çözündürüldü.

### **% 10 Sodyum Dodasil Sülfat ( SDS ) Çözeltisi**

- Sodyum dodasil sülfattan 10 gr alınıp üzeri distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
- Manyetik karıştırıcıda ısıtılarak karıştırıldı.
- pH=7.2'e ayarlandı (pH 1M NaOH ile ayarlandı).
- 0.22 µ'luk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

### **Proteinaz K çözeltisi**

- 50 µl 2M'lık Tris HCl (pH=7.5) ile 10 ml distile su karışımı kullanılarak 10 mg/ml proteinaz K hazırlandı.

### **Propanol**

- Konsantre propanol

### **% 70'lik Etil alkol (Etanol)**

- %96'lık alkolden 100ml alınıp ve üzerine 39.4 ml distile su kondu.

### **Tris EDTA (TE)**

- Stok Tris EDTA'dan 1ml alınıp üzeri distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

### **3.2.1.2. Tuz yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu (59)**

- Çalışma grubu bireylerinden EDTA'lı tüplere 10 ml kan alınıp buz dolabında (+4 °C) bir gece bekletildi.
- Pastör pipeti ile üstte kalan sıvı (plazma) alındı. Geride kalan kısmı polipropilen kapaklı tüpe boşaltılarak üzeri lizis buffer ile 50 ml'ye tamamlandı. 15 dak. buz üzerinde tutuldu.
- 2000 rpm ve +4<sup>0</sup>C'de 15 dak. santrifüj edildi. Süpernatant döküldü ve dipte kalan pelletin üzerine 20 ml lizis buffer ilave edildi.
- 2000 rpm ve +4<sup>0</sup>C 'de 15 dak. santrifüj edildi ve süpernatant döküldü.
- Dibinde pellet olan tüplere 5 ml sodyum EDTA (SE) , 500µl %10'luk sodyum dodesil sülfat (SDS) ve 100 µl proteinaz K ilave edilip vortekslendi.
- 37<sup>0</sup>C'lik su banyosunda 1 gece inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası tüplere 2 ml sodyum klorür (NaCl) kondu ve elle iyice köpürene kadar karıştırıldı.
- 3500 rpm ve +4<sup>0</sup>C 'de 20 dak. santrifüj edildi.
- Santrifüjden sonraki süpernatant başka bir polypropilen kapaklı tüpe boşaltılarak aynı koşullarda santrifüj edildi.

- Santrifüjden sonra süpernatant tekrar başka bir polypropilen kapaklı tüpe aktarıldı ve tüpte bulunan hacim kadar 2- propanol ilave edildi. Böylece DNA gözle görülür hale getirildi.
- Bir çubuk yardımıyla tüp içerisinden alınan DNA, %70'lik alkol içerisinde yıkanarak ependorf tüpüne kondu. Kurutmak amacı ile tüpün ağzı açık bırakıldı.
- Alkolü uçarak kuruyan DNA üzerine DNA miktarına göre 100-500 µl TRIS-EDTA (TE) kondu.
- 50 °C'lik su banyosunda 1 gece inkübe edildi.
- TRIS-EDTA içinde homojen hale gelen DNA, +4 °C'de saklandı.

### **3.2.1.3. İzole edilen DNA miktarının ölçümü**

Mikro ölçekli spektrofometre (ATCGene ASP-3700) ile yapıldı. İzole edilen DNA örneklerinde DNA saflık düzeyi belirlenmeden önce, TBE buffer solüsyonu kör olarak kullanıldı. Daha sonra DNA örneklerinden 1µl alınarak köre karşı okundu.

260nm ve 280nm dalga boylarında ölçülen DNA örneklerinde, 260/280 oranlaması yapıldığında 1.5 ve üzeri sonuca sahip DNA örneklerinin saf olarak elde edildiğini göstermektedir.

### **3.2.2. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR İle Amplifikasyonu**

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction:PCR) dizisi bilinen iki bölge arasında uzanan bir DNA parçasının çoğaltılması için uygulanan bir tekniktir. İki oligonükleotid, bir DNA polimeraz tarafından katalizlenen bir seri tepkimenin primerleri olarak kullanılır. Bu oligonükleotidler tipik olarak farklı farklı dizilere sahiptir ve kalıp DNA'nın karşı dizilerinde uzanan ve çoğaltılacak olan DNA'nın parçası yanında bulunan dizilere komplementerdir. PCR amplifikasyon ve şartları aşağıda belirtilen şekilde belirlenmiştir.

### **3.2.2.1. Kullanılan Çözeltiler**

#### **Master miks**

PCR karışımı için içinde Taq polimeraz, dNTP karışı ve uygun tampon çözeltiler bulunan PCR master miks kullanıldı. Mastermix içeriği şu şekildedir; 20 mM Tris-HCl (ph 8,9), 1.8 mM MgCl<sub>2</sub>, 22 nM NH<sub>4</sub>Cl, 22 mM KCl, 0,2 mM dNTPs (dATP, dCTP, dGTP ,dNTP, dTTP), %5lik gliserol, %0,06 IGEPAL CA-630, %0,05 Tween 20, Xylene Cyanol FF, Tartrazine, 25 ünit/ml One Taq DNA polimeraz.

#### **Primer**

Liyofilize olan primerler 100 µl distile su ile çözüldürüldü. Hazırlanan bu primer çözeltisi stok çözelti olarak kullanıldı. Daha sonra bu stok çözeltiden 10 µl alınarak üzeri su ile tamamlandı. Tüm tez çalışması boyunca hem kontroller hem de Parkinson hastalarının genomik DNA'larının 1254T/C ve IVs4+44C/A gen bölgelerinin çoğaltılması için aşağıdaki primer dizileri kullanılmıştır.

#### **1254T/C GEN BÖLGESİ İÇİN KULLANILAN PRİMERLER**

1254T/C gen polimorfizmlerinin allellerinin tespiti için 1254T/C Forward Primer: 5'-CTT TGC CCG AGT GGT TCTGAC TCG CTC GAT-3' ve 1254T/C Reverse Primer : 5' -TTC CTC TCA ATA TCC CCC-3' kullanılmıştır.



## IVs4+44C/A GEN BÖLGESİ İÇİN KULLANILAN PRİMERLER

Tüm deneklerin IVs4+44C/A polimorfizmlerini belirlemek için IVs4+44C/A Forward Primer: 5'-GAC ACA TGC AAT ATC TGACAT TG- 3' ve IVs4+44C/A Reverse Primer: 5' -AGG CTA CTA TCC AAC ATG CAG-3' kullanılmıştır.

### 3.2.2.2. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR İle Amplifikasyonu

Araştırma grubu bireylerinden elde edilen DNA örneklerinin PCR ile amplifikasyonu için 50 µl lik karışım hazırlanmıştır.

Forward Primer	2 µl
Reverse Primer	2 µl
Master Mix	25 µl
H <sub>2</sub> O	19 µl
DNA	2 µl
Toplam	50 µl

### 3.2.2.3. 1254t/C Ve Ivs4+44c/A Gen Bölgesi İçin Kullanılan Amplifikasyon Şartları (74)

Her bir gen bölgesi için uygun PCR kondisyonu aşağıda verilmiştir:

PCR Aşamaları	Sıcaklık (°C)	Süre	
Predenatürasyon	95	3 dk.	
Denatürasyon	95	1 dk	
Annealing	59	30 s.	30
Uzama	72	30 s.	döngü
Final uzama	72	3 dk	
+4 °C de bekleme olmak üzere amplifikasyon şartları düzenlendi.			

### **3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi**

PCR sonrası oluşan ürünlerin incelenmesi için % 2 lik agaroz jeli hazırlandı ve örnekler agaroz jel elektroforezi yöntemine tabi tutuldu.

#### **3.2.3.1. Agaroz Jel Elektroforezi Çözeltileri**

##### **Etidyum bromid (1 mg/ml)**

- Etidyum bromidden 1 mg/ml olacak şekilde distile su ile hazırlandı.

##### **10 X Tris borat EDTA (TBE) buffer**

- Bir mezür içine 108 g tris base, 50 g borik asit ve 40 ml 0.5 M EDTA (pH=8) kondu.
- Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
- Manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.

##### **%2 lik agaroz jelin hazırlanması**

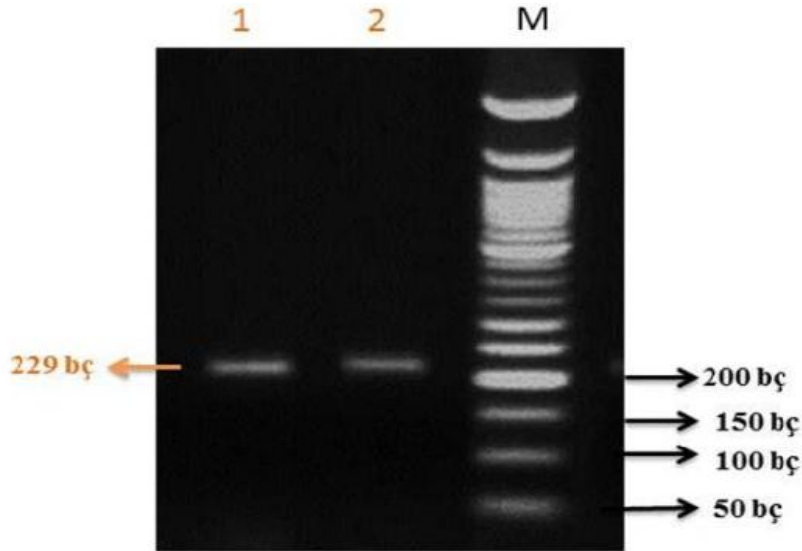
- 1,6 gr agaroz tartılıp bir beher içerisinde TBE buffer ile 80 ml ye tamamlandı.
- Mikrodalga fırında kaynatıldı.
- Yaklaşık 60 dereceye kadar soğutulduktan sonra üzerine 4 µl etidium bromid konup karıştırıldı.
- Elektroforez başlamadan önce tank, taraklar ve jel yatağı temizlendi.
- Tarak ve jel küveti tanka yerleştirildi. Hazırlanan jel küvete döküldü.
- Jel donduktan sonra üzeri 1XTBE Buffer ile dolduruldu.

- 14 µl PCR ürünü alınıp jeldeki kuyucuklara yüklendi (her jelin bir kuyusuna marker yüklendi).
- Yükleme işlemi bittikten sonra elektrotlar yerleştirilerek 100 voltta yürütüldü.
- Elektroforez tamamlandıktan sonra jel, CCD kamera altında incelenerek fotoğrafı çekildi.

### 3.2.3.2. Jelin CCD Kamera ile Değerlendirilmesi

#### 1254T/C gen bölgesi

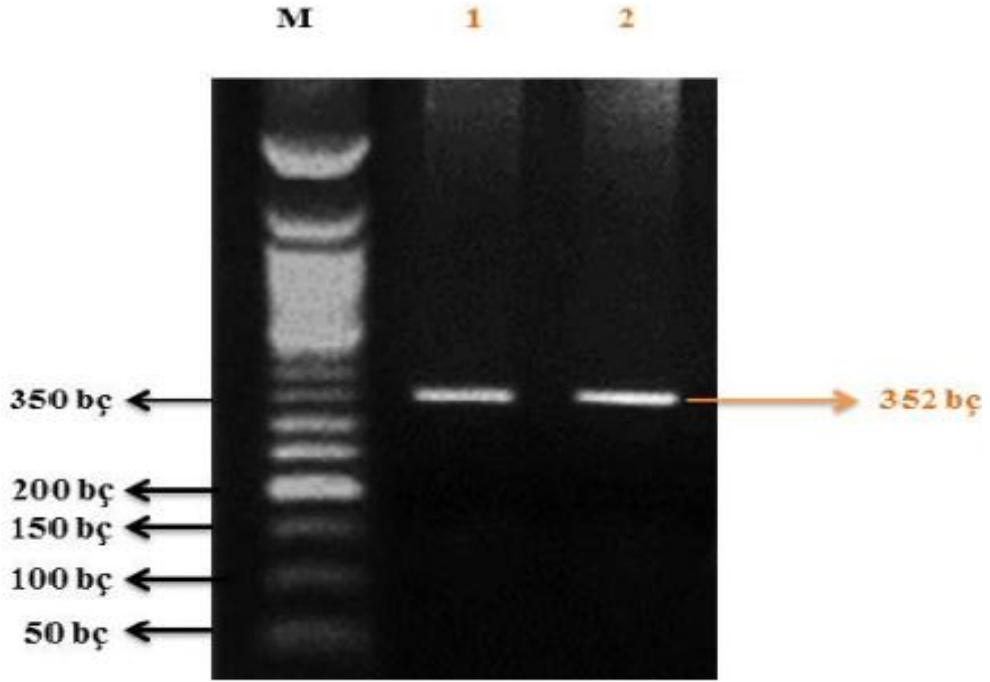
Araştırmaya dahil edilen her bir örnek’de 1254T/C gen bölgesi için 229 bç bandı tanımlayıcı olarak belirlendi. Buna göre Şekil 3.1’de görüldüğü gibi PCR sonucu tüm hasta ve kontrol gruplarında 229 bç bandının görülmüş olması amplifikasyonun doğru olduğunu göstermektedir.



Şekil 3.1. 1254T/C gen bölgesi için 229 bç bandı PCR ürünleri.(1 ve 2. Kuyucuklar hasta 3.kuyucuk marker)

#### IVs4+44C/A gen bölgesi

Araştırmaya dahil edilen herbir örnek’de IVs4+44C/A gen bölgesi için 352 bç bandı tanımlayıcı olarak belirlendi. Buna göre Şekil 3.2’de görüldüğü gibi PCR sonucu tüm hasta ve kontrol gruplarında 352 bç bandının görülmüş olması amplifikasyonun doğru olduğunu göstermektedir.



**Şekil 3.2.** IVs4+44C/A gen bölgesi için 352 bç bandı PCR ürünleri.

#### 3.2.4. Restriksiyon Enzimleri İle Kesim

Uygun PCR şartlarında çoğaltılıp jelde çalıştığı ispat edilen 1254T/C gen bölgesi PCR ürünleri 16 saat 37°C’de MboI restriksiyon enzimi ile ve IVs4+44C/A gen bölgesi 37°C’de MnlI restriksiyon enzimi ile 16 saat aşağıda belirtilen şartlara göre kesime tabi tutulmuştur.

1254T/C gen bölgesinin Restriksiyon Enzimi kesimi için hazırlanan tek örneklik kesim şartları ve miktarları aşağıdaki gibidir.

<b>Malzeme Adı</b>	<b>Miktarı (µl)</b>
Buffer	2
MboI	0.25
Su	2
PCR ürünü	15

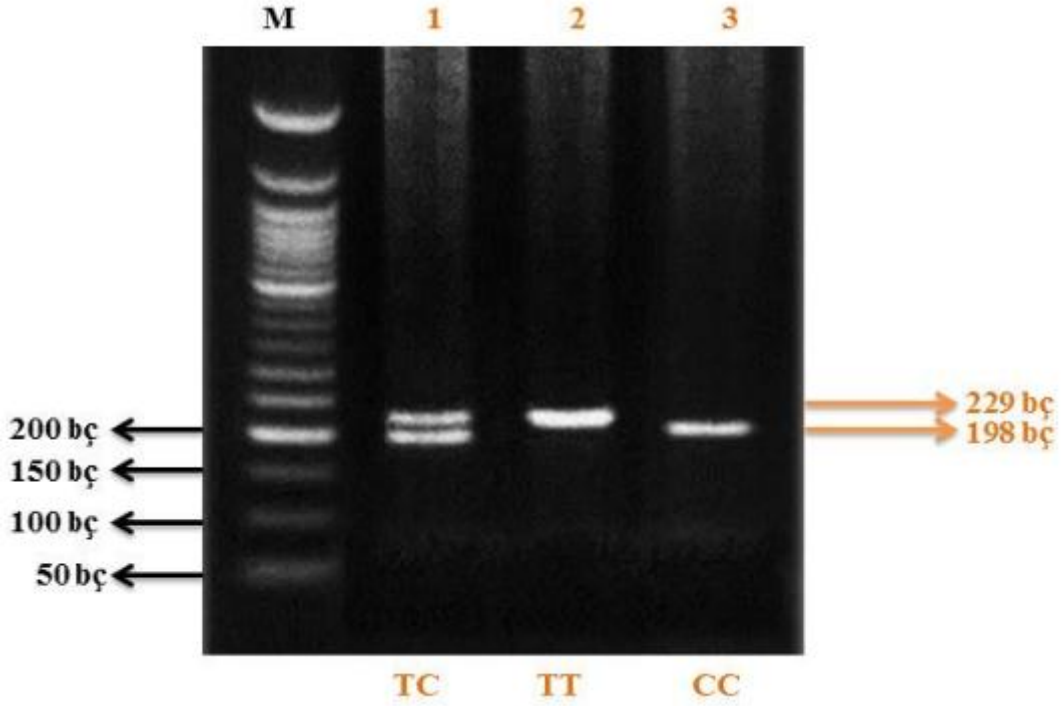
IVs4+44C/A gen bölgesinin Restriksiyon Enzimi kesimi için hazırlanan tek örneklik kesim şartları ve miktarları aşağıdaki gibidir.

<b>Malzeme Adı</b>	<b>Miktarı (µl)</b>
Buffer	2
MnII	0.2
BSA	0.2
Su	2
PCR ürünü	15

#### **3.2.4.1. Jelin CCD Kamera ile Değerlendirilmesi**

##### **1254T/C gen bölgesi**

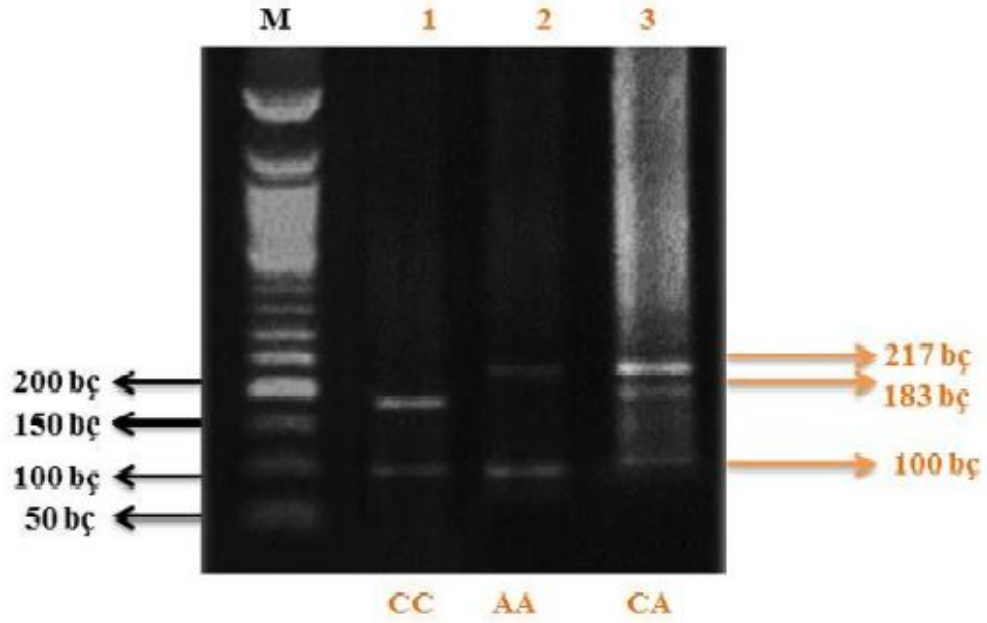
MboI enzimi ile kesilen 1254T/C gen bölgesinde T aleli var ise 229 bç bandı ve eğer C aleli var ise 198 ve 31 bç'lik bantlar görünecektir. Heterozigot olanlarda ise 229 bç, 198 bç ve 31 bç'lik bantların görülmesi gerekmektedir. Buna göre Şekil 3.3'de gözlenen bantların durumuna göre; 1.örneğin heterozigot (TC genotipi veya T ve C alelleri taşımaktadır.), 2.örneğin homozigot TT genotipi (İki adet T aleli taşımaktadır), ve 3. örneğin ise homozigot CC (iki adet C aleli taşımaktadır) genotiplerine sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 3.3. MboI enzimi ile kesilen 1254T/C gen bölgesi

### IVs4+44C/A gen bölgesi

MnII enzimi ile kesilen IVs4+44C/A gen bölgesinde A aleli var ise 217, 100 ve 35 bç bantları ve eğer C aleli var ise 183, 100, 35 ve 34 bç bantları gözükcektir. Heterozigot olanlarda ise 217 bç, 183 bç 100, 34 ve 35 bç 'lik bantların görülmesi gerekmektedir. Buna göre Şekil 3.4'de gözlenen bantın durumuna göre; 1.örneğin homozigot CC (iki adet C aleli taşımaktadır), 2.örneğin homozigot AA genotipi (İki adet A aleli taşımaktadır), ve 3.örneğin heterozigot ise CA (CA genotipi veya C ve A alelleri) genotiplerine sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 3.4. MnlI enzimi ile kesilen IVs4+44C/A gen bölgesi

### 3.2.5. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Her iki bölge için hasta ve kontrollerde cinsiyet, genotip ve alel dağılımı Pearson Ki-Kare analizi ile değerlendirildi. Hasta ve kontrollerde yaşların karşılaştırılması bağımsız örneklerde t testi ile değerlendirildi. Genotip ve alellerin ODDS oranları ikili lojistik regresyon analizi ile hesaplandı.  $P < 0,05$  değeri anlamlı kabul edildi. Tüm analizler IBM SPSS Statistics 20 programı kullanılarak gerçekleştirildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamıza dahil ettiğimiz 97 hasta ve 100 kontrol bireyin 1254T/C polimorfizmini belirleyebilmek için ilgili bölge PCR ile çoğaltıldı ve amplifiye olan örnekler *MboI* enzimi kullanılarak enzim kesimi gerçekleştirildi. Çalışma sonucunda, Tablo 4.1'de de görüldüğü gibi 97 Parkinson hastasından oluşan grupta 1254T/C polimorfizmi açısından, 138 adet T aleli (%71,1) ve 56 adet C aleli (%28,9) olduğu tesbit edildi. 100 Kontrol grubunda ise 118 adet T aleli (%59,0) görülürken, 82 adet C aleli (%41,0) tesbit edilemedi. Hasta ve kontrol grubu alel frekansı açısından istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık tesbit edilmiştir ( $p=0,012$ ).

Genotipler açısından değerlendirildiğinde, 97 Parkinson hastasının 60'ı (%61,9) TT genotipi, 19'u (%19,6) CC genotipi ve 18'i (%18,6) TC heterozigot olarak belirlenmiş, kontrol grubunun ise 39'u (%39,0) TT genotipi, 21'i (%21,0) CC genotipi ve 40'ı (%40,0) TC heterozigot olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubu genotip frekansı açısından istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık tesbit edilmiştir ( $p=0,002$ ).

IVs4+44C/A polimorfizmini belirleyebilmek için 97 hasta ve 97 kontrol bireyin ilgili bölge PCR ile çoğaltıldı ve amplifiye olan örnekler *MnII* enzimi kullanılarak amplifikasyonun üzerinden enzim kesimi gerçekleştirildi. Çalışma sonucunda, 97 Parkinson hastasından oluşan grupta IVs4+44C/A polimorfizmi açısından, Tablo 4.1'de de görüldüğü gibi 108 adet C aleli (%55,7) ve 86 adet A aleli (%42,5) olduğu tesbit edildi. Kontrol grubunda ise 115 adet C aleli (%59,3) görülürken ve 79 adet A aleli (%40,7) tesbit edildi. Hasta grubu alel frekansı açısından istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık tesbit edilmemiştir ( $p=0,472$ ). Kontrol grubu ile alel frekans arasında ise bir anlamlı bir fark bulunamamıştır.

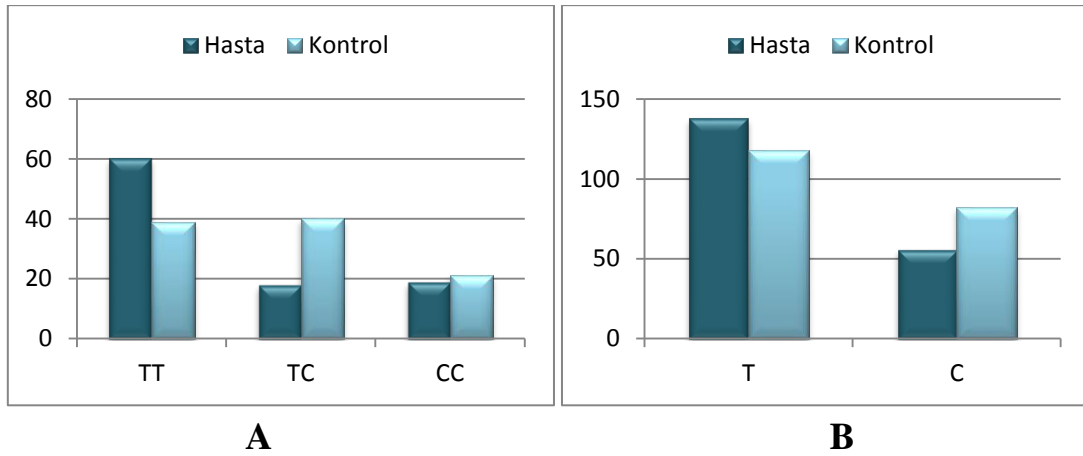
Genotipler açısından değerlendirildiğinde, 97 Parkinson hastasının 46'sı (%47,4) CC genotipi, 35'i (%36,1) AA genotipi ve 16'sı da (%16,5) CA heterozigot olarak belirlenmiş, kontrol grubunun ise 51'i (%52,6) CC genotipi, 33'ü (%34,0) AA genotipi



ve 13'ü (%13,4) CA heterozigot olarak tesbit edilmiştir. Hasta ve kontrol grubu genotip frekansı açısından istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık tesbit edilmemiştir ( $p=0,731$ ) (Tablo 4.1) (Şekil 4.1).

**Tablo 4.1.** 1254T/C ve IVS4+44C/A polimorfizmi genotip ve alel frekansları

GENOTİP						ALEL		
<b>1254T/C</b>	<b>N</b>	<b>TT(%)</b>	<b>TC(%)</b>	<b>CC(%)</b>	<b>P</b>	<b>T(%)</b>	<b>C(%)</b>	<b>P</b>
<b>KONTROL</b>	100	39(%39,0)	40(%40,0)	21(%21,0)	,002	118(%59,0)	82(%41,0)	,012
<b>PARKİNSON</b>	97	60(%61,9)	18(%18,6)	19(%19,6)		138(%71,1)	56(%28,9)	
<b>IVS4+44C/A</b>	<b>N</b>	<b>CC(%)</b>	<b>CA(%)</b>	<b>AA(%)</b>	<b>P</b>	<b>C(%)</b>	<b>A(%)</b>	<b>P</b>
<b>KONTROL</b>	97	51(%52,6)	13(%13,4)	33(%34,0)	,731	115(%59,3)	79(%40,7)	,472
<b>PARKİNSON</b>	97	46(%47,4)	16(%16,5)	35(%36,1)		108(%55,7)	86(%44,3)	

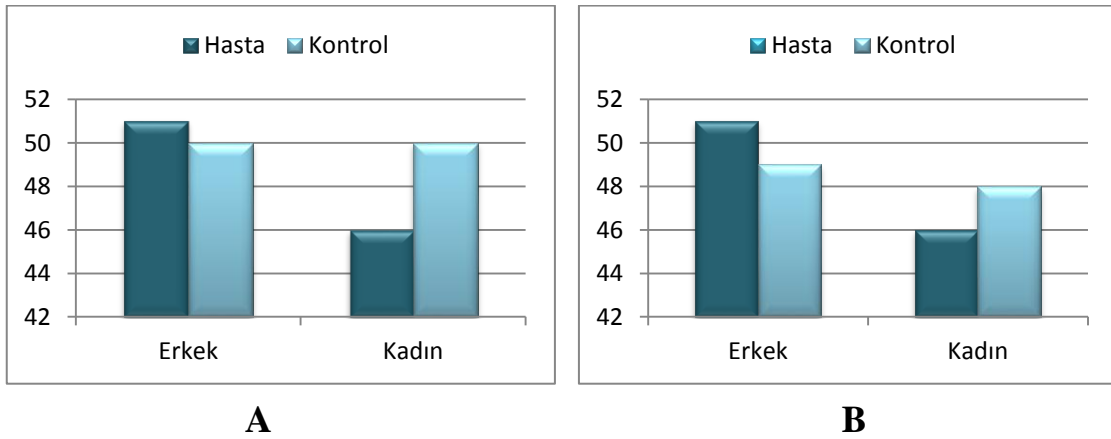


**Şekil 4.1:** 1254T/C ve IVS4+44C/A polimorfizmi genotip (A) ve alel frekansları (B) grafiği

1254T/C ve IVS4+44C/A polimorfizmi için Parkinson ve sağlıklı kontrol grubunda cinsiyet dağılımı yüzdeleri Tablo 2’de ve Şekil. 7’de görüldüğü gibidir. Buna göre, erkek ve kadın hasta ve kontrol dağılımı istatistiksel olarak homojen bir dağılıma sahiptir (Tablo 4.2) (Şekil 4.2).

**Tablo 4. 2.** 1254T/C ve IVS4+44C/A polimorfizmi için cinsiyet dağılımı

CİNSİYET			
1254T/C	ERKEK	KADIN	P
KONTROL	50	50	
PARKİNSON	51	46	,717
IVS4+44C/A	ERKEK	KADIN	P
KONTROL	49	48	
PARKİNSON	51	46	,774



**Şekil 4.2.** 1254T/C (A) ve IVS4+44C/A (B) polimorfizmi cinsiyet dağılımı grafiği

1254T/C ve IVS4+44C/A polimorfizmi için Parkinson ve sağlıklı kontrol grubunda yaş dağılımı oranları Tablo 4.3’de görüldüğü gibidir. Buna göre, hasta ve kontrol grubu bireylerin yaş dağılımlarının istatistiksel olarak homojen bir dağılıma sahip olduğu görülmektedir ( Tablo 4.3).

**Tablo 4. 3.** 1254T/C ve IVS4+44C/A polimorfizmi için yaş dağılımı

YAŞ					
1254T/C	N	Ortalama	St. Sapma	St. Hata	P
KONTROL	100	64,9500	15,08988	1,50899	,521
PARKİNSON	97	63,7216	11,51244	1,16891	
IVS4+44C/A	N	Ortalama	St. Sapma	St. Hata	P
KONTROL	97	64,8247	14,92970	1,51588	,565
PARKİNSON	97	63,7216	11,51244	1,16891	

Alelleri ile hastalık arasında risk olup olmadığını belirlemek amacıyla risk analizi yapılmış olup, buna göre 1254T/C polimorfizmine bakıldığında; C aleli frekansının hasta ve kontrol grubu açısından T aleli ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmemiştir (OR=0,899). IVS4+44C/A polimorfizmine bakıldığında ise; A aleli frekansı hasta ve kontrol grubu açısından C aleli ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (OR=1,104) (Tablo 4.4).

**Tablo 4.4.** Alele göre hastalık riski

HASTALIK RİSKİ (alel)					
1254T/C	Wald	P	OR	Alt limit	Üst limit
C/T	,089	,765	,899	,448	1,806
IVS4+44C/A	Wald	P	OR	Alt limit	Üst limit
A/C	,107	,744	1,104	,611	1,994

Genotipler açısından risk faktörleri değerlendirildiğinde, 1254T/C polimorfizmi için TC ve CC genotip frekansı hasta ve kontrol grubu açısından TT ile karşılaştırıldığında (OR=0,292) (OR=0,577) istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1254T/C polimorfizmi’de ise CA ve AA genotip frekansı hasta ve kontrol grubu açısından CC ile karşılaştırıldığında (OR=1,378) (OR=1,181) istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. (Tablo 4. 5).

**Tablo 4. 5.** Genotipe göre hastalık riski

HASTALIK RİSKİ (genotip)					
<b>1254T/C</b>	<b>Wald</b>	<b>P</b>	<b>OR</b>	<b>Alt limit</b>	<b>Üst limit</b>
TC/TT	12,253	,000	,292	,147	,582
CC/TT	2,100	,147	,577	,275	1,214
<b>IVS4+44C/A</b>	<b>Wald</b>	<b>P</b>	<b>OR</b>	<b>Alt limit</b>	<b>Üst limit</b>
CA/CC	,566	,452	1,378	,597	3,180
AA/CC	,275	,600	1,181	,634	2,198

## 5. TARTIŞMA

Parkinson Hastalığı (PH) Alzheimer hastalığından sonra görülen ikinci en yaygın nörodejeneratif hastalık ve en sık görülen hareket bozukluğudur. PH'nın görülme sıklığı 65 yaş üzeri toplum kesiminde %1'dir. Yaş ile birlikte sıklığında artış görülmesi PH'nın yaşlanma ile doğrudan ilişkili bir hastalık olduğu gerçeğini ortaya koymaktadır. İlerleyici bir hastalık olan PH, klinik olarak istirahat tremoru, bradikinezi, kaslarda sertlik (rijidite) ve durussal (postural) dengesizlik ile karakterize edilebilir (16).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Parkinson hastaların beyinde demir ve demir-bağlayıcı protein seviyelerinin arttığı belirtilmiştir. Demir taşınmasında yer alan en önemli proteinlerden biri Divalent metal taşıyıcı 1 (DMT1) dir (6).

Hélène Blasco ve arkadaşları 2011 yılında Amyotrofik lateral skleroz ile SLC11A2 (DMT1) polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırarak bu polimorfizmi 579 Fransız hastada ve 517 sağlıklı kişide DNA dizi analizi ile incelemişlerdir. Amyotrofik lateral skleroz hastalarında SLC11A2 C allelinin (rs407135), kısa hastalık süresi ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (11).

Yapılan bir çalışmada, DMT1 geninde meydana gelen bir mutasyonun, DMT1 proteininin katlanmasını, glikozilasyonunu, stabilitesini ve taşıma aktivitesini etkileyerek DMT1 proteininde fonksiyonel bir bozukluğa neden olabileceği belirtilmiştir (74).

Julio Salazar ve arkadaşları, 2008 yılında, 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin ile indüklenen fare modeli (MPTP) kullanarak, DMT1'in farelerde ventral mezensefalon içinde arttığını göstermişler ve Divalent metal taşıyıcı 1 (DMT1) genindeki mutasyonlar, Parkinson indükleyici nörotoksinlere karşı koruyucu bir etki yaparak Parkinson hastalığının oluşumuna engel olabildiği belirtilmektedir (77).

Fleming ve arkadaşları 1997'de bağırsak demir emiliminde ve kırmızı kan hücresinin demir kullanımında sorunları olan fare ve sıçanların DMT1 genindeki bazı mutasyonlar olduğunu tespit etmişlerdir (29).

Hyun-pil Lee ve arkadaşları 2010 yılında demir birikimi ve DMT1'in, Parkinson hastalığı üzerindeki etkisini araştırmışlar ve çalışma sonucunda DMT1'in Parkinson hastalığında önemli bir faktör olabileceğini ileri sürmüşlerdir (48).

Shannon L. Rhodes ve Beate Ritz 2008 yılında demir düzeylerinin Parkinson hastalığında olası rolünü araştırmak için yaptıkları çalışmada Parkinson hastaların beyinlerinde demir birikiminin hastalığın seyrinde olası bir risk olabileceğini belirtmişlerdir (80).

Yapılan bir diğer çalışmada Parkinson hastalığının patogenezinde demir birikiminin önemli olduğu ve periferik demir yoğunluğunun SN'de demir seviyesini yükselterek dopaminerjik nöron dejenerasyonuna neden olabileceği belirtilmiştir (74).

Jamieson ve arkadaşları 2005 yılında SLC11A1 ve SLC11A2 genindeki 7 polimorfizmi araştırmışlar ve Alzheimer hastalığında SLC11A2'deki rs407135 nolu SNP ile allelik ilişki bulmuşlardır (97).

Zheng ve arkadaşları 2009 yılında Parkinson gibi nörodejenaratif bir hastalık olan Alzheimer hastalığının transgenik fare modelinde (APP/PS1), korteks ve hippocampusta DMT1-IRE ve non-IRE seviyelerinin kontrollere göre arttığını bulmuşlardır. DMT1'in Alzheimer hastalığında iyon düzenlenmiş nöropatojeneziste kritik bir role sahip olduğunu ve DMT1'in farmakolojik olarak bloklanmasının bu hastalığa karşı yeni tedavi stratejileri sağlayabileceğini belirtmişlerdir (50).

Zhu ve arkadaşlarının 2012'de yaptıkları bir çalışmada, beyinde yüksek demir içeriğinin özellikle gelişim sırasında gerekli olduğu fakat yüksek miktarda demir bulunmasının beyin hücrelerinde hasara sebep olduğu ve bunun sonucunda demir

iyonlarının serbest oksijen radikallerinin üretilmesi yoluyla oksidatif stresi başlattığı belirtilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada demir birikiminin nöronal toksisiteyi tetikleyerek, nöronal hücre ölümü ve aksonal dejenerasyona sebep olduğu ve bu nedenle de demir akümüülasyonunun yetişkin bireylerde nörodejenerasyona neden olduğu belirtilmiştir. Buna bağlı olarak sıçanlarla Pb ye maruz bırakılmanın beyinde demir birikimi ile ilişkinin belirlenmesi ile ilgili olarak yaptıkları çalışmada; Pb' nin yaşlı sıçan beyinlerinde demir miktarını arttırdığı, bu artışın DMT1 ile ilişkili olmayıp, FP1 ekspresyonundaki azalma ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (11).

Hansen ve arkadaşları 2012 yılında reaktif oksijen türleri (ROS), inflamatuvar ve aşırı demir yüklenmesinin görüldüğü hastalıklarda hedef hücre hasarına katkıda bulunduğunu belirterek, proinflamatuvar sitokin IL-1 $\beta$ ' nin artan pankreatik  $\beta$  hücre demir içeriği ve ROS üretimi ile ilişkili olarak divalent metel transporter 1 (DMT1) ekspresyonunu arttırdığını bildirmişlerdir (43).

Qing H ve arkadaşları 2011 yılında 192 parkinson hastası ve 193 sağlıklı kişinin DMT1 genine ait 1254T/C, 1303C/A ve IVS4+44C/A bölgelerin polimorfizmini araştırmışlar ve araştırma sonucunda Çin popülasyonunda, CC haplotipinin Parkinson hastalığında bir risk faktörü olabileceğini ön görmüşlerdir (74).

Bizim çalışmamızda ise, 1254T/C polimorfizmi TT genotipi ile Parkinson hastalığı arasında bir ilişki tespit edilirken IVS4+44C/A polimorfizmi genotipleri ile hastalık arasında bir ilişki tespit edilememiştir. Ülkemizde çalıştığımız polimorfizmlerle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Qing H ve arkadaşları Çinli hastalarda ve H  l  ne Blasco ve arkadaşları (2011)'nin Fransız hastalarla yaptıkları polimorfim çalışmalarında CC genotipi ile hastalık arasında bir ilişkinin olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim bulgularımız, bu çalışmaların aksine, TT genotipi ile hastalık riski arasında bir ilişki olduğu yönündedir. Bu sonuçların literatürler ile uyumlu olmamasının nedeni olarak çalıştığımız hasta popülasyonunun küçük bir grup ile bağlantılı olabileceğini düşünüyoruz.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Parkinsonlu hastaların beyinde demir ve demir- bağlayıcı protein seviyelerinin arttığı belirtilmiştir. Demir taşınmasında yer alan en önemli proteinlerden biri DMT1'dir ve demirin endojen taşınmasında görevlidir. Yapılan literatür taramaları sonucunda, Parkinson Hastalığı ile Divalent Metal Transporter 1 (DMT1) Geni Polimorfizmleri arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Ancak bu konuda literatürde çok az bilgiye ulaşılmış olup, henüz ülkemizde konu ile ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Genetik yatkınlığa olan etkisi tam olarak bilinmeyen bu genin hastalıktaki rolünün aydınlatılması ve PH ile ilişkisinin belirlenmesi bilimsel açıdan oldukça önemlidir.

Parkinson hasta grubu ile herhangi bir nörolojik bozukluklar görülmeyen sağlıklı kontrol grubu arasında *DMT1* geni polimorfizmine ait 1254T/C gen bölgesinin alel ( $p=0.012$ ) ve genotip frekansı ( $p=0.002$ ) istatistiksel açıdan anlamlı bulundu.

Parkinson hasta grubu ile herhangi bir nörolojik bozukluklar görülmeyen sağlıklı kontrol grubu arasında *DMT1* geni polimorfizmine ait IVS4 + 44C/A gen bölgesinin alel ( $p=0.472$ ) ve genotip frekansı ( $p=0.731$ ) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenemedi.

Parkinson hasta grubu ile herhangi bir nörolojik bozukluk görülmeyen sağlıklı kontrol grubu arasında *DMT1* geni polimorfizmine ait IVS4 + 44C/A gen bölgesinin alel ve genotip frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenemedi.

Parkinson hasta grubu ile herhangi bir nörolojik bozukluk görülmeyen sağlıklı kontrol grubu 1254T/C gen bölgesi için hastalık riski TC ve CC genotip frekansı açısından TT ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Türk toplumunda *DMT1* geni 1254T/C polimorfizmi için TT genotipinin artması durumunun Parkinson hastalığı için risk faktörü olduğu belirlenmiştir.



Birbirinden farklı popülasyondaki gen ve alellerin görülme sıklıkları farklılık gösterir. Bu nedenle Çin popülasyonunda Parkinson hastalığı ile CC genotipi ile ilişkilendirilmişken Türk toplumunda TT genotipi hastalık için risk faktörü olarak belirlenmiştir.

Parkinson Hastalığı ve *DMT1* Gen polimorfizmi ile ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle yapmış olduğumuz çalışmanın Parkinson hastalığı gelişiminde *DMT1* Gen polimorfizminin etkisinin belirlenmesine yönelik önemli katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emmami, B., Fooladian, F., Zafarlet, K., 2003, Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva, *Comp. Biochem. Physiol. C*, 135, 331-336 p.
2. Adams, R.D., Victor, M., Ropper, A.H., 1997, *Principles of Neurology*. 6 th ed. New York, NY, McGraw-Hill, 1067-1078 p.
3. Alan, E., Guttmacher, M., Collins, F.S., 2003, Alzheimer's disease and Parkinson's Disease, *The New England J of Med*, 348, 1356-1364 p.
4. Altinkut Uncuoğlu, 2010, *Ahu Moleküler markırlar ve haritalama*, Bölüm 17. (Editör: Dündar M., Bağış H)..Erciyes Üniversitesi matbaası, Kayseri, sayfa. 586 s.
5. Andrews, N.C., 1998, *Oski's Hematology of Infancy and Childhood, Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia*, Editor Nathan, D.G., Orkin, S.H., 6th edition, 423-438-456-97 p.
6. Andrews, N.C., 1999, *Demir metabolizması bozuklukları, Disorders of iron metabolism*. *N Engl J Med*, 341, 26, 1986-1995 p.
7. Arinami T., Gao M., Hamaguchi H., Toru M., 1997, A Functional Polymorphism in the Promoter Region of the Dopamine D2 Receptor Gene Is Associated with Schizophrenia *Human Molecular Genetics*, 6, 4 , 577-582 p .
8. Beal, M.F., 1995, Aging, energy and oxidative stress in neurodegenerative diseases, *Ann. Neurol*, 38, 357-366 p.
9. Beal, M.F., 1998, Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases, *Biochem. Biophys.Acta*, 1366, 211-223 p.
10. Bergeron, C., Petrunka, C., Weyer, L., Pollanen, MS., 1996, Altered neurofilament expression does not contribute to Lewy body formation, *Am J Pathol*, 148, 267-272 p.
11. Blasco, H., Vourc'h, P., Nadjar, Y., Ribourtout, B., Gordon, P.H., Guettard, Y.O., Camu, W., Praline, J., Meininger, V., Andres, C.R., Corcia, P., 2011, Association between divalent metal transport 1 encoding gene (SLC11A2) and disease duration in amyotrophic lateral sclerosis, *J Neurol Sci*, 15, 303, 1-2, 124-7 p.
12. Burke, R.E., 1998, Programmed cell death and Parkinson's disease, *Mov DisordSupp*, 11, 13, 17-23 p.

## **KAYNAKLAR (Devam ediyor)**

13. Calne, D., 2005, A definition of Parkinson's disease, *Parkinsonism and Related Disorders*, 11, 39–40 p.
14. Calne, D.B., 1997, de la Fuente-Fernandez R, Kishore A. Contributions of positron emission tomography to elucidating the pathogenesis of idiopathic parkinsonism and dopa responsive dystonia, *J Neural Transm Suppl*, 50, 47-52 p.
15. Cochran, C.G., 1991, Cellular injury by oxidants, *Am. J. Med.*, 92, 235-305 p.
16. Cordato, D.J., Chan, D.K.Y., 2004, Genetics and Parkinson's disease, *Clin Neurosci*, 11, 2, 119-123 p.
17. Çavdar, C., Sifil, A., Çamsar, T., 1997, Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3, 4, 92-95 s.
18. Çayköylü, A., Coşkun, I., Anaç, Ş., Aksoy, H., 2000, Nöroleptik alan hastalarda demir metabolizması değişiklikleri ile akatizi düzeyleri arasındaki ilişki, *Klinik Psikiyatri Dergisi*, 3, 250-254 s.
19. Davies, K.J.A., 1995, Oxidative stress: The paradox of aerobic life. *Biochem, Soc. Symp*, 61, 1-31 p.
20. Delibaş, N., Özcankaya, R., Serbest Radikaller, 1995, *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2, 3, 11-17 p.
21. Deniz, H., İlnem, C., Samancı, A., 1998, Lewy Cisimli Demans - Tanı ve Tedavi, *Düşünen Adam*, 11, 1, 41-48 p.
22. Diplock, A., 1998, Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe Concise Monograph Series*, 59 p.
23. Dy, M., Vazquez, A., Bertoglio, J., et al, 1999, General aspects of cytokine properties and functions. *The cytokine network and immune functions*, Editor Theze, J., Oxford University Press, 1-13 p.
24. Eichhammer P, Albus M, Borrmann-Hassebach M, Schoeler A, Putzhammer A, Frick U, Klein HE, Rohrmeier T., 2000, Association of Dopamine D3-Receptor Gene Variants With Neuroleptic Induced Akathisia in Schizophrenic Patients: A Generalization of Steen's Study on DRD3 and Tardive Dyskinesia, *American Journal of Medical Genetics*, 96,2, 187-191 p .

## KAYNAKLAR (Devam ediyor)

25. Ertan, S., 2005, Parkinson hastalığının klinik özellikleri, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Nörolog Olmayanlar İçin Nöroloji 1. Sempozyum Dizisi, 42, 249-254 s.
26. Evans, P.H., 1993, Free radicals in brain metabolism and pathology, British Med. Bull, 49, 577-587 p.
27. Fearnley, J.M., Lees, A.J., 1991, Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity, Brain, 114, 2283-2301 p.
28. Fehn, S., Prezedborski, S., 2008, Parkinsonism, Chapter 11, textbook of neurology, Editor Christopher, G., Third Edition, 828-845 p.
29. Fleming, M.D., Trenor, C.C., Su, M., et al., 1997, Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene, Nat Genet, 16, 383-386 p.
30. Fleming, R.E., Bacon, B.R., 2005, Orchestration of iron homeostasis, N Engl J Med, 352, 1741-4 p.
31. Gai, W.P., Blessing, W.W., Blumbergs, 1995, P.C., Ubiquitin-positive degenerating neurites in the brainstem in Parkinson's disease, Brain, 118, 1447-1459 p.
32. Ganz, T., Nemeth, E., 2006, Regulation of iron acquisition and iron distribution in mammals, Biochim Biophys Acta, 1763, 690-9 p.
33. Gerlach, M., Rieder, P., Youdim, M.B.H., 1996, Molecular mechanisms for neurodegeneration, Editor Battistin, L., Scarlato, G., Caraceni, T., Ruggieri, S., Advances in Neurology, 69, 177-194 p.
34. Gowers, W.R., 1900, A Manual of Diseases of the Nervous System, 2.
35. Gunshin, H., Mackenzie, B., Berger, U.V., Gunshin, Y., Romero, M.F., Boron, W.F., Nussberger, S., Gollan, J.L., Hediger, M.A., 1997, Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter, Nature, 388, 6641, 482-8 p.
36. Gurer, R., 2005, İdiopatik parkinson hastalığı etyopatogenezinde seruloplazminin yeri ve proton mr spektroskopisi ile verifikasyonu, Uzmanlık Tezi, İSTANBUL Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği, 13 s.

## **KAYNAKLAR (Devam ediyor)**

37. Gutteridge, J.M.C, 1995, Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, Clin. Chem, 41, 1819-1828 p.
38. Gwinn-Hardy, K., 2002, Genetics of parkinsonism, Mov Disord, 17, 645– 656 p.
39. Halliwell, B., 1991, Drug antioxidant effects, Drugs, 42, 4, 569 – 605 p.
40. Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1985, Oxygen radicals and the nervous system, Trends. Neurol.Sci, 1, 22-26 p.
41. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1990, Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, Meth. Enzymol, 186, 1-85 p.
42. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1992, Comments on review of Free Radicals in Biology and Medicine, Free Radic Biol Med, 12, 1, 93-5 p.
43. Hansen, J.B., Tonnesen, M.F., Madsen, A.N., Hagedorn, P.H., Friberg, J., Grunnet, L.G., Heller, R.S., et al., 2012, Divalent metal transporter 1 regulates iron-mediated ROS and pancreatic  $\beta$  cell fate in response to cytokines, Cell Metabolism, 16, 4, 449–461 p.
44. Harada, H., Nishikawa, S., Takahashi, K., 1983, Epidemiology of Parkinson's disease in Japanese city, Arch Neurol, 40, 151-154 p.
45. Heiwell, P.O., Larsson, P.A, Dahlstrom, A., 1978, Further evidence for the involvement of microtubules in the proximo-distal intra-axonal transport of acetylcholine and related enzymes in rat sciatic nevre. Acta Physiol Scand, 104, 156-166 p.
46. Herdegen, T., 1997, Neurobiologisghe Grundlagen der Funktion und degenerativen Storungen des Nervensystems. In: herdegen T. Et al. Klinische Neurobiologie. Spektrum Akademischer verlag, heilderberg, 1-38 p.
47. <http://www.parkinsons.org/parkinsons-history.html>”, (2009).
48. Hyun-Pil, L., Xiongwei, Z., Gang, L., Shu, G., George P., Mark, A. S., Hyoung-Gon, L., 2010, Divalent metal transporter, iron, and Parkinson's disease: A pathological relationship, Cell Research, 20, 397-399 p.
49. Iolascon, A., De Falco, L., 2009, Mutations in the gene encoding DMT1: clinical presentation and treatment, Semin Hematol, 46, 4, 358-70 p.

## KAYNAKLAR (Devam ediyor)

50. Jamieson, S.E., White, J.K., Howson, J.M., Pask, R., Smith, A.N., Brayne, C., Evans, J.G., Xuereb, J., Cairns, N.J., Rubinsztein, D.C., Blackwell, J.M., 2005, Candidate gene association study of solute carrier family 11a members 1 (SLC11A1) and 2 (SLC11A2) genes in Alzheimer's disease, *Neurosci Lett*, 10, 374, 2, 124-8 p.
51. Jankovic, J., 2003, Pathophysiology and Clinical Assessment of Parkinsonian Symptoms and Signs, *Handbook of Parkinson's Disease*, Editors Pahwa, R., Lyons, K.E., Koler, W.C., Fourth Edition, 71-107 p.
52. Janssen, Y.M.W., Houten, B.V., Borm, P.J.A., Mossman, B.T., 1993, Biology of disease, cell and tissue responses to oxidative damage, *Lab. Invest.*, 69, 261-274 p.
53. Kaya, S., Bilgili, A., 1998, Veteriner Hekimliginde Toksikoloji, *Medisan Yayın Serisi*, 35, 222-355 s.
54. Kehrer, J.P., Smith, C.V., 1994, Free radicals in biology: sources, reactives and roles in etiology of human diseases, *Natural Antioxidants in human health and disease*, 25-62 p.
55. Kish, S.J., Shannak, K., Hornykiewicz, O., 1988, Uneven pattern of dopamine loss in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease: pathophysiologic and clinical implications, *N Engl J Med*, 318, 876-880 p.
56. Kitada, T., Asakawa, S., Hattori, N., et al., 1998, Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism, *Nature*, 392, 605– 608 p.
57. Kosel, S., Egensperger, R., Eitzen, U., Mehraein, P., Graeber, M.B., 1997, On the question of apoptosis in the parkinsonian substantia nigra, *Acta Neuropathol (Berl)*, 93, 105-108 p.
58. Kruger, R., Kuhn, W., Muller, T, et al., 1998, Ala30Pro mutation in the gene coding alpha-synuclein in Parkinson's disease, *Nat Genet*, 18, 106–108 p.
59. Kurt H, Dikmen M, Basaran A, Yenilmez C, Ozdemir F, Degirmenci I, Gunes HV, Kucuk MU, Mutlu F., 2011, Dopamine D2 receptor gene -141C Insertion/Deletion polymorphism in Turkish schizophrenic patients. *Mol Biol Rep.*, 38, 2, 1407-1411 p.
60. Kushner, J.P., Porter, J.P., Olivieri, N.F., 2001, Secondary iron overload, *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 47-61 p.
61. Kütükçü, Y., 2008, Parkinson hastalığının ayırıcı tanısı, *Türkiye Klinikleri Nöroloji Der*, 1, 4, 35-44 s.

## KAYNAKLAR (Devam ediyor)

62. Lester, J., Otero-Siliceo, E., 2006, Parkinson's Disease and Genetics, *The Neurologist*, 12, 240–244 p.
63. Lucking, C.B., Durr, A., Bonifati, V., et al., 2000, Association between earlyonset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene, French Parkinson's Disease Genetics Study Group, *N Engl J Med*, 342, 1560 –1567 p.
64. Lüleyap, H.Ü., 2008, Moleküler Genetiğin Esasları, 20.Bölüm, Nobel Kitabevi, Adana, 381-384 s.
65. Mackenzie, B., Garrick, M.D., 2005, Iron imports. II. iron uptake at the apical membrane in the intestine, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 289, 981-6
66. Matés, J.M., 2000, Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology, *Toxicology*, 153, 83-104 p.
67. Mccord, M., 1998, Iron free radicals and oxidative injury seminers in hematology, *Nutrition Reviews*, 35, 1, 5-12 p.
68. Mouradian, M., 2002, Recent advances in the genetics and pathogenesis of Parkinson disease, *Neurology*, 58, 179–185 p.
69. Ozansoy, M., Basak, N.A., 2004, Parkinson Hastalığının Genetigi ve Nörodejenerasyonun Moleküler Biyolojisi, *Parkinson Hast. Hareket Boz. Der*, 7, 2, 109-120 s.
70. Özkan, S., Parkinson hastalığının etiyojisi, *Türkiye Klinikleri Nöroloji Der*, 1, 4, 6-12 s. 1.Serhat hoca dergi
71. Parkinson, J., 2002, An essay on the shaking palsy. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 14, 223-36 p.
72. Perry T.L., Godin, D.V., Hansen, S., 1982, Parkinson's disease a disorder due to nigral glutathione deficiency, *Neurosci Lett*, 33, 305-310 p.
73. Ponka, P., 1997, Tissue-Specific regulation of iron metabolism and heme synthesis: distinct control mechanisms in erythroid cells, *Blood* January, 89, 1, 1-25 p.
74. Qing, H., Tingting, D., Xiaojun, Y., Anmu, X., Ning, S., Qi, K., Jintai, Y., Lan, T., Junxia, X., Hong, J., 2011, DMT1 polymorphism and risk of Parkinson's disease, *Neuroscience Letters*, 501, 128–131 p .

## **KAYNAKLAR (Devam ediyor)**

75. Randerath, K., Zhou, G.D., Monk, S.A., Randerath, E., 1997, Enhanced levels in neonatal rat liver of 7, 8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-hydroxydeoxyguanosine), a major mutagenic oxidative DNA lesion, *Carcinogenesis*, 18, 1419-1421 p.
76. Ropper, A.H., Brown, R.H., 2006, Degenerative diseases of the nervous system, chapter 8, Adams and Victor's principles of neurology, Editor Steven A., 915-925 p.
77. Salazar, J., Mena, N., Hunot, S., Prigent, A., 2008, Divalent metal transporter 1 (DMT1) contributes to neurodegeneration in animal models of Parkinson's disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 105, 47, 18578–18583 p.
78. Saltman P., 1989, Oxidative stress: a radical view, *Semin hematol*, 26, 249-56 p.
79. Saraçoğlu, M., Başak, A.N., 2004, Parkinson hastalığının genetiği ve nörodejenerasyonun moleküler biyolojisi, *Parkinson Hastalığı Hareket Bozukluğu Dergisi*, 7, 2, 109-120 s.
80. Shannon, L. R., Beate, R., 2008, Genetics of iron regulation and the possible role of iron in Parkinson's disease, *Neurobiology of Disease*, 32, 183–195 p.
81. Spacey, S.D., Wood, N.W., 1999, The genetics of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol*, 12, 427–432 p.
82. Srinivas1, U., Abdullah, M., Åkesson1, B., 1988, Trace elements and free radicals in health and disease, *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 48, 6, 495-500 p.
83. Srinivasan, V., 2002, Melatonin oxidative stress and neurodegenerative diseases, *Indian J Exp Biol*, 40, 6, 668-679 p.
84. Stahl, S.M., 2000, *Essential Psychopharmacology*, Cambridge University Pres, 2nd.
85. Strange, P.G., 1996, *Brain Biochemistry and brain disorders*, Oxford University Pres, London.
86. Trojanowski, J.Q., Lee, V.M., 2003, Parkinson disease and related alpha- synucleinopathies are brain amyloidoses, *Acad Sci*, 991, 107-10 p.
87. Uhl, G.R., Walther, D., Mash, D., Faucheux, B., Javoy-Agid, F., 1994, Dopamine transporter messenger RNA in Parkinson's disease and control substantia nigra neurons, *Ann Neurol*, 35, 494-498 p.



## KAYNAKLAR (Devam ediyor)

88. Uysal, Z., 1999, Demir metabolizmasında, demir eksikliğinde ve demir fazlalığında yenilikler, The Journal Of The Faculty Of Medicine University Of Ankara, 52, 3, 157-164 p.
89. Vidal, S., Belouchi, A.M., Cellier, M., Beatty, B., Gros, P., 1995, Cloning and characterization of a second human NRAMP gene on chromosome 12q13., Mamm. Genome, 6, 4, 224–30 p.
90. Vilela, L.A., Valenzuela, A., 1982, Alcohol ingestion, liver glutathion and lipid peroxidation:metabolik interrelation and pathologic implications, Life Science, 31, 2395-2407 p.
91. Weber, G.F., 1994, The pathophysiology of reactive oxygen intermediates in central nervous system, Med. Hypothes, 43, 223-230 p.
92. Wood-Kaczmar, A., Gandhi, S., Wood, N.W., 2006, Understanding the molecular causes of Parkinson's disease, TRENDS in Molecular Medicine, 12, 11 p.
93. Xiong, L., Dion, P., Montplaisir, J., Levchenko, A., Thibodeau, P., Karemera, L., Rivière, J.B., St-Onge, J., Gaspar, C., Dubé, M.P., Desautels, A., Turecki, G., Rouleau, G.A., 2007, Molecular genetic studies of DMT1 on 12q in French-Canadian restless legs syndrome patients and families, Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet, 144, 7, 911–7 p.
94. Yalcın, A.S., 1998, Antioksidanlar, Klinik Gelişim, 11, 342-346 s.
95. Yasar, B., 2007, Isparta süleyman demirel üniversitesi tıp fakültesi nöroloji polikliniğine başvuran parkinson tanısı konmuş bireylerde genetik polimorfizm çalışması, Yüksek Lisans Tezi, Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 28-29 s.
96. Yazar, T., 2008, İdiyopatik parkinson hastalığında motor ünite sayısı değişimi, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Bakırköy Ord. Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi 3. Nöroloji Kliniği, 1s.
97. Zheng, W., Xin, N., Chi, Z.H., Zhao, B.L., Zhang, J., Li, J.Y., Wang, Z.Y., 2009, Divalent metal transporter 1 is involved in amyloid precursor protein processing and Abeta generation, FASEB J, 23, 12, 4207-17 p.
98. Zhong Ming, Q., Hongyan, L., Hongzhe, S., Kwokping, H., 2002, Targeted drug delivery via the transferrin receptor-mediated endocytosis pathway, Pharmacological Reviews, 54, 4, 561-587 p.

## **KAYNAKLAR (Devam ediyor)**

99. Zhu, G., Fan, G., Feng, C., Li, Y., Chen, Y., Zhou, F., Du, G., Jiao, H., Liu, Z., Xiao, X., Lin, F., Yan, J., 2013, The effect of lead exposure on brain iron homeostasis and the expression of DMT1/FP1 in the brain in developing and aged rats, *Toxicology Letters*, 4, 216, 108-123 p.

## ÖZGEÇMİŞ

### BİREYSEL BİLGİLER

<b>ADI SOYADI</b>	SELVA MOHEB SAADAT
<b>TC KİMLİK NO</b>	99001299100
<b>DOĞUM TARİHİ</b>	02.07.1987
<b>DOĞUM YERİ</b>	Urmia
<b>MEDENİ HALİ</b>	Evli
<b>YAZIŞMA ADRESİ</b>	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Eskişehir, Türkiye.
<b>TEL</b>	0 222 239 29 39
<b>GSM</b>	
<b>E-POSTA</b>	selvasaadat@hotmail.com

### EĞİTİM BİLGİLERİ

<b>2010 -</b>	Yüksek Lisans	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans
<b>2005-2009</b>	Lisans	Lisans, Biyoloji Bölümü, Urmia Üniversitesi, Fen Fakültesi, Urmia.
<b>2001-2005</b>	Lise	Sharif Lisesi, Urmia
<b>1999-2001</b>	Ortaokul	Dino danesh Ortaokulu,Urmia
<b>1994-1999</b>	İlkokul	Kosar İlkokulu, Urmia

## BİLİMSEL ETKİNLİKLER

### Katıldığı Kurslar ve Eğitim

- II.Kök Hücre kursu ,2010,ANKARA
- VI.Kök Hücre Sempozyumu,2010,ANKARA
- XII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi,2011,ANTALYA

### Uluslararası Özet Makale

1. **S Moheb Saadat**, H Kurt, C Özbayer, Z Özdemir, T Tuncel, İ Değirmenci, MC Üstüner, HV Güneş. Efficacy of the St John's Wortoil on oxidative stress induced by indomethacin on mucosal damage. Cell Membranes and Free Radical Research. Volume 4, Number 1, pp 68-68, 2012.
2. T Tuncel\_, H Kurt, C Özbayer, **S Moheb Saadat**, Z Özdemir, D Burukoğlu, Değirmenci İ, Güneş H V. Investigation of the effectiveness of oleum *Cinnamomum zeylanicum* on alcohol induced liver injury. Cell Membranes and Free Radical Research. Volume 4, Number 1, pp 77-77, 2012.
3. Özdemir Z, Özbayer C, Kurt H, **Moheb Saadat S**, Tuncel T, Üstüner MC, Burukoğlu D, Değirmenci İ, Güneş HV. The Protective and Antioxidant Effect of *Hypericum perforatum* on Indomethacin-Induced Renal Damage. Cell Membranes and Free Radical Research. Volume 4, Number 1, pp 82-82, 2012.